

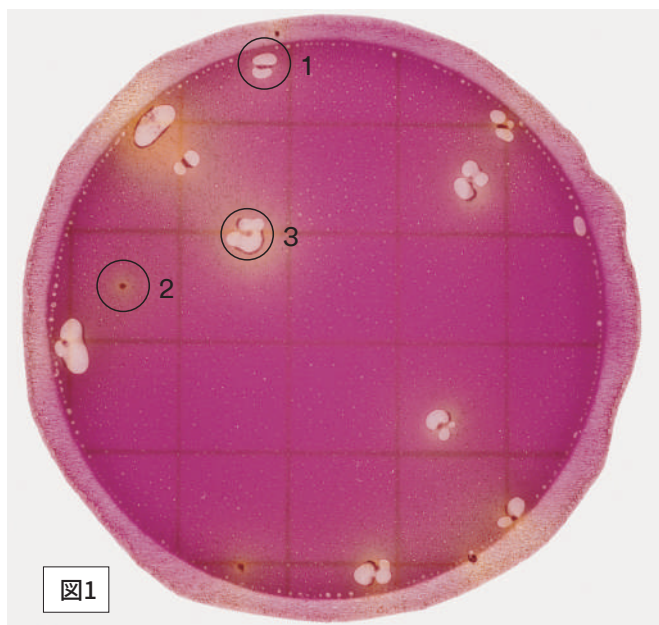
ペトリフィルム™

腸内細菌科菌群数測定用プレート

(EBプレート)

Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* Count Plate (EB Plate)

この解説書はペトリフィルム™ 腸内細菌科菌群数測定用プレート（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。



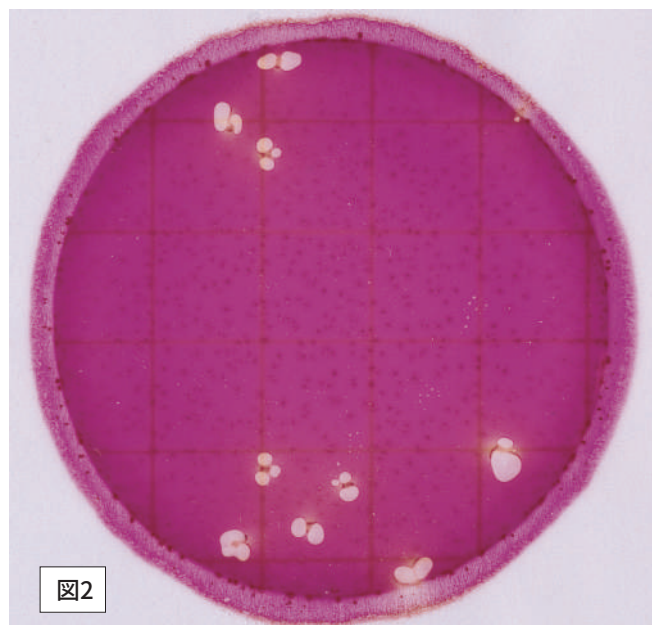
腸内細菌科菌群数 = 13

本プレートを用いると容易に腸内細菌科菌群のコロニーの測定を行うことが可能です。本プレート中の指示薬によりすべてのコロニーが赤色に着色され、上部のフィルムにより細菌の産生するガスが捕らえられます。酸を産生する細菌は黄色の酸性域に囲まれた赤色コロニーとして観察されます。ガスおよび/あるいは酸を産生する細菌は推定腸内細菌科菌群と考えられ、本プレート上において以下の特徴の1つに該当します。

- 1) 気泡を伴うが酸性域を伴わないコロニー（○1参照）
- 2) 黄色の酸性域を伴うがガスの産生のないコロニー（○2参照）
- 3) 気泡と酸の両方を産生するコロニー（○3参照）

図1では気泡のパターンがどのように異なるかを示しています。

○3のように気泡がコロニーに割り込みコロニーが気泡を縁どるようになることもあります。



腸内細菌科菌群数 = 9

本プレートには、数個の腸内細菌科菌群のコロニーと多数の非腸内細菌科菌群のグラム陰性細菌のコロニーが存在します。

適正測定範囲：～100コロニー（コロニー総数）

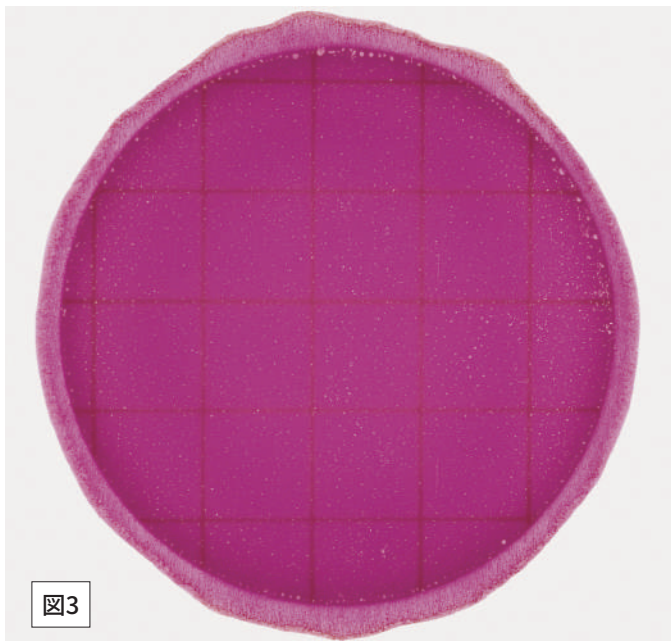


図3

腸内細菌科菌群数 = 0

図3から図8までのゲルの色調変化に注目してください。腸内細菌科菌群の数が増加するにしたがい、ゲルの色調は紫から黄色あるいはクリーム色へと明るくなります。

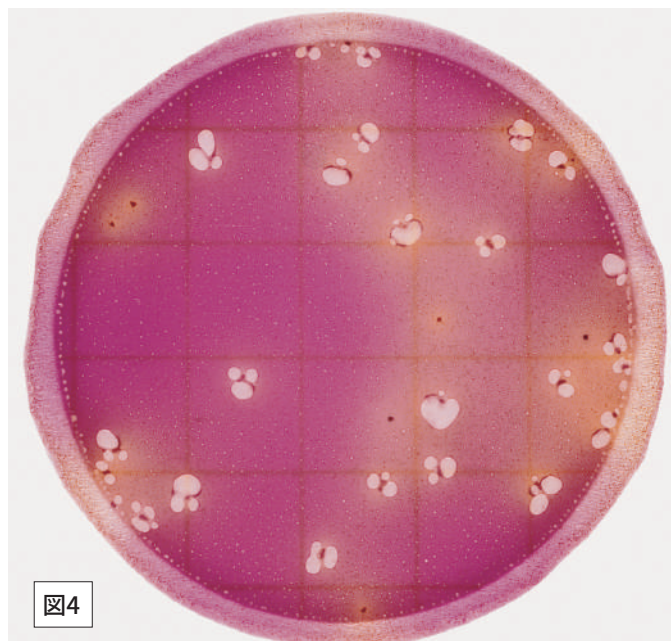


図4

腸内細菌科菌群数 = 34

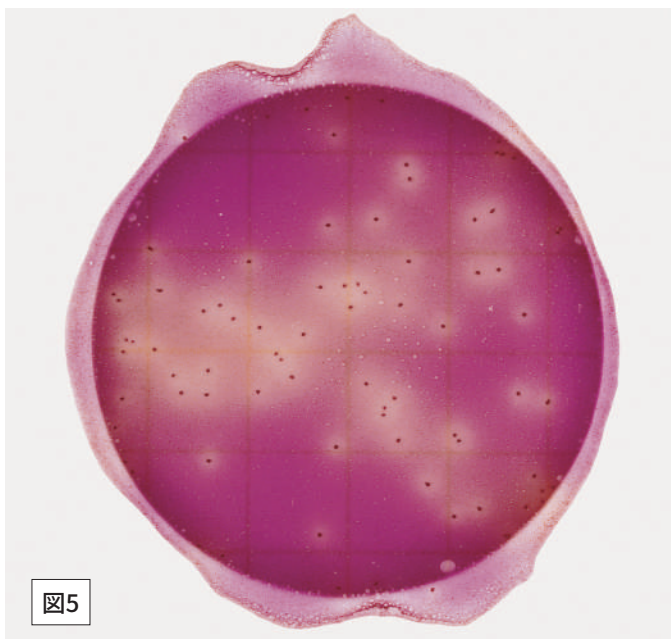


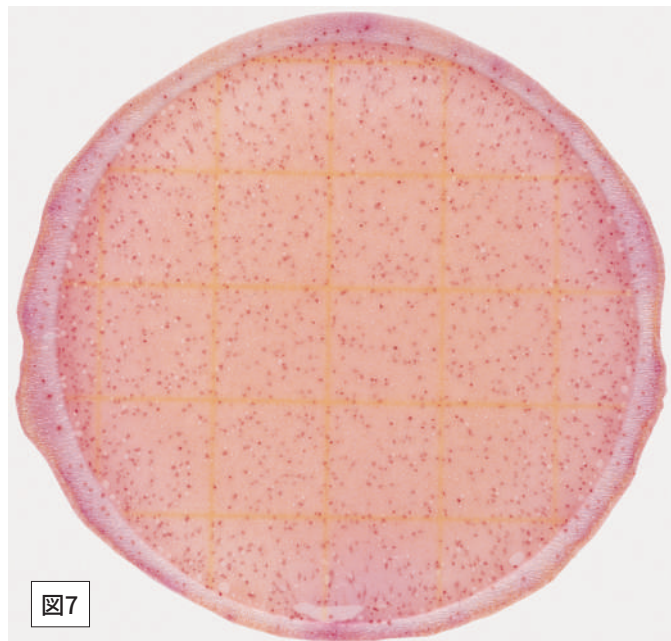
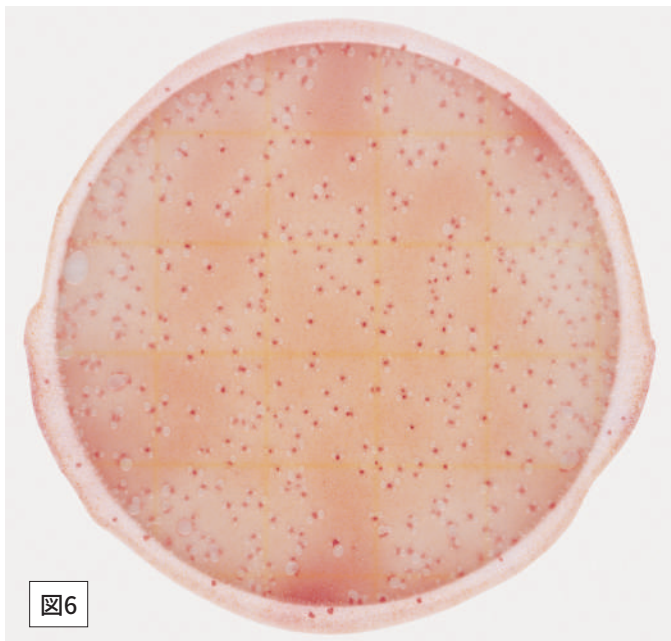
図5

腸内細菌科菌群数 = 77

本プレートを用いた測定において適正測定範囲は100コロニー以下です。コロニー数が100を超えるような本プレートでは、代表的な格子角を1つ以上数えて格子(1cm²)の平均数を求めて推定します。この平均数を20倍して本プレート1枚あたりの推定数を求めます。正確に測定するには検体をさらに希釈することを推奨します。

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。



腸内細菌科菌群数 = TNTC

100個以上のコロニーが存在する本プレートは測定不能多数 (TNTC) であり、以下の特徴のうち少なくとも1つとともにバックグラウンドが明るい色調を呈します。1) 多数の小型コロニー、あるいは2) 多数の気泡。

正確な測定のためには、検体をさらに希釈する必要があります。

腸内細菌科菌群数 = TNTC

コロニー数が多すぎて酸性領域や気泡が見えにくくなっています。ゲルの色調が明るいことから結果がTNTCであることが示されます。



腸内細菌科菌群数 = TNTC

本プレートにはTNTCのコロニーを示す2つの特徴があります。

- 1) ゲルの色調が明るいこと
- 2) 多数の小型コロニー

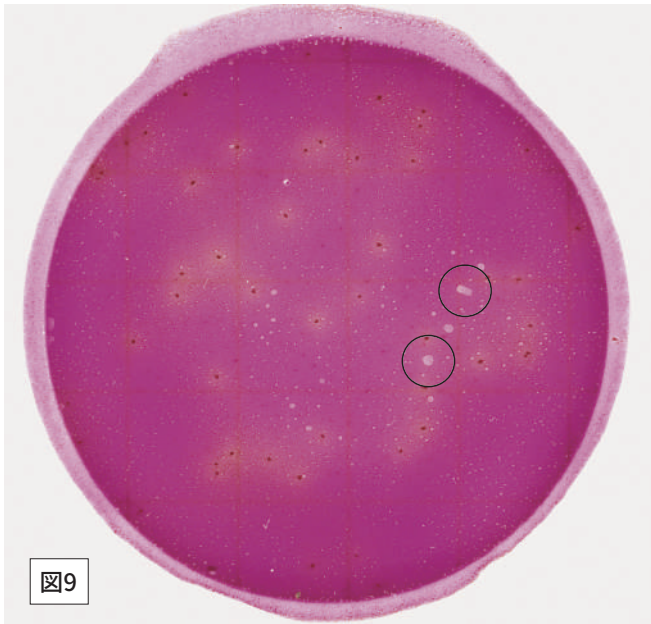


図9

腸内細菌科菌群数 = 44

本プレートへの接種がうまくいかずに人為的な気泡が生じることがあります。その様な気泡は形が不規則であり赤色コロニーを伴いません。

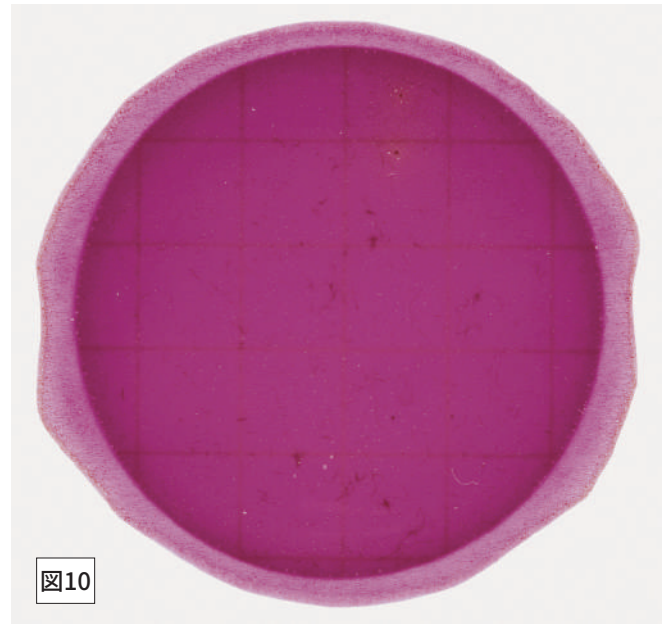


図10

腸内細菌科菌群数 = 2

食品の細片がしばしば気泡や酸性領域を伴わない不規則なあるいは繊維状の形で観察されます。

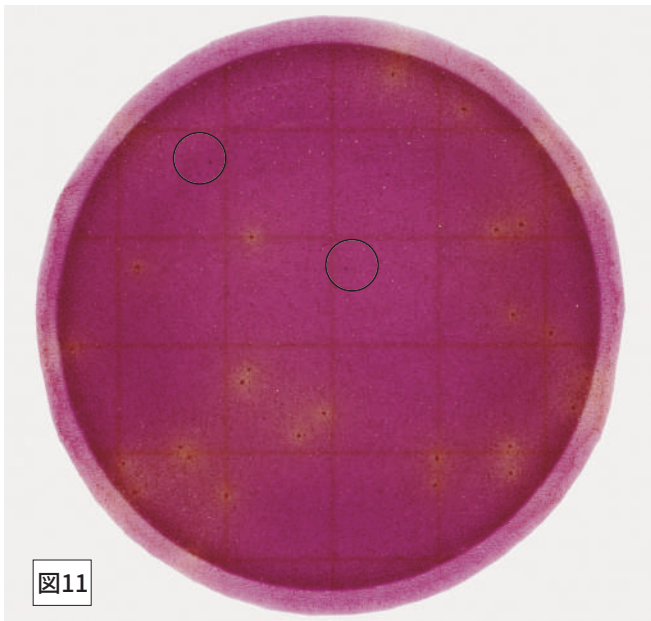


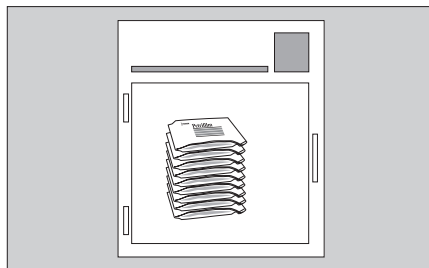
図11

腸内細菌科菌群数 = 27

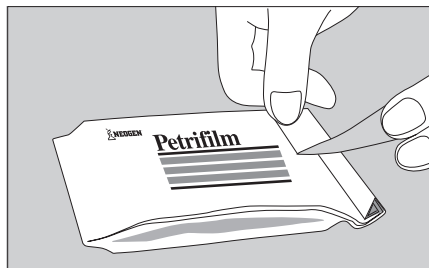
食品の残渣は暗色の点として観察されることもありますが気泡や酸性領域を伴いません。

使用上の注意事項

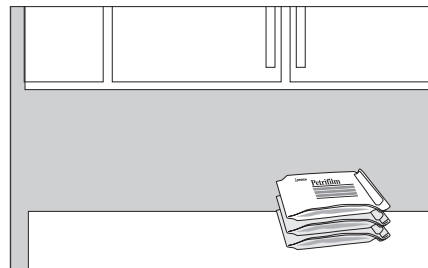
保管



- 1** 未開封のパウチは8°C以下で保管してください。パウチに記載されている有効期限内にご使用ください。結露が問題となるような湿度の高い場所では、パウチを室温に放置して室温に戻してから開封してください。

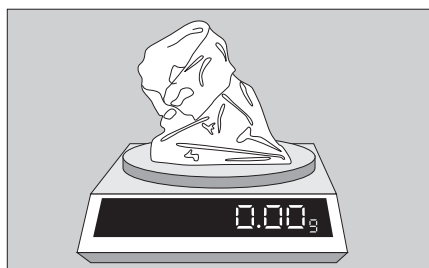


- 2** 開封したパウチを閉じる時には、開口部を折り曲げ、テープ等でしっかりと止めます。

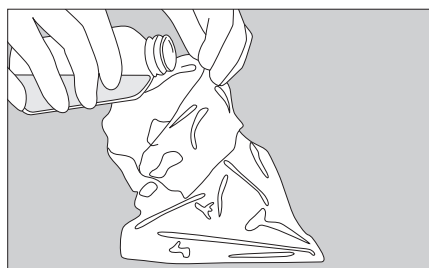


- 3** 開封後に再び密封したパウチは25°C以下相対湿度50%以下で保管してください。**開封したパウチは冷蔵しないでください。**開封した本プレートは1ヶ月以内に使用してください。

検体の調製



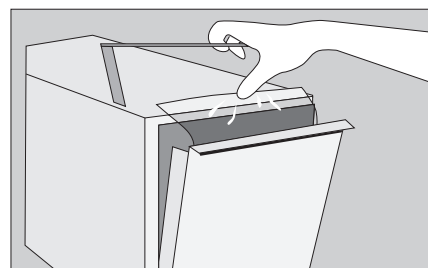
- 4** 検体希釈液を調製します。食品検体を適切な容器、たとえばストマッカーバックや希釈ボトル、またはその他の滅菌済み容器などに秤取またはピペットで採取します。



- 5** 以下に示す滅菌希釈液のうち1種類を適量加えます。

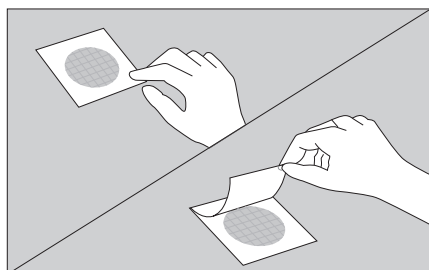
- バターフィールドリン酸緩衝液 (IDFリン酸緩衝液、リン酸二水素カリウムの0.0425g/L溶液をpH7.2に調整)
- 0.1% ペプトン水
- ペプトン塩希釈液 (ISO 6887)
- 緩衝ペプトン水 (ISO 6579)
- 生理食塩水 (0.85-0.90%)
- 重硫酸塩無添加リーゼンブロス
- 蒸留水

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。菌の成育を阻害する恐れがあります。

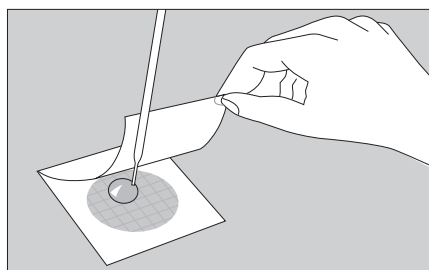


- 6** 検体を攪拌またはホモジナイズします。希釈した検体のpHを6.5から7.5の間に調整します。
- 酸性検体には1NのNaOHを使用してください。
 - アルカリ性検体には1NのHClを使用してください。

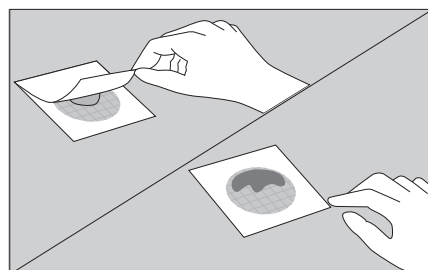
接種



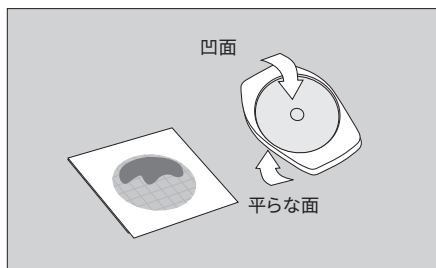
- 7** 本プレートを平らな台に置きます。上部フィルムを持ち上げます。



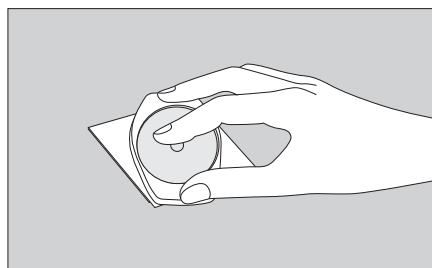
- 8** ピペットを本プレートに対し垂直に保って、検体1mLを下部フィルムの中央に接種します。



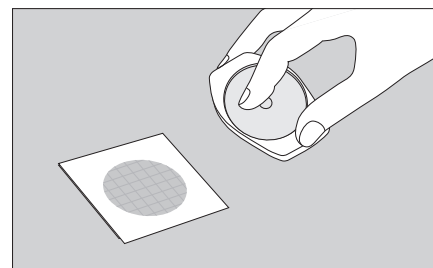
- 9** 気泡が入らないよう注意して上部フィルムを持ったままゆっくりとおろします。



10 スプレッダーの平らな面を下側にして、接種部分の上部フィルムの上に置きます。

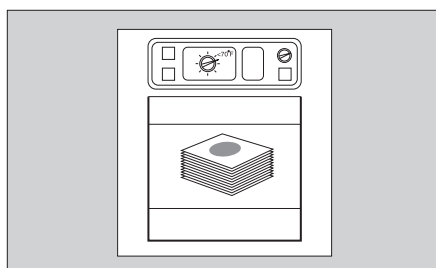


11 ゲル化が始まる前に、スプレッダーを上から軽く押して、接種部分が円形に広がるようにします。スプレッダーはひねったり滑らせたりしないでください。



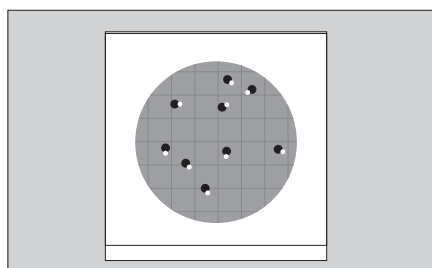
12 スプレッダーを取り除きます。1分以上放置してゲルを固化させます。

培養

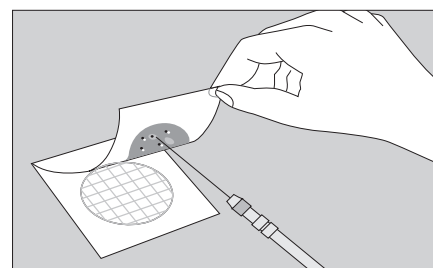


13 本プレートを重ねて培養します。20枚まで重ねて培養することができます。

判定



14 本プレートは標準的なコロニーカウンターまたは拡大鏡でも測定が可能です。



15 上部フィルムを持ち上げてゲルからコロニーを釣菌して、菌を同定することも可能です。

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)

2003.01 選択された複数の食品：37±1°C、24±2時間

AFNOR Validated Method

3M 01/6-09/97 全食品、飼料および環境検体：30±1°C、24±2時間
37±1°C、24±2時間