



# ペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用システム

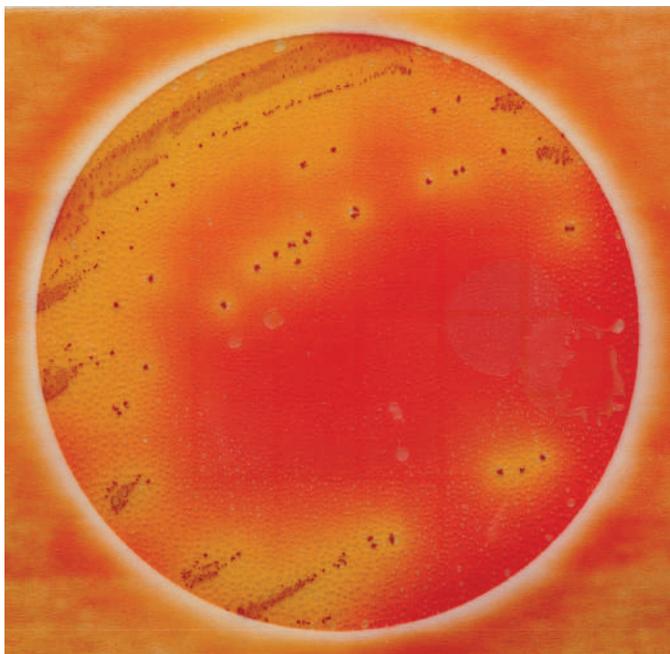
(SALXプレート)

## Petrifilm™ *Salmonella* Express System (SALX Plate)

この解説書はペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用システム（以下「本システム」という）に現れた結果を良く理解していただくためのものです。

本システムは、食品増菌検体および食品加工環境検体におけるサルモネラ属菌の迅速検出と生化学的確認のための病原菌定性検査キットです。

本システムは、下記の製品によって構成されています。



### サルモネラ属菌用前増菌基礎培地と サルモネラ属菌用前増菌サプリメント

サルモネラ属菌の回収と増殖のための独自の培地です。

### ペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用プレート（以下「本プレート」という）

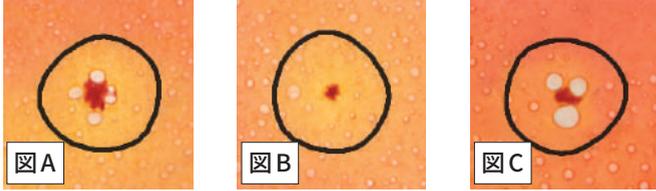
冷水可溶性ゲル化剤を含む発色性のできあがり培地システムで、サルモネラ属菌を選択・鑑別し推定結果を提供します。

### ペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用確認ディスク（以下「本ディスク」という）

サルモネラ属菌の生化学的確認を容易にするためのディスクです。

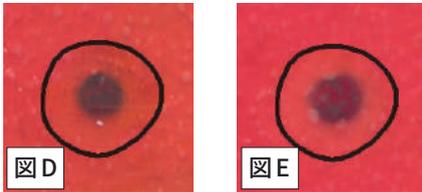
## コロニーの例

### 本プレート上の推定陽性コロニー



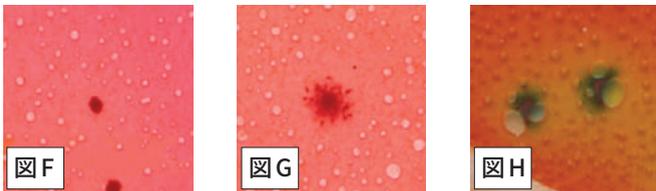
- 観察：  
 図A：黄色域と気泡を伴う赤色のコロニー  
 図B：黄色域を伴う赤色のコロニー  
 図C：黄色域がなく気泡を伴う赤色のコロニー

### 本ディスクで確認されたサルモネラ属菌のコロニー



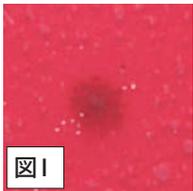
- 観察：  
 図D：青色の沈着物を伴う濃青色／黒色のコロニー  
 図E：濃赤色の中心部と青色の沈着物を伴う濃青色／黒色のコロニー

### 本プレート上のサルモネラ属菌以外のコロニー



- 観察：  
 図F：黄色域も気泡も伴わない赤色のコロニー  
 図G：赤紫色（マゼンタ）ゾーンを伴う赤色のコロニー  
 図H：黄色域と気泡を伴う青緑色のコロニー

### 本ディスク装着時のサルモネラ属菌以外のコロニー

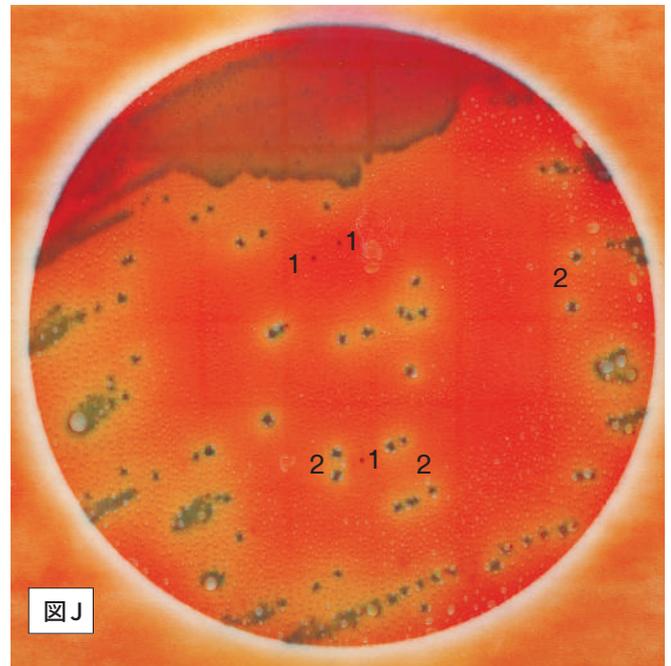


- 観察：  
 図I：本ディスクを装着後もコロニーは同じ赤色のままで青色の沈着物を伴わない。

### 推定陽性サルモネラ属菌の判定

赤色	コロニーの色		コロニーの代謝		結果
	濃赤色	茶色	黄色域	気泡	
●			●		推定+
●				●	推定+
●			●	●	推定+
	●		●		推定+
	●			●	推定+
	●		●	●	推定+
		●	●		推定+
		●		●	推定+
		●	●	●	推定+

### 推定陽性コロニーがない本プレート



- 観察：  
 図J：①黄色域および／または気泡を伴わない赤色の単離コロニー。  
 ②気泡を伴う青緑色のコロニー。

## プレート例1

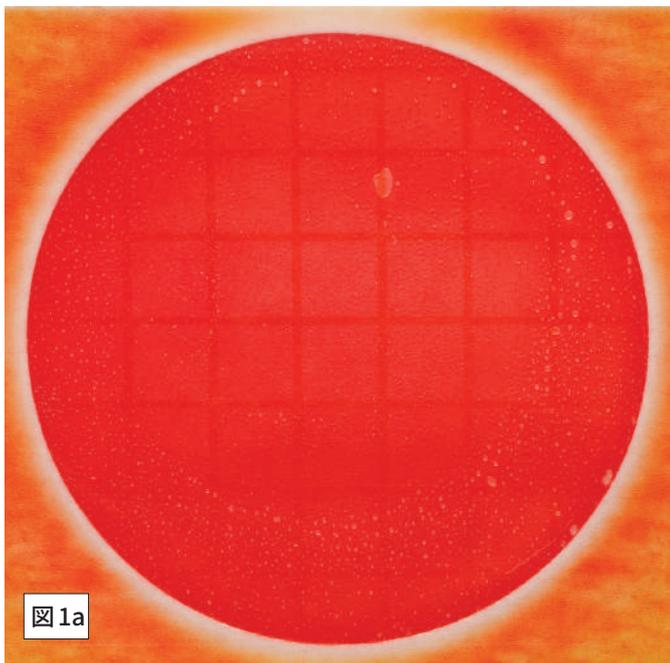


図1a

### 本プレート

観察：希釈液2mLで水和した陰性対照の本プレート。

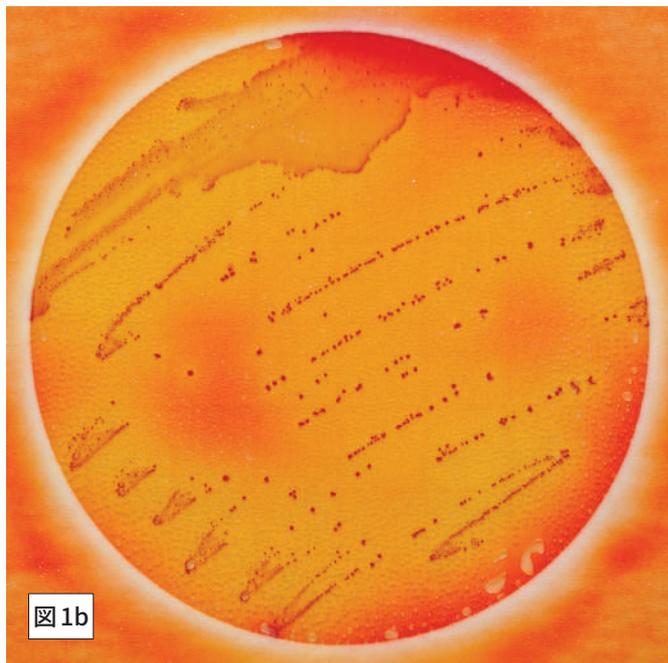


図1b

### 本プレート：推定陽性コロニーのみ検出

観察：黄色域を伴う赤色の単離コロニーが認められます。

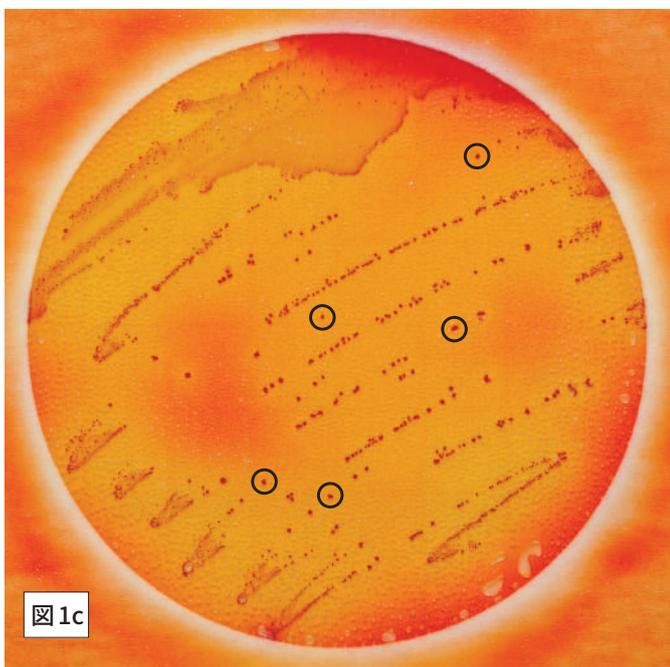


図1c

### 本プレート：○で囲んだ推定陽性コロニー

観察：最も目立つ5個の単離推定陽性コロニーの形態（黄色域を伴う赤色）に、本プレートの上フィルム上で○印を付けています。

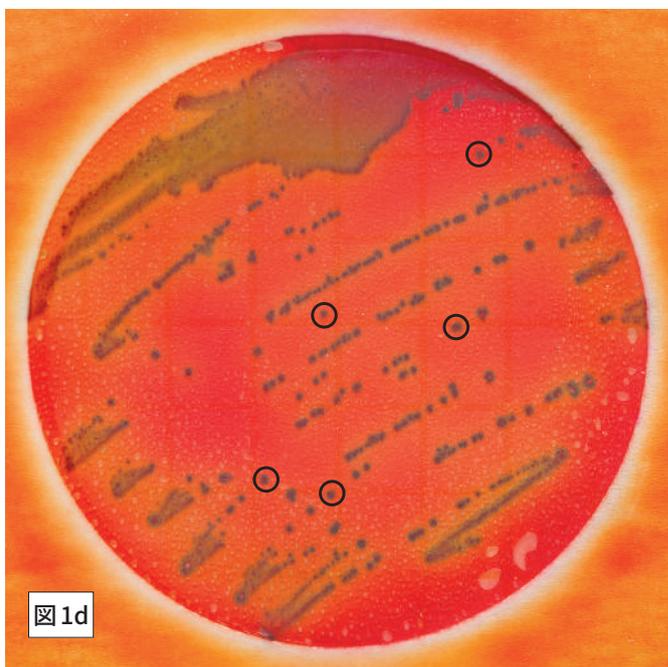


図1d

### 本プレート：本ディスクを装着

観察：○で囲んだ推定陽性コロニーは、本ディスクを装着して培養後に、青い沈着物を伴う緑色から青色、青色から濃青色／黒色を呈します。○で囲んだこれらのコロニーは、生化学的にサルモネラ属菌陽性と確認されたこととなります。

## プレート例2

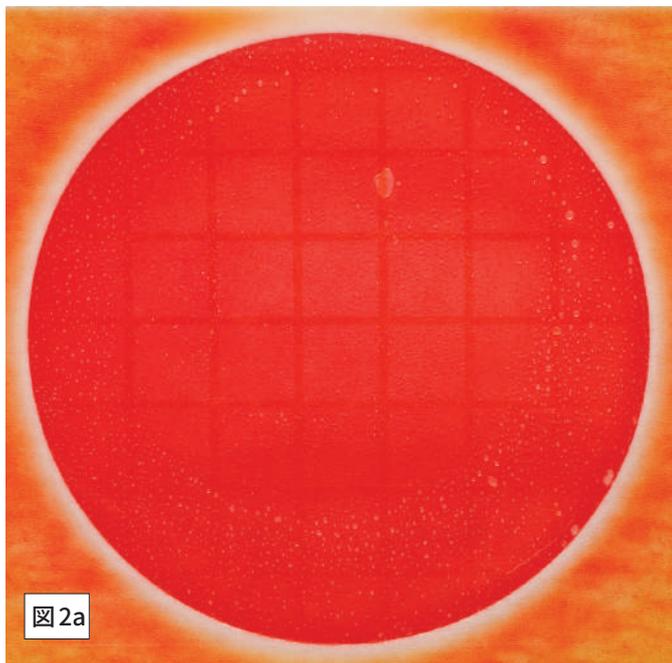


図2a

### 本プレート

観察：希釈液2mLで水和した陰性対照の本プレート。

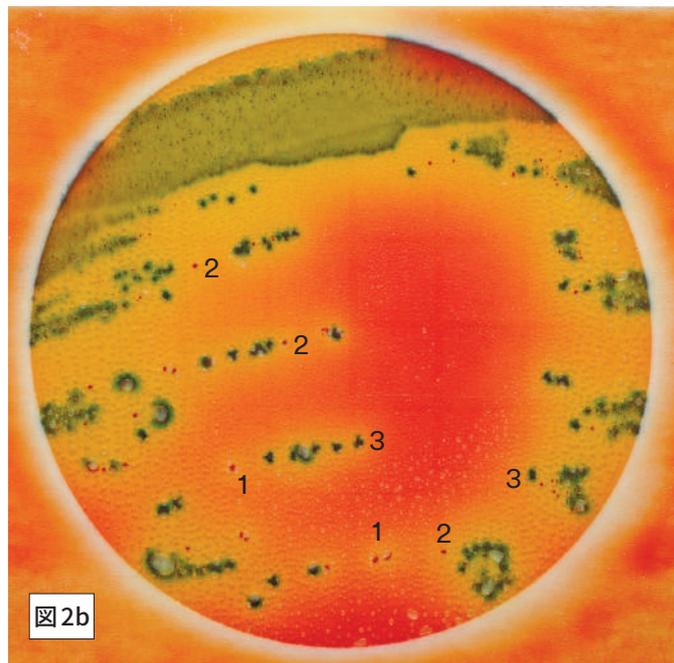


図2b

### 本プレート：種々の形態のコロニー

観察：①黄色域と気泡を伴う赤色の単離コロニー。②黄色域のみ伴う赤色の単離コロニー。③バックグラウンドの微生物叢の青色、青緑色のコロニー。

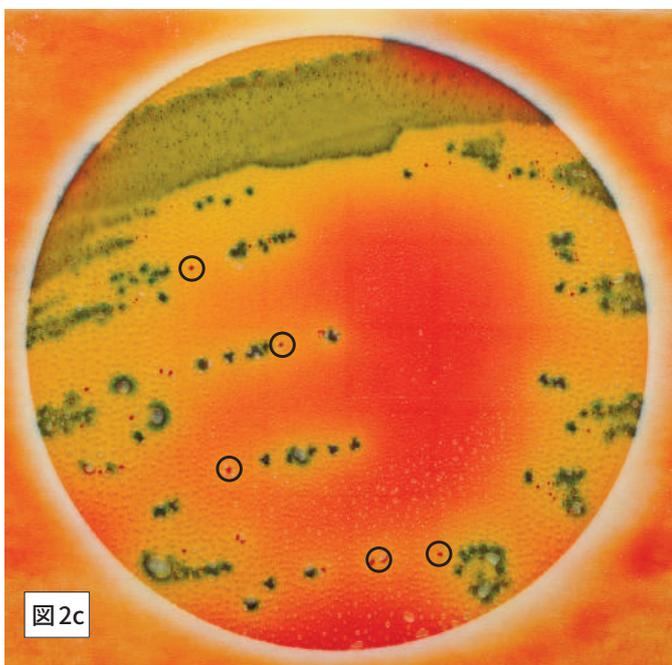


図2c

### 本プレート：○で囲んだ推定陽性コロニー

観察：最も目立つ5個の単離推定陽性コロニーの形態（黄色域と気泡を伴う赤色、気泡がなく黄色域を伴う赤色）に、本プレートの上部フィルム上で○印を付けています。

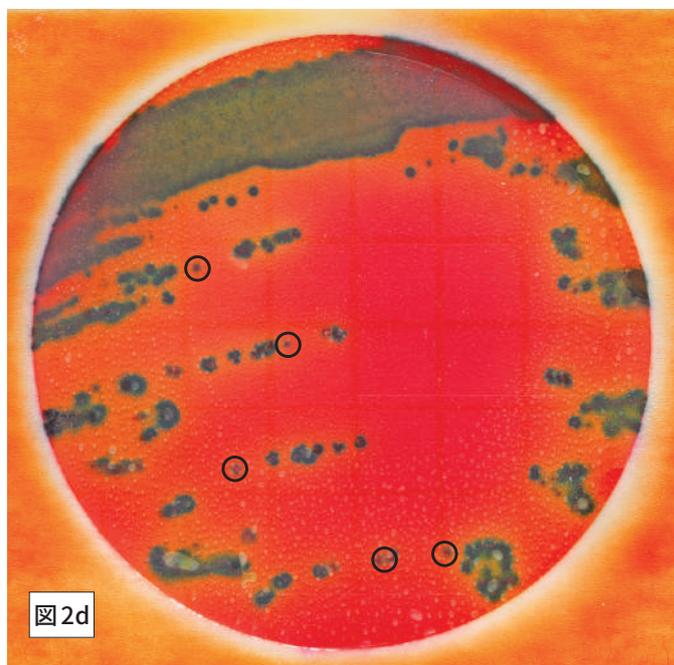


図2d

### 本プレート：本ディスクを装着

観察：○で囲んだ推定陽性コロニーは、本ディスクを装着して培養後に、青い沈着物を伴う緑色から青色、青色から濃青色／黒色を呈します。○で囲んだこれらのコロニーは、生化学的にサルモネラ属菌陽性と確認されたことになります。

## プレート例3

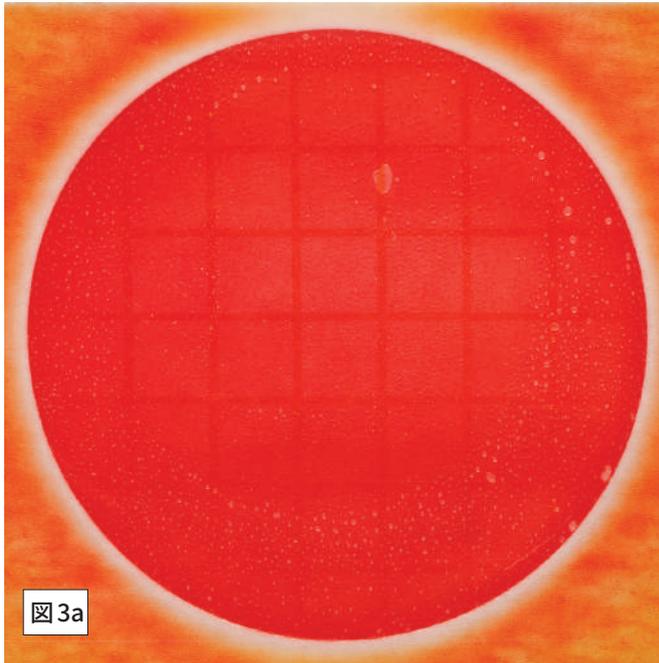


図3a

### 本プレート

観察：希釈液2mLで水和した陰性対照の本プレート。

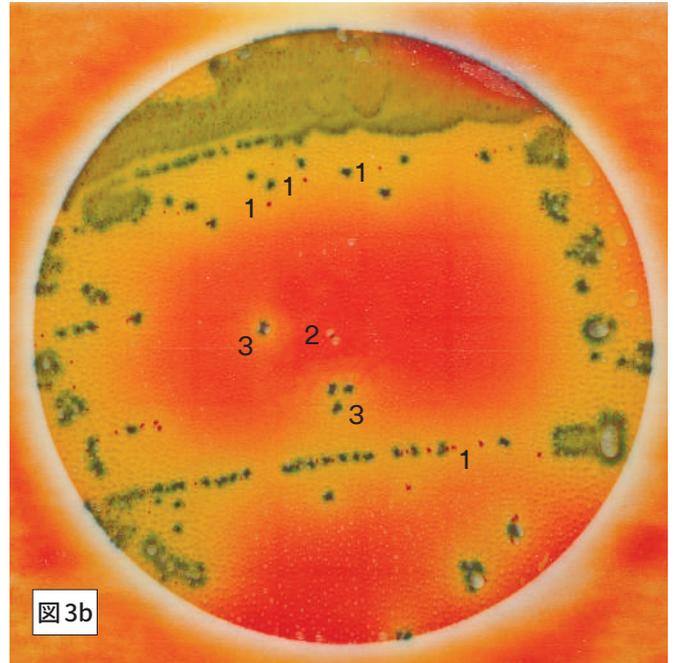


図3b

### 本プレート：種々の形態のコロニー

観察：①黄色域を伴う赤色の単離コロニー。②気泡を伴う赤色の単離コロニー。③バックグラウンドの微生物叢の気泡を伴う青色、青緑色のコロニー。

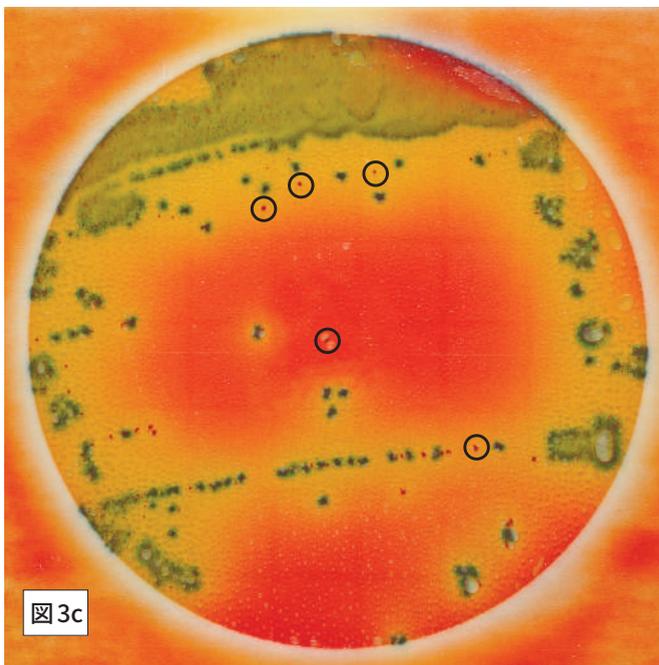


図3c

### 本プレート：推定陽性コロニー

観察：最も目立つ5個の単離推定陽性コロニーの形態（黄色域を伴う赤色と気泡を伴う赤色）に、本プレートの上部フィルム上で○印を付けています。

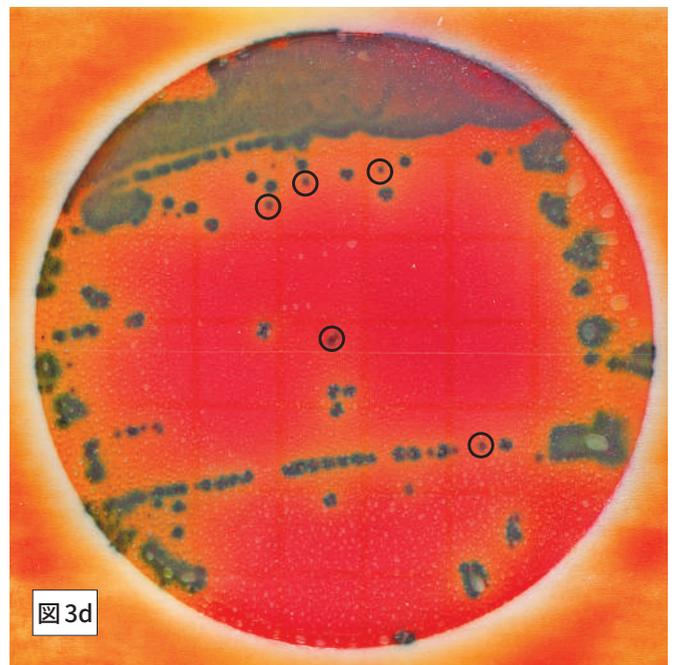


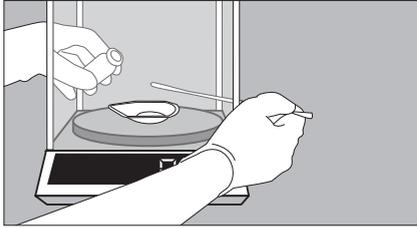
図3d

### 本プレート：本ディスクを装着

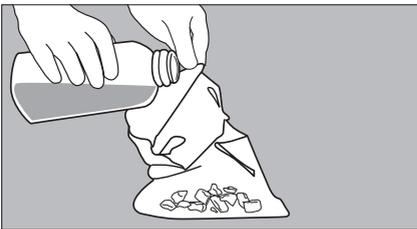
観察：○で囲んだ推定陽性コロニーは、本ディスクを装着して培養後に、青い沈着物を伴う緑色から青色、青色から濃青色／黒色を呈します。○で囲んだこれらのコロニーは、生化学的にサルモネラ属菌陽性と確認されたこととなります。

## 使用上の注意事項

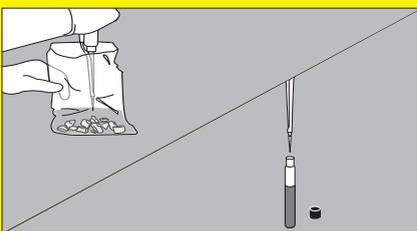
### サプリメント



- 1 適量のサルモネラ属菌用前増菌サプリメントを無菌的に秤量します。

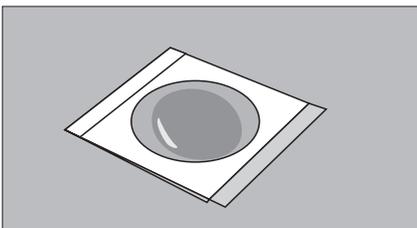


- 4 サルモネラ属菌用前増菌基礎培地とサルモネラ属菌用前増菌サプリメントの混合物を適量、検体バッグまたは検体容器に添加します。



- 7 高夾雑の検体 ( $>10^4$  CFU/g) の場合のみ、増菌培養後、検体0.1mLを10mLのR-V R10に移します。

### 水和

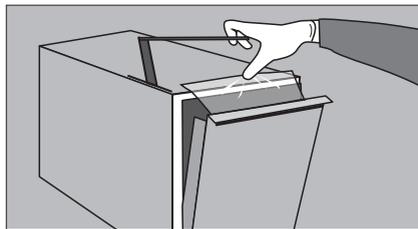


- 10 気泡が入らないように上部フィルムを静かにおろします。

### 増菌



- 2 オートクレーブに入れた適量の調製済みサルモネラ属菌用前増菌基礎培地に、サルモネラ属菌用前増菌サプリメントを無菌的に添加します。

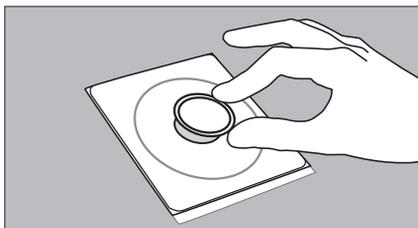


- 5 該当する手順に従って検体をホモジナイズします。



- 8 R-V R10を $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ で8~24時間培養します。ステップ9~12の作業をした後、ステップ13bに進みます。

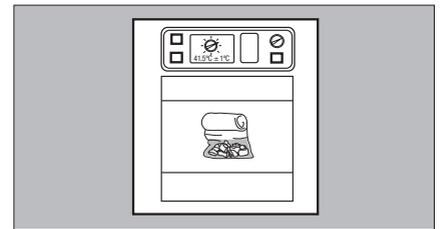
※選択増菌については24時間をお勧めしますが、使用される検体により8~24時間の間で事前に検証の上、適した培養時間を設定してください。



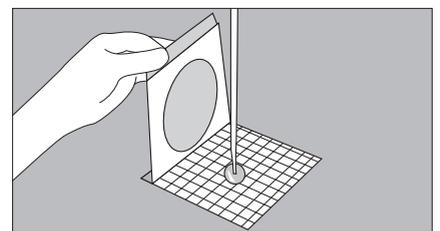
- 11 ペトリフィルム™フラットスプレッダー（以下「本スプレッダー」という）を本プレート中心に置きます。本スプレッダーの中心を軽く押し滅菌水を均等に広げます。ゲルが形成される前に、滅菌水等を本プレートの接種領域全体に広げます。本スプレッダーをフィルム上でスライドさせないでください。



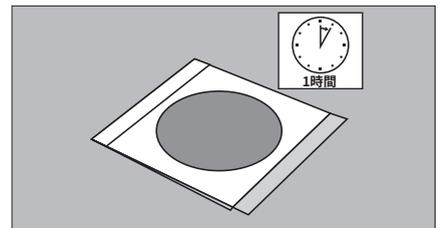
- 3 食品の検体希釈液を調製します。食品をホモジナイズ用のバッグまたは容器等の滅菌容器に秤量するかピペットで採取します。



- 6 増菌検体を $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ で18~24時間培養します。低夾雑の検体 ( $\leq 10^4$  CFU/g) の場合にはステップ9~12の作業をした後、ステップ13aに進みます。



- 9 注意：水和した本プレートは、遮光下で使用時まで室温 $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ で最長8時間保存できます。8時間以内に使用しない場合には、取扱説明書の保存条件を参照してください。本プレートは平らな台に置いてください。ピペットを本プレートに対して垂直に保って、2.0mLの滅菌蒸留水、RO水、あるいはバターフィールドリン酸緩衝希釈水を下側のフィルムの中央に滴下します。

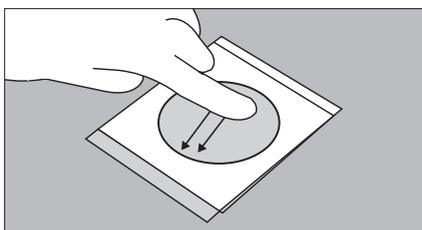


- 12 ゲル化のために、本プレートを平らな台に室温 ( $20 \sim 25^\circ\text{C}$ ) で1時間以上静置します。トレイなどを被せ、遮光状態にしてください。

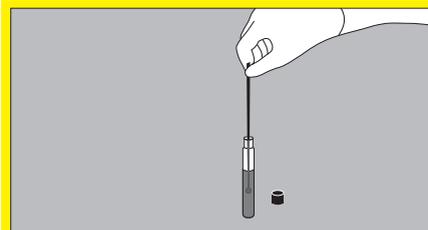
## プレートへの接種、培養および判定



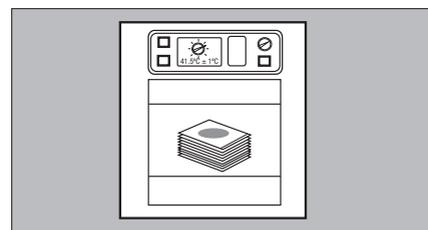
- 13a** 低夾雑の検体の場合、滅菌済の10µLループを使用して培養液を1ループ分採取します。ゲル表面が破損しないように、滑らかな（ギザギザの縁がなく、歪んでいない）ループを使用します。



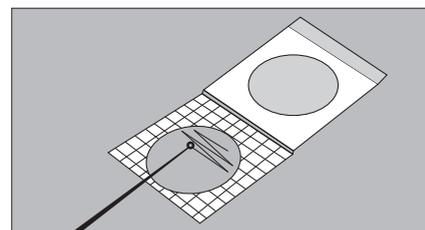
- 15** 上部フィルムを戻して本プレートを覆います。手袋をした手で（交差汚染および/または本プレートへの直接接触を避けるためGLPを実践しながら）、接種領域から気泡を除くために上部フィルムの上を均等な圧力で軽くこすります。



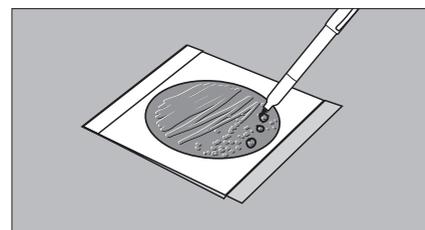
- 13b** 高夾雑の検体の場合、プレート塗抹のため、滅菌済の10µLループを使用して、培養液を1ループ分採取します。



- 16** 本プレートの色の付いた面を上向きにして、水平面で41.5±1°Cで18～24時間培養します。20枚まで重ねられます。

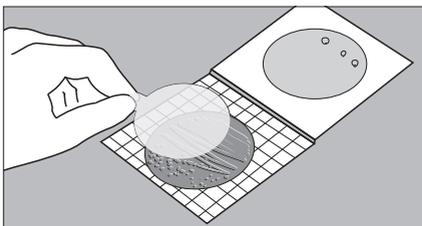


- 14** 単離コロニーを得るため、本プレートの上から下に向かって1回で塗抹します。

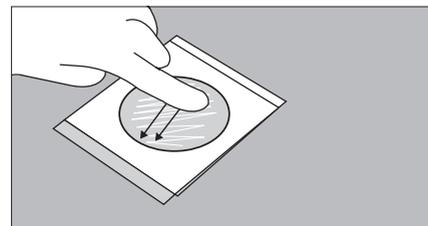


- 17** 本プレートの上部フィルム上で、極細油性マーカーを用いて単離推定陽性サルモネラコロニーに○印をつけます。本ディスクを用いて全てのサルモネラ推定陽性結果を生化学的に確認します。

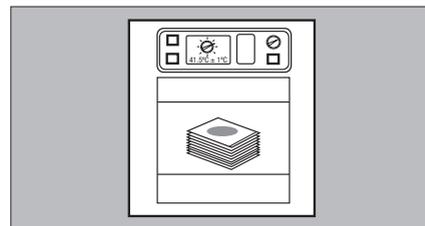
## 生化学的確認



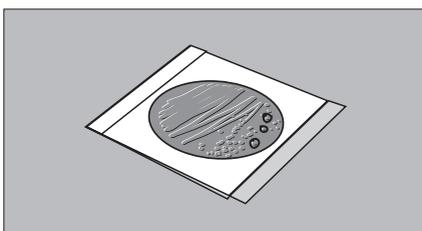
- 18** 個包装の本ディスクをパウチから取り出し、室温に戻します。包装を剥がして本ディスクのタブを露出させ、タブをつまみ本ディスクを取り出します。本プレートの上部フィルム（既に推定陽性サルモネラコロニーに○印が付いている）を持ち上げ、気泡が入り込まないように本ディスクをゲル上に広げます。フィルムを戻して本プレートを覆います。



- 19** 手袋をした手で接種領域から気泡を除くために上部フィルムの上を均等な圧力で軽くこすり、ゲルと本ディスクを完全に密着させます。

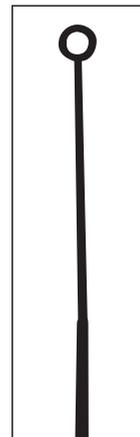


- 20** 本ディスクを装着した本システムを41.5±1°Cで4～5時間培養します。



- 21** 培養器から取り出し、結果の読み取り手順に進みます。○印を付けたコロニーのみを調べます。

例) 10µLのループ (3mm径)



## 増菌培地の作成方法（1L当たり）

前増菌用培地	①精製水1.0Lにサルモネラ属菌用前増菌基礎培地（SEB500）を37.0g入れ、完全に溶解させます。必要に応じて加温溶解してください。 ②121℃ 15分 オートクレーブ滅菌します。 ③滅菌後、培地が20～42.5℃になってからサルモネラ属菌用前増菌サプリメント50±2.5mgを入れて攪拌します。 ＊サプリメントは予め滅菌水で溶かしてから添加することも可能です。別紙「サルモネラ属菌用前増菌サプリメント準備方法」をご参照下さい。
選択増菌用培地	①精製水1.0Lにラポポート バシリアディス R10培地（R-V R10）を26.6g入れ、完全に溶解させます。必要に応じて加温溶解してください。 ②試験管に10mL分注します。 ③115℃ 15分 オートクレーブ滅菌します。

## 高夾雑、低夾雑の目安

高夾雑の検体例 (>10 <sup>4</sup> CFU/g)	魚介類（海老）、生牛肉、生鶏肉、果物、野菜、生乳
低夾雑の検体例 (≤10 <sup>4</sup> CFU/g)	殺菌乳/乳製品、加工食品、冷凍食品、殺菌卵

## 製品一覧

製品番号	製品名	入目・容量／箱・本	輸送方法	保存方法
6536SALX	ペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用プレート	50枚入(25枚×2袋)／箱	冷蔵輸送	未開封:2℃～8℃ 開封済み:密封可能な袋に入れて、-20℃～-10℃で保存し4週間以内に使用してください。
6537SALX	ペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用プレート	200枚入(25枚×8袋)／箱		常温輸送
6538SALX	ペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用確認ディスク	5枚入／箱	常温輸送	
6539SALX	ペトリフィルム™ サルモネラ属菌測定用確認ディスク	25枚入／箱		常温輸送
6425	ペトリフィルム™ フラットスプレッダー	2枚入／箱	常温輸送	2℃～30℃
SEB500	サルモネラ属菌用前増菌基礎培地	500g／本		
SESUP001	サルモネラ属菌用前増菌サプリメント	1g／本		
BP0288500	ラポポート バシリアディス R10培地（R-V R10）	500g／本		

## 水和について

**⚠ 注意：** 誤陰性判定によるリスクを軽減する為、本プレートをご使用前に下記の検証を実施してください。

1. 本プレートを2mLの滅菌蒸留水、RO水、あるいはバターフィールドリン酸緩衝希釈水で水和させます。  
（手順9～11を参照ください。）

2. 室温（20～25℃）で5～10分間、静置します。

3. 本プレート中央のゲル化部分の色を確認してください。

赤色 （\*1参考色）：使用可能

橙色、茶色 （\*2参考色）：高温下に置かれ、培地が変質した可能性があります。ご使用にならないでください。

