

大腸菌・大腸菌群数測定用乾燥培地
メデिका
Medi・Ca EC

【はじめに】

Medi・Ca EC【以下、本製品】は基材シートと、その上に形成された培養エリアと、その培養エリアを被覆するためのカバーフィルムとからなる微生物を培養するための器具です。本製品は食品及び飲料等に含まれる大腸菌および大腸菌群数の測定に適しており、従来の混釈培養法と比べて操作が簡便で、作業時間の大幅な短縮が見込めます。また、本製品はコンパクトなサイズで場所をとらず、廃棄量の削減にも貢献します。

【使用方法】

1. 試料液の準備

- 1) 試料に適切な滅菌希釈剤を添加します。
- 2) ストマッカーを用いて試料を均質化します。
- 3) 総菌数 250cfu/mL 以下となるように試料を希釈します。

2. 培養エリアへの接種

- 1) クリーンベンチなどの無菌的環境下でアルミ袋を開封し、本製品を必要枚数取り出します。
- 2) 取り出した本製品を平らで水平な場所に置き、室温に戻します。
- 3) カバーフィルムを開き、培養エリア中央に 1mL の試料液を滴下します。
- 4) カバーフィルムをゆっくり閉じます。

(カバーフィルムが折れ曲がっているなど、培養層エリア周リングにカバーフィルムが接触していないと試料液が培養エリア全体に拡がりません)

- 5) 培養エリアがゲル化するまで約 3 分間静置します。

(ゲル化する前に製品を動かしたり、傾けたりすると試料液が培養層の外側へ漏れ出ることがあります)

3. 培養

ふ卵器に入れて 35±1℃で 24±1 時間培養します。ゲル化後、本製品は 25 枚まで積み重ねることができます。

4. 判定

培養エリアには 2 種類の発色酵素基質 (MAGENTA-GAL、X-GLUC) が含有されているため、大腸菌のコロニーは紺～青紫に発色し、大腸菌群 (大腸菌を除く) のコロニーはピンク～赤紫に発色します。

- ・大腸菌の中には、赤紫色コロニーとして検出される菌もあります。
- ・大腸菌 0157 は β-グルクロニダーゼを産生しないため、大腸菌群と同様の発色 (赤紫色コロニー) となります。
- ・発色酵素基質と反応する成分を含む食品試料や乳酸菌を多く含む一部の食品試料に対しては培養エリア全体が発色することがあります。その場合はさらに希釈して接種してください。
- ・コロニーが極端に小さい、または発色が薄い場合は培養時間を数時間延長することでコロニーが大きくなり、または発色が濃くなる場合があります。
- ・コロニー数が多い場合は、カバーフィルムに印刷された格子内 (1 cm × 1 cm) のコロニーを数えてください。1 マスを数えた場合は、その値に 20 を乗じた値が全体の数になります。

5. 釣菌

カバーフィルムを開けて釣菌する事ができます。

【使用上の注意】

- 1) 本製品は食品及び飲料等の微生物検査を目的とするもので、臨床検査用ではありません。

- 2) 本製品はあらゆる食品、食品製造工程、テストプロトコル、菌株について検証されたわけではありません。
- 3) 接種直前までカバーフィルムを開けないでください。
- 4) 使用期限を過ぎた製品は使用しないでください。
- 5) 破損、変形、変色、汚れ、異物混入が認められた製品は使用しないでください。
- 6) 本製品を紫外線や直射日光に暴露しないでください。
- 7) 試料液の滴下直後にカバーフィルムを押さえ付けしないでください。試料液が培養エリアの外側へ漏れ出ることがあります。
- 8) 試料液が培養エリアから漏れ出た場合は、新しい製品に交換してやり直してください。
- 9) 本製品が目や口に入った場合は速やかに水で洗い流し、医師の診察を受けてください。
- 10) 本製品の取り扱いにあたっては常に微生物の感染の危険がありますので熟練者の指導のもとに十分なバイオハザード対策を実施してください。
- 11) 試料もしくは試料液に接触した本製品などは感染の危険があるものとして取り扱ってください。

【保存方法】

冷蔵 (2～8℃) で保存してください。

【開封後の保存方法】

開封後は袋の端を 2 回以上折り返してテープで止め、冷蔵保管 (2～8℃) の上、3 ヶ月以内に使用してください。

【使用期限】

本製品の使用期限は本製品上部に表記されています (「EXP」の後の表記が使用期限年月日)。なお、表記の使用期限は未開封で適切な保存をされた場合の期限です。

【廃棄方法】

使用済みの本製品は 2 次汚染の危険性がありますので適切な滅菌処理をした後、各自治体及び施設の廃棄基準に従って廃棄してください。

【保証責任範囲】

製品の欠陥が明らかな場合は、その欠陥枚数に応じて新品と交換いたします。検査結果の判断や運用はすべて使用者の責任によるものであり、本製品の製造会社や販売代理店が責任を負うものではありません。

—お問い合わせ先—

大日本印刷株式会社
包装事業部 IP 第 2 営業本部営業第 2 部
〒550-8508 大阪市西区南堀江 1-17-28
TEL06-6110-4100

Medi·Ca EC

Ready-made dry medium for *E.coli* & coliform count

Introduction

Medi·Ca is a microbiological culture device made up of a waterproof sheet, a ready-made dry medium on the sheet and a transparent cover over the medium. The Medi·Ca EC method is intended to indicate the level of *Escherichia coli* and coliform bacteria in selected food products. It is compact and easy to use, and reduces the total amount of waste produced during testing. The Medi·Ca EC method has been granted AOAC Research Institute *Performance Tested Methods*SM (031601).

Procedure

1. Sample preparation

- 1) Weigh each 50 g test portion into a blender jar.
- 2) Add 450 ml Butterfield's phosphate-buffered diluent (BPD) and blend for up to 2 minutes. For a recipe of BPD, see the FDA website (BAM Reagents R11, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm061208.htm>)
- 3) Prepare all decimal dilutions with 90 ml BPD plus 10 ml previous dilution.
- 4) Shake 25 times in a 30 cm arc.

2. Inoculation

- 1) Remove each Medi·Ca EC sheet from an aluminum bag under aseptic conditions.
- 2) Place the sheet on a flat surface and allow it to reach room temperature (15-25°C).
- 3) Lift the cover and place a 1 ml sample suspension onto the center of the medium.
- 4) Drop the cover onto the sample.

Do not use a sheet if it has a bent cover to ensure the sample spreads on the entire media.

- 5) Leave the sheet for 3 minutes or more on a horizontal surface.

Do not move or tilt the sheet until solidification of the suspension is completed to avoid the sample being spilled out from the growth area.

- 6) Hold both ends of the sheet and place it into an incubator.

The sheets can be held after the solidification without any time restriction.

3. Incubation

Incubate the sheets at 35 ± 1°C for 24 ± 1 hours. It is possible to stack up to 25 sheets.

4. Interpretation

Medium contains two kinds of colorimetric enzyme substrate, Magenta-Gal and X-Gluc. Count pink/red purple colonies for non-*E.coli* coliforms except for *E.coli* and navy blue/blue purple colonies for *E.coli*. The suitable colony counting range is 1-250.

Trouble shooting for counting colonies:

- a) When a number of colonies per sheet exceeds 250, for all dilutions, record the count as too numerous to count (TNTC). If an estimated count is required, count colonies within 1-3 squares (1 cm × 1 cm) printed on the cover and calculate an average. Multiplying the average number by 20 provides the estimated count since the circular growth area is approximately 20 cm².
- b) Not every *Escherichia coli* forms navy blue/blue purple colony.
- c) *Escherichia coli* O157 is detected as non-*E.coli* coliform and forms red purple colonies because it does not produce β-glucuronidase.
- d) *Escherichia blattae* is not detected because it does not produce β-galactosidase.
- e) *Aeromonas hydrophila* and some of *Serratia* species are detected as non-*E.coli* coliform and form red purple colonies because they have ability to produce β-galactosidase.
- f) When the entire growth area becomes colored, record the count as too numerous to count (TNTC).

- g) When a bubble disrupts a colony so that the colony outlines the bubble, count it as one colony.
- h) When a colony spreads, count it as one colony.
- i) When two or more spreading colonies appear to originate from separate sources, count each source as one colony.
- j) When the sample is not clear (i.e. cloudy or dark), prepare a higher dilution.
- k) When the entire growth area becomes colored due to food components involving the chromogenic reaction, prepare a higher dilution.

5. Colony isolation

Lift the cover and pick a single colony from the gel.

Cautions

- 1) This product is not for clinical testing.
- 2) This product has been validated for raw beef, raw pork, raw frozen pork, raw lamb, raw salmon, frankfurter sausage and cooked ham in AOAC *Performance Tested Methods*SM program, but has not been tested with all possible food products, food processes, test protocols or strains.
- 3) Do not open the cover until just before inoculation.
- 4) Do not use the product after its expiry date.
- 5) Do not use the product that is damaged, deformed or discolored, or that contains any foreign materials.
- 6) Do not expose the product to direct sunlight.
- 7) Do not push the cover after inoculation to avoid sample suspension being spilled out from a growth area.
- 8) If sample suspension spilled out from a growth area, try again with a new sheet.

Safety

- 1) If medium or reagent gets into eyes or mouth, rinse immediately with plenty of water and consult a doctor.
- 2) Analysis needs to be performed under a laboratory analyst with microbiological training and supervision. All waste must be handled as a biohazard and disposed by autoclaving.

Storage

Keep in the refrigerator (2-8°C).

Storage after opening the bag

Put any unused sheet back into the bag, fold the end of the bag over twice, and seal with tape. The shelf life under refrigerated condition is 3 months after opening.

Shelf life

Expiry date is specified on the product label after the word "EXP". The shelf life of the product is 18 months after manufacturing if it is stored properly without opening the bag.

Disposal

Any and all media, supplements, and reagents must be sterilized by autoclaving after use, and then disposed as industrial waste according to local laws and regulations.

Disclaimer of warranties

If any Medi·Ca EC sheet is proved to be defective by reason of improper workmanship and/or material, they will be replaced with new ones. It is the user's responsibility to determine that any test method and result meet its customers' or suppliers' requirements.

Contact information

Business Development Department, Global Business Division,
Packaging Operations, Dai Nippon Printing Co., Ltd.

Address: 1-1-1, Ichigaya-Kagacho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8001, Japan

URL: https://www.dnp.co.jp/CGI/inquiry_eng/form.cgi

Manufactured by

Dai Nippon Printing Co., Ltd.

1-1-1, Ichigaya Kagacho, Shinjuku-ku, Tokyo, 162-8001, Japan