

* 2023年 5月改訂
2020年 1月作成

菌数測定用簡易培地
腸内細菌科菌群数測定用
* **コンパクトドライ™ETB**

* —— 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汚染指標菌の混釈培養検査は、培地の準備や試料の混釈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™ETBは、このような負担を軽減し、誰でも、どこでも、簡便に混釈培養が行えるよう開発した培地で、試料液を加えるだけの操作で菌数測定が実施できます。

【 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) 接種した試料は自然に均一に拡散します。
- 4) 室温で保存可能です。
- 5) コロニーの発色が明りょうで、釣菌も容易にできます。
- 6) 従来の定量培養法のデータと整合性がとれます。

* —— 操 作 法 ——

【 試料の調製、接種方法 】

1. 固形食品材料の菌数測定

材料に緩衝液を添加し、ストマッカーで均質化します。試料液1 mL (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1 mL (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1 mL (必要に応じて希釈する) を本品に接種します。

簡易ふき取り用キット (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1 mL 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 °Cで24±2 時間培養します。
- 5) 発色したコロニーを裏面からカウントします。下に白い紙などを置いてカウントするとコロニーが見やすくなります。

* —— 操作上の留意事項 ——

- 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。
- 4) 試料は1 プレートあたり150cfu 以下になるように緩衝液などで希釈してから接種します。滅菌希釈液II (コード01553) を使用すると便利です。
- 5) 1 プレートあたり10⁴cfu 以上の菌が接種されるとコロニーが形成されないため発色コロニーが現れず、シート全体が着色したようになります。
- 6) 食品自体が培地の反応に影響を与えるものは、緩衝液などで希釈する等、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、pHが極端に高いかまたは低いもの。
- 7) 本品に緩衝能が高い希釈液 (例：緩衝ペプトン水 (BPW) など) を使用すると、コロニーの発色が弱くなる場合がありますので、試料の希釈液は以下の希釈水をご使用ください。
例：生理食塩水、リン酸緩衝希釈水、ペプトン加生理食塩水。
ふき取り検査には、簡易ふき取り用キット (PBS) CC ガンマ線滅菌 (コード06538) をご利用ください。

—— 判 定 法 ——

【 判定法 】

pH 指示薬が培地中に含まれており、腸内細菌科菌群は直径1~2 mm の赤~赤紫色に発色します。

【 判定上の注意事項 】

- 1) シート状培地の面積は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。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、その値に20 を掛けて菌数を算出します。

- 2) 腸内細菌科菌群以外の細菌も発育することがありますが、無色あるいは黄色のコロニーであり、赤色~赤紫色のコロニーのみを計測します。
- 3) 一部の腸内細菌科菌群では発育が早く、培地がアルカリ化することにより、赤~赤紫色のコロニーが退色し、黄色のコロニーとなることがあります。その場合には、早い時点 (18 時間程度) で一度計測することにより、判定が容易となります。
- 4) 一部の腸内細菌科菌群ではコロニーが拡散する場合があります。その場合には、拡散したコロニー中心部の発色の濃い点を計測することにより、判定が容易となります。

—— 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、注意事項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または十分に煮沸するなど殺菌処理を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°C) に保存してください。

【 使用期限 】

製造後16 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™ETB 40 枚 | Code 06535 |
| コンパクトドライ™ETB 240 枚 (受注生産品) | Code 06536 |

* —— 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)

* Compact Dry™ ETB

Simple and Easy Dry Medium for *Enterobacteriaceae*

* Background

Enumeration of *Enterobacteriaceae* in foodstuffs and environment helps to monitor the degree of cleanness as well as their sanitary quality. Traditional spread plate, pour and MPN culture methods have been widely used to determine the microbial counts. These methods require much media preparation time. To reduce the analytical time and make it possible for a to perform the bacteria culture test without difficulty, has successfully developed a device based on new concept and technology.

CompactDry™ ETB is a simplified medium to determine number of *Enterobacteriaceae* by the combination of selective agents and pH indicator.

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: 16 months shelf life at room temperature.
- 5) Measurable after Incubation for 24 hours.
- 6) Red/red-purple colonies for *Enterobacteriaceae* are observed, and fishing of colonies is easy.
- 7) Good correlation with Pour Plate method: Maintain the continuity of data accumulated.

Certification by third parties

The CompactDry™ ETB has been compared to ISO 21528-2:2014 and certified by the AOAC Research Institute Performance Tested Methods™ Program (Certificate No. 012001) for enumeration of *Enterobacteriaceae* in raw ground beef, cooked chicken, lettuce (pre-washed, bagged shredded iceberg), frozen fish (cod fillets), instant nonfat dry milk powder and pasteurized milk (2% fat), pasteurized cream, cream cheese, ready to cook fresh vegetables, vegetable juice, raw ground pork, raw bacon, fresh cooked prawns, fish paté, sandwich and cooked chilled rice.

Microval validation certified method in compliance with ISO 16140-2:2016 in comparison to ISO 21528-2:2014.

* Test Kit Components

- 1) CompactDry™ ETB Plates

Additional Reagents and Supplies Required, Not Provided

- 1) Maximum recovery diluent (MRD)
- 2) Filtered sample bags

Apparatus

- 1) Lab paddle blender, blender, or vortex mixer for homogenizing sample
- 2) Pipets – 1 mL
- 3) Incubator –37 ± 1°

Operating Procedure

Preparation of specimen

- 1) Viable count in solid foodstuffs:
Weigh a 10-g test portion and add 90 mL Maximum Recovery Diluent (MRD). Homogenize in a Stomacher or blender for 2 min ±15 sec. For milk powder, weigh a 10 g test portion and add to 90 mL MRD (pre-warmed to 45 ± 1 °C). Slowly swirl and shake until dissolved.
- 2) Viable count in water or liquid foodstuffs:
Use without dilution, dilute 1 mL in 9 mL MRD, or dilute further of viable count is expected to be >150 CFU/mL. Vortex to mix.
- 3) Viable count in swab test specimen (not included in AOAC validation):
Drop 1 ml of wiping solution (to be diluted if necessary), which is obtained from a cotton swab, in the middle of a dry sheet. It is recommended to use Easy Wiping Kit Swab Test ST-25PBS (Code 06698) available as an optional kit.

Direction

- 1) Open aluminum pouch and remove a set of 4 plates.
- 2) Detach necessary number of plates by bending up and down while pressing the lid. Use a set of four connected plates when serial dilution measuring is intended.
- 3) Remove lid from plate, pipette 1 mL of sample in the middle of the dry sheet and replace cap. Sample diffuses automatically and evenly over the entire sheet (20 cm²) to transform it into a gel.
- 4) Write the appropriate sample information in the memorandum section. Invert the capped plate and place in the incubator at 37 ± 1 °C for 24 ± 2 h.
- 5) From the backside of the plate, count the number of red/red-purple colonies in the medium. White paper placed under the plate can make colony counting easier.

Precaution for use

- 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 cap of CompactDry™ tight to avoid any possible dehydration.
- 3) Use of filtered stomacher bags is recommended to eliminate risks of carryover of tiny pieces of foodstuffs onto the surface of the medium.
- 4) Dilute sample with MRD to a level of contamination of 1 - 150 cfu/plate.
- 5) If more than 10⁴ cfu are inoculated onto a plate, no isolated colonies will be formed, and the entire plate may become colored.
- 6) If the nature of sample affects the reaction of the medium, inoculate the sample only after the factor has been eliminated by means such as dilution, pH adjustment, or others. This may include samples with high viscosity, deep color, or pH >9.0 or <5.0.
- *7) If a diluent with high buffering capacity (e.g. buffered peptone water (BPW)) is used or this product, the coloration of colonies may be weakened. Please use the diluents

such as saline solution, phosphate buffered solution, or peptone salt solution. For surface sampling, it is recommended to use Easy Wiping Kit Swab Test ST-25PBS (Code 06698) available as an optional kit.

Interpretation

Enterobacteriaceae form red/red-purple colonies of 1-2 mm in diameter by pH indicator contained in the medium.

Precaution for interpretation

- 1) The plate size of CompactDry™ ETB is 20 cm², and the back of container has a carved grid of 1 cm x 1 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 cm x 1 cm) calculated from representative grids.
- 2) Though some bacteria other than *Enterobacteriaceae* may also grow and form white and/or yellow colonies in this plate, only red/red-purple colonies should be counted.
- 3) Certain *Enterobacteriaceae* may grow quickly and alkalize the medium. As a result, red/red-purple colonies may get discolored and form yellow colonies. If needed, plates may be counted at 18 h.
- 4) Colonies of certain *Enterobacteriaceae* may be diffused. In such cases the dark point in the center of each diffused colony should be counted.
- * 5) CompactDry™ ETB may not detect certain strains of *Serratia*, *Raoultella*, and *Yersinia*. CompactDry™ ETB has been shown to detect *Pasteurella bettyae*.

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. The 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 pouch sealed with tape to avoid light and moisture, and stored at room temperature.
- 5) Cap tightly after inoculation to avoid dehydration of gelled medium.

2. Precautions Health and Safety

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

3. Precautions for disposal of waste

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

* 4. Limitation of Warranties

If CompactDry™ ETB plate has proven to be defective due to Shimadzu Diagnostics's negligence, Shimadzu Diagnostics or Shimadzu Diagnostics's authorized distributor will replace or refund at the purchase price of the plate.

Storage and Shelf life

Storage

Store at room temperature (1-30°C).

Shelf life

Sixteen (16) months after manufacturing.

Shelf life is printed on the labels of outer box, aluminum bag.

* Package

| | |
|---|------------|
| Compact Dry™ ETB 40 plates | Code 06535 |
| Compact Dry™ ETB 240 plates (Made-to-order) | Code 06536 |

* 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@sdc.shimadzu.co.jp
HP: <https://corp.sdc.shimadzu.co.jp/english/>

* Manufactured by

Shimadzu Diagnostics Corporation

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

* Revised: May 2023

Creation date: January 2020
(0A23S)