

牛肉検体 + ノボビオシン・カサミノ酸添加 mTSB
↓ 42°C, 15-22時間増菌培養

DNA抽出

病原因子遺伝子の特定(マルチプレックス・リアルタイムPCR)

- ・プライマー およびプローブセット
 - ① *stx* ② *eae*
- ・Environmental Master Mix・ABI 7500 (standard chemistry)

↓ *stx/eae*両方陽性

O抗原遺伝子の特定 (マルチプレックス・リアルタイムPCR)

- ・プライマー およびプローブセット
 - ① 026/0111 ② 045/0121 ③ 0103/0145
- ・Environmental Master Mix・ABI 7500 (standard chemistry)

↓ O抗原のいずれかが陽性

免疫磁気ビーズ法

SDIX RapidChek CONFIRM STEC IMS Kit

選択分離培地

セフィキシム・亜テルル酸カリウム・ノボビオシン添加レインボーアガー

確定試験

生化学性状・ラテックス凝集・マルチプレックスPCR

図23 腸管出血性大腸菌non-0157の食品での検査法 (USDA法)

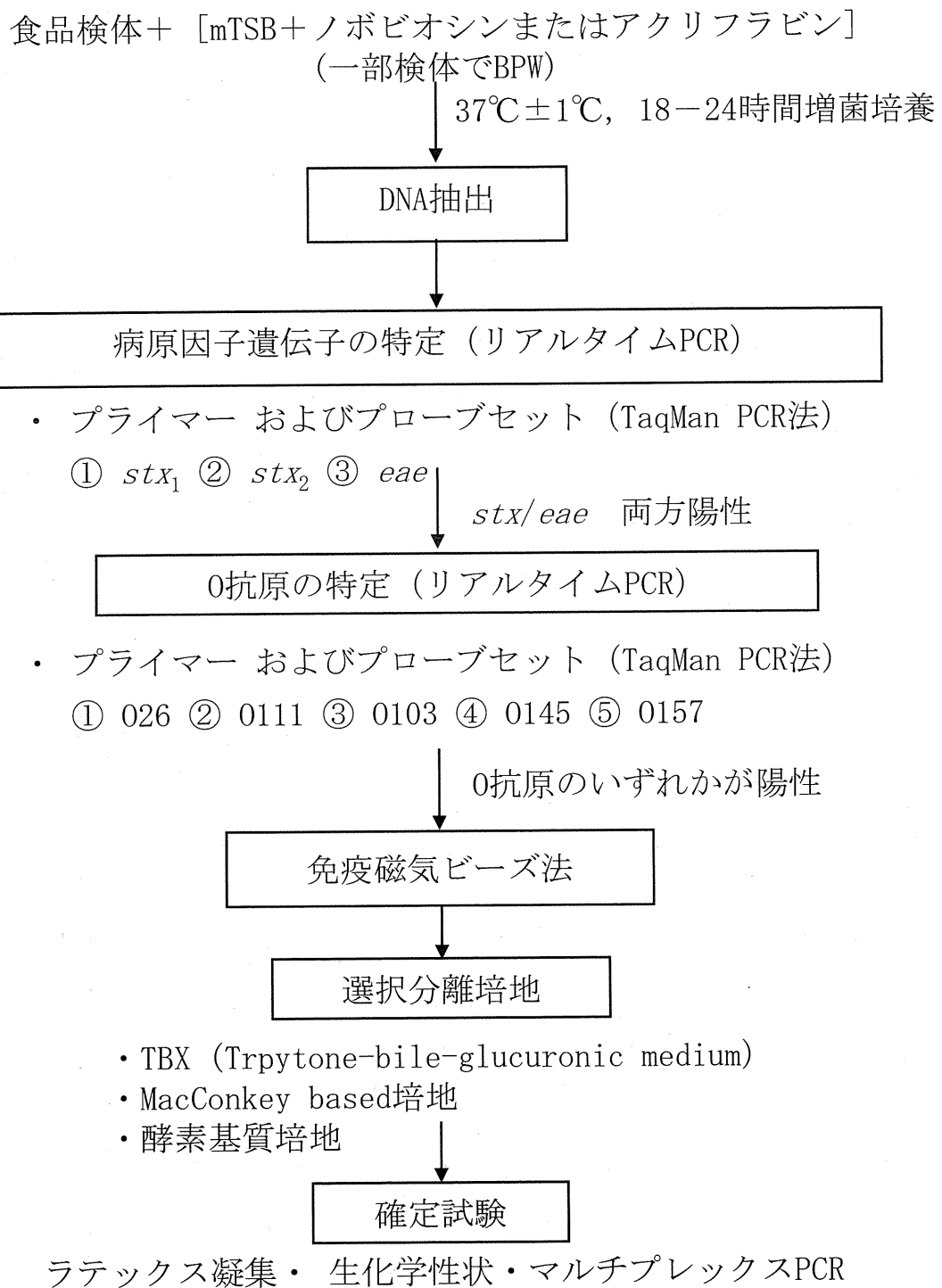


図24 腸管出血性大腸菌の食品での検査法 (EFSA法)

表1 供試菌株

O血清群	菌株数	菌株の由来 (菌株数)
026	14	ヒト (8) 、ウシ (5) 、 ATCC12795
045	2	ヒト (1) 、ウシ (1)
0103	12	ヒト (7) 、ウシ (5)
0111	15	ヒト (15)
0121	2	ヒト (2)
0145	8	ヒト (8)
0157	15	ヒト (8) 、ウシ (3) 、 食品 (1) 、ATCC43890、 ATCC43889、ATCC43895
合計	68	ヒト (49) 、ウシ (14) 、 食品 (1) 、分与機関 (4)

表2 各0抗原特異的遺伝子検出リアルタイムPCRの反応液の調製

反応試薬	容量(μl)
TaqMan Environmental Master Mix 2.0 (アプライド・バイオシステムズ ジャパン)	15
プライマー Forward	x* (別表参照)
プライマー Reverse	y* (別表参照)
プローブ	z* (別表参照)
滅菌精製水	10-(x+y+z)
合計	25

* x, y, zの量は標的遺伝子によって異なる。

別表

参照法	遺伝子	プライマー				プローブ		PCR 産物長 (bp)
		Forward		Reverse		濃度 (μM)	容量z (μl)	
		濃度 (μM)	容量x (μl)	濃度 (μM)	容量y (μl)			
USDA	<i>WZX</i> ₀₂₆	20	0.37	20	0.37	2	2.26	158
	<i>WZX</i> ₀₄₅	20	0.37	20	0.37	2	2.81	72
	<i>WZX</i> ₀₁₀₃	20	0.37	20	0.37	5	1.2	191
	<i>wbdI</i> ₀₁₁₁	20	0.37	20	0.37	5	1.2	237
	<i>WZX</i> ₀₁₂₁	20	0.37	20	0.37	5	1.2	189
	<i>WZX</i> ₀₁₄₅	20	0.37	20	0.37	2	3	135
EFSA	<i>WZX</i> ₀₂₆	20	0.3	20	0.3	5	1.2	135
	<i>WZX</i> ₀₁₀₃	20	0.3	20	0.3	5	1.2	99
	<i>wbdI</i> ₀₁₁₁	20	0.6	20	0.6	5	1.2	146
	<i>ihpI</i> ₀₁₄₅	20	0.3	20	0.3	5	1.2	132
	<i>rfbE</i> ₀₁₅₇	20	0.3	20	0.3	5	1.2	88

表3 各O抗原特異的遺伝子検出リアルタイムPCRのプライマーおよびプローブ配列

参照法	遺伝子	プライマー・ プローブ名	配列
USDA	<i>wzx</i> ₀₂₆	Wzx 026-F	5' GTA TCG CTG AAA TTA GAA GCG C 3'
		Wzx 026-R	5' AGT TGA AAC ACC CGT AAT GGC 3'
		Wzx 026-P	5' FAM-TGG TTC GGT TGG ATT GTC CAT AAG AGG G-MGB 3'
	<i>wzx</i> ₀₄₅	Wzx 045-F	5' CGT TGT GCA TGG TGG CAT 3'
		Wzx 045-R	5' TGG CCA AAC CAA CTA TGA ACT G 3'
		Wzx 045-P	5' FAM- ATT TTT TGC TGC AAG TGG GCT GTC CA-MGB 3'
	<i>wzx</i> ₀₁₀₃	Wzx 0103-F	5' TTG GAG CGT TAA CTG GAC CT 3'
		Wzx 0103-R	5' ATA TTC GCT ATA TCT TCT TGC GGC 3'
		Wzx 0103-P	5' FAM- AGG CTT ATC TGG CTG TTC TTA CTA CGG C-MGB 3'
	<i>wbdI</i> ₀₁₁₁	WbdI 0111-F	5' TGT TCC AGG TGG TAG GAT TCG 3'
		WbdI 0111-R	5' TCA CGA TGT TGA TCA TCT GGG 3'
		WbdI 0111-P	5' FAM- TGA AGG CGA GGC AAC ACA TTA TAT AGT GC- MGB 3'
	<i>wzx</i> ₀₁₂₁	Wzx 0121-F	5' AGG CGC TGT TTG GTC TCT TAG A 3'
		Wzx 0121-R	5' GAA CCG AAA TGA TGG GTG CT 3'
		Wzx 0121-P	5' FAM - CGC TAT CAT GGC GGG ACA ATG ACA GTG C- MGB 3'
<i>wzx</i> ₀₁₄₅	Wzx 0145-F	5' AAA CTG GGA TTG GAC GTG G 3'	
	Wzx 0145-R	5' CCC AAA ACT TCT AGG CCC G 3'	
	Wzx 0145-P	5' FAM- TGC TAA TTG CAG CCC TTG CAC TAC GAG GC -MGB 3'	
EFSA	<i>wzx</i> ₀₂₆	wzx 026-F	5' CGC GAC GGC AGA GAA AAT T 3'
		wzx 026-R	5' AGC AGG CTT TTA TAT TCT CCA ACT TT 3'
		wzx 026-P	5' FAM- CCC CGT TAA ATC AAT ACT ATT TCA CGA GGT TGA -MGB 3'
	<i>wzx</i> ₀₁₀₃	wzx 0103-F	5' CAA GGT GAT TAC GAA AAT GCA TGT 3'
		wzx 0103-R	5' GAA AAA AGC ACC CCC GTA CTT AT 3'
		wzx 0103-P	5' FAM- CAT AGC CTG TTG TTT TAT -MGB 3'
	<i>wbdI</i> ₀₁₁₁	wbdI 0111-F	5' CGA GGC AAC ACA TTA TAT AGT GCT TT 3'
		wbdI 0111-R	5' TTT TTG AAT AGT TAT GAA CAT CTT GTT TAG C 3'
		wbdI 0111-P	5' FAM- TTG AAT CTC CCA GAT GAT CAA CAT CGT GAA -MGB 3'
	<i>ihp1</i> ₀₁₄₅	ihp1 0145-F	5' CGA TAA TAT TTA CCC CAC CAG TAC AG 3'
		ihp1 0145-R	5' GCC GCC GCA ATG CTT 3'
		ihp1 0145-P	5' FAM- CCG CCA TTC AGA ATG CAC ACA ATA TCG -MGB 3'
	<i>rfbE</i> ₀₁₅₇	rfbE 0157-F	5' TTT CAC ACT TAT TGG ATG GTC TCA A 3'
		rfbE 0157-R	5' CGA TGA GTT TAT CTG CAA GGT GAT 3'
		rfbE 0157-P	5' FAM- AGG ACC GCA GAG GAA AGA GAG GAA TTA AGG -MGB 3'

表4 *eae* 検出リアルタイムPCRの反応液の調製

参照法	反応試薬	容量 (μl)
USDA	TaqMan Environmental Master Mix 2.0 (アプライド・バイオシステムズ ジャパン)	12.5
	プライマー* (50 μM)	Eae-F 0.5 Eae-R 0.5
	プローブ** (5 μM)	Eae-P 1
	滅菌精製水	5.5
	合計	20
EFSA	TaqMan Environmental Master Mix 2.0 (アプライド・バイオシステムズ ジャパン)	15
	プライマー* (50 μM)	Eae-F 0.36 Eae-R 0.36
	プローブ** (5 μM)	Eae-P 1.2
	滅菌精製水	8.08
	合計	25

* Eae-F 5' CAT TGA TCA GGA TTT TTC TGG TGA TA 3'

Eae-R 5' CTC ATG CGG AAA TAG CCG TTM 3'

** Eae-P 5' FAM-ATA GTC TCG CCA GTA TTC GCC ACC AAT ACC-MGB 3'

表5 USDA参照法による各血清群菌液の定性での検出結果

O血清群	検出率 (陽性菌株数/総菌株数)
026	14/14
045	2/2
0103	12/12
0111	15/15
0121	2/2
0145	8/8

Auto解析

約 10^9 cfu/mlの菌液からDNA抽出。

表6 EFSA参照法による各血清群菌液の定性での検出結果

O血清群	検出率 (陽性菌株数/総菌株数)
026	14/14
0103	12/12
0111	15/15
0145	8/8
0157	15/15

Auto解析

約 10^9 cfu/mlの菌液からDNA抽出。

表7 USDA参照法による各血清群菌液での検出感度

DNA 抽出法	O血清群	菌株	反応	菌濃度 (cfu/ml)							
				10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²
熱抽出	026	1	①	+	+	+	+	+	+	-	-
		045	1	①	+	+	+	+	+	+	+
		2	①	+	+	+	+	+	+	-	-
	0103	1	①	+	+	+	+	+	+	-	-
		2	①	+	+	+	+	+	+	-	-
	0111	1	①	+	+	+	+	+	+	-	-
	0121	1	①	+	+	+	+	+	+	-	-
		2	①	+	+	+	+	+	+	-	-
	0145	1	①	+	+	+	+	+	+	+	-
	アルカリ 熱抽出	026	2	①	+	+	+	+	+	+	+
0111		2	①	+	+	+	+	+	+	+	+
0145		2	①	+	+	+	+	+	+	+	+

Auto解析

表8 EFSA参照法による各血清群菌液での検出感度

DNA 抽出法	O血清群	菌株	菌濃度 (cfu/ml)								
			10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	
熱抽出	026	1	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	0103	1	+	+	+	+	+	+	+	+	-
		2	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	0111	1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	0145	1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	0157	1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
アルカリ 熱抽出	026	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0111	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0145	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0157	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Auto解析

表9 USDA参照法による菌接種食品培養の定性での検出結果

食品	O血清群	食品培養液中の菌濃度 (cfu/ml)	検出結果
牛挽肉	026	7.4×10^7	+
	045	1.3×10^8	+
	0103	8.6×10^7	+
	0111	1.2×10^8	+
	0121	1.3×10^8	+
	0145	1.0×10^8	+
カイワレダイコン	026	7.4×10^7	+
	045	1.3×10^8	+
	0103	8.6×10^7	+
	0111	1.2×10^8	+
	0121	1.3×10^8	+
	0145	1.0×10^8	+

Auto解析

表10 EFSA参照法による菌接種食品培養の定性での検出結果

食品	O血清群	食品培養液中の菌濃度(cfu/ml)	検出結果
牛挽肉	026	7.4×10^7	+
	0103	8.6×10^7	+
	0111	1.2×10^8	+
	0145	1.0×10^8	+
	0157	1.2×10^8	+
カイワレダイコン	026	7.4×10^7	+
	0103	8.6×10^7	+
	0111	1.2×10^8	+
	0145	1.0×10^8	+
	0157	1.2×10^8	+
Auto解析			

表11 USDA参照法による菌接種食品培養液での検出感度

食品	O血清群	菌接種食品培養液中の菌濃度 (cfu/ml)						
		10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²
牛挽肉	026	+	+	+	+	+	+	+
	045	+	+	+	+	+	+	+
	0103	+	+	+	+	+	+	-
	0111	+	+	+	+	+	+	+
	0121	+	+	+	+	+	+	+
	0145	+	+	+	+	+	+	+
カイワレ	026	+	+	+	+	+	+	-
ダイコン	045	+	+	+	+	+	+	+
	0103	+	+	+	+	+	+	+
	0111	+	+	+	+	+	+	-
	0121	+	+	+	+	+	+	+
	0145	+	+	+	+	+	+	+

Auto解析

表12 EFSA参照法による菌接種食品培養液での検出感度

食品	O血清群	菌接種食品培養液中の菌濃度 (cfu/ml)						
		10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²
牛挽肉	026	+	+	+	+	+	+	+
	0103	+	+	+	+	+	+	+
	0111	+	+	+	+	+	+	+
	0145	+	+	+	+	+	+	+
	0157	+	+	+	+	+	+	+
カイワレ	026	+	+	+	+	+	+	+
ダイコン	0103	+	+	+	+	+	+	-
	0111	+	+	+	+	+	+	+
	0145	+	+	+	+	+	+	-
	0157	+	+	+	+	+	+	+

Auto解析

平成24年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
食中毒調査における食品中の病原大腸菌の統括的検査法の開発に関する研究
研究代表者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

病原大腸菌の統括的検査法の開発

研究分担者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

協力研究報告書

多血清群での分離培地の検討

研究要旨

腸管出血性大腸菌の食品での検査法は、血清群 026、0103、0104、0111 および 0157 について個別に通知されているものの、対象食品の限定もあり、統括的な検査法が必要とされている。また、諸外国では血清群 0157 に加え、感染の多い血清群 4～6 種類を対象にした食品または牛肉からの検査法が実施されており、日本でも独自に主要な血清群を決定し、食品での検査法を確立する必要がある。このため、本研究では多血清群に有用な選択分離培地を検討した。その結果、選択剤を添加した複数種類の酵素基質培地にて、血清群に特徴を有する発色性によって鑑別分離が可能である事が示された。今後、多数の菌株での発色性の検討や適切な選択剤の検索など、さらなる検討が必要と考えられた。

研究協力者

小林直樹、長尾清香

国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌はヒトへの病原性が強く、重症者や死者が発生する食中毒事例が社会的に問題になっており、食中毒事例では原因食品確定が不可欠である。腸管出血性大腸菌の食品での検査法は、血清群 026、0103、0104、0111 および 0157 について個別に通知されているものの、

対象食品の限定もあり、統括的な検査法が必要とされている。また、諸外国では血清群 0157 に加え、感染の多い血清群 4～6 種類を対象にした食品または牛肉からの検査法が実施されており、日本でも独自に主要な血清群を決定し、食品での検査法を確立する必要がある。このため、本研究では多血清群に有用な選択分離培

地を検討した。特に、酵素基質培地は多種の細菌の選択分離用に開発されており、腸管出血性大腸菌でも 026、0111 および 0157 の食品での検査の通知法では、それぞれについて使用する酵素基質培地が設定されていることから、これら培地について他血清群での鑑別性を検討した。

B. 研究方法

1. 供試菌株

国内外で分離され研究室に保存されていた以下の大腸菌 (VT 陽性株 60 株および陰性株 4 株の計 64 株) を各種酵素基質培地でのコロニー形態および生育性の確認に供試した。

- 血清群 026 : ヒト由来 8 株 (うち 1 株 VT 陰性)、ウシ由来 1 株、食品由来 1 株 (計 10 株)
- 血清群 0111 : ヒト由来 10 株
- 血清群 0157 : 食品由来 5 株、ヒト由来 3 株、菌株分譲機関分与株 2 株 (計 10 株)
- 血清群 0145 : ヒト由来 10 株
- 血清群 045 : ヒト由来 1 株、ウシ由来 1 株 (計 2 株)
- 血清群 0121 : ヒト由来 2 株
- 血清群 0103 : ヒト由来 8 株、ウシ由来 2 株 (計 10 株)
- 血清群 0165 : 由来不明 2 株
- 血清群 08 : ヒト由来 1 株、ウシ由来 1 株 (計 2 株、VT 陰性)
- 血清群 063 : ヒト由来 1 株
- 血清群 091 : ヒト由来 4 株
- 血清群 0151 : ウシ由来 1 株 (VT 陰性)

2. 分離培地

上記の供試菌株をトリプチケース・ソイ・ブロス中で 37°C にて 18 時間培養し、その培養液を以下に示す 9 種類の酵素基質培地に画線した。37°C にて 24 時間培養し、生育したコロニーの発色を観察した。

- クロモアガー-0157 培地 (クロモアガー社)
- クロモアガー-026/0157 培地 (クロモアガー社)
- クロモアガー-STECC 培地 (クロモアガー社)
- Vi RX026 寒天培地 (栄研化学)
- Vi EHEC 寒天培地 (栄研化学)
- CIX 寒天培地 (極東製薬)
- BCM0157 寒天培地 (栄研化学)
- XM-EHEC 寒天培地 (日水製薬)
- レインボーアガー-0157 培地 (バイオログ社)

ただし、セフィキシム・亜テルル酸 (CT) の感受性を確認するためにクロモアガー-STECC 培地に添加したものを供試した。これら培地の特性については表 1 に示す。

C. 研究結果

各酵素基質培地での各血清群のコロニーの発色性および生育性について観察した (表 2)。

クロモアガー-0157 では、0157 および 0151 が藤色、026、0111、0103、0121、0145、045、0165、08、063 および 091 は生育し、

ほとんどが青色（一部、藤灰青色や薄青色）であった（図1）。

クロモアガー-026/0157では、0157は赤色（一部、薄ピンク混在）、026は緑色（1株が紫色（VT陰性））であった（図2）。0111は多くが赤紫色（1株が緑色、1株が濃ピンク色、1株が青～赤紫色）であり、0103も多くが赤紫色（2株が薄ピンク色）、0145は全株赤紫色であった。ただし、063および091も赤紫であった。0121（一部、緑色）、045（一部、赤紫色）および08は紫色であった。0151は濃いピンクであった。

クロモアガー-STECでは、供試した株全てである0157、026、0111、0103、0121、0145、045、0151、0165、08、063および091は藤色であった（図3）。

Vi RX026では、026（VT陰性株は非生育）は紺色、0157、0111、0103、0145、045、0165、08、063、091および0151は緑色であった（図4）。

Vi EHECでは、0157は無色透明（中心部褐色）、0111はえんじ色、026は緑色（VT陰性株は非生育）であった（図5）。026と同じく緑色であったのは、0121および半数の株の0103であった。0145および045（1株非生育）は紫色であったが、0103でも一部紫色であった。さらに0145では緑、青～青紫または赤紫色が見られた。0151はえんじ色であった。0165、08、063および091は非生育であった。

CIXでは、0157および一部の0145は青緑色、026（VT陰性株は非生育）、0111、

0103、0145、045および063は紺色であった（図6）。0121はピンク色であった。0165および08は非生育であった。0151、一部の0103および半数の株の091は緑色（残りは非生育）であった。

BCM0157では、0157および063が紺色であった（図7）。0121は白色であった。他の血清群は緑色であった。

XM-EHECでは、0157、0111および0151が赤紫色であった（図8）。026および多くの0103は青紫色であった。045では赤紫、薄紫または青色、0121および0145は青から青紫または赤紫色であり、これらの鑑別は難しかった。0165、08、063および091は非生育であった。

レインボーアガーでは、全0157および026は灰～濃灰または灰紫色であった（図9）。0121および一部の091は藤色であった。0103、0145、045、0165、063（藤色も混在）および091は赤紫色であった。VT陰性の08および0151は白色であった。

クロモアガー-STECにCTを添加したCT-クロモアガー-STECでは、0157、026（VT陰性株は非生育）、0111、0103（1株生育）、0121、0145、045（1株生育）および0151は藤色であった（図3）。0165、08、063および091は非生育であった。

D. 考察

酵素基質培地は、近年ではその有用性から多数の食中毒菌や臨床細菌の分離培地として利用されている。腸管出血性大腸菌においても、1990年代から0157を対

象として酵素基質培地が利用されている。0157 は他の大腸菌と比べて、特異的な性質が複数あり、それらを組み合わせた培地の開発が世界的にも比較的容易に行われている。また、多様な血清群でも食中毒が発生しているため、0157 以外の血清群についても特異的発色性を示す鑑別が容易な酵素基質培地が検討開発され市販されている。米国 USDA 法では 1 種類の酵素基質培地（ノボビオシン・セフィキシム・亜テルル酸添加または無添加のレインボーアガー）が 7 血清群（0157、026、0111、0103、0121、0145 および 045）の分離に用いられている。USDA でのプロトコルでは、分離培地に改良レインボーアガーを使用している。これは、選択剤としてノボビオシン（5.0 mg/L）、セフィキシム 3 水和物（0.05 mg/L）および亜テルル酸カリウム（0.15 mg/L）を添加して夾雑菌の生育を抑制し、対象菌の分離性を向上させている。しかし、改良レインボーアガー上のコロニーの発色性は多様であり、灰色、薄紫色、藤色、紫色など同一の血清群でも様々な色調が掲載されている。ヨーロッパでは、0104 の試験に酵素基質培地（クロモアガーSTEC、クロモアガー026/0157、またはクロモアガーSTEC に選択剤を添加した培地など）の使用が推奨されているが、主要な市販品は少ない。日本では、特に 0157、026 および 0111 を対象として開発が進んでおり、複数社からの市販品として普及している。発色性はそれぞれの培地ごとに個性が異

なるが有益である。本研究ではこれら酵素基質培地を日本で重要な血清群に 8 種類（0157、026、0111、0103、0121、0145、045 および 0165）の分離に応用することを検討した。

クロモアガー0157 では、0157 は 0151 を例外として他血清群と鑑別できたが、他血清群は同色であり鑑別できないことが示された。

クロモアガー026/0157 では、色のバリエーションが多いが、鑑別に使える組み合わせを考えると、有用なのは 0157 および 026 であった。

クロモアガーSTEC では、VT 陰性の株も含め全て藤色であるため、血清群または VT 産生性の違いでの鑑別は難しいことが示された。

Vi RX026 では、026 の鑑別はできるが、他血清群間の鑑別は難しいことが示された。

Vi EHEC では、色のバリエーションが多いが、鑑別に使える組み合わせを考えると、有用なのは 0157、0111 および 0145 であった。0165 は生育しなかった。

CIX では、色のバリエーションが多いが、鑑別に使える組み合わせを考えると、有用なのは 0157 および 0121 であったが、0111 などの VT 陽性株は紺色であり、VT 陰性株の緑色や非生育と鑑別できることが示唆された。

BCM0157 では、有用なのは 0157 および 0121 であった。

XM-EHEC では、青から紫系の発色で重

要な6血清群が分離できそうであったが、同一血清群内での色のバリエーションが多く、血清群の鑑別が難しかった。

レインボーアガーでは、同一血清群内での色のバリエーションが多く、血清群の特徴付けが難しかった。

CTは腸管出血性大腸菌の選択分離培地に使用される事が多い。特に、マッコンキー培地を基にし、各血清群の糖分解の特徴を利用して作製した、0157 選択分離用のソルビトールマッコンキー培地（0157 は非分解）、026 選択分離用のラムノースマッコンキー培地（026 は非分解）および0111 選択分離用のソルボースマッコンキー培地（0111 は非分解）では、CTを添加することで、より選択性を高めて目的の血清群の分離性を高める。このため、今回対象にした腸管出血性大腸菌でこれまでにあまり情報のない血清群 0103、0121、0145、045 および 0165、また、対象外である 091、063、08（VT 陰性）および 0151（VT 陰性）についても、CT への感受性を確認し、分離培地での添加の有用性を検討した。0103 の一株で生育しなかったが、概ね血清群 0157、026、0111、0103、0121、0145 および 045 では感受性は低く、分離培地に添加することで、食品の夾雑菌の発育を抑制して対象血清群の大腸菌の分離が容易になる事が考えられた。ただし、0165 は CT の含まれる培地および選択剤が含まれる事が考えられる生培地に生育しなかったことから、分離に適切な選択剤の検討が必要であると考えられた。

以上の結果から、酵素基質培地での発色性を利用した鑑別分離の方法として、

(1) CT など選択剤を加えて選択性を高めた CIX 寒天培地にて、0157 は青緑、0121 はピンク、026、0111、0103、0145 および 045 は濃紫として鑑別分離、(2) CT など選択剤を加えて選択性を高めたクロモアガー-026/0157 培地にて、0157 は赤、026 は緑、0121 および 045 は紫、0111、0103 および 0145 は赤紫として鑑別分離、などが案として考えられた。今後、多数の菌株での発色性の検討や適切な選択剤の検索など、さらなる検討が必要と考えられた。

E. 結論

腸管出血性大腸菌の食品での検査法は、血清群 026、0103、0104、0111 および 0157 について個別に通知されているものの、対象食品の限定もあり、統括的な検査法が必要とされている。また、諸外国では血清群 0157 に加え、感染の多い血清群 4～6 種類を対象にした食品または牛肉からの検査法が実施されており、日本でも独自に主要な血清群を決定し、食品での検査法を確立する必要がある。このため、本研究では、多血清群に有用な選択分離培地を検討した。その結果、選択剤を添加した複数種類の酵素基質培地にて、血清群に特徴を有する発色性によって鑑別分離が可能である事が示された。今後、多数の菌株での発色性の検討や適切な選択剤の検索など、さらなる検討を行う事

によって、日本での主要な血清群に対応した検査法の分離手法の確立に貢献すると考えられた。

F. 健康被害情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし