

【定性检验操作视频】

(扫描左侧二维码观看操作视频)

【定量计数操作视频】

(扫描左侧二维码观看操作视频)

【储存条件与保质期】

2~8℃密封储存，有效期为 18 个月。

已打开包装未使用的测试片装回包装袋中，折叠后用不干胶贴密封，储存时间不超过 4 周为宜。

【废弃物处置】

测试片在使用之后可能包含微生物，需在 121℃ 30min 高压蒸汽灭菌处理后严格遵守按规定的方式处理。

【生产企业】

企业名称：广东环凯生物科技有限公司

生产地址：肇庆高新技术产业开发区科技大街中 13 号

销售热线：0758-3680999-8001

技术热线：0758-3680999-8018

邮政编码：526238

企业网址：<http://www.bhkbio.com>**环境李斯特氏菌测试片****使用说明书****【产品名称】**

通用名称：环境李斯特氏菌测试片

英文名称：Handy plate® Environmental Listeria Detection Plate

【产品编号】 HP 009**【包装规格】** 20 片/包**【产品简介】**

Handy plate® 环境李斯特氏菌测试片为预制备的即用型培养基产品，含有标准的培养基、冷水凝胶和显色指示剂。本产品可用于食品和环境样品中李斯特氏菌的快速计数，包括单核细胞增生李斯特菌 (*L. monocytogenes*)、英诺克李斯特氏菌 (*L. innocua*) 和威尔氏李斯特菌 (*L. welshimeri*)。

【使用说明】**1. 定性检验**

以无菌操作取样品 25g(mL) 加入到含有 225mL LB₁ 肉汤增菌液的均质袋中，在拍击式均质器上连续均质 1min~2min，于 30℃±1℃ 培养 24h±2h。移取 0.1mL，转种于 10mL LB₂ 肉汤 二次增菌液内，于 30℃±1℃ 培养 24h±2h。

揭开测试片上膜，用接种环取 LB₂ 二次增菌液划线接种于环境李斯特氏菌测试片上，再加入 1mL 无菌生理盐水于测试片上，盖上上膜，将测试片正面向上水平放置 36℃±1℃ 培养 24h±2h。

2. 定量检验

环境样品：无菌使用采样棒、预先润湿的海绵或其他采样装置来收集环境样品，至无菌磷酸盐缓冲溶液或无菌生理盐水中(≤10mL)，润湿试剂可以是无菌生理盐水或磷酸盐缓冲液；混合均质成样品匀液后，用 1mL 无菌吸管或移液器吸取匀液 1 mL，注入含有 9 mL 稀释液的试管内，振摇后成为 1:10 的样品匀液，以此类推，制备 10 倍系列稀释的样品匀液，每次换一支吸管或移液枪头。

食品样品：取样品 25 g(mL) 放入含有 225 mL 无菌磷酸盐缓冲液（或无菌生理盐水）的无菌均质杯或均质袋内，均质器混匀 1 min~2 min 制成 1:10 的样品匀液，必要时用无菌 1 mol/L NaOH 或 1mol/L HCl 溶液调节样品匀液 pH 至 6.8~7.2。用 1mL 无菌吸管或移液器吸取 1:10 均液 1 mL，注入含有 9 mL 稀释液的试管内，振摇后成为 1:100 的样品匀液，以此类推，制备 10 倍系列稀释的样品匀液，每次换一支吸管。

根据对样品污染状况的估计，选择 2~3 个稀释度进行检测。将环境李斯特氏菌测试片置于平坦实验台面，揭开上层膜，用无菌吸管吸取 1 mL 样品匀液滴加到测试片中央，缓缓盖上上层膜，排除多余空气，边缘少量气泡不影响观察结果。

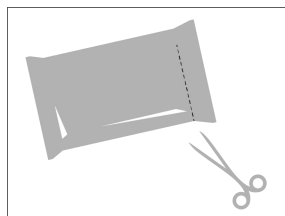
3. 培养

将测试片正面向上水平放置 36℃ ± 1℃，培养 24h ± 2h，若有需要可适当延长培养时间。

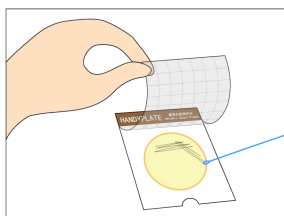
4. 判读

计数所有蓝绿色菌落，合适的计数范围在 30 CFU~300 CFU。若整个培养区域呈淡绿色，可能是菌浓度过高，需对样品进一步稀释以获得确切的计数。如需分离菌落进行进一步分析，揭开上层膜用接种针将菌落挑出使用即可。

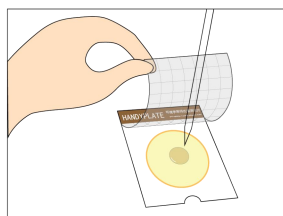
【定性检验操作图解】



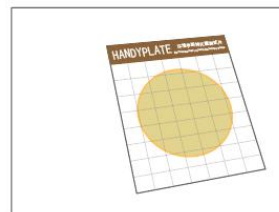
1. 用剪刀沿虚线剪开，取出测试片盒。



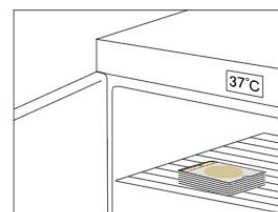
2. 将测试片放在水平台面上，揭开覆膜，用 1 µl 接种环取增菌液在纸片上划线分离。



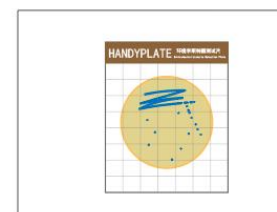
3. 加入 1mL 无菌水或无菌生理盐水。



4. 缓慢盖上上膜，排除多余空气，边缘少量气泡不影响观察结果。

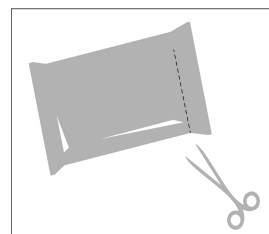


5. 将测试片正面朝上，放置于恒温培养箱中，36 ± 1℃ 培养 24 ± 2h，测试片堆叠不得超过 20 张。

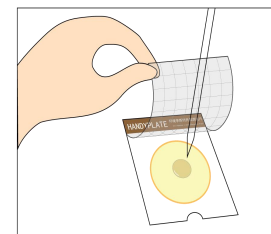


6. 培养后的判读，根据判读手册判读测试片上是否有目标菌的生长。

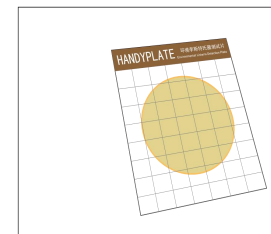
【定量检验操作图解】



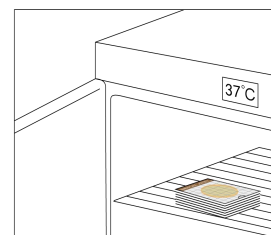
1. 用剪刀沿虚线剪开，取出测试片盒。



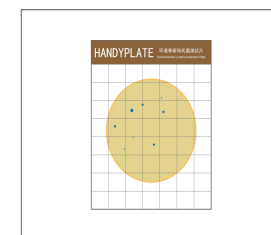
2. 将测试片放在水平台面上，揭开覆膜，将 1mL 样品液滴加在测试片中心。



3. 缓慢盖上覆膜。



4. 将测试片正面朝上，放置于恒温培养箱中，36 ± 1℃ 培养 24 ± 2h，测试片堆叠不应超过 20 张。



5. 根据判读手册判读测试片上是否有目标菌生长，对菌落进行计数。