

[治 験 論 文]

腸管出血性大腸菌の選択分離鑑別培地クロモアガー O26・O157 (SEL) の
基礎的検討富岡政江¹⁾・岡元 満²⁾・中根邦彦³⁾・遠山一郎²⁾・金子孝昌⁴⁾¹⁾ 岡崎市医師会公衆衛生センター²⁾ 財団法人東京顕微鏡院³⁾ 岡崎市保健所⁴⁾ 関東化学株式会社

(平成 22 年 1 月 6 日受付, 平成 22 年 6 月 18 日受理)

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 保存株 144 株を用いてクロモアガー O26・O157 (SEL) と従来のソルビトール, ラムノースならびにソルボースの発酵性を指標とした分離培地を評価した。特異酵素基質を利用したクロモアガー O26・O157 (SEL) は, 1 枚の平板培地上で主要 3 血清群を簡易鑑別 (O157; 赤系, O26; 緑系, O111; 赤紫系) した。添加回収試験によりクロモアガー O26・O157 (SEL) は供試したいずれの EHEC も 10^3 CFU/g まで検出可能であることを認めた。さらに, 糞便検体からの EHEC 類似コロニー出現率を評価し, O157 偽陽性率は 5.6%, O26 は 2.8%, O111 は 6.8% 出現し, 3 血清群の偽陽性頻度は 15.2% であった。これらの偽陽性株の Enterohemolysin (E-Hly) 産生性を調べたが, すべて陰性であった。本培地と E-Hly 培地を組み合わせることで, EHEC を簡便に鑑別できることが推察された。

Key words: 酵素基質培地, クロモアガー O26・O157, 腸管出血性大腸菌, スクリーニング

序 文

腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*; EHEC) は, ヒトの重症感染症を引き起こす腸管病原性の毒素産生菌である。本菌による疾患は出血性の下痢 (出血性大腸炎: hemorrhagic colitis) を伴い, ひいては溶血性尿毒症 (Hemolytic Uremic Syndrome; HUS) を引き起こす可能性がある。EHEC の主な特徴は, ベロ毒素 (VT) とも呼ばれる志賀毒素 (ST) の産生にある。病原微生物検出情報誌によると, 2008 年の感染症発生動向調査では血清型 O157 の分離頻度は 65%, O26 は 24%, O111 は 4% と報告されており, 3 血清群で全体の 93% を占める。また, EHEC はエンテロヘモリジンと呼ばれる溶血素を産生する特徴が報告されており, 簡易スクリーニング法として国内でも利用されている^{1, 2)}。

平成 20 年 6 月 18 日に大量調理施設衛生管理マニュアル (厚生労働省: 食安発第 0618005 号) が改正され, 調理従事者は月 1 回以上の EHEC 検査を含めた糞便検査を受けることになった。そこで, EHEC O157 検査から EHEC 検査へ移行するにあたり, 多種類の培地 (CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC など) を併用することになった。それに伴い当施設での EHEC 検査はたいへん煩雑な作業となり, 検査の効率化検討は急務とされた。このたび, 酵素基質を利用した鑑別分離培地としてクロモアガー O26・O157 (SEL) が市販されたことから, 本培地の EHEC 鑑別能, 夾雑菌抑制能, 添加回収能などの基礎的評価を行った。さらに, 煩雑な本項目の検査の簡便化について, エンテロヘモリジン血液寒天培地との併用効果についても併せて検討したので報告する。

著者連絡先: (〒444-0875) 岡崎市奄美西 1-9-1
岡崎市医師会公衆衛生センター
富岡政江
TEL: 0564-52-1571
FAX: 0564-53-9099
E-mail: m0ut1w25@yahoo.co.jp

材料と方法

1. 供試菌株ならびに供試検体

本検討に供試した参考菌株ならびに分離株 243 株を Table 1 に示す。EHEC O157; 85 株, O26; 37 株, O111; 15 株, その他の血清型の EHEC 7 株, 大腸菌

Table 1. List of tested strains

Strains	Serovar	Origin	VT	N	Subtotal	
EHEC		ATCC 35150	VT1, 2	1	85	
	O157:H7	Isolates	VT1, 2	13		
			VT2	60		
			VT1	9		
	O157:H-	Isolates	VT1, 2	1	1	
			VT2	1		
	O26:H11	Isolates	VT1, 2	1	29	37
			VT1	29		
	O26:H-	Isolates	VT1, 2	2	5	
			VT1	5		
	O111:H11	Isolate	VT1	1	15	
	O111:H-	Isolates	VT1, 2	4		
			VT1	10		
			VT1	10		
O121:H19	Isolates	VT2	3	7		
O63:H6	Isolate	VT2	1			
O103:H-	Isolate	VT1	1			
O103:H2	Isolate	VT1	1			
O165:H-	Isolate	VT2	1			
		ATCC 25922	—		1	
<i>Escherichia coli</i>	O6:H12	Isolates	—	2	7	
	O18:H7	Isolate	—	1		
	O26:H-	Isolate	—	1		
	O124:H-	Isolate	—	1		
	O157:H-	Isolate	—	1		
			ATCC 29930	—		1
<i>Shigella sonnei</i>		ATCC24570	—	1	3	
<i>S. flexneri</i>		ATCC28520	—	1		
<i>S. flexneri</i>						
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	Typhi	Isolate	—	1	5	
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	Enteritidis	Isolate	—	1		
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	Corvallis	Isolate	—	1		
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	Virchow	Isolate	—	1		
<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>		Isolate	—	1		
<i>Citrobacter freundii</i>		ATCC8090	—	1	84	
<i>Enterobacter cloacae</i>		ATCC13047	—	1		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		NCTC9636	—	1		
<i>K. oxytoca</i>		ATCC13182	—	1		
<i>Enterococcus faecalis</i>		ATCC29212	—	1		
<i>Proteus mirabilis</i>		ATCC29906	—	1		
<i>Candida albicans</i>		ATCC10231	—	1		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		ATCC27853	—	1		
<i>Staphylococcus aureus</i>		ATCC25923	—	1		
<i>Bacillus subtilis</i>		ATCC6633	—	1		
Other bacteria*		Isolates	—	74		
Total						243

* *E. fergusonii* (3), *C. freundii* (6), *E. cloacae* (53), *E. tarda* (1), *K. pneumoniae* (1), *K. oxytoca* (1), *K. ornithinolytica* (1), *P. mirabilis* (1), *P. rettgeri* (1), *P. aeruginosa* (2), *B. subtilis* (1), *S. aureus* (1), *E. faecalis* (1), *C. albicans* (1)

を含むその他の腸内細菌; 99 株を Tryptone Soya Broth (TSB; 関東化学) にて増菌培養し, 以下の検討に供した。

供試検体として, 平成 21 年 11 月 10 日から平成 21 年 11 月 12 日までに当施設に EHEC 検査を依頼された糞便 500 検体を用い, 以下の検討に供した。

2. 菌株を用いた評価培地の集落所見, 発育支持能ならびに発育阻止能試験

代表供試菌株 (各菌種 1 株ずつ) を TSB にて 37°C, 18 時間増菌培養後, 各菌株増菌培養液を滅菌生理食塩水を用い 10^{-1} から 10^{-9} まで 10 段階希釈した。各菌株増菌培養液の希釈系列を用い, Mires & Misra 法³⁾ による培地評価試験を実施した。すなわち, 各菌株増菌培養液の希釈系列より 20 μ l を採取し, 評価培地であるクロモアガー O26・O157 (SEL) (クロモアガー; 関東化学), CT-SMAC (関東化学), ならびに CT-RMAC/CT-SBMAC 分画培地 (A 社) に滴下した。37°C で 18 時間培養後, 発育した菌数を確認した。なお, 各菌株増菌培養液の菌数は Tryptone Soya Agar (TSA; 関東化学) を用いて確認した。集落所見の観察には別途画線塗抹法を用い, 培養開始から 18 時間および 24 時間後に確認した。

3. 評価菌株添加糞便検体を用いた添加回収 (検出能) 試験

糞便検体へ評価株 (EHEC O157, O26, O111) を $10^2 \sim 10^4$ CFU/g となるように接種し, 評価株の添加回収試験を実施した。すなわち, 一昼夜 TSB 増菌培養した評価株増菌培養液を, 滅菌生理食塩水にて 10^{-5} から 10^{-7} に希釈した, 各 10 段階希釈液 0.5 ml を糞便検体 0.5 g とミキサーでよく均一化し, 10 μ l 定量白金耳を用いた画線塗抹培養に供した。37°C にて 18 時間および 24 時間培養後の集落所見を観察

した。疑わしい集落が得られた際は, 5 個まで釣菌し, 病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用い目的菌が検出できたか判定した。なお, 各希釈糞便への添加菌数は TSA にて計測した。

4. 業態者糞便検体を用いた比較検討試験

当施設にて EHEC 検査依頼のあった糞便 500 検体を用い, クロモアガーとエンテロヘモリジン血液寒天培地 (E-Hly; 関東化学) を組み合わせた検査方法における検査効率を評価した。すなわち, クロモアガーによる初代分離培養にて EHEC O157, O26 または O111 を疑う集落の出現率, それら分離株の同定, ならびにそれら分離株のエンテロヘモリジン溶血率を調査した。分離株は, 性状確認培地である TSI 寒天培地 (日水製薬), LIM 培地 (日水製薬), SIM 培地 (栄研化学), VP 半流動培地 (栄研化学), シモンズ・クエン酸ナトリウム培地 (栄研化学) および DN エース培地 (栄研化学) に接種し同定した。従来法で同定不能な菌株は ID テスト EB20 (日水製薬) を用いて同定した。

5. 業態者糞便検体を用いた検出状況調査

平成 21 年 4 月 1 日から平成 22 年 2 月 20 日までの業態者糞便検体 162,166 件において, クロモアガーおよび E-Hly 溶血性試験との組合せによりスクリーニングされた EHEC の検出頻度を調査した。なお, ペロ毒素の検出には Loopamp ペロ毒素タイピング試薬キット (栄研化学) を利用し, 毒素産生株を検出した際には, 病原大腸菌免疫血清を用い血清型別を実施した。

結 果

1. 菌株を用いた評価培地の集落所見, 発育支持能ならびに発育阻止能試験成績
供試菌株すべての集落所見を Table 2 に示す。クロ

Table 2. Colony observation of EHEC on CHROMagar O26・O157 (SEL) and enterohemolysin agar

Strain	Colony observation					No growth	Enterohemolysis	
	Pink-Red	Green	Red-Violet	Violet	Others		Pos	Neg
EHEC O157	84				1*		85	0
EHEC O26		36			1*		37	0
EHEC O111		1	14				15	0
EHEC O121				1		2	3	0
EHEC O63						1	1	0
EHEC O103					1*		1	0
EHEC O165						1	1	0
Other <i>Escherichia coli</i>				2		5	0	7
Other bacteria	3**	1***				88	4	88

* Yellow ocher, ** *Enterobacter cloacae* (2), *Citrobacter freundii* (1), *** *Escherichia fergusonii*

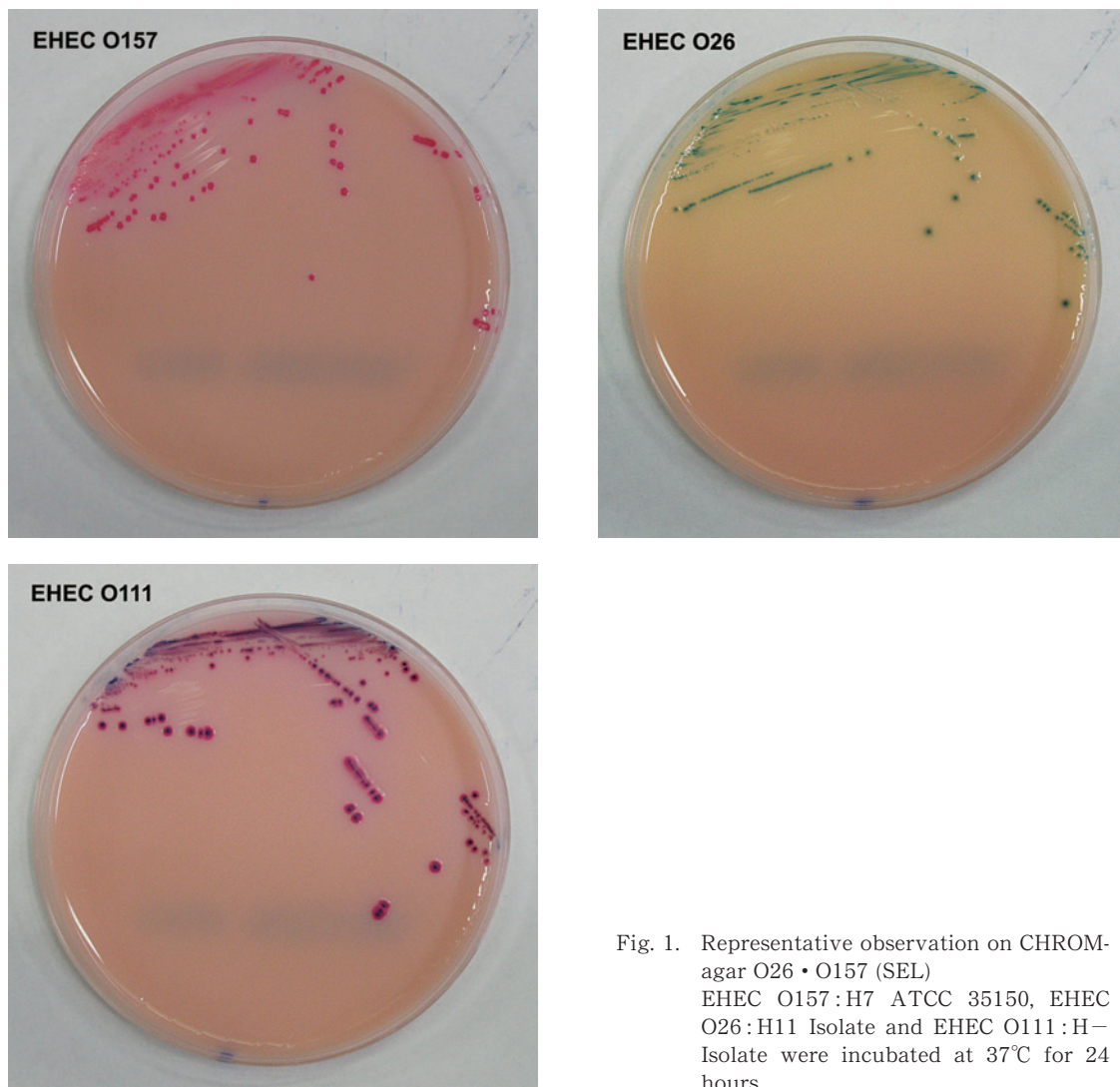


Fig. 1. Representative observation on CHROM-agar O26 • O157 (SEL)
EHEC O157:H7 ATCC 35150, EHEC O26:H11 Isolate and EHEC O111:H- Isolate were incubated at 37°C for 24 hours.

モアガーは EHEC O157 (赤～赤桃色), EHEC O26 (黄土～緑色), EHEC O111 (赤桃～紫色) を特徴的に発色させた (Fig. 1) が, 発色の弱い EHEC O157 と O26 が各 1 株, 緑色に発色する O111 が 1 株認められた。その他の血清型の EHEC 7 株は非発育 5 株, 赤紫色 1 株, 黄土色 1 株であった。また, 集落所見については, 培養時間 18 時間と 24 時間で経時的に色調が濃くなる傾向が認められた。各代表菌株の発育支持能成績を Table 3 に示す。クロモアガーは, 従来用いていた CT-SMAC, CT-RAMC および CT-SBMAC と同等の発育支持能を有していた。一方, 発育阻止能試験成績は *Enterobacter cloacae* の抑制能がクロモアガーおよび CT-SBMAC で劣っていたが, その他の株

では同等の成績が得られた (Table 4)。なお, ペロ毒素非産生の大腸菌 O26 および O157 はいずれの培地にも発育しなかった。

2. 菌株添加糞便検体を用いた添加回収 (検出能) 試験成績

菌株を添加した糞便検体 (疑似陽性検体) を用いて, 目的菌の検出能を比較検討した成績を Table 5 に示す。いずれの評価培地も, 約 10^2 から 10^3 CFU/g にて分離可能であったが, クロモアガーでの検出能が最も高かった。CT-SBMAC では疑わしい集落が多く, 目的菌の検出が困難であった。

3. 業態糞便検体を用いた比較検討試験成績

糞便検体 500 検体をクロモアガーで分離培養し, 疑

Table 3. Recovery rate of CHROMagar O26・O157 (SEL) and conventional culture media with TSA

Tested strains	Origin	Recovery rate (%)			
		CHROM	CT-SMAC	CT-RMAC	CT-SBMAC
EHEC O157:H7	ATCC 35150	76.2	65.8	71.0	80.3
EHEC O157:H7	Isolate	121.0	98.0	102.0	111.0
EHEC O26:H11	Isolate	56.3	32.2	38.0	58.7
EHEC O111:H-	Isolate	100.0	88.3	86.5	96.8

CHROM, CHROMagar O26・O157 (SEL)

Table 4. Inhibitory efficiency of CHROMagar O26・O157 (SEL) and conventional culture media with TSA

Tested strains	Origin	Inhibitory efficiency			
		CHROM	CT-SMAC	CT-RMAC	CT-SBMAC
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>E. coli</i> O6:H12	Isolate	1.8×10 ⁵	1.4×10 ⁵	1.6×10 ⁵	3.8×10 ⁵
<i>E. coli</i> O18:H7	Isolate	1.1×10 ⁵	1.2×10 ⁵	1.0×10 ⁵	3.1×10 ⁵
<i>E. coli</i> O26:H-	Isolate	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>E. coli</i> O157:H-	Isolate	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC13182	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC9636	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC13047	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>E. cloacae</i>	Isolate	1.4×10 ⁵	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	0.8×10 ⁵
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC8090	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>C. freundii</i>	Isolate	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC29906	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>P. aeruginosa</i>	Isolate	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC29212	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)	ND (>10 ⁶)

CHROM, CHROMagar O26・O157 (SEL)

Table 5. Detection of EHEC in fecal samples inoculated with EHEC O157, O26, or O111

Tested strains	CFU/g (EHEC in feces)	Detected from			
		CHROM	CT-SMAC	CT-RMAC	CT-SBMAC
EHEC O157:H7	5.3×10 ⁴	Pos/Pos	Pos/Pos	NT	NT
	5.3×10 ³	Pos/Pos	Pos/Pos*	NT	NT
	5.3×10 ²	Pos/Neg	Neg/Neg	NT	NT
EHEC O26:H11	4.0×10 ⁴	Pos/Pos	NT	Pos/Pos	NT
	4.0×10 ³	Pos/Pos	NT	Pos/Pos	NT
	4.0×10 ²	Pos/Neg	NT	Pos/Neg	NT
EHEC O111:H-	4.8×10 ⁴	Pos/Pos	NT	NT	Pos/Pos
	4.8×10 ³	Pos/Pos	NT	NT	Pos/Neg
	4.8×10 ²	Pos*/Neg	NT	NT	Neg/Neg

CHROM, CHROMagar O26・O157 (SEL); Pos, Positive; Neg, Negative; NT, not tested

* Require the re-isolation to get pure isolate.

Table 6. Detection rate and enterohemolysin production of EHEC-like colonies in fecal samples

	Colony color		
	Red- Pink	Ocher- Green	Pink- Violet
<i>Escherichia coli</i>	4	4	14
Inactive <i>E. coli</i>	3	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	2	10
<i>K. oxytoca</i>	1		5
<i>Citrobacter</i> spp.	7	4	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	2	
<i>E. cloacae</i>	3		1
<i>Proteus mirabilis</i>		1	1
<i>Morganella morganii</i>	1		
<i>Providencia</i> spp.			1
Total (%)	28 (5.6)	14 (2.8)	34 (6.8)
Enterohemolysis (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

N=500

Table 7. Detection rate of EHEC using CHROM-agar O26・O157 (SEL) in fecal samples

No. (%) of strains detected					
EHEC O157	EHEC O26	EHEC O111	Other EHEC*	Total	
8	7	1	6	22	
(0.005)	(0.004)	(0.001)	(0.004)	(0.014)	

N=162,166

* EHEC O145 (2), EHEC O91 (1), EHEC O103 (1), EHEC O121 (1), and untypable EHEC (1)

わしい集落が得られた際に E-Hly 培地による溶血性試験成績を Table 6 に示す。疑い株は集落所見成績より色調幅を考慮し、赤～赤桃色 (EHEC O157), 黄土～緑色 (EHEC O26), 赤桃～紫色 (EHEC O111) を釣菌対象として調査したところ、偽陽性率 15.2%, つづく E-Hly による溶血率は 0% であった。本検討中に EHEC は検出されなかったが、本検査法により毒素試験へ進める頻度は 0% となった。

4. 業態者糞便検体を用いた EHEC 検出頻度

クロモアガーおよび E-Hly 溶血性試験との組合せによりスクリーニングされた EHEC の検出頻度は、22 件/162,166 件 (0.014%) であった (Table 7)。そのうち、EHEC O157 が 8 件 (0.005%), EHEC O26 が 7 件 (0.004%), EHEC O111 が 1 件 (0.001%) であった。また、その他の血清型が 6 件 (0.004%) から分離され、その内訳は EHEC O145 が 2 件、EHEC O91 が

1 件、EHEC O103 が 1 件、EHEC O121 が 1 件、そして型別不能が 1 件であった。

考 察

EHEC 検査には、ソルビトール、ラムノースならびにソルボースの発酵性の違いを利用した選択分離培地である CT-SMAC, CT-RMAC および CT-SBMAC が利用されてきた。しかしながら、本検査項目のために 3 枚もの選択分離培地を併用することは、手技的にも経費的にも困難を要していた。今回検討した酵素基質培地クロモアガーは、ソルビトール、ラムノースならびにソルボースの発酵性に代えて特異酵素基質を利用し、1 枚の平板培地上で主要 3 血清群を簡易鑑別 (O157; 赤系, O26; 緑系, O111; 赤紫系) できるものであった。なお、毒素非産生性の大腸菌として、血清型 O157:H- および O26:H- の検討をしたところ発育しなかった。

EHEC 感染症における糞便中の EHEC 菌量は非常に低いことを想定しておかなければならない。Karmali らの報告⁴⁾では、HUS 患者由来の糞便を用い、MacConkey 寒天培地上に発育したコロニーをランダムに 20 コロニー釣菌したところ、一つも釣菌できなかった事例を 16 症例中 5 例経験している。またこの 5 症例は colony sweep 法にて集めた菌体の Polymixin B 処理後の抽出液よりペロ毒素を検出している。これは分離培地の選択性が高く、目的菌の特徴が明瞭であれば検出できる可能性を示唆している。Iijima らの報告⁵⁾した $D=1-(1-P)^n$ の式 [目的菌の subpopulation, P ; 釣菌数, n ; 検出できる確率, D] を用いると、糞便中における腸内細菌のうち EHEC の占める比率を 20% と仮定すれば、20 コロニー釣菌した場合、ほぼ 99% の確率で検出できる。1% と仮定すれば、20 コロニー釣菌しても 18.2% の確率となり検出は困難となる。釣菌数を 5 コロニーとした場合、さらに検出が困難となることは言うまでもない。また、福島らは EHEC O26 集団感染事例における糞便検体中の本菌濃度を LC-PCR 法を用いて確認したところ、 10^4 CFU/g であった症例を 2 症例認めている⁶⁾。われわれは、選択分離培地上で特徴的なコロニー所見を示す場合、どの程度の菌量まで検出可能か基礎検討を実施したが (Table 5), クロモアガーから釣菌した場合 10^3 CFU/g まで検出可能であることを認めた。クロモアガーは、①腸内細菌の発育阻害能に優れていたこと、② EHEC 鑑別能に優れていたことから裏づけられる。

一方、本培地における糞便検体からの EHEC 類似

コロニー出現率を評価し、O157 偽陽性率は 5.6%、O26 は 2.8%、O111 は 6.8% となり、3 血清群で 15.2% の疑い例が発生した。Beutin らの報告⁷⁾ では EHEC の多くが特徴的に Enterohemolysis を示すことが報告され、わが国の分離株でも確認されている²⁾。われわれは、これらの偽陽性株が Enterohemolysis を示さないことから、本培地と E-Hly 培地を組合せることにより、EHEC を簡便に鑑別できると推察した。実際、本法を利用した約 11 カ月間の検出状況を集計したところ、総検体数 162,166 件のうち 22 件 (0.014%) より EHEC を検出しており、その内訳も EHEC O157 とほぼ同頻度にて EHEC O26 が検出された。これは初代分離培地として用いたクロモアガーが EHEC O26 も簡易鑑別できることによるものと考えられた。クロモアガーにて EHEC の主要血清群を簡易鑑別し、E-Hly 培地にて二次鑑別する方法は、煩雑な本検査の効率化を図れると考えられた。しかしながら、3 血清群以外にも EHEC は検出報告されている。また、われわれの評価株でも発育しない EHEC が認められており、これら EHEC は CT-SMAC や CT-RMAC にも非発育であった (data not shown)。今後、血清型にとらわれずに EHEC を効率的に検出する培養法が望まれる。

文 献

- 1) 木村晋亮, 小崎明子, 佐々木富子, 他. 1998. Beutin 血液寒天培地での溶血性を指標とした腸管出血性大腸菌のスクリーニング. 感染症誌 72: 223-230.
- 2) 金子孝昌, 小川正之, 金子通治. 2002. エンテロヘモリジン血液寒天培地での溶血性を指標とした腸管出血性大腸菌のスクリーニング検査法について. 日臨腸微誌 4-5: 85-88.
- 3) 坂崎利一. 1978. 培地の試験法. p. 201-210, 新細菌培地学講座 (上), 近代出版, 東京.
- 4) Karmali, M. A., M. Petric, C. Lim, et al. 1985. Sensitive method for detecting low numbers of verotoxin-producing *Escherichia coli* in mixed culture by use of colony sweeps and polymyxin extraction of verotoxin. J. Clin. Microbiol. 22: 614-619.
- 5) Iijima, Y., S. Tanaka, K. Miki, et al. 2007. Evaluation of colony-based examinations of diarrheagenic *Escherichia coli* in stool specimens: Low probability of detection because of low concentrations, particularly during the early stage of gastroenteritis. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 58: 303-308.
- 6) 福島 博, 角森ヨシエ. 2005. リアルタイム PCR 法による食中毒菌の迅速スクリーニングの検討. 感染症誌 79: 644-655.
- 7) Beutin, L., M. Montenegro, I. Ørskov, et al. 1989. Close association of verotoxin (shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 27: 2559-2564.

Evaluation of Chromogenic Culture Medium; CHROMagar O26 • O157
(SEL) for Differentiation of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*

Masae Tomioka,¹⁾ Mitsuru Okamoto,²⁾ Kunihiko Nakane,³⁾
Ichirou Toyama,²⁾ Takamasa Kaneko⁴⁾

¹⁾ Okazaki City Medical Association, Tatsuminishi, Okazaki, Aichi 444-0875

²⁾ Tokyo Kenbikyoin Foundation, Takamatsu, Tachikawa, Tokyo 190-8535

³⁾ Okazaki City Public Health Center, Miai, Okazaki, Aichi 444-0802

⁴⁾ Kanto Chemical Co., Inc., Nihonbashi, Chuo-ku, Tokyo 103-0023

CHROMagar O26 • O157 (SEL) is a new chromogenic medium for presumptive identification of clinically important Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157, O26, and O111. We evaluated the use of this chromogenic medium, Cefixime tellurite—Sorbitol MacConkey agar (CT-SMAC), CT-Rhamnose MacConkey agar (CT-RMAC), and CT-Sorbose MacConkey agar (CT-SBMAC) with 144 EHEC isolates. Over 97% of isolates of EHEC O157, O26, and O111 were correctly identified on the basis of colony morphology and color on CHROMagar O26 • O157 (SEL). The detection limits of low numbers of EHEC O157, O26, and O111 in fecal specimens by the CHROMagar O26 • O157(SEL) were 10³ CFU/g for all and not significantly different from the recovery on CT-SMAC, CT-RMAC, and CT-SBMAC. The false positive ratios of presumptively identified as EHEC O157, O26, and O111 on the basis of the color of colonies on CHROMagar O26 • O157 (SEL) were 5.6% (O157), 2.8% (O26), 6.8% (O111), and 15.2% (main three serotype of EHEC), respectively. No enterohemolysis strains were obtained from false positive colonies. Our proposed EHEC screening system for the fecal specimens may be useful as a routine tool.