食品製造施設における黄色ブドウ球菌疫学指標の解析

植松香星 高村知成 柳本恵太 矢澤彩 三井智昭1 野田妙子 浅山光一2

Analysis of Epidemiological Indicators on *Staphylococcus aureus*Isolated from Food Production Line

Kosei UEMATSU, Chisei TAKAMURA, Keita YANAGIMOTO, Aya YAZAWA, Tomoaki MITSUI, Taeko NODA and Koichi ASAYAMA

キーワード: 黄色ブドウ球菌、コアグラーゼ型別、エンテロトキシン型別、食中毒詳報事例

黄色ブドウ球菌は、手指や鼻前庭などの皮膚に常在しており、手指を介して製造環境や食品が汚染されることが知られている。汚染された食品中で本菌が増殖し、エンテロトキシンが産生されることで食中毒を引き起こすことがある¹)。

山梨県では食品の収去を実施する際、製造施設の衛生 状況の把握及び食中毒防止の観点から食品製造施設における拭き取り検査を実施し、大腸菌群及び黄色ブドウ球 菌について検査を行ってきた。黄色ブドウ球菌の検査に ついては、コアグラーゼ試験による定性を行い、検出された黄色ブドウ球菌がエンテロトキシン産生株と仮定して製造施設の衛生指導を行っている。今回、検出された 黄色ブドウ球菌についてコアグラーゼ型別及びエンテロトキシン型別を行い、食中毒の原因となるエンテロトキシン陽性株の分布を調査し、全国の大規模食中毒事例と 比較した。

方 法

1 検査対象

平成24年6月から26年5月までを調査対象期間とし、 その間行われた延べ751施設、4,380検体を対象とした (表1,2)

2 拭き取り方法

ふきふきチェック (栄研化学株)を用いて水道のカラン、冷蔵庫及び冷凍庫の取手、従事者の手指、作業台、まな板、包丁の柄について拭き取りを行った。施設の状況に応じてアルコールスプレーの取手、番重やボール等についても拭き取りを行った。

拭き取り終了後は冷蔵保存により当所へ搬入された。 なお、拭き取り面積が広いまな板、作業台、手指等の 拭き取り面積については統一していない。

1 現 中北保健福祉事務所 2 現 健康増進課

表 1	調査対象施設内訳	表2	拭き取り

衣 目 調宜以家加	也設內訳	表2 拭き取り場所別検体数			
製造施設分類	施設数	拭き取り場所	検体数		
弁当総菜	287	水道カラン	649		
和・洋生菓子	128	冷蔵庫・冷凍庫	600		
生麺類	91	の取手			
調理パン	62	手指	432		
ソフトクリーム	57	作業台	346		
豆腐	39	まな板	241		
生食用食肉	31	包丁の柄	230		
中央道飲食店	29	へらの取手	84		
その他	27	その他	1,798		
合計	751	合計	4,380		

3 分離方法

ふきふきチェックを手で混和後、容器中の溶液 1mLを 10mLの 7.5%NaCI 加 TSB(日水製薬(株)製に塩化ナトリウムを加えた)に加え、混和後 35 、一夜培養した。その後、一白金耳量を卵黄加マンニット食塩培地(関東化学株)で 35 、48 時間培養後生じた卵黄反応陽性のコロニーについて同定を行った。

同定は市販のウサギ血漿 (栄研化学(株)) を用いたコアグラーゼ反応を取扱説明書のとおり行い、ウサギ血漿の 凝固が認められた株を陽性と判定した。

4 コアグラーゼ型別

コアグラーゼ型別については、潮田²⁾により行い、市 販のウサギ血漿及び抗血清(それぞれデンカ生研)を用 いて 型から 型までの型別を行った。

5 エンテロトキシン型別

普通寒天培地にて純培養のコロニーを TSB 培地 (OXOID)に植え 35 18~20 時間振とう培養し、10,000r.p.m.、4、15 分間遠心(トミー精工)し、得られた上清を用いた。

エンテロトキシン型別については、SET-RPLA (デンカ生研(株))を用いる~Dの型別を行った。

6 全国の大規模食中毒事例の調査

平成23年1月から平成26年12月までに発生した事例を対象とし、厚生労働省のポータルサイト(NESFD)からデータを検索、抽出した。原因施設については厚生労働省食中毒統計資料から調査した³)。

なお、コアグラーゼ型が不明な事例については当該自 治体に問い合わせをした。

結 果

1 分離状況

4,380 検体中、115 検体から黄色ブドウ球菌が分離された。分離された 115 株のコアグラーゼ型及びエンテロトキシン型を表 3 に示した。エンテロトキシン陽性株ではコアグラーゼ が 6 株で最も多く、次いで 型の 5 株、型及び 型がそれぞれ 4 株であった。エンテロトキシン型では B 型が最も多く 12 株、次いで A 型の 7 株、C 型の 5 株であった。

次に拭き取り場所別エンテロトキシン陽性率を表 4 に示した。手指及びアルコールスプレーの取手が37.5% と最も高く、次いで水道カラン21.7%、冷蔵庫・冷凍庫の取手18.2%であった。

表3 製造施設由来株結果(菌株数)

コアグラーゼ型 -	エンテロトキシン型別			陰性	合計
コアクラー E室 -	Α	В	С	法主	口前
	1	3		3	7
	2	1	3	13	19
	4			6	10
		1		26	27
		1	1	12	14
		4	1	9	14
		1		4	5
型別不能		1		18	19
合計	7	12	5	91	115

2 全国の大規模食中毒事例の結果

全国の大規模食中毒事例の結果を表 5 に示した。抽出できた事例は13 事例であった。最も多かった事例は、コアグラーゼ 型でエンテロトキシン A 型の 4 件であり、それに次いでコアグラーゼ 型及び 型がそれぞれ 2 事例、エンテロトキシン G、I 型による希少事例が1事例であった。

また、行政からの要請がないとの理由でコアグラーゼ 型別未実施の自治体も存在していた。

表5 全国食中毒事例の集計結果(件数)

コアグラーゼ型	エンテロトシキン型	事例数
	A	2
	D	1
	A	4
	Α	2
	G,I	1
未実施	A	3
合 計		13

3 食品製造施設の拭き取り結果と全国の大規模 食中毒事例の結果の比較

全国の大規模食中毒事例のコアグラーゼ型別及びエンテロトキシン型の発生頻度からコアグラーゼ 及び 、型でエンテロトキシンA型を食中毒高リスク型と仮定したところ、今回の結果から5施設5株が高リスク型の黄色ブドウ球菌であった。(表6)。

表 4 分離株のエンテロトキシン陽性率

拭き取り場所	手指	アルコール スプレー取手	水道カラン	冷蔵庫・冷凍庫 取手	包丁の柄	まな板	その他	合計
陽性菌株数	9	3	5	4	1	0	2	24
分離菌株数	24	8	23	22	6	3	29	115
陽性率	37.5	37.5	21.7	18.2	16.7	0.0	6.9	20.9

表6 食中毒高リスク黄色ブドウ球菌検出一覧

施設分類	拭き取り場所	コアグラーゼ型	エンテロトキシン型	施設数
弁当総菜	手指		А	2
洋生菓子	水道カラン		А	1
中央道レストラン	アルコールスプレー取手		А	1
生めん類	手指		А	1

考察

県内の食品製造施設おけるエンテロトキシン陽性黄色 ブドウ球菌の分布状況を初めて明らかにした。

分離株のエンテロトキシン陽性率が高かった手指、ア ルコールスプレーの取手、水道カラン、冷蔵庫・冷凍庫 の取手、包丁の柄から食品が汚染される可能性が考えら れることから、これらの場所の消毒を重点的に行う指導 が必要である。また、一度食品が汚染されるとエンテロ トキシンは熱に強いため4)除去が困難となることから、 手指の消毒、手袋の着用で器具を汚染しないようにする ことが重要である。食品衛生監視員の施設に対する拭き 取り結果の指導については、エンテロトキシン産生株と して食中毒原因菌となる可能性があることを考慮してい ることを前述したが、今回の調査で検出した黄色ブドウ 球菌全体の20.9%がエンテロトシシンが陽性であった ことから、その指導方法は適切と思われた。入倉ら5)は 手指由来株のエンテロトキシン陽性が59.9%と報告し ており、従事者への衛生教育の徹底が重要であることを 述べている。

次にコアグラーゼ型、エンテロトキシン型の組み合わせによる食中毒の発生リスクについて全国の大規模食中毒事例を参考に3段階の分類を試みた。

事例で最も多かったコアグラーゼ 及び 、 型でエンテロトキシン A 型をレベル 1 とした。エンテロトキシン A 以外の事例があったことから、コアグラーゼ型別に関係なく A 以外のエンテロトキシン陽性をレベル 2、エンテロトキシン陰性をレベル 3 とした。

今後はこのレベルを参考に食中毒発生事例の検証を行いながら、データを集積したいと考える。

この調査結果が食品監視員の業務の参考としていただけると幸いである。

まとめ

- 1) 食品製造施設 751 施設について黄色ブドウ球菌拭き取り検査を行った。4,380 検体から 115 株を分離し、そのうち 24 株、20.9%がエンテロトキシン陽性であった。
- 2) エンテロトキシン型別ではB型が12株と最も多く分離され、次いでA型の7株、C型5株であった。

- 3)拭き取り場所別エンテロトキシン陽性黄色ブドウ球菌 陽性率は、手指37.5%、アルコールスプレーの取手 37.5%、水道カラン21.7%、冷蔵庫・冷凍庫の取手 18.2%、包丁の柄16.7%であった。これらの場所を中 心に消毒等の指導を行う必要があると思われた。
- 4)全国の大規模食中毒事例について施設分類及びコアグラーゼ型別、エンテロトキシン型別について集計を行った。最も多かった事例は、コアグラーゼ、、型でエンテロトキシンAの事例であった。
- 5)最も多かったコアグラーゼ 、 、 でエンテロトキシン A について食中毒高リスク黄色ブドウ球菌と仮定すると、5 施設 5 株が該当した。

謝辞

全国の事例について集計するにあたり、コアグラーゼ 型別及びエンテロトキシン型の問い合わせにご協力いた だいた各自治体に感謝いたします。

参考文献

- 1) 植松香星,金子道治: 月見だんごによる黄色ブドウ球 菌食中毒について, 山梨衛公研年報,33,30~ 33(1989)
- 2) 潮田弘ら:黄色ブドウ球菌のコアグラーゼ型別簡易法 とその応用、東京衞研年報、**26**,1-6(1975)
- 3) 厚生労働省:食中毒統計資料,過去の食中毒発生状況,http://www.mhlw.go.ip/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/04.html (最終検索日平成28年5月13日)
- 4) 五十君靜信:"食品由来感染症と食品微生物",初版 P.424(2009),(中央法規)
- 5) 入倉善久ら:各種食品取り扱い者からの黄色ブドウ球 菌の検出状況および分離菌株のコアグラーゼ型とエ ンテロトキシン産生性.東京衛研年報,38,145-149 (1987)