





Petrifilm™

6436/6437

Product Instructions

 (EN) Rapid *E. coli* / Coliform Count Plate

 (JA) *E. coli*および大腸菌群数迅速測定用プレート

REC

Rapid *E. coli* / Coliform



Product Instructions

Rapid *E. coli* / Coliform Count Plate

Product Description and Intended Use

The 3M™ Petriefilm™ Rapid *E. coli* / Coliform Count (REC) Plate is a selective and differential sample-ready-culture-medium system which contains proprietary nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide (BCIG) an indicator of glucuronidase activity, and a tetrazolium indicator that facilitates colony enumeration. The 3M Petriefilm REC Plate is used for the enumeration of *Escherichia coli* (*E. coli*) and coliforms in the food and beverage industries. The 3M Petriefilm REC Plate components are decontaminated though not sterilized. 3M Food Safety is certified to ISO (International Organization for Standardization) 9001 for design and manufacturing. The 3M Petriefilm REC Plate has not been evaluated with all possible food products, food processes, testing protocols or with all possible microorganism strains.

Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the 3M Petriefilm REC Plate. Retain the safety instructions for future reference.

⚠ WARNING: Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in death or serious injury and/or property damage.

⚠ WARNING

Do not use this plate for the specific detection of *E. coli* O157. Because most *E. coli* O157 strains are atypical, for example they are glucuronidase negative, they will not produce a blue color, and therefore will be detected as coliforms on 3M Petriefilm REC Plates.

To reduce the risks associated with exposure to biohazards and environmental contamination:

- After use, 3M Petriefilm REC Plates may contain microorganisms that may be a potential biohazard. Follow current industry standards and local regulations for disposal of biohazardous waste.

To reduce the risks associated with release of contaminated product:

- Follow all product storage instructions contained in the instructions for use.
- Do not use beyond the use by date.
- Do not use 3M Petriefilm REC Plates that show discoloration.
- Do not use diluents containing citrate, bisulfate or thiosulfate with the 3M Petriefilm REC Plate; they can inhibit growth.

To reduce the risks associated with bacterial infection and workplace contamination:

- Perform 3M Petriefilm REC Plate testing in a properly equipped laboratory under the control of a skilled microbiologist.
- The user must train its personnel in current proper testing techniques: for example, Good Laboratory Practices¹, ISO 7218², or ISO 17025³.

To reduce the risks associated with misinterpretation of results:

- 3M has not documented 3M Petriefilm REC Plates for use in industries other than food and beverage. For example, 3M has not documented 3M Petriefilm REC Plates for testing water, pharmaceuticals, or cosmetics.
- Do not use 3M Petriefilm REC Plates in the diagnosis of conditions in humans or animals.
- 3M Petriefilm REC Plates do not differentiate any one *E. coli* or coliform strain from another.
- A few strains of bacteria can produce β -glucuronidase such as *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* and *Klebsiella* and may produce blue to blue-green colonies on the 3M Petriefilm REC Plate.
- Foods with high sugar content may increase the potential for gas production from non-coliform *Enterobacteriaceae*.

Consult the Safety Data Sheet for additional information.

For information on documentation of product performance, visit our website at www.3M.com/foodsafety or contact your local 3M representative or distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at www.3M.com/foodsafety, or contact your local 3M representative or distributor for more information.

When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, and laboratory technique may influence results. The food sample itself may influence results.

It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples with the appropriate matrices and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.

It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' and suppliers' requirements.

As with any test method, results obtained from use of any 3M Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

Limitation of Warranties / Limited Remedy

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, 3M DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any 3M Food Safety Product is defective, 3M or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. You must promptly notify 3M within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to 3M. Please call Customer Service (1-800-328-1671 in the U.S.) or your official 3M Food Safety representative for a Returned Goods Authorization.

Limitation of 3M Liability

3M WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall 3M's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

Storage

Store unopened 3M Petrifilm REC Plate pouches refrigerated or frozen (-20 to 8°C / -4 to 46°F). Just prior to use, allow unopened 3M Petrifilm REC Plate pouches to come to room temperature before opening (20-25°C (68-77°F) / <60% RH). Return unused 3M Petrifilm REC Plates to pouch. Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape.

To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches. Store resealed 3M Petrifilm REC Plate pouches in a cool dry place for no longer than four weeks. It is recommended that resealed pouches of 3M Petrifilm REC Plates be stored in a freezer for no longer than four weeks if the laboratory temperature exceeds 25°C (77°F) and/or the laboratory is located in a region where the relative humidity exceeds 50% (with the exception of air-conditioned premises).

To store opened pouches in a freezer, place the 3M Petrifilm REC Plates in a sealable container. To remove the frozen 3M Petrifilm REC Plates for use, open the container, remove the plates that are needed and immediately return remaining plates to the freezer in the sealed container. The freezer that is used for open pouch storage must not have an automatic defrost cycle as this would repeatedly expose the 3M Petrifilm REC Plates to moisture which can damage the plates.

Do not use 3M Petrifilm REC Plates that show any visible discoloration. Use by date and batch code are noted on each pouch of 3M Petrifilm REC Plates. The batch code is also noted on individual 3M Petrifilm REC Plates. 3M Petrifilm REC Plates should not be used past their use by date.

△ Disposal

After use, 3M Petrifilm REC Plates may contain microorganisms that may be a potential biohazard. Follow current industry standards and local regulations for disposal of biohazardous waste.

Instructions for Use

Follow all instructions carefully. Failure to do so may lead to inaccurate results.

Sample Preparation

1. Use appropriate sterile diluents:

Butterfield's phosphate-buffered dilution water, 0.1% peptone water, peptone salt diluent (Maximum Recovery Diluent), buffered peptone water, 0.85%-0.9% saline, phosphate buffered saline (PBS), distilled water or bisulfite-free letheen broth.

Do not use diluents containing citrate, bisulfite or thiosulfate with the 3M Petrifilm REC Plates; they can inhibit growth. If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with Butterfield's phosphate-buffered dilution water, warmed to 40-45°C.

2. Blend or homogenize the sample.
3. For optimal growth and recovery of microorganisms in acidic products (< pH 5), adjust the pH of the sample suspension to greater than pH 5. For acidic products, adjust the pH with 1N NaOH.

Plating

1. Place the 3M Petrifilm REC Plate on a flat, level surface.
2. Lift the top film and with the pipette perpendicular to the inoculation area dispense 1 mL of sample suspension onto the center of bottom film.
3. Roll the top film down onto the sample to prevent trapping air bubbles.
4. Place the 3M™ Petrifilm™ Flat Spreader (6425) with the flat side down on the center of the plate. Press gently on the center of the spreader to distribute the sample evenly. Spread the inoculum over the entire 3M Petrifilm REC Plate growth area before the gel is formed. Do not slide the spreader across the film.
5. Remove the 3M Petrifilm Flat Spreader and leave the plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

Incubation

Incubate the 3M Petrifilm REC Plates in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20 plates. Several incubation times and temperatures can be used depending on the current local reference methods, some of which are listed in the “Specific Instructions for Validated Methods” section.

Interpretation

1. 3M Petrifilm REC Plates can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier. Do not count colonies on the foam dam since they are removed from the selective influence of the medium. Do not count artifact bubbles that may be present.
2. Interpretation of *E. coli* colonies is as follows:
Enumerate blue to blue-green colonies with and without gas, regardless of size or intensity of color, as *E. coli*.

⚠ WARNING

Do not use this plate for the specific detection of *E. coli* O157. Because most *E. coli* O157 strains are atypical, for example they are glucuronidase negative, they will not produce a blue color, and therefore will be detected as coliforms on 3M Petrifilm REC Plates.

3. The interpretation of non-*E. coli* coliform colonies on the 3M Petrifilm REC Plate varies by reference method. For example:
 - a. The United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria¹⁰, defines coliforms as Gram negative rods, which produce acid and gas from lactose during metabolic fermentation. Non-*E. coli* coliform colonies on the 3M Petrifilm REC Plate are red and closely associated (within one colony diameter) with entrapped gas. Colonies not associated with gas (a distance greater than one colony diameter between colony and gas bubble) are not counted as coliforms. The total coliform count consists of both the red colonies with gas and blue colonies with and without gas.
 - b. ISO defines coliforms by their ability to grow in method-specific, selective media. ISO 4832⁴ enumerates typical coliform colonies on Violet Red Bile Lactose (VRBL) agar, with confirmation of atypical colonies. On the 3M Petrifilm REC Plate, non-*E. coli* coliforms are red colonies with and without gas production. The total coliform count is indicated by red colonies with or without gas production and blue colonies with and without gas production.
4. Countable Range:
 - a. The counting range for *E. coli* on the 3M Petrifilm REC Plate is lower than or equal to 100 blue to blue-green colonies with and without gas regardless of the number of total colonies.
 - b. The counting range for total coliforms on 3M Petrifilm REC Plate is lower than or equal to 100 colonies excluding tiny, pale pink colonies.
 - c. The countable range for *E. coli* or total coliform may occur on separate dilutions.

The circular growth area is approximately 30 cm². Estimates can be made on 3M Petrifilm REC Plates containing greater than 100 colonies. Count the number of colonies in one or more representative squares and determine the average number per square. Multiply the average number by 30 to determine the estimated count per 3M Petrifilm REC Plate.

5. 3M Petrifilm REC Plates with colony counts too numerous to count (TNTC) may have one or more of the following characteristics: lightening of the gel color to yellow, many small, indistinct red or blue colonies and/or many gas bubbles. High concentrations of *E. coli* or coliforms may cause the outer edge of the growth area to turn pink to pink orange. When this occurs, record results as TNTC. For a more accurate count, further dilution of the sample may be necessary.

6. When necessary, colonies may be isolated for further identification. Lift the top film and pick the colony from the gel. Test using standard procedures.
7. If the 3M Petrifilm REC Plates cannot be counted within the incubation period, they may be stored for later enumeration by freezing in a sealable container at temperatures lower than or equal to negative 15°C (5°F) for no longer than one week.

Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® Performance Tested MethodsSM Certificate #051801

In an AOAC Research Institute *Performance Tested Methods* (PTM) study, the 3M Petrifilm REC Plate method was found to be equivalent to the average log counts of the United States FDA BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria, ISO 4832: Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal method for the enumeration of coliforms –Colony count technique, and ISO 16649: Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* –Part 2: colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide.

Scope of the Validation: Broad range of foods and select environmental surfaces.

Incubation:

Dairy products:

Incubate the 3M Petrifilm REC Plates 18-24 hours at 30 ± 1°C or 32 ± 1°C for coliforms and *E. coli* or 42 ± 1°C for *E. coli*.

All other foods:

Incubate the 3M Petrifilm REC Plates 18-24 hours at 35 ± 1°C or 37 ± 1°C for coliforms and *E. coli* or 42 ± 1°C for *E. coli*.



For further information refer to the “3M™ Petrifilm™ Rapid *E. coli* / Coliform Count Plate Interpretation Guide”. If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at www.3M.com/foodsafety or contact your local 3M representative or distributor.

References

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
5. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms –Most probable number technique.
6. NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
9. ISO 16649-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 2: colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide.
10. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition, Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria online.

Refer to the current versions of the standard methods listed above.

Explanation of Symbols

www.3M.com/foodsafety/symbols

AOAC is a registered trademark of AOAC INTERNATIONAL

Performance Tested Method is a service mark of AOAC INTERNATIONAL

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street, Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Used under license in Canada.
34-8722-9337-7

製品情報

E. coliおよび大腸菌群数迅速測定用プレート

製品の概要および用途

3M™ ペトリフィルム™ E. coliおよび大腸菌群数迅速測定用プレート (RECプレート) は、専用の栄養成分、冷水可溶性ゲル化剤、グルクロニダーゼ活性の指示薬である5-ブromo-4-クロロ-3-インドリル-D-グルクロニド (BCIG) およびコロニーを測定しやすくなるためのテトラゾリウム指示薬が含まれているできあがり培地です。3M ペトリフィルム RECプレートは、食品や飲料中の大腸菌 (E. coli) および大腸菌群数の測定に使用します。3M ペトリフィルム RECプレートは滅菌されていませんが、汚染除去処理済みです。3M食品衛生管理製品は、設計と製造についてISO (国際標準化機構) 9001の認証を取得しています。3M ペトリフィルム RECプレートは、あらゆる食材、食品製造工程、検査プロトコル、あらゆる細菌菌株について評価されたわけではありません。

安全性

3M ペトリフィルム RECプレートをご使用になる前に、本書に記載のすべての安全情報をお読みにになり、よく理解し遵守してください。また、これらの情報は大切に保管してください。

△ **注意:**適切な危険予防措置が行われていない場合、死亡または重篤な傷害や、物的損害が発生する可能性があります。

警告

本製品を、E. coli O157の検出に使用しないでください。これは、ほとんどのE. coli O157株は非定型のE. coliコロニーとして生育することが理由です、たとえば、O157株はグルクロニダーゼ陰性であり、青色のコロニーにならないため、3M ペトリフィルム RECプレートでは大腸菌群として検出されません。

バイオハザードや環境汚染への曝露に伴う危険を回避するために:

- 使用済みの3M ペトリフィルム RECプレートには、バイオハザードをもたらすおそれのある微生物が混在している場合があります。バイオハザード廃棄物に関する現行の産業基準や地域の規制に従って廃棄してください。

汚染された製品の流出に伴う危険を回避するために:

- 本書に記載された製品の保管方法にはすべて従ってください。
- 使用期限を過ぎた製品は使用しないでください。
- 3M ペトリフィルム RECプレートが変色している場合は、使用しないでください。
- クエン酸塩、重亜硫酸塩またはチオ硫酸塩を含む緩衝液は、菌の生育を阻害する可能性があるため、3M ペトリフィルム RECプレートに使用しないでください。

細菌感染や作業場の汚染に伴う危険を回避するために:

- 3M ペトリフィルム RECプレートによる検査は、熟練した微生物管理者の管理下で適切な設備のある検査室にて実施してください。
- 検査実施担当者に適切な検査技術を身につけるように指導してください (例: GLP¹、ISO 7218²、ISO 17025³)。

結果の誤判定に伴う危険を回避するために:

- 3Mは、3M ペトリフィルム RECプレートの食品および飲料以外の分野における使用について検証しておりません。たとえば、3Mは、3M ペトリフィルム RECプレートの水や医薬品、化粧品分野における使用について検証しておりません。
- 3M ペトリフィルム RECプレートをヒトや動物の臨床診断に使用しないでください。
- 3M ペトリフィルム RECプレートは、E. coliや大腸菌群の菌株を特定することはできません。
- 大腸菌以外の細菌株 (例: *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*) の中には、β-グルクロニダーゼを産生することができるものもあります、これらは、3M ペトリフィルム RECプレート上で青色から青緑色のコロニーとなる可能性があります。
- 高糖度の食品は、大腸菌群ではない腸内細菌科菌群によるガス産生の可能性を高める場合があります。

その他の情報については製品安全データシートを参照してください。

製品性能に関する資料の詳細をご希望の場合は、当社のWebサイト (www.3M.com/foodsafety) をご覧いただくか、3M販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

お客様の使用責任

お客様には、使用前に添付文書および製品情報を熟読し、情報に精通する責任があります。詳細につきましては、当社ウェブサイト www.3M.com/foodsafety をご覧いただくか、お近くの3M販売担当者または販売店にお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、サンプリング方法、検査プロトコル、サンプルの準備、取り扱い、および検査手技などの要因が結果に影響いたしますのでご注意ください。食品(検体)そのものが結果に影響を及ぼすこともあります。

お客様の検査目的や基準に合致することが確認できるよう、必ず事前に適切な食材および菌株を用いた十分な数のサンプルでご評価ください。

また、その検査方法および結果が納入先顧客または供給業者の要求を満たしているかについても、事前にお客様自身でご確認ください。

どの検査方法を使用した場合でも、3M食品衛生管理製品を用いて得られた結果は、検査を実施した食材または工程の品質を保証するものではありません。

保証の範囲／賠償の制限

個々の製品パッケージの限定保証条項に明示されている場合を除き、3Mは明示の有無を問わず、商品適格性または特定の目的への適合性に関する保証を含む、いかなる種類の保証も行いません。3M食品衛生製品に欠陥があった場合、3Mまたは取扱販売店にて製品の交換または返品処理をさせていただきます。対応は上記のみとさせていただきます。製品の欠陥が疑われる場合は、判明した時点から60日以内にすみやかに3Mに通知し、製品を3Mに返送してください。返品可否についてはカスタマーサービスにお電話にてご連絡いただくか(米国の場合は1-800-328-1671)、お近くの3M食品衛生部門までお問い合わせください。

3Mの保証責任範囲

3Mは、直接的・間接的、特殊、偶発的または必然的を問わず、利益損失を含むいかなる損失に対しても責任を負いません。いかなる場合においても、またあらゆる法的根拠に対しましても、3Mの保証責任範囲は、欠陥と認められた製品の購入金額を超えることはございません。

保管

未開封の3M ペトリフィルム RECプレートの包装パウチは、冷蔵または冷凍して(-20~8°C/-4~46°F) 保管してください。ご使用の際には、開封前に3M ペトリフィルム RECプレートの包装パウチを室温(20~25°C(68~77°F) / <60% RH) に戻してください。未使用の3M ペトリフィルム RECプレートは包装パウチに戻してください。包装パウチの開口部を折り、粘着テープで封をしてください。**湿気を避けるために、開封した包装パウチは再冷蔵しないでください。**封をした3M ペトリフィルム RECプレートの包装パウチは乾燥した冷所で4週間まで保管できます。封をした3M ペトリフィルム RECプレートの包装パウチは、(空調管理された施設を除き)検査室の温度が25°C(77°F) を超える場合、また、相対湿度が50%を超える場合には、冷凍庫で保管することをお勧めします、なお、冷凍庫での保管は4週間までとしてください。

一度開封したプレートを冷凍保存する場合には、密封可能な容器に3M ペトリフィルム RECプレートを入れてください。冷凍された3M ペトリフィルム RECプレートを使用する場合には、容器を開け、必要な数のプレートを取り出し、残ったプレートを密封可能な容器に速やかに戻し、冷凍してください。一度開封したパウチを冷凍保存する場合には、自動除霜機能のある冷凍庫には保管しないでください、除霜サイクルにより繰り返し湿気にさらされると、3M ペトリフィルム RECプレートの性能に影響を及ぼす可能性があります。

3M ペトリフィルム RECプレートが変色している場合は、使用しないでください。使用期限と製品ロット番号は、3M ペトリフィルム RECプレートの包装パウチごとに記載されています。なお、ロット番号は、各3M ペトリフィルム RECプレートにも記載されています。使用期限が過ぎた3M ペトリフィルム RECプレートは使用しないでください。

△ 廃棄

使用済みの3M ペトリフィルム RECプレートには、バイオハザードをもたらすおそれのある微生物が混在している場合があります。バイオハザード廃棄物に関する現行の産業基準や地域の規制に従って廃棄してください。

使用方法

すべての指示に、注意深く従ってご使用ください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

検体の準備

1. 適切な滅菌希釈液をご使用ください:

バターフィールドリン酸緩衝液希釈水、0.1%ペプトン水、ペプトン加生理食塩水(Maximum Recovery Diluent)、緩衝ペプトン水、生理食塩水(0.85%~0.9%)、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)、蒸留水または重亜硫酸塩無添加のリーゼンブロス。

クエン酸塩、重亜硫酸塩またはチオ硫酸塩を含む緩衝液は、菌の生育を阻害する可能性があるため、3M ペトリフィルム RECプレートに使用しないでください。標準手順にクエン酸緩衝液が指定されている場合は、バターフィールドリン酸緩衝液希釈水に変更し、40~45°Cに加熱して使用してください。

2. 検体を攪拌またはホモジナイズしてください。

3. 酸性検体中(< pH 5)での菌の生育を確実にするために、検体試料液のpHが5を超えるように調整して下さい。酸性の検体は、1N NaOHを用いてpHを調整して下さい。

プレートへの接種

1. 3M ペトリフィルム RECプレートを平らなところに置きます。
2. 上部フィルムを持ち上げ、ピペットを接種領域に対して垂直に保ち、検体試料液1 mLを下部フィルムの中央部に接種します。
3. 気泡が入らないように、上部フィルムを検体の上にゆっくりと戻します。
4. 3M™ペトリフィルム™ フラットスプレッダー (6425) の平らな面を下にして、プレートの中央に置きます。スプレッダーの中心部を軽く押し、検体試料液を均等に広げます。ゲル化されるまでに、3M ペトリフィルム RECプレートの接種領域内に広げます。フィルム上でスプレッダーをすべらせないでください。
5. 3Mペトリフィルム フラットスプレッダーを取り、3MペトリフィルムRECプレートをそのまま1分間放置し、ゲル化させます。

培養

3M ペトリフィルム RECプレートの上部フィルム (透明フィルム側) を上にして、水平な場所で培養し、20枚まで重ねて培養することができます。各施設の現行の参照方法に応じて、適した培養時間と温度を選択できます。培養条件例については、「妥当性が確認された方法」の項を参照してください。

判定

1. 3M ペトリフィルム RECプレートは、標準的なコロニーカウンターか拡大鏡 (照明付き) を用いて測定できます。周りの白い枠の上のコロニーは数えないでください。作業中に混入した気泡も数えないでください。
2. *E. coli*のコロニーの判定は下記の手順に従ってください:
大きさや色の濃さにかかわらず、青色から青緑色のコロニーは、気泡の有無を問わず*E. coli*として測定します。

警告

本製品を、*E. coli*O157の検出に使用しないでください。これは、ほとんどの*E. coli*O157株は非定型の*E. coli*コロニーとして生育することが理由です、たとえば、O157株はグルクロニダーゼ陰性であり、青色のコロニーとならないため、3M ペトリフィルム RECプレートでは大腸菌群として検出されます。

3. 3M ペトリフィルム RECプレート上に生育した*E. coli*以外の大腸菌群コロニーの判定は、試験方法によって異なります。例:
 - a. FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 4: 大腸菌 (*E. coli*) および大腸菌群¹⁰ の測定において、大腸菌群は乳糖から酸とガスを産生するグラム陰性桿菌として定義されます。本定義における3MペトリフィルムRECプレートでの*E. coli*以外の大腸菌群のコロニーは赤色で、コロニーと気泡との距離が1コロニーの直径の範囲内に気泡を伴います。気泡を伴わないコロニー (コロニーと気泡との距離が1コロニー直径分を超えている場合) は、大腸菌群として測定しません。総大腸菌群数としては、気泡を伴う赤色のコロニーと気泡の有無を問わない青色のコロニーの両方を測定します。
 - b. ISOでは大腸菌群を、選択培地上に生育可能な菌として定義しています。ISO 4832⁴では、Violet Red Bile Lactose (VRBL) 寒天培地で生育した大腸菌群の定型コロニーおよび確認試験を実施した非定型コロニーを大腸菌群として測定します。本定義における3MペトリフィルムRECプレートでの*E. coli*以外の大腸菌群のコロニーは、気泡の有無を問わない赤色のコロニーです。総大腸菌群数としては、気泡の有無を問わない赤色コロニーと気泡の有無を問わない青色のコロニーの両方を測定します。
4. 適正測定範囲:
 - a. 3M ペトリフィルム RECプレートの*E. coli*の適正測定範囲は、総コロニー数に関わらず、また気泡の有無を問わず、青色から青緑色のコロニーが100個以下です。
 - b. 3M ペトリフィルム RECプレートの総大腸菌群の適正測定範囲は、総コロニー数で100個以下です、この際、小さく薄いピンク色のコロニーは非定型菌のため数に入れないでください。
 - c. 適正測定範囲は*E. coli*または総大腸菌群で、それぞれ異なる階段希釈液で得られる場合があります。

接種領域は約30 cm²です。3M ペトリフィルム RECプレート1枚につき100個を超えるコロニーが存在する場合、推定数を算出することが可能です。コロニー数の推定には、1 cm²あたりのコロニー数を1ヵ所以上で測定してその平均値を算出します。1 cm²当たりの平均値を30倍して、3M ペトリフィルム RECプレート全体のコロニー数を推定します。

5. 測定不能多数 (TNTC) となる3M ペトリフィルム RECプレートは、下記の特徴が1つ以上見られます:ゲルの色が黄色くなる、小さく不明瞭な赤色または青色のコロニーが多数ある、多くの気泡が見られる。*E. coli*または大腸菌群の数が多い場合、接種領域の外縁がピンク色~ピンクがかかったオレンジ色に変化する場合があります。このような場合はTNTCとして結果を記録してください。より正確な測定を行う場合は、検体試料液をさらに希釈する必要があります。

6. 必要に応じ、コロニーを個別に検査します。上部フィルムを持ち上げ、ゲルからコロニーを釣菌します。規定の手順に従い検査してください。
7. 培養後すぐに測定を行えない場合は、3M ペトリフィルム RECプレートに密封容器に入れて冷凍保存し、後で測定することができます。保存は-15°C (5°F)以下で、1週間以内としてください。

妥当性が確認された方法

AOAC® Performance Tested MethodsSM Certificate#051801

AOAC Research InstituteのPerformance Tested Methods (PTM) 認証試験にて、3M ペトリフィルム RECプレートによる結果はFDA BAM Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria、ISO 4832: Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal method for the enumeration of coliforms –Colony count technique、およびISO 16649: Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase-positive *Escherichia coli* –Part 2: colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide と同等の結果が得られることが確認されています。

適応範囲: 広い範囲の食品および環境表面。

培養:

乳製品:

*E. coli*および大腸菌群の測定は、3M ペトリフィルム RECプレートを30±1°Cまたは32±1°Cで18～24時間培養し、*E. coli*のみの測定は、42±1°C、18～24時間培養でも実施できます。

その他すべての食品:

*E. coli*および大腸菌群の測定は、3M ペトリフィルム RECプレートを35±1°Cまたは37±1°Cで18～24時間培養し、*E. coli*のみの測定は、42±1°C、18～24時間培養でも実施できます。



詳細については「3M™ ペトリフィルム™ *E. coli*および大腸菌群数迅速測定用プレート解説書」を参照してください。具体的な用途や手順についてご質問がありましたら、当社のウェブサイト (www.3M.com/foodsafety) をご覧いただくか、3M販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

参考文献

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
5. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms –Most probable number technique.
6. NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
9. ISO 16649-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 2: colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide.
10. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition, Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria online.

上述の標準試験法については、現行の最新版を参照してください。

記号の説明

www.3M.com/foodsafety/symbols

AOACはAOAC INTERNATIONALの登録商標です

Performance Tested Methodは、AOAC INTERNATIONALのサービスマークです

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street, Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Used under license in Canada.
34-8722-9337-7