

食品従事者を目指す学生の黄色ブドウ球菌保菌率と 食中毒の危険性について

Staphylococcus aureus colonization rate of students aiming to become food workers
About the risk of food poisoning

市瀬 尚子、外尾 亜利珠、野村 秀一

要旨：

黄色ブドウ球菌は、食品衛生学的には毒素型食中毒原因菌の代表的細菌として、医学的には化膿性疾患の代表的な起因菌であり、局所性化膿、敗血症などを引き起こし、医療の現場では重要な感染症の原因細菌である。これまでに鼻腔内の黄色ブドウ球菌の保菌率は多く報告されているが、直腸内の保菌状況及び生物学的性状の報告はほとんどない。また一般健康成人における鼻腔、手指および直腸内の黄色ブドウ球菌の報告は少ない。そこで本研究では、現状における一般健康成人の黄色ブドウ球菌に関する情報を得るため、長崎短期大学 食物科栄養士コース、製菓コース（現：地域共生学科 食物栄養コース、製菓コース）の学生を対象に鼻腔内と手指、直腸内の保菌状況と生物学的性状及び薬剤感受性について検討し、被験者46名中28名が、鼻腔、手指もしくは直腸内のいずれかの部位に黄色ブドウ球菌を保菌しており、その保菌率は60.9%とかなり高率であった。

Abstract：

Staphylococcus aureus colonization rate in students aiming to become food workers: about the risk of food poisoning

Staphylococcus aureus is an important causative agent of infections and toxin-type food poisoning in medical practice as it is the leading bacterium in food hygiene, and the leading causative agent of pyogenic infections in medicine, causing localized suppuration and septicemia. In this study, we investigated the biological characteristics and drug sensitivity of Staphylococcus aureus in the nasal cavity, fingers, and rectum of students in the nutrition and confectionery courses (now the Food Nutrition and Confectionery Course in the Department of Regional Symbiosis) of Nagasaki Junior College of Health Sciences to understand the bacterial carriage of staphylococcus aureus in healthy adults. The results revealed that 28 out of 46 students were carrying Staphylococcus aureus in either the nasal cavity, fingers, or rectum, with a significantly high rate of 60.9%.

キーワード：黄色ブドウ球菌、食品衛生、食中毒、薬剤感受性

Keywords : Staphylococcus aureus, food hygiene, foodborne diseases, drug susceptibility

I. はじめに

黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) は、空気・土壌中など自然界に広く分布し、ヒトや動物の皮膚や鼻腔内・腸管等に常在しているグラム陽性菌であり、菌体外に様々な酵素や毒素を産生し、人体に付着、侵入、発症を起こす^{1~3)}。

食品衛生学的には毒素型食中毒菌の代表的細菌として、また、医学的には化膿性疾患の代表的な起炎菌であり、局所性化膿、敗血症、各種の毒素による毒素性ショックなどを引き起こし、医療の現場では重要な感染症の原因菌である^{4~7)}。

黄色ブドウ球菌は、ヒトや動物の血漿を凝固させる酵素であるコアグララーゼを産生し、血清学的にⅠ～Ⅹ型の10種類に区別されており、黄色ブドウ球菌の分類に利用されている。また、黄色ブドウ球菌による食中毒由来菌でのコアグララーゼの型別においては、その約70%がⅦ型であり、次いでⅢ、Ⅱ、Ⅵ型であるが、これまで食中毒の原因菌とならなかったⅣ型による食中毒事例が報告されている^{8) 9)}。一方、コアグララーゼを産生しないブドウ球菌はコアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (Coagulase Negative Staphylococci : CNS) とよばれ、ヒトの常在細菌であり、病原性はほとんどないが、日和見感染症の原因菌として重要な細菌である。

毒素としては、食品中で増殖する際に産生する腸管毒素 (エンテロトキシン) は毒素型食中毒の原因となり、黄色ブドウ球菌による食中毒は例年細菌性食中毒の約30%を占めている¹⁰⁾。エンテロトキシンは分子量3万前後の単純タンパクで、抗原特異性によりA～U型の存在が報告されているが¹¹⁾、食中毒の原因毒素としては、A～E型が多く、わが国ではA型の毒素単独、あるいはA型と他の毒素型との混合型による食中毒事例が多く、黄色ブドウ球菌による食中毒の約90%を占めている¹⁾。

黄色ブドウ球菌は62℃以上、30分間の加熱で容易に死滅するが、エンテロトキシンは100℃、30分間の加熱においても失活しない。食品と共に体内に摂取されると、消化酵素に対して安定であるため、破壊されずに、胃や小腸で容易に吸収され自律神経や嘔吐中枢を刺激し、短い潜伏時間 (平均3時間) の後、悪心・嘔吐を主症状とする腹痛や下痢を伴う消化器系症状を呈する¹⁾。

毒素性食中毒に関与する毒素の他に黄色ブドウ球菌は、高熱 (38.9℃以上) や低血圧 (成人で最高血圧90mmHg以下)、発疹 (びまん性の斑状紅皮)、多臓器不全 (消化管、筋、粘膜、腎臓、肝臓) など全身症状を呈する毒素性ショック症候群 (Toxic Shock Syndrome : TSS) の病原因子であるTSST-1 (Toxic Shock Syndrome Toxin-1) を産生する菌株が存在する。TSST-1はMHC (Major Histocompatibility Complex) クラスⅡとTCR (T Cell Receptor) を架橋することにより多数のT細胞を活性化するため過度のサイトカインが産生され、その結果としてTSSが発症することが明らかとなり、1989年、この毒素の活性に対して「スーパー抗原」という概念が提唱された¹²⁾¹³⁾。その後、エンテロトキシンもTSST-1と同様にTSSの原因となり得るスーパー抗原であることが明らかにされた¹¹⁾。

黄色ブドウ球菌は赤血球膜に孔をあけて破壊する毒素であるヘモリジン (溶血毒) を産生する。ヘモリジンはヒトの感染初期の防御機構で重要な働きをする白血球やマクロファージなどの貪食細胞に対する黄色ブドウ球菌の防御因子として機能している¹⁴⁾。

黄色ブドウ球菌のヒトにおける保菌率の研究では、健康成人の保菌率は、一般に10～40%程度であると報告されている。^{15)～17)}しかし、その報告は、鼻腔内における保菌率の結果であり、他の身体部位における黄色ブドウ球菌の保菌状況についての報告はほとんどなく、食品取り扱い者の手指における黄色ブドウ球菌の保菌率が報告されているだけである¹⁸⁾。一方、病院などの医療施設においては、入院患者を対象としたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus : MRSA) の入院患者の鼻腔内や直腸内における保菌率の結果が報告されている^{19)～20)}。

そこで本研究では、健康成人における黄色ブドウ球菌に関する情報を得るため、長崎短期大学 食物科栄養士コース、製菓コース (現：地域共生学科 食物栄養コース、製菓コース) の学生を対象として鼻腔内の左右と鼻の下、手指の手の甲、手の平、指先および直腸内の黄色ブドウ球菌の保菌状況、その生物学的性状及び薬剤感受性について検討した。

Ⅱ. 材料と方法

1. 調査対象及び調査方法

対象は、本学の食物科栄養士コース、製菓コース (現：地域共生学科 食物栄養コース、製菓コース) の学生46名であり、平成30年12月3日から11日の期間で実施した食品衛生学実習において、被験者自身による鼻腔 (左右の鼻腔内および鼻の下)、手指 (手の平、手の甲、指先) 及び直腸内の拭き取りを実施した。鼻腔 (鼻腔内および鼻の下)、手指及び直腸内の拭き取りを実施するにあたり、学生に口頭と文章で研究の趣旨を説明し、

文書による同意を得た上で実施した。

なお、本研究に関しては、長崎国際大学健康管理学部倫理委員会の承認を受けた（承認番号 19H07）。

2. 実験方法

1) 黄色ブドウ球菌の採取方法と分離

被験者自身が、滅菌綿棒を用いて被験者自身の鼻腔内粘膜及び直腸内粘膜の拭き取りを行い、食塩卵黄寒天培地（14ml）に塗抹し、37℃で48時間培養を行った。培地に生育した集落のうち、卵黄反応陽性を示したもののについてコアグララーゼ試験を行った。

2) 黄色ブドウ球菌の確認のためのコアグララーゼ試験

スタフィロ LA（デンカ生研）を用いて行った。

スライド凝集反応板のサークルに感作ラテックスを滴加し、卵黄反応陽性を示した集落を加え、20秒以内に凝集が認められたものをコアグララーゼ陽性、凝固のみられないものは陰性と判定した。

3) 黄色ブドウ球菌の生物学的性状の判定

(1) エンテロトキシン産生能と型別（毒素型）

SET-RPLA（デンカ生研）を用いて行った。

被験菌株を白金耳で BHI broth 4ml に接種し、37℃で24時間培養後、培養液をボルテックスで混和し、3,000rpm、30分間遠心沈殿した上清を用い、1検体につき、マイクロプレート5系列にピペットマンを用いて、最前列の穴を除くすべての穴に希釈液 25 μ l ずつを滴下し、最前列の5穴に検体をピペットマンで 25 μ l ずつ滴下後、同一検体を5本のダイリ्यूーターに吸い上げ、2穴目から最後穴を除いて2倍段階希釈した。感作ラテックス抗 A、抗 B、抗 C、抗 D および対照ラテックスを、それぞれの系列にドロッパーで 25 μ l ずつ滴下後、十分振盪した。反応液の蒸発を防ぐためラップをし、37℃で24時間静置し、ラテックス凝集像を肉眼で観察して判定した。

(2) TSST-1 産生能

TST-RPLA（デンカ生研）を用いて行った。

被験菌株を白金耳で BHI broth 4ml に接種し、37℃で24時間培養後、培養液をボルテックスで混和し、3,000rpm、30分間遠心沈殿した上清を用い、1検体につき、マイクロプレート2系列にピペットマンを用いて、最前列の穴を除くすべての穴に希釈液 25 μ l ずつを滴下し、最前列の2穴に検体をピペットマンで 25 μ l ずつ滴下後、同一検体をピペットマンで2穴目から最後穴を除いて2倍段階希釈した。感作ラテックス及び対象ラテックスをそれぞれの系列に 25 μ l ずつ滴下後、十分振盪した。反応液の蒸発を防ぐためラップをし、37℃で24時間静置し、上方から各穴のラテックス凝集像を肉眼で観察し判定した。

(3) コアグララーゼ型別

コアグララーゼ型別用免疫血清キット（デンカ生研）を用いて行った。

被験菌株を白金耳を用いて BHI broth 4ml に接種し、37℃で24時間培養後、培養液をボルテックスで混和し、3,000rpm、30分間遠心沈殿した上清を用いた。9本の試験管に上清液を 0.1ml ずつ分注後、この試験管に I 型抗血清、II 型抗血清、以下各管別に III～VIII 型抗血清をそれぞれ 0.1ml ずつ加え、第9管には対象として20倍希釈ウサギ血清の 0.1ml を加えよく混合し、37℃の恒温水槽内で1時間静置した。試験管を恒温水槽から取り出し、5倍希釈ウサギ血漿を 0.2ml ずつ加えてよくふりまぜ、再び恒温水槽内に静置した。1時間後に一度判定し、その時点で型別が確定しない場合、さらに恒温水槽内に静置して2時間、4時間、24時間、48時間に延長した。対応する抗コアグララーゼ血清を作用させた系のみが、特異的に血漿凝固を起こさず、他の系はすべて凝固する

ので、判定は各試験管を静かに傾けて血漿凝固の有無を観察し、血漿凝固を阻止している管の抗血清型をもって、被検菌のコアグララーゼ型と判定した。

4) 薬剤感受性試験

使用した薬剤は、oxacillin (MPIPC)、ampicillin (ABPC)、vancomycin (VCM)、Ciprofloxacin (CPFX) の4薬剤である。

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute、臨床・検査標準協会) の寒天平板希釈法²⁰⁾に従って、培養した被験菌株を滅菌生理食塩水に懸濁し、菌液濃度 McFarland 標準濁度 0.5 と同じ濁度に調整し、寒天培地上に滅菌綿棒で均一に塗抹した後、KB でディスク (栄研) を置き、37℃で24時間培養後、阻止円の直径を測定した。

各薬剤に対する黄色ブドウ球菌の耐性度は、CLSI Document M100-S22 の基準及びその他の文献を参考に作成された判定基準 (栄研) に従って、MPIPC は17mm以上、ABPC は16mm以上、CPFX は15mm以上、VCM は14mm以上を耐性と判定した。

Ⅲ. 結果

1) 鼻腔の左右、鼻の下、手指の手の甲、手の平、指先及び直腸内の黄色ブドウ球菌の分離

鼻腔の左右、鼻の下、手指の手の甲、手の平、指先及び直腸内の拭き取りをした綿棒を食塩卵黄寒天培地に塗抹し、37℃で48時間培養後、卵黄反応陽性を示す集落を黄色ブドウ球菌とした (Figure-1)。



Figure-1 卵黄反応陽性

2) コアグララーゼ試験による黄色ブドウ球菌の確認

黄色ブドウ球菌では、ウサギ血漿液を凝集させたが、黄色ブドウ球菌でないものはウサギ血漿液の凝集反応は見られなかった (Figure-2)。卵黄反応陽性を示した97株のうち92株が凝集反応を認め、この92株に関して生物学的性状を検討した。

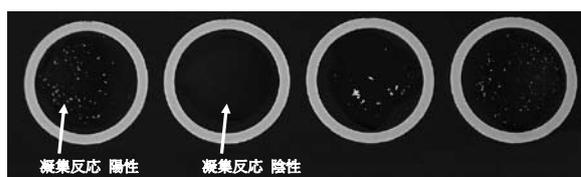


Figure-2 コアグララーゼ試験 (凝集反応)

3) 鼻腔の左右、鼻の下、手指の手の甲、手の平、指先及び直腸内の黄色ブドウ球菌の保菌率

鼻腔の左右、鼻の下、手指の手の甲、手の平、指先及び直腸内のいずれかに黄色ブドウ球菌を保菌していた者は46名中28名、保菌率は60.9%であった。各部位の保菌率を示す (Table-1)

鼻腔の左、右、鼻の下) の保菌率は45.7% (21名/46名)、手指 (手の平、手の甲、指先) の保菌率は37.0% (17名/46名)、直腸内の保菌率は41.3% (19名/46名)、鼻腔と直腸内どちらも保菌していた者は46名中11名、保菌率は23.9%であった。

鼻腔の左、右、鼻の下) の保菌率は45.7% (21名/46名)、手指 (手の平、手の甲、指先) の保菌率は37.0% (17名/46名)、直腸内の保菌率は41.3% (19名/46名)、鼻腔と直腸内どちらも保菌していた者は46名中11名、保菌率は23.9%であった。

Table-1 各部位の保菌状況

	鼻腔 (右)	鼻腔 (左)	鼻の下	手の平	手の甲	指先	直腸内
陽性数	20	18	15	6	7	7	19
陽性率 (%)	43.5%	39.1%	32.6%	13.0%	15.2%	15.2%	41.3%

4) 黄色ブドウ球菌の生物学的性状

鼻腔、手指及び直腸内から分離された 92 菌株について、エンテロトキシン、TSST-1 の産生能について検討した。

(1) 黄色ブドウ球菌の産生するエンテロトキシンの型別 (毒素型)

黄色ブドウ球菌の産生するエンテロトキシンの型別を判定できるのは A、B、C、D 型の 4 種類である。鼻腔内、手指および直腸内より分離された菌株それぞれ、53 菌株、20 菌株、19 菌株について、エンテロトキシンの型別を検討した。

A 型は鼻腔では 49.1% (26 菌株)、手指では 50.0% (10 菌株)、直腸内では 47.4% (9 菌株)、B 型は鼻腔で 18.9% (10 菌株)、手指では 10.0% (2 菌株)、直腸内で 0.0% (0 菌株)、C 型は鼻腔で 1.9% (1 菌株)、手指では 0.0% (0 菌株)、直腸内で 5.3% (1 菌株)、D 型は鼻腔で 1.9% (1 菌株)、手指では 0.0% (0 菌株)、直腸内で 5.3% (1 菌株)、A 型と B 型の複合型は、手指で 5.0% (1 菌株) 直腸内で 0.0% (0 菌株)、A 型と D 型の複合型は鼻腔で 1.9% (1 菌株)、B 型と C 型の複合型は直腸内では 5.3% (1 菌株)、判定不能だったものは鼻腔で 26.4% (14 菌株)、手指では 35.0% (7 菌株)、直腸内では 36.8% (7 菌株) であった (Table-2)。

Table-2 部位別エンテロトキシン型

エンテロトキシン型	A	B	C	D	A/B	A/D	B/C	UT	合計
鼻腔	26	10	1	1	0	1	0	14	53
手指	10	2	0	0	1	0	0	7	20
直腸	9	0	1	1	0	0	1	7	19
合計	45	12	2	2	1	1	1	28	92

UT エンテロトキシン型別不能

(2) 黄色ブドウ球菌の TSST-1 産生能

鼻腔内、手指および直腸内より分離された 53 菌株、20 菌株、19 菌株について、TSST-1 産生能を検討した。TSST-1 産生能は、鼻腔で 32.1% (17 菌株)、手指で 23.5% (4 菌株)、直腸内で 15.8% (3 菌株) であった。

(3) 黄色ブドウ球菌のコアグララーゼ型別

鼻腔、手指及び直腸内から分離された 53 菌株、20 菌株、19 菌株について、コアグララーゼ型別について検討した。コアグララーゼ型別は I 型が鼻腔では 3.8% (2 菌株)、手指では 10.0% (2 菌株)、直腸内では 5.3% (1 菌株)、II 型は鼻腔で 7.5% (4 菌株)、手指では 10.0% (2 菌株)、直腸内で 5.3% (1 菌株)、III 型は鼻腔内で 15.1% (8 菌株)、手指では 15.0% (3 菌株)、直腸内で 15.8% (3 菌株)、IV 型は鼻腔で 7.5% (4 菌株)、手指では 0.0% (0 菌株)、直腸内で 10.5% (2 菌株)、V 型は鼻腔で 18.9% (10 菌株)、手指では 15.0% (3 菌株)、直腸内で 15.8% (3 菌株)、VI 型は鼻腔で 9.4% (5 菌株)、手指では 10.0% (2 菌株)、直腸内で 10.5% (2 菌株)、VII 型は鼻腔内で 30.2% (16 菌株)、手指では 30.0% (6 菌株)、直腸内で 40.0% (8 菌株)、VIII 型は鼻腔で 3.8% (2 菌株)、手指では 5.0% (1 菌株)、直腸内で 0.0% (0 菌株)、判定が不能だったものは鼻腔で 3.8% (2 菌株)、手指では 0.0% (0 菌株)、直腸内では 0.0% (0 菌株) であった (Table-3)。

Table-3 部位別コアグララーゼ型

コアグララーゼ型	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	UT	合計
鼻腔	2	4	8	4	10	5	16	2	2	53
手指	2	2	3	0	3	2	8	0	0	20
直腸	1	1	3	2	3	2	7	0	0	19
合計	5	7	14	6	16	9	31	2	2	92

UT コアグララーゼ型別不能

(4) 黄色ブドウ球菌の毒素型とコアグラーゼ型別との関連

鼻腔、手指及び直腸内より分離された92菌株について、エンテロトキシン、TSST-1及びコアグラーゼ型との関連をTable-4に示した。

これらの組合せでは、エンテロトキシンA型、コアグラーゼⅦ型、TSST-1産生ものが9菌株、同じくTSST-1非産生のものが9菌株と最も多い結果となった。

Table-4 毒素型とコアグラーゼ型別

毒素型	コアグラーゼ型別									合計	%
	I型	II型	III型	IV型	V型	VI型	Ⅶ型	Ⅷ型	不能		
A	3	2	1	3	4	6	9	1		29	31.5
B			2	1	4		4			11	12.0
C					1		1			2	2.2
D					1		1			2	2.2
A+B		1								1	1.1
A+D			1							1	1.1
B+C				1						1	1.1
B+D										0	0.0
C+D										0	0.0
TSST-1			5							5	5.4
TSST-1+A	1	1	1		2	1	9			15	16.3
TSST-1+B	1									1	1.1
TSST-1+C										0	0.0
TSST-1+D										0	0.0
非産生		3	4	1	4	2	7	1	2	24	26.1
合計	5	7	14	6	16	9	31	2	2	92	100.0
%	5.4	7.6	15.2	6.5	17.4	9.8	33.7	2.2	2.2	100.0	

(5) 黄色ブドウ球菌の各種抗菌剤に対する耐性菌の出現率

分離された黄色ブドウ球菌92菌株の4種類の抗菌剤に対する耐性菌の出現率をTable-5に示す(Figure-3)。

MPIPCに対し17mm以上の耐性を示した菌株は、鼻腔で39.6%(21菌株)、手指で45.0%(9菌株)、直腸内で47.4%(9菌株)であった。

ABPCに対し16mm以上の耐性を示した菌株は、鼻腔で1.9%(1菌株)、手指で10.0%(2菌株)、直腸内で5.3%(1菌株)であった。

VCMに対し14mm以上の耐性を示した菌株は鼻腔で0.0%(0菌株)、手指で0.0%(0菌株)、直腸内で5.3%(1菌株)であった。

CPFXに対し15mm以上の耐性を示した菌株は鼻腔で5.7%(3菌株)、手指で10.0%(2菌株)、直腸内で15.8%(3菌株)であった。

これらの結果から、分離された黄色ブドウ球菌において、MPIPC、ABPC、VCM、CPFXに対して耐性化した薬剤耐性菌が存在することが明らかになった。

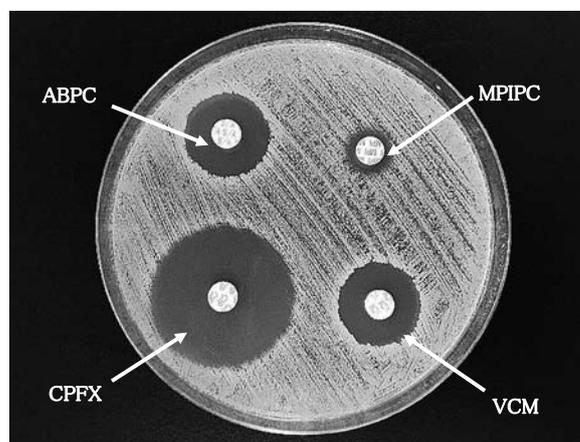


Figure-3 薬剤感受性試験

Table-5 各部位の薬剤感受性

薬剤	oxacillin (MIPIC)	ampicillin (ABPC)	vancomycin (VCM)	ciprofloxacin (CPFX)	合計
鼻腔	21	1	0	3	25
手指	9	2	0	2	13
直腸	9	1	1	3	14
合計	39	4	1	8	52

(6) 黄色ブドウ球菌の各保菌部位の関連性

各部位に黄色ブドウ球菌を重複して保菌している者において、保菌部位の間に関連があるか否かを χ^2 検定によって統計解析を行った。

右鼻腔内に黄色ブドウ球菌を保菌していることと、他の部位との黄色ブドウ球菌を保菌していることとの間の解析では、左鼻腔内、鼻の下、手の平、指先、直腸で有意な関連性が認められた (Table-6)。

また、指先の保菌と他部位との保菌に関しては直腸以外での有意な関連性が認められた (Table-7)。

直腸では、右鼻腔内との関連性が認められたが、他の部位との関連性は認められなかった (Table-8)。

Table-6 各保菌部位の関連性 (右鼻腔内)

	右鼻腔内の黄色ブドウ球菌保菌状況		オッズ比	χ^2 検定
	保菌者	非保菌者		
鼻腔 (左)	17	25	141.67	p<0.001
鼻の下	13	24	22.29	p<0.001
手の平	5	25	8.33	p<0.05
手の甲	5	24	4.00	ns
指先	6	25	10.71	p<0.05
直腸	5	25	4.07	p<0.05

Table-7 各保菌部位の関連性 (指先)

	指先の黄色ブドウ球菌保菌状況		オッズ比	χ^2 検定
	保菌者	非保菌者		
鼻腔 (右)	6	25	10.71	p<0.05
鼻腔 (左)	6	27	13.50	p<0.01
鼻の下	7	39	-	p<0.001
手の平	4	37	24.67	p<0.001
手の甲	4	36	16.00	p<0.001
直腸	5	25	4.46	ns

ns : not significant

Table-8 各保菌部位の関連性 (直腸内)

	直腸内の黄色ブドウ球菌保菌状況		オッズ比	χ^2 検定
	保菌者	非保菌者		
鼻腔 (右)	12	19	4.07	p<0.05
鼻腔 (左)	10	19	2.64	ns
鼻の下	8	20	2.13	ns
手の平	4	25	3.33	ns
手の甲	4	24	2.13	ns
指先	5	25	4.46	ns

ns : not significant

(7) 各保菌部位の黄色ブドウ球菌の相似性

鼻腔、手指、直腸の3部位において、黄色ブドウ球菌を保菌した5名において、その各部位から分離された菌株が同一の菌株であるのか、あるいは異なった菌株であるのかを、生物学的性状に基づいて比較検討した。

被験者4においては、3部位から分離された菌株の4つの生物学的性状は、エンテロトキシン型別不能、コアグラーゼはⅢ型、TSST-1はすべて産生していたことから、1種類の黄色ブドウ球菌が保菌していることが分かった。

被験者1においては、左鼻腔内および鼻下から分離された菌株ではコアグラーゼⅧ型であったが、その他の部位はⅥ型と異なっていたが、その他の生物学的性状は同じであった。この結果は、被験者1は2種類の性状の異なる黄色ブドウ球菌を保菌していることを示している。その他の被験者においても2～3種類の性状の異なる黄色ブドウ球菌していた。

IV. 考察

平成30年12月3日～11日の期間に、健康成人の対象者として本学学生46名の左右の鼻腔内、鼻の下、手の甲、手のひら及び手の指先、そして直腸内における黄色ブドウ球菌の保菌状況を調査した。被験者46名中28名が、鼻腔、手指もしくは直腸内のいずれかの部位に黄色ブドウ球菌を保菌しており、いずれの部位にも保菌していなかった者は、46名中18名、保菌率は60.9%とかなり高率であった。

部位別にみると鼻腔内および鼻の下に保菌していた者は21名(45.7%)、手指は17名(37.0%)、直腸内は19名(41.3%)であった。12月における健康成人の鼻腔内の黄色ブドウ球菌の保菌率の報告はないが、季節における気温等を考慮すると、高い保菌率であることが考えられる。

黄色ブドウ球菌の保菌部位と保菌者数との関係の結果から、調査した左右の鼻腔内、鼻の下、手の甲、手のひら、及び手の指先の6つの部位で、2つ以上の部位に重複保菌していた者は、保菌者46名中41名であった。

このことは、黄色ブドウ球菌はヒトの身体のある部位に保菌されると、他の別の部位に重複保菌する可能性が高いことを示唆している。

各部位に黄色ブドウ球菌を重複保菌している保菌者において、左右の鼻腔内、鼻の下、手の甲、手のひら、及び手の指先などの保菌部位の間に関連性があるか否かを χ^2 検定によって統計解析した。左右の鼻腔内に黄色ブドウ球菌を保菌していることと、他の保菌部位との間には、有意な関連性が認められた。また、手の指先に黄色ブドウ球菌を保菌していることと、他の保菌部位との間には、有意な関連性が認められた。これらのことは、鼻腔内に黄色ブドウ球菌を保菌していることは、手指をはじめとして他の部位に黄色ブドウ球菌が保菌している可能性が高いことを示唆している。つまり、鼻腔内の黄色ブドウ球菌の保菌検査を実施し、保菌が確認された場合は、鼻の下、手の甲、手のひら、手の指先などの部位に高い確率で黄色ブドウ球菌が存在することを意味する。本菌食中毒の重要な病原因子であるエンテロトキシンは、現在A～Eの5型に分類されており、食中毒由来菌株ではエンテロトキシンA産生菌が90%を占めている。今回得られた分離菌株では、鼻腔で73.6%、手指で65%、直腸では63.2%がエンテロトキシンを産生し、その毒素型は複合型も含めてA型が最も多く鼻腔で49.1%、手指で50%、直腸では47.4%、次いでB型が鼻腔で18.9%、手指では10%、続いてC型、D型となった。石原らが学生から分離したTSST-1産生菌株の検出率は7.0%²¹⁾吉武らが健康な看護学生の鼻腔から分離したTSST-1産生菌株は22.9%であった²²⁾のに対し、今回得られた分離菌株では鼻腔で32.1% (17菌株)、手指で23.5% (4菌株)、直腸内で15.8% (3菌株)であった。

食中毒を起こした黄色ブドウ球菌の起炎菌とコアグラーゼ型の関係では、Ⅱ・Ⅲ・Ⅵ・Ⅶ型に限られており、黄色ブドウ球菌食中毒由来菌株ではその約70%がⅦ型であり、次いでⅢ・Ⅱ・Ⅵ型である。⁸⁾⁹⁾今回分離した黄色ブドウ球菌でのコアグラーゼ型は、鼻腔・手指・直腸ともにⅦ型が最も多く、次いで鼻腔ではⅤ型・Ⅲ型・Ⅵ型、手指ではⅢ・Ⅶ型、直腸ではⅢ型・Ⅴ型・Ⅳ型・Ⅵ型の順で、食中毒事例の起炎菌と同じコアグラーゼ型の黄色ブドウ球菌を高率に保菌していた。これらのことは保菌者が本菌による食中毒の感染源となる可能性の高いことを示唆している。

本学を卒業後、栄養士あるいは製菓衛生師として、集団給食業務や食品製造業務などに従事する学生たちには、本研究結果を教育の場である講義や実習において、具体的には食品衛生学、食品衛生学実習、調理学実習、給食経営管理実習などで教授することで、食中毒や食品汚染などを未然に防ぐための基礎知識と有効な手段を教授する貴重な資料となる事を期待している。

また、鼻腔、手指、直腸に黄色ブドウ球菌を保菌した5名において、その各部位から分離された菌株が同一の菌株かあるいは異なった菌株であるのかを生物学的性状を基にして比較検討した。各部位から分離された菌株がすべて同一で、1種類の菌株が保菌している者、2種類または3種類の菌株が保菌している者が明らかになった。このように、同じ黄色ブドウ球菌であるにも関わらず、性状の異なる多種類の菌株を保菌するようになるのかは不明である。

これらのことは、黄色ブドウ球菌を保菌している場合、必ずしも同じ性状を有する黄色ブドウ球菌が保菌しているのではなく、多種類の菌株が保菌している可能性があることを示唆している。これらのことを明確にするには、各部位から分離された菌株について、より詳細な生物学的性状の検討を行うとともに遺伝子学レベルでの解析が必要あると考えられる。

分離された黄色ブドウ球菌に対するヒトの感染症治療薬として使用されている4種類の抗菌剤に対する感受性試験を行い、ペニシリン系抗菌材である MPIP (オキサシリン) で42%、ABPC (アンピシリン) で4.3%、グリコペプチド系薬剤である VCM (バンコマイシン) で1.0%、ニューキノロン系薬剤である CPM (シプロフロキサシン) で8.3%の耐性率を示した。これらのことは、健康成人が保菌している黄色ブドウ球菌の中に薬剤耐性菌が存在していることを示している。これらの薬剤に耐性化した黄色ブドウ球菌を被験者である健康な学生がどのようにして保菌するようになったかは不明である。今後、薬剤耐性菌の観点から健康なヒトや多くの生鮮食品における黄色ブドウ球菌の分布と薬剤耐性化について検討を進めていく予定である。

参考文献

- 1) Weldvogel, F.A : Staphylococcus aureus (including toxic shock syndrome) .In Principles and practice of Infectious Disease, 4thed.pp.1754-1777. Edited by G.L.Mandell, J.E.Bennett & R.Dolio, New York : Churchill Livingstone, 1995
- 2) Boyce, J.M. : Epidemiology and prevention of nosocomial infections. pp. 309-329, In KB Crossley and GL Archer (ed.) , The staphylococci in human disease. Churchill Livingstone, New York, N.Y. 1997
- 3) 微生物学。化学法同人。 84-85 , 2007
- 4) Bergdoll, M.S. ; B.A.Cross, R.F.Reiser, et al. : A new staphylococcus enterotoxin, enterotoxin F, associated with toxic shock-syndrome Staphylococcus aureus isolates. Lancet I : 1017-1021 , 1981
- 5) Schilievort, P.M. ; K.N.Shanads, B.B.Dan, et al. : Identification and characterization of an enterotoxin from Staphylococcus aureus associated with toxic-shock syndrome. J.Infect. Dis. 143 : 509-516 , 1981
- 6) Sheagern, J.N. : Staphylococcus aureus : The persistent pathogen. N.Engl.J.Med. 310 : 1368-1373 , 1984
- 7) Garbe, P.L. ; R.J.Arko, A.L.Reingold, et al. : Staphylococcus aureus isolates from patients with nonmenstrual toxic shock syndrome. Evidence for additional toxins. JAMA 253 : 2538-2542 , 1985
- 8) 柴田幹良, 柳川義勢, 新井輝義, 甲斐明美, 諸角聖 : 同時期に発生したコアグラゼIV型黄色ブドウ球菌食中毒2事件について。東京衛研年報。 52 : 3-6 , 2001
- 9) 甲斐明美, 五十嵐英夫 : 感染症週報。 3 (13) : 10-13 , 2001
- 10) 厚生統計協会 : 国民衛生の動向。 49 : 275-276 , 2002
- 11) 重茂克彦 : ブドウ球菌エンテロトキシン研究の最近の進展。食品衛生学雑誌。 51 (4) : 7-1 , 2005
- 12) Marrack P. and Kappler J. : The staphylococcal enterotoxins and their relatives. Science 248 : 705-711 ,

1990

- 13) Uchiyama T., Yan X.-J., Imanishi K., and Yagi J. : Bacterial superantigens-Mechanism of T cell activation by superantigens and their role in the pathogenesis of infectious diseases. *Mucribiol Immunol.* 38 : 245-256 , 1994
- 14) 田中香織, 花木秀明, 柳沢千恵, et al :
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) が産生する hemolysin に対するヒト免疫グロブリン製剤の効果。 *Medical Postgraduates.* 42 (2) : 58-62 , 2004
- 15) HU L., Umeda A., Kondo S., Amako K. : Typing of *Staphylococcus aureus* colonizing human nasal carriers by pulse-field gel electrophoresis. *J. Med. Microbiol.* 42 : 127-132 , 1995
- 16) 小林芳夫 : メチシリン耐性黄色ブドウ球菌。 *Infect. control* 7 : 14-18 , 1998
- 17) 斎藤勝, 浅香清美, 新井美穂, 川端彰, 加納碩雄, 加納堯子 : 黄色ブドウ球菌保有者の血清総 IgE 抗体、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン特異的 IgE 抗体並びに血液像に関する検討。 *食品衛生学雑誌.* 43 (3) : 243-249 , 2002
- 18) 五十嵐英夫 : 近年のブドウ球菌食中毒の発生状況について。 *国際学院埼玉短期大学紀要.* 22 : 18-21 , 2001
- 19) 調理施設における「使い捨て手袋」の使用と食中毒。 *食べもの文化.* 10 , 2004
- 20) *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Six Information Supplement, 2016 (CLSI)*
- 21) 石原ともえ, 高橋智恵子, 岡本正孝 : 健康学生鼻腔由来ブドウ球菌について。第一報 *mec A* 遺伝子保有 MRSA・CNS の検出。 *日本環境感染学雑誌.* 2001 16 : 125-130
- 22) 吉武美佐子, 目野郁子 : 健康な看護学生の鼻腔から分離された黄色ブドウ球菌のエンテロトキシンおよび TSST-1 産生とコアグララーゼ型別について。 *西南女学院大学紀要.* 2003 7 : 1-6