

リステリア選択寒天培地(オックスフォード処方)

LISTERIA SELECTIVE AGAR (OXFORD FORMULATION)

OXOID コード: CM0856

◆ 組成 (培地1Lあたり)

コロンビア血液寒天基礎培地	39.0	g
エスクリン	1.0	g
クエン酸アンモニウム鉄	0.5	g
塩化リチウム	15.0	g
pH 7.0±0.2		

リステリア選択サブリメント(オックスフォード処方:SR140)

1バイアルあたり: 500mL用

シクロヘキシミド	200.0	mg
硫酸コリスチン	10.0	mg
アクリフラビン	2.5	mg
セフォテタン	1.0	mg
フォスフォマイシン	5.0	mg

◆ 調製方法

本品27.75gを500mLの精製水に懸濁し、沸騰するまで加熱して溶解する。121℃で15分間、高圧蒸気滅菌し約50℃に冷却する。

5mLのエタノール/滅菌水(1:1)で溶解したリステリア選択サブリメント(SR140)1バイアルを無菌的に添加する。十分に攪拌した後シャーレに分注する。

◆ 用途・特徴

食品由来の*Listeria monocytogenes*によるリステリア感染症の発生で食品、環境材料およびヒトと動物の病理検体からの本菌の検出に関心が高まった。

ヒト成人での多くのリステリア感染症は無症状で、腸、腎や子宮頸部で常在化するという結果になる。妊娠中の感染は流産、早期出産や新生児感染を引き起こすことがある。原因不明の再発性流産、早期出産または胎児死亡の場合は、常にリステリア症を考慮すべきである。本菌の検査には血液培養および生殖器スワブ¹⁾を用いる。

成人と新生児に最もよく見られる臨床症状は髄膜炎の発症である。広範囲多発性の感染症、膿瘍、亜急性細菌性心内膜

炎や免疫が低下した患者の日和見感染症が起こることはまれである。

鳥類、魚類やその他の動物は全て*Listeria*に感染する可能性があり、家畜や農園の動物では特に重大な疾病である。ドイツ連邦では動物のリステリア症は報告の義務がある。また、食肉の衛生においても法律でリステリア検査の実施を義務づけている。

*Listeria monocytogenes*は環境中に非常に広く分布している。ミルク^{2,3)}、チーズ⁴⁾、汚水、河川水⁵⁾、サイレージ⁶⁾からの分離が報告されている。*Listeria*属の分布はかなり広範囲のため、感染源は多義にわたる。例えば、加熱調理していない野菜や、キャベツサラダ⁷⁾などで、活物肥料を用いて生産したキャベツが関連付けられた。乳製品が原因の大発生では、乳腺炎の乳牛が原因と考えられた。獣医師にとって非常に重要なことは、牧草製造の変更⁸⁾が大きな原因となって、流産や脳炎を発症する感染症がヒツジの間で増加することである。

かつて、*L. monocytogenes*の分離は、競合する細菌叢の過剰発育により妨害され、有用な選択培地もなく困難を極めた。本培地はCurtisらが報告した処方に基づいており、食品や臨床検体から*L. monocytogenes*の検出に推奨されている。

本培地は次のものを含有する。：

選択阻害剤として、塩化リチウム、アクリフラビン、硫酸コリスチン、セフォテタン、シクロヘキシミド、フォスフォマイシンが含まれ、*L. monocytogenes*の鑑別にエスクリンと第一鉄が含まれている。

*L. monocytogenes*はエスクリンを加水分解し、アグルコンから黒色のフェノール鉄化合物を形成し、コロニー周囲に黒色ハローを形成する。グラム陰性菌は抑制される。多くのグラム陽性菌は抑制されるが、一部の腸球菌は弱い発育を示し、通常では培養40時間後に弱いエスクリン反応を示す。一部のブドウ球菌はエスクリン陰性のコロニーとして発育することがある。

通常、24時間後に典型的な*L. monocytogenes*のコロニーを観察することができるが、遅発株を検出するために更に24時間培養すべきである。

分離方法は研究者と検査する材料により異なる^{10,11)}が選択増菌および低温増菌により分離率がかなり向上したと報告されている¹²⁻¹⁴⁾。本培地の有用性は文献¹⁶⁻¹⁹⁾に記述された方法および選択増菌培養法を用いて、様々な食品で確認され

ている^{15,16)}。

本培地はFDA/BAMの分離法²⁰⁾および他の国立機関や国際的機関²¹⁾の標準試験法で指定されている平板用培地である。

また、本培地はAl-ZorekiとSandineにより、選択剤としてセフタジディム、モクサラクタムおよびシクロヘキシミドを含有する²²⁾彼らのASLM寒天培地の基礎培地として用いられた。

◆ 方法

糞便や生物学的材料

0.1%ペプトン水（CM9）に10%の割合で加えホモジナイズする。

直接塗抹法

リステリアの選択分離培地に懸濁液を0.1mLを塗抹する。35℃で48時間培養する。培養後24、48時間目に典型的なコロニーを観察する。

低温選択増菌培養法

懸濁液を選択増菌培地に加え、30℃で7日間まで培養する。培養後24、48時間目と7日目の増菌培養液を0.1mL、選択寒天培地に塗抹し、35℃で48時間培養する。培養後24、48時間目に典型的なコロニーを観察する。

食品や環境材料

検査方法は、検査材料、著者や制定機関による。

*L. monocytogenes*を検出するのに菌数が少量の場合は分離、鑑別する前に検査材料を増菌培地に接種し増菌させる必要がある。

検査材料により適当な方法と選択増菌培地を用いる。選択分離培地に増菌培養液0.1mLを塗抹し、35℃で48時間培養する。24、48時間目に典型的なコロニーを観察する。

発育したコロニーで*L. monocytogenes*と鑑別されたものは生化学的試験及び血清学的試験で同定する²³⁾。

L. monocytogenes、*L. seeligeri*や*L. ivanovii*のβ-ラクタマーゼ、ホスフォマイシンに対する薬剤感受性は、培養温度に依存する²⁴⁾。

◆ 保存方法・使用期限

30℃以下の乾燥保存でラベル表示期限まで使用可能。調製した培地は2~8℃で保存する。

◆ 品質管理

陽性コントロール

Listeria monocytogenes ATCC 19117

陰性コントロール

Staphylococcus aureus ATCC 25923

◆ 注意

*L. monocytogenes*は、ACDPグループ2（すなわち試験室作業者に危険性がある）であり、適切な環境で扱わなければならない。

妊娠は*Listeria*の存在が分かっている検体の培養作業は行なわない方がよい。

アクリフラビンの光酸化物は*Listeria*属の発育を抑制する。アクリフラビンを含むリステリア分離用培地は、遮光しなければならない。

本培地に使われるサブリメント（SR140）は、有毒な濃度のシクロヘキシミドを含む。「危険物に関する注意」に記載されている注意事項を守ること。

◆ 参考文献

1. Lancet (1985 [2]) August 17. 364-365.
2. Hayes et al (1986) Appl. Env. Microbiol. 50. 438-440.
3. Fernandez Garayzabal J.F. et al (1986) Can. J. Microbiol. 32. 149-150.
4. James S.M., Ferrin S.L. and Agee B.A. (1985) MMWR 34. 357-359.
5. Watkins J. and Sleath K.P. (1981).
6. Gitter M. (1983) Vet. Rec. 112, 314.
7. Schlech W.F., Lavigne P.M. and Bortolussi R.A. (1983) N. Eng. J. Med. 308. 203-206.
8. Appleyard W. (1986) Communicable Diseases, Scotland. April 1986. CDS 86/13.
9. Curtis G.D.W., Mitchell R.G., King A. F. and Griffin E.J. (1989) Letters in Appl. Microbiol. 8. 95-98.
10. van Netten P., van de Ven A., Perales I. and Mossel D.A.A. (1988) Int. J. Food Microbiol. 6. 187-198.
11. Prentice G.A. and Neaves P. (1988) Bulletin of the International Dairy Federation No. 223.
12. Hayes P.S., Feeley J.C. Graves L.M., Ajello G.W. and Fleming D.W (1986) Appl. & Environ. Microbiol. 51. 438-440.
13. Garayzabal J.F.F. Rodriguez L.D., Boland J.A.V. Cancelo J.L.B. and Fernandez G.S. (1986) Can. J. Microbiol. 32. 149-150.
14. Doyle M.P., Meske L.M. and Marth E.H. (1985) J. of Food Protection, 48. 740-742.

15. Crowther J.S. (1988) Personal Communication, Unilever Research Laboratory, Colworth House, Sharnbrook, Bedford, U.K.
16. Neaves P. and Prentice G.A. (1988) Personal Communication, Technical Division, Milk Marketing Board, Thames Ditton, Surrey.
17. Lovett J., Francis D.W. and Hunt J.M. (1987) *J. Food Prot.* 50. 188-192.
18. Donelly C.W. and Baigent G.J. (1986) *Appl. and Environ. Microbiol.* 52. 689-695.
19. Hammer P., Hahn G. and Heeschen W. (1988) *Deutsch Mock-Zeit.* 50. 1700-1706.
20. Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual 7th Edition 1992, AOAC Int. Publishers Arlington V.A.
21. Foodborne Pathogens. Monograph Number 2 - Listeria, page 7. Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, U.K.
22. Al-Zoreki N. and Sandine W.E. (1990) *Appl. Env. Microbiol.* 56. 3154-3157.
23. Bille J. and Doyle M.P. (1991) "Listeria and Erysipelothrix", 287-295 in Balows A., Hauster W.J. Jnr., Herrman K.L., Isenberg H.D. and Shadomy H.J. (Editors), Manual of Clinical Microbiology, 5th Edition, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
24. Curtis G.D.W., Nichols W.W. and Falla T.J. (1989) Letters in *Appl. Microbiol.* 8. 169-172.