

テンポ AC (好気性菌計数キット)

2013 年 01 月作成

産業分野検査用キット 微生物検査用

TEMPO® AC (Aerobic Count)

テンポ AC – 好気性菌計数キットは、テンポシステム専用のキットで、食品中及び環境中の好気中温性細菌叢の生菌数を計測します。

本品は、説明書をよく読んでから使用してください。

開発の経緯及び特徴

テンポ AC キット は、テンポシステム専用のキットで、食品中及び環境中の好気中温性細菌叢の生菌数を計測するキットです。

本品は、EN ISO4833 標準法⁽¹⁾、AOAC オフィシャルメソッド 966.23 および米国公衆衛生協会の乳製品検査標準法 (SMEDP)⁽²⁾と同等の性能をもつように開発設計されました。

食品中の好気中温性細菌叢の生菌数は、食品衛生上の品質の判定、鮮度又は劣化の状態の指標に用いられます。最終製品となるまでに種々の工程を経るような食品については、本品により、製造、輸送、保存等の各条件の適否を判断するために用いることができます。

測定原理

テンポ AC キットは、本品に特有の培地ボトルとカードで構成されています。

検体を培地ボトルに接種した後、テンポフィルターを用いてカードに分注します。カードには 3 種類のサイズの 48 個のウェルが設けられています。カードには 10 倍毎に異なる 3 段階の大きさ (小、中、大) のウェルがそれぞれ 16 個存在します。このカードは MPN(Most Probable Number- 最確数)(3,4)法に相当するように設計されています。その後カードは密閉されます。テンポフィルターは、以降の操作におけるコンタミのリスクを避けるため、カードを密封します。

培養の間、カードのウェル内の細菌が培地中の基質を還元することにより、蛍光シグナルが発生します。この蛍光シグナルを、テンポリーダーが検出します。各サイズのウェルにおける陽性数から、テンポシステムが MPN 法により、検体中に存在する生菌数を測定します。

キットの構成 (48 回用) :

テンポ AC カード 24 枚 x 2	トランスファーチューブ付きディスポーザブルカード そのまま用います
テンポ AC 培地ボトル 24 本 x 2	4 mL 用 各ボトルは 1 回測定分の粉末培地を含有しています
添付文書はキットに同梱されているか、または http://products.sysmex-biomerieux.net/ よりダウンロード可能です。	

テンポ AC 培地ボトル組成

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 :

溶解後 (g/L)

栄養素及び発育補助剤 (ウシバタ)	27
基質	0.08
消泡剤	0.4
pH 7.2	

本品を使用する際に必要な試薬又は器具

材料:

- テンポバッグ- 側面フィルター付のバッグ (品番 80015)
- パドルブレンダー
- 検体分注用 0.1 mL 又は 1 mL 用ピペット
- ボルテックスミキサー
- インキュベーター (設定温度保持可能なもの)

その他の試薬及び器具:

推奨される食品検体の一次希釈液:

- 90 mL ペプトン水/ペプトン生理食塩水(ビオメリュー品番 42021)
- 90 mL ペプトン緩衝溶液 (ビオメリュー品番 42042)
- クエン酸ナトリウム溶液又はリン酸水素二カリウム溶液 (EN ISO 6887-5 : 2010 5.3 項に従うこと (5))
- Butterfield's リン酸緩衝溶液(7)
- 各施設において、テンポシステムでの使用において、上記のものと同等であることが確認された希釈液

推奨される環境菌試験の一次希釈液:

- Difco Neutralizing Buffer (品番 236210 Neutralizing Buffer for environmental samples)
- Modified Lethen プイオン(8)
- 各施設において、テンポシステムでの使用において、上記のものと同等であることが確認された希釈液

推奨される二次希釈液:

- 滅菌精製水または各施設において有効性が確認された純水

精度管理用に推奨される器具及び材料:

- デンシマット(ビオメリュー品番 99234)
- トリプケースソイ寒天培地 (ビオメリュー品番 43011)

使用上又は取り扱い上の注意

- 本品は産業分野における微生物試験用です。
- 本品は微生物検査を熟知した人が使用してください。
- GLPに従ってください(EN ISO 7218 (10) 等)。
- 本製品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ないことを保証するものではありません。したがって、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(接種または吸入しないで下さい)。
- 培地ボトル中の粉末培地を製造原料又は成分として使用しないでください。
- すべての 検体及び検体を接種した培地は、感染の危険性があるものとして適正に取り扱ってください。本品による試験にあたっては、すべてのステップにおいて、細菌の取り扱いに関する注意事項を遵守してください。「Laboratory Biosafety Manual – WHO – Geneva – Latest edition」を参照してください。又は国内の規制を参考にしてください。
- 使用期限を過ぎた試薬や消耗品は使用しないでください。
- 使用前に、包装及び構成試薬が未使用であることを確認してください。
- 培地ボトル内の粉末培地が均質なもののみ使用してください(凝塊又は水分のないこと)。
- 目視にて劣化のみられるカードは使用しないでください。
- 粉末培地を溶解しない状態で、検体を接種しないでください。
- テンポフィルターによる操作後に密封されていないカードは使用しないでください。
- テンポカードの陽性ウエルの内容を継代培養しないでください。
- カードのウエル又はバーコード上に書き込みをしないでください。
- カードにはラベル、シールなどを一切貼付しないでください。
- テンポリーダー、テンポフィルター及びブラックは、定期的に清拭し、消毒してください(ユーザーズマニュアル参照)。
- 本書に記載した以外の使用方法では、正しい結果が得られないことがありますので、各ご使用施設でのバリデーションを実施してください。このような場合、バイオメリュー社としては、得られた結果に対しては責任を負えません。使用法の変更もしくは改変は、バイオメリューによる保証の対象外となります。

貯法及び使用期限

- テンポ AC キットは 2-25°C にて保存してください。
- カードは実験台又は培地スタンドなどに放置して、15 日以上、光に晒さないでください。
- カードを紫外線に直接晒さないでください。
- 本品の保存条件のとおり保存するとき、すべての構成試薬は、ラベルに表示されている使用期限まで安定です。

食品検体

検体の種類

テンポシステムは、ヒト及び家畜が食用とする食品の分析に使用することができます。

検体の準備

一次希釈液及び二次希釈液を室温(18-25°C)に戻します。(「本品を使用する際に必要な試薬又は器具」欄に記載の希釈液のリスト参照)。

検体の採取・調製は、標準法に従って行ってください。

- とくに、
- 酸性食品については、溶液調製時には pH が中性となっていることを確認してください(EN ISO 6887-4 第 8.2 項)(9)。
 - 芳香性ハーブ又はスパイス類、茶葉、浸出液等阻害作用のあるものは、標準法 EN ISO 6887-4 第 9.5.4.4 項)(9)を適用したあとも最低でも 1/400 以上の希釈をしてください。

検体の調製を行うには、まず一次希釈液で検体を 10 倍に希釈します(一次希釈)。たとえば、90mL のペプトン水に 10 g 又は 10 mL の検体を無菌的に加えます。テンポバッグ内で検体と希釈液を、均質になるように混和します(テンポバッグの使用法は、テンポ検体登録ステーションのユーザーズマニュアルを参照してください)。

上記の一次希釈検体のテンポ培地カードへの注入は 45 分以内に行ってください。ただし、国際標準法により別途異なる指示のある場合はこの限りではありません(10)。

ISO4833 参照方法 (30°C) (1) と同等の結果を得るための操作方法

詳細については、テンポシステムユーザーズマニュアルを参照してください。

検体	試験モード
全ての食品 (標準プロトコール)	40-48 時間
鶏を含む生肉 (特定のプロトコール)	24-28 時間
調整済み食品 (特定のプロトコール)	24-28 時間
家畜の屠殺体を含む生産環境 (特定のプロトコール)	24-28 時間
フルーツ及び野菜 (特定のプロトコール)	24-28 時間

食品検体試験の操作手順

たとえば、400 倍希釈液を作成すると、100 から 4.9×10⁵ CFU/g の生菌数の計数が可能となります。予想される生菌数レベルに応じて希釈率を変更してください。1 ページに記載の ISO での希釈液が使用可能です。

1. 必要な本数の培地ボトル(1 検体につき 1 本)を取りだし、室温に戻します。
2. 二次希釈液を入れたディスペンサーの目盛りを 3.9mL にセットし、ポンプを押し、最初の 2 押し分は廃棄します。
3. テンポ検体登録ステーションにログインします。
4. 検体登録ステーションの画面表示に従って、検体名をキーボードから入力するか、バーコードリーダーで読み取ります。
5. ディスペンサーを用いて、培地ボトル 1 本につき 3.9mL の二次希釈液を加えます。
6. 滅菌ピペットを用いて、テンポバッグ側面フィルター内から濾液を 0.1mL とり、5. の培地ボトルに加え、ボルテックスミキサーで約 5 秒間攪拌します。得られた 4mL の溶液は、検体の 400 倍希釈液にあたります。

7. 培地ボトル 1 本につきカード 1 枚を、**トランスファーチューブの先端に触れないよう**に取り出します。カードに表示されているコード(色と記号)と培地ボトルのコードと合致していることをチェックしてください。
8. 検体登録ステーションの画面表示に従って、培地ボトル及びカードのバーコードを読み取ります。これにより、4. でエントリーした各検体と、使用する培地ボトル及びカードをリンクさせます。
9. 培地ボトルをフィリングラックに置きます。培地ボトルの向かい側のスロットにカードを差し込みます。このとき、カードに付されたトランスファーチューブの先が培地ボトルに入るようにします。ラックには 6 組まで培地ボトルとカードをセットすることができ、カードは 1 枚から 6 枚まで同時に分注することができます。
10. ラックをテンポフィルターにセットし、分注サイクルをスタートさせます。培地ボトルの内容物はすべてカードに吸引されます。分注が終了すると、テンポフィルターがトランスファーチューブを切断し、密封します。これらのすべての動作は自動的に行われ、3 分間で完了します。分注サイクルは全ての試験項目に共通で、異なる試験項目のカードへの分注を同時に行うことができます。
11. フィリングラックをテンポフィルターから抜き取り、培地ボトルに内容物が残存していないことを確認します。カードを抜き取り、培養ラックに移動します。カードのラベルが操作者の方(ラックの取っ手の方向)に向くように、培養ラックのスロットにカードを挿入します。同一温度で培養するカードはまとめて同じラックに入れてください。各培養ラックは 20 枚までカードを入れることができます。スロットとスロットの間にカードを挿入しないでください。
12. 使用済みの培地ボトルとトランスファーチューブは、適切な容器に廃棄してください。
13. EN ISO 4833 と同等の性能を得るため、カードを $30 \pm 1^\circ\text{C}$ で選択した試験モードで培養します(1)。

注：培養時間は、テンポリーダーソフトウェアにより管理されます。コンピュータはカードのバーコード読み取りから培養開始までの時間の理論値を 15 分と設定しています。実際の時間が 15 分より長い場合(2 時間を超えないようにしてください)は、超過分の時間はテンポリーダーソフトウェアにより表示される培養の残り時間に追加します。読み取りは、コンピュータ設定されている制限時間以内に実施するようにしてください。

カードの読み取りと培養の終了

1. リーディングステーションにログインします。
2. 読み取りをさせるカードを搭載した培養ラックをリーダーに挿入します。リーダーは各カードのバーコードを読み取り、ウェルから発生する蛍光を読み取ります。その際、自動的に検体のタイプ、希釈率、菌数測定結果を検体番号に関連付けます。培養後のテンポ AC カードの読み取りは、 $2-8^\circ\text{C}$ で保存することにより最大 48 時間遅らせることが可能です。この場合、カードを冷蔵庫から取り出し、約 5-15 分間試験室に放置し、室温にもどしてからリーダーに挿入してください。冷蔵管理とタイプの実行は、**TEMPO Admin** で事前に設定することができます。得られた結果に、「本カードの読み取り開始は遅すぎます」という注釈が付記されますが、カードは冷蔵されていることを示すメッセージに置き換わります。

3. 結果の表示: リーディングステーションの画面に、検体 1g 又は 1mL あたりの **colony forming units(CFU)** 数が、検体 ID、試験項目、試験日とともに表示されます。
4. リーディングステーションの画面にて、試験成績をプリントアウト又はユーザーのラボ情報管理システム (**Laboratory information management system (LIMS)**) に転送することができます。さらに、過去の試験成績を参照することも可能です。
5. 試験が終了したら、カードをラックから取り出し、適切な容器に廃棄してください。

環境菌試験

検体の種類

本試験法は、綿棒、クリーニングワイプ、工程用水、粉塵、家畜屠殺環境など各種の環境由来検体に適用できます。その他の環境由来検体を試験する場合は、各施設で本プロトコルまたは他のプロトコルの有効性を確認してください。

検体の準備

一次及び二次希釈液を室温に戻します ($18 - 25^\circ\text{C}$)
(“提供はされないが、必要な材料と試薬”の章で推奨されている希釈液リストを参照)

中和剤入り希釈液を含む採取キットを用いる場合は、希釈液が“提供はされないが、必要な材料と試薬”のリストに含まれていることを確認してください。リストに含まれていない場合は、最初に採取キットの有効性を確認してください。

環境菌試験の操作手順例

ふき取りに使用した綿棒を、直ちに 10mL の一次希釈液の入った試験管に直接、移してください。これが、10 倍希釈液(一次希釈)となります。希釈液中で綿棒を注意深く振り、均質になるように混和します。試験管内部の縁で綿棒を回転させ溶液を搾り出してください。検体採取面あたり $10 \sim 4.9 \times 10^4$ CFU の測定範囲となる 1/40 希釈での試験を推奨します。希釈率は予想される検体の汚染度により変更することができます。

1. 必要な本数の培地ボトル(1 検体につき 1 本)を取りだし、室温に戻します。
2. 二次希釈液を入れたディスペンサーの目盛りを 3mL にセットし、ポンプを押し、最初の 2 押し分は廃棄します。
3. テンポ検体登録ステーションにログインします。
4. テンポ検体登録ステーションの画面表示に従って、検体名をキーボードから入力するか、バーコードリーダーで読み取ります。
5. ディスペンサーを用いて、培地ボトル 1 本につき 3mL の二次希釈液を加えます。
6. 検体のふき取りを行った溶液が入っている試験管から滅菌ピペットを用いて、濾液を 1mL とり、5. の培地ボトルに加え、ボルテックスミキサーで約 5 秒間攪拌します。得られた 4mL の溶液は、検体採取を行った環境由来検体の 1/40 希釈液にあたります。
7. テンポソフトウェアの希釈率を 1/40 に変更して下さい。
8. この後の操作手順は、「食品検体試験の操作手順」の 7 から 13 を参照してください。

試験結果の判定法

読み取りが終了すると、コンピュータにより結果の分析が自動的に行われ、陽性ウエルを検出します。各サイズのウエルにおける陽性数及び検体の希釈率より、MPN 表を利用して、検体 1g 又は 1mL あたりの一般生菌数を CFU で表示します。

精度管理

テンポシステム専用試薬については、製造の各段階において、系統的に精度管理を実施しています。各施設において精度管理を行う場合、下記の菌株の使用を推奨します：

Escherichia coli ATCC® 25922™
Bacillus subtilis ATCC® 6633™

精度管理に推奨される方法：

- 培養はすべて 30±1℃で行ってください。
- トリプケースソイ寒天培地を用いて 24 時間培養したコロニーをとり、ペプトン水に懸濁させ、デンシマットを用いて、マクファーランド濁度 0.4 から 0.8 に調整します。これはおよそ *E. coli* 10⁹ CFU/mL 及び *B. subtilis* 10⁷ CFU/mL に相当します（「本品を使用する際に必要な試薬又は器具」の項参照）。菌濃度が理論上およそ 10²CFU/mL となるまで、ペプトン水で 10 倍希釈を繰り返します。そこで、菌液 1mL をとり、培地ボトルに接種します。培地ボトル内の粉末培地は、あらかじめ 3mL の滅菌精製水で溶解しておきます。
- テンポソフトウェアで希釈率 1/4 設定にするため、デフォルト値を”4”と入力してください。
- “NO unit”を選択することによりテンポソフトウェアの既定ユニットを修正します。
- 培地ボトル 1 本の内容物を 1 枚のカードに分注し、培養します。
- 同時に、10³ CFU/mL の菌液 0.1mL をトリプケースソイ寒天培地に塗抹、培養し、カードに接種した菌液の濃度を確認します。
- 培養後、カードを読み取ります。
- 寒天培地での試験において、培養終了後、コロニー数を計測します。

参考正常値：

下記の数式により R 値を算出してください。

$$R = \frac{\text{テンポ試験結果}}{\text{TSA上コロニー数}}$$

TSA :トリプケースソイ寒天培地

R は 0.1 ~ 10 の間に入る

試験の結果、菌数が予期した数値と乖離しているときは、ビオメリュー社にご連絡ください。

ただし、各国又は地域の標準法に則って、精度管理を実施する場合は、各施設の責任において実施してください。

35℃における BAM 参照方法 (32℃における SMEDP 参照方法) (2) と同等の結果を得るための操作方法

詳細については、テンポシステムユーザーズマニュアルを参照してください。

検体	試験モード
全ての食品および製造環境 (標準プロトコール)	22-28 時間

食品検体試験の操作手順

たとえば、40 倍希釈液を作成すると、10 から 4.9×10⁴ CFU/g の生菌数の計数が可能となります。予想される生菌数レベルに応じて希釈率を変更してください。1 ページに記載の希釈液リストが使用可能です。

1. 必要な本数の培地ボトル(1 検体につき 1 本)を取りだし、室温に戻します。
2. 二次希釈液を入れたディスペンサーの目盛りを 3mL にセットし、ポンプを押し、最初の 2 押し分は廃棄します。
3. テンポ検体登録ステーションにログインします。
4. 検体登録ステーションの画面表示に従って、検体名をキーボードから入力するか、バーコードリーダーで読み取ります。
5. ディスペンサーを用いて、培地ボトル 1 本につき 3mL の二次希釈液を加えます。
6. 滅菌ピペットを用いて、テンポバッグ側面フィルター内から濾液を 1mL とり、5. の培地ボトルに加え、ボルテックスミキサーで約 5 秒間攪拌します。得られた 4mL の溶液は、検体の 40 倍希釈液に相当します。
7. 培地ボトル 1 本につきカード 1 枚を、トランスファーチューブの先端に触れないように取り出します。カードに表示されているコード(色と記号)と培地ボトルのコードと合致していることをチェックしてください。
8. 検体登録ステーションの画面表示に従って、培地ボトル及びカードのバーコードを読み取ります。これにより、4. でエントリーした各検体と、使用する培地ボトル及びカードをリンクさせます。
9. 培地ボトルをフィリングラックに置きます。培地ボトルの向かい側のスロットにカードを差し込みます。このとき、カードに付されたトランスファーチューブの先が培地ボトルに入るようにします。ラックには 6 組まで培地ボトルとカードをセットすることができ、カードは 1 枚から 6 枚まで同時に分注することができます。
10. ラックをテンポフィルターにセットし、分注サイクルをスタートさせます。培地ボトルの内容物はすべてカードに吸引されます。分注が終了すると、テンポフィルターがトランスファーチューブを切断し、密封します。これらのすべての動作は自動的に行われ、3 分間で完了します。分注サイクルは全ての試験項目に共通で、異なる試験項目のカードへの分注を同時に行うことができます。
11. フィリングラックをテンポフィルターから抜き取り、培地ボトルに内容物が残存していないことを確認します。カードを抜き取り、培養ラックに移動します。カードのラベルが操作者の方(ラックの取っ手の方向)に向くように、培養ラックのスロットにカードを挿入します。同一温度で培養するカードはまとめて同じラックに入れてください。各培養ラックは 20 枚までカードを入れることができます。スロットとスロットの間にカードを挿入しないでください。
12. 使用済みの培地ボトルとトランスファーチューブは、適切な容器に廃棄してください。
13. カードを 22-28 時間培養します。
 - －AOAC 法 966.23 に従い入手したデータと同じレベルの性能を入手するために 35±1℃
 - －日常食品の検査に関する標準法 (SMEDP) と同じレベルの性能を入手するために 32±1℃(2)。

AOAC オフィシャルメソッド 966.23 および SMEDP 法 (2)に準拠した試験と同等の性能を得るためのプロトコール

AOAC での評価には、次の異なる食品カテゴリーの食品検体が含まれています。

- 肉類 (生豚挽肉、加工ローストビーフ)
- 鶏肉類 (生鶏挽肉、グリルドチキン)
- 魚および水産品 (生白身魚、加熱加工後冷凍魚)
- 果物および野菜 (新鮮果物サラダ、新鮮トマト)
- 乳製品 (低温殺菌牛乳、バニラアイスクリーム)
- その他食品 (アーモンド、殺菌卵、ドライオニオン)
- 飼料 (ドライペットフード)
- 環境 (ステンレスの表面)

注：培養時間は、テンポリーダーソフトウェアにより管理されます。コンピュータはカードのバーコード読み取りから培養開始までの時間の理論値を 15 分と設定しています。実際の時間が 15 分より長い場合(2 時間を超えないようにしてください)は、超過分の時間をテンポリーダーソフトウェアにより表示される培養の残り時間に追加します。読み取りは、コンピュータ設定されている制限時間以内に実施するようにしてください。

カードの読み取りと培養の終了

1. リーディングステーションにログインします。
2. 読み取りをさせるカードを搭載した培養ラックをリーダーに挿入します。リーダーは各カードのバーコードを読み取り、ウエルから発生する蛍光を読み取ります。その際、自動的に検体のタイプ、希釈率、菌数測定結果を検体番号に関連付けします。培養後のテンポ AC カードの読み取りは、2-8°Cで保存することにより最大 48 時間遅らせることが可能です。この場合、カードを冷蔵庫から取り出し、約 5-15 分間試験室に放置し、室温にもどしてからリーダーに挿入してください。冷蔵管理とタイプの実行は、**TEMPO Admin** で事前に設定することができます。得られた結果に、「本カードの読み取り開始は遅すぎます」という注釈が付記されますが、カードは冷蔵されていることを示すメッセージに置き換わります。
3. 結果の表示: リーディングステーションの画面に、検体 1g 又は 1mL あたりの colony forming units(CFU)数が、検体 ID、試験項目、試験日とともに表示されます。
4. リーディングステーションの画面にて、試験成績をプリントアウト又はユーザーのラボ情報管理システム (Laboratory information management system (LIMS)) に転送することができます。さらに、過去の試験成績を参照することも可能です。
5. 試験が終了したら、カードをラックから取り出し、適切な容器に廃棄してください。

環境菌試験

検体の種類

本試験法は、予め湿らせた綿棒により、器具、調理台または手のふき取り、クリーニングワイブやスポンジによる調理台のふき取り試験に適用できます。その他の環境由来検体を試験する場合は、各施設で本プロトコールまたは他のプロトコールの有効性を確認してください。

検体の準備

ふき取りに使用した綿棒を、直ちに所定量の一次希釈液の入った試験管に直接、移してください。これが一次希釈となります。

環境菌試験の操作手順例

ふき取りに使用した綿棒を、直ちに 10mL の一次希釈液の入った試験管に直接、移してください。これが、10 倍希釈液(一次希釈)となります。希釈液中で綿棒を注意深く振り、均質になるように混和します。試験管内部の縁で綿棒を回転させ溶液を搾り出してください。検体採取面あたり $10 \sim 4.9 \times 10^4$ CFU の測定範囲となる 1/40 希釈での試験を推奨します。希釈率は予想される検体の汚染度により変更することができます。

1. 必要な本数の培地ボトル(1 検体につき 1 本)を取りだし、室温に戻します。
2. 二次希釈液を入れたディスペンサーの目盛りを 3mL にセットし、ポンプを押し、最初の 2 押し分は廃棄します。
3. テンポ検体登録ステーションにログインします。
4. テンポ検体登録ステーションの画面表示に従って、検体名をキーボードから入力するか、バーコードリーダーで読み取ります。
5. ディスペンサーを用いて、培地ボトル 1 本につき 3mL の二次希釈液を加えます。
6. 検体のふき取りを行った溶液が入っている試験管から滅菌ピペットを用いて、濾液を 1mL とり、5. の培地ボトルに加え、ボルテックスミキサーで約 5 秒間攪拌します。得られた 4mL の溶液は、検体採取を行った環境由来検体の 1/40 希釈液にあたります。
7. この後の操作手順は、「食品検体試験の操作手順」の 7 から 13 を参照してください。

試験結果の判定法

読み取りが終了すると、コンピュータにより結果の分析が自動的に行われ、陽性ウエルを検出します。各サイズのウエルにおける陽性数及び検体の希釈率より、MPN 表を利用して、検体 1g 又は 1mL あたりの一般生菌数を CFU で表示します。

精度管理

テンポシステム専用試薬については、製造の各段階において、系統的に精度管理を実施しています。各施設において精度管理を行う場合、下記の菌株の使用を推奨します:

Escherichia coli ATCC® 25922™
Bacillus subtilis ATCC® 6633™

精度管理に推奨される方法:

- 培養はすべて $35 \pm 1^\circ\text{C}$ で行ってください。
- トリプケースソイ寒天培地を用いて 24 時間培養したコロニーをとり、ペプトン水に懸濁させ、デンシマットを用いて、マクファーランド濁度 0.4 から 0.8 に調整します。これはおよそ *E. coli* 10^8 CFU/mL 及び *B. subtilis* 10^7 CFU/mL に相当します (「本品を使用する際に必要な試薬又は器具」の項参照)。菌濃度が理論上およそ 10^2 CFU/mL となるまで、ペプトン水で 10 倍希釈を繰り返します。そこで、菌液 1mL をとり、培地ボトルに接種します。培地ボトル内の粉末培地は、あらかじめ 3mL の滅菌精製水で溶解しておきます。
- テンポソフトウェアで希釈率を 1/4 設定にするため、デフォルト値“4”と入力してください。
- “NO unit”を選択することによりテンポソフトウェアの既定ユニットを修正します。
- 培地ボトル 1 本の内容物を 1 枚のカードに分注し、培養します。
- 同時に、 10^3 CFU/mL の菌液 0.1mL をトリプケースソイ寒天培地に塗抹、培養し、カードに接種した菌液の濃度を確認します。

- 培養後、カードを読み取ります。
- 寒天培地での試験において、培養終了後、コロニー数を計測します。

参考正常値:

下記の数式により R 値を算出してください。

$$R = \frac{\text{テンポ試験結果}}{\text{TSA上コロニー数}}$$

TSA : トリプケースソイ寒天培地

R は 0.1 ~ 10 の間に入る

試験の結果、菌数が予期した数値と乖離しているときは、ビオメリュー社にご連絡ください。

ただし、各国又は地域の標準法に則って、精度管理を実施する場合は、各施設の責任において実施してください。

操作上の留意事項

- カードへの菌液の分注が正しく行われていない場合(空のウェルがあるとき、又は培地ボトルに菌液が残存しているとき)は、誤った結果が得られることがあります。例えば、「**本品を使用する際に必要な試薬又は器具**」欄で推奨しているもの以外のフィルターバックを使用したときなどです。
- 添付文書に記載のとおり検体の調製、保存を行わない場合は、誤った結果が得られることがあります。
- **警告**: 本試験については膨大な食品マトリクスを用いて評価を行っています。しかしながら、製品及び製造工程は多岐にわたるため、各検査室において試験する食品成分が結果に影響を与えることがないことを確認してください。とくに、
 - 一次希釈検体が強度に着色しているとき(フルーツピューレ、ココア等)、蛍光シグナルに影響を及ぼす可能性があります。このような検体については、1/400 以上の希釈を推奨します。
- ビタミンCを多く含む食品や生の二枚貝のように、強力な還元活性を有する食品に関しては、40 倍以上の希釈率が推奨されます。
- 本品は、標準プロトコールに示した通り、好気中温性細菌叢の総生菌数の計測が可能ですが、ある種の乳酸菌など発育の遅い菌については、標準プロトコールの培養条件は必ずしも最適ではありません。発酵食品の試験を行う場合は、予め本品での有用性を確認して下さい。

詳細は、テンポユーザーズマニュアルをご参照ください。

様々な食品及び環境サンプルの好気中細菌叢の総生菌数に関する TEMPO AC 試験は、2012 年 12 月に AOAC Research Institute により検証されました。
(証明書番号 121204).



121204 - 12/19/12
PERFORMANCE TESTED METHOD
Certified by AOAC Research Institute
www.aoc.org

廃棄

未使用の試薬類は、非有害物質として廃棄することができます。








使用済みの試薬類及び他の消耗品類は、感染の危険性を考慮して、適正に廃棄してください。

廃棄物及び汚染水の排水については、各施設の責任において、それらの性質及び有害性の度合いに応じ、適正に取り扱いかつ処理してください。

参考文献

1. International Standard EN ISO 4833 (2003) - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Colony-count technique at 30°C.
2. American Public Health Association (2004) 17th Edition. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, APHA Washington DC.
3. Cochran W.G. Estimation of bacterial densities by means of the "Most Probable Number" (1950) Biometrics 6, 105-116.
4. Woodward R.L. How probable is the most probable number ? (1957) J. Am. Water Works Assoc., 49, 1060,1068.
5. International Standard EN ISO 6887-5 (2010) Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 5 : Specific rules for the preparation of milk and milk products.
6. Bacteriological Analytical Manual Online, BAM Chapter 3 "Aerobic Plate Count" (January 2001).
7. Bacteriological Analytical Manual Online BAM Reagent R11 (January 2011)
8. Bacteriological Analytical Manual Online BAM media M79 (January 2011)
9. International Standard EN ISO 6887-4 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products.
10. International Standard EN ISO 7218 – Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examinations.

シンボルマーク

シンボル	意味
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	添付文書を参照
	<n>回分の試験を含む

お問い合わせ先

シスメックス株式会社
 〒141-0032 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
 TEL 0120-022-328

シスメックス・バイオメリュー株式会社
 〒141-0032 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
 TEL 03-6834-2666 (代表)

包装単位

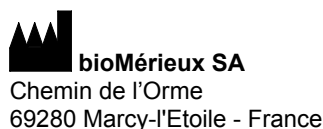
テンポ AC キット……48 回用

製造販売元：[シスメックス・バイオメリュー株式会社]
 [〒141-0032 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]

BIOMERIEUX、青いロゴ、及び TEMPO は、bioMérieux 又はその子会社ないしは関係会社に帰属する使用中、申請中ないし登録済の商標であります。

ATCC は American Type Culture Collection が所有している商標です。

その他の名称や商標はそれぞれの所有者が所有しています。



RCS LYON 673 620 399
 Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
 www.biomerieux.com

バイオメリューロゴ及び TEMPO は、バイオメリューグループの登録商標です。