

## 香川県内で発生した黄色ブドウ球菌有症苦情事例

Analysis of Symptomatic Complaints Caused by *Staphylococcus aureus*  
in Kagawa Prefecture

福田 千恵美 岩下 陽子 有塚 真弓 内田 順子 松井 賢児  
Chiemi FUKUDA Yoko IWASHITA Mayumi ARIZUKA Junko UCHIDA Kenji MATSUI

## 要 旨

2013年10月に香川県内で発生した黄色ブドウ球菌有症苦情事例について、表現型別としてコアグラージェ型別及びエンテロトキシン型別、遺伝子型別としてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を行った。調査結果より従事者の一人による作業環境の汚染が疑われた。原因の究明により再発防止指導が行いやすくなると思われる。今回、表現型別と遺伝子型別の疫学調査の結果は一致したが、表現型別は同じでも遺伝子型別では異なることがあるので遺伝子型別でより詳細に確認し由来を特定する必要がある。

キーワード：黄色ブドウ球菌 エンテロトキシン型別 コアグラージェ型別 食中毒

## I はじめに

黄色ブドウ球菌による食中毒は毒素型食中毒である。黄色ブドウ球菌の増殖で産生されたエンテロトキシンにより、喫食後1~5時間で吐き気、嘔吐が起こる<sup>1)</sup>。疫学調査を行い原因究明することで再発の防止にもつながる。疫学調査の方法は2種類あり、表現型別としてコアグラージェ型別及びエンテロトキシン型別、遺伝子型別としてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)がある。2013年10月に香川県内で発生した黄色ブドウ球菌有症苦情事例において表現型別と遺伝子型別の疫学調査を行い菌株間の関連性を検討した。

## II 方法

## 1 供試菌株

有症者便1検体、従事者便3検体、ふき取り10検体、使用水1検体及び食品残品2検体計17検体について食中毒菌検査を実施した。その結果、有症者便1検体、従事者便2検体、ふき取り2検体から分離された黄色ブドウ球菌5株を対象とした。

## 2 方法

## (1) 表現型別分類

コアグラージェ型別はブドウ球菌コアグラージェ型別用免疫血清「生研」(デンカ生研)、エンテロトキシン型別はブドウ球菌エンテロトキシン検出用キットSET-RPLA「生研」(デンカ生研)を用いてそれぞれ分類した。

## (2) 遺伝子型別分類

PFGEは、滋賀県立衛生環境センター<sup>2)</sup>の方法を参考に実施した。

Trypticase Soy Brothで37℃一夜静置培養後、培養液を400 $\mu$ lマイクロチューブに取り12,000rpm2分遠心した。上清を捨て200 $\mu$ lの水に再浮遊させ、56℃に加温後、1%Sea Kem Gold Agarose(TaKaRa)200 $\mu$ lを混和しサンプラーキャスター0.7mmに流し込み室温で15~30分固化させた。

固化ブロックを5mg/ml Lysozyme(和光)・20 $\mu$ g/ml Lysostaphine(和光)加0.5M EDTA(pH8.0)1mlで37℃一晚振盪。その後、1mg/ml Proteinase K(Roche)、1%N-Lauroylsarcosine(SIGMA)、0.5M EDTA 1mlに交換し50℃一晚振盪。アガロースブロックを取り出し、カバーグラスで4mm×4.5mmにカットする。4mM Pefabloc SC(Roche)、TE Buffer(pH8.0)500 $\mu$ lで50℃30分振盪を2回行いProteinase Kを不活化した。TE Buffer 1mlで氷上30分振盪を2回洗浄し、A buffer 200 $\mu$ lに交換後、氷上30分振盪。制限酵素20U *Sma* I(Roche)、A buffer 100 $\mu$ lを加え37℃一晚振盪。

プラグを取り出し、コムに貼付け乾燥し1g Sea Kem Gold Agaroseを0.5×TBE Buffer 100mlで加温溶解後、56℃に冷却しゲルを作成した。CHEF DRIII(Bio Rad)にて0.5×TBE Buffer 14℃、電圧6V/cm、パルスタイム5.3~34.9sec、18時間泳動。解析はFingerprinting II(Bio Rad)で行った。

### Ⅲ 結果

#### 1 表現型別分類

コアグララーゼ型別及びエンテロトキシン型別の結果を表1に示す。菌株No. 3以外はコアグララーゼ型Ⅳ、エンテロトキシン型A,Cであった。菌株No. 3はコアグララーゼ型、エンテロトキシン型ともに不明であった。

#### 2 遺伝子型別分類

PFGEによる結果を図1に示す。菌株No. 3以外は相同性が100%であった。

### Ⅳ 考察

香川県内で発生した黄色ブドウ球菌有症苦情事例において表現型別と遺伝子型別の疫学調査の結果は一致した。これにより従事者の一人による作業環境の汚染が疑われた。原因の究明により再発防止指導が行いやすくなると思われる。

今回は菌株数が5株で表現型別と遺伝子型別に差異は無かったが、表現型別は同じでも遺伝子型別では異なる

ことがある<sup>2) 3)</sup>ので遺伝子型別でも確認する必要がある。

### Ⅴ 結論

1. 香川県内で発生した黄色ブドウ球菌有症苦情事例において表現型別と遺伝子型別の疫学調査が一致した。
2. 表現型別は同じでも遺伝子型別では異なることがあり遺伝子型別でより詳細に由来を特定する必要がある。

### 文献

- 1) 山本茂貴：国立感染症研究所病原体検出マニュアル ぶどう球菌食中毒
- 2) 研究代表者 渡辺治雄：食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究 平成16年度 総括・分担研究報告書, 125-129
- 3) 研究代表者 渡辺治雄：食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究 平成16年度 総括・分担研究報告書, 180-190

表1 表現型別による分類

菌株No.	検体名	コアグララーゼ型別	エンテロトキシン型別
1	手洗い蛇口 ふき取り	Ⅳ	A, C
2	炊飯器持ち手 ふき取り	Ⅳ	A, C
3	従事者 A	型不明	—
4	従事者 B	Ⅳ	A, C
5	有症者	Ⅳ	A, C

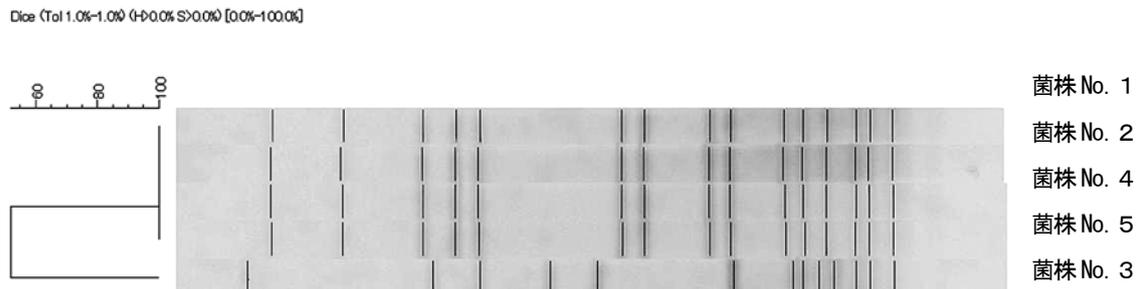


図1 黄色ブドウ球菌のPFGE デンドログラム

### Abstract

We conducted an analysis of symptomatic complaints caused by *Staphylococcus aureus* in Kagawa Prefecture in October 2013 by the method of Coagulase typing and Enterotoxin typing as serologic typing method, and by Pulsed-Field Gel Electrophoresis(PFGE) as the molecular epidemiological method. Results

imply the work environment may have been contaminated by one of the staff members. Thanks to the investigation where we found the cause to be the contamination of the work environment, we can prevent recurrence of symptomatic complaints. Even if the same results are acquired by serologic typing method, there is the possibility that the results acquired by molecular epidemiological method are different. Therefore, analysis should be conducted by both of these methods as we did this time.