

千葉県におけるぶどう球菌のコアグララーゼ型の分布

佐々木熙夫*、七山 悠三**

I はじめに

ぶどう球菌(以下ぶ菌)は、細菌性食中毒および、化膿性疾患の原因菌として重要視されている。ぶ菌ごとに *Staphylococcus aureus* の産生する毒素、酵素の中で病原性と何らかの関係を持つであろうと考えられているものに溶血素、コアグララーゼ、フィブリノリジン、ヒアルロニターゼ¹⁾などがある。その酵素の中でもコアグララーゼは病原因子としてもかなり重要な意義²⁾があるとされている。また、この酵素は、コアグララーゼ型別(以下コ型別)法³⁾として善養寺らによって実用化され、ファージ型別法と共に疫学的追求の手段として広く用いられている。

そこで、我々は、県内で検出分離されたぶ菌 104 株について、コ型別を行ない、汚染源の追求、食中毒との関係について検討すると共に、薬剤感受性についても検査した。またぶ菌食中毒の原因食品として最も多いたまご焼きやおにぎりに菌を接種し、温度、時間による量的変化も検査したので報告する。

II 検査方法

1. コアグララーゼ型別

(1) 菌株：コ型別に供した菌株は、1973年～1975年までに収集した食中毒由来株 117 株、食料等実態調査由来株 19 株、臨床材料由来株 4 株計 140 株である。

(2) コ型：市販「コ検査用ウサギプラズマ」(栄研化学)、ぶ菌コ型別用免疫血清 I～VII 型(東芝化学)を用い潮田ら⁴⁾の方法に従って行った。即ち、ぶ菌を 5% プラズマ加 BHI ブイヨンに接種し、37℃、16～18 時間培養し凝固したプラズマをピペットで細砕し、その 0.1 ml を小試験管に分注した、これに抗コ血清 I～VII を各々 0.1 ml 添加し、37℃ 1 時間反応後、各々 0.2 ml のプラズマを加えた。判定は 37℃、1、3、6、12、24 時間後にプラズマの凝固が抑制されているものをぶ菌のコ型とした。

(3) 薬剤感受性試験：感受性ディスク(栄研化学 KK)

* 千葉県茂原保健所

** 千葉県衛生研究所

(1978年2月18日受理)

3 濃度を使用した。薬剤は、アミノベンジルペニシリン (AB-PC)、ストレプトマイシン (SM)、ナリジキシン (Nd) である。試験法は、ぶ菌を BHI (BBL) に接種し、37℃ 18～20 時間培養後、菌液を Heat Infusion Agar 平板に均等に塗抹し、その上にディスクを置いた。判定は 37℃、20 時間培養後行なった。

2. 市販厚焼タマゴとおにぎりにおけるぶ菌増殖。

供試品は、市販の厚焼タマゴとおにぎり(味付)で、大きさは約 250 g パック入りである。厚焼タマゴの組材は、タマゴ、澱粉を混合したもの。おにぎりは、味付で、米、人参、ゴボウ、ショウユ入りであった。実験には 100℃ 20 分加熱したものをを使用した。ぶ菌株(食中毒由来株)は、BHI ブイヨンで 37℃、一夜(18 時間)増殖後、滅菌生理食塩水で希釈し、10²/g になるよう予め各温度(20、30、35℃)に保存した厚焼タマゴ、おにぎり各 100 g に添加し混和後、それぞれの温度に保存し 3、6、12、24 時間後菌数を測定した。

III 検査成績

1. コアグララーゼ型別

表1 ぶどう球菌コアグララーゼ型別と薬剤耐性

由来	検体内容	検体数	コアグララーゼ型								薬剤耐性	
			I	II	III	IV	V	VI	VII	UT		
食中毒	集	患者便	41	15				4	16	6	SM, AB-PC, Nd	
		食品	46	12				4	23	7	SM, AB-PC, Nd	
		吐物	18	4					11	3	SM, AB-PC, Nd	
	発	小計	105	31				8	50	16		
		散	患者便	5	4					1		SM, AB-PC, Nd
			食品	3	1					2		SM, AB-PC, Nd
吐物	4		3					1		SM, AB-PC, Nd		
発	小計	12	8					4				
	実態調査	鼻前庭	10	4	4				2		AB-PC, SM	
		収去食品	6		4				2		SM, AB-PC, Nd	
保菌者		3	3							SM, AB-PC, Nd		
臨床材料	小計	19	7	8				4				
	咽頭スワブ	1	1							SM, AB-PC		
	傷口	3	2	1						SM, AB-PC		
合計	小計	4	2	1	1							
	合計	140	9	48	1			8	58	16		

SM (ストレプトマイシン), AB-PC (アミノベンジルペニシリン), Nd (ナリジキシン), UT (不定)

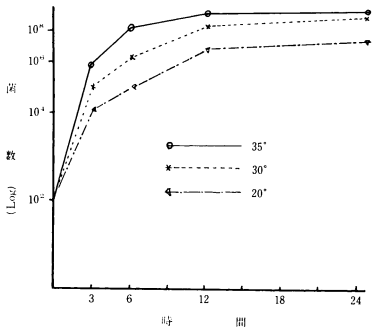
食中毒由来株では、集発散発を含めてⅦ型が54株(38.6%)Ⅱ型が39株(27.9%)、Ⅵ株が8株(5.7%)、UT(凝固の弱いもの)が16株(11.4%)でⅦとⅡ型がその大半を占めている。実態調査ではⅡ型8株(42.9%)、Ⅰ型7株(36.8%)、Ⅶ型4株(21.1%)に分布がみられⅡ型が有位を占めており食中毒由来の場合とほぼ同様の傾向を示していた。また、患者便と食品から同時に検出された場合、集発例ではコ型の一致することが多く、散発例では一致しないことが多かった。UTはその殆んどがコアグラゼ産生能が弱かった。

3. 薬剤感受性試験

薬剤としてストレプトマイシン(SM)、ナリジキシクアシド(Nd)、アミノベンジルペニシリン(AB-P C)を使用し実施したがこれらに耐性を持つものが多く検出されており、表1に示すように多剤耐性菌が殆んどであった。

2. 市販厚焼タマゴとおにぎりにおける菌増殖

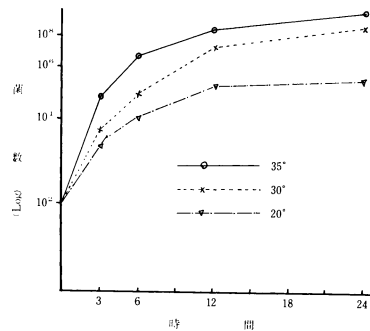
菌を厚焼タマゴの中に添加し20℃、30℃、35℃保存した場合の増殖状態を図1に示した。



20℃では、ゆるやかな増殖を示し3時間後には1.5 × 10⁴ /g、6時間後には8.7 × 10⁴ /g、12時間8.4 × 10⁶ /g、24時間後には2.0 × 10⁷ /gであった。30℃では、最初1.2 × 10² /gで、3時間後には、8.6 × 10⁴ /g、6時間2.1 × 10⁶ /g、12時間1.0 × 10⁸ /gと増殖をし24時間では2.1 × 10⁹ /gに達した。35℃保存では、初めに10² /gで3時間後9.3 × 10⁵ /g、6時間後4.8 × 10⁶ /g、12時間では3.2 × 10⁹ /gと急速に増殖し24時間後には8.3 × 10⁹ /gに達していた。同じようにおにぎり(味付)の中に菌を添加し20℃、30℃、35℃保存した場合の増殖状態を図2に示した。

20℃保存では、添加菌数は1.2 × 10² /gで添加後ゆるやかな増殖を示し3時間後には3.4 × 10³ /g、6時間1.5

× 10⁴ /g、12時間後には2.7 × 10⁵ /g、24時間3.3 × 10⁵ /gであった。



30℃では、最初の菌数は1.1 × 10² /gで3時間、4.2 × 10³ /g、6時間8.3 × 10⁴ /g、12時間後では2.5 × 10⁷ /gと増殖をし、24時間では4.5 × 10⁸ /gに達した。35℃では最初に1.5 × 10² /gで3時間後には8.4 × 10⁴ /g、6時間7.0 × 10⁶ /g、12時間2.6 × 10⁸ /gと急速に増殖をし24時間では1.2 × 10⁹ /gであった。このように増殖傾向を比較すると30℃と35℃では同じような急速な増殖曲線を示している。市販厚焼タマゴとおにぎり(味付)の菌増殖には、菌数として10² /gを接種したが、これは普通、食品の検査に見られる程度の汚染菌量である。これが食中毒発生時に見られる10⁵~10⁷ /gオーダの菌数に達するには、30℃で4~5時間、35℃3時間である。

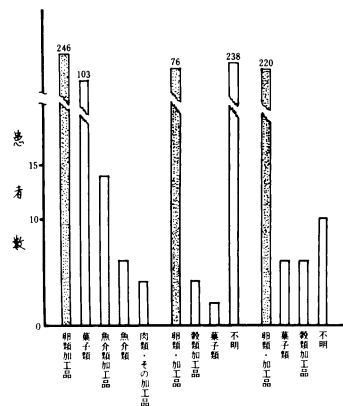


図3 食中毒原因食品 (S47-49) (衛生統計年報より)

IV 考 察

千葉県衛生統計^{5) 6) 7)}によれば、菌食中毒原因食として最も多いのが図3の如く、卵類加工品で、年間約200名の患者発生をみている。次いで菓子類80名、穀類加工品15名となっている。厚生省食中毒統計⁸⁾でもおにぎり、弁当惣菜によるものが、その過半数を占めている。

事実我々の経験でも、卵焼き、煮豆による例、家族小旅行での自家製おにぎりによる例、シュークリーム等洋菓子による例、串だんご等和菓子による例等、集団発生から小規模発生までその例に事欠かない。このような例からの菌は圧倒的にⅦ、Ⅱが多く、食品や食品製造従業員の由来株はⅡ、Ⅶが多い。これに比べ、臨床材料のそれは検体不足ではあるがⅠ型が多く、その分布を異にする。

ぶ菌食中毒と最も密接な関係にある卵焼き、おにぎりにおにぎりを接種すると、温度にもよるが、接種後5時間で接種菌量の2～3倍、12時後には最大菌量 10^{11} ～ 10^8 /g個に達する。この場合おにぎりより卵焼きの方が発育が速く、温度の高い方の菌数も多かった。

今後検討すべき点は、菌数と産生毒素の関係である。食料が検体(推定原因食)を入手した場合、殆んど 10^7 ～ 10^8 個程度の菌数を示すが、そのエンテロトキシンについては検査していない。また、食品による相違、毒素の型による違いもあろう。今後の課題と考える。

V ま と め

千葉県における食中毒や食品等に由来するぶ菌140株についてコ型別を実施すると同時に、薬剤感受性も検査した。また、ぶ菌食中毒と関係の深い食品2点を選び、菌接種後の増殖傾向も検査した。

1. コ型別は、食中毒由来株でⅦ、Ⅱ、Ⅳが、食品や健康者由来株でⅡ、Ⅶが、臨床材料由来株ではⅠ型が多かった。
2. 薬剤感受性については、SM、Nd、AB-PCの3剤耐性が殆んどであった。
3. 厚焼きタマゴとおにぎりでのぶ菌増殖傾向は、前者の方が後者より増殖が速い。また、一般に食中毒を起すに足る菌量は 10^6 ～ 10^7 個とされるが、 10^2 個接種しそれが 10^6 個に達するには、タマゴ焼きの場合20℃で約10時間要したが、30℃にすると6時間、35℃では3時間でたりた。

VI 文 献

- 1) 林江沢他：入門微生物学(上)、180～183、南江堂、1971
- 2) 善養寺浩他：腸炎、157～164、納谷書店、1966
- 3) 善養寺浩他：ブドウ球菌コアグラエゼに関する研究 (I) 東京衛研年報1～3、1962
- 4) 潮田弘他：黄色ブドウ球菌のコアグラエゼ型別簡易法とその応用、東京衛研年報、26、1～6、1975
- 5) 千葉県：千葉県衛生統計年報、357～358、1972
- 6) 千葉県：千葉県衛生統計年報、429～430、1973
- 7) 千葉県：千葉県衛生統計年報、361～362、1974

- 8) 厚生省環境衛生局食品衛生課：昭和49年度食中毒発生状況、食衛研、25、667～669、1975
- 9) 品川邦汎他：ブドウ球菌エンテロトキシンの検査、日細誌、29、334～344、1974
- 10) 善養寺浩他：東京都における発生した食中毒の原因食品の種類と原因菌のコアグラエゼ型について、食衛誌、12、311～314、1971