

カタログコード:

MLCB寒天培地

MLCB AGAR

OXOID コード:CM0783

組成 (培地1Lあたり)

ペプトン	10.0	g
酵母エキス	5.0	g
ラブ-レムコ末	2.0	g
塩化ナトリウム	4.0	g
マンニット	3.0	g
L-リジン塩酸塩	5.0	g
チオ硫酸ナトリウム	4.0	g
クエン酸アンモニウム鉄	1.0	g
ブリリアントグリーン	12.5	mg
クリスタルバイオレット	0.01	g
寒天	15.0	g
pH	6.8±0.2	

調製方法

本品49.0gを1Lの精製水に懸濁し、沸騰するまで加熱して溶解する。約50℃に冷却し十分に攪拌した後、シャーレに分注する。本培地を高圧蒸気滅菌してはいけない。

用途・特徴

本培地は、Inoueら¹⁾による糞便や食品中のサルモネラ選択分離培地の処方に基づいている。コロニーの外観が明瞭なため、少量の硫化水素産生株を容易に肉眼で観察できる。本培地で*Salmonella*属の最大の発育を得るにはMg²⁺の濃度が重要と考えられる。van Schothorstら²⁾は、本培地は調査に用いた*Salmonella*属のいずれの菌種も抑制しないことを報告した。

S. sendai、*S. berta*、*S. pullorum* や *S. senftenberg* のような、硫化水素非産生株の発生率が高い*Salmonella*属の血清型は、非定形の青白いコロニーを形成する。本培地中のブリリアントグリーンは *S. typhi* や *S. paratyphi A* に対し抑制作用を示すため、それらの菌には不適である。

本培地に検体を直接接種、あるいは増菌培養から接種してもよい。選択性は比較的弱く、汚染のひどい検体では培地の性能が損なわれることもある。そのため本培地を単独で使用すべきではない。

本培地はヒトの糞便中の*Salmonella*属分離用に、Modified

Semi-Solid Rappaport Vassiliadis (MSRV)での増菌後の分離平板培地として指定されている³⁾。

van Schothorstら²⁾は、本培地がRappaport-Vassiliadis (RV) 増菌ブイヨン(CM669)で増菌後の硫化水素産生*Salmonella*属の分離に非常にすぐれていることや、選択性はRVブイヨン増菌後にかなり高くなることを報告した。また彼らは汚染のひどい検体の場合は、ブリリアントグリーン寒天培地と本培地の併用を提唱した。

*Salmonella*属は硫化水素産生により、大きな紫-黒色のコロニーを形成する。マンニットがこの菌に利用され、結果としてpHの低下がリジンの脱炭酸を引き起こし、アルカリ化により黒色化を促進する。

本培地は乳糖発酵に依存しないため、乳糖発酵性*Salmonella*属 (*S. arizona*) の検査に推奨される。

硫化水素を殆どあるいは全く産生しない*Salmonella*属は、薄紫-灰色のコロニーを形成し、中央が黒い「牛の目」様のコロニーを形成することもある。こうした株の検出のためにはブリリアントグリーン寒天培地 (変法) (CM329) や亜硫酸ピスマス寒天培地 (CM201) を併用すべきである。

グラム陽性菌および殆どのグラム陰性菌は抑制されるが、一部の*Citrobacter*属は良好に発育し、*Salmonella*属と類似したコロニーを形成する。また一部の*Proteus*属が遊走することもある。

発育できる殆どの汚染菌が形成するコロニーは小さく無色である。

方法

使用前に寒天培地の表面を乾燥させる。

培地に検体または増菌培養液を濃厚に接種し、35℃で18~24時間培養する。

硫化水素産生性*Salmonella*属の典型的な大きな紫-黒色のコロニーを観察する。コロニー中央がクレーター状の大きな非定形の薄紫-灰色コロニーを形成する硫化水素非産生株を注意して観察する。

一部のものに黒い「牛の目」様が見られることもある。

*Salmonella*属と推定される全てのコロニーを釣菌して、生化学的および血清学的テストで確認する。

◻ 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℃で保存する。

◻ 品質管理

陽性コントロール

Salmonella virchow NCTC 5742

陰性コントロール

Escherichia coli ATCC 25922

◻ 注意

コロニー形態から、*Salmonella*属であると推定されたコロニーは、生化学的性状試験および免疫学的試験により確認すること。

他の腸内細菌用培地と同様で、コロニー形成を抑制されたまま生存している細菌や偶然に二次培養に釣菌されてしまうといったことがあるため、追加試験に移る前にコロニーの単一性に注意すべきである。

◻ 参考文献

1. Takao Inoue et al. (1968) Proceedings of the Japanese Society of Veterinary Science. Number 169. Jap. J. Vet. Sci. 30.
2. van Schothorst M., Renaud A. and van Beek C. (1987) Food Microbiol. 4. 11-18.
3. Aspinal S.T., Hindle M.A. and Hutchinson D.N. (1992) Eur. J. Clin. Microbiol. Inf. Dis. 11. 936-939.