

今回は、食品の細菌検査の簡易・迅速化で注目をされている発色酵素基質を使った大腸菌群および大腸菌検査用培地についてご紹介しましょう。

Feng & Hartman(1982)が、発色酵素基質を使った大腸菌検査用培地を報告して以来、発色酵素基質を使った大腸菌群と大腸菌を同時に、かつ迅速に検出するための各種培地が開発されています。我国では、1992年に改正水質基準省令で特定酵素基質法として認められ、食品の検査にも応用されています。

これらの培地には、液体培地と寒天培地とがあります。いずれの方法でも発色酵素基質に作用する酵素が、菌種によって固有なため特異性が高く、従来のような手間のかかる確認試験を必要としません。そのため検査は、18～24時間以内に終了しますので、迅速性にも優れています。また発色が明瞭であるため肉眼でも判定が容易にできます。

大腸菌群の有する特異な酵素は、 β -ガラクトシダーゼ、大腸菌では、 β -グルクロニダーゼです。

β -ガラクトシダーゼは乳糖分解に関与する酵素で、大腸菌群に含まれる全ての菌種が産生します。また β -グルクロニダーゼは、腸内細菌の中では原則として大腸菌のみに特異な酵素です。ただし、現在社会問題になっている腸管出血性大腸菌O157は、大腸菌の中でも例外で、 β -グルクロニダーゼ陰性ですので、残念ながらこの培地では大腸

発色酵素基質培地
 栄研器材 株式会社 柳沼健史

菌として検出同定できません。

発色酵素基質は、酵素基質に発色する物質、あるいは発光源となる物質をそれぞれ結合させた無色の合成化合物です。この種の合成酵素基質は、特有な酵素によって加水分解され発色物質または蛍光物質が遊離し、着色または紫外線下で蛍光を發します。

β -ガラクトシダーゼに対する発色酵素基質は、青色に発色するX-GAL(5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -D-ガラクトピラノシド)、桃色に発色するサーモンGAL(6-クロロ-3-インドリル- β -D-ガラクトピラノシド)および黄色に発色するONPG(O-ニトロフェニル- β -D-ガラクトピラノシド)などがあります。

また β -グルクロニダーゼに対する発色酵素基質は、長波長の紫外線下で蛍光を發するMUG(4-メチルウンベリフェニル- β -D-グルクロニド)および青色に発色するX-グルクロニド(5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -D-グルクロニド)などがあります。これらは、目的に応じて組合わされたうえで培地に添加され、各種の培地が考案されています。

表面付着菌検出用のべたんチェック・クロモCE寒天培地は、サーモンGALとX-グルクロニドを用いた培地です。大腸菌以外の大腸菌群は桃色、大腸菌は濃青色～紫色のそれぞれ特有の集落を形成します。これ以外の菌が発育しても発色しませんので鑑別が容易です。

