

EC ブイヨン

EC BROTH

OXOID コード:CM0853

組成 (培地1Lあたり)

トリプトン	20.0	g
乳糖	5.0	g
胆汁酸塩No.3	1.5	g
リン酸水素二カリウム	4.0	g
リン酸二水素カリウム	1.5	g
塩化ナトリウム	5.0	g
pH 6.9±0.2		

調製方法

本品37gを1Lの精製水に溶解し、ダーラム管を入れた試験管に分注する。121℃で15分間、高圧蒸気滅菌を行う。

用途・特徴

本培地は、食品や環境材料中の糞便性大腸菌群の鑑別及び *Escherichia coli* の確認試験用選択培地である^{3,4)}。また、最確数法を用いた乳や乳製品中の推定大腸菌の菌数算定にも適応できる²⁾。

E. coli は、場合により食品や水質検体にみられる一般的なグラム陰性細菌である。*E. coli* の存在は糞便汚染の可能性を示し、摂取すると健康を損なう恐れがある。また、*E. coli* のある株は、下痢症やもっと重篤な疾患を引き起こす原因となる。

水質検体における *E. coli* の出現も糞便汚染示すと考えられるが、迅速に鑑別する方法がないため糞便性大腸菌群を同様の糞便汚染の指標として用いている。このことについて考えると、糞便由来の大腸菌群とその他由来の大腸菌群を鑑別することは重要である。*E. coli* と糞便性大腸菌群は、44~45.5℃で24~48時間の培養において乳糖を発酵し酸とガスの産生を基準に鑑別されるが、用いられる方法と材料により異なる。

検体	培養温度
貝・甲殻類の検査 ⁴⁾	44.5℃
乳・乳製品 ²⁾	44.0℃
上水・下水 ³⁾	44.5℃
その他の食品 ⁴⁾	45.5℃

方法

本培地の組成には、緩衝乳糖ブイヨンと胆汁酸塩No.3が含まれている。胆汁酸塩は芽胞の発育と球菌の発育を抑制するために加えられているが、*E. coli* と大腸菌群の発育は抑制しない。乳糖発酵によるガスの産生は、逆さにしたダーラム管により検知される。

- 乳及び乳製品中の推定大腸菌 (ISO法)²⁾
逆さまにしたダーラム管をいれた1倍及び2倍ラウリルトリプトースブイヨン (CM451) に、ISOの標準法に記載された方法で検体を接種する。37℃で24~48時間培養し、ガスの産生を観察する。ガスの産生が認められた検体を逆さにしたダーラム管の入った10mLの本培地に接種し、44℃で24~48時間培養する。ガスを産生した試験管からトリプトン水 (CM87) に検体を接種し44℃で24~48時間培養する。インドール試験を行い、最確数法 (MPN) より推定大腸菌数を算出する。詳細についてはISO Standard Methodを参照。
- 糞便性大腸菌群試験 (APHA法)³⁾
糞便性大腸菌群を鑑別するには、逆さにしたダーラム管の入った本培地に接種し、44.5℃の湯浴で24±2時間培養する。24時間以内に発育し、ガスを産生するものは糞便性大腸菌群陽性と考える。詳細についてはAPHA Standard Methodを参照。
- E. coli* の確認試験 (FDA/BAM法)⁴⁾
2倍ラウリルトリプトースブイヨン (CM451) でガスを産生した検体は、白金耳で逆さにしたダーラム管の入った本培地に継代する。45.5℃で培養し、24及び48時間後にガス産生を確認する。ガスを産生した検体はEMB寒天培地 (CM69) に画線塗抹して、35℃で18~24時間培養する。各培地から典型的なコロニーを2つプレートカウント寒天培地 (CM325) に継代して35℃で18~24時間培養し、形態学、生化学試験を行い確認する。詳細についてはFDA/BAM Standard Methodを参照。

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℃で保存すると4週間まで使用可能。

◆ 品質管理

陽性コントロール

Escherichia coli ATCC25922

陰性コントロール

Bacillus subtilis ATCC6633

◆ 注意

使用期限を過ぎた培地、固まってしまったものや変色したものは使用しない。

◆ 参考文献

1. Hajna, A. A. and Perry, C. A. (1943) Amer. J. Pub. Hlth. 33, 550-556.
2. International Organisation for Standardisation: Milk and Milk products - Enumeration of presumptive *Escherichia coli*. Part 1. Most probable number technique ISO 11866-1: 1997.
3. American Public Health Association (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastwater. 20th Edn. APHA Inc. Washington DC.
4. "Association of Official Analytical Chemists" F.D.A. Bacteriological Analytical Manual 8th Edition
5. Perry, C. A. and Hajna, A. A. (1944) Amer. J. Pub. Hlth. 34, 735-738.