

Набор «Люмтек» для определения общей микробной обсемененности поверхности

Инструкция по применению

1. Назначение

Набор «Люмтек» предназначен для биолюминесцентного определения общей микробной загрязненности поверхности по концентрации микробного АТФ.

- Набор рассчитан на анализ 20 образцов в двух повторностях (40 измерений).
- Длительность анализа - 10 мин на 1 образец.

2. Комплектация набора

Реагенты

Флакон №1 - АТФ-реагент ЛЮМТЕК, лиофилизированный	- 2 шт.
Флакон №2 - Раствор для реконструкции АТФ-реагента	- 1 шт.
Флакон №3 - АТФ-контроль, лиофилизированный	- 1 шт.
Флакон №4 - Раствор реагента для разрушения клеток	- 1 шт.
Флакон №5 (б) - Раствор для смачивания тампонов	- 2 шт.

Внимание! Реагенты следует хранить в холодильнике при температуре 0 - 6°C.

Расходные материалы, входящие в состав набора

Люминометрическая кювета (фильтравета)	- 43 шт.
Полоски фильтровального картона (комплект 10 шт.)	- 1 комплект
Стерильные тампоны	- 20 шт.
Стерильные пробирки вместимостью 1,5 см ³ (типа «эппендорф»)	- 20 шт.

Расходные материалы, многоразового использования, обязательные для первого заказа (не входят в набор)

Штатив для фильтравет	- 1 шт.
Шприц с фланцевой насадкой	- 1 шт.

Расходные материалы и оборудование, поставляемые по заказу, (не входящие в набор)

Автоматические дозаторы фиксированного объема на:	
0,02 мл	- 1 шт.
0,10 мл	- 1 шт.
Наконечники для дозаторов (комплект 50 шт.)	- 2 комплекта
Люминометр «ЛЮМ-1» или другой прибор с аналогичными техническими характеристиками.	

ВНИМАНИЕ!

Для получения воспроизводимых результатов анализа молока необходимо соблюдать меры предосторожности, принятые при работе в микробиологической лаборатории, в частности:

- перед проведением анализа поверхность лабораторного стола обработать 70% этанолом, высушить,
- использовать автоматические пипетки и стерильные одноразовые наконечники к ним,
- для выполнения каждой операции использовать новый стерильный наконечник,
- после анализа каждого образца молока штатив для фильтравет, фланцевый наконечник шприца, пинцет и автоматические пипетки стерилизовать 70% этанолом.

3. Проведение анализа

Подготовка реагентов к анализу

1. Во флакон №1 внести 2 мл раствора из флакона №2, выдержать 30 мин перед использованием. Полученный раствор АТФ-реагента можно хранить при комнатной температуре в течение рабочего дня, а при 4°C – в течение 2-3 дней.
2. Во флакон №3 внести 1 мл раствора из флакона №4, перемешать. Раствор АТФ-контроля следует использовать в течение 2-3 часов.

Калибровка АТФ-реагента по АТФ-контролю

3. Поместить фильтравету с помощью пинцета в кюветное отделение люминометра. Внести в нее с помощью автоматических дозаторов:
 - 0,02 мл раствора **АТФ-контроля**, полученного по пункту 2 из **флакона №3**;
 - 0,10 мл раствора АТФ-реагента из **флакона №1**.
 Быстро перемешать содержимое фильтраветы, прокачав его 2-3 раза через наконечник дозатора, и измерить биoluminesцентный сигнал на люминометре.
5. Повторить измерения по пункту 3 еще один раз и найти среднее значение биoluminesцентного сигнала для АТФ-контроля ($I_{\text{контр.}}$).

Получение смыва с поверхности

6. Стерильные пробирки типа «эппендорф» пронумеровать по количеству анализируемых образцов, установить в штатив и внести в них по 1 мл раствора из **флакона №5 (б)**.
7. Кончик тампона погрузить в пробирку, подготовленную по пункту 6, и выдержать течение 20 сек (сосчитать до 20).
8. Влажным тампоном, подготовленным по пункту 7, тщательно протереть исследуемую поверхность, перемещая тампон сначала - по горизонтали, затем - по вертикали, и в конце – по диагонали. Площадь поверхности выбирается потребителем.
9. Вернуть тампон в ту же пробирку и вращать приблизительно 10 раз по часовой и 10 раз против часовой стрелки. Тампон вынуть из пробирки, отжав излишек жидкости о стенку, пробирку закрыть.

Измерение концентрации АТФ в полученном смыве

10. Установить фильтравету с помощью пинцета в штатив для фильтравет на полосу фильтровального картона так, чтобы дно фильтраветы опиралось на полосу картона. Тщательно перемешать содержимое пробирки, подготовленной по пункту 9, отобрать пробу объемом 0,30 мл, внести ее в фильтравету и медленно продавить жидкость с помощью шприца через фильтравету в фильтровальный картон.
11. Перенести фильтравету с помощью пинцета в кюветное отделение люминометра, добавить 0,02 мл раствора из **флакона №4** и через 1 мин добавить:
 - 0,10 мл раствора АТФ-реагента из **флакона №1**.
 Быстро перемешать, прокачав содержимое фильтраветы 2-3 раза через наконечник дозатора, и измерить биoluminesцентный сигнал образца.
12. Повторить операции по пунктам 10-11 со второй фильтраветой.
13. Найти среднее значение биoluminesцентного сигнала для образца ($I_{\text{обр}}$).
14. Рассчитать количество микробного АТФ в образце по формуле:

$$(АТФ)_{\text{обр}} = 0,7 \cdot (I_{\text{обр}} / I_{\text{контр}}), \text{ пикомоль}$$

Оценить общую микробную обсемененность поверхности по таблице:

Количество АТФ, пикомоль	КОЕ/ образец
до 0,01	менее 100
0,01 - 0,02	~100 – 1 000
более 0,02	более 1 000

По вопросам использования и приобретения набора ЛЮМТЕК обращаться по тел. (495)-939 26 60, E-mail: iut@enz.chem.msu.ru или E-mail: unn@enz.chem.msu.ru web-site: www.lumtek.ru