

** 2023年 4月改訂
* 2022年 9月改訂

リステリア・モノサイトゲネス検出用簡易培地

** コンパクトドライ™ LM

** —— 開発の経緯および特徴 ——

食品の安全性を確保する上で、食品や環境中の微生物数を測定することは極めて重要です。従来より行われている寒天培地を用いた培養検査は、培地の準備や試料の塗抹操作に多くの労力と経験を必要としていました。

コンパクトドライ™ LMは、このような負担を軽減し、リステリア・モノサイトゲネス (*Listeria monocytogenes*) の定性または定量試験に用いることができる簡易培地です。

[特 徴]

- 1) コンパクトなサイズなので場所をとりません。
- 2) 培地調製の必要がありません。
- 3) 接種した試料液は自然に均一に拡散します。
- 4) 室温で保存可能です。
- 5) 24-48時間で判定ができます。
- 6) 発色酵素基質によりコロニーの発色が明瞭で、釣菌も容易にできます。

—— 操 作 法 ——

< 定性試験 >

[試料の調製]

1. 固形食品材料や水、液状食品の定性試験

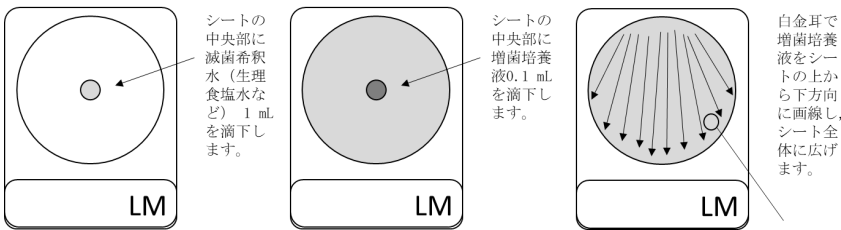
材料に9倍量の half-Fraser 液体培地を添加し、ストマッカーで均質化し、30 ± 1℃で25 ± 1時間増菌培養します。

2. ふき取り材料の定性試験

綿棒などで食品や環境材料をふき取ったふき取り液全量に対し、9倍量の half-Fraser 液体培地を添加します。30 ± 1℃で25 ± 1時間増菌培養します。

[使用法]

- 1) アルミ袋を開封し、4連のプレートを取り出します。
- 2) 検査に必要な枚数のプレートを折り曲げて切り離します。
- 3) プレートのフタを開け、シートの中央部に滅菌希釈水（生理食塩水など）1mLを滴下し、シート全体をゲル化させます。
- 4) シートの中央部に増菌培養液0.1mLを滴下し、独立コロニーを得るために、白金耳で増菌培養液をシートの上から下方向に軽くすべらせるように画線し、シート全体に広げます。
- 5) フタをした後、倒置しフラン器に入れて、37 ± 1℃で24 ± 2時間培養します。リステリア・モノサイトゲネス推定コロニーの発育が認められた場合、この段階で培養を止めることができます。認められない場合、さらに37 ± 1℃で24 ± 2時間の培養を追加します。



< 定量試験 >

[試料の調製]

1. 固形食品材料の菌数測定

材料に9倍量の緩衝ペプトン水 (Code 05121 緩衝ペプトン水 BPW ISO 組成) を添加し、ストマッカーで均質化します。試料液1mL (必要に応じて希釈する) を取り、本品に接種します。

2. 水や液状食品の菌数測定

試料液1mL (必要に応じて希釈する) をそのまま本品に接種します。

** 3. ふき取り材料の菌数測定

綿棒などで食品や環境材料をふき取ったふき取り液1mL (必要に応じて希釈する) を本品に接種します。

簡易ふき取りキット (BPW) ガンマ線滅菌 (コード 06537) や簡易ふき取りキット (PBS) CC ガンマ線滅菌 (コード 06538) を使用すると便利です。

[使用法]

- 1) アルミ袋を開封し、4連のプレートを取り出します。
- 2) 検査に必要な枚数のプレートを折り曲げて切り離します。段階希釈した試料液を接種するときは切り離さずそのまま使用すると便利です。
- 3) プレートのフタを開け、シートの中央部に試料液1mLを接種します。試料液はシート全体 (培地面積は20 cm²) に均一に広がりゲル化します。
- 4) フタをした後、倒置しフラン器に入れて、37 ± 1℃で24 ± 2時間培養します。リステリア・モノサイトゲネス推定コロニーの発育が認められた場合、この段階で培養を止めることができます。認められない場合、さらに37 ± 1℃で24 ± 2時間の培養を追加します。

—— 操作上の留意事項 ——

< 定性試験および定量試験共通 >

- 1) 試料の接種に際しては、落下菌による汚染や培地面に手指が触れるなどの汚染に注意してください。

- 2) 培養中の乾燥を防ぐため、フタはしっかりと閉めてください。
- 3) 食材片の持ち込みによる影響を防ぐため、なるべくフィルター付きストマッカー袋を使用してください。

< 定性試験 >

- 4) 画線に際しては、シートがずれないように、強く力を入れず、シートの表面を軽くすべらせるように行ってください。白金耳はループの直径が大きくなめらかなものが適しています。

< 定量試験 >

- 5) 試料は1プレートあたり300 cfu以下になるように希釈水などで希釈してから接種してください。
- 6) 食品自体が培地の反応に影響を与えるものは、希釈水などで希釈する等、その原因を取り除いてから接種してください。
例：粘度の高いもの、濃く着色したもの、発色酵素基質と反応するもの、pHが極端に高いまたは低いもの。

—— 判 定 法 ——

[判 定 法]

< 定性試験 >

- 1) 周囲が青色の赤色コロニー、または赤色コロニーを認めた場合、リステリア・モノサイトゲネス推定陽性と判定します。
- 2) リステリア・モノサイトゲネスの菌数が多い場合にはコロニーが形成されず、シート全体または画線部分が赤色に着色ようになります。この場合も推定陽性と判定します。

< 定量試験 >

- 3) 周囲が青色の赤色コロニー、または赤色コロニーをリステリア・モノサイトゲネス推定コロニーと判定し、カウントします。

< 定性試験および定量試験共通 >

- 4) リステリア・モノサイトゲネス推定コロニーの発育が認められた場合、「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」(食安発 1128 第2号) および ISO11290-1:2017、ISO11290-2:2017に記載の方法、またはその他の方法により確認試験を行ってください。

[判定上の注意事項]

- 1) リステリア・イバノビ (*Listeria ivanovii*) もリステリア・モノサイトゲネスと同様に周囲が青色の赤色コロニー、または赤色コロニーを形成します。
 - 2) リステリア・モノサイトゲネスおよびリステリア・イバノビ以外のリステリア属菌は青～緑色コロニーを形成します。リステリア属菌以外の細菌は、培地中の選択剤により発育が抑制されるか、発育しても発色しません。まれに一部の *Bacillus* 属菌が比較的大きく扁平な橙色コロニーを形成する場合があります。
 - 3) リステリア・モノサイトゲネスは赤色のほか、橙色、赤褐色または赤紫色に発色する場合があります。
 - 4) プレートの下に白い紙などを置いて確認するとコロニーが見やすくなります。
- **5) コンパクトドライ™ LMの面積は20 cm²です。また、プレート底面には計測に便利な格子 (1 cm × 1 cm) を薄くつけてあります。定量試験において菌数が多い場合は、代表的な格子内のコロニー数を算出して、その数に20を掛けて菌数を算出します。

—— 使用上または取扱い上の注意事項 ——

1. 一般的な注意事項

- 1) この添付文書をよく読み、記載された操作法、注意に従って使用してください。
- 2) 使用期限を過ぎた製品は品質を保証できないので使用しないでください。
- 3) 使用前に容器の破損、異物混入、変色、吸湿等の異常が認められた培地は使用しないでください。
- 4) 残ったプレートは、アルミ袋に入れ、テープ止めをして防湿および遮光保存し、早めに使用してください。

2. 危険防止上の注意事項

- 1) 試薬等が目や口に入った場合には、水で十分に洗い流し、医師に相談し、指示を受けてください。
- 2) 微生物の取り扱いには常に感染の危険があるので、取り扱いにあたっては熟練した人の指導のもとに、バイオハザード対策を実施したうえで使用してください。
- 3) 検体に接触した器材、培地等は感染の危険があるものとして取り扱ってください。

3. 廃棄上の注意事項

使用済みの培地は高圧蒸気滅菌したのちに廃棄してください。

—— 貯法・使用期限 ——

[貯 法]

室温 (1 ~ 30℃) に保存してください。

* [使用期限]

製造後24ヶ月間。
外箱のラベルおよびプレートのアルミ袋に使用期限を表示してあります。

** —— 包装単位 ——

コンパクトドライ™ LM	40枚	Code 06531
コンパクトドライ™ LM	240枚	Code 06532

** —— 問い合わせ先 ——

〒110-0005 東京都台東区上野3-24-6
島津ダイアグノスティクス株式会社 カスタマーサポート担当
電話：03(5846)5707

** 製造販売元

島津ダイアグノスティクス株式会社

東京都台東区上野3-24-6 〒110-0005 TEL 03(5846)5611 (代)

** CompactDry™ LM

Simple and Easy Dry Media for *Listeria monocytogenes*

** Background

It is important to detect and determine the bacterial number in foodstuffs and environment to monitor the degree of cleanness as well as their sanitary safety. The conventional method using an agar medium requires much time and complicated operations such as preparation of hot agar, mixing and dilution uniformly and/or smearing.

CompactDry™ LM is a simplified medium for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, which reduces such the operate time and the operations.

Features and Benefits

- 1) Small and compact plate: Need only small physical spaces for storing, testing and incubating.
- 2) Ready to use and portable plate: No need to prepare medium, which eliminates waste of medium as well as apparatus to prepare the medium. Good for an emergency and a field test.
- 3) Sample diffuses automatically and evenly into a plate.
- *4) Easy to store: Twenty-four (24) month shelf life at room temperature.
- 5) Measurable after incubation for 24 - 48 hours.
- 6) Red colonies with or without blue surrounds for presumptive *Listeria monocytogenes* are observed by chromogenic substrates, and fishing of colonies is easy.

Intended Use

This product is intended for use by microbiologists for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in food and related samples.

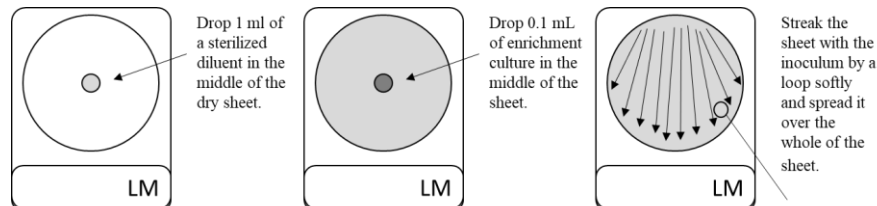
Operating Procedure for Detection

Preparation of specimen

- 1) Detection in solid foodstuffs, water or liquid foodstuffs
Add 9 times volume of half-Fraser broth to the sample, and homogenize by Homogenizer. Incubate at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ for 25 ± 1 hours for enrichment culture.
- 2) Detection in wiped sample
Add 9 times volume of half-Fraser broth to the wiping solution. Incubate at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ for 25 ± 1 hours for enrichment culture.

Direction

- 1) Open aluminum pouch, and take out a set of 4 plates.
- 2) Detach the quantity you need from a set of four by bending up and down while pressing the lid.
- 3) Take off the lid of the plate, and drop 1 ml of a sterilized diluent (ex. saline) in the middle of a dry sheet to transform the whole of the sheet to gel.
- 4) Drop 0.1 mL of enrichment culture in the middle of the sheet. Streak the sheet with the inoculum from top to bottom by a loop softly and spread it over the whole of the sheet in order to get single colonies.
- 5) Turn over the capped plate after putting the lid again, and then incubate for 24 ± 2 hours at $37 \pm 1^\circ\text{C}$. If colonies of presumptive *L. monocytogenes* are evident, the incubation may be stopped at this stage. If they are not evident, incubate for additional 24 ± 2 hours at $37 \pm 1^\circ\text{C}$.



Operating Procedure for Enumeration

** Preparation of specimen

- 1) Viable count in solid foodstuffs
Add 9 times volume of Buffered Peptone Water (BPW ISO) (Code 05121) to the sample, and homogenize by Homogenizer. Pipette 1mL of homogenized specimen (to be further diluted if necessary) in the middle of a dry sheet of CompactDry™ LM.
- 2) Viable count in water or liquid foodstuffs
Pipette 1mL of liquid sample (to be diluted if necessary) in the middle of a dry sheet of CompactDry™ LM.
- 3) Viable count in wiped sample
Inoculate 1mL of wiping solution (to be diluted if necessary) in the middle of a dry sheet of CompactDry™ LM. It is recommended to use Swab Test ST-25PBS (Code 06698) available as an optional kit.

Direction

- 1) Open aluminum pouch, and take out a set of 4 plates.
- 2) Detach the quantity you need from a set of four by bending up and down while pressing the lid. Use a set of four plates being connected when a series of diluted samples is inoculated.
- 3) Take off the lid of the plate, and drop 1 ml of specimen in the middle of a dry sheet. Specimen diffuses automatically and evenly into all over the sheet (a medium size of 20 cm^2) to transform it into gel.
- 4) Turn over the capped plate after putting the lid again, and then incubate for $24 + 2$ hours at $37 + 1^\circ\text{C}$. If colonies of presumptive *L. monocytogenes* are evident, the incubation may be stopped at this stage. If they are not evident, incubate for additional $24 + 2$ hours at $37 + 1^\circ\text{C}$.

Precaution for use

Precaution for Detection and Enumeration

- 1) During inoculation, do not touch the surface of medium and/or tip of dropper, and be careful to avoid any contamination by falling microorganism.
- ** 2) During incubation, keep lid tight of CompactDry™ to avoid any possible dehydration.
- 3) It is recommended to use a stomacher bag with filter to eliminate risks of carry-over of tiny pieces of foodstuffs into the surface of the medium.

Precaution for Detection

- 4) During streaking, do not put strength into a loop and slip it softly on the surface of a sheet. A loop which has a large diameter and a smooth surface is suitable for streaking.

Precaution for Enumeration

- 5) Specimen should be diluted by buffer solution to the level of concentration of less than 300 cfu/plate.
- 6) If bacteria of more than 10^4 cfu are inoculated in a plate, no independent colonies are formed, and the whole medium gets stained.
- 7) If the nature of specimen does affect the result, the specimen should be inoculated only after the cause is eliminated by means of such as dilution and others. For example: specimens such as high viscosity, deep color, and too high or too low pH.

Interpretation in Detection

- 1) Interpret red colonies with or without blue surrounds as presumptive positive for *Listeria monocytogenes*.
- 2) If a volume of *L. monocytogenes* is too much, no single colonies are formed and the whole of a sheet or the streaked part of a sheet looks red-colored. Interpret the result as presumptive positive in this case too.

Interpretation in Enumeration

- 3) Count red colonies with or without blue surrounds for presumptive *L. monocytogenes*.

Interpretation in Detection and Enumeration

- 4) If presumptive colonies of *L. monocytogenes* are observed, perform confirmation tests by ISO11290-1:2017, ISO11290-2:2017 or other methods.

Precaution for interpretation

- 1) *Listeria ivanovii* also forms red colonies with or without blue surrounds like *L. monocytogenes*.
- 2) *Listeria* spp. except for *L. monocytogenes* and *L. ivanovii* form blue/green colonies. Bacteria other than *Listeria* spp. are inhibited by selective agents in the medium, or do not form colored colonies even if they grow. Rarely some of *Bacillus* spp. may form relatively large, flat and orange colonies.
- 3) *L. monocytogenes* may form orange, reddish-brown or reddish-purple colonies in addition to red colonies.
- 4) White paper placed under the plate can make it easy to observe colonies.
- 5) The plate size of LM plate is 20 cm^2 , and the back of container has a carved grid of $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ to make colony counting easier. When it is difficult to count the colonies due to a great large number of colonies grown in the medium, the total bacterial number can be obtained by multiplying 20 by an average number of colonies per grid ($1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$) calculated from representative grids.

Warning and Direction for Use

1. General precautions

- 1) Read and follow precisely the warnings and directions for use described in the package insert and/or label.
- 2) Do not use the product after its expiration date. Quality of the product is not guaranteed after its shelf life.
- 3) Do not use product that contains any foreign materials, is discolored or dehydrated, or has a damaged container.
- 4) Use plates as soon as possible after opening. Any unused plates should be returned to the aluminum bag and sealed with tape to avoid light and moisture.
- 5) Cap tightly after inoculation to avoid dehydration of gelled medium.

2. Safety Precautions

- 1) Wash immediately with water if medium or reagent comes into contact with eyes or mouth. Consult a physician.
- 2) Manipulations with microorganisms involve certain risks of laboratory-acquired infections. Practice manipulations under the supervision of trained laboratory personnel with biohazard protection measures.
- 3) Treat laboratory equipment or medium that comes into contact with the specimen as infectious.

3. Precautions for disposal of waste

Sterilize any medium, reagent and materials by autoclaving or boiling after use, and then dispose as industrial waste according to local laws and regulations.

4. User Responsibility

- 1) It is the user's responsibility in selecting any test method to evaluate a sufficient number of samples with particular foods and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.
- 2) It is the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' or suppliers' requirements. The user must train its personnel in proper testing techniques.
- 3) It is the user's responsibility to validate the performance of this method for use with any non-certified matrix.

** 5. Limitation of Warranties

CompactDry™ plates are manufactured at an ISO 9001:2015 facility. If any CompactDry™ plate is proven to be defective by fault of the manufacturer or its authorized distributors, they may replace or, at their discretion, refund the purchase price of any plate. These are the exclusive remedies.

Storage and Shelf life

Storage: Keep at room temperature ($1 - 30^\circ\text{C}$)

*Shelf life: Twenty-four (24) months after manufacturing.

Shelf life is printed on both label of outer box and aluminum bag.

** Package

CompactDry™ LM	40 plates	Code 06531
CompactDry™ LM	240 plates	Code 06532

** Further information

Customer Support Section, Shimadzu Diagnostics Corporation

3-24-6, Ueno, Taito-ku, Tokyo 110-0005 Japan
TEL: +81-3-5846-5707 / FAX: +81-3-5846-5629
E-mail: contact@cdc.shimadzu.co.jp

** Manufactured by

Shimadzu Diagnostics Corporation

3-24-6, Ueno, Taito-ku, Tokyo 110-0005, Japan

** Revised : April 2023

* Revised : September 2022

(2I26S)