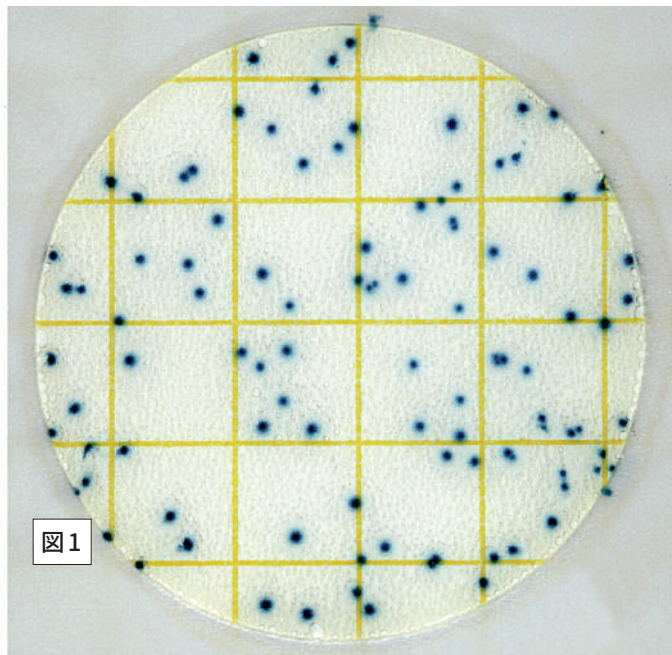


ペトリフィルム™ 大腸菌選択用プレート (SECプレート)

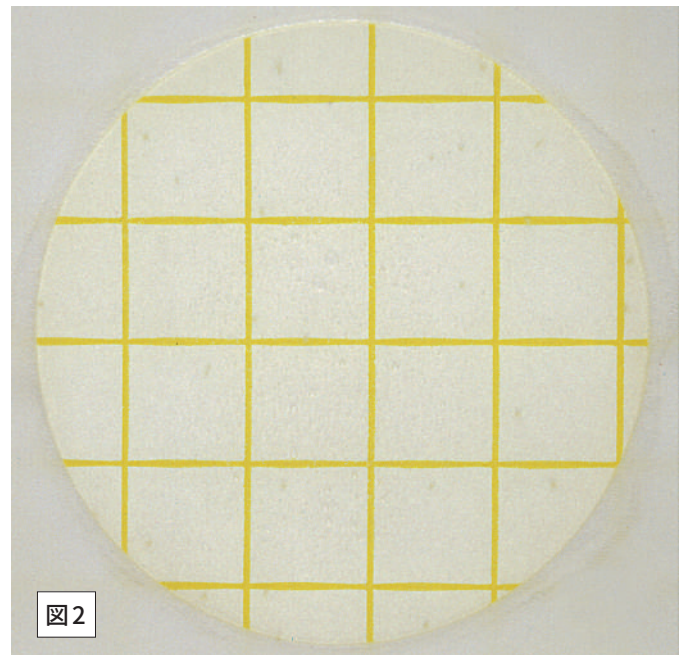
Petrifilm™ Select *E. coli* Count Plate (SEC Plate)

この解説書はペトリフィルム™ 大腸菌選択用プレート（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。



大腸菌数 = 97

本プレート上で大腸菌 (β -グルクロニダーゼを産生する大腸菌 (大腸菌の約97%)) は青緑色のコロニーになります。多くのO-157は β -グルクロニダーゼを産生しません。そのため本プレートでは検出できません。



大腸菌数 = 0

適正測定範囲：～150コロニー

TNTC (Too Numerous to Count：測定不能多数)

より正確に測定するには、検体をさらに希釈します。

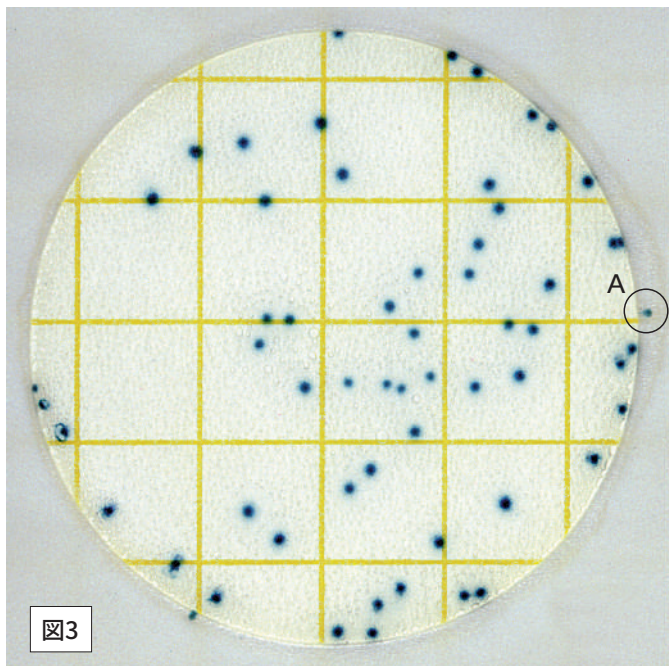


図3

大腸菌数 = 56

フォームダムの外に出てきたコロニーは計測しないでください。フォームダムには培地の選択的抑制物質が無いからです。(○A参照)

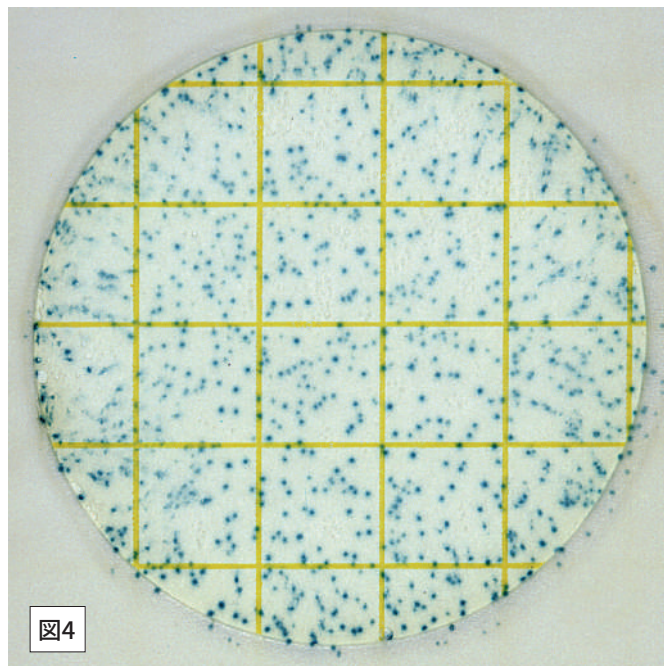


図4

大腸菌の推定菌数 = 740

もしコロニー数が150を超えてしまった場合、コロニー数を推定します。1cm²当たりの平均コロニー数を求めその数値を20倍して本プレート1枚あたりの推定菌数を求めます。本プレートの接種面積は20cm²です。

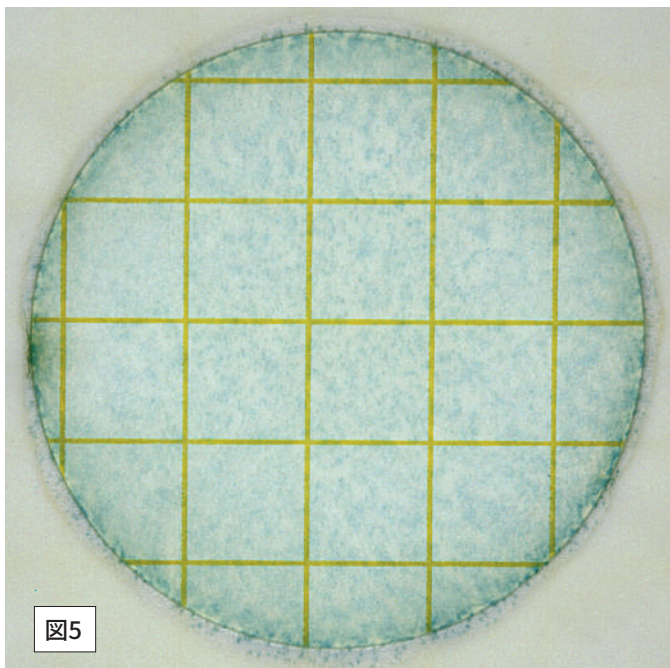


図5

大腸菌数 = TNTC (測定不能多数)

小さいコロニーが一面に成育しています。

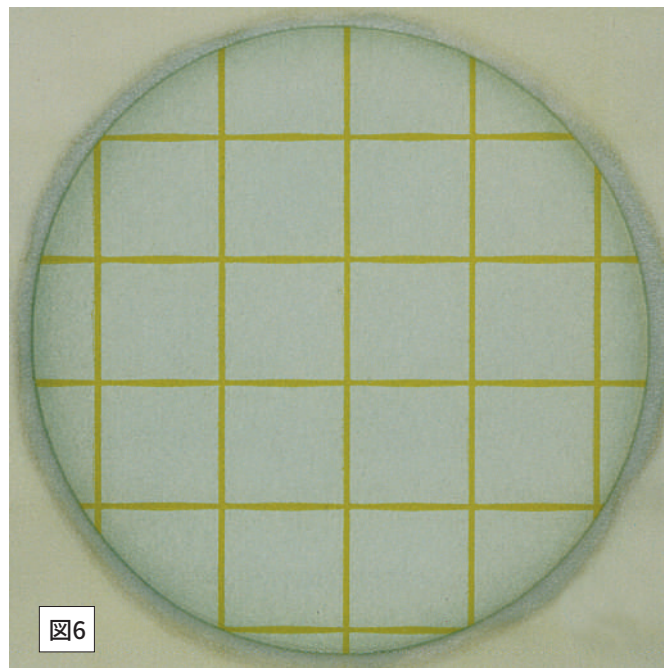


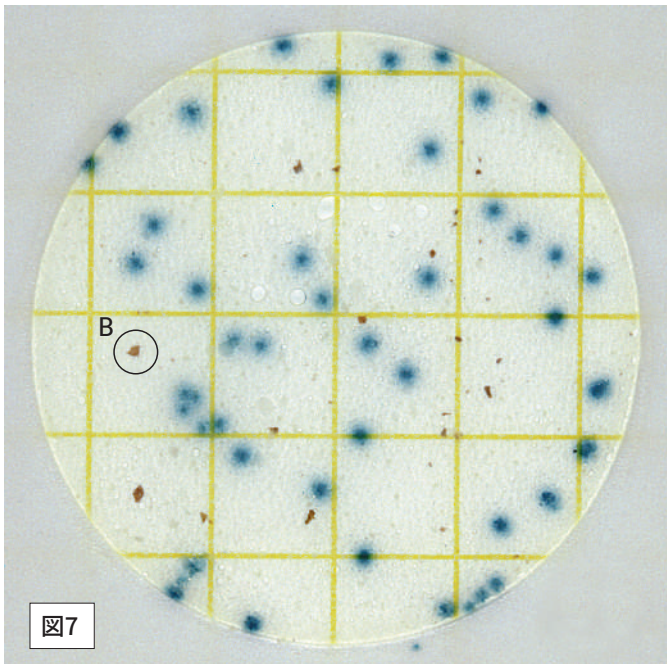
図6

大腸菌数 = TNTC (測定不能多数)

全体が青緑色に変化しています。

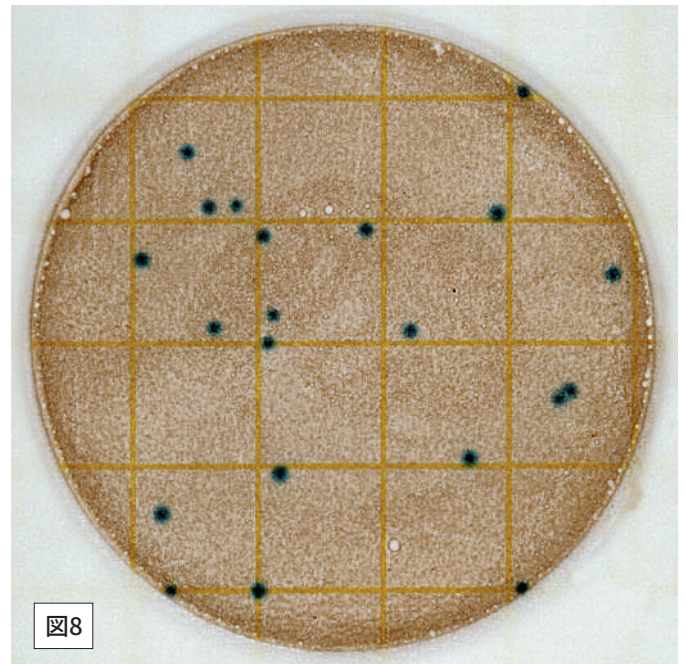
検体による阻害作用

本プレートは多くの食品検体で評価してありますが、あらゆる全ての食品で評価したわけではありません。検体として生・冷凍の肉、野菜、魚介類、冷凍食品、乳製品などを使用しています。レバーなど限られた食品において、測定に影響を与える事があります。その場合希釈を行うと、測定への影響を減少させることができます。



大腸菌数 = 45

本プレートでは、残渣との見分けが簡単です。残渣はたいてい不規則な形をしていたり、色や大きさが異なったりします。図7の○Bは、ピーナッツの残渣です。



大腸菌数 = 21

色の濃い検体は、コロニーを見難くさせます。希釈することにより、背景の色が薄まり、コロニーが見やすくなります。図8はココアパウダーの1:50の希釈液です。

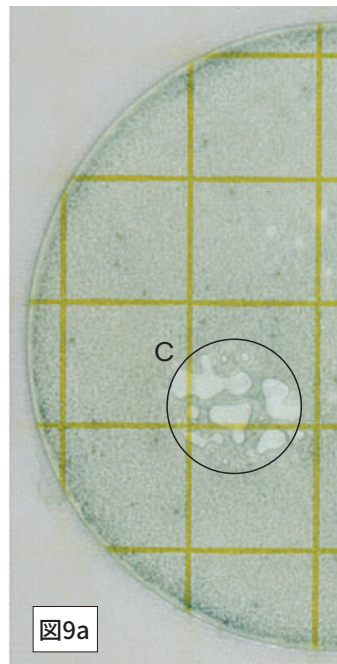


図9a

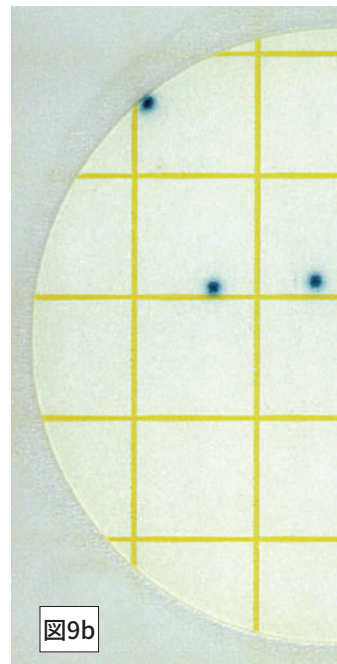
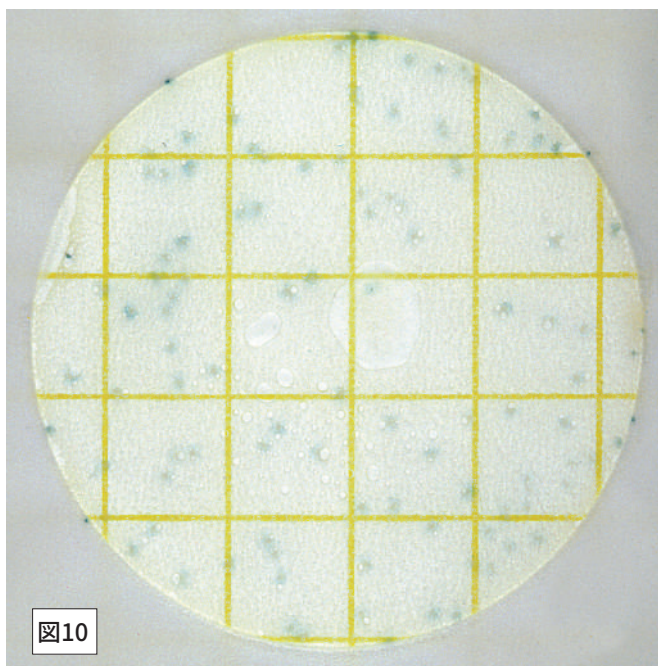


図9b

生のレバーを含む検体は、背景の色を青緑色に変化させることがあります。その場合には希釈を行なうと背景の色が薄まり、コロニーを数えやすくなります。希釈することにより、TNTC (図6) との見分けも可能です。図9a (1:10) と図9b (1:100) の図を参照してください。図9aの○Cは接種時に誤って入った空気が残っている時の図です。

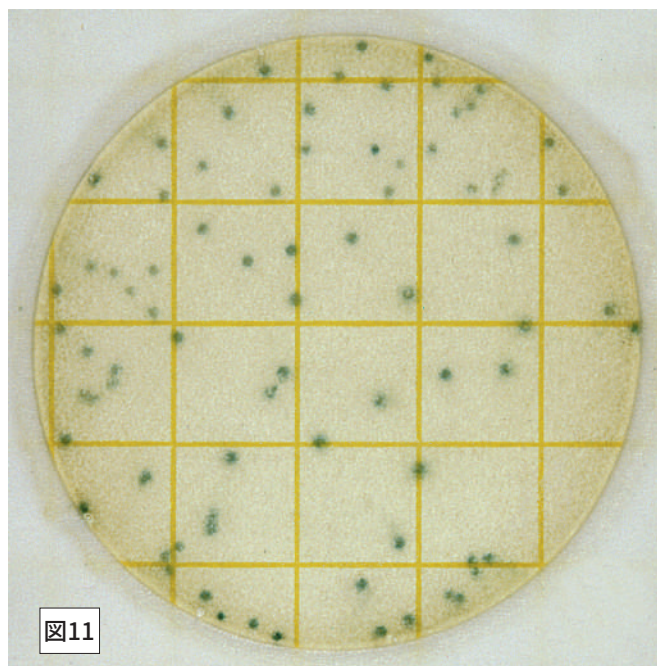
コロニー生育の様子

β -グルクロニダーゼ陽性の大腸菌のコロニーは菌種、検体、検査方法などにより、青緑色の強さ、大きさ、形にそれぞれ違いが見られます。ガスを伴うコロニーが生育する場合があります。



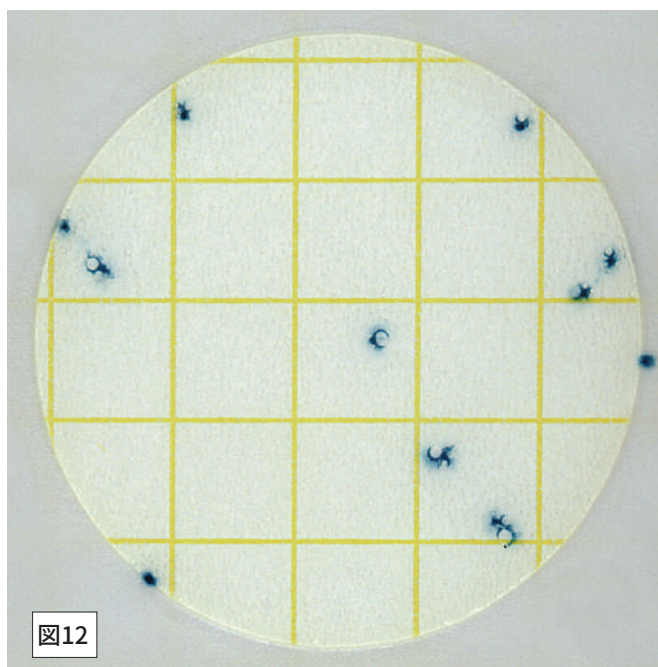
大腸菌数 = 92

菌の β -グルクロニダーゼ活性が弱い場合や検体の阻害作用で、薄い緑色のコロニーが生育する場合があります。検体が高糖度や高塩分の場合も起こります。図10は酸性の発酵乳製品を検体とした場合です。



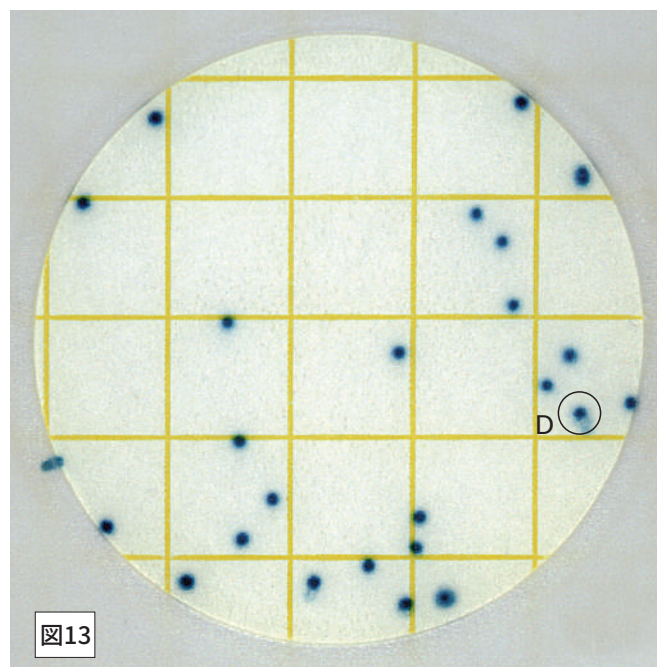
大腸菌数 = 75

検体によっては、茶色がかった緑色のコロニーが生育する場合があります。図11はキドニー（腎臓）を検体にした場合です。



大腸菌数 = 10

検体や菌種によっては、コロニーがガスを産生する場合があります。ガスの有無によらず、全てのコロニーを数えます。

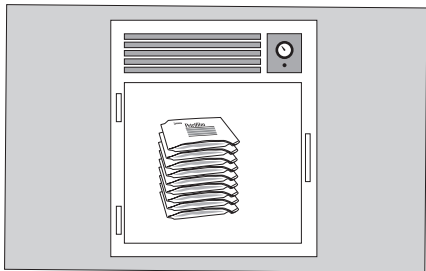


大腸菌数 = 25

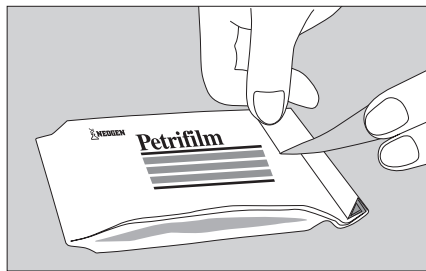
不鮮明なコロニーが生育する場合があります。(図13○D)
不鮮明なコロニーの出現を減少させるためには、接種後すぐにスプレッターで接種試料液を本プレートに広げてください。スプレッターで広げるときに強くスプレッターを押しすぎないようにしてください。

使用上の注意事項

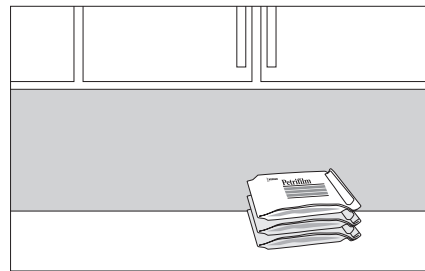
保管



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。パウチに記載されている有効期限までに使用してください。使用する前に、パウチを室温に放置し室温にしてから開封してください。

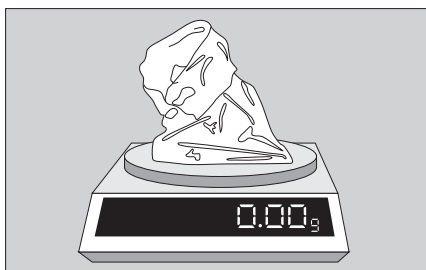


2 開封後は開封部分を折り曲げて、テープなどを貼ってしっかりと止めます。

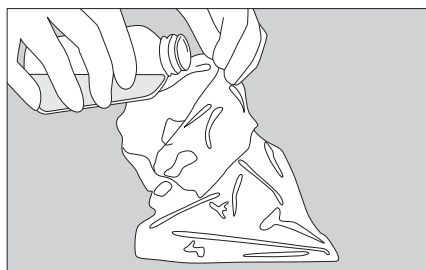


3 開封後に再密封したパウチは25°C以下、相対湿度50%以下で保管してください。**開封したパウチは冷蔵保管しないでください。**開封後の本プレートは1カ月以内に使用してください。

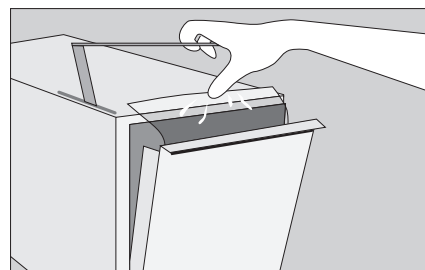
検体の調製



4 食品検体を秤量、あるいはピペットを使用してストマッカーバック、希釈ボトル、その他の滅菌済み容器などに入れ、希釈を行なってください。



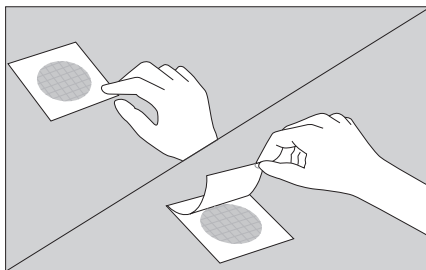
5 適量の滅菌希釈液を加えます。希釈液としては、ペプトン塩希釈液 (ISO 6887)、緩衝ペプトン水 (ISO 6887)、0.1%ペプトン水、リン酸水素ニカリウム、バターフィルドリン酸緩衝希釈液 (IDF122C リン酸緩衝液)、重硫酸塩無添加リーゼンブロス、Quarter strength Ringer's (IDF122C)、生理食塩水 (0.85~0.90%)、滅菌蒸留水を使用できます。



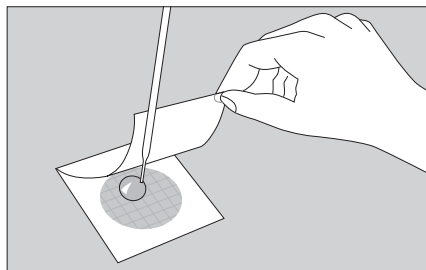
6 検体を攪拌またはホモジナイズしてください。酸性検体は1NのNaOH、アルカリ性検体は1NのHClを用いて検体のpHは6.5~7.5に調節してください。

クエン酸、重亜硫酸塩、チオ硫酸塩を含む緩衝液は使用しないでください。菌の生育を阻害する恐れがあります。

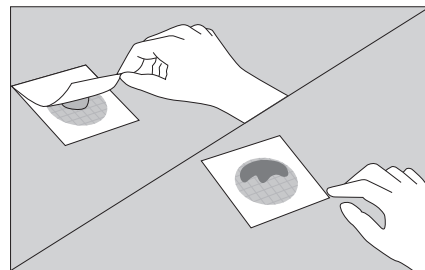
接種



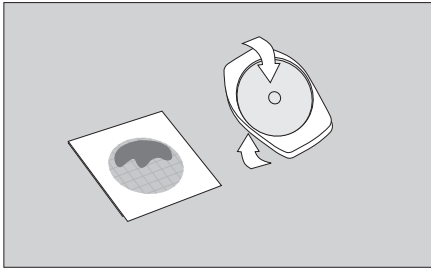
7 本プレートを平らな台の上に置いてください。上部フィルムを持ち上げます。



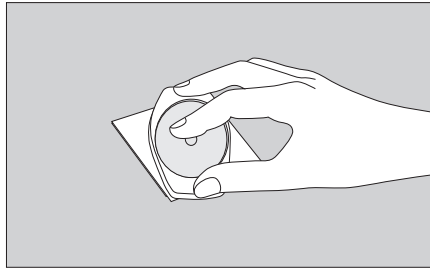
8 検体を1mL下部フィルムの中央に接種します。



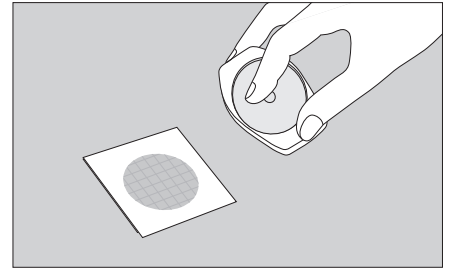
9 気泡が混入しないように上部フィルムを持ったままゆっくりとおろします。



10 スプレッターの平らな面を下にして、本プレートの上から置きます。

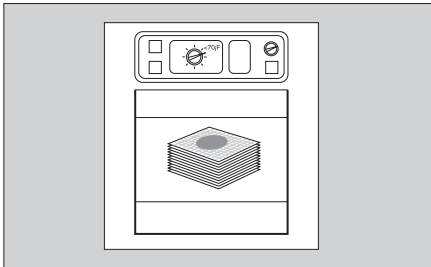


11 スプレッターの中心を軽く押し、検体を均一に広げます。スプレッターをひねったり、すべらせたりしないでください。



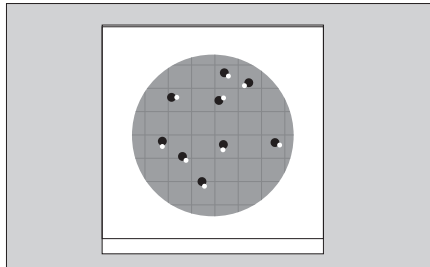
12 スプレッターをとり、1分間ゲル化するのを待ちます。

培養



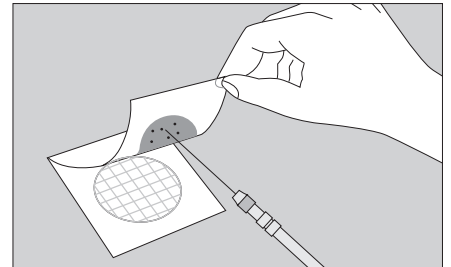
13 上部フィルムを上にして水平に培養器に置き、培養します。
20枚まで重ねて培養できます。

判定



14 青緑色のコロニーを測定します。(解説書を参照)

詳細な結果の確認



15 詳細な結果の確認が必要な場合は、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。

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。

AFNOR Validated Methods

3M 01/08-06/01 全食品：42°C±1°C、24±2時間