

カタログコード:711263-5

ブリリアントグリーン寒天培地

BRILLIANT GREEN AGAR

OXOID コード:CM0263

2

CULTURE MEDIA

◆ 組成 (培地1Lあたり)

プロテオースペプトン	10.0	g
酵母エキス	3.0	g
乳糖	10.0	g
ショ糖	10.0	g
塩化ナトリウム	5.0	g
フェノールレッド	0.08	g
ブリリアントグリーン	12.5	mg
寒天	12.0	g

pH 6.9±0.2

◆ 調製方法

本品50gを1Lの蒸留水に懸濁し、沸騰するまで加熱して溶解する。121℃で15分間、高圧蒸気滅菌する。

◆ 用途・特徴

本培地はKristensenら¹⁾により*Salmonella*属の選択分離培地として報告されたのが最初である。Kauffmann²⁾はそれを糞便やその他の臨床材料、また食品や乳製品から*Salmonella*属の分離と鑑別のための高い選択性を与える処方へ改良した。本培地は*S. typhi*または*Shigella*属の分離には適してなく、そのような際はデオキシコレートクエン酸寒天培地(Hynes)(CM227)やヘクトエン腸内細菌寒天培地(CM419)又はXLD寒天培地(CM469)のような選択平板培地を併用すべきである。亜硫酸ピスマス寒天培地(CM201)は特に*Salmonella typhi*の分離に推奨されている。

本培地に継代する前に選択ブイオンによる前増菌を行なえば、*Salmonella*属の分離率が高まる。テトラチオネート基礎ブイオン(CM29)、テトラチオネート液体培地USA(CM671)、セレナイト基礎ブイオン(CM395)及びミューラーカフマンテトラチオネート基礎ブイオン(CM343)を本培地と併用することもできる。ブリリアントグリーン寒天培地はAPHA^{3,4)}およびAOAC⁵⁾によって推奨されている培地に適合する。

本品にスルホンアミドを添加すれば、*Salmonella*属の分離に有益である⁶⁾。本培地1L当たりスルファピリジン1.0g、またはスルファジアジン0.8gを加え、一般的な方法で滅菌する。

◆ 保存方法・使用期限

粉末は30℃以下の乾燥保存でラベル表示期限まで使用可能。調製した培地は2~10℃に保存する。

◆ 方法

*Salmonella*属を糞便ないし類似の検体で検査する場合。

1. 検体を本培地に濃厚に塗抹する。同時に、他の選択培地やセレナイトブイオンとテトラチオネートブイオンにも接種する。
2. 本培地を35℃で18~24時間培養する。
3. 平板を観察し、血清学的方法などの異なる方法で疑わしいコロニーを同定する。
4. もし乳糖非分解菌が初代分離培地上にみられない場合は、増菌したものを本培地と他の培地に接種し、3に示した手順を行なう。

食品からの検査

1. 25gの食品検体4検体を各々75mLの緩衝ペプトン水(CM509)で、35℃、4~6時間前増菌する。
2. 各検体に2倍濃度セレナイトシスチンブイオン(CM699)75mLを加え、43℃、24時間培養する。
3. 本培地と亜硫酸ピスマス寒天培地(CM201)に塗抹する。
4. これらの平板培地を35℃にて、本培地は24時間、亜硫酸ピスマス寒天培地は48時間培養する。
5. *Salmonella*属の特徴のあるコロニーがみられたら、生化学的および血清学的方法で同定する。

食品中の*Salmonella*属を算定する場合

均一にした検体の10倍段階希釈したものを、2倍濃度のセレナイトブイオンが入った試験管に等量添加する。培養後、各試験管から1白金耳分の培養液をとり、亜硫酸ピスマス寒天培地と本培地に塗抹する。

典型的な*Salmonella*属のコロニーを同定し、検体1gあたりの*Salmonella*属の最確数を*Salmonella*属が分離培養で認められた最も高い希釈濃度の検体3本で算定する。

乳製品からの*Salmonella*属検査³⁾

乳や乳製品、粉乳、チーズ、卵および卵加工製品では、増菌培養の有無にかかわらず、本培地が他の腸内細菌選択用培



地と共に利用される。

コロニーの特徴

乳糖/シヨ糖非分解菌

赤-ピンク-白色の濁ったコロニーに光沢のある赤色帯が見られる。このコロニー形態で最も可能性が高いのが *Salmonella* 属である (但し、*S. typhi* を除く)

Proteus 属および *Pseudomonas* 属

赤く小さなコロニーとして見られる。

乳糖/シヨ糖分解菌

黄色から黄緑色のコロニーで周縁部が濃厚な黄緑色を呈する。これらには *E. coli* や *Klebsiella* 属 / *Enterobacter* 属がある。

◆ 品質管理

陽性コントロール

Salmonella typhimurium ATCC 14028

陰性コントロール

Escherichia coli ATCC 25922

Proteus vulgaris ATCC 13315

◆ 注意

乳糖発酵 *Salmonella* 属 (*S. arizona*) が、食品中に存在する可能性がある⁷⁾。

Salmonella typhi および *Shigella* 属は本培地に発育しない事があるため、他の培地を使用すること。

Proteus 属、*Citrobacter* 属および *Pseudomonas* 属は、小さな赤色コロニーを形成し腸管病原菌のコロニーに類似する。

◆ 参考文献

1. Kristensen M., Lester V. and Jurgens A. (1925) Brit. J. Exp. Pathol. 6. 291-297.
2. Kauffman F. (1935) Seit. F. Hyg. 177. 26-34.
3. American Public Health Association (1976) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA Inc. Washington D.C.
4. American Public Health Association (1978) Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 14th Edn. APHA Inc. Washington D.C.
5. Association of Official Analytical Chemists (1978) Bacteriological Analytical Manual 5th Edn. AOAC. Washington D.C.
6. Osborn W. W. and Stokes J. L. (1955) Appl. Microbiol. 3. 295-301.
7. Harvey R. W. S., Price T. H. and Hall L. M. (1973) J. Hyg. Camb. 71. 481-486.