

TEMPO® AC (Aerobic Count)

Только для микробиологического контроля

TEMPO® AC (Aerobic Count) представляет собой автоматизированный тест для использования с анализатором автоматическим бактериологическим TEMPO с принадлежностями для подсчета жизнеспособных аэробных мезофильных микроорганизмов в продуктах питания и образцах производственной среды.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Тест TEMPO® AC предназначен для использования только с анализатором автоматическим бактериологическим TEMPO с принадлежностями (далее по тексту система TEMPO) для подсчета жизнеспособных аэробных мезофильных микроорганизмов в продуктах питания и образцах производственной среды.

Данный тест был разработан, чтобы достичь уровня эффективности, сопоставимого со стандартом EN ISO 4833 (1), официальным методом AOAC 966.23 и стандартными методами исследования молочных продуктов Американской ассоциации работников здравоохранения (SMEDP) (2).

Количественный подсчет данной флоры используется для определения санитарного качества продукта и позволяет оценить его свежесть или степень порчи. Для продуктов, которые обрабатываются или которые подвергаются обработке/переработке в ходе различных технологических процессов, общее количество микроорганизмов можно использовать для оценки условий, в которых продукты изготавливались, транспортировались и хранились.

ПРИНЦИП

Тест TEMPO® AC состоит из флакона с питательной средой и карты, специфичных для данного теста.

В питательную среду высевается исследуемый образец. С помощью прибора TEMPO Filler засеянная среда вносится в карту, содержащую 48 лунок трех различных объемов. В карте имеется 3 группы по 16 лунок (маленькие, средние и большие), причем объем лунок каждой группы различается на один порядок. Таким образом, карта позволяет воспроизвести метод наиболее вероятного числа (НВЧ/MPN) (3, 4). Карту герметично запаивают во избежание загрязнения при последующих манипуляциях.

Микроорганизмы, присутствующие в карте, утилизируют субстрат в питательной среде во время инкубации и вызывают появление флуоресцентного сигнала, который определяется станцией считывания TEMPO Reader. В зависимости от числа и типа положительных лунок, система TEMPO рассчитывает число микроорганизмов в исходном образце методом наиболее вероятного числа (НВЧ).

СОСТАВ НАБОРА (48 ТЕСТОВ)

Карты TEMPO® AC 2 x 24	CARDS	Готовые к использованию одноразовые карты с транспортировочной трубкой.
Питательная среда TEMPO® AC 2 x 24 флакона	CULT MED	Каждый флакон содержит одну дозу сухой питательной среды. Для растворения в 4 мл.
1 вкладыш — вложен в упаковку, либо его можно загрузить с сайта www.biomerieux.com/techlib .		

СОСТАВ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ TEMPO® AC

Расчетная формула восстановленного раствора, г/л.

Питательные и ростовые добавки (бычья или свиная).....	27
Субстрат	0,08
Антипенная добавка	0,4

pH 7,2

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Материалы:

- пакеты с поперечными фильтрами TEMPO® (bioMérieux, номер по каталогу 80 015);
- лопастной гомогенизатор;
- пипетки для точного дозирования 0,10 мл или 1,0 мл образца;
- вортекс-миксер;
- лабораторный инкубатор (стандартизованный).

Следующие номера по каталогу приведены в качестве примера.

Первичные разбавители, рекомендуемые для образцов пищевых продуктов:

- пептонная вода/пептонно-солевой раствор (90 мл, номер по каталогу AEB611494);
- забуференная пептонная вода (90 мл, номер по каталогу bioMérieux 42 042);
- раствор цитрата натрия или раствор гидрофосфата дикалия (EN ISO 6887-5);
- вода с фосфатным буферным раствором Баттерфилда (7);
- или любой другой разбавитель, ранее проверенный пользователем на совместимость с системой TEMPO.

Первичные разбавители, рекомендуемые для образцов производственной среды:

- DIFCO® нейтрализующий буфер (номер по каталогу 236210, нейтрализующий буфер для образцов внешней среды);
- летиновый бульон, модифицированный (8);
- или любой другой разбавитель, ранее проверенный пользователем на совместимость с системой TEMPO.

Рекомендованные вторичные разбавители:

- стерильная дистиллированная вода или эквивалентная очищенная вода, проверенная пользователем.

Материалы, рекомендуемые для контроля качества:

- денситометр (номер по каталогу bioMérieux 99 234);
- трипказо-соевый агар (по тексту TSA) (номер по каталогу bioMérieux 43 011).

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- **Только для микробиологического контроля.**
- **Только для профессионального использования.**
- Соблюдайте правила надлежащей лабораторной практики (например, стандарт EN ISO 7218 (10)).
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных не гарантирует полностью отсутствия трансмиссивных патогенных агентов. Поэтому рекомендуется обращаться с данными продуктами как с потенциальным источником инфекции, с соблюдением стандартных мер безопасности (не проглатывать и не вдыхать).
- Не используйте питательные среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Все образцы и инокулированную питательную среду следует считать инфекционными и обращаться с ними соответствующим образом. Асептическая техника и обычные меры предосторожности при обращении с изучаемой бактериальной группой должны соблюдаться в течение данной процедуры; см. руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях — ВОЗ, Женева, последнее издание, или применимые нормативы, принятые в стране пользователя.
- Не используйте реактивы или расходные материалы после истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Перед использованием убедитесь в целостности упаковки и содержимого.
- Используйте только гомогенную питательную среду (без включений или влаги).
- Не используйте карты с видимыми повреждениями.
- **Избегайте прямого контакта исследуемого образца с питательной средой (в виде порошка) до ее растворения.**
- Не используйте карты, не запечатанные вакуумной станцией TEMPO Filler.
- Карта TEMPO не предназначена для пересева из положительных лунок.
- Не делайте надписи на лунках или штрих-кодах карты.
- Не наклеивайте этикетки на карту.
- Станцию считывания TEMPO Reader и вакуумную станцию TEMPO Filler, а также штативы следует регулярно очищать и обеззараживать (см. руководство пользователя).
- Любые изменения описанной методики могут привести к изменению результатов и должны предварительно быть валидированы в вашей лаборатории. Компания bioMérieux не несет ответственности за результаты, полученные после внесения в процедуры изменений, не утвержденных компанией. Кроме того, такие изменения могут привести к отмене всех гарантий.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

- Храните набор TEMPO® AC при температуре +2 °C/+25 °C.
- Не оставляйте карты на свету (на рабочем столе или штативе для питательных сред) дольше 15 дней.
- Избегайте прямого попадания ультрафиолетового излучения на карты.
- При соблюдении рекомендованных условий хранения, все компоненты стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке.

ОБРАЗЦЫ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ**Тип образца**

Система TEMPO может быть использована для анализа широкого спектра продуктов питания, предназначенных для потребления человеком, и кормов домашних животных.

Приготовление

Выдержите первичный и вторичный разбавители до достижения комнатной температуры (+18 °C/+25 °C) (см. перечень рекомендованных разбавителей в разделе «Необходимые материалы и реагенты, не включенные в набор»).

При отборе образцов и приготовлении исходных растворов следуйте рекомендациям, приведенным в действующих стандартах ISO (или BAM [6], если это применимо). В частности:

- для кислых продуктов: после приготовления раствора доведите его pH до нейтрального (EN ISO 6887-4) (9);
- для всех ароматических трав, специй, чаев, травяных чаев, которые обладают ингибиторными свойствами, минимальное разведение должно составлять 1/400 (даже при соответствии требованиям EN ISO 6887-4) (9).

Для приготовления раствора разведите образец 1/10 (**первичное разведение**) в одном из рекомендованных первичных разбавителей. Например, в асептических условиях добавьте 10 г или 10 мл образца к 90 мл пептонной воды. Гомогенизируйте в пакете TEMPO® (см. инструкции по применению пакета TEMPO® в руководстве пользователя системы TEMPO).

Временной интервал между гомогенизацией первичного разведения и внесением его в карту TEMPO не должен превышать 45 минут, если иное не указано в соответствующем международном стандарте (10).

ПРОЦЕДУРА ПОЛУЧЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКВИВАЛЕНТНА ЭТАЛОННОЙ МЕТОДИКЕ ISO 4833-1 ПРИ 30 °C (1)

Полную инструкцию см. в руководстве пользователя системы TEMPO.

Образец	Режим теста
Все образцы продуктов питания (стандартный протокол)	40–48 ч
Сырое мясо, включая мясо домашней птицы (специальный протокол)	24–28 ч
Готовая еда (специальный протокол)	24–28 ч
Производственная среда, включая туши (специальный протокол)	24–28 ч
Фрукты и овощи (специальный протокол)	24–28 ч

Процедура исследования образцов продуктов питания

Ниже приведен пример приготовления разведения 1/400, которое позволяет произвести подсчет микроорганизмов в пределах от 100 до $4,9 \times 10^5$ КОЕ/г. Разведение можно изменять в зависимости от предположительного уровня контаминации образца. Согласно этому протоколу могут использоваться только разбавители ISO, перечисленные в п. «Необходимые материалы и реагенты, не включенные в набор».

1. Возьмите нужное количество флаконов с питательной средой (один флакон на каждый исследуемый образец) и выдержите их до достижения комнатной температуры.
2. Установите дозатор с вторичным разбавителем на 3,9 мл. Удалите воздух из носика, трубок подачи жидкости, слив две первых порции разбавителя.
3. Выполните вход в систему на станции пробоподготовки TEMPO.
4. Следуя инструкциям пользовательского интерфейса станции пробоподготовки, внесите данные об образце: вручную введите идентификатор с клавиатуры или просканируйте его сканером штрих-кодов станции пробоподготовки.
5. Внесите в каждый флакон с сухой питательной средой 3,9 мл вторичного разбавителя с помощью дозатора.
6. Стерильной пипеткой отберите 0,1 мл раствора из отфильтрованного отделения пакета TEMPO® и перенесите во флакон с восстановленной питательной средой. Гомогенизируйте в течение приблизительно 5 секунд на вортексе. 4 мл полученной инокулированной питательной среды соответствует разведению образца 1/400.
7. Возьмите одну карту для каждого флакона с инокулированной питательной средой, **не дотрагиваясь** до кончика транспортировочной трубочки. Удостоверьтесь в том, что коды (цвета и аббревиатуры) на карте и флаконе с инокулированной питательной средой совпадают.
8. Соотнесите номер исследуемого образца со штрих-кодами соответствующей среды и карты с помощью сканера штрих-кодов станции пробоподготовки, следуя инструкциям,

отображаемым программным обеспечением станции.

9. Поместите флакон с инокулированной питательной средой в штатив для заполнения. Вставьте карту в гнездо напротив флакона, поместив транспортировочную трубочку внутрь флакона. Штатив может вместить до шести флаконов и карт, а также позволяет одновременно заполнять от 1 до 6 карт TEMPO.
10. Поместите штатив в вакуумную станцию TEMPO Filler и начните цикл заполнения. Среда с посевом из флакона полностью аспирируется в карту. После заполнения карты, прибор TEMPO Filler обрезает и запаивает транспортировочные трубочки. Все операции выполняются автоматически и занимают около 3 минут. Цикл заполнения одинаков для всех карт и всех разведений, что позволяет одновременно заполнять разные карты с различными параметрами.
11. Удалите штатив для заполнения карт из прибора TEMPO Filler и визуально удостоверьтесь в том, что флаконы пусты. Выньте карты из штатива для заполнения и переместите в штатив для инкубации: вставьте карты в слоты таким образом, чтобы штрих-код карты был обращен к вам (к ручке штатива). Карты следует группировать в штативы для инкубации в зависимости от температуры инкубации. Каждый штатив рассчитан на 20 карт. Не вставляйте карты между слотами.
12. Утилизируйте использованные флаконы и транспортировочные трубочки надлежащим образом.
13. Инкубируйте карты при температуре $+30\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ в течение периода времени, указанного для выбранного режима теста, чтобы достичь уровня производительности, сопоставимого со стандартом EN ISO 4833 (1).

Примечание. Время инкубации для каждого теста регулируется программным обеспечением прибора TEMPO Read, которое добавляет теоретический 15-минутный интервал между считыванием штрих-кода карты и началом инкубации.

Если фактический интервал больше 15 минут (но не превышает 2 часа), это дополнительное время следует добавить к оставшемуся времени инкубации, отображаемому программным обеспечением прибора TEMPO Read. Считывание должно быть выполнено в течение установленного программой ограниченного периода времени.

Сканирование информации с карт после инкубации

1. Выполните вход в систему на станции считывания.
2. Вставьте инкубационный штатив с картами в считывающее устройство для их считывания. Считывающее устройство сканирует штрих-код каждой карты, считывает флуоресценцию в лунках и интерпретирует результат. Связывание идентификатора образца с типом теста, разведением и результатами подсчета колоний происходит автоматически. Считывание карт TEMPO® AC после инкубации можно отложить, для чего необходимо хранить их при температуре $+2\text{ °C}/+8\text{ °C}$ в течение максимум 48 часов. в этом случае дайте картам достичь

комнатной температуры (в течение приблизительно 5–15 минут) перед тем, как вставить их в считывающее устройство.

В модуле управления **TEMPO** Admin нужно заранее задать активацию режима охлаждения и тип охлаждения.

Благодаря этой функции вместо результата теста появляется предупреждение «Карта была прочитана слишком поздно», которое затем заменяется сообщением об охлаждении карты.

3. Редактирование результатов: на экране станции считывания количество КОЕ на грамм или миллилитр исходного продукта соотносится с идентификатором образца, исследуемым параметром и датой анализа.
4. При помощи пользовательского интерфейса станции считывания вы можете распечатать результат, передать его в лабораторную информационную систему (ЛИС), а также просмотреть результаты, полученные в предшествующие дни.
5. По окончании теста удалите карты из штатива для инкубации и утилизируйте их надлежащим образом.

ОБРАЗЦЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ

Тип образца

Предлагаемый протокол может использоваться для различных типов образцов производственной среды, включая тампоны, чистящие салфетки, технологическую воду, пыль и туши. Учитывая разнообразие образцов производственной среды, данный протокол или иной протокол следует валидировать перед применением.

Приготовление

Выдержите первичный и вторичный разбавители до достижения комнатной температуры (+18 °C/+25 °C) (см. перечень рекомендованных разбавителей в разделе «Необходимые материалы и реагенты, не включенные в набор»).

При использовании устройства для сбора проб, которое уже содержит нейтрализующий разбавитель, убедитесь, что разбавитель указан в п. «Необходимые материалы и реагенты, не включенные в набор». Если он не указан, сначала выполните валидацию этого устройства для сбора проб.

Пример процедуры тестирования для тампонов с образцами производственной среды

Перенесите тампон в пробирку, содержащую 10 мл первичного разбавителя. Полученное разведение соответствует разведению образца 1/10 (**первичное разведение**). Осторожно гомогенизируйте суспензию, поболтав тампон в разбавителе. Отожмите тампон круговым движением о внутреннюю стенку пробирки. Рекомендуется использовать разведение образца минимум 1 к 40, что позволит произвести подсчет количества КОЕ на поверхности тампона в пределах от 10 до $4,9 \times 10^4$ (КОЕ/п или CFU/S). Величину разведения можно изменить в зависимости от предположительного уровня контаминации образца.

1. Возьмите нужное количество флаконов с питательной средой (один флакон на каждый исследуемый образец) и выдержите их до достижения комнатной температуры.

2. Установите дозатор с вторичным разбавителем на 3 мл. Удалите воздух из носика, трубок подачи жидкости, слив две первых порции разбавителя.
3. Выполните вход в систему на станции пробоподготовки TEMPO.
4. Следуя инструкциям пользовательского интерфейса станции пробоподготовки, внесите данные об образце: вручную введите идентификатор с клавиатуры или просканируйте его сканером штрих-кодов станции пробоподготовки.
5. Внесите в каждый флакон с сухой питательной средой 3 мл вторичного разбавителя с помощью дозатора.
6. Стерильной пипеткой наберите 1 мл раствора из пробирки с суспензией, полученной после обработки тампона разбавителем, и перенесите во флакон с восстановленной питательной средой. Гомогенизируйте в течение приблизительно 5 секунд на вортексе. 4 мл полученной инокулированной питательной среды соответствует разведению образца 1/40, взятого тампоном с поверхности внешней среды.
7. Измените указанное по умолчанию разведение в программном обеспечении TEMPO, введя «40» для получения разведения 1/40.
8. Следуйте методике TEMPO, описанной в разделе «Методика исследования образцов продуктов питания», с этапа 7 и далее.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

По завершении считывания результаты автоматически анализируются компьютером, который определяет положительные лунки.

На основе количества положительных лунок, их объема и степени разведения программа рассчитывает результат в КОЕ на грамм или миллилитр исходного образца по таблицам метода наиболее вероятного числа.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Качество реактивов TEMPO систематически проверяется на разных стадиях их производства. Пользователи, желающие провести контроль качества самостоятельно, чтобы удостовериться в правильном применении метода TEMPO, могут использовать следующие штаммы:

- *Escherichia coli* WDCM 00 013 ATCC® 25922™
- *Bacillus subtilis* WDCM 00 013 ATCC® 6633™

Рекомендованный протокол

- Различные стадии инкубации должны проходить при температуре $+30\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.
- Приготовьте суспензию 24-часовой культуры, выращенной на трипказо-соевом агаре, в пептонной воде и скорректируйте разведение до приблизительно 10^8 КОЕ/мл для *E. coli* и 10^7 КОЕ/мл для *B. subtilis* (что соответствует мутности от 0,4 ед. по стандарту McFarland до 0,8 ед. по стандарту McFarland, используя денситометр Densimat; см. раздел «Необходимые реактивы и материалы, не включенные в набор»). Приготовьте серию последовательных десятикратных разведений в пептонной воде до достижения концентрации около 10^2 КОЕ/мл. Для каждого из штаммов, перенесите 1 мл полученной суспензии во флакон с питательной средой, предварительно

разведенной 3 мл стерильной дистиллированной воды.

- Измените указанное по умолчанию разведение в программном обеспечении TEMPO, введя «4» для получения разведения 1/4.
- Измените единицу измерения по умолчанию в программном обеспечении TEMPO, выбрав «Без единицы».
- Заполните карты, используя по одному флакону с питательной средой на карту, и инкубируйте их.
- Одновременно проверьте концентрацию суспензии, использованной для посева на картах TEMPO, выполнив посев штрихом 0,1 мл суспензии 10^3 КОЕ/мл на TSA. Инкубируйте.
- После инкубации считайте результаты с карты.
- В конце инкубации чашек подсчитывают количество колоний на TSA.

Диапазон ожидаемых результатов

Для двух штаммов рассчитайте отношение R:

$$R = \frac{\text{Результат TEMPO (КОЕ/г)}}{\text{количество колоний на TSA}}$$

Значение R должно быть в диапазоне от 0,1 до 10.

Если полученные значения не совпадают с указанным диапазоном, обратитесь в компанию bioMérieux или ее местное представительство.

Пользователь несет ответственность за выполнение контроля качества в соответствии со всеми местными применимыми нормами и правилами.

ПРОЦЕДУРА ПОЛУЧЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКВИВАЛЕНТНА ЭТАЛОННОЙ МЕТОДИКЕ ВАМ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 35 °C (ЭТАЛОННАЯ МЕТОДИКА SMEDP ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 32 °C) (2)

Полную инструкцию см. в руководстве пользователя системы TEMPO.

Образец	Режим теста
Все образцы пищевых продуктов и производственной среды	22–28 ч

Процедура исследования образцов продуктов питания

Ниже приведен пример приготовления разведения 1/40, которое позволяет произвести подсчет микроорганизмов в пределах от 10 до $4,9 \times 10^4$ КОЕ/г. Разведение можно изменять в зависимости от предположительного уровня контаминации образца. Согласно этому протоколу могут использоваться только разбавители, перечисленные в п. «Необходимые материалы и реагенты, не включенные в набор».

1. Возьмите нужное количество флаконов с питательной средой (один флакон на каждый исследуемый образец) и выдержите их до достижения комнатной температуры.
2. Установите дозатор с вторичным разбавителем на 3 мл. Удалите воздух из носика, трубок подачи жидкости, слив две первых порции разбавителя.
3. Выполните вход в систему на станции пробоподготовки TEMPO.
4. Следуя инструкциям пользовательского интерфейса станции пробоподготовки, внесите данные об образце: вручную введите идентификатор с клавиатуры или просканируйте

его сканером штрих-кодов станции пробоподготовки.

5. Внесите в каждый флакон с сухой питательной средой 3 мл вторичного разбавителя с помощью дозатора.
6. Стерильной пипеткой отберите 1 мл раствора из отфильтрованного отделения пакета TEMPO® и перенесите во флакон с восстановленной питательной средой. Гомогенизируйте в течение приблизительно 5 секунд на вортексе. 4 мл полученной инокулированной питательной среды соответствует разведению образца 1/40.
7. Возьмите одну карту для каждого флакона с инокулированной питательной средой, **не дотрагиваясь** до кончика транспортировочной трубочки. Удостоверьтесь в том, что коды (цвета и аббревиатуры) на карте и флаконе с инокулированной питательной средой совпадают.
8. Соотнесите номер исследуемого образца со штрих-кодами соответствующей среды и карты при помощи сканера штрих-кодов станции пробоподготовки, следуя инструкциям, отображаемым программным обеспечением станции.
9. Поместите флакон с инокулированной питательной средой в штатив для заполнения. Вставьте карту в гнездо напротив флакона, поместив транспортировочную трубочку внутрь флакона. Штатив может вместить до шести флаконов и карт, а также позволяет одновременно заполнять от 1 до 6 карт TEMPO.
10. Поместите штатив в вакуумную станцию TEMPO Filler и начните цикл заполнения. Среда с посевом из флакона полностью аспирируется в карту. После заполнения карты, прибор TEMPO Filler обрезает и запаивает транспортировочные трубочки. Все операции выполняются автоматически и занимают около 3 минут. Цикл заполнения одинаков для всех карт и всех разведений, что позволяет одновременно заполнять разные карты с различными параметрами.
11. Удалите штатив для заполнения карт из прибора TEMPO Filler и визуально удостоверьтесь в том, что флаконы пусты. Выньте карты из штатива для заполнения и переместите в штатив для инкубации: вставьте карты в слоты таким образом, чтобы штрих-код карты был обращен к пользователю (к ручке штатива). Карты следует группировать в штативы для инкубации в зависимости от температуры инкубации. Каждый штатив рассчитан на 20 карт. Не вставляйте карты между слотами.
12. Утилизируйте использованные флаконы и транспортировочные трубочки надлежащим образом.
13. Инкубируйте карты в течение 22–28 часов:
 - при температуре $+35 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$, чтобы достичь уровней производительности, аналогичных тем, которые получены в соответствии с официальной методикой AOAC 966.23;
 - при температуре $+32 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$, чтобы достичь уровней производительности, аналогичных тем, которые получены в соответствии со стандартными методами исследования молочных продуктов (SMEDP) (2).

Методику TEMPO сравнивали с официальной методикой AOAC 966.23 и SMEDP (2). Исследование AOAC включало следующие категории пищевых продуктов и образцов производственной среды:

- мясо (свежий сырой говяжий фарш, жареная говядина);
- мясо птицы (свежий фарш из куриной грудки, промытые тушки цыплят);
- еда из морепродуктов (сырая свежая треска, прошедшая тепловую обработку замороженная белая рыба);
- фрукты и овощи (салат из свежих фруктов, свежие помидоры);
- молочные продукты (пастеризованное молоко, ванильное мороженое);
- другие пищевые продукты (миндаль, пастеризованные жидкие яйца, сухой лук);
- корм для животных (сухие корма для домашних животных);
- образцы производственной среды (поверхности из нержавеющей стали).

Примечание. Время инкубации для каждого теста регулируется программным обеспечением прибора TEMPO Read, которое добавляет теоретический 15-минутный интервал между считыванием штрих-кода карты и началом инкубации.

Если фактический интервал больше 15 минут (но не превышает 2 часа), это дополнительное время следует добавить к оставшемуся времени инкубации, отображаемому программным обеспечением прибора TEMPO Read. Считывание должно быть выполнено в течение установленного программой ограниченного периода времени.

Сканирование информации с карт после инкубации

1. Выполните вход в систему на станции считывания.
2. Вставьте инкубационный штатив с картами в считывающее устройство для их считывания. Считывающее устройство сканирует штрих-код каждой карты, считывает флуоресценцию в лунках и интерпретирует результат. Связывание идентификатора образца с типом теста, разведением и результатами подсчета колоний происходит автоматически. Считывание карт TEMPO AC после инкубации можно отложить, для чего необходимо хранить их при температуре +2 °C/+8 °C в течение максимум 48 часов. в этом случае дайте картам достичь комнатной температуры (в течение приблизительно 5–15 минут) перед тем, как вставить их в считывающее устройство. В модуле управления **TEMPO** Admin нужно заранее задать активацию режима охлаждения и тип охлаждения. Благодаря этой функции вместо результата теста появляется предупреждение «Карта была прочитана слишком поздно», которое затем заменяется сообщением об охлаждении карты.
3. Редактирование результатов: на экране станции считывания количество КОЕ на грамм или миллилитр исходного продукта соотносится с идентификатором образца, исследуемым параметром и датой анализа.

4. При помощи пользовательского интерфейса станции считывания вы можете распечатать результат, передать его в лабораторную информационную систему (ЛИС), а также просмотреть результаты, полученные в предшествующие дни.
5. По окончании теста удалите карты из штатива для инкубации и утилизируйте их надлежащим образом.

ОБРАЗЦЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ

Тип образца

Предлагаемый протокол можно использовать для проб, взятых с поверхности оборудования, столов или рук персонала при помощи предварительно увлажненных тампонов, или для проб со столов, взятых очищающими салфетками или губками. Учитывая разнообразие образцов производственной среды, данный протокол или иной протокол следует валидировать перед применением.

Приготовление

Сразу после протирки столов тампоном или салфеткой перенесите использованный тампон или салфетку/губку прямо в пробирку с заданным объемом одного из рекомендованных первичных разбавителей. Полученное разведение является первичным разведением образца.

Пример процедуры тестирования для тампонов с образцами производственной среды

Перенесите тампон в пробирку, содержащую 10 мл первичного разбавителя. Полученное разведение соответствует разведению образца 1/10 (**первичное разведение**). Осторожно гомогенизируйте суспензию, поболтав тампон в разбавителе. Отожмите тампон круговым движением о внутреннюю стенку пробирки. Рекомендуется использовать разведение образца минимум 1/40, что позволит произвести подсчет количества КОЕ на поверхности тампона в пределах от 10 до $4,9 \times 10^4$ (КОЕ/п или CFU/S). Величину разведения можно увеличить в зависимости от предположительного уровня контаминации образца.

1. Возьмите нужное количество флаконов с питательной средой (один флакон на каждый исследуемый образец) и выдержите их до достижения комнатной температуры.
2. Установите дозатор с вторичным разбавителем на 3 мл. Удалите воздух из носика, трубок подачи жидкости, слив две первых порции разбавителя.
3. Выполните вход в систему на станции пробоподготовки TEMPO.
4. Следуя инструкциям пользовательского интерфейса станции пробоподготовки, внесите данные об образце: вручную введите идентификатор с клавиатуры или просканируйте его сканером штрих-кодов станции пробоподготовки.
5. Внесите в каждый флакон с сухой питательной средой 3 мл вторичного разбавителя с помощью дозатора.
6. Стерильной пипеткой наберите 1 мл раствора из пробирки с суспензией, полученной после обработки тампона разбавителем, и перенесите во флакон с восстановленной питательной средой. Гомогенизируйте в течение приблизительно 5 секунд на вортексе. 4 мл полученной

инокулированной питательной среды соответствует разведению образца 1/40 взятого тампоном с поверхности внешней среды.

7. Следуйте методике TEMPO, описанной в разделе «Методика исследования образцов продуктов питания», с этапа 7 и далее.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

По завершении считывания результаты автоматически анализируются компьютером, который определяет положительные лунки.

На основе количества положительных лунок, их объема и степени разведения программа рассчитывает результат в КОЕ на грамм или миллилитр исходного образца по таблицам метода наиболее вероятного числа.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Качество реактивов TEMPO систематически проверяется на разных стадиях их производства. Пользователи, желающие провести контроль качества самостоятельно, чтобы удостовериться в правильном применении метода TEMPO, могут использовать следующие штаммы:

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™
- *Bacillus subtilis* ATCC® 6633™

Рекомендованный протокол

- Различные стадии инкубации должны проходить при температуре $+35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Приготовьте суспензию 24-часовой культуры, выращенной на трипказо-соевом агаре, в пептонной воде и скорректируйте разведение до приблизительно 10^8 КОЕ/мл для *E. coli* и 10^7 КОЕ/мл для *B. subtilis* (что соответствует мутности от 0,4 ед. по стандарту McFarland до 0,8 ед. по стандарту McFarland, используя денситометр Densimat; см. раздел «Необходимые реактивы и материалы, не включенные в набор»). Приготовьте серию последовательных десятикратных разведений в пептонной воде до достижения концентрации около 10^2 КОЕ/мл. Для каждого из штаммов, перенесите 1 мл полученной суспензии во флакон с питательной средой, предварительно разведенной 3 мл стерильной дистиллированной воды.
- Измените указанное по умолчанию разведение в программном обеспечении TEMPO, введя «4» для получения разведения 1/4.
- Измените единицу измерения по умолчанию в программном обеспечении TEMPO, выбрав «Без единицы».
- Заполните карты, используя по одному флакону с питательной средой на карту, и инкубируйте их.
- Одновременно проверьте концентрацию суспензии, использованной для посева на картах TEMPO, выполнив посев штрихом 0,1 мл суспензии 10^3 КОЕ/мл на TSA. Инкубируйте.
- После инкубации считайте результаты с карты.
- В конце инкубации чашек подсчитывают количество колоний на TSA.

Диапазон ожидаемых результатов

Для двух штаммов рассчитайте отношение R:

$$R = \frac{\text{Результат TEMPO (КОЕ/г)}}{\text{количество колоний на TSA}}$$

Значение R должно быть в диапазоне от 0,1 до 10.

Если полученные значения не совпадают с указанным диапазоном, обратитесь в компанию bioMérieux или ее местное представительство.

Пользователь несет ответственность за выполнение контроля качества в соответствии со всеми местными применимыми нормами и правилами.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Неправильное заполнение карты (пустые лунки и/или остатки суспензии во флаконе после цикла заполнения) может привести к получению ложных результатов: например, при использовании пакетов для пробоподготовки, отличных от рекомендованных (см. раздел «Необходимые материалы и реагенты, не включенные в набор»).
- Неправильная подготовка или хранение образцов может привести к неверным результатам.
- **Предупреждение!** Параметры методики анализа TEMPO® AC проверяли на большом количестве образцов продуктов питания. Тем не менее, принимая во внимание разнообразие образцов и процессов производства, необходимо удостовериться, что компоненты исследуемых образцов не влияют на результаты анализа. в частности, флуоресцентный сигнал может изменяться при интенсивной окраске первичного разведения (например, фруктовые пюре и какао): для теста TEMPO® AC рекомендуется разведение таких образцов не менее 1/400.
- Для диетических пищевых продуктов, например, продуктов, богатых витамином С и сырых мидий, рекомендуется разведение более 1/40.
- Реагент TEMPO AC позволяет выполнить подсчет общего количества аэробных мезофильных микроорганизмов, как это указано в стандартных протоколах. Условия инкубации могут быть не оптимальными для медленно растущих бактерий, таких как некоторые молочнокислые бактерии. Поэтому лабораториям, тестирующим продукты, которые могут содержать этот тип микроорганизмов, например, ферментированные продукты, рекомендуется проводить внутреннюю проверку.

Полную инструкцию по системе TEMPO см. в руководстве пользователя.

Параметры методики анализа TEMPO® AC были одобрены в соответствии со стандартом EN ISO 16140-2 (11) в качестве альтернативной методики анализа всех пищевых продуктов, предназначенных для употребления человеком, кормов для домашних животных и образцов производственной среды. Методика TEMPO® AC была сертифицирована NF VALIDATION в сравнении с эталонной методикой, описанной в международном стандарте EN ISO 4833 (1).

Валидационный сертификат BIO 12/35 - 05/13 можно получить в нашей службе технической поддержки или в AFNOR Certification (Французская ассоциация по стандартизации). в сертификате указывается дата окончания действия сертификации NF Validation.



BIO 12/35 - 05/13
АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ
АГРОПРОМЫШЛЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА
Сертифицировано AFNOR Certification
<http://nf-validation.afnor.org/en>

Тест TEMPO® AC для подсчета жизнеспособных аэробных мезофильных микроорганизмов в различных образцах продуктов питания и производственных сред был утвержден AOAC Research Institute в декабре 2012 года (Сертификат № 121204).



121204 – 12/19/12
Метод проверенный на продуктивность
Сертифицировано AOAC Research Institute
www.aoc.org

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Неиспользованные карты могут считаться неопасными отходами и соответственно утилизироваться.

Все использованные либо неиспользованные флаконы с питательной средой TEMPO® AC, а также любые другие контаминированные расходные материалы следует утилизировать в соответствии с процедурами по утилизации инфекционных или потенциально инфекционных материалов.

Каждая лаборатория обязана обращаться с полученными отходами и стоками в соответствии с их типом и степенью опасности, а также обрабатывать и утилизировать их в соответствии с установленными правилами и нормами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms*. - Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. - EN ISO 4833-1
2. American Public Health Association (2004) 17th Edition. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, APHA Washington DC.
3. Cochran W.G. Estimation of bacterial densities by means of the "Most Probable Number". (1950) *Biometrics* 6, 105-116.
4. Woodward R.L. How probable is the most probable number? (1957) *J. Am. Water Works Assoc.*, 49, 1060, 1068.
5. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*. Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products. - EN ISO 6887-5
6. Bacteriological Analytical Manual Online, BAM Chapter 3 "Aerobic Plate Count".
7. Bacteriological Analytical Manual Online BAM Reagent R11.
8. Bacteriological Analytical Manual Online BAM Media M79.
9. *Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological*

examination. Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products. - EN ISO 6887-4

10. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examinations*. - EN ISO 7218
11. *Microbiology of the food chain - Method validation - Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method*. - EN ISO 16140-2

ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Изготовитель
	Температурный диапазон
	Использовать до
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Дата изготовления
	Запрет на повторное применение

ОГРАНИЧЕННАЯ ГАРАНТИЯ

Компания bioMérieux гарантирует, что рабочие характеристики данного изделия соответствуют указанному предусмотренному назначению в течение всего срока эксплуатации при условии, что строго соблюдены все процедуры по использованию, хранению и обработке и меры безопасности, как подробно изложено в инструкциях по эксплуатации. За исключением вышеуказанных случаев, компания bioMérieux не дает никаких гарантий, в том числе подразумеваемых гарантий товарного качества и гарантий соответствия предполагаемому использованию, и не дает никаких обязательств, в том числе явно выраженных, подразумеваемых или косвенных, в отношении использования какого-либо реагента, программного обеспечения, прибора и расходных материалов (далее — «Система»), отличного от указанного в инструкциях по эксплуатации.

ИСТОРИЯ ПЕРЕСМОТРОВ**Категории типов изменений:**

Н/П	Не применимо (первое издание)
Корректурa	Исправление ошибок в документации
Технические изменения	Добавление, пересмотр и/или удаление касающейся продукта информации
Административные изменения	Введение изменений нетехнического характера, заслуживающих внимания пользователя

Примечание. Незначительные типографские, грамматические изменения и изменения в форматировании в историю пересмотров не включены.

Дата выпуска	Номер версии	Тип изменений	Обзор изменений
2019/07	9301732D	Технические изменения	Контроль качества (ISO 4833-1 ЭТАЛОННЫЙ МЕТОД при 30 °C): добавление ссылок на WDCM
		Административные изменения	Состав набора Образцы продуктов питания Процедура Список литературы Таблица символов и обозначений Ограниченная гарантия Создание истории пересмотров

Для получения технической консультации и поддержки просьба обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории Российской Федерации:

ООО «биоМерье Рус»

Адрес: Россия, 115230, Москва, 1-ый Нагатинский проезд, д. 10, стр. 1

Тел./факс: +7(495) 221 10 79

Телефон горячей линии: 8 (800) 250 10 79

e-mail: info.russia@biomerieux.com

веб-сайт: www.biomerieux-russia.com

BIOMERIEUX, логотип BIOMERIEUX и TEMPO являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux или одной из дочерних или входящих в ее группу компаний.

Товарный знак DIFCO принадлежит Difco Laboratories Incorporated Corporation.

Товарный знак и товарное имя ATCC, а также любые номера по каталогу ATCC – товарные знаки компании American Type Culture Collection.

Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com