

[治 験]

3種類の腸管出血性大腸菌分離用発色基質培地の基礎的検討と
クロモアガー STECの有用性角屋勇気¹⁾・梅沢政功¹⁾・山崎 恒¹⁾・岡元 満²⁾・林田瑞穂²⁾・金子孝昌³⁾¹⁾ 医療法人 崇徳会 長岡西病院 臨床検査室²⁾ 財団法人 東京顕微鏡院³⁾ 関東化学株式会社

(平成24年3月6日受付, 平成24年7月19日受理)

腸管出血性大腸菌(*Enterohemorrhagic Escherichia coli*; EHEC)の選択分離培地として、発色基質培地クロモアガー STEC (関東化学), XM-EHEC寒天培地 (日水製薬) および5S+A寒天培地/ViEHEC寒天培地 (栄研化学) を比較した。主な血清型であるO157, O26, O111 (以下本邦主要3血清群) における発育支持能はクロモアガー STEC, 14.2~100%, XM-EHEC, 7.1~85.7%, ViEHEC, 27.6~100%であった。糞便検体からのEHEC疑陽性率は、クロモアガー STEC, 2.7%, XM-EHEC, 19.8%, ViEHEC, 25.6%であり、クロモアガー STECの疑陽性率は低かった。クロモアガー STECの本邦主要3血清群の検出能は100%, さらにペロ毒素産生頻度の高い血清群(O103, O121, O145)においてもすべて藤色集落を形成した。これより、クロモアガー STECは主要EHECのスクリーニング効果が高く、大量調理施設衛生管理マニュアルに則した選択分離培地として有用であることが示唆された。

Key words: 酵素基質培地, クロモアガー STEC, 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)はペロ毒素 (VT, または志賀毒素 stx) を産生する大腸菌である。EHECによる感染症は下痢症, 嘔吐, 腹痛などの臨床症状呈するばかりでなく, ペロ毒素による溶血性尿毒症性症候群, 脳症などの合併症を引き起こすヒトの重症感染症起因菌である^{1)~4)}。本邦における最も代表的な血清型はO157:H7で, このほかO26:H11, O111:H-などが比較的高頻度に認められている。本邦ではまれであるが, ペロ毒素産生頻度の高い血清群としてO103, O121, O145なども報告されている⁵⁾。

平成20年6月18日には, 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, EHEC O157検査からEHEC検査への移行が急務とされた。このような状況のなか, 発色基質を利用したEHEC鑑別分離培地としてクロモアガー STEC (関東化学), XM-EHEC寒天培地 (日水製薬) をそして5S+A寒天培地/ViEHEC寒天培地 (栄研化学) が市販され, これら培地の有用性について集落の発色所見と発育支持能, 夾雑菌抑制能, 食品業態者糞便検体を用いた比較検討試験, EHEC疑似陽性便を用いた検出能試験, などの基礎的評価を行った。さらにクロモアガー STECについては, 保存菌株を用いた発育試験, ならびに食品業態者糞便検体を用いた検出状況調査を検討したので報告する。

材料と方法

被検培地としてクロモアガー STEC (Lot No. OT0921), XM-EHEC寒天培地 (Lot No. 008), および5S+A寒天培地/ViEHEC寒天培地 (Lot No.09004) を用い, EHECの発育集落の発色所見と発育支持能, ならびにEHEC以外の菌の発育抑制能試験を実施した。5S+A寒天培地/ViEHEC寒天培地の5S+A寒天培地はSS培地の改良培地であり, 本論文での比較対照は

著者連絡先: (〒940-2081) 新潟県長岡市三ツ郷屋町
371番地1

医療法人 崇徳会 長岡西病院 臨床検査室
角屋勇気

Tel: 0258-27-8500

Fax: 0258-27-8509

E-mail: nagaokanishi-lab275@sutokukai.or.jp

ViEHEC寒天培地のみである。

本検討に供試した標準株ならびに臨床分離株316株をTable 1に示す。EHEC 225株 (O157; 86株, O26; 38株, O111; 18株, O103; 7株, O121; 8株, O145; 5株, その他の血清型のEHEC 63株), 大腸菌を含む腸内細菌とその他の細菌, 計91株を用いトリ・ソイ血液寒天培地 (ヒツジ) No. 2 (極東製薬) にて35°C, 24時間前培養し, 以下の検討に用いた。

1. 保存菌株を用いた被検培地の集落所見

集落の発色所見には標準株1株 (EHEC O157; ATCC35150) と臨床分離株9株 (EHEC 9株; O157 3株, O26 3株, O111 3株) の合計10株を用い, 前培養した供試菌を滅菌生理食塩水にてMcFarland No. 0.5に調製し, それぞれの被検培地に10 µlの定量白金耳にて画線塗抹し, 35°C, 24時間培養後に集落の色調を目視で判別した。

2. 保存菌株を用いた発育支持能試験

発育支持能には, 標準株1株 (EHEC O157; ATCC35150) と臨床分離株9株 (EHEC 9株; O157 3株, O26 3株, O111 3株) の合計10株を用い, Miles & Misra法⁶⁾による培地評価試験を実施した。すなわち, 前述のMcFarland No. 0.5に調製した10株の菌調製液100 µlを滅菌生理食塩水900 µlにて10倍希釈し段階的に 10^{-1} から 10^{-9} まで希釈した。各菌株調製液の希釈系列より20 µlを採取し, 対照培地であるドリガルスキー改良培地Blue (栄研化学), 被検培地であるクロモアガー STEC, XM-EHEC, ViEHECに滴下した。35°Cで24時間培養後, 発育した菌数を算定した。なお, 発育支持能試験成績は被検培地2枚の平均値を用いて算出した。各菌株調製液の菌数はドリガルスキー改良培地にて算出した菌量に対する, 被検培地の菌量を百分率で算出した。

3. 保存菌株を用いた夾雑菌発育抑制能試験

夾雑菌発育抑制能試験には標準株11株 (腸内細菌6株, その他細菌5株) ならびに臨床分離株15株 (腸内細菌10株, その他細菌5株) をそれぞれ1株ずつ血液寒天培地に前培養後, 発育支持能試験と同様にMiles & Misra法に準じて評価した。

4. 供試菌株添加糞便検体 (疑似陽性便) を用いた検出能試験

糞便検体へ前述の発育支持能試験に供試した標準株1株 (EHEC O157; ATCC35150) と臨床分離株3株 (EHEC 3株; O157, O26, O111) の合計4株を 10^2 ~ 10^4 CFU/gとなるように接種した。ドリガルスキー改良培地Blueを対照とし, 各被検培地における供試菌株の検出能試験を実施した。前述の発育支持能試験に供試した

10^2 ~ 10^4 CFU/mlの菌株調製液0.5 mlと糞便検体0.5 gをミキサーでよく均一化し, 10 µl定量白金耳を用い画線塗抹培養した。35°Cにて24時間培養後の集落の数と色調を目視で判別した。

5. 食品業態者糞便検体を用いた比較検討試験

平成23年1月17日から平成23年2月28日までに長岡西病院にて食品業態者糞便検査依頼のあった糞便324検体を用い, クロモアガー STEC, XM-EHEC, ViEHECへ10 µl定量白金耳を用い画線塗抹培養し, 各被検培地からの釣菌数と, 総検査件数からEHEC疑陽性率 (EHEC疑陽性検体数/検体数) を調査した。なお, 発育したEHECを疑う集落は, それら分離株の同定, ならびにエンテロヘモリジン血液寒天培地 (E-hly培地, 関東化学) における溶血性を調査した。EHECを疑った分離株は, 性状確認培地であるIKL寒天培地 (栄研化学), LIM培地 (極東製薬), VP半流動培地 (極東製薬), シモンズ・クエン酸ナトリウム培地 (栄研化学) およびメラールギニン培地 (栄研化学) を用いた用手法同定を常法に従い実施した⁷⁾。同定が困難な菌株はマイクロスキャンパネルNeg Combo 6.11J (SIEMENS) を併用した。従来法で同定不能な菌株は属レベルまでの同定とした。

6. クロモアガー STECにおける保存菌株を用いた発育試験

Table 1にて供試した標準株ならびに臨床分離株316株をクロモアガー STEC に10 µl定量白金耳を用いた画線塗抹培養を行い, 35°Cにて24時間培養後のEHEC集落の色調を目視で判別し, 発育集落へのUV照射試験を実施した。ペロ毒素のスクリーニング培地であるE-hly培地における溶血性確認試験も併せて実施した。

7. 食品業態者糞便検体を用いた検出状況調査

平成22年10月16日から平成23年6月11日までの東京顕微鏡院にて提出された食品業態者糞便検体228, 829件をEHEC検査対照とした。クロモアガー STECから分離されたEHEC菌株数よりEHEC検出率 (検出株数/検査総件数) を算出した。なお, ペロ毒素の検出にはLoopampペロ毒素タイプング試薬キット (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O型別を実施した。

結 果

1. 菌株を用いた被検培地の集落所見成績

供試菌株の集落所見をFig. 1に示す。クロモアガー STECはEHEC O157, EHEC O26, EHEC O111を特徴的に藤色~紫色に発色させ, EHEC O157以外はUV照

Table 1. List of tested strains

Strains	Serover	Origin	VT	N	Subtotal	
EHEC	O157 : H7	ATCC 35150	VT1, 2	1	86	
		Isolates	VT1, 2	14		
			VT2	60		
			VT1	9		
	O157 : H-	Isolates	VT1, 2	1	1	
			VT2	1		
	O26 : H11	Isolates	VT1, 2	1	38	
			VT1	30		
			VT1, 2	2		
	O26 : H-	Isolates	VT1	5	1	
			VT1	5		
	O111 : H11	Isolate	VT1	1	18	
			VT1, 2	4		
	O111 : H-	Isolates	VT1	13	7	
			VT1	13		
	O103 : H-	Isolates	VT1	2	7	
			VT1	4		
			VT1	1		
	O103 : H2	Isolates	VT1	4	1	
			VT1	1		
O103 : H11	Isolate	VT1	1	8		
		VT1	1			
O121 : H19	Isolates	VT2	7	8		
		VT2	1			
O121 : H14	Isolate	VT2	1	5		
		VT2	1			
O145 : H-	Isolates	VT2	3	5		
		VT2	1			
O145 : H NT	Isolates	VT1	1	63		
		VT1	1			
Others*	Isolates	VT1, 2	3	63		
		VT2	18			
		VT1	42			
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 25922	-	1	7	
		O6 : H12	Isolates	-		2
		O18 : H7	Isolate	-		1
		O26 : H-	Isolate	-		1
		O124 : H-	Isolate	-		1
		O157 : H-	Isolate	-		1
<i>Klebsiella oxytoca</i>		ATCC13182	-	1	84	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		NCTC9636	-	1		
<i>Enterobacter cloacae</i>		ATCC13047	-	1		
<i>Citrobacter freundii</i>		ATCC8090	-	1		
<i>Proteus mirabilis</i>		ATCC29906	-	1		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		ATCC27853	-	1		
<i>Bacillus subtilis</i>		ATCC6633	-	1		
<i>Staphylococcus aureus</i>		ATCC25923	-	1		
<i>Enterococcus faecalis</i>		ATCC29212	-	1		
<i>Candida albicans</i>		ATCC10231	-	1		
Other bacteria**		Isolates	-	74		
Total						316

NT, not tested; OUT, 0-untypeable

* O1 (2), O8 (1), O22 (1), O25 (1), O41 (1), O63 (3), O76 (2), O91 (26), O113 (2), O115 (4), O118 (1), O119 (1), O128 (1), O130 (1), O143 (1), O148 (1), O150 (1), O165 (7), OUT (5)

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

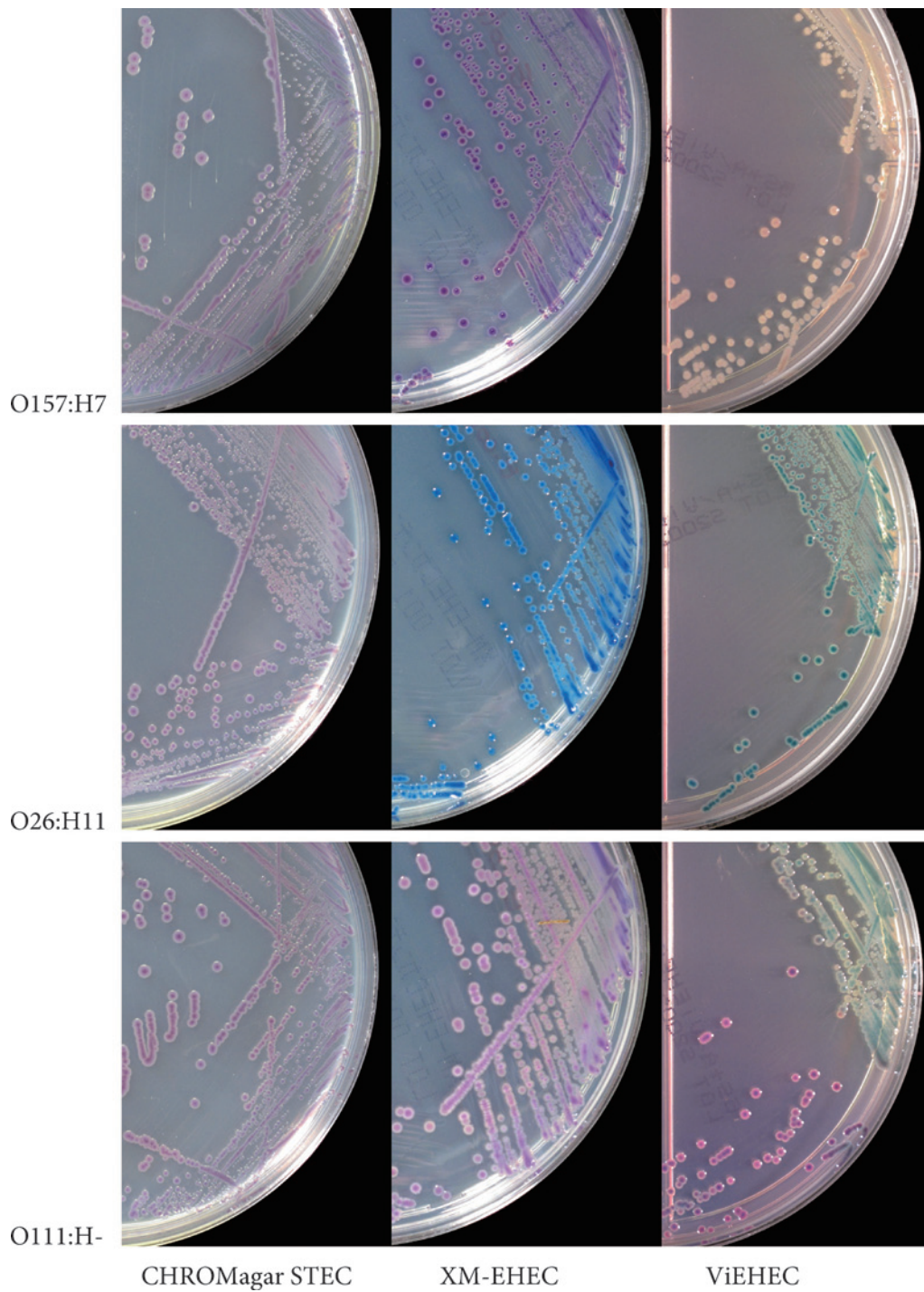


Fig. 1. Representative observation on CHROMagar STEC, XM-EHEC and ViEHEC
EHEC O157 : H7 ATCC 35150, EHEC O26 : H11 isolate and EHEC O111 : H- isolate were incubated at 35°C for 24 hours.

Table 2. Recovery rate of CHROMagar STEC, XM-EHEC and ViEHEC with Modified DRIGALSKI agar Blue

Tested strains		Recovery rate (%)		
		CHROM	XM-EHEC	ViEHEC
EHEC O157 : H7	ATCC 35150	80.4	53.6	69.3
	Isolate 1	14.2	7.1	27.6
	Isolate 2	40.7	47.3	31.3
	Isolate 3	94.4	83.3	100
EHEC O26 : H11	Isolate 1	77.2	24.1	79.7
	Isolate 2	81.0	64.0	89.0
	Isolate 3	100	85.7	85.7
EHEC O111 : H-	Isolate 1	100	57.5	97.5
	Isolate 2	78.3	78.3	87.0
	Isolate 3	54.7	49.3	56.0
Mean		72.1	55.0	72.3

CHROM, CHROMagar STEC

射下で蛍光を示した。XM-EHECはEHEC O157を紫色、EHEC O26を青色、そしてEHEC O111を白～桃色（褐色系）に、ViEHECではO157を透明～茶色、EHEC O26を青色、そしてEHEC O111を薄いピンク～紫色に発色させた。

2. 発育支持能成績

各供試菌株の発育支持能成績をTable 2に示す。クロモアガー STEC, XM-EHEC, ならびにViEHECにおける発育支持能はEHEC O157でそれぞれ14.2～94.4%, 7.1～83.3%, 27.6～100%, EHEC O26で77.2～100%, 24.1～85.7%, 79.7～89.0%, EHEC O111で54.7～100%, 49.3～78.3%, 56.0～97.5%であった。

3. 夾雑菌発育阻止能試験成績

3種の被検培地にて供試菌株のほとんどが非発育であった。クロモアガー STECのみで*Enterobacter cloacae*が 1.1×10^5 CFU/mlの濃度で発育を認めたが、青色のコロニーであり鑑別は可能であった。なお、ベロ毒素非産生のO157およびO26はいずれの培地にも発育しなかった。

4. 供試菌株添加糞便検体（疑似陽性便）を用いた検出能試験成績

疑似陽性便を用いて、目的菌の検出能を比較検討した成績をTable 3に示す。クロモアガー STECならびにXM-EHECは約 $10^2 \sim 10^3$ CFU/gの濃度にて検出可能であったが、ViEHECにおいてはすべて 10^2 CFU/gでは検出できず、約10倍検出感度が低い成績となった。

5. 食品業態者糞便検体を用いたEHEC疑陽性率

クロモアガー STECにおけるEHEC疑陽性件数および疑陽性率は9件、2.7%、XM-EHECは64件、19.8%、

ViEHECは83件、25.6%であった。またE-hly培地はすべて溶血性を認めなかった（Table 4）。XM-EHECおよびViEHECは、O111を疑う集落の出現が多く（それぞれ10.5%, 17.0%）、その大半が*E. coli*, *Enterobacter*属, *Klebsiella*属菌であった。

6. クロモアガー STECにおける保存菌株を用いた発育試験成績

本邦主要血清群（O157, O26, O111）の発育を支持し、かつEHEC疑陽性率の低かったクロモアガー STECを用いて、さまざまな血清型のEHEC集落所見を確認した。本邦主要血清群以外に、ベロ毒素産生頻度の高い血清群（O103, O121, O145）のすべてが典型的な発育所見（藤色）を示した。しかし、まれな血清型のEHECは63.5%が非発育を示した（Table 5）。

7. 食品業態者糞便検体を用いたEHEC検出頻度

EHECの検出数は、16件（0.007%；16/228,829）であった。内訳は、EHEC O157が1件（0.0004%）、EHEC O26が8件（0.0035%）、その他の血清型が7件（0.0031%）であった。

考 察

EHECの血清型は多種にわたるが、本邦における最も代表的な血清型はO157:H7で、このほかO26:H11, O111:H-などが比較的高頻度に認められている。主要3血清群を鑑別分離培養できる3社市販培地の基礎検討成績は、発育支持能ならびに発育阻止能ともほぼ同等の成績を得た。一方、食品業態者糞便検査における比較検討では、XM-EHECならびにViEHECにて目的菌と類似色を示す*E. coli*, *Enterobacter*属、

Table 3. Detection of EHEC in fecal samples inoculated with EHEC O157, O26, or O111

Inoculated strains	CFU/g (EHEC in feces)	Detection from				
		DRIGALSKI	CHROM	XM-EHEC	ViEHEC	
EHEC O157 : H7	ATCC 35150	3.8×10 ²	Pos	Pos (16)	Pos (16)	Neg
		3.8×10 ³	Pos	Pos	Pos	Pos
		3.8×10 ⁴	Pos	Pos	Pos	Pos
	Isolate	2.1×10 ²	Pos	Neg	Neg	Neg
		2.1×10 ³	Pos	Pos (15)	Pos (23)	Pos (5)
		2.1×10 ⁴	Pos	Pos	Pos	Pos
EHEC O26 : H11	Isolate	2.0×10 ²	Pos	Pos (10)	Pos (11)	Neg
		2.0×10 ³	Pos	Pos	Pos	Pos
		2.0×10 ⁴	Pos	Pos	Pos	Pos
EHEC O111 : H-	Isolate	2.0×10 ²	Pos	Pos (20)	Pos (5)	Neg
		2.0×10 ³	Pos	Pos	Pos	Pos
		2.0×10 ⁴	Pos	Pos	Pos	Pos

CHROM, CHROMagar STEC; DRIGALSKI, Modified DRIGALSKI agar Blue; Pos, Positive; Neg, Negative
The numbers in parenthesis are the numbers of colonies from evaluated culture media.

Table 4. Detection rate and enterohemolysin production of EHEC-like colonies in fecal samples

N=324

	Colony color of							
	CHROMagar STEC		XM-EHEC			ViEHEC		
	Mauve MUG (-)	Mauve, MUG (+)	Violet	Blue	Pale pink/ Pink	Clear/ Brown	Green/ Blue	Pale pink/ Violet
<i>Escherichia coli</i>	1	4	3	1	2	3	2	14
<i>Enterobacter cloacae</i>	1		7		9	1		15
<i>E. agglomerans</i>			3		2			4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1		6		12	1		13
<i>K. oxytoca</i>			7		5		1	5
<i>Citrobacter</i> spp.	1		3		1			4
<i>Proteus mirabilis</i>		1				1		
<i>P. vulgaris</i>					1	7		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					2	6		
<i>Pseudomonas</i> spp.						4		
<i>Acinetobacter</i> spp.						1		
<i>Staphylococcus aureus</i>						1		
Subtotal (%)	4 (1.2)	5 (1.5)	29 (9.0)	1 (0.3)	34 (10.5)	25 (7.7)	3 (0.9)	55 (17.0)
Total (%)	9 (2.7)		64 (19.8)			83 (25.6)		
Enterohemolysis (%)	0 (0.0)		0 (0.0)			0 (0.0)		

MUG, 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide; +, positive; -, negative

*Klebsiella*属が多く分離され(それぞれ19.8%, 25.6%), 検査が煩雑化することが推察された。クロモアガー STECについては, 菌株を用いた基礎検討成績ならびに EHEC 発育支持能, 夾雑菌発育抑制能, 食品業態者糞便検体における EHEC 疑陽性率ともに良好な成績を

示した。ペロ毒素産生頻度の高い血清群として O157, O26, O103, O111, O121, O145 が報告されている⁵⁾。本血清群についてもクロモアガー STEC にて集落所見を確認したところ, すべてが藤色コロニーを形成した (Table 5)。

Table 5. Colony observation of EHEC on CHROMagar STEC and enterohemolysin agar

Strain	Colony observation				No growth	Enterohemolysis	
	Mauve MUG(-)	Mauve, MUG(+)	Blue	Clear		Pos	Neg
EHEC O157	86					86	0
EHEC O26		38				38	0
EHEC O111		18				18	0
EHEC O103		7				7	0
EHEC O121		8				8	0
EHEC O145		5				5	0
Other EHEC		23			40	63	0
Other <i>Escherichia coli</i>			2		5	0	7
Other bacteria			3*	1**	80	4	80

MUG, 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide; +, positive; -, negative; Pos, Positive; Neg, Negative

* *Enterobacter cloacae* (2), *Citrobacter freundii* (1) ** *Escherichia hermannii* (1)

病原微生物検出情報によると2010年のEHEC O157は1,078件、EHEC O26は305件、その他のEHECは211件であり、それぞれの検出頻度は67.6%、19.1%、そして13.2%である。われわれの調査では、EHEC O157は1件(0.0004%)、EHEC O26は8件(0.0035%)、そしてその他のEHECは7件(0.0031%)であり、EHEC O157以外の検出頻度が非常に高い成績となった。これは、これまで用いられてきたCT-SMACと異なり、主要EHECに対する発色基質を利用した本培地がO157以外のEHECも典型的な藤色コロニーにて識別できることに起因していると推察された。また、エンテロヘモリジン血液寒天培地を用いたスクリーニング法が国内外ともに高い評価を得ている^{8), 9)}。われわれも、クロモアガー STECとの組み合わせ効果を確認したところ、本培地で偽陽性を示した9株すべてが溶血性を認めず、かつ供試したすべてのEHECがenterohemolysisを示したことから、本培地と組み合わせることにより有用性が高いことを再認識した。

一方、今回の検討にはまれな血清型のEHECも用い発育性を確認しているが、その63.5%が非発育を示した。腸管感染症ガイドラインにはEHECの定着因子として腸粘膜接着因子インチミンの遺伝子*eaeA*の存在を示している¹⁰⁾。Fukushimaらは、各種血清型EHECと垂テルル酸感受性、および*eaeA*の保有EHECとCT-SMACにおける発育性との関連について報告¹¹⁾しており、特に主要血清群(O157, O26, O111, O103, O121, O145)以外の血清型で垂テルル酸感受性株が多い傾向を示している。また、Tzschoppeらはクロモアガー STECに非発育を示した菌株は*terB*遺伝子が陰性であったと報告している¹²⁾。おそらく、クロモアガー STECには選択剤として垂テルル酸に類似した物質が

用いられており、今回非発育を示したまれな血清型には垂テルル酸感受性株が多かったのではないかと推察された。実際、垂テルル酸に対する感受性試験は実施していないが、これら非発育を示した株はCT-SMAC寒天培地でも発育を示さなかった(data not shown)。また、2010年にはドイツを中心とした欧州にて腸管凝集性大腸菌に志賀毒素(*stx*)遺伝子がバクテリオファージを介して腸管出血性大腸炎を起こす菌となったO104が流行した。O104は有機栽培された野菜を感染源とし、その流行は欧米や北米で50人以上の死者と4,400人以上の感染者を出すこととなった。クロモアガー STECにおいてはTzschoppeらが発育することを報告したが¹²⁾、*stx*遺伝子は今後同様の機序によって大腸菌のみならず他の腸内細菌属にも入り込む可能性がある。

これらのことから、嘔吐や下痢の症状を持つ有症者の臨床糞便検体においては、垂テルル酸などの選択剤によらない検査法の導入が必要と考えられた。ペロ毒素に対するモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を用いたオーソ・VT1/VT2 (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティック) などのELISA法によるペロ毒素直接検出法や、Loopamp腸管出血性大腸菌検出試薬セット (栄研化学) によるEHEC直接検出法なども利用し、まれな血清型のEHECにも対応していくことが必要であると再確認された。富岡らの報告¹³⁾にもあるが、選択分離培地を利用するに当たり、使用分離培地の基本性能をよく理解したうえで最良の使用方法を構築する必要がある。このたびの検討結果より、クロモアガー STECは主要EHECを高感度に鑑別できるが一部のEHECで非発育を示すことが認められたことから、有症者の糞便検査においては、何らかの

非選択培地の併用，ペロ毒素の免疫学的検出法の利用などが必要と考えられた。

今回，腸管出血性大腸菌分離用発色基質培地の基礎的検討を行い，クロモアガー STECは食品業者糞便検体のスクリーニング培地としては十分活用できるものと考えられた。

文 献

- 1) Edelman, R., M. A. Karmali, P. A. Fleming. 1988. From the National Institutes of Health. Summary of the International Symposium and Workshop on Infections due to Verocytotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli*. J. Infect. Dis. 157: 1102-1104.
- 2) Karmali, M. A., M. Petric, C. Lim, et al. 1985. The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. J. Infect. Dis. 151: 775-782.
- 3) Pai, C. H., N. Ahmed, H. Lior, et al. 1988. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: A two-year prospective study. J. Infect. Dis. 157: 1054-1057.
- 4) Riley, L. W., R. S. Remis, S. D. Helgerson, et al. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N. Engl. J. Med. 308: 681-685.
- 5) Gyles, C. L. 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview. J. Anim. Sci. 85: E45-E62.
- 6) 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.
- 7) 土屋俊夫, 池戸正成, 石塚 巖, 他. 1991. 臨床材料より分離されるグラム陰性桿菌同定への手引き. p. 1-178. 栄研化学株式会社
- 8) Beutin, L., M. Montenegro, I. Φrskov, 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.
- 9) 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.
- 10) 浅利誠志, 平瀉洋一, 阿部美知子, 他. 2010. 腸管感染症検査ガイドライン. p. 17-21. 日臨微誌
- 11) Fukusima, H., K. Hiroshina, M. Gomyoda. 2000. Selective isolation of *eae*-positive strains of shigatoxin-producing *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 38: 1684-1687.
- 12) Tzschoppe, M., A. Martin, L. Beutin. 2012. A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104: H4 strain from ready-to-eat vegetables. Int. J. Food. Microbiol. 152: 19-30.
- 13) 富岡政江, 岡元 満, 中根邦彦, 他. 2010. 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. 日臨微誌 20: 33-40.

Comparison of Three Chromogenic Culture Medium for Differentiation of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), and Availability of CHROMagar STEC for EHEC Carrier-Screening

Yuuki Sumiya,¹⁾ Masanori Umezawa,¹⁾ Hiroshi Yamazaki,¹⁾ Mitsuru Okamoto,²⁾ Mizuho Hayashida,²⁾ Takamasa Kaneko³⁾

¹⁾ Nagaoka-Nishi Hospital

²⁾ Tokyo Kenbikyoin Foundation

³⁾ Kanto Chemical Co., Inc.

Chromogenic medium CHROMagar STEC and XM-EHEC and ViEHEC were evaluated as selective isolation media for enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). The growth support abilities (percentages) of three sera groups mainly in Japan (O157, O26, O111) were 14.2-100% in CHROMagar STEC, 7.1-85.7% in XM-EHEC, and 27.6-100% in ViEHEC. The EHEC-similar colony appearance rates in fecal samples were 2.7% in CHROMagar STEC, 19.8% in XM-EHEC, and 25.6% in ViEHEC. These findings indicated that CHROMagar STEC showed the highest specificity for EHEC. The detection sensitivity of CHROMagar STEC for the main three sera groups was 100%. Moreover, outbreaks have been reported, and mauve colonies were formed in all tested strains with O157, O26, O111, O103, O121, and O145, which are believed to be highly associated with disease. These results indicated that CHROMagar STEC had sufficiently high sensitivity and specificity that it would be suitable medium on the theme of carrier-screening for EHEC.