

## 第1回微生物検査研究班研修会 (2008年4月19日)

### 好気性グラム陰性桿菌の鑑別・同定と確認培地

- 数値同定とあわせて -

#### 極東製薬工業株式会社

営業本部附グループマネージャー待遇  
兼 研究開発部テクニカルアドバイザー

(~SEP. 15, 2008)

江成 博

E mail ; enari@kyokutoseiyaku.co.jp

### はじめに 「用語の定義」から・・・

- 「**鑑別**」；特定項目に着目して、その判別をおこなうこと、あるいは、菌株（集落）間の**異同を見分ける**こと。平板培地、確認培地、その他の試薬、物理的方法など、多様な手段が用いられる。
- 「**確認培地**」；釣菌した菌株について**特定の性状（生化学的性状、運動性、酵素活性など）を観察するための培地**。（例；TSI、LIM、SC、VP、SIM、CLIG など）
- 「**同定**」；既に記載(分類)されている微生物のなかで、「**記載されているどの微生物と同一であるかを決定する作業**」であり、「**分類・命名**」とは異なる。

## 「確認培地」の用途

- 主に臨床微生物検査で分離される腸内細菌(*Enterobacteriaceae*)の鑑別に使用される。
- 現在、自動機器や簡易同定キットが同定に使用されるが、菌種によっては、誤同定がおこるため、確認培地の併用が必要である。
- また、確認培地でも同定可能な場合もあり、コスト面からも確認培地を多用する施設がある。
- 1996年に開発した CLIG 寒天培地は EHEC O157 用としてではなく、*Escherichia coli* の確認培地として有用であり、さらに Cellobiose 発酵能が確認できる唯一の確認培地であることから、*Vibrio vulnificus* などの鑑別にも利用される。(NaCl の追加が必要)

## 腸内細菌とその他のグラム陰性桿菌

腸内細菌(*Enterobacteriaceae*)とは、下記で定義される菌群であり、「腸内に生息する菌群」を意味するわけではない。この菌群には病原菌として重要な菌種が含まれている。

- 好気性(通性嫌気性)のグラム陰性桿菌。
- 周毛性の鞭毛による運動性を有するものと、鞭毛を持たず運動性を示さない菌種(*Klebsiella* spp.、*Shigella* spp. など)がある。
- ブドウ糖を発酵する。(⇔非発酵菌; *Pseudomonas aeruginosa*)
- オキシダーゼ試験は陰性であり、硝酸塩を亜硝酸に還元する。(例外; *Plesiomonas shigelloides* はオキシダーゼ陽性)

## TSI 寒天培地

(Triple Sugar Iron agar)

腸内細菌などの鑑別・同定において LIM、SC などと併せ、繁用される確認培地

- 本培地では高層部で GLU の発酵と H<sub>2</sub>S 産生と gas の産生、斜面部で LAC・SUC の発酵を観察する。
- 腸内細菌における硫化水素産生性は **TSI で定義**される。
- 腸内細菌は GLU 発酵性のため、高層部は常に **A(acidic;酸性)** となるのに対し、**N(neutral;無変化)** は腸内細菌ではない。**(K;alkaline:アルカリ性)**

TSI での結果の記載例；

K/AG, + (典型的な *Salmonella* sp.)

A/AG, - (典型的な *E. coli*)

K/A, - (典型的な *Shigella* sp.)

## LIM 培地

(Lysine Indole Motility medium)

- 本培地では、リジンデカルボキシラーゼ産生性、インドール産生性、運動性を観察する。
- リジンが供試菌のリジンデカルボキシラーゼにより脱炭酸された結果できる **カダベリン**により pH が上昇し培地全体が紫色に変化する。
- TSI 寒天培地と組み合わせることにより *Salmonella* spp. と *Citrobacter* spp.、*Shigella* spp. と *Escherichia coli* の鑑別をおこなう。

## SIM 培地

(Sulfide Indole Motility medium)

- 本培地では、硫化水素産生性、インドール産生性、IPA、運動性を観察する。
- 本培地で見られる硫化水素産生は TSI 寒天の結果と同一でない場合がある。
- IPA 反応は *Proteus spp.*、*Morganella spp.*、*Providencia spp.* が陽性で、他の腸内細菌は陰性を示す。

## SC 培地

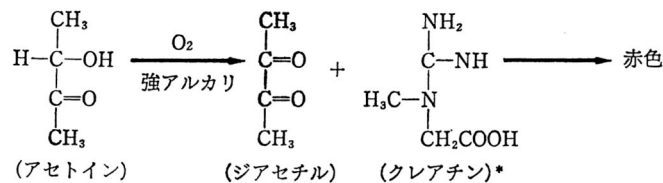
(Simmon's Citrate agar)

- 本培地は、供試菌が窒素源としてアンモニウム塩のみの存在下で、クエン酸ナトリウムを、唯一の炭素源として利用できるか、否かを確認する。
- 一般に *Salmonella spp.*、*Citrobacter spp.*、*Klebsiella spp.*、*Enterobacter spp.*、*Providencia spp.* は陽性であり、*E. coli*、*Shigella spp.* は陰性を示す。

## VP 培地

(Voges-Proskauer medium)

- *Klebsiella* spp、*Enterobacter* spp.、*Serratia* spp.(いわゆるKES) などの鑑別に用いる。
- 本培地で acetoin (acetylmethylcarbinol) が証明されれば VP 陽性である。VP 陽性株の多くは MR(Methyl Red) test 陰性である。



\*Guanidino group の一種

坂崎利一、他.新細菌培地学講座<第二版>-下Iより

## CLIG 寒天培地

(Cellobiose Lactose Indole β-D-Glucuronidase agar)

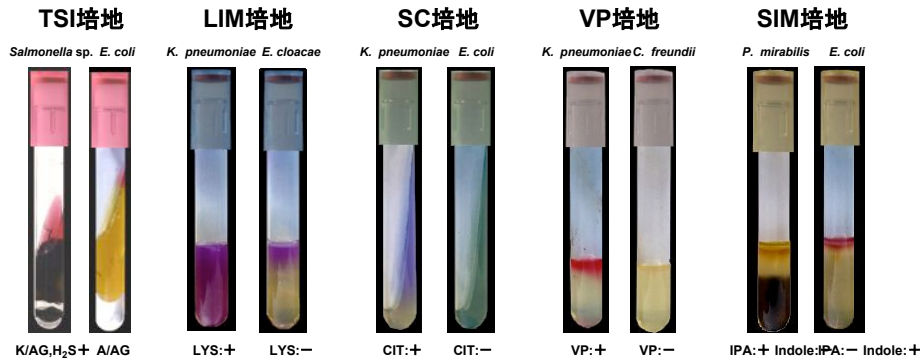
腸管出血性大腸菌(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*; EHEC) O157 の集団事例時、当局からの要請により、既存の LIG 寒天培地に Cellobiose を添加した培地。SIB/CLIG は EHEC O157 の検索に適する。

- 特徴；通常、*E. coli* は本培地で K/A、+、+(斜面/高層、Indole、MUG \*)となるが、EHEC O157 では K/A、+、-となる。\*；MUG: 4-Methylumbelliferyl-β-D-glucuronide の略記
- EHEC O157 と同様に Sorbitol 陰性を示す *E. hermannii* は抗 O157 血清に凝集するため、EHEC O157 と誤認されるが、本培地では A/A、+、-となるため、鑑別が容易である。

(斜面/高層、indole、MUG) の所見の記載について

A は酸(acidic)、K はアルカリ化(alkaline)、Indole は + or - を記載し、MUG は 365nm UV 照射下で青色蛍光は + と記載する。なお、TSI とは異なり、CLIG では 高層部が N(無変化；neutral)となる場合がおこる。(Lactose 非発酵、または遅発酵)

## 腸内細菌確認用培地



Species	LAC	SUC	Gas(GLU)	H <sub>2</sub> S	LYS	IND	CIT	VP	PDA(IPA)	MOT
<i>Citrobacter freundii</i>	78	89	89	78	0	33	78	0	0	89
<i>Enterobacter cloacae</i>	93	97	100	0	0	0	100	100	0	95
<i>Escherichia coli</i>	95	50	95	1	90	98	1	0	0	95
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	98	99	97	0	98	0	98	98	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	15	96	98	0	2	65	50	98	95
<i>Salmonella</i> Group I most serotypes	1	1	96	95	98	1	95	0	0	95

Manual of Clinical Microbiology(ASM 9' Ed.) より

## 腸管出血性大腸菌 O157 と関連腸内細菌



左の写真は厚生省通知に記載された CLIG 寒天培地で、上側は通常光照明、下は紫外線照射下である。

左から4本目が O157、左端から O121、O111、O26 であり、いずれもペロ毒素産生性大腸菌である。

また右端から2本目と3本目はペロ毒素を産生しない大腸菌、右端はプロテウス、右から4本目は当時、しばしば O157 と誤認された *E. hermannii* であるが、CLIG 寒天培地では明瞭に区別できる。

## 菌種の同定について

「同定」とは、既知の、「どの菌種と同一であるか」を決定する作業であり、分類・命名の作業とは異なる。

- 同定に供試される菌株は純培養であることが前提
- フローチャートによる同定；各種の教科書、マニュアルに記載されている。
- 数値同定；いわゆる簡易同定キット、自動機器に採用され、もっとも多く使用されている。
- DDH による同定

ここでは「フローチャート」と「数値同定」について概観する。

## 「フローチャート」の特長と欠点

- 多項目の試験を用いない場合、概念的に理解しやすく、解釈が容易である。
- 陽性率が限りなく「0%」、または「100%」に近い試験であれば、実用的には信頼できる。
- 現実には「陽性」、「陰性」の分岐点を 90% に設定するのでは充分でない場合が少なくない。
- とりわけ、例外的な性状を示す株に対しては対応できない。

## 「数値同定」の特長と欠点

- ・ フローチャートでは無視されてしまう例外的な性状を示す株にも対応可能。
- ・ 陽性率表(data base)が十分な株数の成績で得られたものであれば、信頼性は高い。
- ・ 使用する data base の方法論を理解する必要があるが、簡易同定キットや自動機器では data base を開示していないか、不適切な data base であることが少なくない。
- ・ 未収載菌種では同定不能となるが、data の蓄積としての活用は可能。
- ・ 異なる方法で得られた data base の転用は信頼性が低い。

## 主要腸内細菌の概略性状

グループ	菌 属	インドールテスト	VPテスト	シモンスのクエン酸塩利用能	硫化水素(TSI寒天)産生	リジン脱炭酸	フェニルアラニン脱アミノテスト	糖分解			運動性
								ブドウ糖からのガス	乳糖	白糖	
I	<i>Escherichia</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	d	+
	<i>Shigella</i>	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Kluyvera</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+
II	<i>Salmonella</i>	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+
	<i>Edwardsiella</i>	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+
	<i>Citrobacter</i>	d	-	+	d	-	-	+	d	d	+
III	<i>Klebsiella</i>	d	+	+	-	+	-	+	+	+	-
	<i>Enterobacter</i>	-	+	+	-	d	-	+	+	+	+
	<i>Hafnia</i>	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+
	<i>Serratia</i>	-	+	d	-	+	-	d	-	d	+
	<i>Cedecea</i>	-	+	+	-	-	-	+	d	+	+
<i>Yersinia</i>	d	-	-	-	-	-	d	-	+	-	
IV	<i>Proteus</i>	d	d	d	+	-	+	+	-	d	+
	<i>Providencia</i>	+	-	+	-	-	+	d	-	d	+
	<i>Morganella</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+

左記は主要な腸内細菌の概略の性状を示したもので、常用確認培地で観察可能な項目を抜粋した。

新訂 臨床検査口座 22 微生物学  
／臨床微生物学(1999)



## Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis

SANDRA B. MARCH\* AND SAMUEL RATNAM

Newfoundland and Labrador Public Health Laboratories, St. John's, Canada A1B 3T2

Received 29 August 1985/Accepted 2 January 1986

*Escherichia coli* serotype O157:H7 is a recently recognized human pathogen associated with hemorrhagic colitis. Unlike most *E. coli* strains, *E. coli* O157:H7 does not ferment sorbitol. Therefore, the efficacy of MacConkey agar containing sorbitol (SMAC medium) instead of lactose as a differential medium for the detection of *E. coli* O157:H7 in stool cultures was determined in comparison with MacConkey agar. The relative frequency of non-sorbitol-fermenting (NSF) organisms other than *E. coli* O157:H7 in feces was low at 10 to 20% (95% confidence limits), and NSF organisms also occurred mostly in small numbers. In a field trial involving over 1,000 diarrheal stools, *E. coli* O157:H7 was isolated from 18 stools, all of which were from patients with bloody diarrhea. In every instance, the growth of *E. coli* O157:H7 on SMAC medium was heavy and occurred in almost pure culture as colorless NSF colonies in contrast to fecal flora, which are mostly sorbitol fermenting and hence appear pink on this medium, whereas on MacConkey agar cultures, the growth of *E. coli* O157:H7 was indistinguishable from fecal flora. SMAC medium permitted ready recognition of *E. coli* O157:H7 in stool cultures. Detection of *E. coli* O157:H7 on SMAC medium had a sensitivity of 100%, a specificity of 85%, and an accuracy of 86%. SMAC medium stool culture is a simple, inexpensive, rapid, and reliable means of detecting *E. coli* O157:H7, and we recommend routine use of SMAC medium especially for culturing bloody stools.

TABLE 1. Validity of detection of *E. coli* O157:H7 on SMAC medium<sup>a</sup>

NSF organisms	No. of stool cultures	
	Without <i>E. coli</i> O157:H7	With <i>E. coli</i> O157:H7
Present	36	14
Absent	204	0

<sup>a</sup> Diagnostic parameters (2): sensitivity, 14/14 = 100%; specificity, 204/240 = 85%; positive predictive value, 14/50 = 28%; negative predictive value, 204/204 = 100%; accuracy, 218/254 = 86%; prevalence, 14/254 = 5.5%.

TABLE 2. Results of field trial of SMAC medium stool cultures

Nature of stool	No. of stools tested	No. (%) of stools yielding NSF organisms	No. (%) of stools yielding <i>E. coli</i> O157:H7
Bloody	99	28 <sup>a</sup> (28)	18 <sup>b</sup> (18)
Nonbloody	944	88 <sup>a</sup> (9.3)	0

<sup>a</sup> Mostly mixed growth with sorbitol fermenters except when *E. coli* O157:H7 was present.

<sup>b</sup> All obtained in almost pure cultures as NSF organisms. Significantly different from zero ( $P < 0.01$ ).

NSF の多くは *Pseudomonas* spp. や *Proteus* spp. などの IPA(PDA) 陽性菌群であることが明らかにされた。

### Characterization of *Escherichia coli* Serotype O157:H7

SAMUEL RATNAM,<sup>1\*</sup> SANDRA B. MARCH,<sup>1</sup> RAFIQ AHMED,<sup>2</sup> GREGORY S. BEZANSON,<sup>3†</sup> AND SHANTI KASATIYA<sup>2,4</sup>

*Newfoundland and Labrador Public Health Laboratories, St. John's, Newfoundland, Canada A1B 3T2,<sup>1</sup> and Regional Public Health Laboratory,<sup>2</sup> Laboratory Centre for Disease Control,<sup>3</sup> and Department of Microbiology, University of Ottawa,<sup>4</sup> Ottawa, Ontario, Canada*

Received 14 April 1988/Accepted 12 July 1988

A total of 174 strains of *Escherichia coli* serotype O157:H7 representing human isolates obtained from outbreaks and sporadic cases of hemorrhagic colitis, hemolytic-uremic syndrome, and nonbloody diarrheal illnesses as well as from asymptomatic carriers across Canada and the United States were examined. *E. coli* serotype O157:H7 possessed distinct biochemical markers, a 100% negative reaction for  $\beta$ -glucuronidase and sorbitol, and a 100% positive reaction for raffinose and dulcitol; all strains otherwise were biochemically typical of *E. coli*. The vast majority (97%) of the strains were susceptible to commonly used antimicrobial agents. All strains produced readily detectable levels of Verotoxin; however, with polymyxin extraction, nearly 50% of the strains showed up to a 10-fold increase in the toxin level. None were found to mediate hemagglutination of human group A erythrocytes with or without D-mannose. The majority (~70%) of the strains showed localized and diffuse adherence to HEP-2 cells and Henle 407 cells, and the adherence patterns were not very different from those observed among other *E. coli* strains. Twenty phage types were recognized, with phage types 1 and 2 accounting for 65% of the test strains. Plasmid analysis indicated three basic plasmid profiles: profile I was characterized by 68.7- and 4.2-megadalton (MDa) plasmids (62% of strains), profile II was characterized by 66.2- and 1.8-MDa plasmids (20% of strains), and profile III was characterized by a 62.5-MDa plasmid (18% of strains). A small number (19%) of the strains carried at least one additional plasmid over the basic complements, and these could be considered to constitute a miscellaneous category. None of the above-described characteristics of *E. coli* serotype O157:H7 could be directly correlated with one another, with the nature of infection, or with the geographical distribution of strains.

## EHEC O157 と他菌との鑑別点

### EHEC O157 (⇔通常の *E. coli*)

*E. coli* 以外で問題となる菌種

- Sorbitol 陰性 (⇔95% 陽性)
  - ⇨ *E. hermannii* (全て陰性)、*Proteus/Morganella spp.* など
  - ⇨ IPA(PDA) を観察 ⇨ SIB
  
- β-Glucuronidase 陰性(⇔95%)
  - ⇨ *E. hermannii* (全て陰性)
  - ⇨ Cellobiose を観察
  
- 抗 O157 血清に凝集
  - ⇨ *E. hermannii* (交差反応)
  - ⇨ Cellobiose を観察(CLIG)

## Manual of Clinical Microbiology(ASM 9'th Ed.)

TABLE 3 Biochemical reactions<sup>a</sup> of the named species, subspecies, biogroups, and Enteric Groups

Organism	Indole production	Methyl red	Voges-Proskauer	Citrate (Simmons)	Hydrogen sulfide (TSI)	Urea hydrolysis	Phenylalanine deaminase	Lysine decarboxylase	Arginine dihydrolase	Ornithine decarboxylase	Motility	Gelatin hydrolysis (22°C)	Growth in KCN	Malonate utilization	D-Glucose, acid	D-Glucose, gas	Lactose fermentation	Sucrose fermentation	D-Mannitol fermentation	Dulcitol fermentation	Salicin fermentation	Adonitol fermentation	myo-Inositol fermentation
Genus <i>Averyella</i>																							
<i>A. dalhousiensis</i> <sup>ab</sup>	0	100	0	85	0	70	0	100	0	85	100	0	100	85	100	85	30	0	100	85	100	0	0
Genus <i>Budvicia</i>																							
<i>B. aquatica</i> *	0	93	0	0	80	33	0	0	0	0	27	0	0	0	100	53	87	0	60	0	0	0	0
Genus <i>Buttiauxella</i>																							
<i>B. agrestis</i>	0	100	0	100	0	0	0	0	0	100	100	0	80	60	100	100	100	0	100	0	100	0	0
<i>B. brennerae</i>	0	100	0	0	0	0	0	0	0	33	100	0	100	100	100	100	0	0	100	0	100	67	0
<i>B. ferruginae</i>	0	100	0	0	0	0	0	100	0	80	60	0	40	0	100	100	0	0	100	0	100	0	0
<i>B. gaviniae</i>	0	100	0	20	0	0	0	0	20	0	80	0	60	100	100	40	60	0	100	0	100	100	0
<i>B. izardii</i>	0	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	67	100	100	100	100	0	100	0	100	0	0
<i>B. noackiae</i> *	33	100	0	33	0	0	100	0	67	0	100	0	100	100	100	100	0	0	100	0	100	0	0
<i>B. warmboldiae</i>	0	100	0	33	0	0	100	0	0	0	100	0	33	100	100	100	0	0	100	0	100	0	67
Genus <i>Cedecea</i>																							
<i>C. davisae</i> *	0	100	50	95	0	0	0	0	50	95	95	0	86	91	100	70	19	100	100	0	99	0	0
<i>C. lapagei</i> *	0	40	80	99	0	0	0	0	80	0	80	0	100	99	100	100	60	0	100	0	100	0	0
<i>C. neteri</i> *	0	100	50	100	0	0	0	0	100	0	100	0	65	100	100	100	35	100	100	0	100	0	0
<i>C. species 3</i> *	0	100	50	100	0	0	0	0	100	0	100	0	100	0	100	100	0	50	100	0	100	0	0

## 前出の ASM の表を数値同定用書き換えた.xls

A2 Averyella dalhousiensis

ASM9加工用.xls

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	
1	菌種	Ind	MR	VP	CIT	H2S	Urea	PDA	LYS	ARG	Ornithine	
2	Averyella dalhousiensis	0.001	0.999	0.001	0.849	0.001	0.699	0.001	0.999	0.001	0.849	0
3	Budvicia aquatica	0.001	0.929	0.001	0.001	0.799	0.329	0.001	0.001	0.001	0.001	0
4	Buttiauxella agrestis	0.001	0.999	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0
5	Buttiauxella brennerae	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.329	0
6	Buttiauxella ferruginae	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.001	0.999	0
7	Buttiauxella gaviniae	0.001	0.999	0.001	0.199	0.001	0.001	0.001	0.001	0.199	0.001	0
8	Buttiauxella izardii	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0
9	Buttiauxella noackiae	0.329	0.999	0.001	0.329	0.001	0.001	0.999	0.001	0.669	0.001	0
10	Buttiauxella warmboldiae	0.001	0.999	0.001	0.329	0.001	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0
11	Cedecea davisae	0.001	0.999	0.499	0.949	0.001	0.001	0.001	0.001	0.499	0.949	0
12	Cedecea lapagei	0.001	0.399	0.799	0.989	0.001	0.001	0.001	0.001	0.799	0.001	0
13	Cedecea neteri	0.001	0.999	0.499	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.001	0
14	Cedecea species 3	0.001	0.999	0.499	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.001	0
15	Cedecea species 5	0.001	0.999	0.499	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.499	0.499	0
16	Citrobacter amalonicus	0.999	0.999	0.001	0.949	0.049	0.849	0.001	0.001	0.849	0.949	0
17	Citrobacter braakii	0.329	0.999	0.001	0.869	0.599	0.469	0.001	0.001	0.669	0.929	0
18	Citrobacter diversus(koseri)	0.999	0.999	0.001	0.099	0.001	0.589	0.001	0.001	0.849	0.999	0
19	Citrobacter farmeri	0.999	0.999	0.001	0.099	0.001	0.589	0.001	0.001	0.849	0.999	0
20	Citrobacter freundii	0.329	0.999	0.001	0.779	0.779	0.439	0.001	0.001	0.669	0.001	0
21	Citrobacter gillenii	0.001	0.999	0.001	0.329	0.669	0.001	0.001	0.001	0.329	0.001	0
22	Citrobacter murliniae	0.999	0.999	0.001	0.999	0.669	0.669	0.001	0.001	0.669	0.001	0
23	Citrobacter rodentium	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.999	0

## SIB と CLIG による EHEC O157 の検索

- EHEC O157 は 1996 年の集団事例の多発以降、今も重要な血清群であり、その血清型としては O157:H7 と O157:H- が多くを占める。

H2 =(1-B2)\*(1-C2)\*(1-D2)\*(1-E2)\*F2\*G2

ASM9加工用.xls

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	菌種	SOR	PDA	Oxidase	CEL	LAC	Ind	SIB/CLIG	相対確率	MUG
2	EHEC O157	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.999	0.994	86.90	0.001
3	Escherichia coli	0.939	0.001	0.001	0.019	0.949	0.979	0.055	4.851	0.959
4	Escherichia coli, inactive	0.749	0.001	0.001	0.019	0.249	0.799	0.049	4.274	・
5	Enterobacter agglomerans complex	0.299	0.199	0.001	0.549	0.399	0.199	0.020	1.756	・
6	Escherichia hermannii	0.001	0.001	0.001	0.969	0.449	0.989	0.014	1.200	・
7	Plesiomonas shigelloides	0.001	0.029	0.989	0.001	0.799	0.999	0.009	0.744	・
8	Shigella flexneri(Group B)	0.289	0.001	0.001	0.001	0.009	0.499	0.003	0.278	・
9	Shigella boydii(Group C)	0.429	0.001	0.001	0.001	0.009	0.249	0.001	↓以下 cut	
10	Edwardsiella tarda biogroup 1	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.001		
11	Moellerella wisconsinensis	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.001	0.001		
12	Edwardsiella tarda	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.989	0.001		
13	Providencia rettgeri	0.009	0.979	0.001	0.029	0.049	0.989	0.001		
14	Leclercia adecarboxylata	0.001	0.001	0.001	0.999	0.929	0.999	0.001		
15	Providencia stuartii	0.009	0.949	0.001	0.049	0.019	0.979	0.001		
16	Budvicia aquatica	0.001	0.001	0.001	0.001	0.869	0.001	0.001		
17	Kluyvera georgiana	0.001	0.001	0.001	0.999	0.829	0.999	0.001		
18	Ewingella americana	0.001	0.001	0.001	0.099	0.699	0.001	0.001		
19	Kluyvera ascorhata	0.399	0.001	0.001	0.999	0.979	0.919	0.001		



## 常用確認培地による *E. coli* の鑑別

K2 =B2\*(1-C2)\*D2\*(1-E2)\*(1-F2)\*(1-G2)\*(1-H2)\*I2\*J2

ASM9加工用.xls

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	菌種	LAC	Oxidase	Ind	VP	CIT	H2S	PDA	LYS	MOT	絶対確率	相対確率
2	<i>Escherichia coli</i>	0.949	0.001	0.979	0.001	0.009	0.001	0.899	0.949	0.776	87.8	
3	<i>Kluyvera cryocrecens</i>	0.949	0.001	0.899	0.001	0.799	0.001	0.229	0.899	0.035	4.0	
4	<i>Kluyvera ascorbata</i>	0.979	0.001	0.919	0.001	0.959	0.001	0.969	0.979	0.035	3.9	
5	<i>Escherichia hermannii</i>	0.449	0.001	0.989	0.001	0.009	0.001	0.059	0.989	0.026	2.9	
6	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0.799	0.989	0.999	0.001	0.001	0.001	0.029	0.999	0.949	0.008	0.9
7	<i>Escherichia coli, inactive</i>	0.249	0.001	0.799	0.001	0.009	0.009	0.001	0.399	0.049	0.004	0.4
8	<i>Citrobacter Group 137</i>	0.999	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.001	↓ 以下 CUT
9	<i>Edwardsiella tarda biogroup 1</i>	0.001	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.999	0.001	
10	<i>Kluyvera georgiana</i>	0.829	0.001	0.999	0.001	0.999	0.001	0.001	0.999	0.999	0.001	
11	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.929	0.001	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.789	0.001	
12	<i>Escherichia fergusonii</i>	0.001	0.001	0.979	0.001	0.169	0.001	0.001	0.949	0.929	0.001	
13	<i>Edwardsiella hoshinae</i>	0.001	0.001	0.499	0.001	0.001	0.001	0.001	0.999	0.999	0.000	
14	<i>Serratia odorifera biogroup 1</i>	0.699	0.001	0.599	0.499	0.999	0.001	0.001	0.999	0.999	0.000	
15	<i>Citrobacter diversus(koseri)</i>	0.149	0.001	0.999	0.001	0.099	0.001	0.001	0.001	0.969	0.000	
16	<i>Citrobacter farmeri</i>	0.149	0.001	0.999	0.001	0.099	0.001	0.001	0.001	0.969	0.000	
17	<i>Escherichia vulneris</i>	0.149	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.849	0.999	0.999	0.000	
18	<i>Serratia fonticola</i>	0.969	0.001	0.001	0.089	0.909	0.001	0.001	0.999	0.909	0.000	
19	<i>Averyella dalhousiensis</i>	0.299	0.001	0.001	0.001	0.849	0.001	0.001	0.999	0.999	0.000	

TABLE 1. Summary of the biochemical reactions of *E. coli* serotype O157:H7 and *E. coli* other than serotype O157:H7<sup>a</sup>

Test	% Positive		
	<i>E. coli</i> serotype O157:H7 (n = 174)	<i>E. coli</i> other than serotype O157:H7 (n = 9,714 <sup>b</sup> n = 1,887 <sup>c</sup> )	
β-Glucuronidase	0	96	NT <sup>d</sup>
Sorbitol	0	95	80
Salicin	0	0	36
Esculin	0	NT	31
Arginine dihydrolase	0	NT	16
Adonitol	0	3	1
Inositol	0	1	1
Cellobiose	0	0	1
Urease	0	0	0
Citrate	0	0	0
KCN	0	NT	0
Sucrose	87	42	54
Glucose (acid)	100	100	100
Glucose (gas)	98	NT	92
Indole	100	99	96
Arabinose	100	99	99
Trehalose	100	99	98
Mannitol	100	99	98
Lactose	100	88	92
Maltose	100	98	91
Rhamnose	100	91	84
Xylose	100	97	83
Lysine decarboxylase	100	92	81
Ornithine decarboxylase	100	74	58
Raffinose	100	20	49
Dulcitol	100	50	49

<sup>a</sup>Based on 48 h of incubation.  
<sup>b</sup>Data are taken from reference 21.  
<sup>c</sup>Data are taken from reference 12.  
<sup>d</sup>NT, Not tested.

## Data base としての「陽性率表」の陥穽

- 左表は 1990年の幼稚園における EHEC O157 の集団事例以来、1996 年に多発した集団事例に至るまで、当該菌の検査法に大きな影響を与えた。
- これは多項目にわたって明瞭な陽性率 (0%、100%) が記載されていたことによる。

(前出の Ratnam による。)

## Sorbitol · Rhamnose MacConkey for EHEC O157

[J Med Microbiol.](#) 1991 Aug;35(2):107-10.

**An improved selective medium for the isolation of Escherichia coli O157.**

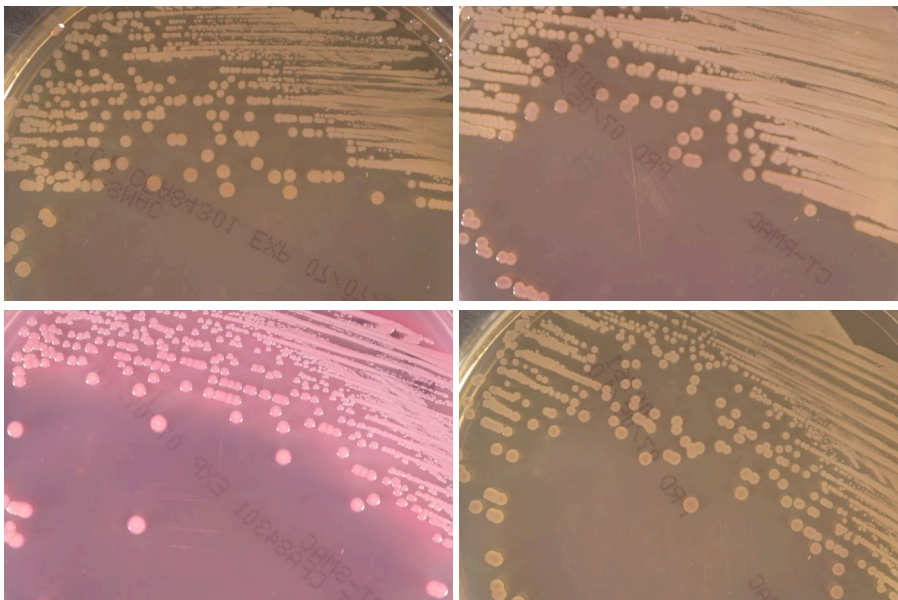
**[Chapman PA](#), [Siddons CA](#), [Zadik PM](#), [Jewes L](#).**

Public Health Laboratory, Northern General Hospital, Sheffield.

Sorbitol-MacConkey medium has become widely used for the isolation of verotoxigenic (VT+) Escherichia coli O157. However, many organisms other than VT+ E. coli O157, especially other serogroups of E. coli and Proteus spp., may not ferment sorbitol, and thus may be confused initially with VT+ E. coli O157.

Rhamnose is not fermented by VT+ E. coli O157, but is by most sorbitol non-fermenting E. coli of other serogroups. Cefixime is a cephalosporin antibiotic that is more active against Proteus spp. than against E. coli. Inclusion of rhamnose and cefixime in sorbitol-MacConkey agar improves its selectivity for the isolation of VT+ E. coli O157.

## CT-SMAC, CT-RMAC における EHEC O157, O26



## Salmonella spp. の確認培地による鑑別

- ・ 多様な分離培地があることから赤痢菌に比して、比較的 *Salmonella* spp. の鑑別は容易である。
- ・ したがって常用の確認培地を使用することにより、大きな誤認は避けられると考えられる。
- ・ 以下に、その考え方を例示してみたい。

## Salmonella spp. の鑑別

1	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	菌種	LAC	GLU,gas	H2S	SUC	LYS	Ind	MOT	CIT	絶対確率	相対確率
2	Salmonella GroupIV	0.001	0.999	0.999	0.001	0.999	0.001	0.979	0.979	0.953	16.8
3	Salmonella GroupII	0.009	0.999	0.999	0.009	0.999	0.019	0.979	0.999	0.939	16.5
4	Salmonella bongori (GroupV)	0.001	0.939	0.999	0.001	0.999	0.001	0.999	0.939	0.876	15.4
5	Salmonella GroupIIIA	0.149	0.989	0.989	0.009	0.989	0.009	0.989	0.989	0.791	13.9
6	Salmonella enterica (GroupI)	0.009	0.959	0.949	0.009	0.979	0.009	0.949	0.949	0.781	13.7
7	Salmonella GroupVI	0.219	0.999	0.999	0.001	0.999	0.001	0.999	0.889	0.690	12.1
8	Trabulsiella guamensis	0.001	0.999	0.999	0.001	0.999	0.399	0.999	0.879	0.525	9.2
9	Salmonella GroupIIIB	0.849	0.989	0.989	0.049	0.989	0.019	0.989	0.979	0.132	2.3
10	Salmonella GroupIserotype Choleraesuis	0.001	0.949	0.499	0.001	0.949	0.001	0.949	0.249	0.106	1.9
11	Yokenella regensburgei	0.001	0.999	0.001	0.001	0.999	0.001	0.999	0.919	0.001	↓以下 cut
12	Citrobacter werkmanii	0.169	0.999	0.999	0.001	0.001	0.001	0.999	0.999	0.001	
13	Averyella dalhousiensis	0.299	0.849	0.001	0.001	0.999	0.001	0.999	0.849	0.001	
14	Proteus mirabilis	0.019	0.959	0.979	0.149	0.001	0.019	0.949	0.649	0.000	
15	Citrobacter youngae	0.249	0.749	0.649	0.199	0.001	0.149	0.949	0.749	0.000	
16	Edwardsiella tarda	0.001	0.999	0.999	0.001	0.999	0.989	0.979	0.009	0.000	
17	Hafnia alvei	0.049	0.979	0.001	0.099	0.999	0.001	0.849	0.099	0.000	
18	Citrobacter braakii	0.799	0.929	0.599	0.069	0.001	0.329	0.869	0.869	0.000	
19	Citrobacter gillenii	0.669	0.999	0.669	0.329	0.001	0.001	0.669	0.329	0.000	
20	Serratia fonticola	0.969	0.789	0.001	0.209	0.999	0.001	0.909	0.909	0.000	
21	Serratia liquefaciens complex	0.099	0.749	0.001	0.979	0.949	0.009	0.949	0.899	0.000	
22	Citrobacter freundii	0.779	0.889	0.779	0.889	0.001	0.329	0.889	0.779	0.000	

## 赤痢菌の同定は、なぜ難しいのか

- ・ 日常検査での検出頻度が低い。
- ・ 自動機、簡易同定キットでは**運動性の観察**ができない。
- ・ 運動性を示さない *Escherichia coli (inactive)* が**見られる**。
- ・ 遺伝学的には *E. coli* と考えられ、抗血清の使用には習熟が必要である。
- ・ 現状では **PCR だけでは困難**とする意見もある。

## 赤痢菌と誤同定された事例

病原微生物検出情報2003\_09 から

- ・ 事例1. *Escherichia coli inactive*→*Shigella sonnei*
- ・ 事例2. *Escherichia coli*→*Shigella boydii*
- ・ 事例3. *Morganella morganii*→*Shigella flexneri*
- ・ 事例4. *Escherichia coli*→*Shigella flexneri*
- ・ 事例5. *Escherichia coli*→*Shigella boydii*
- ・ 事例6. *Morganella morganii*→*Shigella sonnei*



## 事例 1. *E. coli* inactive→*S. sonnei*

### 臨床検査側

- 自動機器での同定 ; *S. sonnei*
- TSI, LIM, Oxidase, IPA, SC, VP, Orn ; いずれも *S. sonnei* を否定せず
- 同定キット a ; *S. sonnei* または *E. coli*
- 免疫血清 ; *S. sonnei* 2 相に特異凝集
- 総合判定で *S. sonnei* とした

### 地研の立場

- SS, DHL ; 無色～桃色 1~2 mm の集落
- TSI, LIM, Oxidase ; *S. sonnei* を否定せず
- 同定キット b ; 同定不能 (Orn, Sor)
- 遺伝子 ; *Shigella* spp. を否定。
- 同定キット c、同定キット d ; *Shigella* spp. を否定
- 同定キット e ; *E. coli* inactive
- \* ; *E. coli* と *S. sonnei* の鑑別 ; Ind, Mot, Gas, Orn, Sor, ACE, MUC

## 事例 2. *E. coli*→*S. boydii*

### 臨床検査側

- 同定キット ; *S. boydii*
- 確認培地 ; 使用せず
- 赤痢診断血清に凝集
- 以上から同定キットによる菌名「*S. boydii*」で報告

### 地研の立場

- TSI ; 少量の Gas 産生 (K/AG, -)、LIM ; )、Ind ; 弱陽性、弱い運動性を確認 (LDC は陰性、Xylose ; 陽性、ACE ; 陽性)
- 診断血清 ; C 多価、boydii 2、遺伝子 (*invE*) ; 陰性
- 同定キット b ; *E. coli*
- \* ; 確認培地による一次鑑別、追加鑑別が未実施であったための誤同定 (地研よりのコメント)

### 事例 3. *M. morganii*→*S. flexneri*

#### 臨床検査側

- SS ; 無色集落
- SIM ; 弱運動性
- 同定キットe ; Orn、UR、PDA ; 全てが陰性
- 赤痢診断血清 ; B多価に凝集

#### 地研の立場

- LIM ; 運動性 (一夜培養)
- 同定キットa、同定キットb ; ともに *M. morganii*
- 同定キットe ; 推定では付属の接種針による接種が均一でなかったと思われる。
- \* ; 細菌の (菌種) 同定は生化学性状でという原則が熟知されておらず、血清反応で同定してしまい、キットの習熟も不十分であった。(地研コメント)

### 事例 4. *E. coli*→*S. flexneri*

#### 臨床検査側

- 自動機器 ; 赤痢菌
- 同定キット 1 ; 赤痢菌
- 同定キット 2 ; 赤痢菌
- 赤痢診断血清 B多価 ; 凝集
- 型IV、群(3)4 ; いずれも凝集

以上から *S. flexneri* と報告

#### 地研の立場

- TSI ; 微量の Gas 産生
- LIM ; 弱い運動性
- ACE、MUC ; ともに陽性
- B群診断血清 ; 弱凝集
- 遺伝子 ; *invE*、*ipaH* ; 共に陰性
- \* ; Gas 産生、運動性など基本的な確認がなされていなかった

## 事例 5. *E. coli*→*S. boydii*

### 臨床検査側

- 同定キット；赤痢菌
- 赤痢診断血清；凝集
- 確認培地；不使用

### 地研の立場

- TSI；わずかに Gas 産生
- LIM；微弱運動性
- ACE、MUC；ともに陽性
- B多価、C多価；ともに凝集
- 遺伝子；*invE*、*ipaH*；共に陰性
- \*；事例 4 と同様、基本的な性状確認がなされず、診断血清の特徴が把握されていない

## 事例 6. *M. morganii*→*S. sonnei*

### 臨床検査側

- 同定キット；*S. sonnei*
- 血清；D多価のみ実施

### 地研の立場

- TSI；*Morganella*に見られる程斜面部が黒変していない。
- TSI、LIM；ともに赤痢菌を否定するような所見を示さない。
- 血清；D多価血清に凝集するがI相、およびII相ともに凝集しない。
- \*；事例 4～6；初代平板から自動機器、同定キットに入れている（多くは1集落のみ）。確認培地等の基本的手順が守られておらず複数集落の検査を行っていない。赤痢菌同定の経験がなく、診断用血清の理解不足であり、また背景として保険点数の低さもあると思われる。

## 病原微生物検出情報 2005\_04 から

施	当初報告菌名	最終菌名	簡易	自動	従来	混/因	E. coli 未鑑別	Kit特性	MOT/GAS未	手技不正	血清依存	因子省略	追加省略	培地_直接
医	<i>S. dysenteriae</i>	EIEC	*	*		混/-		*						
医	<i>S. flexneri</i>	<i>E. coli</i>	*	*		混/因			*					*
医	<i>S. flexneri</i>	<i>Morganella</i> sp.	*		*	混/-				*				*
医	<i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i>	*			混/-			*		*			*
医	<i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i>	*	*		混/因			*	*				
医	<i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i>	*		*	混/-	*		*					
医	<i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i>	*			混/因	*		*			*		*
医	<i>S. sonnei</i>	<i>Morganella</i> sp.	*			混/-	*		*		*			*
医	<i>Shigella</i> sp.	<i>E. coli</i>	*			不明	*					*	*	*
医	<i>Shigella</i> sp./ <i>E. coli</i>	検査中	*	*	*	混/-								
セ	<i>S. dysenteriae</i>	<i>E. coli</i>	*			混/-		*		*			*	
セ	<i>S. flexneri</i>	<i>E. coli</i>	*			混/-		*		*			*	
セ	<i>S. flexneri</i>	<i>E. coli</i>	*	*		混/因	*	*	*					*
セ	<i>S. flexneri</i>	<i>E. coli</i> 疑い	*			不明								
セ	<i>S. flexneri</i>	<i>Morganella</i> sp.	*			混/-						*		
セ	<i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i>	*			混/-	*	*	*		*		*	
セ	<i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i>	*			混/-		*		*			*	
セ	<i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i> 疑い	*			不明				*				
セ	<i>S. boydii</i>	赤痢菌ではない	*		*	混/-		*	*		*			
セ	<i>S. sonnei</i>	<i>E. coli</i>	*	*	*	混/因					*			
セ	<i>S. sonnei</i>	<i>E. coli</i>	*			混/-				*			*	
セ	<i>S. sonnei</i>	<i>Morganella</i> sp.	*		*	混/-	*					*		
セ	<i>S. flexneri</i> / <i>S. boydii</i>	<i>E. coli</i> inactive	*			不明	*							
セ	<i>Shigella</i> sp.	<i>E. coli</i>				混/因		*	*					
セ	<i>Shigella</i> sp.	赤痢菌ではない			*	不明							*	
保	<i>S. boydii</i>	<i>E. hermannii</i>			*	混/-	*					*		
保	<i>S. boydii</i>	<i>Morganella</i> sp.			*	混/-	*	*				*		
保	<i>S. boydii</i>	腸内細菌	*		*	混/因								

## 第17回日本臨床微生物学会総会一般演題から

(ポスター中のタイプミスを訂正しております。)

## 目 的

病原生物検出情報(2003.9, 2005.4)に簡易同定キットや自動機器により *E. coli*, *E. hermannii*, *Morganella* spp. を *Shigella* spp. と誤同定した事例が報告されている。

また常用される確認培地では生化学性状の確認が困難な場合もある。

今回、これらの菌種について *Shigella* spp. への誤同定を回避する手段として酢酸塩利用能,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase について検討したので報告する。

## 方 法

*E. coli*, *E. coli* inactive, *Morganella* spp., *E. hermannii* などを *Shigella* spp. と鑑別する方法として、以下の検討を行った。

1. *E. coli*, *E. coli* inactive との鑑別は、酢酸塩培地での発育(酢酸塩利用能)は 90%\*, 40%\*, *Shigella* spp. では 0~8%\* である。このことから用時調製酢酸塩培地、酢酸ナトリウム添加シモンズ・クエン酸培地での予備検討、さらに供試菌株数を追加し、酢酸アンモウニウム添加シモンズ・クエン酸培地の検討を行った。
2. *Shigella* spp. の  $\beta$ -D-glucuronidase は陰性とする報告があるが、新訂食水系感染症と細菌性食中毒(坂崎利一著)によれば、*S. sonnei* の  $\beta$ -D-glucuronidase は 99.8%が陽性とされている。そこで、CLIG寒天培地により  $\beta$ -glucuronidase の確認を行った。また、同書記載の *S. sonnei* の  $\beta$ -galactosidase 活性を観察する目的でクロモカルトコリフォーム寒天を用いた。

\*; Manual of Clinical Microbiology 8'th Ed.(ASM)

## 検討に供試した培地

1. 用時調製酢酸塩培地(ACE)
2. 酢酸ナトリウム添加シモンズ・クエン酸塩培地 (SC-ACE1)
3. 酢酸アンモニウム添加シモンズ・クエン酸塩培地 (SC-ACE2)
4. CLIG寒天培地
5. TSI寒天培地
6. LIM培地
7. SIM培地(1/2濃度平板)
8. クロモカルトコリフォーム寒天(MERCK)

## 供試した培地の組成 I

自家調製酢酸塩培地 ( /L)	クロモカルトコリフォーム寒天 ( /L)
リン酸二水素アンモニウム 1.0g	ペプトン 3.0g
リン酸一水素カリウム 1.0g	塩化ナトリウム 5.0g
酢酸ナトリウム 2.0g	リン酸二水素ナトリウム 2.2g
硫酸マグネシウム 0.5g	リン酸水素二ナトリウム 2.7g
塩化ナトリウム 5.0g	ピルビン酸ナトリウム 1.0g
ブロムチモールブルー 0.024g	トリプトファン 1.0g
寒天末 15.0g	ソルビトール 1.0g
pH6.8±0.1	タージトール7 0.15g
	発色基質 0.4g
	寒天 10.0g
	pH 6.8±0.2

## 供試した培地の組成 II

### SC-ACE1

シモンズクエン酸培地に酢酸ナトリウムを 2.0g/L に添加。

### SC-ACE2

シモンズクエン酸培地に酢酸アンモニウムを 2.0g/L に添加。

\* 1) ; 自家調製酢酸塩培地、酢酸ナトリウム添加シモンズ・クエン酸塩培地、および酢酸アンモニウム添加シモンズ・クエン酸塩培地は加熱溶解後121°C 15分間高圧滅菌後に平板とした。

\* 2) ; クロモカルトコリフォーム寒天は指定の方法に従い作成した。

## 供試菌種

*S. dysenteriae* ATCC13313(A群),

*S. flexneri* ATCC12022(B群)

*S. boydii* ATCC9290(C群), *S. sonnei* ATCC9207(D群)

*E. coli* ATCC25922, *Morganella morganii* ATCC25830

臨床分離株

*S. flexneri*(B群) 10株, *S. boydii*(C群) 2株,

*S. sonnei* (D群)38株, *E. coli* 17株,

BTB 寒天培地に発育した集落から CLIG 寒天培地を含む確認培地に常法通り接種し、酢酸塩添加平板に画線培養、35°C、48 時間まで観察した。

## 予備検討結果

	CLIG	LIM	SIM		ACE	SC-ACE1	
	斜面/高層	MUG*	Lys	Mot	Ind	Growth	Growth
A群 ATCC13313	K/N	-	-	-	-	-	-
B群 ATCC12022	K/N	-	-	-	-	-	-
C群 ATCC9290	K/N	-	-	-	-	-	-
D群 ATCC9207	K/N	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC25922	K/A	+	+	+	+	w	w
<i>E. coli</i> ATCC35150	K/A	-	+	+	+	-	-
<i>M. morgani</i> ATCC25830	K/A	-	-	+	+	-	-
<i>E. hermannii</i>	A/A	-	-	+	+	NT	NT

\*; MUG;  $\beta$ -glucuronidase 陽性の場合、365 nm UV 照射下で青色蛍光

## 結果 1

	CLIG	LIM	SIM		SC-ACE1	SC-ACE2	
	斜面/高層	MUG*	Lys	Mot	Ind	Growth	Growth
A群 ATCC13313	K/N	-	-	-	-	-	-
B群 ATCC12022	K/N	-	-	-	-	-	-
C群 ATCC9290	K/N	-	-	-	-	-	-
D群 ATCC9207	K/N	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC25922	K/A	+	+	+	+	w	+
<i>E. coli</i> ATCC35150	K/A	-	+	+	+	-	-
<i>M. morgani</i> ATCC25830	K/A	-	-	+	+	-	-
<i>E. hermannii</i>	A/A	-	-	+	+	NT	+

\*; MUG;  $\beta$ -glucuronidase 陽性の場合、365 nm UV 照射下で青色蛍光



## 結果 2

	菌株数	CLIG		LIM	SIM	SC-ACE1		SC-ACE2
		K/N	MUG <sup>*</sup> -	Lys-	Mot-	Ind-	Growth+	Growth+
B群	10	10/10	1/10	10/10	10/10	10/10	0/10	0/10
C群	2	2/2	1/2	2/2	2/2	1/2	0/2	0/2
D群	38	38/38	35/38	38/38	38/38	38/38	0/38	0/38
<i>E. coli</i>	16	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T	16/16

\*; MUG;4-Methylumbelliferyl-β-D-glucuronide  
β-glucuronidase の蛍光基質で、陽性の場合、  
365 nm UV 照射下で青色蛍光を発する。

## 各菌種の性状\*

Organism	Ind	LYS	MOT	Gas(Glu)	LAC	SUC	PAD	CEL	ACE	UR	MUC
<i>S. dysenteriae</i>	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. flexneri</i>	50	0	0	3	1	1	0	0	8	0	0
<i>S. boydii</i>	25	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>S. sonnei</i>	0	0	0	0	2	1	0	5	0	0	10
<i>E. coli</i>	98	90	95	95	95	50	0	2	90	1	95
<i>E. coli</i> inactive	80	40	5	5	25	15	0	2	40	1	30
<i>E. hermannii</i>	99	6	99	97	45	45	0	97	78	0	97
<i>M. organii</i>	95	1	95	90	1	0	95	0	0	95	7

\*; Manual of Clinical Microbiology 8th Ed.(ASM)

## Shigella spp. の生化学的性状

テスト (基質)	<i>S. dysenteriae</i>			<i>S. flexneri</i>			<i>S. boydii</i>			<i>S. sonnei</i>		
	性状	%+	%(+)	性状	%+	%(+)	性状	%+	%(+)	性状	%+	%(+)
インドール	d	43.7		d	50.1		d	28.8		-	0	
アルギニンジヒドロラーゼ		1.5	11.3	-	7.9	1.6	d	18.1	31.9	-	0.5	4.8
オルニチンデカルボキシラーゼ	-	0		-	0		-	2.5		+	99.4	
酢酸	-	0		-	7.8		-	0		-	0	
粘液酸	-	0		-	0		-	0		d	16.4	
$\beta$ -Galactosidase	d	49.9		-	0.8		d	11.1		+	99.1	
$\beta$ -Glucuronidase	-	0.1		-	0.1		-	1		+	99.8	
ブドウ糖からのガス産生	-	0		-	3.4		-	0		-	0	
炭水化物 (酸) :												
L-アラビノース	d	43.6		d	62.8	15.5	+	94.1		+	94.2	2.9
セロビオース	-	0		-	0		-	0		d	10.6	1.9
乳糖	-	0		-	0		-	0.9		d	1.8	89.1
麦芽糖	d	12	77.1	d	30.9	49.9	d	7.5	92.5	+	85.4	6.8
ラフィノース	-	0		d	40.7	22.6	-	0		d	2.5	81.5
ラムノース	d	32.4	5.5	-	4.6	5.2	-	0		+	77.1	20.9
白糖	-	0		-	1.2	33.5	-	0		d	0.1	85.4
トレハロース	+	89.8	7.5	+	62.8	31.3	+	100		+	99.8	
D-キシロース	d	3.9	7.6	-	1.5	4.3	d	12.5	84.6	-	1.1	
D-アラビトール	-	0		-	0		-	0		-	0	
ズルシトール	-	4.5	0.5	-	0.2	3.6	-	1.1		-	0	
マンニトール	-	0		+	93.2		+	100		+	98.9	
ソルビトール	d	29.2	29.5	d	29.1	15.2	+	39.8	60.2	-	1.1	1.1

+ =90~100%が陽性； - =90~100%が陰性； d =11~89%が陽性。

坂崎利一;新訂 食水系感染症と細菌性食中毒から

Fig.1 酢酸塩培地上の *E. coli* と *Shigella* spp. の培養所見

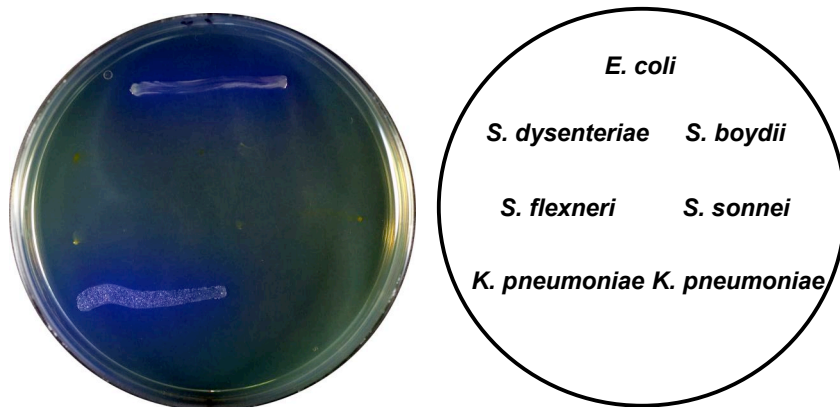


Fig.2 酢酸塩培地の培養所見(*E. coli*)

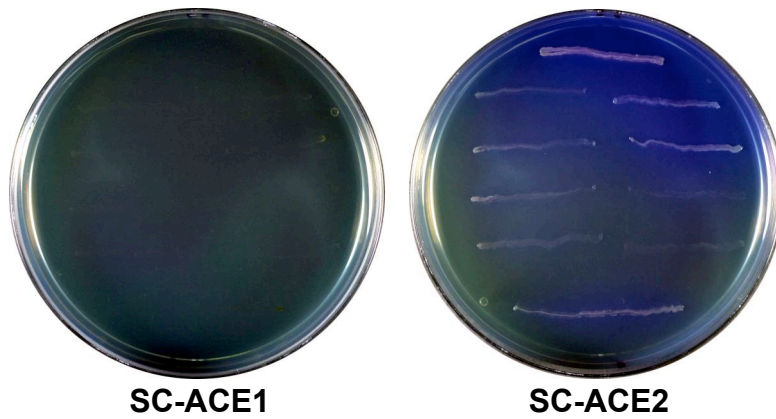
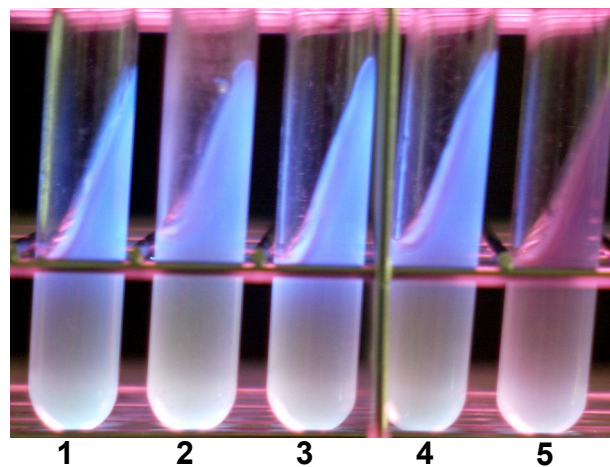
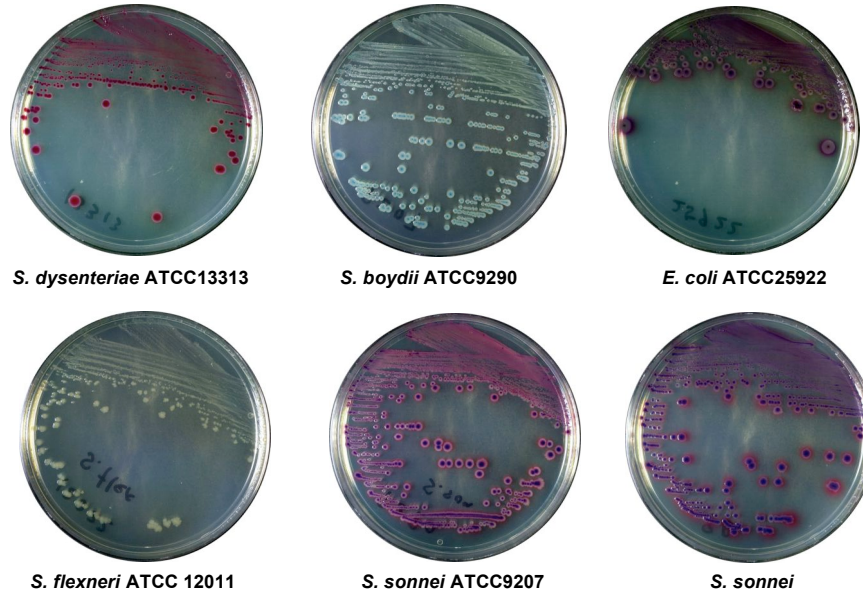


Fig.3 CLIG寒天培地の培養所見(UV照射)



1~4; *S. sonnei*, 5; *S. flexneri*

Fig.4 クロモカルトコリフォーム寒天上の  
*E. coli* と *Shigella* spp. の集落所見



### 結果のまとめ

1. 酢酸アンモニウム添加シモンズ・クエン酸培地では供試した *E. coli* 16 株は全て発育、*Shigella* spp. の発育は認められなかった。酢酸ナトリウム添加シモンズ・クエン酸塩培地(SC-ACE1)は培養 24 時間では *E. coli* の発育が弱かったが、酢酸アンモニウム添加シモンズ・クエン酸塩培地(SC-ACE2)は培養 24 時間で供試した *E. coli* の全てが発育した。
2. *S. sonnei* は供試 38 株中 35 株が CLIG 寒天培地上で  $\beta$ -glucuronidase 陽性を示した。
3. *E. coli* と *S. sonnei* はクロモカルトコリフォーム寒天上で類似の色調を示した。

## 結 論

- *Shigella* spp. を疑う場合、自動機器や同定キットで決定出来ない。常用確認培地以外に酢酸塩利用能試験が推奨されるが、成書記載の酢酸塩培地ではなく、シモンズ・クエン酸塩培地に酢酸アンモニウムを添加した培地が良好な結果であった。
- *Morganella* spp. を誤認しないためには IPA 反応の確認が、弱運動性株は SIM 軟寒天平板での確認法が良い。
- *S. sonnei* はβ-galactosidase のみならず β-glucuronidase を産生する株が多い点に留意する必要がある。
- *Escherichia hermannii* の多くは CLIG 寒天で鑑別可能である。

## CLIG 寒天培地の *Vibrio* spp. への応用

TABLE 3 Key differential biochemicals to separate species within Groups 1, 5, and 6

Test	% Positive for <sup>a</sup> :							
	Group 1		Group 5		Group 6			
	V. cholerae	V. mimicus	V. damsela	V. fluvialis <sup>a</sup>	V. alginolyticus	V. parahaemolyticus	V. vulnificus	V. harveyi
Voges-Proskauer (1% NaCl)	75	9	95	0	95	0	0	50
Motility	99	98	25	70-89	99	99	99	0
Acid production from:								
Sucrose	100	0	5	100	99	1	15	50
D-Mannitol	99	99	0	97	100	100	45	50
<b>Cellobiose</b>	8	0	0	30	3	5	<b>99</b>	50
Salicin	1	0	0	0	4	1	95	0

<sup>a</sup> The numbers indicate the percentages of strains that are positive after 48 h of incubation at 36°C (unless other conditions are indicated). Most of the positive reactions occur during the first 24 h.

Differentiation of the three biogroups of *V. vulnificus*<sup>a</sup>

Test	Result for biogroup <sup>b</sup> :		
	1	2	3
Ornithine decarboxylase	V	-	+
Indole production	+	-	+
Acid produced by:			
D-Mannitol	V	-	-
D-Sorbitol	-	+	-
<b>Cellobiose</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
Salicin	+	+	-

<sup>a</sup> Data from reference 10.

<sup>b</sup> V, variable (11 to 89% of strains are positive); +, positive (90 to 100% positive); -, negative (0 to 10% positive).

- *Vibrio* spp. の鑑別に常用確認培地を用いる場合は NaCl 濃度は 1% 以上を要する。
- ここでは *V. vulnificus* の鑑別に Cellobiose が重要であることを紹介しておきたい。
- この用途に CLIG 寒天培地を自家調製する場合、NaCl の追加をする。

# bactname と LPSN

http://www.dsmz.de/dsmz/main.php?menu\_id=5

Bacterial Nomenclature Up-to-date	Information, see also <a href="#">here</a>	Size	Last Update
<a href="#">Bacterial Nomenclature XLS</a>	compressed xls file (Microsoft Excel format)	656 KB	March 2008
<a href="#">Bacterial Nomenclature ASCII</a>	Alphabetical listing, ASCII file	640 KB	March 2008
<a href="#">Bacterial Nomenclature PDF</a>	Alphabetical listing, PDF file	439 KB	March 2008
<a href="#">Update March 2008, ASCII</a>	Update list since last edition of IJSEM, ASCII file	5 KB	March 2008
<a href="#">Update March 2008, PDF</a>	Changes since February 2008 edition of IJSEM, PDF file	66 KB	March 2008
<b>Earlier Updates:</b>			
<a href="#">Update February 2008, PDF</a>	Changes since January 2008 edition of IJSEM, PDF file	68 KB	February 2008

List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature LPSN (formerly List of Bacterial names with Standing in Nomenclature)

## LPSN

### List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature

Formerly List of Bacterial names with Standing in Nomenclature (LBSN)

**J.P. EUZÉBY**  
SBSV

Last full update:  
April 10, 2008

Minor changes since  
the last full update:  
April 13, 2008

**Taxonomic categories and changes covered by the Rules of the Code**

- Genera and taxa above the rank of genus up to and including class: A-C D-L M-R S-Z
- Taxa above the rank of genus up to and including class exclusively
- Genera exclusively
- Genera of the domain (or empire) of Archaea (or Archaeobacteria) exclusively
- Genera of the domain (or empire) of Bacteria (or Eubacteria) exclusively
- Names included in the Approved Lists of Bacterial Names
- Names validly published by announcement in Validation Lists
- Basonyms, new combinations (comb. nov.), nomina nova (nom. nov.)