

X I . 黄色ブドウ球菌の検査法

1. はじめに

ブドウ球菌は現在 36 菌種、19 亜菌種に分類されている。このうち黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は細菌性食中毒の原因菌である。コアグララーゼ産生性を有するが、陰性の株もある。

ブドウ球菌食中毒の特徴

	下痢型 (感染型食中毒)
病原因子	エンテロトキシン (Staphylococcal enterotoxin : SET) : 嘔吐毒。単純蛋白質。消化酵素、熱に対して抵抗性。多くの場合、A、A+B、A+D 型が検出される。現在、SEA~SEL (SEF 除く) の 7 種類。黄色ブドウ球菌の 60~70% が SET を産生する。 検査法 : SET-RPLA。PCR (遺伝子の有無)
潜伏時間	0.5~6 時間
主要症状	悪心・嘔吐を必発症状とし、しばしば下痢を伴う
主な原因食品	握り飯などの穀類及びその加工品。弁当などの複合調理品など
発生機序	食品中で増殖する時に産生する SE を食品とともに摂取することで発生する
感染菌量	$10^7 \sim 10^8 / g$

2. 検査材料とその取り扱い

原因食品、患者の吐物と便、推定原因食品の調理施設の拭き取り、調理者の手指、鼻前庭や咽頭スワブ等。

手指等の化膿の原因菌である本菌が、食品の汚染源となる場合がある。

検査材料	検査項目	注意点
患者吐物	菌・毒素	胃酸、胆汁の混入により菌が死滅しやすいので、速やかに検査を実施する。
患者便	菌	
推定原因食品	菌 (菌数測定)・毒素	保冷して検査室に運ぶ。
施設等の拭取	菌 (必要に応じ増菌培養)	保冷して検査室に運ぶ。

3. 食中毒発生時の検査

便・吐物・・・直接分離培養
 食品・・・・・・10%乳剤を作成し、直接分離培養
 拭き取り・・・直接分離培養。必要に応じて増菌培養

1) 直接分離培養（糞便・吐物等）

卵黄加マンニット食塩寒天培地 (MSEY 寒天培地) 集落の性状 (37°C、二日培養後)

7.5%NaCl 耐性(+)。1.0～1.5 mm の不透明、中心がやや隆起した黄色集落

マンニット分解性(+): 黄色集落

卵黄反応(+): 集落周囲に混濁環ないし真珠様反応環を伴う。

ただし、卵黄反応陰性の株もある。

2) 増菌培養

増菌培地: 7.5% NaCl 加普通ブイヨン

3) 10%乳剤作成法（食品）

最終濃度 10%になるよう 0.1%ペプトン加生理食塩水を検体に加えストマッカーで均一化する。（希釈液は、PBS または生理食塩水でも良い）

4) 定量培養: 菌数の測定

① 食品の 10%乳剤を 10 倍段階希釈する。

② 各希釈段階の 0.1 ml を MSEY 培地上に滴下し、コンラージ棒で広げる。

③ 37°C で二日間培養する。

④ マンニット分解(+)、卵黄反応(+)**集落の数を測定し、1g 当たりの菌数を算出する。 *黄色ブドウ球菌陽性の食品は定量培養を行い、菌数を測定する。**

5) コアグララーゼ産生試験（コアグララーゼ: 血漿を凝固させる因子）

各検体 3～5 個の集落についてコアグララーゼ産生試験を行う。

(1) 試験管法

① Plasma broth 作成（凍結乾燥ウサギプラズマ法（栄研））

凍結乾燥ウサギプラズマにブレインハートインヒュージョンブロス (BHI) あるいはハートインヒュージョンブロス (HI) を 7ml 加え溶解し、小試験管に 1.2ml 分注する。

② 非選択寒天培地で一夜培養した被検菌の一白金耳をプラズマ溶液に接種し、
37°C で静置培養する。

③ 培養後 3、6、及び 24 時間の各時間に血漿凝固の有無を判定する。

（コアグララーゼ陽性: 血漿凝固、フィブリン析出）

(2) PS ラテックス法（栄研）

用法に従う。

6) エンテロトキシンの検出

(1) 菌株のエンテロトキシン産生試験

① 菌株を BHI 等の液体培地で 37°C、18 時間以上振盪培養する。

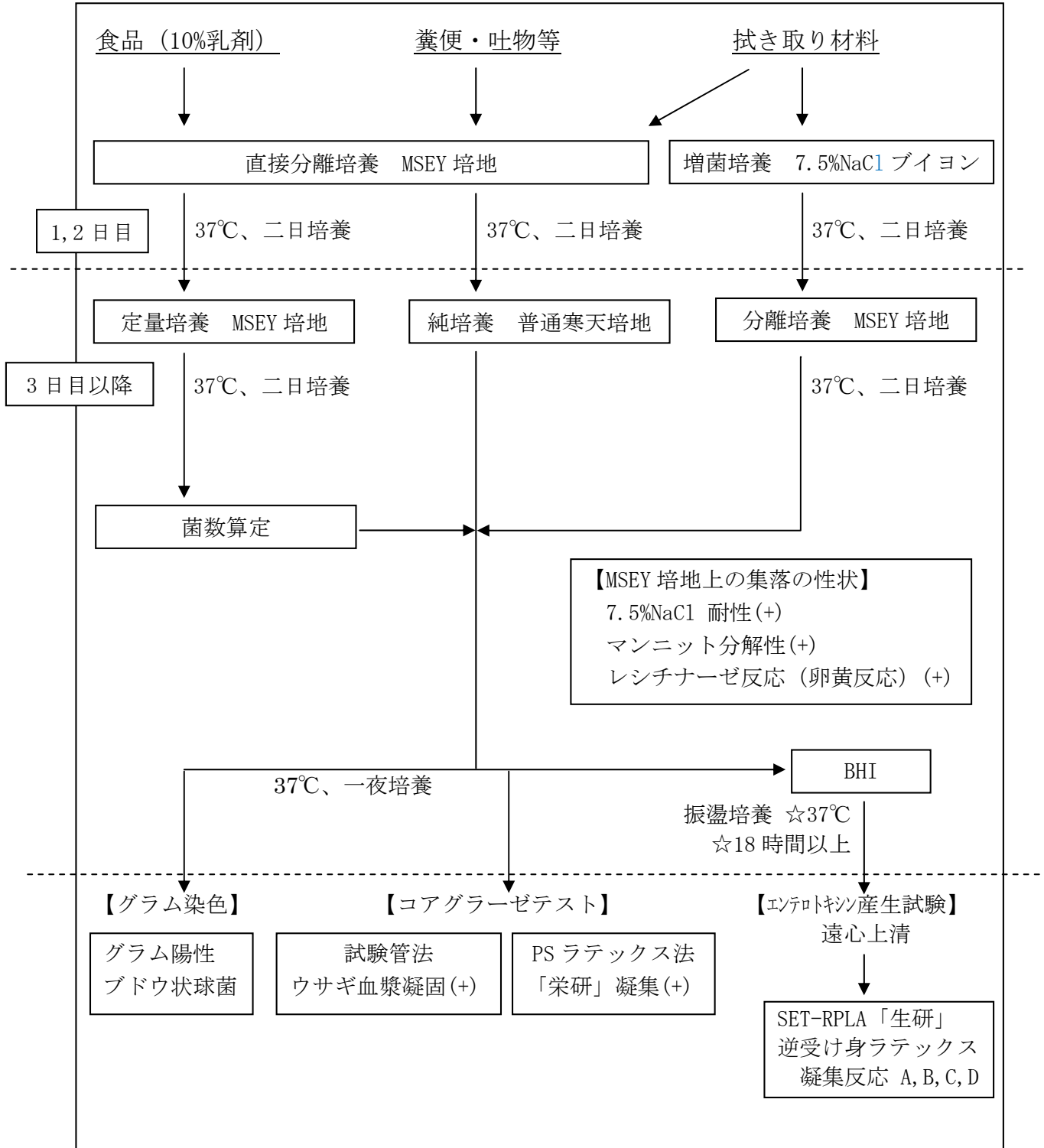
② 遠心分離 (3,000rpm、20 分) 後、上清を検体とし、逆受け身ラテックス凝集試験を行う。

(2) 食品からのエンテロトキシンの検出

① 食品 (約 10g 程度) に 4 倍量の滅菌希釈液加えてストマッカー処理を行い、

5倍食品懸濁液とする。

② 遠心分離 (3,000rpm、20分) 後、上清を検体とし、逆受け身ラテックス凝集試験を行う。



4. 黄色ブドウ球菌食中毒の原因決定ないし推定

健康なヒトは、糞便中に黄色ブドウ球菌を保有している場合がある。また、市販食品の 10%前後に本菌汚染が認められる。従って、黄色ブドウ球菌が便や食品から検出された場合でも、直ちに原因菌と決定することはできない。

1) ブドウ球菌による食中毒であることの推定

- ① 原因食品喫食から症状発現までの潜伏期が短く、主症状が嘔気、嘔吐。
- ② 患者の多くからブドウ球菌が高率に検出される。
- ③ 分離されたブドウ球菌がエンテロトキシンを産生する。
- ④ 分離株のコアグララーゼ型が一致する。

2) 原因食品の決定（推定）

- ① 原因と思われる食品からエンテロトキシンが検出され、患者便（又は吐物）から分離された株のエンテロトキシン型と一致する。
- ② 原因と思われる食品から黄色ブドウ球菌が分離され（通常 $10^5/g$ 以上）、分離株のエンテロトキシン型、コアグララーゼ型が、患者の吐物や糞便からの分離株と一致する。