

カタログコード:

バイオレットレッド胆汁ブドウ糖寒天培地

VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR

OXOID コード:CM0485

◆ 組成 (培地1Lあたり)

ペプトン	7.0	g
酵母エキス	3.0	g
塩化ナトリウム	5.0	g
胆汁酸塩No.3	1.5	g
ブドウ糖	10.0	g
ニュートラルレッド	0.03	g
クリスタルバイオレット	0.002	g
寒天	12.0	g
pH	7.4±0.2	

◆ 調製方法

本品38.5gを1Lの精製水に懸濁し、寒天が完全に溶解するまで加熱して溶解する。融解していない寒天がないことを確認する。十分に攪拌した後、シャーレに分注する。

◆ 用途・特徴

食品原料を検査へ

水検体から糞便汚染の指標となる大腸菌群を検出する方法を生の食品に応用してもあまり意味がない。食品の検査にはブドウ糖を分解しガス/酸を産生すると定義された腸内細菌のグループごとの検出が推奨されている^{1,2)}。これらのグループには大腸菌群に加えて乳糖非発酵性の*Salmonella*属、*Shigella*属と毒素産生性大腸菌が含まれる。また、大腸菌群より耐熱性で加熱処理工程の適切な指標となる*Klebsiella*属や*Citrobacter*属のような細菌も含まれる。

Mosselら³⁾は、食品中の腸内細菌総数検出の研究を行った。その結果、大腸菌群検出においては既存の培地にブドウ糖を添加することでその性能が向上することを発見した。彼らはクリスタルバイオレットニュートラルレッド胆汁乳糖寒天培地 (バイオレットレッド胆汁寒天培地CM107) にブドウ糖10g/Lを添加し、変法マッコンキーブドウ糖寒天培地を開発した。

Mosselら^{4,5)}はさらなる研究により、乳糖を除去した本培地を開発した。乳糖含有培地からの継代培養は、より正確な鑑別同定試験結果に支障をきたす場合がある。これに対して乳糖の除去は経済的であり、1Lあたりの粉末使用量も少な

くてすむ利点がある。

胆汁酸塩を含む培地は、腸内細菌に対し (損傷を受けていない細菌に対しても) 固有の毒性を持つ^{6,7,8,9,10,11)}。

市販されている6種類のバイオレットレッド胆汁寒天培地^{4,5)}は、腸内細菌の発育およびそれらの代謝の程度においてかなりの差が観察された¹²⁾。MosselらはOxoid社と共同で培地成分の調査を行ない、以下のような製品仕様を考案した。

1. 培地は透明感があり、十分な大きさのコロニーを形成し、腸内細菌の典型的なコロニーを再現性良く算定しなければならない。
2. 感度の指標菌として*Yersinia enterocolitica* (Serotype O3) を用いて固有の毒性によって嫌気的条件下での代謝試験¹³⁾を行なったとき、培地は十分な発育、酸産生、必要に応じ十分なガス産生を促進しなければならない。
3. 培地は典型的なコロニーの確認率 (腸内細菌として確認されたコロニー数を試験されたコロニー数で割る) が満足できるものでなければならない。

Oxoid社の本培地はこれらの基準を全て満たすように開発されたもので、ISOの勧告¹⁴⁾に従うものである。

◆ 方法

検体の希釈系列を作製する (少なくとも1本は1mLあたり100~200個含むように希釈する)。各希釈液の1mLを2枚の9cmシャーレに採る。47℃に冷却した培地15mLを加え、時計回りに3回、反時計回りに3回ゆっくり水平回転させる。

培地の固化後、同じ培地を10mL重層し、固化させる。シャーレを逆さまにし、回収する腸内細菌により42℃以上で18時間か、32℃で24~48時間または4℃で10日間培養する¹⁵⁾。

寒天を重層することで嫌気状態を確実にして、非発酵性グラム陰性菌の発育を抑制する。また腸内細菌のブドウ糖の発酵を促進して、周囲に紫色のハローを伴う、明瞭な紫色のコロニー形成を支持する。

コロニーサイズは普通1~2mmであるが、種々の環境に影響されるため赤色コロニーはすべて数えるべきである。これらのコロニーは、追加試験により確認を行わなければならない。

◆ 保存方法・有効期限

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℃で保存してなるべく早い時期に使用する。

◆ 品質管理

陽性コントロール

Escherichia coli ATCC 25922

陰性コントロール

Staphylococcus aureus ATCC 25923

◆ 注意

本培地は腸内細菌科に対する特異性は低い。例えば *Aeromonas* 属や *Yershinia* 属といった他の細菌が発育することがある。

24時間培養後には本培地の選択性が減少し、抑制を受けていた共雑菌が発育するようになる。

混釈培養の場合は培地調製後、直ちに使用するべきである。47℃まで冷却したら3時間内に使用すること。

◆ 参考文献

1. WHO Technical Report Series N.598 (1976) Geneva, p. 51.
2. Mossel D. A. A. (1958) Zbl. Bakt. I. Ref. 166. 421-432.
3. Mossel D. A. A., Mengerink W. H. J. and Scholts H. H. (1962) J. Bacteriol. 84. 381.
4. Mossel D. A. A., Eelderink I., Koopmans M. and van Rossem F. (1978) Lab. Practice 27. No.12. 1049-1050.
5. Mossel D. A. A., Eelderink I., Koopmans M. and van Rossem F. (1979) J. Food Protect. 42. 470-475.
6. Mossel D. A. A. (1978) Food Technol. Austral. 30. 212-219.
7. Kroninger D. L. and Banwart G. J. (1978) J. Food Sci. 43. 1328-1329.
8. Bridson E. Y. (1978-79) in `Van Monster tot Resultaat' Nederland Society for Microbiology. Wageningen, pp. 58-67.
9. Burman N. P. (1955) Proc. Soc. Water Treatm. Exam. 4. 10-20.
10. Mossel D. A. A. and Harrewijn G. A. (1972) Alimenta 11. 29-30.
11. Mossel D. A. A., Harrewijn G. A. and Nesselrooy-van Zadelhoff C. F. M. (1974) Health Labor. Sci. 11. 260-267.
12. Mossel D. A. A. (1971) Miscell. Papers Agricult. University Wageningen, The Netherlands 9. 29-39.
13. Mossel D. A. A., Eelderink I. and Sutherland J. P. (1977) Zbl. Bakt. I. Orig. A238. 66-79.
14. International Organization for Standardization: Meat and meat products - detection and enumeration of Enterobacteriaceae. ISO/DIS 5552. 1977.
15. Mossel D. A. A., van der Zee H., Hardon A. P. and van Netten P. (1986) J. Appl. Bact. 60. 289-295.