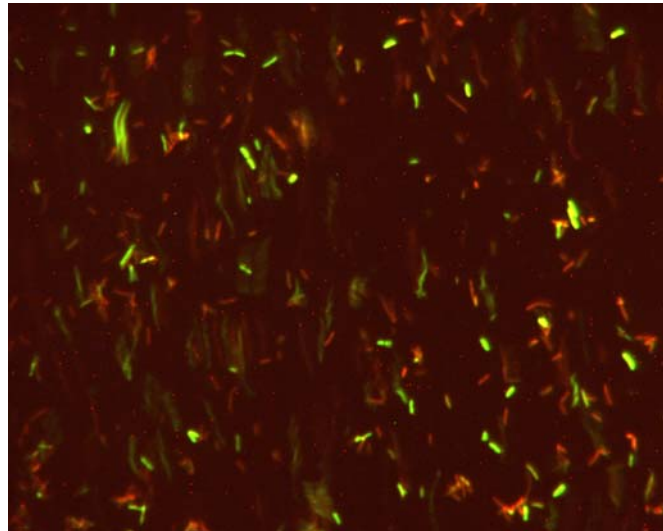


CytoScience SMR

Ein neues revolutionäres Design eines Fluoreszenzmikroskopes zur "Vor – Ort" Hygienekontrolle und zum mikrobiologischen Testen von Flüssigkeiten oder Abstrichen in Verbindung mit **LTeasy**



Das unkonventionelle Design dieses Fluoreszenzmikroskopes zeichnet sich durch die folgenden Punkte aus:
Günstig
Einfach zu benutzen
Staub und Wassergeschützt
Mobil
Robust
Kann durch einen Akku betrieben werden
LED als Lichtquelle
Spezifikation
Hellfeld und Fluoreszenzbeleuchtung
Fluoreszenzlicht: 460-490nm
Emission: 505-650nm
Objektiv x40 NA 0..65
160mm hoch x 60mm Durchmesser
Nur 2.7 kg
C Mount Anschluß

LTeasy – Schnelle Mikrobiologie






5 Schritte und 30 Minuten nach Probenahme bis zum Ergebnis

Optional
X-Y Tisch (vor. ab 2007)
Fluoreszenzkamera

Mobiler mikrobiologischer Arbeitsplatz		
Beschreibung	Anzahl	Preis
Fluoreszenzmikroskop E4	1	Günstiger als Sie denken
Vakuumpumpe KNF N 86 KN.18	1	
Membranfiltrationsstand 12 mm	1	
Silikonstopfen		
3-er Leiste	a.A	
Vakuumschlauch	1	
Saugflasche, Nalgene, 1000 ml, Polypropylene	1	
Pipette 100 – 1000µl	1	
Pipettenspitzen 1000µl, bestehend aus 1 Arbeitsbox und 5 Nachfülltrays	1	
Pipette 10 – 100µl	1	
Pipettenspitzen 200µl, bestehend aus 1 Arbeitsbox und 5 Nachfülltrays	1	
Pinzette, gerad, spitz 115 mm	2	
Objektträger, Superior, halbweiß, geschnitten, 76 x 26mm	10	
Deckgläser, 15 x 15 mm, Packungen á 1000 Stück	1	
Schnelltests zur Bestimmung des Lebend/Tod Keimgehaltes Leasy , Art.Nr. 1004 zur Bestimmung Gram(-), gram(+) und Hefen 10 Einheiten á 10 Kits (1000 µl)	5	
Membranfilter 13 mm, Packungen á 100 Stück	5	
Koffer, Stanley Edelstahl Werkzeug Box		
Arbeitsanleitung	1	
Inbetriebnahme / Einweisung (in Deutschland, sonst nach Aufwand)	1	



- Was wird alles zur Durchführung von **LTeasy** benötigt

Ein kleiner Membranfilterstand mit Vakuumpumpe, ein paar Pipetten, ein kleines Wasserbad 37°Celsius, ein Fluoreszenzmikroskop (gibt es transportabel, dazu finden Sie im Anhang einige Informationen)

- Durchführung

Probe wird 10 Minuten bei 37°C temperiert, abfiltriert, der Membranfilter wird auf ein mit einer Farbelöung getränktes Pad gelegt, 10 Minuten temperiert, der Filter wird gesamt unter dem Mikroskop ausgewertet

- welche Keimflora kann man damit erfassen

Hefen Bakterien Schimmelpilze - der Nachweis ist unspezifisch, die morphologische Form bleibt erhalten

- bis zu welcher Keimzahl (nach unten und oben) ist die Methode zuverlässig bzw. vergleichbar mit der herkömmlichen Methode validiert ist die Methode bis in den statistischen Bereich < 10 Keime pro Probe im Vergleich mit cfu aus Übernachtkulturen mit Pseudomonas, Staph. Aureus, Lactobacillus, Candida

- welche Produkte (Getränke) können untersucht werden

alle Produkte - sofern sie filtrierbar sind, die Keime müssen auf den Filter

- welcher finanzielle Aufwand ist für eine Grundausstattung zu erwarten

Die Grundausstattung besteht aus

- einem Routinemikroskop zur Durchführung fluoreszenzoptischer und klassischer mikrobiologischer Analysen (Hellfeld, Dunkelfeld und Fluoreszenz) mit 10x und 40x Vergrößerung und 10x Weitfeldokular,
- dem notwendigen Fluoreszenz – Doppelanregungsfiltersatz,
- einem Arbeitsplatz zur Durchführung von Membranfiltrationen

bestehend aus einem Filterstand für 13 mm Filtermembranen, einer Vakuumpumpe (<200 mbar Enddruck), einer Woulfischen Flasche und den notwendigen Schlauchverbindungen,

- der notwendigen Laborausrüstung zum Temperieren der Probe

(Wasserbad mit 5 L Inhalt, 20 – 60°C, Plexiglasgefäß), 3 variablen Pipetten (2 - 20 µl, 100 – 1000 µl, 250 – 2500 µl) mit Pipettenspitzen (Erstausrüstung), 1 Schere, 2 Pinzetten, den Probeflaschen, Petrischalen, Objektträgern und Deckgläsern,

Erweiterungen wie z.B. digitale Dokumentationssysteme (Bilddatenbanken etc.) können auch durch uns bereitgestellt werden.

Standardarbeitsanweisung für den Nachweis von Mikroorganismen in flüssigen Proben

- Benötigte Materialien:
 - Membranfilterstand mit Vakuumpumpe
 - Pipetten mit sauberen Pipettenspitzen
 - Membranfilter (0,45 µm)
 - Pinzette
 - Schere oder Skalpell
 - Verschießbare 10 ml Gefäße zum Temperieren
 - Wasserbad (37 °C)
 - Objektträger und Deckgläser, Filterpapier
 - Steriles, membranfiltriertes Wasser
 - Evtl. Tris-Puffer zum Waschen des Filters nach der Probenfiltration: 0.1 M Puffer mit 120 mM NaCl, pH7, steril (entspricht pro Liter membranfiltriertes Wasser (Bidest) 12.114 g Tris, 5.96 g NaCl, pH mit 25%iger HCL einstellen, dann autoklavieren).
- Die Reagentien (Färbereagenz mit roter Kappe, Färbereagenz mit grüner Kappe und die Mikroskopierflüssigkeit) werden bereitgestellt und auf Raumtemperatur temperiert

Ausmischen der Färbelösung

- Das Färbereagenz mit der roten Kappe enthält sowohl den Puffer als auch die Färbechemikalien I (**ROT**)
- Das Färbereagenz mit der grünen Kappe enthält den Lebend Farbstoff (10 µl) (**GRÜN**).
- Das Vial mit der grünen Kappe wird vorsichtig geöffnet, der Deckel mit der Unterseite nach oben griffbereit zur Seite gelegt.
- Das Vial mit der roten Kappe wird geöffnet, es wird die Gesamtmenge entnommen (990 µl) und in das offene Vial (**GRÜN**), pipettiert. Anschließend wird es wieder mit der grünen Kappe verschlossen und kräftig geschüttelt.
- Dies ist die fertige Gebrauchslösung, ergibt 1000 µl Gebrauchslösung E, hält sich bei 4° C ein bis zwei Tage, reicht für 12 Proben.

Färbung:

- kleine Petrischale
- Filterpad mit glatter Seite nach oben in die Petrischale legen
- 80 µl Gebrauchslösung E auf das Pad pipettieren
- 35 ml Probe auf sterilem Glasstand auf weissen Polycarbonatfilter abfiltrieren. !!! Probe nicht zu lange Unterdruck aussetzen, da Bakterien noch leben!!!
- FEUCHTEN !!! Filter vom Stand nehmen
- SOFORT Viereck aus dem Filter ausschneiden
- SOFORT auf getränktes Pad legen
- In 37°C Umgebung 10 min inkubieren
- Filter trocken
- Mit 2 Tropfen der Mikroskopierflüssigkeit überschichten – 3 Minuten warten
- Deckglas auflegen, anpressen, Flüssigkeitsüberstand mit Filterpapier aufnehmen

-wichtig-

das Pad darf nicht mit Alkohol in Berührung kommen. Dies kann z.B. über die Pinzette oder durch offenes Liegen an Luft geschehen, in der Alkohol durch z.B. das Reinigen von Arbeitsflächen enthalten ein kann. Wenn dieser Ratschlag nicht beachtet wird, kann es zu deutlichen Rot- oder Grünfärbungen des Hintergrundes kommen.

Die ausgezählte Zellzahl entspricht den Zellen im filtrierte Probevolumen

Der Objektträger wird untergelegt und die gesamte Filterfläche wird kontrolliert.

- „Lebende Keime“ leuchten grün auf
- „tote Keime“ leuchten rot auf

Anmerkung:

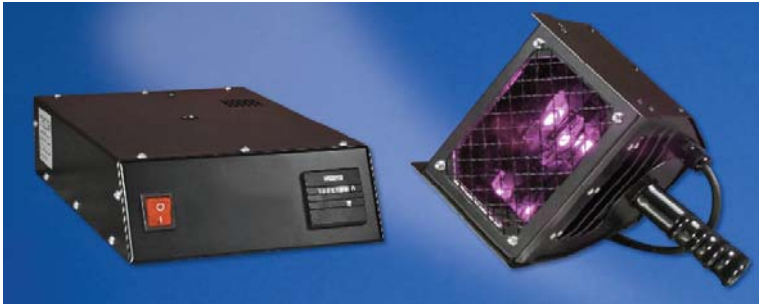
Falls der Hintergrund zu schnell grün wird oder die lebenden Keime nicht gut zu sehen sind, kann das Waschen des Filters mit 0,1 M Tris Lösung Matrixeffekte der Probe mit den Färbereagentien abschwächen.

Oberflächenkontrolle auf Verschmutzungen

Während der letzten Jahre ist es immer wichtiger geworden, saubere Produkte abzufüllen. Der Verbraucher fragt "kalt – sterile" abgefüllte Biere verstärkt nach. Damit wird es immer wichtiger, die hygienischen Bedingungen des Abfüllprozesses zu verbessern. Neben des optischen Eindruckes der Sauberkeit ist es notwendig, die mikrobiologische Situation des Füllprozesses sicherzustellen. Das Grundprinzip mikrobiologischer Analysen beruht auf der Vermehrung von Mikroorganismen. Daher dauert es immer einige Tage, bis die Ergebnisse vorliegen. Neue Strategien sind notwendig, um schneller eine Verunreinigung detektieren zu können.

1.) Detektion of Rückständen auf Oberflächen ohne Probenvorbereitung:

Auf Grund der optischen Eigenschaften von Bier und anderen möglichen Verunreinigungen wie Fetten oder Salzen ist eine Detektion nur mit Licht möglich. Die nachstehend abgebildete Mitteldruck-Halogenlampe ist mit einem Schwarzlichtfilter ausgestattet und emittiert Licht im Wellenlängenbereich von 310 to 405 nm (Bild 1).



Zwei Beispiele zeigen die Beleuchtung eines Bierfüllers mit dieser Lampe. Bild 2 zeigt deutlich Rückstände auf dem Füllertisch und erlaubt damit z.B. die Optimierung automatischer Reinigungssysteme.

