MicroSnap Enhanced Nutrient Broth 9ml
Directions for use with MicroSnap *E.coli* Detection Device (MS2-ECOLI)
液体乳製品対象
型式: MS1-N-BROTH-9ML(100)

製品説明/使用方法

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth（前培養キット）は、検出キットである MicroSnap Total(MS2-TOTAL)、 MicroSnap Coliform(MS2-COLIFORM)及び MicroSnap *E.coli*(MS2-ECOLI)と互換性があります。
下記の使用方法の説明では、液体牛乳をサンプル対象とし MicroSnap *E.coli* (MS2-ECOLI)検出キットを用いた例を記しています。Enhanced Nutrient Broth は、バイオマーカーと大腸菌群と大腸菌が持つ特定の酵素産生を強め、干渉を低減して好気性及び通性微生物を成長させるための 9ml の液体培地です。
この製品は、主に液体乳製品用です。他の製品サンプルまたは 37±0.5°C 以外の温度で培養する場合は、試験的に検査を実施し、調査をする必要があります。

別途ご準備いただく必要のある器具や試薬：
- EnSURE luminometer (型式 ENSURE)
- MicroSnap *E.coli* Detection Device (型式 MS2-ECOLI)
- Dry block incubator （37±0.5°C に設定）
- ピペット（1ml、0.1ml）
- ボルテックス(オプション)

検査手順：
【動画による指導】www.youtube.com/HygienaTV

【Step1】培養
測定のための培養手順を以下に示します。Step1 の図も参考にしてください。
使用前に外観の確認（液体が濁っている、粘性が強い、変色している）をしてください。油性ペン等でサンプルが判別できるように印をつけてください。

1. 牛乳サンプルと Enhanced Nutrient Broth を室温（20-26℃で 10 分間程度）に馴染ませてください。室温に馴染んだのを確認し、Enhanced Nutrient Broth の蓋を緩めて外し、無菌的に 1ml の液体牛乳サンプルを Enhanced Nutrient Broth へ加えます。
2. 蓋を戻し、しっかりと締めます。
3. 10 秒間手で振るか、又はボルテックスミキサーで撹拌してください。
4. 8 時間、37 ± 0.5°C で培養。

【Step2】検出
検出の手順を以下に示します。Step 2 の図も参考にしてください。

1. MicroSnap *E.coli* Detection を室温（20-26℃で 10 分間程度）に馴染ませてください。手のひらに 5 回叩くか、一度下向きに強く振って下さい。これは中の液体試薬を検出キットの底部へ集めるためです。
2. 培養済みの培養液をインキュベータから出し、サンプル入り培養液を 10 秒程度手で振るか、又はボルテックスミキサーで撹拌してください。
3. 検出キットのスナップバルブ（キャップ）をねじりながら外してください。ピペットを用いて培養液から 0.1ml を直接検出キットへ移してください。
4. 検出キットのスナップバルブを締めてください。
5. しっかりと検出キットを持ち、親指と人差し指で上部のスナップバルブを前後に折り曲げます。完全に液体を落としきるために 3 回しぼります。
6. 軽く振って混合して下さい。
7. 37±0.5℃で、10±0.2 分間、検出キットを培養して下さい。
8. ルミノメータの電源をオンにし、測定の準備をします。（電源をオンにした後、15 秒のカウントで測定可能となります）10 分間培養後、ただちに検出キット（チューブごと）をルミノメータに入れ、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。
9. 結果は、RLU（相対光量単位）で表示されます。CFU 値の制限に対応するように RLU 値のしきい値を設定します。相関は、以下の「結果の解釈」を参照してください。

結果の解釈：
ルミノメータに表示される結果は相対発光量(RLU)です。採取した菌数の RLU 値は CFU 値と比例しています。表 2 は RLU 値と CFU 値の換算表を示します。元の牛乳サンプルの大腸菌群 CFU/mL の推定です。

表 1：MicroSnap *E.coli* RLU と CFU の相関関係（37±0.5°C、8 時間培養後）

平均 CFU / mL	EnSURE RLU
	8 時間
<5	<50
<10	<100
<25 <50	<250 <500
<100	<1,000
<250	<2,500
<500	<5,000
>500	TNTC

多くの大腸菌・大腸菌群は、ごく少量でも存在していれば十分な酵素活性を生成し、検出されます。8 時間を超えて培養することで、検出限界や感度がよくなることはありません。

低い RLU 値（例えば、3 または 4RLU）は、低レベルの汚染や損傷菌を示します。37℃で 10 分間かそれ以上検出キットを延長培養することで、RLU 値は徐々に増加します。逆に、汚染のないサンプルは（表 2 参照）RLU 値は増加しません。

表 2：延長培養による陰陽性判定結果（例）

1 回目結果 (10 分間培養)	2 回目 (延長培養)	結果
4RLU	4RLU	陰性
4RLU	10 RLU	陽性

校正と管理：
GLP に従い、陰陽性のコントロールを実行することをお勧めします Hygiena 社は、次のコントロールを提供しています：
- Hygiena 社ルミノメータの校正コントロールキット（型式 PCD4000）
- 大腸菌群・大腸菌のポジティブコントロール（型式 MS-PC-COLIFORM）

保存方法と保管：
2-8℃で保管して下さい。
保存期限は 12 か月です。ラベルの使用期限を確認してください。

廃棄：
廃棄前に滅菌してください。MicroSnap はオートクレーブを実施するか 20%の漂白剤で 1 時間の滅菌処理で滅菌が可能です。その後、廃棄してください。

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth 9ml
Directions for use with MicroSnap *E.coli* Detection Device (MS2-ECOLI)
Matrix：Liquid Milk Products
Part No：MS1-N-BROTH-9ML(100)

安全上のご注意：
MicroSnap Enhanced Nutrient Broth は正しく使用すれば健康上のリスクをもたらすことはありません。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ため、GLP 及び安全衛生規則に安全にコンプライアンスに従い処分する必要があります。

1. Enhanced Nutrient Broth のチューブは使い捨て用です。再利用しないでください。
2. 使用期限切れは使用しないでください。
3. 交差汚染を避けるために、サンプリングは無菌操作で行ってください。
4. 光の暴露を避けてください。
5. サンプルが適切な希釈濃度であればルミノメータで確認ができます。
6. テストアプリケーションのため、適切な培養温度と時間を確認してください。
7. 人や動物の診断にこの検査を使用しないで下さい。

ユーザーの責任：
MicroSnap Enhanced Nutrient Broth には染料が含まれていないため、それだけでは細菌のコロニーを検出できません。検出試薬を使用する必要があります。
検査方法がお客様の基準を満たすべく、試料数や接種量など検査条件はお客様の責において適切に選択ください。
他のあらゆる培地及びそれによる検査と同様に、MicroSnap はこの試薬で検査された食品・飲料品などの製品、またはその製造工程についての品質を保証するものではありません。
検査者・作業者への適切な訓練をお客様の責において実施ください。
培地の選択や採取方法、検査プロトコル、ハンドリングなどの外的要因によっても回収結果は影響されることがあります。
MicroSnap は、時間依存の試験であり、慎重に指示に従って最適な結果を達成することが重要です。

製造者/販売者責任：
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。

お問い合わせ：
商品に関するお問い合わせは購入先または販売元までご連絡下さい。

製造元：
[Hygiena –Americas]
Phone：805.388.8007
Fax：805.388.5531
Email：info@hygiena.com

[Hygiena –International]
Phone：+44(0)1923818821
Fax：+44(0)1923818825
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]
〒556-0022　大阪市浪速区桜川４－４－２６
TEL：06-6563-1235　FAX：06-6563-1265
[東京支店]
〒104-0061　東京都中央区銀座８－２－１
TEL：03-6744-2740　FAX：03-6744-2741
URL：　www.nitta.co.jp

MicroSnap Enhanced Nutrient Broth – 9ml

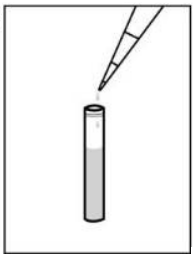
Directions for use with MicroSnap *E.coli* Detection Device (MS2-ECOLI)

Matrix: Liquid Milk Products

Part No: MS1-N-BROTH-9ML (100)

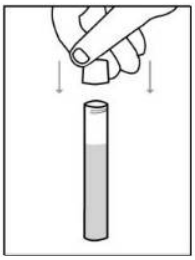
Step: 1 Enrichment of Milk Sample

1



牛乳サンプルとブロスを22-26℃になじませます。ブロスに直接牛乳サンプル1ml を入れてください。

2

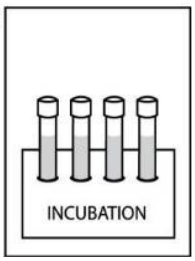


蓋を閉めてください。

3

手で振るかまたはボルテックスで 10 秒間撹拌してください。

4



37±0.5℃で 8 時間培養して下さい。

Step: 2 Detection / Measurement

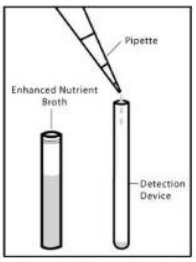
1

検出試薬を室温になじませます。チューブ底部に溶液を集めるため、振って下さい。

2

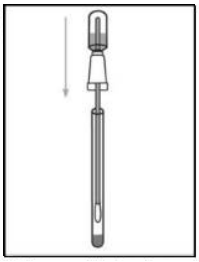
手で振るかまたはボルテックスで 10 秒間混ぜてください。

3



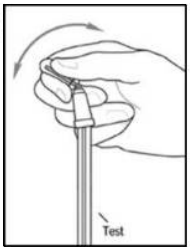
培養済みサンプル 0.1ml を検出試薬へ移して下さい。

4



検出試薬を元の状態に戻してください。

5

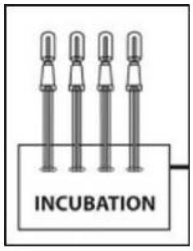


スナップバルブを前後に倒して折り、バルブを絞って液体をチューブ内へ落としてください。

6

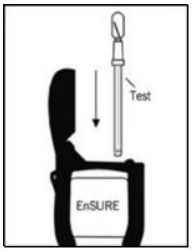
検出試薬とサンプルと混ぜるため、優しく振って下さい。

7



10 分間、追加培養して下さい。

8



検出試薬をルミノメータに入れ、OK ボタンを押してください。

9

測定結果の RLU 値を記録し、表 1 を元に判定して下さい。

【動画による指導】
www.youtube.com/HygienaTV