

取扱説明書

One Broth One Plate サルモネラ定性試験用培地（OBOP-S）

使用目的

One Broth One Plate サルモネラ定性試験用培地（OBOP-S）は、食品および環境検体中のサルモネラ属菌を 1 種類の増菌培地および 1 種類の分離培地を用いて迅速検出する試験法です。

製品概要と説明

One Broth One Plate サルモネラ定性試験用培地は、損傷菌を含むサルモネラの優れた回収を実現します。増菌培養には、ISO 法の処方に準拠した緩衝ペプトン水 HQ（ISO 組成）を使用します。本培地は、サルモネラ属菌の増殖に必要な全ての栄養を供給する栄養培地で、培養中の pH を 7.0 に保つ緩衝能も有しています。さらに、サルモネラ選択用サプリメントとの併用することで高い選択性を示します。緩衝ペプトン水 HQ（ISO 組成）を用いた試料液を他の試験でも共用できるよう、サプリメントは別途添加することができます。

分離培養には、サルモネラ検出用発色選択培地であるサルモネラエステラーゼ発色寒天培地（Chromogenic Agar for Salmonella Esterase、CASE 培地）を使用します。本培地は、寒天培地上で生育するサルモネラ属菌とその他の菌を識別するために 2 種類の発色反応を示します。一方の発色剤は、サルモネラ属菌が有するエステラーゼ活性をターゲットとしており、サルモネラ属菌は青緑色のコロニーを形成します。もう一方の発色剤は、寒天培地上で生育できかつエステラーゼ活性を有するサルモネラ属菌以外の菌が有する β -グルコシダーゼをターゲットとしており、それらのサルモネラ属菌以外の菌は黒色のコロニーを形成します。またその他の全ての菌は、寒天培地上で発育が阻害されるか、無色のコロニーを形成します。

本培地は、単相性のサルモネラ属菌（1, 4, [5], 12:i:-）や非運動性のサルモネラ属菌（*S. Pullorum* および *S. Gallinarum*）も検出します。また、弱いエステラーゼ活性を示す血清型（*S. Dublin*）や乳糖分解性の菌株（*S. Arizonae*）も検出します。なお、本培地は ISO 6579-1:2017 において XLD 寒天培地と併用される第二選択分離培地として使用することも可能です。

対象使用者

この方法は適切なトレーニングを受けた技術者による使用を対象としています。

製品番号

製品名	形態	容量	カタログ製品番号
One Broth One Plate 用 緩衝ペプトン水 HQ（ISO 組成）	粉末培地	500 g	NCM0270A
One Broth One Plate 用 サルモネラ選択用サプリメント	粉末サプリメント	1 ボトル	NCM4000-100
One Broth One Plate 用サルモネラ 発色寒天培地（CASE 培地）	粉末培地	500 g	NCM1006A
		49.9 g	NCM1006S

注：内容量の異なる製品もございます。個別にお問い合わせください。

代表的な組成

組成、調製、品質管理用微生物、判定、保管方法の詳細につきましては、各製品の仕様書（Technical Specification Sheet、英文）をご覧ください。

サルモネラ選択用サプリメント（1 ボトルを 100 mL に溶解）	g/10 mL
選択成分	1.0

サルモネラエステラーゼ発色寒天培地（CASE 培地）	g/L
栄養成分	10.5
選択成分	11.0
緩衝成分	7.0
不透明化剤	7.5
発色成分	1.4
寒天	12.5
pH	7.2 ± 0.2（25°C）

必要な器具と材料の例

- ・ ストマッカーまたは同等品
- ・ 増菌用ストマッカー袋（フィルターバッグの使用を推奨）
- ・ メスシリンダー 250 mL 用
- ・ 精製水 1 L

準備

One Broth One Plate 用サルモネラ選択用サプリメント

1. サルモネラ選択用サプリメント（NCM4000-100）のボトルの蓋を無菌的に取り外します。
2. 滅菌済み緩衝ペプトン水 HQ（ISO）もしくは滅菌精製水 100 mL を加えます。
3. 蓋を再度取り付け、ボトルを穏やかに振とうもしくは反転させて、内容物を溶解させます。
注：溶解したサプリメントは静置すると沈殿する場合があります。使用前によく混ぜてください。分注毎に混ぜる必要はありません。

One Broth One Plate 用サルモネラエステラーゼ発色寒天培地（CASE 培地）

1. サルモネラエステラーゼ発色寒天培地（NCM1006）49.9 g を精製水 1 L に加え、沸騰浴中で加温溶解します。
2. 45～50°C に冷却します。
3. 滅菌シャーレに注ぎます。
注：選択成分は本培地中に混合されており、別途加える必要はありません。
注：過度の加熱や長時間の保温は、選択性の低下の原因となります。培地調製量が 1 L 以下の場合は、30

分以内に沸騰させてください。また、加温後は1時間以上保持しないでください。

注：目視で泡を確認できる程度まで培地を適切に沸騰させると、プレート内の不透明化剤が滑らかな見た目を呈します。沸騰が不十分な場合、プレート内にかすかな白色の沈殿物が残りますが、これは見た目のみの問題であり、性能には影響しません。

試験手順

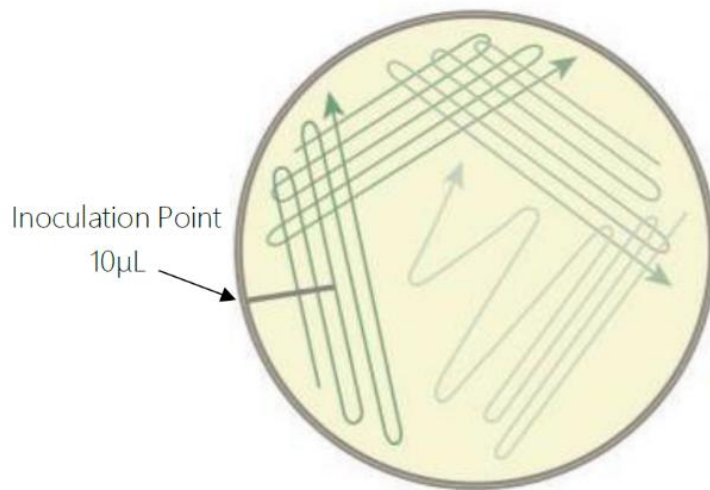
1. 検体 X g をストマッカー袋に秤量します。
2. 9 倍量 ($9 \times X$ mL) の緩衝ペプトン水 HQ (ISO 組成) を加え 10 倍希釈します。(例：25 g もしくは 25 mL の検体に 225 mL の緩衝ペプトン水 HQ を加えます。)
3. ストマッカーにてホモジナイズします。
注：緩衝ペプトン水 HQ を用いて調製した試料液を他の試験に共用する場合は、サルモネラ選択用サプリメントを加える前に、必要な容量をピペットで無菌的に取り分けてください。
注：ホモジナイズした試料液は、他の試験のために取り分けたあと 1 時間まで室温で保持できます。
4. ホモジナイズ後、1 時間以内に調製したサルモネラ選択用サプリメントを検体 X g (もしくは X mL) に対して $x 0.04$ mL 加えます。(例：検体 25 g の場合は、試料液 225 mL に対して 1 mL ($25 \text{ g} \times 0.04 \text{ mL}$) 加えます)
注：他の試験と共用しない場合、手順 3 (ホモジナイズ) の前にサプリメントを加えても構いません。
注：サプリメントは緑色であり、試料液に添加したかどうかは目視で識別できます。
5. 試料液を再度攪拌して均質化したあと、 $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 18 ± 2 時間好気培養します。
注：試験を行う際に、検体を室温で 2 時間まで保持することが可能です。
注： 41.5°C で増菌培養した緩衝ペプトン水 HQ は、 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ で 72 時間まで保持することが可能です。
6. 増菌培養した緩衝ペプトン水 HQ を滅菌済みの白金耳を使用してサルモネラエステラーゼ発色寒天培地 (CASE 培地) に画線塗抹します。塗抹方法は、次ページの試験フローの図を参照してください。
7. CASE 培地を $34 \sim 38^\circ\text{C}$ 、 24 ± 3 時間培養します。
注：培養後、判定および確認試験の前に $2 \sim 8^\circ\text{C}$ で 72 時間まで冷蔵保管することが可能です。

試験フロー

X g もしくは X mL の検体に 9 倍量 ($9 \times X$ mL) の緩衝ペプトン水 HQ およびサルモネラ選択用サプリメントを加え、 $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ にて 18 ± 2 時間培養します。

↓

1 枚の CASE 培地に $10 \mu\text{L}$ を画線塗抹し、 $34 \sim 38^\circ\text{C}$ にて 24 ± 3 時間培養します。



必要に応じてサルモネラ属菌の確認試験を実施します。

判定と確認試験

CASE 培地上では、サルモネラ属菌の推定陽性コロニーは青色または緑色のコロニーを形成します。

注：判定方法詳細は、培地仕様書（Technical Specification Sheet、英文）もあわせてご覧ください。

注：CASE 培地上のコロニーが非常に多い場合には、必要に応じて疑わしいコロニーを CASE 培地で再分離してください。

確認試験を行う場合は、CEN や ISO などに示される標準試験法や、ISO 16140-6 に基づき妥当性確認され認証を取得した試験法などを用いてください。

注：一般的な確認方法の一つとしてラテックス凝集反応法がありますが、本試験法は全てのサルモネラ属菌を検出できるとは限らないことに注意する必要があります。

注：試験結果と確認試験の結果が一致しなかった場合には、別の確認試験を実施します。別の確認試験の結果も陰性だった場合、CASE 培地の結果を偽陽性とし、検体は陰性であると判断されます。別の確認試験の結果が陽性だった場合、検体は陽性であると判断されます。

菌種	増殖	コロニーの色
<i>Salmonella</i> spp.	良好な増殖	青または緑色
<i>Enterobacter</i> spp.、 <i>Klebsiella</i> spp.	増殖	黒色
<i>Escherichia coli</i>	抑制される	無色
<i>Shigella</i> spp.	抑制される	無色
<i>Proteus</i> spp.	抑制される	無色から茶色

品質管理

菌種	WDCM 番号	緩衝ペプトン水 HQ	CASE 寒天培地
<i>Salmonella Typhimurium</i>	00031	濁度 1-2	良好な増殖、青緑色のコロニー
<i>Salmonella Enteritidis</i>	00030	濁度 1-2	良好な増殖、青緑色のコロニー
<i>Escherichia coli</i>	00013	濁度 1-2	—
<i>Enterobacter aerogenes</i>	00175	—	増殖、黒色のコロニー
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00026	—	抑制される

注意事項と制限事項

1. ISO 7218 のような微生物試験室における適切な慣行に従ってください。
2. 検体調製の際には製品が該当する標準（ISO 6887 シリーズ）に従ってください。

妥当性確認

One Broth One Plate サルモネラ定性試験用（OBOP-S）は、ISO 16140-2 に基づき、ISO 6579-1:2017 を参照法とする食品および環境試料中のサルモネラ属菌の検出の代替試験法として MicroVal により認証されています。認証の詳細については認証 2019LR88 をご参照ください。

安全性

関連する製品安全データシート（SDS）を参照してください。

保管・使用期限

製品名	状態	保管条件
サルモネラ選択用 サプリメント	調製前 (粉末)	直射日光を避けて 2～8℃で保管してください。
	調製後 (液体)	2～8℃で保管し、7 日以内に使用します。
緩衝ペプトン水 HQ +サプリメント	調製後	混合後、1 日以内に使用します。
サルモネラエステラーゼ 発色寒天培地（CASE 培地）	調製前 (粉末)	直射日光を避けて 2～8℃で保管してください。
	調製後 (寒天平板)	2～8℃の暗所で保管し、14 日以内に使用します。

注：調製前の培地類の使用期限は、容器に記載の使用期限をご確認ください。なお、本期限はそのままの容器で指示通りに保管された場合に適用されます。

注：異常が認められた場合（例：吸湿してしまった場合や色調が変化した場合など）は、使用せず廃棄してく

ださい。

廃棄

培養後の培地はバイオハザード廃棄物として処分してください。バイオハザード廃棄物の処理方法としてはオートクレーブが適しています。オートクレーブできない物品の処理には漂白剤による消毒が有効です。詳細な手順につきましては使用者の施設の安全管理者にご相談ください。

利用規約

ご利用規約全文は以下のリンクからご覧いただけます。 <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

保証

NEOGEN Corporation は、製品の原材料が標準的な品質であることを除き、明示または黙示を問わずいかなる保証も行いません。材料に欠陥がある場合、NEOGEN は製品を交換いたします。購入者は、本製品の使用に関するすべてのリスクと責任を負うものとします。本製品の商品性、またはいかなる目的に対する製品の適合性も保証しません。NEOGEN は、本製品の使用により直接的または間接的に生じる特別損害もしくは結果的損害、または費用を含むいかなる損害についても責任を負わないものとします。

参考文献

1. Taylor, W. I. 1965. Am. J. Clin. Pathol. 44:471-475.
2. Edel, W. and Kampelmacher, E. H. 1968. Bul. Wld. Hlth. Org. 39:487-491.
3. Edel, W. and Kampelmacher, E. H. 1969. Bul. Wld. Hlth. Org. 41:297-306.
4. Edel, W. and Kampelmacher, E. H. 1973. Bull. Wld. Hlth. Org. 48:167-174.
5. Angelotti, R. 1963. Microbiological quality of foods. Academic Press, New York.
6. Sadovskii, A. Y. 1977. J. Food Technol. 12:85-91.
7. Vassiliadis, P. 1983. J. Appl. Bacteriol. 56:143-145.
8. ISO 11133:2014 (Corrected version), ICS: 07.100.30. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
9. ISO 6579:2017. Microbiology of the food chain – horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*.
10. ISO 6887 (all parts) Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
11. Cooke, V.M. et al, A Novel Chromogenic Ester Agar Medium for Detection of Salmonellae. Appl. Environ. Microbiol. Feb 1999 p. 807-812, Vol. 65, No. 2.

NEOGEN は、Neogen 社の商標です
ネオジェンジャパン株式会社

<https://www.neogen.jp/>

NEO-388-A (202508)

Technical Product Sheet

Salmonella_TPI_032021

