

ペトリフィルム™

黄色ブドウ球菌測定用プレート

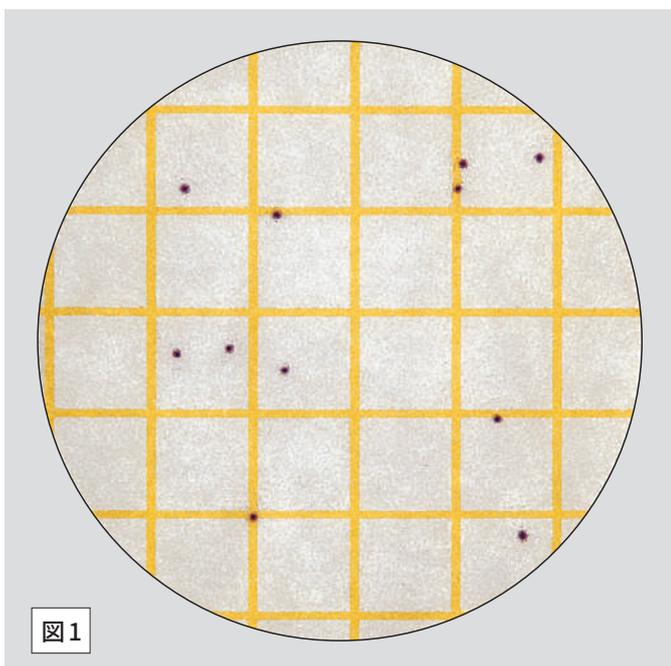
(STXプレート)

Petrifilm™ Staph Express Count Plates (STX Plate)

この解説書はペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用プレート（以下「本プレート」という）に現れた結果を良く理解していただく為のものです。

本プレートは、冷水可溶性ゲル化剤を含むフィルム状のできあがり培地です。本プレート内の発色酵素基質および改良型ベアード・パーカー寒天培地 (Baird - Parker 培地) によって、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*:*S.aureus*) を選択的に識別します。本プレート上の赤紫色のコロニーが *S.aureus* です。赤紫色のコロニーだけが観察される場合、赤紫色のコロニー数を測定すれば黄色ブドウ球菌の検査は終了となります。

他の黒色コロニーが見られる場合には、ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用ディスク (STXディスク) (以下「本ディスク」という) を使用し、*S.aureus* を識別します。赤紫色以外のコロニー (例：黒色あるいは青緑色のコロニー) が本プレート上に存在する場合には必ず本ディスクを使用してください。本ディスクは指示薬とデオキシリボ核酸 (DNA) を含んでいます。黄色ブドウ球菌はデオキシリボヌクレアーゼ (DNase) を産出し、DNase は指示薬と反応してピンクゾーンを形成します。本ディスクを本プレートに挿入すると、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus hyicus* および *Staphylococcus intermedius* を含む：*S.aureus*、*S.hyicus*、*S.intermedius* はコアグララーゼ陽性ブドウ球菌として一般的に知られています。) はピンクゾーンを形成します。その他の種類の細菌はピンクゾーンを形成しません。



黄色ブドウ球菌数 = 11

すべての赤紫色のコロニーを、黄色ブドウ球菌として測定します。赤紫色のコロニーだけが存在している場合、検査は終了です。

赤紫色のコロニーのみが検出された場合

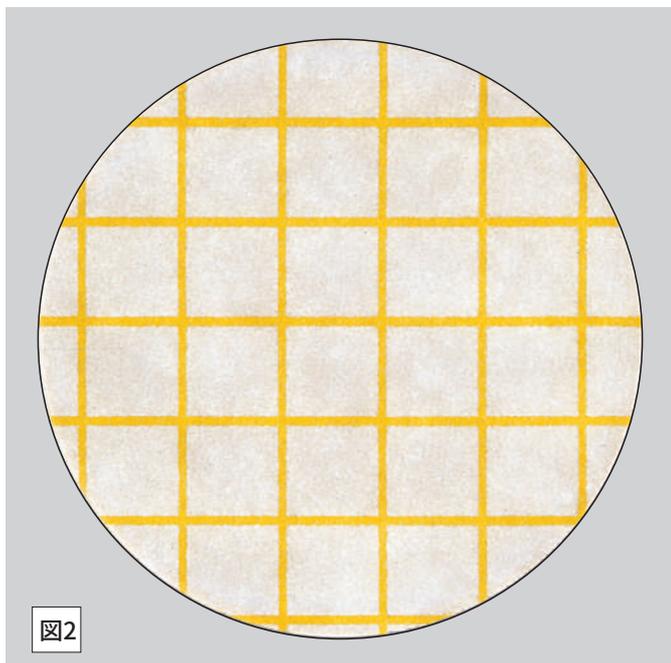


図2

黄色ブドウ球菌数 = 0

24時間培養し、コロニーが観察されない場合です。検査は終了です。

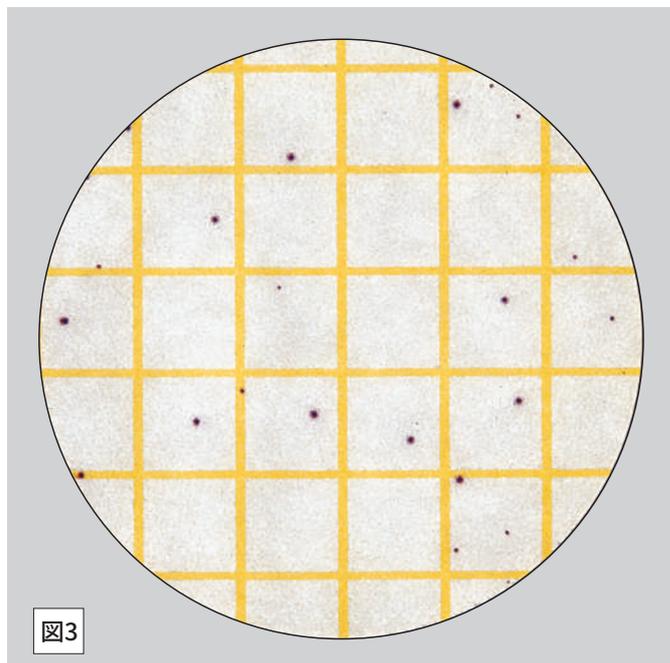


図3

黄色ブドウ球菌数 = 22

黄色ブドウ球菌のコロニーの大きさに関係なくすべての赤紫色コロニーを数えます。照明付きルーペを使用するとコロニーを鮮明に観察することができます。検査は終了です。

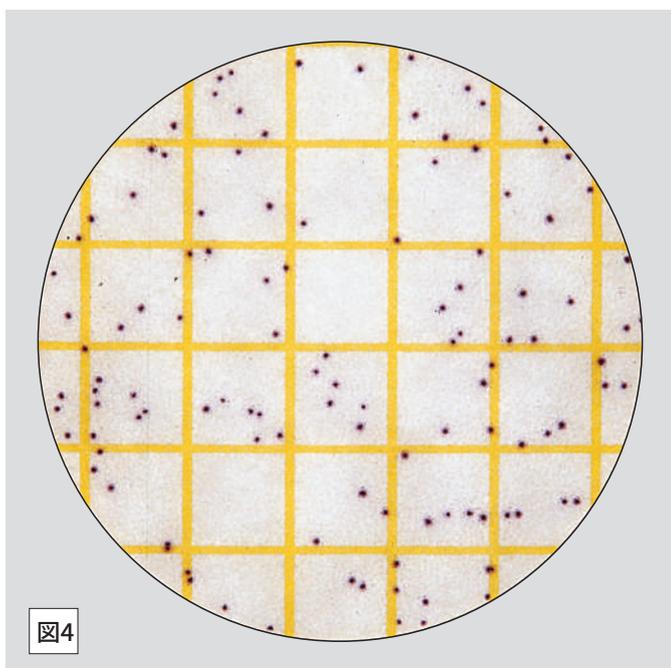


図4

黄色ブドウ球菌数 = 116

本プレート上の適正測定範囲は150コロニー以下です。測定限界に近い数のコロニーが存在しています。検査は終了です。

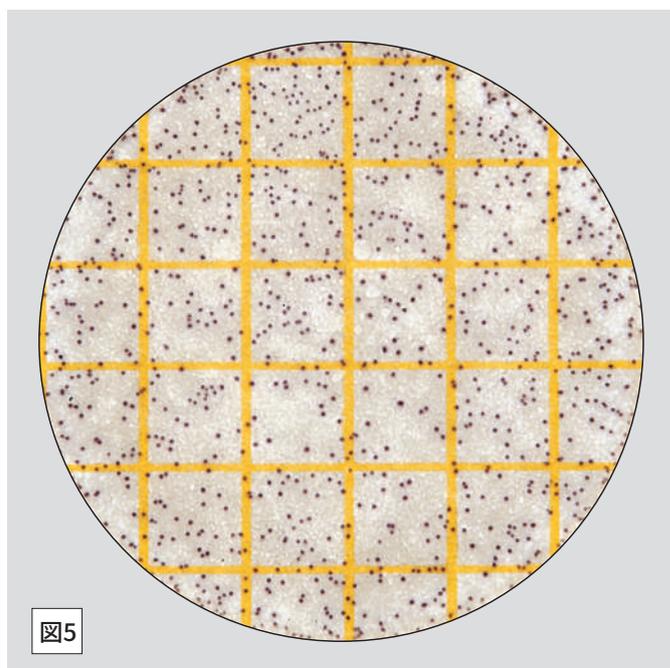


図5

黄色ブドウ球菌数 = 測定不能多数 (TNTC)

黄色ブドウ球菌のコロニー数が150個を超える場合は測定不能多数 (TNTC) となります。さらに希釈した試料液を用いて測定してください。コロニー数を推定する場合には、代表的な格子内のコロニー数を測定し、30倍してコロニー数を推定します。

赤紫色以外のコロニーが検出された場合

24時間培養後に赤紫色以外のコロニーが検出された場合、
ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用ディスクを必ず使用します。

黒色または青緑色のコロニーが存在すると、黄色ブドウ球菌のコロニーが不鮮明になることがあります。
本ディスクを本プレートに挿入して培養した場合、黄色ブドウ球菌はピンクゾーンを形成します。
ピンクゾーンの多くは黄色ブドウ球菌ですが、*S.hyicus* あるいは *S.intermedius* の場合もあります。

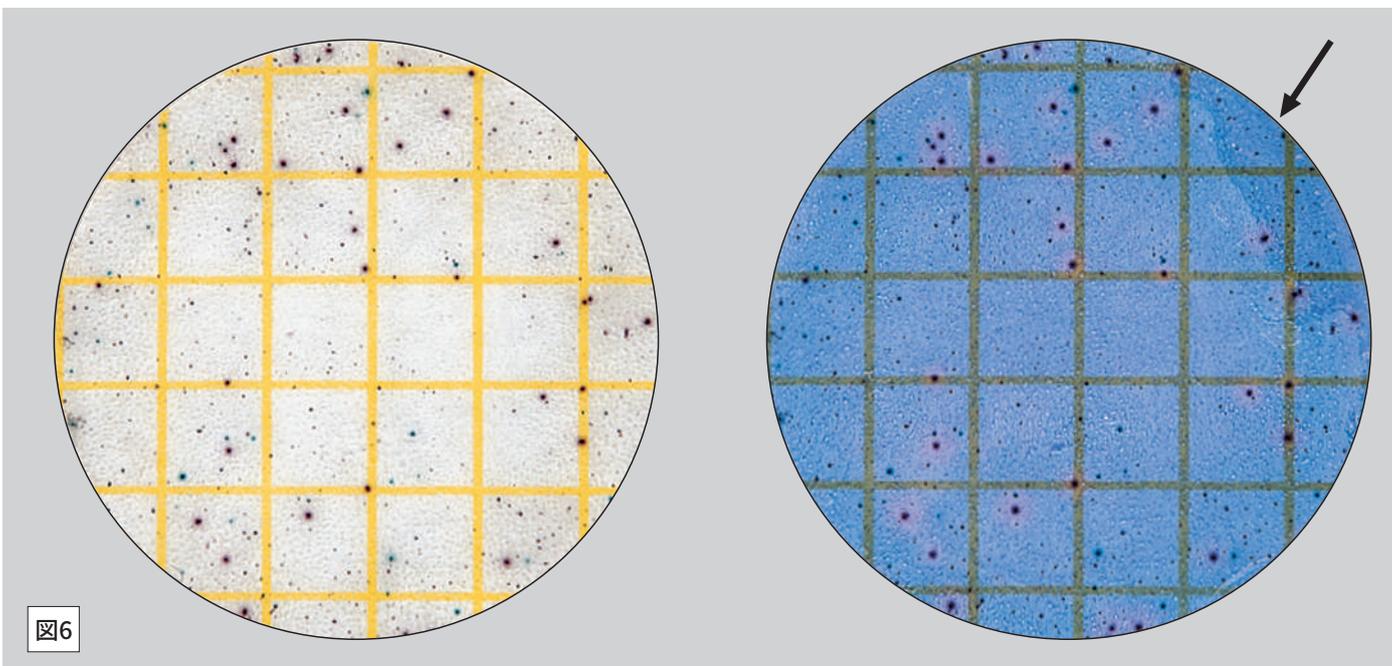
培養の時間や温度は方法によって異なります。
最も一般的な方法を以下に示します。

AOAC Official Method(OMA)

2003.07 加工食品	: ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用プレート: 35±1°Cまたは37±1°C、24±2時間 ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用ディスク: 35±1°Cまたは37±1°C、1-3時間
2003.08 乳製品	: ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用プレート: 35±1°Cまたは37±1°C、24±2時間 ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用ディスク: 35±1°Cまたは37±1°C、1-3時間
2003.11 鶏肉、食肉、水産製品	: ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用プレート: 35±1°Cまたは37±1°C、24±2時間 ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用ディスク: 35±1°Cまたは37±1°C、1-3時間

AFNOR Validated Method

3M-01/09-04/03A 全食品、ペットフード	: ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用プレート: 37±1°C、24±2時間 ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用ディスク: 37±1°C、3時間
3M-01/09-04/03B 全食品、ペットフード	: ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用プレート: 37±1°C、24±2時間 ペトリフィルム™ 黄色ブドウ球菌測定用ディスク: 37±1°C、3時間



黄色ブドウ球菌数 = 30

ピンクゾーンのあるコロニーを黄色ブドウ球菌として測定します。このとき、ピンクゾーンの大きさは考えません。図中の矢印は本ディスクを挿入した際に起きたゲルの分離を示しています。ゲルが上下のフィルムに分離した場合でも、検査成績に影響はありません。

注) 本ディスクを入れて培養したとき、コロニーが黄色ブドウ球菌であったとしても培養時間によってはピンクゾーンが薄い場合があります。
判定に迷う場合は本ディスクを入れて3時間まで培養すると判定しやすくなります。

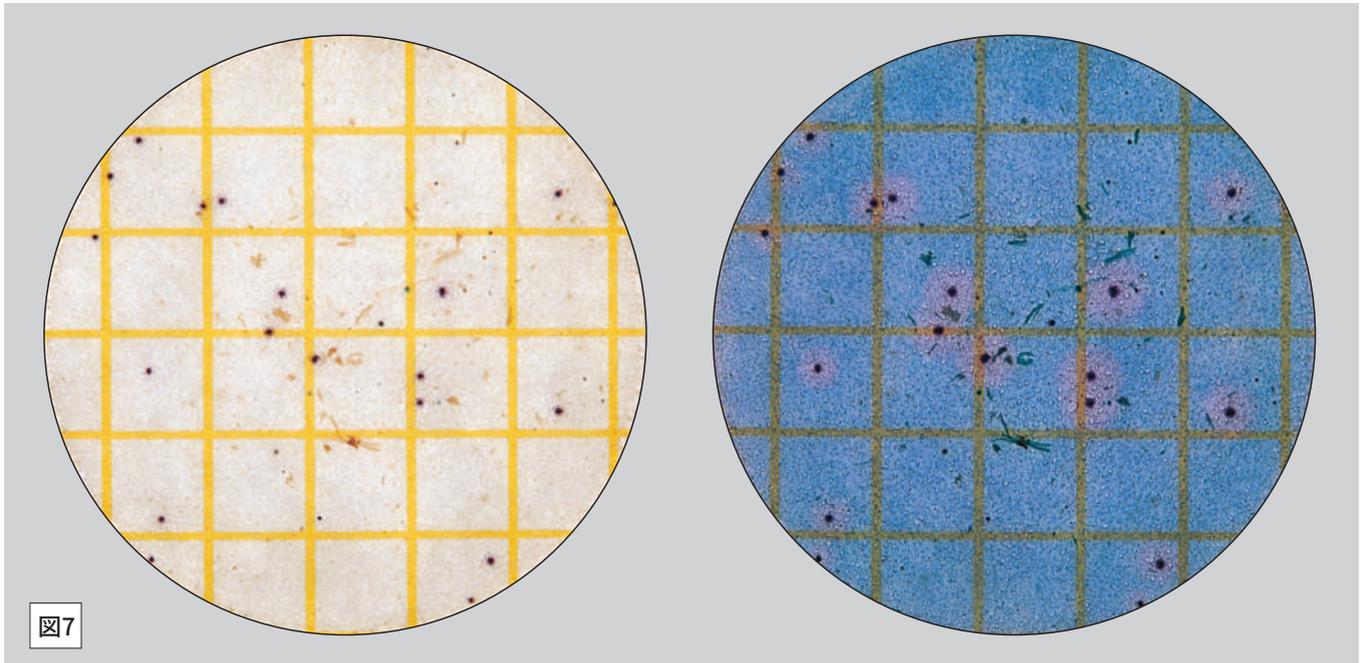


図7

黄色ブドウ球菌数 = 19

図中のように食品残渣の形状は不定形です。本ディスクを挿入すると、ピンクゾーンと食品がより鮮明に識別されるために、黄色ブドウ球菌を測定しやすくなります。

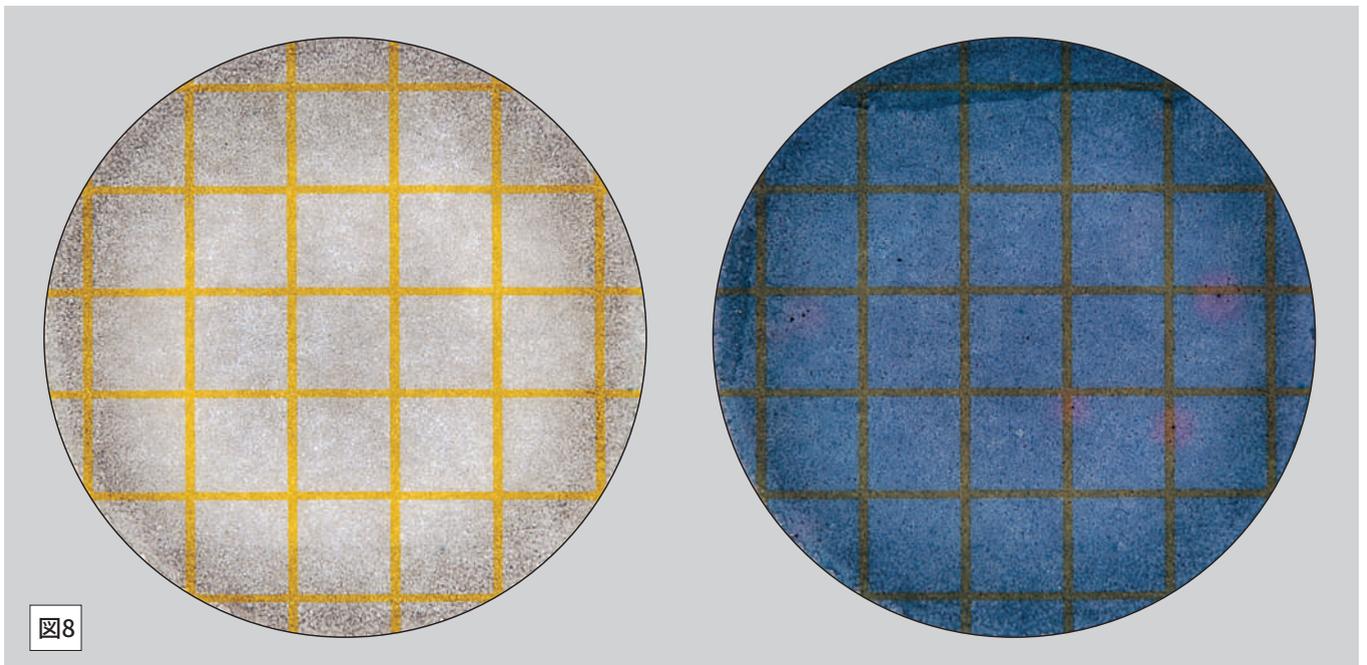


図8

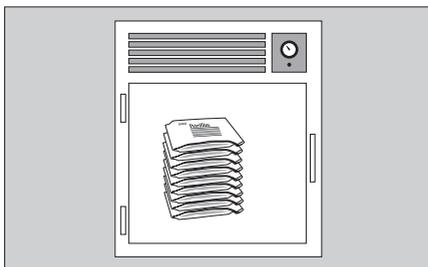
黄色ブドウ球菌数 = 4

食品残渣や背景フローラの細菌が本プレートあたり300個を超える場合には、個々のコロニーを観察することが困難です。本ディスクを挿入して黄色ブドウ球菌のピンクゾーンを測定します。

この時、ピンクゾーンにコロニーが見えない場合がありますが、ピンクゾーンを黄色ブドウ球菌として測定してください。

使用上の注意事項

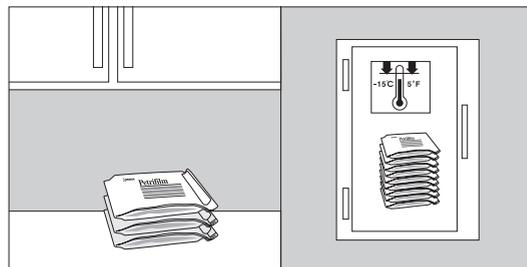
保管



- 1 未開封のパウチは8°C以下の冷所で保管してください。パウチに印刷されている有効期限までに使用してください。使用前には、本プレートの入った袋を冷所から取り出して室温になじませてください。室温に戻すことによってゲルのムラを防止します。



- 2 開封後は、開封部分を折り曲げてテープなどを貼ってシールをしてください。



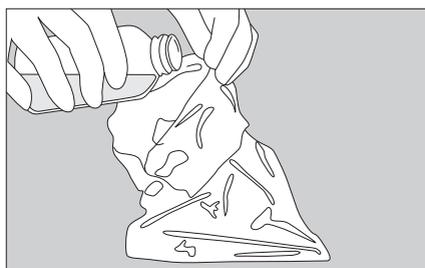
- 3 本プレート:開封後のパウチは再度シール後、25°C以下、相対湿度50%以下の所で保管してください。一度開封した本プレートのパウチをシールした後、冷蔵庫で保管しないでください。開封後の本プレートは1ヵ月以内に使用してください。
本ディスク:本ディスクの入ったパウチは再度シール後、密封容器に入れ、25°C以下、湿度50%以下で保管してください。開封後の本ディスクは6ヶ月以内に使用してください。

注意:室温が25°C、湿度が50%を超える場合には、パウチを密封容器に入れ、-15°C以下で冷凍保管してください。その場合には、表示されている有効期限まで使用可能です。

検体の調製

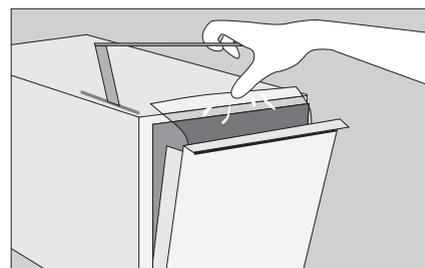


- 4 食品を秤量、あるいはピペットを使ってストマッカーバッグ、希釈ボトル、その他滅菌済み容器などに入れ、希釈を行なってください。



- 5 適量の滅菌希釈液を加えます。希釈液としては、バターフィールドリン酸緩衝希釈水 (IDF122Cリン酸緩衝液)、0.1%ペプトン水、ペプトン塩希釈液 (ISO6887-1)、ペプトン緩衝液 (ISO6887-1)、生理食塩水 (0.85~0.90%)、重硫酸塩無添加リーゼンブロス、滅菌蒸留水を使用することが可能です。

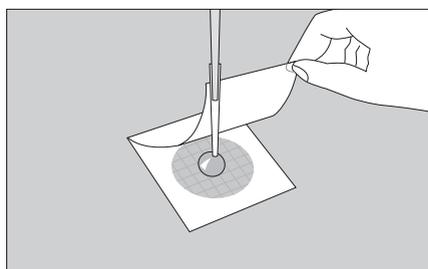
クエン酸、重亜硫酸塩、チオ硫酸塩を含んだ緩衝液は使用しないでください。



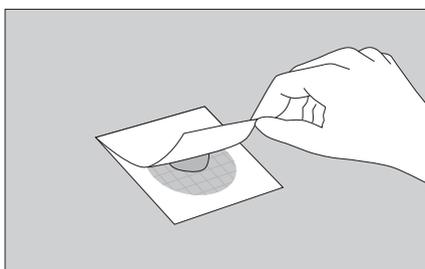
- 6 検体を攪拌またはホモジナイズしてください。

酸性検体の場合には、1N NaOHで希釈検体のpHを6~8に調節し、アルカリ性検体の場合には、1N HClでpHを調節してください。

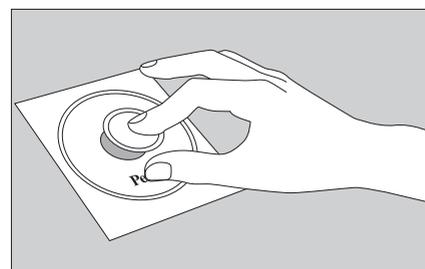
接種



- 7 本プレートを平らな台の上に置いてください。上部フィルムを持ち上げ、検体を1mL下部フィルムの中央部に接種します。



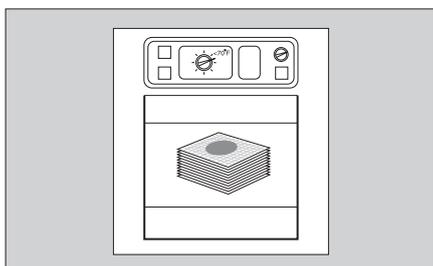
- 8 上部フィルムを気泡が混入しないように注意深くかぶせます。上部フィルムを持ったままかぶせてください。



- 9 ゲル化がはじまる前に付属のペトリフィルム™フラットスプレッダー (以下「本スプレッダー」という) を用いて静かに押して検体を円上の部分に広げます。本スプレッダーをスライドさせないでください。本スプレッダーを取り、ゲルがなじむまで約1分間放置します。
注意:本プレートに検体を接種した後、すぐに本スプレッダーで検体を広げてください。その後、次の本プレートに検体を接種します。本プレートに使用しているゲルは急速に凝固するために、この手順で操作してください。

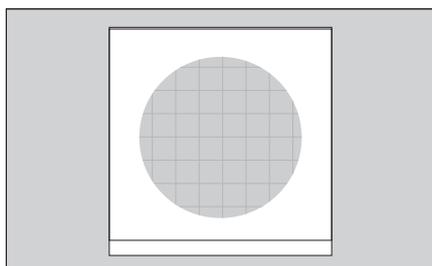
使用者の責任: ペトリフィルム™培地の性能は、全ての微生物、培養条件、食品マトリクスについて評価されたわけではありません。試験方法とその結果がお客様の必要条件を満たすかどうかの判断は、お客様ご自身の責任となります。本判定ガイドの複製が必要な場合、お客様の印刷設定が画像や色の質に影響する場合があります。

培養

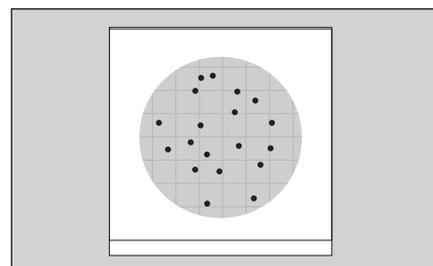


- 10** 透明なフィルム面を上にし、水平にして培養します。このとき、最高20枚まで重ねて培養することが可能です。35±1° Cまたは37±1° Cで24±2時間培養します。

判定



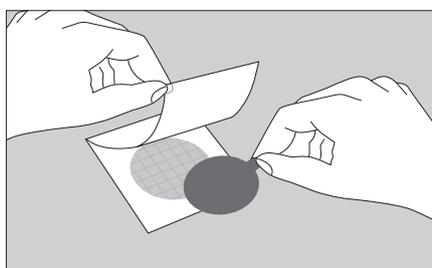
- 11** 24±2時間培養した後、コロニーが全く観察されない場合、コロニー数はゼロとなり、検査は終了です。



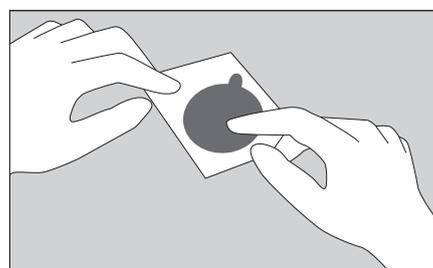
- 12** 赤紫色のコロニーを黄色ブドウ球菌として測定します。本プレートのコロニー数は、コロニーカウンターまたは拡大鏡でも測定することが可能です。結果を見る場合には、本解説書を参考にしてください。

本ディスクの使用

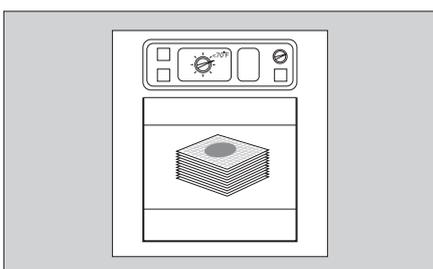
赤紫色以外のコロニーが存在する場合は、本ディスクを使用してください。（13～16参照）



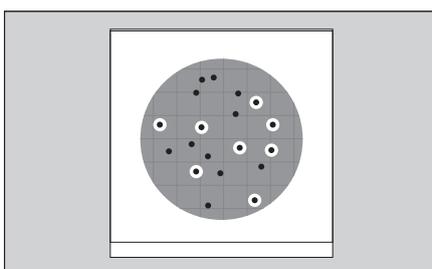
- 13** パウチ内には本ディスクが入っていますので、タブ部を持って本ディスクを取り出します。本プレートの上部フィルムを持ち上げ、下部プレートに装着し、上部フィルムを戻します。



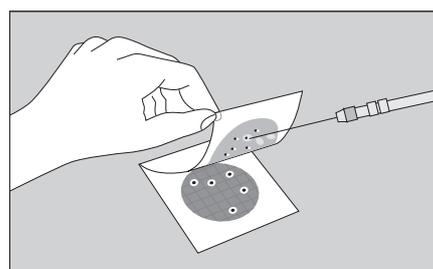
- 14** 本ディスクがあたっている部分と本ディスクの周囲を指でスライドさせながら圧力を加え、しっかり密着させ、気泡を除去してください。



- 15** 本ディスクを挿入した本プレートを培養します。本プレート数は20枚まで重ねて培養できます。35±1° Cまたは37±1° Cで1~3時間培養します。



- 16** コロニーの存在に関係なく、全てのピンクゾーンを測定します。黄色ブドウ球菌は (*S. hyicus* および *S. intermedius* も) ピンクゾーンとして現れます。結果を見る場合には、本解説書を参考にしてください。



- 17** 詳細な結果の確認が必要な場合には、上部フィルムを持ち上げてコロニーをゲル部から釣菌することができます。