

食安輸発1218第4号
平成24年12月18日

各検疫所長 殿

医薬食品局食品安全部監視安全課
輸入食品安全対策室長
(公印省略)

腸管出血性大腸菌 O103の検査法について

標記については、平成24年5月25日付け食安輸発0525第1号にて通知したところです。
今般、当該通知が引用している平成24年5月15日付け食安監発0515第3号が廃止され、新たに平成24年12月17日付け食安監発1217第3号「腸管出血性大腸菌 O26、O111及びO157の検査法について」が通知されたことから、O103の検査法について別添のとおり所要の改正を行ったので御了知願います。

なお、平成24年5月25日付け食安輸発0525第1号は廃止します。

チーズからの腸管出血性大腸菌 0103 の検査法について

平成 24 年 12 月 17 日付け食安監発 1217 第 3 号「腸管出血性大腸菌 026、0111 及び 0157 の検査法について」の別添（以下「通知別添」という。）に準じ、次の変更を加えた方法にて実施すること。

本法では VT 遺伝子検出法を利用する。

- 1 通知別添 3. 増菌培養の培養条件を $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 20 ± 2 時間とする。
- 2 通知別添 6. VT 遺伝子検出法において陽性であった場合、増菌培養液について、リン酸緩衝液（PBS）で 10^{-6} まで 10 倍階段希釈し、各希釈液について再度 DNA 抽出法及び VT 遺伝子検出法を実施する。
- 3 通知別添 7. 分離培養法においては、VT 遺伝子陽性の最大希釈段液及びその一段上の希釈液各 0.1ml を SMAC 又は Vi RX026 寒天培地（選択剤非添加）に 2 枚ずつ塗抹し分離培養を行う。SMAC 及び Vi RX026 寒天培地の組成等は次のとおりである。

- SMAC 培地 (Sorbitol MacConkey agar) (Oxoid, Difco, MAST, メルク、栄研化学, 日水製薬, 極東製薬工業, 他)

組成:

ペプトン 20.0g
胆汁酸塩 (Bile salts No.3) 1.5g
ソルビトール 10.0g
NaCl 5.0g
ニュートラルレッド 0.03g
クリスタルバイオレット 0.001g
寒天 15.0g
蒸留水 1,000ml
pH 7.2 ± 0.1

- ★: 通常使用している MacConkey agar 処方の乳糖の代わりにソルビトール 10.0g を加えて使用することもできる。121°C で 15 分間滅菌後 50°C 以下に冷却し、分注し寒天平板として使用する。大腸菌のソルビット分解集落は赤色集落を形成する。

- Vi RX 026 寒天培地 (栄研化学)

組成:

ペプトン 15.0g
NaCl 5.0g

胆汁酸塩 1.5g
L-ラムノース 10.0g
フェノールレッド 0.03g
発色基質 0.3g
寒天 15.0g
蒸留水 1,000ml
pH 7.0±0.2

★：121℃で15分間滅菌後50～60℃に冷却し、分注し寒天平板として使用する。

★：Vi RX 026 寒天培地では、026は濃緑～紺色集落を形成する。その他の血清型の大腸菌は黄緑～緑色を、また、大腸菌以外の腸内細菌は黄色～赤色集落を形成し、ブドウ球菌などの腸内細菌以外は発育しない。

塗抹平板培地上に生育した大腸菌コロニーについて、単一コロニー浮遊液を調整する。1プレートに95コロニー以上が検出された場合はコロニー群を4分画以上に分け、その分画内の大腸菌コロニーをすべて釣菌し、それぞれの分画ごとのコロニー浮遊液を作製し、VT遺伝子検出法を実施する。

- 4 単一コロニーのVT遺伝子が陽性だった場合、通知別添8. 血清型別試験等を実施する。分画ごとのコロニー浮遊液がVT遺伝子陽性だった場合、当該浮遊液について2の操作に戻り、単一コロニーでVT遺伝子陽性を確認するまで3の操作を繰り返す。

チーズからの腸管出血性大腸菌O103の検査法

