

カタログコード:

# EEブイヨン

EE BROTH

OXOID コード:CM0317

## 組成 (培地1Lあたり)

ペプトン	10.0	g
ブドウ糖	5.0	g
リン酸水素二ナトリウム (無水)	6.45	g
リン酸二水素カリウム	2.0	g
精製ウシ胆汁酸	20.0	g
ブリリアントグリーン	13.5	mg
pH 7.2±0.2		

## 調製方法

本品43.5gを1Lの精製水に溶解し250mLの容器に100mLずつ分注する。100℃で30分間、加熱し速やかに流水で冷却する。本培地は熱に弱いので注意すること。本培地を高圧蒸気滅菌してはいけない。

## 用途・特徴

EEブイヨン (Buffered glucose-Brilliant Green-Bile broth) は食品<sup>1)</sup> および動物飼料原料中<sup>2)</sup> の腸内細菌の増菌培地として推奨されている。本培地はブリリアントグリーンおよび胆汁酸塩が含まれているため、マンニトブイヨン<sup>3)</sup> や乳糖ブイヨン<sup>4)</sup> のような他の非選択培地よりも腸内細菌以外の細菌に対する抑制能が強い。

腸内細菌の算定は、食品および医薬品の衛生上の品質を監視する上で非常に重要であり、検査方法の信頼性は損傷菌の回復能に依存する。損傷菌は乾燥、低pHなど好ましくない環境で発生することがある<sup>5)</sup>。

トリプトンソーヤブイヨン (CM0129) で25℃、2時間振盪培養した後、本ブイヨンで増菌する。この手順は乾燥食品<sup>6)</sup>、動物飼料<sup>7)</sup> および半加工食品<sup>8)</sup> に勧められる。特定の乾燥製品で2時間以上の培養が必要な場合もあるが、8時間を越えてはならない。

胆汁酸塩の違いにより少数の腸内細菌を抑制することがあるが、本ブイヨンはこれを改善するよう処方されている。精製ウシ胆汁酸の含有でこれらの問題は回避でき、その予備検定では約1CFUを培地に接種し発育を確認することにより行える<sup>9),10)</sup>。

加工食品の細菌学的評価には、全ての腸内細菌が指標菌と

して利用できる<sup>10)</sup>。通常の大腸菌群試験では見落とししてしまう乳糖非発酵菌、ガス非産生乳糖発酵菌または乳糖遅発酵性腸内細菌が存在する場合でも検出可能である。これらの問題を解決するために、これまで乳糖培地はブドウ糖含有培地に置き換えられてきた。

Mosserら<sup>1)</sup> は大腸菌群の結果は陰性であったにも関わらず、*Salmonella*で汚染された種々の食品に関する論文の中でいくつかの例を引用している。Mosser<sup>9)</sup> の例には、*E. coli*血清型O124に汚染されたフランス産カビ発酵ソフトチーズを原因とする集団下痢症の大発生が含まれている。この細菌は乳糖非発酵であったため大腸菌群試験では検出されなかったが、腸内細菌のブドウ糖迅速発酵試験を行い初めて確認された。

本ブイヨンはバイオレットレッド胆汁酸ブドウ糖寒天培地 (CM485) と共に用いるべきである。腸内細菌の中で特定の細菌が求められる場合は、デオキシコレートクエン酸寒天培地 (CM35)、ブリリアントグリーン寒天培地 (CM329) またはマッコンキー寒天培地 (CM7) などの乳糖鑑別培地に接種して乳糖非発酵菌や遅発酵菌を検出しなければならない。細菌の検出に検体は10g以上必要である。

## 方法

1. 食品検体をトリプトンソーヤブイヨン (CM129) で1:10に希釈して25℃、2~8時間培養し、損傷菌を回復させる。この時にトリプトンソーヤブイヨンの深さが1cm以上にならないようにすること。ブイヨン中のものを拡散させるためにフラスコを30秒間隔で時計回り、反時計回りに交互に廻して攪拌する。これを連続して3回行う。
2. 損傷菌の回復段階が終わったら、ここに10倍量の本培地を添加する。
3. 1と同様に攪拌する。検体量が多いために損傷菌回復の培地が多い場合は、2倍濃度にした本培地を等量加えること。
4. 対象となる腸内細菌によって以下の様に培養する。  
耐熱性菌: 44℃で18時間培養  
中温菌: 32℃で、24~48時間培養  
低温菌: 4℃で10日間培養
5. 試験管を観察し、濁りや色が黄緑に変わっている場合は腸内細菌の存在が疑われる。

バイオレットレッド胆汁酸ブドウ糖寒天培地 (CM485) 若しくは乳糖発酵、乳糖非発酵の状態を確認するための乳糖

を含む培地に接種する。分離されたコロニーはさらに別の方法で同定する。

### ◆ 保存方法・使用期限

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2～8℃に保存する。

### ◆ 品質管理

#### 陽性コントロール

*Yersinia enterocolitica* NCTC 10460

*Escherichia coli* ATCC 25922

#### 陰性コントロール

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

### ◆ 注意

特に2倍濃度の培地は過熱を避けること。

### ◆ 参考文献

1. Mossel D. A. A., Vissar M. and Cornellisen A. M. R. (1963) J. Appl. Bact. 26(3). 444-452.
2. Van Schothorst M., Mossel D. A. A., Kampelmacher E. H. and Drion E. F. (1966) Vet. Med. 13(3) 273-285.
3. Taylor W. I. (1961) Appl. Microbiol. 9. 487-490.
4. North W. R. (1961) Appl. Microbiol. 9. 188-195.
5. Mossel D. A. A. and Harrewijn G. A. (1972) Alimenta 11. 29-30.
6. Mossel D. A. A. and Ratto M. A. (1970) Appl. Microbiol. 20. 273-275.
7. Mossel D. A. A., Shennan Jean L. and Vega Clare (1973) J. Sci. Fd. Agric. 24. 499-508.
8. Mossel D. A. A. and Ratto M. A. (1973) J. Fd. Technol. 8. 97-103.
9. Mossel D. A. A., Harrewijn G. A. and Nesselrooy-van Zadelhoff C. F. M. (1974) Health Lab. Sci. 11. 260-267.
10. Richard N. (1982) in Quality Assurance and quality control of microbiological culture media. Ed. J.E.L. Corry. G.I.T. - Verlag Darmstadt. pp 51-57.
11. Mossel D. A. A. (1973) Food R. A. Technical Circular no 526, February 1973.