

ブリリアントグリーン寒天培地 (変法)

BRILLIANT GREEN AGAR (MODIFIED)

OXOID コード:CM0329

組成 (培地1Lあたり)

ペプトン	10.0	g
ラブ-レムコ末	5.0	g
酵母エキス	3.0	g
リン酸水素二ナトリウム	1.0	g
リン酸二水素ナトリウム	0.6	g
乳糖	10.0	g
ショ糖	10.0	g
フェノールレッド	0.09	g
ブリリアントグリーン	4.7	mg
寒天	12.0	g
pH 6.9±0.2		
スルファマンデレートサプリメント (SR87)		
1バイアルあたり: 500mL用		
スルファアセトアミドナトリウム	500.0	mg
マンデル酸ナトリウム	125.0	mg

調製方法

本品52gを1Lの蒸留水に懸濁し、沸騰するまで加熱して溶解する。50℃に冷却し、十分に攪拌した後シャーレに分注する。高圧蒸気滅菌してはいけない。

スルファマンデレートサプリメント (SR87) 1バイアルに5mLの滅菌蒸留水を添加し完全に溶解する。このとき泡立たないように注意する。約50℃に冷却した滅菌済みの本培地500mLに添加し、良く混和後シャーレに分注する。

用途・特徴

本培地は Utrechtにある Rijks Instituut voor de Volksgezondheid (国立公衆衛生協会) による処方^{1,2)} から開発された。

本培地はヨーロッパでは広く評価され、現在ではISO標準で用いられている³⁻⁵⁾。

本培地の利点は次の3つである。

- ・他の処方よりも大腸菌および*Proteus*属の抑制能が高い。
- ・ブリリアントグリーン寒天培地上で*Salmonella*属と類似のコロニーを呈する*Pseudomonas*属の発育を抑制する。

・*Salmonella*属は菌数が少ない場合でも抑制されない⁶⁾。

Watson と Walker⁷⁾ はスルファアセトアミド (1.0mg/mL) とマンデル酸 (0.25mg/mL) を組み合わせて本培地に添加した結果、汚染細菌の抑制能を強化する一方、ミュラーカフマンテトラチオネートブイオンから*Salmonella*属を最大限回収したことを示した。

下水や下水沈泥から*Salmonella*属を分離、計数するために使用されるOxoid社のスルファマンデレートサプリメント (SR87) は、Watson と Walkerの処方に基づいている^{1,7)}。

彼らは、はスルファアセトアミド (1.0mg/mL) とマンデル酸 (0.25mg/mL) を組み合わせて添加した本培地で43℃培養した結果、ミュラーカフマンテトラチオネートブイオンから*Salmonella*属が最大限回復したことを示した。

この方法⁷⁾ は、前処理された下水および下水沈泥から大きく損傷を受けた*Salmonella*属をも迅速かつ確実に分離するものである。

リン酸緩衝ペプトン (PBP) 水による下水の前増菌は、損傷を受けた*Salmonella*属の発育だけでなく、他の共雑菌の発育も促進するため、抗生物質加ブリリアントグリーン寒天培地が必要となる。ミュラーカフマンテトラチオネートブイオン自体は共雑菌の発育抑制は十分ではない。

選択性の高いブリリアントグリーン寒天培地の利点は、汚染菌に対する高い抑制力および偽陽性の発生が少ないことである。

この利点はFrickerらが、下水および下水汚染された水^{8,11)}、カモメの糞便⁹⁾ およびニフトリの検体^{10,12)} を、ラパポートブイオンで前増菌し、その増菌液をスルファアセトアミドナトリウムおよびマンデル酸ナトリウムを含有する本培地で培養することにより確認された。

Vassiliadisら¹³⁾ は、下水流出物の検査で*Proteus hauseri*の遊走を阻止するために、本培地 (変法) 1Lにデオキシコール酸ナトリウム (LP57) 2.5gを加えた。彼らは、はスルファアセトアミドよりもデオキシコール酸のほうが、広範囲の*Salmonella*属血清型の発育に影響することなく遊走を抑制する点で、すぐれていることを発見した。

方法

食品および飼料からの検査

EdelとKampelmacherが行なった方法²⁾の概要を以下に示す。

1. ミューラーカフマンテトラチオネートブイオン (CM343) に1/20量の食品検体を入れる。
2. よく攪拌した後、ブイオンの入ったフラスコを45℃の湯煎に15分間浸ける。
3. フラスコを43℃のインキューバータに移す。
4. 18～48時間後、このブイオンを本培地に塗抹する。この場合、ブイオンを1白金耳とり、2枚の直径9cmないし14cmの平板に塗り広げる。(1枚ごとに白金耳にブイオンをつけないようにする事)
5. 平板を35℃で18～24時間培養する。
6. *Salmonella*属の疑われる赤いコロニーを釣菌し、リジン脱炭酸ブイオン (CM308) とTSI寒天培地 (CM277) に接種する。これらの培地を35℃で18～24時間培養する。これらの培地上で*Salmonella*属陽性であれば、TSI寒天培地の表面に発育したコロニーでスライド凝集試験を行なう。

廃水の検査⁷⁾

1. 下水や廃水の検体を採取する。
2. ストマッカーないしホモジナイザーで検体を十分均一にする。
3. 10mLの検体を5検体35mLの緩衝ペプトン水 (CM509) に接種し、1mLの検体を5検体と0.1mLの検体を5検体10mLのペプトン水に接種する。35℃で一夜培養する。
4. 10mLの各培養検体を35mLのミューラーカフマンテトラチオネートブイオンに接種し、43℃で培養する。
5. 24時間ないし48時間培養した後、この培養液をスルファマンデレートサプリメント (SR87) を加えた本培地に接種する。
6. このプリリアントグリーン寒天培地を43℃で一夜培養する。
7. *Salmonella*属が疑われる赤いコロニーはさらに、検査を進める。
ここでのスルファマンデレートサプリメント (SR87) は、緩衝ペプトン水で復帰した多くの競合する雑菌を抑制する。

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℃保存する。

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

乳糖発酵性の*Salmonella*属は食品中に存在する可能性がある。
*Salmonella typhi*および*Shigella*属は、本培地に発育しない可能性がある。

*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. Edel W. and Kampelmacher E. H. (1968) Bull. Wld Hlth. Org. 39. 487-491.
2. Edel W. and Kampelmacher E. H. (1969) Bull. Wld Hlth. Org. 41. 297-306.
3. Anon. (1975) International Organization for Standardization. Meat and Meat products - detection of *Salmonella*. Ref. method ISO 3565-1975(E).
4. Anon. (1981) International Organization for Standardization. Microbiology - General guidance on methods for the detection of *Salmonella*. Ref. method ISO 6579-1981(E).
5. Anon. (1985) International Organization for Standardization. Milk and Milk products - detection of *Salmonella*. Ref. method ISO 6785-1985.
6. Read R. B. and Reyes A. L. (1968) Appl. Microbiol. 16. 746-748.
7. Watson U. C. and Walker A. P. (1978) J. Appl. Bact. 45. 195-204.
8. Fricker C.R. (1984) Zbl. Bakt. Hyg. Abt. I. Orig.B. 179. 170-178.
9. Fricker C.R. (1984) Int. J. Food Microbiol. 1. 171-177.
10. Fricker C.R. and Girdwood R.W.A. (1985) J. Appl. Bact. 58. 343-346.
11. Fricker C.R., Quail E., McGibbon L. and Girdwood R.W.A. (1985) J. Hyg. 95. 337-344.
12. Vassiliadis P., Trichopoulos J., Papadakis V. K. and Ch. Serie. (1979) Ann. Soc. belge. Med. trop. 59. 117-120.
13. Harvey R. W. S., Price T. H. and Hall L. M. (1973) J. Hyg. Camb. 71. 481-486.