

# 1971年から1978年に山梨県で分離された

## ブドウ球菌のコアグララーゼ型について

金子 通治

ブドウ球菌はBergey第8版によれば, *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌), *S. epidermidis* (表皮ブドウ球菌) および *S. saprophyticus* (腐敗ブドウ球菌) の3種に分類されている。分類の主な基準は, 黄色ブドウ球菌がコアグララーゼ産生能, マンニット分解能陽性であるのに対して他2菌種は陰性である。これら3菌種を病原性の面からみると, 一般に病原性があるのは黄色ブドウ球菌のみであることが知られている。つまり, コアグララーゼ産生能を有する黄色ブドウ球菌は, 化膿炎の原因菌となったり食中毒の原因菌ともなるのである(以後, ブドウ球菌とあるのは黄色ブドウ球菌をいう)。コアグララーゼ型は現在I~VIIIに分けられており, 食中毒からの分離菌は限られたコアグララーゼ型を示すことがすでに報告されている<sup>1,2)</sup>。コアグララーゼ型別は, フェージ型別と同じようにブドウ球菌食中毒の疫学調査の一つの方法として行われ, この型別を行うと, 分離されたブドウ球菌が食中毒と関連があるかどうか推定できる。表1に最近5年間の全国細菌性食中毒発生状況<sup>3-7)</sup>を示した。これによると, ブドウ球菌食中毒の発生は腸炎ビブリオ食中毒とならんで多発していることがわかる。ブドウ球菌食中毒は, 菌が産生するエンテロトキシンによって惹き起こされる毒素型食中毒の代表的なものであり, 原因究明の直接的な証明は, 喫食品よりエンテロトキシンを検出することである。当細菌血清科においてもブドウ球菌

食中毒の直接証明であるエンテロトキシンの検出法を検討しているところである。

今回は, 1971年から1978年までに分離されたブドウ球菌90株についてコアグララーゼ型別を行い収去食品, 食中毒由来別に検討したので報告する。

### 材料および方法

#### 1. 検査対象

1971年から1978年の8年間に山梨県で分離されたブドウ球菌90株(うち収去食品等由来62株, 食中毒由来28株)である。

#### 2. ブドウ球菌の分離培養法と同定

分離培地として市販のスタフィロコッカス No. 110 を使用した。食品等を10%の割合で普通ブイヨン中に加えて, ストマッカーによって細かく砕き37°C, 24時間培養後に No. 110 培地に塗抹し, 37°C, 48時間培養して分離した。

菌数計算は, 食品等を滅菌生理食塩水で10倍段階希釈を行い, 各希釈液を0.1mlずつ No. 110 培地にコンラージ棒で塗抹して37°C, 48時間培養後に発生した典型的なブドウ球菌のコロニーを算定する方法で行った。

ブドウ球菌の同定は, No. 110 培地に発生した典型的なコロニーを3個あて釣菌し, DNA 分解酵素産生能を有するコロニーについてコアグララーゼ産生能, マンニット分解能を調べ両者ともに陽性のコロニーをブドウ球菌とした。

#### 3. コアグララーゼ型別法

コアグララーゼ産生能を有するコロニーはコアグララーゼ型別を行ったが, その方法は善養寺ら<sup>8)</sup>, 潮田ら<sup>9)</sup>, 寺山<sup>10)</sup>によった。

### 成 績

食中毒由来の28株のコアグララーゼ型を表2に示した。分離株数は少ないが, いずれの株も善養寺ら<sup>1)</sup>, 寺山ら<sup>2)</sup>の指摘した食中毒に関連のある型とされるII, III, VI, VII型であり一致した。1978年8月, 山梨県小笠原保健所管内で発生したいなり寿司によるブドウ球菌食中毒における食品中のブドウ球菌数と, 分離株のコアグララー

表1 最近5年間の細菌性食中毒発生状況(全国)

細菌	年次別発生件数				
	'73	'74	'75	'76	'77
サルモネラ菌	62	66	73	81	114
ブドウ球菌	212	184	275	207	226
ボツリヌス菌	3	1	1	2	5
腸炎ビブリオ	356	368	667	195	461
病原大腸菌	20	16	22	26	23
その他	17	19	21	13	28
計	670	654	1,059	524	857

表2 食中毒由来ブドウ球菌のコアグララーゼ型

由 来	株数	コアグララーゼ型							
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
'72 のり巻	1							1	
吐物	4							4	
'72 おにぎり	2								2
'76 シュークリーム	2			2					
吐物	1		1						
'76 吐物	1							1	
'77 幕の内弁当	4							4	
'78 いなり寿司	5							5	
患者便	6							6	
ふきとり	1							1	
'78 吐物	1	1							
計	28	0	1	3	0	0	17	7	0

表3 1978年8月に発生したいなり寿司によるブドウ球菌食中毒のコアグララーゼ型とブドウ球菌数

No.	由 来	コアグララーゼ型	ブドウ球菌数/g
1	いなり寿司(製造品残品)	VI	$3.8 \times 10^6$
2	〃 (喫食品残品)	VI	$1.8 \times 10^6$
3	〃 ( 〃 )	VI	$3.5 \times 10^7$
4	〃 (発生場所の持帰品)	VI	$9.1 \times 10^6$
5	〃 (製造所残品)	VI	$3.4 \times 10^7$
6	患者A便	VI	$5.9 \times 10^5$
7	〃 B〃	VI	$2.7 \times 10^3$
8	〃 C〃	VI	$1.1 \times 10^3$
9	〃 D〃	VI	$4.8 \times 10^3$
10	〃 E〃	VI	$7.5 \times 10^3$
11	〃 F〃	VI	$4.7 \times 10^5$
12	従業員手の傷ふきとり	VI	—

表4 取去食品から分離されたブドウ球菌のコアグララーゼ型

由 来	株 数	コ ア グ ラ ー ゼ 型								型別不能
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
取去食品										
ケーキ	30		6	2	3	2	1	13	1	2
冷凍食品	3						1	1	1	
調理パン	6	1	1		1			2		1
自動販売機食品	4	3						1		
弁 当	6			1	1	1		3		
駅 弁	2		1					1		
学校給食	5		1	2				2		
アイスクリーム	1		1							
計	57	4	10	5	5	3	2	23	2	3
その他										
便	2					1		1		
ふきとり	2				2					
のり巻	1									1
計	5	0	0	0	2	1	0	1	0	1
合 計	62	4	10	5	7	4	2	24	2	4

ゼ型を表3に示した。この食中毒は、某食品業者が製造したいなり寿司を、運動会に参加した人達が昼食として喫食し2時間半後に下痢、嘔吐、発熱を主症状に発症し、食中毒と診断された事件である。製造品、喫食いなり寿司、患者便由来等12株は、いずれもコアグラゼVI型のブドウ球菌であった。いずれのいなり寿司からも $10^6$ 個/g以上の菌数のブドウ球菌が検出された。

取去食品等から分離された62株のコアグラゼ型を表4に示した。取去食品由来の57株のコアグラゼ型はI～VIIのすべての型にわたっている。VII型が23株(40.4%)、II型10株(17.5%)と多く、他の型は5株(8.8%)以下であった。57株のコアグラゼ型のうち、食中毒と関連していると考えられているII、III、VI、VII型は40株であり70.2%をも占めていた。これは、善養寺ら<sup>11)</sup>の報告にある食品由来ブドウ球菌108株中II、III、VI、VII型が75株69.4%を占めることと全く一致している。

### 考 察

ブドウ球菌食中毒はデンプン質を主体とする食品が原因食品として多く、弁当類が代表的な食品である。ブドウ球菌食中毒は、食品に附着したブドウ球菌が適当な条件下で増殖してエンテロトキシンを産生し、これを喫食した結果生じる食中毒である。食中毒原因の究明にエンテロトキシンを検出することは直接証明になるが、ブドウ球菌数の算定は勿論のこと、コアグラゼ型別を行うことも重要なことである。いなり寿司食中毒例で示したように、患者が喫食した食品、吐物、便から分離されたブドウ球菌は、同一のコアグラゼ型であった。このことから、コアグラゼ型別試験が、食中毒事件の原因究明の間接的な証明となることは明らかである。また、取去食品57件中、II、III、VI、VII型菌が40株(70.2%)を示したことは、6月から9月の食中毒多発期間に限らずブドウ球菌の増殖の条件さえ満たされれば、いつの時期でもブドウ球菌食中毒は起り得ることを意味するもので

ある。

この食中毒を未然に防ぐには、善養寺ら<sup>11)</sup>の指摘にもあるように調理者の手洗いが重要であり、食品に菌を附着させないことである。また、菌が増殖できないような温度管理も大切なことで、食品の保存には5°C以下が望ましい。米飯中の水分含量や、水分活性が高くなるとエンテロトキシン産生量が増加するという報告<sup>12,13)</sup>もあるように、調理、加工する際の水分量にも配慮するべきである。

ブドウ球菌食中毒の疫学調査にコアグラゼ型別は欠くことのできない検査であるが、直接証明となるエンテロトキシンの検出がいつでも行えるよう現在準備を進めている。今回用いた90株がエンテロトキシンA～Eのどれを産生する株であるのか興味深い。

### 文 献

- 1) 善養寺 浩ら：食衛誌，12，311—314 (1971)
- 2) 寺山 武ら：東京衛研年報，28—1，1—4 (1977)
- 3) 厚生省環境衛生局食品衛生課：食品衛生研究，24，708—732 (1974)
- 4) 厚生省環境衛生局食品衛生課：同上，25，687—699 (1975)
- 5) 厚生省環境衛生局食品衛生課：同上，26，850—863 (1976)
- 6) 桑崎俊昭：同上，27，925—941 (1977)
- 7) 桑崎俊昭：同上，28，810—830 (1978)
- 8) 善養寺 浩，寺山 武：モダンメディア，12，500—508 (1966)
- 9) 潮田 弘ら：東京衛研年報，26—1，1—6，(1975)
- 10) 寺山 武：メディアサークル，23，269—278(1978)
- 11) 善養寺 浩ら：食衛誌，12，501—505 (1971)
- 12) 品川邦汎：日細菌誌，29，336—344 (1974)
- 13) Troller J. A. : Appl. Microbiol. , 21, 435—439 (1971)

