

リステリア増菌基礎培地(UVM処方)

LISTERIA ENRICHMENT BROTH BASE (UVM FORMULATION)

OXOID コード: CM0863

◆ 組成 (培地1Lあたり)

プロテオースペプトン	5.0	g
トリプトン	5.0	g
ラブ-レムコ末	5.0	g
酵母エキス	5.0	g
塩化ナトリウム	20.0	g
リン酸水素二ナトリウム	12.0	g
リン酸二水素カリウム	1.35	g
エスクリン	1.0	g
pH	7.4±0.2	

リステリア選択増菌サプリメント (UVM I) (SR142)

1バイアルあたり : 500mL用	
ナリジクス酸	10.0 mg
アクリフラビン	6.0 mg

リステリア選択増菌サプリメント (UVM II) (SR143)

1バイアルあたり : 500mL用	
ナリジクス酸	10.0 mg
アクリフラビン	12.5 mg

◆ 調製方法

本品27.2gを500mLの精製水に溶解し、沸騰するまで加熱して溶解する。121℃で15分間、高圧蒸気滅菌し約50℃に冷却する。

前増菌培地 (UVM I)

2mLの滅菌精製水で溶解したリステリア選択増菌サプリメント (UVM I) (SR142) 1バイアルを上記ブイヨンに無菌的に添加する。十分に攪拌した後、滅菌した培養容器に分注する。

増菌培地 (UVM II)

2mLの滅菌精製水で溶解したリステリア選択増菌サプリメント (UVM II) (SR143) 1バイアルを上記ブイヨンに無菌的に添加する。十分に攪拌した後、滅菌した培養容器に分注する。

◆ 用途・特徴

リステリア選択増菌培地 (UVM処方) はDonnellyとBaigent¹⁾ の原法に基づいている。その後の変法²⁾で、一次および二次選択増菌培地ともにナリジクス酸が減量され、さらに二次選択増菌培地では塩酸アクリフラビンの濃度が高められた。

この変法と2段階選択増菌法 (USDA-FSIS法)²⁾の開発により食肉製品からの*Listeria monocytogenes*の検出率は向上し、3~4日という短期間で検出可能となった。

UVMブイヨンは熱による損傷を受けた*L. monocytogenes*の回復³⁾の一次増菌ブイヨンとして推奨されている。

本ブイヨンをDNAプローブ法で用いる場合は、培地の高い塩分濃度のため検出を阻害する事がある⁴⁾ので、注意を要する。

◆ 方法

一次増菌

1. 25g若しくは25mLの検査材料を225mLのリステリア一次選択増菌培地 (UVM I) に加える。ストマッカーで2分間混和する。
2. ストマック袋ごと30℃で培養する。
3. ストマック袋にて培養の場合は次の方法に従う :

4時間培養後、0.2mLを選択寒天培地に塗抹する。24時間培養後は、

- (i) 0.1mLの培養液を10mLの二次増菌培地に接種する。
- (ii) 培養液1mLを4.5mLの水酸化カリウム溶液に添加し、ポルテックスミキサーで良く攪拌して、1白金耳を選択寒天培地に塗抹する。水酸化カリウム溶液の調製方法は次を参照する。

二次増菌培養

二次増菌培地 (UVM II) を30℃で培養する。

24時間培養後は

- (i) 培養液0.2mLを選択寒天培地に塗抹する。
- (ii) 培養液1mLを4.5mLの水酸化カリウム溶液に添加する。ポルテックスミキサーでよく攪拌後、1白金耳を選択寒天培地に塗抹する。

<水酸化カリウム溶液の調製方法>

2.5gの水酸化カリウムと20gの塩化ナトリウムを1Lの精製水に添加する。121℃で高圧蒸気滅菌し、使用前にpH12.0であることを確認する。

USDAでの検査方法²⁾で推奨されている選択分離培地は、LPM寒天培地³⁾である。Oxoid社の研究室での結果⁵⁾ではオックスフォード処方と同等の結果であることが示された。

USDAの改訂版⁶⁾ではLPM寒天培地からオックスフォード処方（改良型）に変更となっている。増菌培養液を選択寒天培地に塗抹する場合は水酸化カリウム溶液で処理する必要はない。

□ 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

Listeria monocytogenes ATCC 19117

陰性コントロール

Staphylococcus aureus ATCC 25923

□ 注意

リステリア選択寒天基礎培地（オックスフォード）(CM856)と(SR140)に記載されている諸注意を読むこと。

液体増菌培養は寒天培地上のコロニーよりも危険性が高い。

アクリフラビンは光酸化により、リステリア属に対して抑制性の化合物を生成するので調製した培地は遮光保存すること。

本培地に使われるサプリメント（SR141）は、有毒な濃度のシクロヘキシミドを含むので取扱いに注意すること。

□ 参考文献

1. Donnelly C.W. and Baigent G.J. (1986) Appl. Environ. Microbiol. 52, 689-695.
2. McClain D. and Lee W.H. (1988) Assoc. Off. Anal. Chem. 71, 660-664.
3. Bailey J.S., Fletcher D.L. and Cox N.A. (1990) J. Food Prot. 53, 473-477.
4. Partis L., Newton L., Marby J. and Wells R.J. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60, 1693-1694.
5. Sawhney D.R. and Dodds L. (1988) Internal project report. Oxoid R&D Laboratory.
6. McLain D. and Lee W.H. (1989) FSIS Method for the isolation and poultry products. Laboratory Communications number 57.