

第 34 回麻布環境科学研究会 一般演題 3

EHEC 検査におけるクロモアガー STEC の活用について

○土田 千鶴子

千葉県習志野健康福祉センター

【目的】

現在、EHEC（腸管出血性大腸菌）検査の選択分離培地として、CT-SMAC を主として使用しているが、O157 以外の血清型の EHEC を効率良く検出するために、EHEC の検出を目的としたクロモアガー STEC（以後、STEC と略す）の導入の有用性について検討したので報告する。

【方法】

1 マイルス－ミスラ法

代表的な EHEC 血清型 6 種類（O157：5 株、O26：5 株、O111：5 株、O145：3 株、O103：3 株、O121：2 株）計 23 株と通常大腸菌（EC）1 株について、STEC、DHL、CT-SMAC、CT-RMAC、CT-SBMAC 培地にマイルス－ミスラ法で接種し、生菌数を測定し生育割合を比較する。

2 通常便への菌添加による培地性能比較

通常便（EHEC 陰性の便）6 検体及び EHEC 6 株（O157、O26、O111、O145、O103、O121：各 1 株）を通常便 6 検体に各々添加した検体を、STEC、DHL、CT-SMAC、クロモアガー O157、CT-RMAC、CT-SBMAC 培地に塗抹し、各種 EHEC 株の検出割合を比較する。

【結果】

1 STEC 上の被検菌の生育割合は、生菌数の 1～1/100 量であり、試供菌株 23 株全てが検出された。

2 添加前の通常便の検査で STEC 以外の検討培地では、類似コロニーとの鑑別のため確認培養を要した

が、STEC は確認培養が不要であり、検査効率が良かった。

添加後は、クロモアガー O157 上での O157 検出と CT-RMAC 上での O26 検出以外の選択分離培地上では、目的菌を検出できない選択性状のコロニーがあったのに対し、STEC は、目的菌が藤色コロニーという特徴があり、全てのコロニーで目的菌が検出された。（図 1）

【考察】

1 の試験結果より、STEC は、EHEC 23 株のいずれも生菌数の約 1～100 分の 1 の菌量が生育していたことから、感染時の EHEC の存在割合を勘案して、十分検出可能であり、EHEC 検出用の分離培地として優れていると思われる。

2 の試験結果より、EHEC 以外の大腸菌が多く存在している通常便への菌添加後の検出試験で、6 血清型とも STEC は検出割合が最も優れていたことから、これらの血清型 EHEC を同時に検出することが可能であることが示唆された。

近年、O157 以外の EHEC の検出が国内外で増加していることから、感染症・食中毒等の健康危機管理検査への STEC の活用は、EHEC 検出率の向上に繋がり、有用であると思われる。

本検討に際し、千葉県衛生研究所から菌株を分与いただいたこと、及び助言をいただいた平井研究員に感謝します。

	検体	便菌量/ 添加菌量	DHL		CT-SMAC		コロSTEC		コロO157		CT-RMAC	CT-SBMAC	
			赤色又は透明	0/5	培地色又は赤色	2/2	藤色	2/2	藤色	2/2	培地色	培地色	
O157	A	1.68	×	0/5	○	2/2	○	2/2	○	2/2			
	B	0.03	○	5/5	○	2/2	○	2/2	○	2/2			
	C	1.37	△	3/5	○	2/2	○	2/2	○	2/2			
	添加	D	2.43	×	0/5	○	2/2	○	2/2	○	2/2		
	E	0.71	○	3/5	○	2/2	○	2/2	○	2/2			
	F	0.23	○	5/5	○	2/2	○	2/2	○	2/2			
O26	A	5.00	×	0/5	○	2/2	○	2/2			○	2/2	
	B	0.09	△	3/5	△	1/2	○	2/2			○	2/2	
	C	4.07	×	0/2	○	2/2	○	2/2			○	2/2	
	添加	D	7.22	×	0/5	○	2/2	○	2/2			○	2/2
	E	2.10	△	2/5	○	2/2	○	2/2			○	2/2	
	F	0.69	△	4/5	○	2/2	○	2/2			○	2/2	
O111	A	1.68	×	0/5	○	2/2	○	2/2				△	1/2
	B	0.03	○	5/5	○	2/2	○	2/2				△	1/2
	C	1.37	×	0/5	○	2/2	○	2/2				×	0/2
	添加	D	2.43	×	0/5	△	1/2	○	2/2			×	0/2
	E	0.71	×	0/5	○	2/2	○	2/2				×	0/2
	F	0.23	○	5/5	×	0/2	○	2/2				×	0/2
O145	A	1.03	△	1/5	△	1/2	○	2/2					
	B	0.02	△	3/5	○	2/2	○	2/2					
	C	0.84	△	1/5	×	0/2	○	2/2					
	添加	D	1.48	△	1/5	△	1/2	○	2/2				
	E	0.43	△	1/4	○	2/2	○	2/2					
	F	0.14	△	3/5	×	0/2	○	2/2					
O103	A	1.23	×	0/5	○	2/2	○	2/2					
	B	0.02	△	2/5	○	2/2	○	2/2					
	C	1.00	△	1/5	○	2/2	○	2/2					
	添加	D	1.78	△	1/5	○	2/2	○	2/2				
	E	0.52	×	0/5	○	2/2	○	2/2					
	F	0.17	△	4/5	○	2/2	○	2/2					
O121	A	1.85	△	2/5	○	2/2	○	2/2					
	B	0.03	△	3/5	○	2/2	○	2/2					
	C	1.51	△	1/3	×	0/2	○	2/2					
	添加	D	2.67	△	2/5	○	2/2	○	2/2				
	E	0.78	△	1/5	○	2/2	○	2/2					
	F	0.26	△	3/5	△	1/2	○	2/2					
添加前	A		赤		赤		青		青・藤色		赤	桃・培地色	
便検体	B		赤		赤		青		青		赤	培地色	
	C		赤黒・赤・桃		赤		青		青		赤	培地色	
	D		赤		培地色・赤		白		青		赤	培地色	
コロニ性状	E		赤		培地色・赤		白		青		赤	培地色	
	F		赤黒・赤		桃		青		青		赤・培地色	培地色	

判定:平成24年8月31日

※ 添加菌の検出割合の目安 ○:5/5又は2/2検出、△:1/5~4/5又は1/2検出、×:不検出(0/5又は0/2)
(CT-SMAC:O157添加は培地色コロニー、O157以外のEHEC添加は赤色コロニーを確認)

図1 通常便への菌添加による培地性能比較