

大腸菌群(推定試験)

検体採取

検体以外からの微生物汚染がないように、器具類は全て滅菌したものを使用します。

検体が液状の場合は、均一に混合した後に内容物の一定量を採取します。

検体が固体の場合は、数箇所から少しずつ、まんべんなく採取します。

採取した検体の 25g (もしくは容易に均一化できるものは 10g) を量り採り、スタマッカー処理用の滅菌袋などに移します。

試料原液の調製および更なる希釈

液状の検体では、採取した検体を試料原液とします。

固形の検体では、以下の手順で試料原液と希釈試料液を調製します。

希釈試料液は必要に応じて希釈水で 10 倍段階希釈して調製します。

試験操作

1) 培地および希釈水

培地 : デソキシコレート寒天培地

希釈水 : リン酸緩衝液、生理食塩水、ペプトン加生理食塩水 (試験する検体による)

2) 培地への試料接種方法

混釈法

各希釈段階において、2 枚ずつのシャーレに希釈試料液を 1mL 接種します。滅菌後 45~50°C に保温したデソキシコレート寒天培地をシャーレに 15mL 程度分注し、均一になるようによく混和します。その後、寒天が固化するまで静置します。さらに、培地を 5mL 程度重層し、固化後にシャーレを倒置して培養します。

塗抹法

デソキシコレート寒天平板生培地に希釈試料液 0.1mL を滴下し、素早くコンラージ棒で全体に塗り拡げます。培地表面の水分が寒天に吸収されたことを確認し、シャーレを倒置して培養します。

3) 培養

インキュベーターで、35±1°C、20±2 時間培養します。

4) 判定

ピンクから赤色に着色したコロニーをカウントし、検体 1g (または 1mL) あたりの菌数を算出します。(通常、30~300 個のコロニーが得られたシャーレの計数値を採用します。)



