

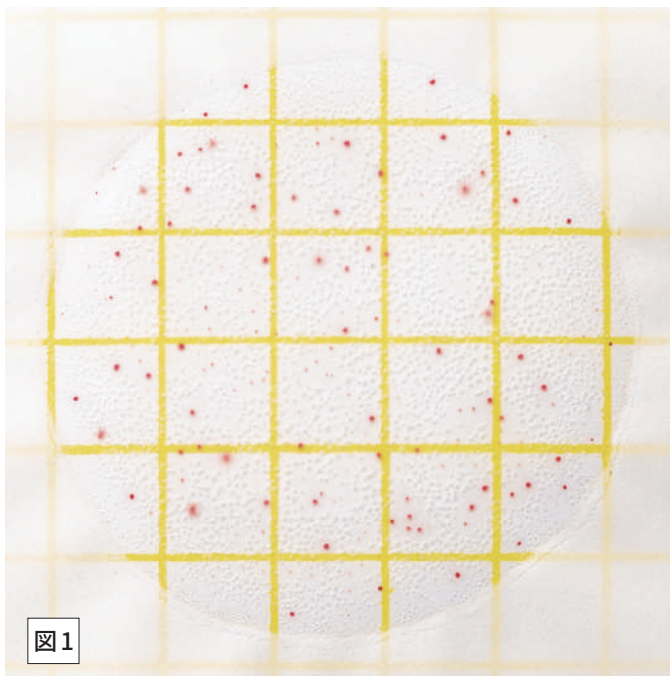
# ペトリフィルム™ 生菌数測定用プレート

(ACプレート)

## Petrifilm™ Aerobic Count Plate (AC Plate)

この解説書はペトリフィルム™ 生菌数測定用プレート（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ためのものです。

本プレートは、標準培地で用いられる栄養成分や冷水可溶性ゲル化剤、およびコロニー数を測定しやすくする指示薬が含まれているできあがり培地です。本プレートは 生菌数の測定に用いられます。



**生菌数 = 152**

本プレート中に含まれている赤色の指示薬がコロニーを着色します。サイズや色の濃さに関係なく、赤色のコロニーはすべて数えてください。

## 適正測定範囲：～300コロニー

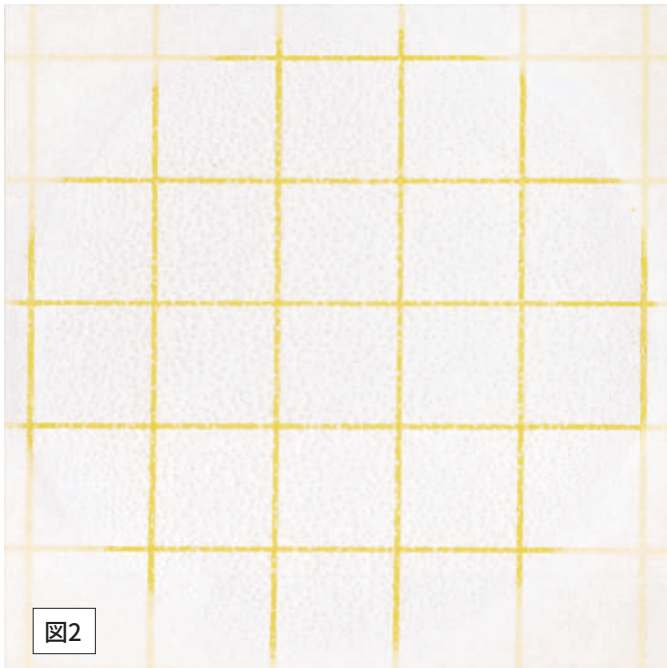


図2

**生菌数 = 0**

コロニーの現れなかった本プレート。

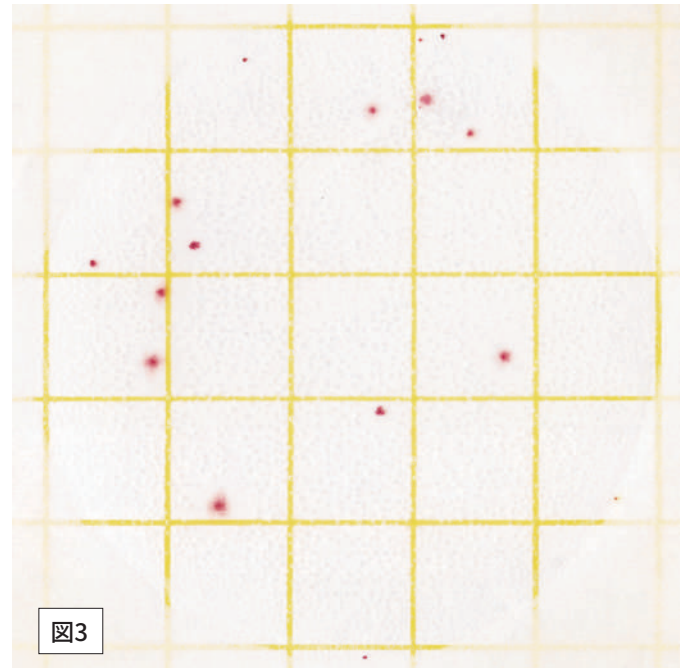


図3

**生菌数 = 16**

コロニーが数個生育した状態の本プレート。

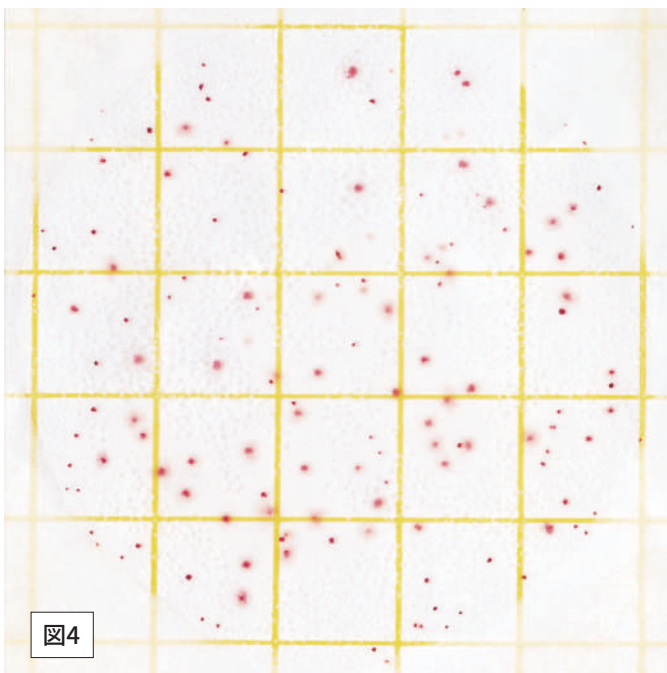


図4

**生菌数 = 143**

本プレートの適正測定範囲は300コロニー以下です。

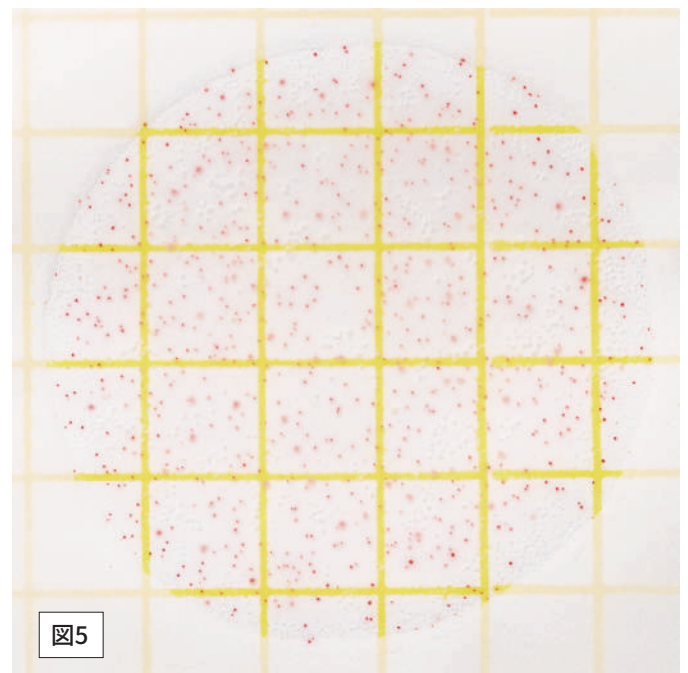


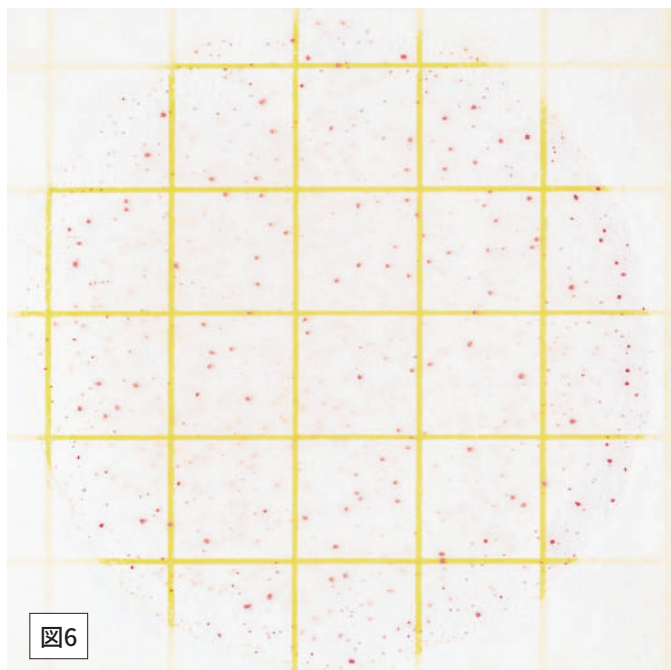
図5

**推定生菌数 = 560**

コロニー数が300を超えるような場合には、コロニー数を推定します。格子(1cm<sup>2</sup>)の中のコロニー数の平均値を求め、これを20倍して本プレート1枚あたりの推定総数を計算します。本プレートの接種面積はおおよそ20cm<sup>2</sup>です。

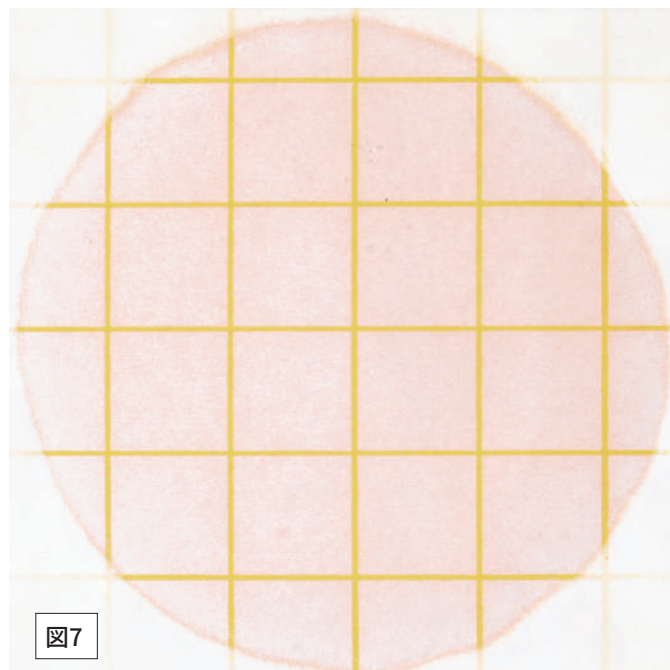
## TNTC (Too Numerous to Count : 測定不能多数)

より正確に測定するには、検体をさらに希釈します。



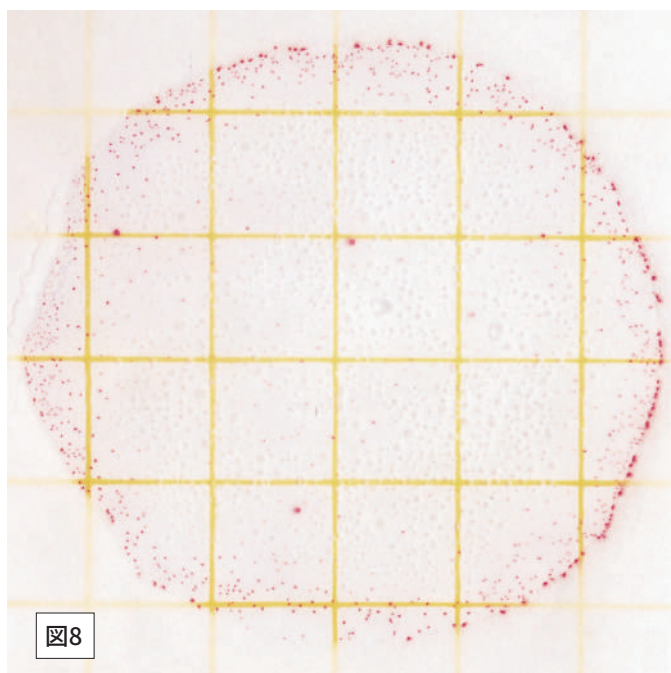
生菌数 = TNTC (推定生菌数 =  $10^3$ )

コロニー数が測定不能多数(TNTC)となった場合の本プレート。



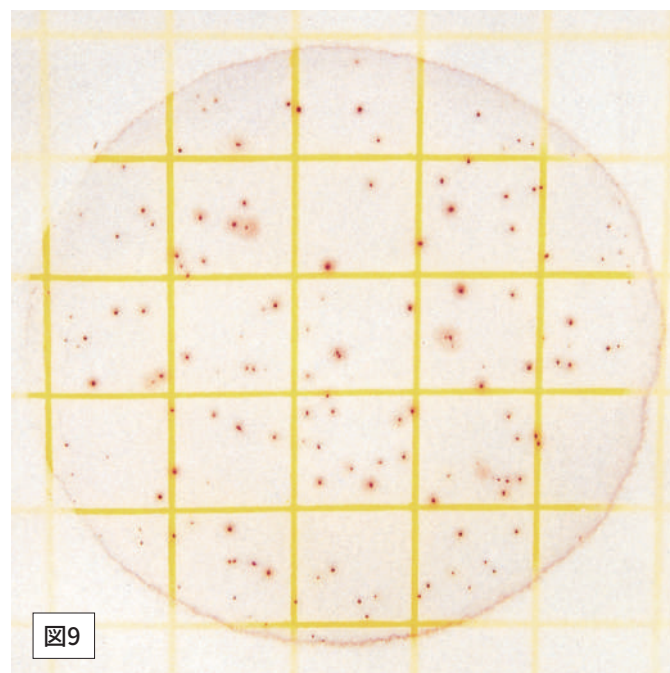
生菌数 = TNTC (推定生菌数 =  $10^5$ )

コロニー数が非常に多いと、図7のように生育領域全体がピンク色になることもあります。個々のコロニーが生育領域の縁の部分でしか見えない場合もあります。このような場合には結果をTNTCとして測定します。(全体がピンク色に見えます。)



生菌数 = TNTC (推定生菌数 =  $10^3$ )

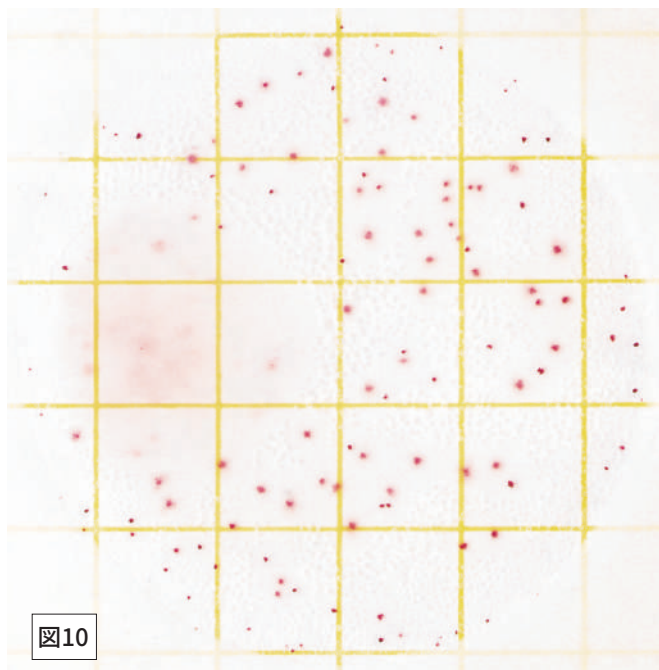
コロニー分布が均等でないように見える場合もあります。この場合もまた測定結果はTNTCであることを示しています。(生育領域の縁に小さいコロニーが多数見られます。)



生菌数 = TNTC (推定生菌数 =  $10^7$ )

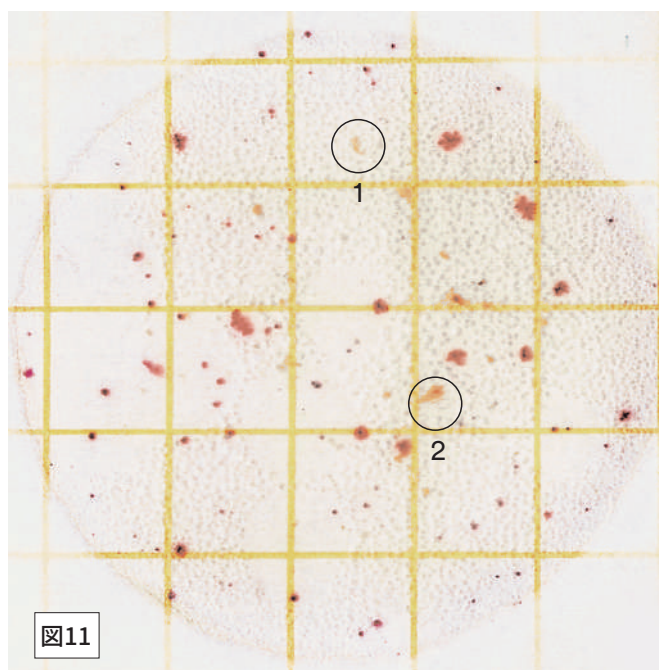
本プレート上のコロニーは、一見測定可能であるように思われます。しかし生育領域の縁をよく見てみると、多くのコロニーが集中していることがわかります。この場合の測定結果はTNTCとして測定します。(生育領域の縁に小さいコロニーが多数見られます。)

## ゲルの液状化および食品残渣



**推定生菌数 = 160**

本プレート内のゲルを液状化させる菌種もあります。このような状態となった場合には、影響が及んでいない何個かの格子 (1cm<sup>2</sup>) の平均コロニー数を求め、これを20倍して推定総数を計算します。(液状化した部分の赤い点は測定しません。)



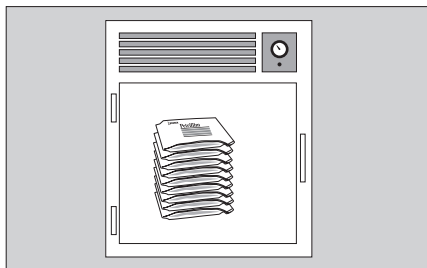
**生菌数 = 83**

本プレートではコロニーは赤色となるため、不透明で不規則な形状の食品残渣とは区別することができます。

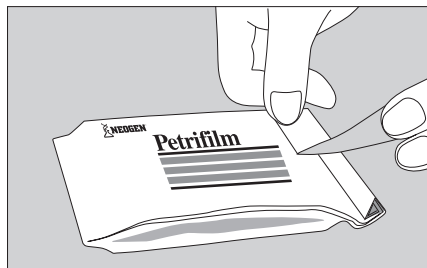
(○1・○2参照)

## 使用上の注意事項

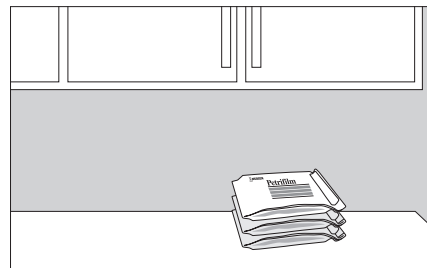
### 保管



- 1 未開封のパウチは8°C以下で保管してください。パウチに記載してあ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、パウチを室温にしばらくおいてから開封してください。

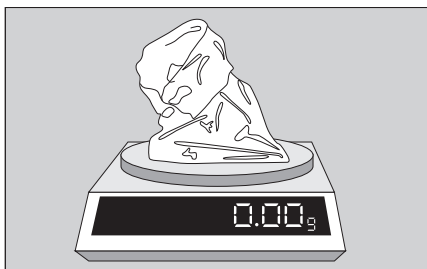


- 2 開封したパウチを閉じるには、開口部を折り曲げてテープでしっかりと止めます。

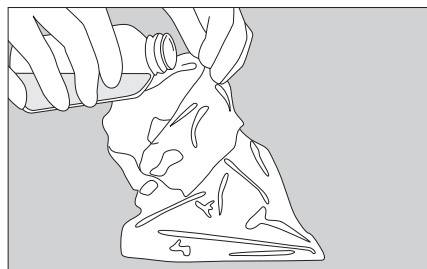


- 3 開封後に再び密封したパウチは25°C以下相対湿度50%以下で保管してください。**開封したパウチは冷蔵しないでください。**本プレートは開封後1ヶ月以内にご使用ください。

### 検体の調製



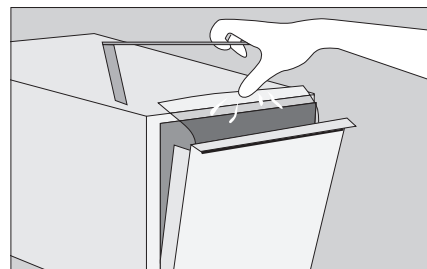
- 4 食品検体の希釈を調製します。食品検体を適切な容器、たとえばストマッカーバックや希釈ボトル、またはその他の滅菌済み容器などに秤取またはピペットで採取します。



- 5 以下に示す滅菌希釈用液のうち1種類を適量加えます。

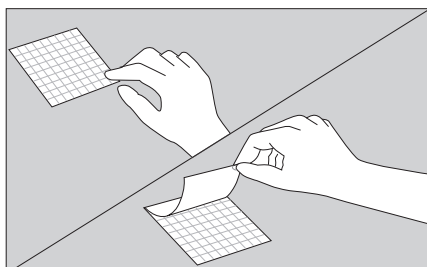
●バターフィールドリン酸緩衝液 (IDFリン酸緩衝液、リン酸二水素カリウムの0.0425g/L溶液をpH7.2に調整) ●0.1%ペプトン水 ●ペプトン塩希釈液 (ISO法6887) ●緩衝ペプトン水 (ISO法6579) ●生理食塩水 (0.85-0.90%) ●重硫酸塩無添加リージンプロス ●蒸留水

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。菌の生育を阻害することがあります。

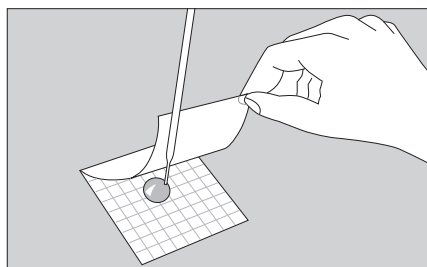


- 6 検体を攪拌またはホモジナイズします。希釈した検体のpHを6.6から7.2の間に調整します。
- 酸性検体には1NのNaOHを使用してください。
  - アルカリ性検体には1NのHClを使用してください。

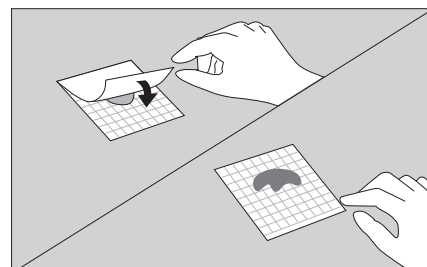
### 接種



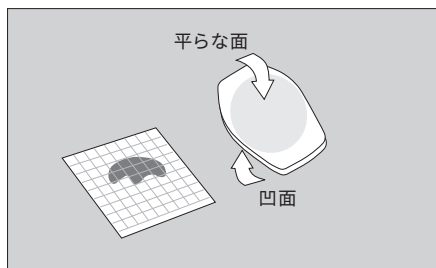
- 7 本プレートを平らな台に置きます。上部フィルムを持ち上げます。



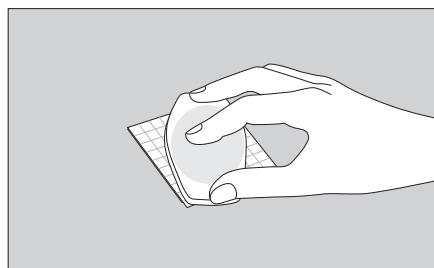
- 8 ピペットを本プレートに対し垂直に保って、検体1mLを下部フィルムの中央に接種します。



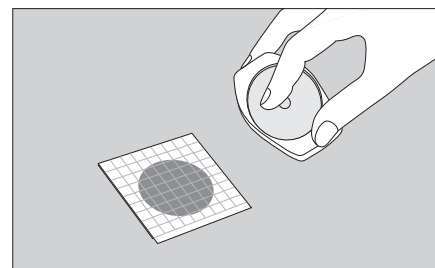
- 9 上部フィルムから手を離し、フィルムを自然に落とします。



**10** スプレッターの凹面を下側にして、接種部分の上部フィルムの上に置きます。

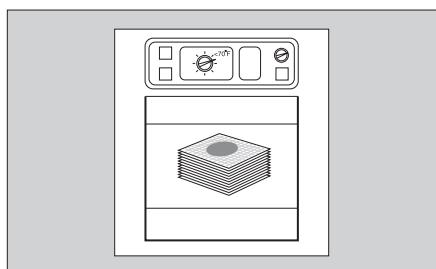


**11** スプレッターを上から軽く押して、接種部分が円形に広がるようにします。スプレッターはひねったり滑らせたりしないでください。



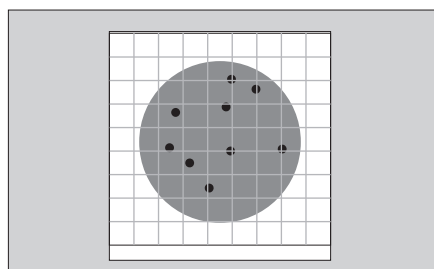
**12** スプレッターを取り除きます。1分以上放置してゲル化させます。

## 培養

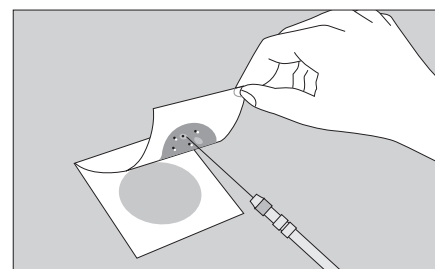


**13** 上部フィルムを上側にして本プレートを重ねて培養します。20枚まで重ねて培養できます。培養器を加湿して湿度の損失を最小限に抑える必要がある場合もあります。

## 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)

986.33 生乳、低温殺菌乳 : 32±1°C、48±3時間  
 986.10 全乳製品 : 32±1°C、48±3時間  
 990.12 全食品 : 35±1°C、48±3時間

### AFNOR Validated Method

3M 01/1-09/89 全食品 : 30±1°C、72±3時間  
 乳製品と生の貝類を除く全食品 : 30±1°C、48±3時間