

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth – 9ml

MicroSnap Total 検出キット (MS2-TOTAL) の使用方法

対象食品：液体乳製品

パーツ番号: MS1-N-BROTH-9ML (100)

取扱説明/使用対象者:

Hygiena 社の Enhanced Nutrient Broth は、検出キットである MicroSnap Total (MS2-TOTAL), MicroSnap Coliform (MS2-COLIFORM) および/または MicroSnap *E. coli* (MS2-ECOLI) と互換性があり、そのまま使用できるキットです。

この取扱説明書では MicroSnap Total (MS2-TOTAL) 検出キットで液体牛乳を試料とする場合に限定した取扱方法を説明しています。

この Enhanced Nutrient Broth は特徴的な液体培地を 9ml 含有しており、大腸菌群および *E. coli* 診断上のバイオマーカーと特定の酵素産生を増強する一方、どのような種類の好気性微生物であっても増殖させ、サンプルの影響を減少させるように設計されています。この液体培地は主に液体の牛乳試料用です。他の種類の製品試料や、インキュベーション温度を 32 ± 0.5 °C 以外で使用する場合は Hygiena 社または代理店にお問い合わせください。

必要器材(同梱されていません) :

- ルミノメータ EnSURE (パーツ番号 : ENSURE)
- MicroSnap Total 検出キット (MS2-TOTAL)
- 32 ± 0.5 °C 設定のドライブロックインキュベーター
- 1ml および 0.1ml 用ピペット
- ボルテックスミキサー (必要に応じて)

測定方法 :

使用方法の動画 : www.youtube.com/HygienaTV

Step 1 : 培養

培養の手順を以下に示します。Step 1 の図も参照してください。

使用前にチューブ内の液体を目視確認します。液体は澄明で淡い麦わら色であり、濁っていたり曇ったりしてはいけません。チューブのラベルに試料の識別をする場合は消えないマーカーを使用します。

1. 牛乳試料と Enhanced Nutrient Broth のバイアルを室温になじませます($22 - 26$ °C で 10 分間)。Enhanced Nutrient Broth のキャップをまわして開け、液体の牛乳試料 1ml を無菌的に添加します。
2. キャップを元に戻し、確実に締めます。
3. バイアルの内容物を手で振るか、またはボルテックスミキサーで 10 秒間混和します。
4. 32 ± 0.5 °C で、必要な感度に応じて 6 - 8 時間培養します。詳細は以下の表 1 を参照してください。

表 1: 32 ± 0.5 °C での培養時間とダイナミックレンジ

Incubation Time	CFU Range	Results
6 hrs	500 – 250,000	Enumeration
7 hrs	50 – 25,000	Enumeration
8 hrs	<5 – 5,000	Presence/Absence

Step 2 : 検出

検出の手順を以下に示します。Step 2 の図も参照してください。

ルミノメータを稼働します。場所がプログラムされている場合はテストする場所を選択します。

1. MicroSnap Total 検出キット (パーツ番号 MS2-TOTAL) を室温になじませます($22 - 26$ °C で 10 分間)。検出キットを手のひらで 5 回たたく

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth – 9ml

MicroSnap Total 検出キット (MS2-TOTAL) の使用方法

対象食品：液体乳製品

パーツ番号: MS1-N-BROTH-9ML (100)

- か、一度強く下向きに振ってください。これは抽出溶剤をチューブの底部分へ集めるためです。
- インキュベーターから Enhanced Nutrient Broth のチューブを取り出し、手で振るか、またはボルトックスミキサーで 10 秒間混和して試料を分散させます。
- バルブをねじって引き上げて動かし、検出キットを開けます。手元に置いておきます。ピペットを使用して、培養した試料 0.1ml を無菌的に直接検出キットのチューブに移します。
- 検出キットのキャップを元通りに閉めます。しっかりとチューブを持ち、上部のスナップバルブを親指と人差し指で前後に折り曲げ、検出キットをアクティベートします。バルブを 3 回絞って全ての試薬をスワブチューブの底に放出します。
- チューブをやさしく振って混和します。
- ただちに検出キットを丸ごとルミノメータに入れます；蓋を閉め、測定器を垂直に保持したまま“OK”ボタンを押して測定を開始します。15 秒のカウントダウンののちに結果が表示されます。
- 測定結果は RLU（相対発光量）で表示されます。要求される CFU 範囲との相関性にはお使いの機器に RLU のしきい値を設定してご使用ください。相関関係については下記の“結果の解釈”を参照してください。

結果の解釈：

表示される結果は相対発光量(RLU)です。表示された RLU 値は検査時点での増殖している生菌から抽出された ATP 成分に比例します(Colony Forming Units、CFU として表現)。表 2 は CFU 値と RLU 値の換算表

です。これによって元の牛乳試料中の総 CFU/mL を推定することができます。これらのパラメータ以外のインキュベーション時間については Hygiena 社、または代理店にご確認ください。

表 2: MicroSnap Total における CFU と RLU の平均相関；微生物を複数レベルに自然汚染させた全乳 1mL を 32 ± 0.5°C で 6,7,8 時間インキュベートした場合 (n=汚染レベル当たり 25)

mean CFU/mL	EnSURE RLU		
	6 hours	7 hours	8 hours
<5	NA	NA	<5
<10	NA	NA	<10
<25	NA	NA	<25
<50	NA	<10	<50
<100	NA	<20	<100
<250	NA	<50	<250
<500	<10	<100	<500
<1,000	<20	<200	<1,000
<2,500	<50	<500	<2,500
<5,000	<100	<1,000	<5,000
<10,000	<200	<2,000	TNTC
<25,000	<500	<5,000	TNTC
<50,000	<1,000	TNTC	TNTC
<250,000	<5,000	TNTC	TNTC
>250,000	TNTC	TNTC	TNTC

校正と管理：

GLP に準拠した陽性対照および陰性対照での検査を推奨します。Hygiena 社は下記の対照製品を提供しています：

- Hygiena 社製ルミノメータ用 Calibration Control Kit (パーツ番号 PCD4000)
- MicroSnap Coliform & *E. coli* Positive Controls (パーツ番号 MS-PC-COLIFORM)

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth – 9ml

MicroSnap Total 検出キット (MS2-TOTAL) の使用方法

対象食品：液体乳製品

パーツ番号: MS1-N-BROTH-9ML (100)

保管方法と有効期限：

- 2～8℃で保存してください。
- キットは 12 ヶ月保管できます。詳しくはラベルの有効期限をチェックしてください。

処分の方法：

廃棄前に滅菌してください。MicroSnap キットはオートクレーブや 20%の漂白剤の 1 時間処理で滅菌可能です。その後、廃棄してください。また MicroSnap キットはバイオハザード廃棄物処理施設に廃棄することもできます。

安全上の注意：

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth は正しく使用すれば健康に対するリスクとはなりません。陽性が確認された使用済み試薬はバイオハザードとなり得るので、GLP や安全衛生の法令等に従い安全に処理する必要があります。

1. Enhanced Nutrient Broth のバイアルは使い捨てです。再使用しないでください。
2. 期限切れの試薬は使用しないでください。
3. 交叉汚染を避けるため、検査は無菌操作で行ってください。
4. 遮光保存してください。
5. 試料の希釈濃度はルミノメータのダイナミックレンジ内の適切なものとして下さい。
6. 用例に記載された適切な培養温度と時間で実施してください。
7. この検査をヒトや動物の診断に使用しないでください。

免責事項：

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth は着色料を含まないため単独では細菌のコロニーを検出できません。培養した液体培地には活発な細菌培養組織が含まれており、これは MicroSnap 検出キット用です。しかし、培養したこの液体培地は生きた微生物群を含んでおり、この他の検査法での別の分析にも使用できません。製品評価のための検査では、試料数や接種量などの検査条件が基準を満たすように、お客様の責において適切に選択ください。液体培地の選択や試料採取方法、検査プロトコル、測定時間、ハンドリングなどの外的要因によって回収結果や特定の種の計数値は影響されることがあります。MicroSnap は時間によって影響を受ける検査であり、最適な結果を得るためには慎重に指示を守ることが大切です。

製造者/販売者責任：

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth は、他の培地と同様に、検査された食物、飲料や製造プロセスの品質を保証するものではありません。本製品の製造者 (Hygiena International Ltd) または販売者 (ニッタ株式会社) は、本製品の使用者またはその他の者に対し、本製品の使用によって直接、間接、偶発的、必然的に生じた如何なる損害、喪失についても責任を負いません。製品に不具合が認められた場合に本製品の製造者または販売者が負う義務は、製品の交換、あるいはその裁量においての返金を限度とします。不具合が疑われる場合には発見から 5 日以内に販売者にご連絡・返品をお願いいたします。その他については販売者にお問い合わせください。

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth – 9ml

MicroSnap Total 検出キット (MS2-TOTAL) の使用方法

対象食品：液体乳製品

パーツ番号: MS1-N-BROTH-9ML (100)

お問い合わせ：

より詳細な情報については www.hygiena.com または www.nitta.co.jp をご覧いただくか、または下記までご連絡下さい。

製造元：

Hygiena USA

Phone: 805.388.8007

Fax: 805.388.5531

Email: info@hygiena.com

Hygiena-International Ltd

Phone: +44(0)1923 818821

Fax: +44(0)1923 818825

Email: enquiries@hygiena.com

販売元：

ニッタ株式会社

クリーンエンジニアリング事業部

営業部 モニタリング営業課

[大阪本社]

TEL : 06-6563-1235

FAX : 06-6563-1265

[東京支店]

TEL : 03-6744-2740

FAX : 03-6744-2741

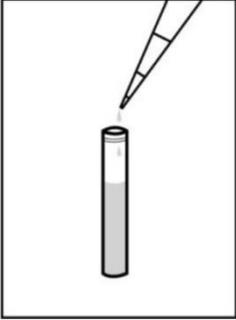
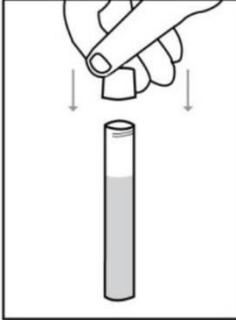
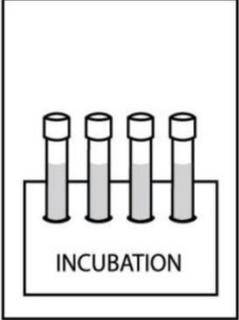
MicroSnap Enhanced Nutrient Broth – 9ml

MicroSnap Total 検出キット (MS2-TOTAL) の使用方法

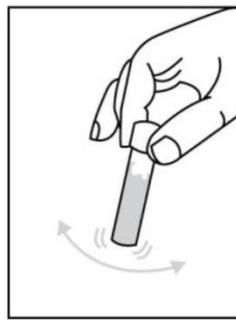
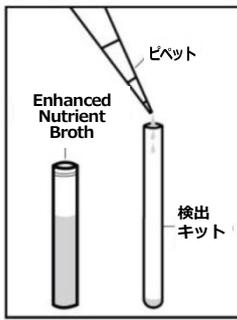
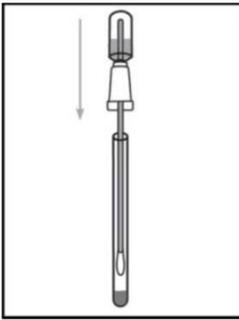
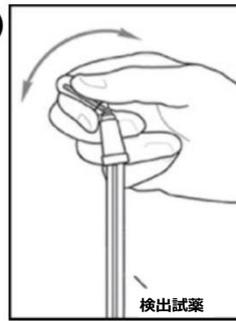
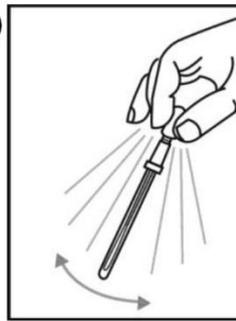
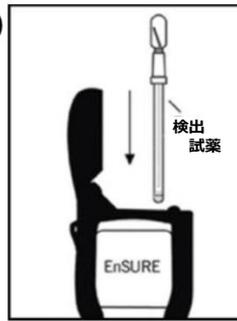
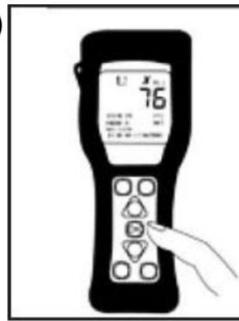
対象食品：液体乳製品

パーツ番号: MS1-N-BROTH-9ML (100)

Step: 1 牛乳試料の培養

- 1  1. 牛乳試料と液体培地を 22 – 26 °C になじませる。1mL の牛乳試料を Enhanced Nutrient Broth のバイアルに直接添加する。
- 2  2. キャップを元に戻し、確実に締める。
- 3  3. 手で振るか、ボルテックスミキサーで 10 秒間混和する。
- 4  4. 32±0.5°C で 6 - 8 時間培養する。詳細は表 1 を参照。

Step: 2 検出/測定

- 1  1. 検出キットを室温になじませる。抽出溶剤をチューブの底部へ集めるために強く振る。
- 2  2. 手で振るか、ボルテックスミキサーで 10 秒間混和する。
- 3  3. Enhanced Nutrient Broth のチューブから培養試料 0.1mL を無菌的に検出キットに移す。
- 4  4. 検出キットのキャップを元通りに閉める。
- 5  5. スナップバルブを折って検出キットをアクティベートする。バルブを絞って液体をチューブの底に放出する
- 6  6. アクティベート後、チューブをやさしく振って液体中の試料を混和する。
- 7  7. 検出キットを EnSURE に挿入し、OK を押して測定を開始する。
- 8  8. 測定結果の RLU を記録する。表 2 の換算表を元に判定する。

使用方法の動画：
www.youtube.com/HygienaTV