サルモネラ検出用簡易培地

*コンパクトドライ™ S L

— 開発の経緯および特徴 -

近年サルモネラによる食中毒発生件数は増加傾向にあり、食品の製造、取扱いにおいて本菌制 御の必要性はますます高まっています。特に食品企業においては、製品の安全性を迅速に知り、 在庫コストを削減するなどの目的にサルモネラを簡易、迅速に検査する方法が求められています。 コンパクトドライ™ S L は、前増菌培養液を直接接種することによって、サルモネラの生化学 的性状、運動性などの特異的性質を利用して、サルモネラの存在を定性的に検出する簡易培地で

前増菌培養後の翌日に迅速スクリーニング判定が可能であり、また、判定後の培地は分離培養 検査に利用できるので、サルモネラの確定結果を得ることもできます。

- 1) 培地調製の手間が少なく簡便です。
- 2) 従来培養法よりも1日早くスクリーニング判定ができます。
- 3) 判定が簡便, 明瞭です。
- 4) 判定後、シート上の菌を分離培養し、同定検査へ進めることができます。

— 測定原理 –

コンパクトドライ™ S Lは、サルモネラ選択培地組成に発色酵素基質、ノボビオシン等の選択 剤を加えたサルモネラ検出用培地です。サルモネラのリジン脱炭酸能による培地のアルカリ化(青 紫色培地が黄色に変化)を確認します。発色酵素基質反応による集落の緑色化(硫化水素産生性 サルモネラは黒色化), およびサルモネラの運動性は追加の特徴として扱います。 これらの反応に より前増菌培養液からのサルモネラの存在を判断します。さらにシート上の反応部分を釣菌して 選択分離培地にて画線塗抹し、鑑別同定試験等を行うことにより、サルモネラの確定検査をする ことができます。

大腸菌群等は、本培地組成中の乳糖、白糖の利用によるpH低下によって、青紫から赤紫の変 色を示します。

これらの特異的性質を有効に利用するため,特にコンパクトドライTM S L への検体接種方法は 本書に従って確実に行う必要があります。

——操作法—

** [その他必要な器材]

- 1) 緩衝ペプトン水 (BPW) (Code 05121, 56220) を調製した培地
- 2) 滅菌ホモジナイズバックフィルタ付 (Code 01540)
- 3) ホモジナイザ:バトル式ブレンダーSMASHER (Code 33301)
- 4) バック用スタンド
- 5) 滅菌スポイト1 mL (Code 06472) または、滅菌メスピペット
- 6) 滅菌精製水(自家調製)
- 7) フラン器 36±1℃, 42±1℃または41.5±1℃ (ISO)

[試料の調製]

** 1. 固形食品材料

検体25gを滅菌ホモジナイズバックフィルタ付に秤量します。

別に調製したサルモネラ前増菌用培地(緩衝ペプトン水)225 mL を加え、約1分間ホモジナイ

2. 水や液体食品

- 1) 検体量に対し10倍量のサルモネラ前増菌用培地を加えます。
- 2) 検体をメンブランフィルターでろ過後、フィルターをそのままサルモネラ前増菌用培地に 加ラキす

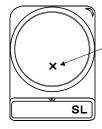
3. ふき取り材料

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、10倍量のサルモネラ前増菌用 培地を加えます。

「 培養法]

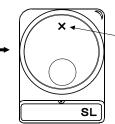
- 1) 調製した試料は、ホモジナイズバックフィルタ付の開口部を折り込むなどして閉じ、バッ ク用スタンド等に立て、36±1℃のフラン器で22±2時間前増菌培養を行います。
- フラン器から取り出し、バックを軽く手でもみ均質化させた後、前増菌培養液を無菌的に 採取し、0.1 mL (滅菌スポイト1 mL で3 滴) をコンパクトドライ™ SLのシート上 (シ ャーレの縁から約1 cmの箇所)に静かに滴下します。 培養液は滴下した箇所にスポット状に留まります。

培養液が大きく広がらないように静かに滴下してください。また、シャーレの縁まで達し ないように注意してください。



シャーレの緑から 約1 cm の箇所に 培養液 0.1 mL を静 かに接種します。 中心部からずらし

ます。



培養液を滴下した 反対側の筒所に滅 菌精製水1 mL を静 かに滴下します。 全体に広がるのを 確認します。

- あらかじめ用意した滅菌精製水1 mL(滅菌スポイトで1 mL 目盛まで)を,培養液を滴下 した箇所の反対側のシート上(培養液が浸みていない部分)に静かに滴下します。 滅菌精製水は拡散によりシート全体に広がり、均一に濡れた状態となります。 滴下した滅菌精製水によって培養液が流されることがないように必ず反対の箇所に、また 静かに滴下してください。
- フタをし、 42 ± 1 ℃または 41.5 ± 1 ℃(ISO)のフラン器で 22 ± 2 時間培養します。

- 操作上の留意事項 -

- 1) サルモネラの特異的性質(リジン脱炭酸能,発色酵素基質の反応,運動性)を有効に利用す るため、コンパクトドライ™ SLへの検体接種方法は本書に従って確実に行い、また培養 温度は厳格に守ってください。培養温度の一時的な逸脱によってもシートの反応に影響を 及ぼしますので、フラン器の精度にご注意ください。培養温度が高温側に逸脱した場合、 偽陰性になる事があります。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) 食品自体による培地の反応を防ぐため、なるべくフィルター付きホモジナイズバックを使 用し、また、前増菌培養液を採取する際には食材片を避けて採取してください。
- ** 5) MicroVal 国際認証 (Certificate no.:2022LR110)では、41.5℃の培養温度にて取得しま した。

---- 判 定 法 ----

** [スクリーニング判定]

シートにあらわれた色調変化および集落を観察します。

サルモネラ陽性

シートが青紫色から黄色に変化します。追加の特徴として黄色の広がり(運動性)、黒色~ 緑色の独立または融合した集落が観察される場合があります。

前増菌培養液中にサルモネラの菌量が多い場合、はっきりとした集落の形成はなく(融合し た黒色または緑色の集落が点在)シート全体が黄色化します。

サルモネラ陰性

シートの色調変化がありません。または、色調変化があっても赤~赤紫色となります。

注意: Pseudomonas や Proteus 等はまれにシートを黄色化することがあります。

「 判定後の分離培養]

- ** 1) 判定後のプレートから、分離同定検査に進めることができます。シート上の黄色に変化し た部分または黒色~緑色の集落部分を白金耳でかきとり、MLCB寒天などの選択分離培 養用平板培地に塗抹します。
 - 集落単離後、従来法に従って同定検査を行います。

注意1:サルモネラ陽・陰性の最終報告は、集落単離後の同定検査により行ってください。

注意2:サルモネラは運動性があるため、培養液接種部よりもできるだけ離れた箇所(黄 色化した範囲の端部)からかきとるとサルモネラの分離が容易です。

注意3:集落の形成がない場合でも黄色に変化した部分から分離することもできます。

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。
- 微生物の取り扱い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いください。

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℃) に保存してください。

「 使用期限]

製造後18ヵ月間。

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。

コンパクトドライTM S L 40枚 ················· Code 06732

- 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™ SL
Simple and Easy Dry Medium for Microbial Detection
* CompactDry™ SL for Salmonella detection

**/* Background:

The food poisoning outbreak caused by Salmonella is increasing in recent years, and the necessity of Salmonella control becomes important especially for food manufacturing process, and handling procedures. Especially for food manufacturers, it is important to detect and Salmonella rapidly and simply for the purpose of curtailment of product stock and confirming safety of the product.

CompactDry™ SL is a simple dry culture medium that detects existence of Salmonella qualitatively based on its specific character, such as biochemical reactivity and motility.

Using pre-enrichment culture, a rapid screening for Salmonella is possible on the next day. A colony on CompactDry™ SL can be isolated for further tests to get confirmation result of Salmonella.

**/* Features and Benefits:

- Ready to use and portable plate: No need to prepare medium, which eliminates waste of medium as well as apparatus to prepare the medium.
- CompactDry™ SL can detect one day earlier than conventional culture method.
- Detection of colonies on plate is simple and clear.
- Isolated colonies on the plate can be isolated for further identification tests.

**/* Detection Principle:

CompactDry™ SL is a dry medium for Salmonella detection, which contains chromogenic substrate and Novobiocin.

The presence of *Salmonella* in the sample is detected by alkalization of the medium by *Salmonella*'s lysine decarboxylase ability (medium color will change from blue-purple to yellow). Green colonies caused by decomposition of chromogenic substrate with specific enzyme of Salmonella, black colonies generated by Salmonella producing hydrogen sulfide and motility of Salmonella may be observed.

Additionally, the colonies isolated from CompactDryTM SL can be used for confirmation of Salmonella after the inoculation of colonies onto the selective media. Coliform generate color change from blue-purple to red-purple by fermented lactose and/or sucrose in the medium.

Please follow this operating procedure precisely, especially how to inoculate sample and sterilized water, to utilize specific advantages of CompactDry™ SL.

** Operating Procedure:

Preparation of Apparatus and Materials

- Prepared and sterilized medium made from Buffered Peptone Water (BPW) (Code 1) 05121,56220)
- 2) Sterilized Homogenize Bag with filter (Code 01540)
- Homogenizer (Code 33301)
- Stand for Homogenize Bag 4)
- Sterilized Disposable Pipette (1mL) (Code 06472) or Sterilized Measuring Pipette 5)
- Sterilized Water 6)
- Incubator (36 \pm 1°C and 41.5 \pm 1°C)

** Preparation of Specimen

1. Solid Foodstuffs:

Take 25g of solid specimen into the sterilized homogenized bag. Add 225mL of sterile Buffered Peptone Water into the bag, and homogenize by stomacher for about one (1)

2. Water or Liquid Foodstuffs:

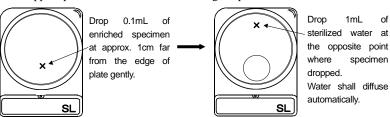
- 1) Add 9 times volume of Buffered Peptone Water to liquid specimen.
- Filtrate the liquid sample through membrane filter, and put the filter into BPW. 2)

Environmental Samples:

- Water samples: Samples <100ml added to an equal volume of double strength BPW.
- Swabs: Add at least 225ml BPW and make sure that the whole sample is submerged. 2) Mix/ shake well before enrichment.
- Dust wipes: Add at least 225ml BPW and make sure that the whole sample is 3) submerged. Mix/ shake well before enrichment.

Direction

- Prepared specimen shall be kept in the closed homogenized bag, and incubate the bag 22 ± 2 hours at 36 ± 1 °C in the Incubator as pre-enrichment culture.
- Take the bag out from the incubator and rub the bag for homogenized. Use sterilized disposable pipette for sample inoculation. Drop 0.1mL (3 drops from the 1mL pipette) of enriched specimen on the dry sheet (approx. 1cm far from the edge of plate) gently. This enriched culture will stay at dropped point. Diffusion of this dropped specimen shall not reach to the edge of plate.



- After the inoculation of the enriched culture, drop 1mL of sterilized water gently at the opposite point where the specimen dropped. Sterilized water will diffuse automatically and the sheet will be wet uniformly.
- Turn over the plate capped, put in an incubator. And incubate 22 ± 2 hours at 41.5±1℃

- Please follow this operating procedure precisely for utilization of specific nature of Salmonella. Use accurate incubater to follow the incubation temperature precisely. If incubation temperature elevates from the range, it may effect the occurrence of false-negative responses..
- Be careful to avoid any contamination by falling microorganisms, or touching the medium during inoculation.

- Keep cap tight of CompactDry™ SL to avoid any possible dehydration during
- It is recommended to use a homogenize bag with filter to eliminate risks of carry over of tiny pieces of foodstuffs into the medium.

Interpretation

** Interpretation for Screening

<Salmonella Positive>

A medium colour change from blue-purple to yellow is observed on the plate.

Three additional characteristics are also indicated however these are informative only:

- Green colonies
- 2) Black colonies
- 3) Motility

<Salmonella Negative>

There are no medium color changes to yellow on the plate.

Isolation of Salmonella from CompactDryTM

- It is available to use colonies on CompactDry $^{\text{TM}}$ sheet for isolation/ identification tests. Pick up black to green colonies with loop, and smear and culture on MLCB agar for isolation of Salmonella.
- After the isolation of single colony on the agar plate, continue and follow onventional identification/confirmation test procedure.

Precaution for Interpretation

- Final report for Salmonella positive or negative result shall be followed by identification/confirmation test result.
- When the picked up colonies, it is easy to isolate Salmonella from colonies away from the point where specimen inoculated, because of motility of Salmonella.
- It is also possible to isolate Salmonella not from colonies but from yellowed portion.

Warning and Direction for Use

1. General precautions

- 1) Read and follow precisely the warning and direction for use described on this package insert and/or label.
- Do not use the product after its expiry date. Quality of the product is not warranted after being expired.
- Do not use the product that contains any foreign materials, discolored or dehydrated, or its container is damaged.
- After opening the aluminum bag, any plates unused should be put back into the aluminum bag to be sealed with tape to avoid light and moisture, and use up as soon as possible.
- 5) Cap tightly again after inoculation to avoid dehydration of medium during incubation.

Precautions for danger

- 1) When if medium or reagent touched eyes or mouth, immediately wash with plenty of water, and consult a physician.
- Manipulations with microorganisms involve always certain risks of aboratory-acquired infections. Manipulations should be practiced under the supervision of key specialist with biohazard protection measures.
- 3) Any laboratory equipment and medium that touched with specimen should be regarded as infectious in the laboratory.

3. Precautions for disposal of waste

Any medium, reagent and materials must be sterilized by autoclaving or boiling water after use, and then dispose them as industrial waste according to the Law on Waste Disposal and Cleaning. Also follow to local laws and regulations relate to dispose.

* 4. Limitation of Warranties

If CompactDryTM plate has proven to defective, Shimadzu Diagnostics Corporation or Shimadzu Diagnostics Corporation's authorized distributor will replace or refund at the purchase price of the plate.

Storage and Shelf life

Keep at room temperature $(1 - 30^{\circ}C)$ Storage: Shelf life: Eighteen(18) months after manufacturing.

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

* Package

CompactDryTM SL CompactDryTM SL 40 plates · · · · Code 06732 240 plates · · · · · Code 06733

* 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

* Manufactured by

Shimadzu Diagnostics Corporation

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

** Revised : April 2024 * Revised : April 2023

(4D02)