

chromID™ Coli**chromID™ Coli agar (COLI ID-F)**食料品と飲料水中のβ D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* と他の大腸菌群の検出及び菌数測定**用途**chromID™ Coli は、β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* を選択的に検出及び菌数測定をする、酵素基質培地です。**原理**

本培地には2種類の酵素基質が添加されています。ひとつはβ D-グルクロニダーゼを検出し、この存在により *E. coli* のコロニーはピンク色を呈します。もうひとつはガラクトシダーゼを検出し、この存在によりその他の大腸菌群のコロニーは青色を呈します。これら2種類の基質の組み合わせにより *E. coli* 及びその他の大腸菌群の検出を容易に行うことができます。ほとんどのグラム陽性菌は発育が阻害されます。

	β D-グルクロニダーゼ陽性 <i>E. coli</i>	その他の大腸菌群	他のグラム陰性菌
色調	ピンク色・紫色	青色・灰色	無色
大きさ(mm)	0.5-2.0	0.5-2.0	0.1-1.0

キット構成

REF 42017	調製済み培地 ボトル培地	200mL × 6 本
-----------	-----------------	-------------

組成**理論値**

性能を確保するため、若干変更される場合があります。

ゼラチンペプトン(牛または豚)	7g
酵母エキス	3g
塩化ナトリウム	5g
胆汁酸塩(牛または豚)	1.5g
活性化剤混合物	0.3g
発色基質混合物	0.3g
寒天	15g
精製水	1000mL
pH7.2	

必要な器材

- ふ卵器
- 滅菌シャーレ
- ウォーターバス
- 膜ろ過器
- 薄膜フィルター

追加試薬

- ペプトン食塩水 (Ref. 42076)
- ペプトン緩衝溶液 (Ref. 42042, 42043, 42111, 42629 または 42729)

使用上の注意

- 微生物試験にのみご使用下さい。
- 熟練者のみご使用下さい。
- 本培地は動物由来の原料を含みます。由来に関する知識、由来動物の衛生状態は感染性のある病原体がいけないことを保証するものではありません。これらは潜在的に感染の可能性があるものとして、充分注意の上お取り扱い下さい(摂取または吸入しないで下さい)。
- 全ての検体、微生物培地、そして検体を接種した製品は伝染性であるものとして適切にお取り扱い下さい。試験

に用いる細菌グループの無菌操作と通常操作の留意事項は以下のガイドラインに基づきお取り扱い下さい。**安全ガイドライン**: CLSI-M-29A, «Protection of Laboratory Workers from occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Current Revision» **操作留意事項**: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Latest edition、または各国の規制ガイドラインに従って下さい。

- GLP(Good laboratory practices)を参照して下さい(例 ISO 7218)。
- 本培地を製造原料として使用しないで下さい。
- 有効期限切れの製品は使用しないで下さい。
- コンタミネーションの起きている培地は使用しないで下さい。
- ご使用前に、ボトルキャップの開封防止シールに破損がないことをご確認ください。
- 使用にあたり、培地は3回以上溶解しないでください。
- 性能試験データは、本添付文書に記載されている使用方法に従って得られたものです。操作方法を変更すると結果に影響を及ぼすことがあります。

貯蔵条件

- 箱未開封の状態、2-8℃下で有効期限まで保管可能です。
- 光に暴露しないで下さい。

検体

- 検体の採取や処理に関しては、最新の標準法に従って下さい。

使用法**培地の調整:**

- ボトルのキャップを緩めます。
- ウォーターバスが約 50℃の状態ですボトルを入れ、95℃まで温度を上げて培地を溶解します(約 45 分)。
- キャップを締めなおし、混合します(火傷防止のために保護手袋を着用して下さい)。
- 15 秒以上室温にさらした後 44~47℃に調節したウォーターバスに移し、使用するまでこの温度に保ちます(最長 6 時間まで)。

懸濁液の調製:

製品ごとに、標準法に記載された方法に従って下さい。

NF VALIDATION により認証されたプロトコール:**1. β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* の 44℃での菌数測定**

- 検体懸濁液あるいは検体希釈液(現行基準に則り実施) 1mL をシャーレに接種します。各希釈段階でシャーレを1枚ずつ使用して下さい。
- 溶解した chromID™ Coli (44~47℃に保っておいたもの)を約 15mL 加えて注意深く攪拌し、平らな場所に置いて固めます。
- フタを下にして 44±1℃で 24±2 時間培養します。

注意: 検体とする食品が、44℃で培地表面に広がってしまうような微生物に高度に汚染されている可能性が危惧される場合には、溶解した chromID™ Coli を約 5mL 重層することにより判定が容易になります。

2. 混濁法による β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* と他の大腸菌群の 37℃での同時菌数測定:

1. 検体懸濁液あるいは検体希釈液（現行基準に則り実施）1mLをシャーレに接種します。各希釈段階でシャーレを1枚ずつ使用して下さい。
2. 溶解した chromID™ Coli を約 15mL 加えます。
3. よく攪拌し、平らな場所に置いて冷まします。
4. 37℃で培養後に生じうる、特定の微生物が培地表面へ広がるのを避けることにより判定が容易になります。そのためには、溶解した chromID™ Coli を約 5mL 重層し、冷やして固めて下さい。
5. フタを下にして 37±1℃で 24±2 時間培養します。

判定：プロトコール 1 及びプロトコール 2 用

培養期間中、各シャーレに含まれるコロニー数を、(300 を超えない数で、可能であれば 10 以上 150 未満のコロニー数を) 数えてください。

β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* は直径 0.5-2mm でピンク～紫色のコロニーを形成します。
他の大腸菌群は直径 0.5-2mm で青～青灰色のコロニーを形成します。

β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* の数はピンク～紫色のコロニーの合計です。

大腸菌群の総数はピンク～紫色のコロニーと青～青灰色のコロニーの合計です。

計算法：

コロニーの数え方と計算法は ISO 7218 を参照してください。

NF VALIDATION により認証されていないプロトコール：

3.人が消費する水の中(水道水、瓶詰めの水)の *E.coli* と大腸菌群の菌数測定

1. 無菌のシャーレに 15mL の chromID™ coli を注ぎ、平らな場所に置いて冷まします。
2. ISO 9308-1 に示されているように、検体をろ過します。
3. 寒天の表面にろ過膜を置き、下部に空気が含まれていないことを確認し、シャーレを 21±3 時間、36±2℃で培養します。
4. ろ過膜の上の典型コロニーの数から、ISO 8199 に従って、検体 100mL に含まれる *E.coli* と大腸菌群を計算します。

判定：

β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* は直径 0.5-2mm でピンク～紫色のコロニーを形成します。
他の大腸菌群は直径 0.5-2mm で青～青灰色のコロニーを形成します。

大腸菌群の総数はピンク～紫色のコロニーと青～青灰色のコロニーの合計です。

品質管理

本培地は厳格な品質への要望を満たすよう開発・製造されています。

各製造ロットの品質管理試験結果を記載した試験成績証明書はご要望により提供することが可能です。

留意事項

- chromID™ Coli は主要な食品検体及び数多くの菌株を用いて評価されています。食品の多様性、製造工程及び菌叢を考慮し、ご使用施設での食品検体への適用の可否を検討することをお勧めします。
- 大腸菌群の β-グルコシダーゼ活性の阻害により、青色

の定形コロニーが認められない場合がごくまれにあります。この阻害は、ある種のチーズの検体懸濁液中に観察されます。

- *E. coli* の血清型 O157:H7 は β-グルクロニダーゼ陰性であり、本培地上では青～青灰色のコロニーを形成します。
- *E. coli* 以外で β D-グルクロニダーゼ陽性の菌株は、本培地上でピンク色のコロニーを形成します。このようなケースは、*Plesiomonas shigelloides*、*Enterobacter* や *Escherichia vulneris* などの一部の菌株で見られます。
- 発育の度合いは微生物各個体の要求性に左右されます。従って、特殊な要求性（発育環境、温度等）を有する菌株は発育しないこともありえます。

食品検体に含まれる *Escherichia coli* と大腸菌群の菌数測定に用いられる Coli ID 法は、ISO 16140 に準拠した NF VALIDATION により認証されています。

- 認証番号 BIO 12/5-01/99 β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* の菌数測定のための規格、ISO 16649-2 法と比較された 44℃での培養
- 認証番号 BIO 12/19-12/06 β D-グルクロニダーゼ陽性 *E. coli* の菌数測定のための規格、ISO 16649-2 法と比較された 37℃での培養
- 認証番号 BIO 12/20-12/06 大腸菌群の菌数測定のための規格、ISO 4832 法と比較された 37℃での培養

認証は技術アシスタント部門か AFNOR Certification より得ることができます。NF VALIDATION の有効期限は証明書内に記載されています。



BIO 12/5-01/99
BIO 12/19-12/06
BIO 12/20-12/06

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
Certified by AFNOR Certification
www.afnor-validation.org
www.afnor-validation.com

廃棄処理

未使用の試薬は、危険性のないものとして適宜廃棄してください。

使用済み試薬および他の汚染廃棄物は全て、感染性もしくは感染の危険のある製品の取扱い方法に従って行ってください。起こりうる危険を適切に考慮の上、各検査室の責任の元、廃棄産物や流出物はそれぞれの危害毒性や度合いを考慮し、地域の適切な規制に従って廃棄してください。

参考文献

1. ISO 7218 (2007) – Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
2. ISO 9308-1 (2000) – Water quality– Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 1: Membrane filtration method.
3. ISO 8199 (2008) – Water quality – General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture.
4. ISO 16140 (2003) – Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for the validation of alternative methods.
5. ISO 16649-2 (2001) – Horizontal method for the enumeration of βD-glucuronidase positive *Escherichia coli*. Part 2: colony-count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β-D-glucuronate.

6. ISO 4832 (2006) – Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony-count technique.

記号

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	遮光
	添付文書を参照

(問い合わせ先)

製品関連

シスメックス株式会社 CS センター

臨床(病院、臨床検査センターなど) TEL: 0120-265-034

産業(企業、保健所など) TEL: 0120-022-328

注文・納期・在庫関連

シスメックス・ビオメリュー株式会社

TEL: 03-6834-2669(代表)



シスメックス・ビオメリュー株式会社

東京都品川区大崎一丁目 2 番 2 号

大崎セントラルタワー 8 階



bioMérieux sa
69280 Marcy-l'Etoile/France

Tel.33(0)4 78 87 20 00 /

Fax33(0)4 78 87 20 90

<http://www.biomerieux.com>

