

原著

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

吉武美佐子* 目野 郁子**

〈要 旨〉

健康な看護学生の鼻腔から黄色ブドウ球菌を分離し、エンテロトキシン (SE) A~D、Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) の毒素産性を調べた。そしてこれら毒素産生黄色ブドウ球菌のコアグララーゼ型別についても調べた。198人の健康な看護学生の鼻腔から分離された黄色ブドウ球菌は48株 (24.2%) で、分離されたすべての株はメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) であった。48株のうちSEA~SEDあるいはTSST-1のどれかを産生している株は23株 (47.9%)、それらの毒素を産生していない株は25株 (52.1%) であった。23の毒素産生株の中で7株 (30.5%) がSEBを、6株 (26.1%) がTSST-1+SEAを、4株 (17.4%) がTSST-1を、2株 (8.7%) がSEAを、2株 (8.7%) がSECを、1株 (4.3%) がSEA+SEBを、1株 (4.3%) がTSST-1+SECを産生していた。また、毒素産生株のなかでコアグララーゼIV型、VII型、III型の株がそれぞれ39.2%、34.8%、13.1%と比較的高い頻度で検出された。

キーワード：黄色ブドウ球菌 エンテロトキシン TSST-1 コアグララーゼ型 鼻腔

I. 緒 言

黄色ブドウ球菌はヒトの常在菌として存在するが、菌が産生する毒素が病原因子として作用し、ヒトにさまざまな問題を引き起こすことがある。その毒素産生性と菌のコアグララーゼ型を調査した研究は多く、特定の疾患から特定のコアグララーゼ型や特定の毒素産生を示す黄色ブドウ球菌が検出されている。例えば、黄色ブドウ球菌食中毒ではエンテロトキシン (SE) A産生菌とコアグララーゼVII型菌が¹⁾、新生児発疹性疾患ではToxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) 産生菌²⁾が多く分離されている。また、近年、院内感染で問題となっているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) によるMRSA感染症からは、SECとTSST-1産生のコアグララーゼII型菌が多く検出されている³⁾。特に、医療の現場においては、このような原因菌が健康保菌者である医療従事者から他へという経路で伝播している危険性がある。

そこで本研究では、将来医療従事者になるであろう健康な看護学生を対象に、黄色ブドウ球菌保有状況および分離された株の毒素産生性 (SEA~SED、TSST-1) やコアグララーゼ型別についてその分布状況を調べた。

II. 研究対象および方法

1. 対 象

2001年6月から10月にかけて、本研究に同意が得られた西南女学院大学保健福祉学部看護学科学生198名を対象として、鼻腔内から黄色ブドウ球菌の検出を行った。

2. 分離および同定

滅菌生理食塩水で湿らせた滅菌綿棒を用いて、被験者の右鼻腔内から検体を採取した。これをマンニト生理食塩培地に直接塗抹し、37℃、24時間培養を行った。分離されたコロニーのうち黄色コロニーのみ釣菌した。分離菌を純培養した後に、DNase培地 (ニッスイ) を用いて分離菌のDNase産生の有無を確認した。また、ウサギプラズマ (栄研) によるコアグララーゼテストも行った。共に、DNase陽性、コアグララーゼ陽性の分離菌を黄色ブドウ球菌と同定した。

3. エンテロトキシン検出と型別判定およびTSST-1検出

分離された黄色ブドウ球菌をブレインハートインフュージョン (BHI, Difco) 液体培地0.5 mlに接種し、37℃、24時間の振盪培養を行った。その培養液10 μl

* 西南女学院大学保健福祉学部看護学科 助手

** 西南女学院大学保健福祉学部看護学科 教授

をさらにBHI液体培地1 mlに植え継ぎ、37°C、24時間振盪培養した。培養液を遠心分離し、菌体を除去した後の培養上清を用いて黄色ブドウ球菌のエンテロトキシンおよびTSST-1の検出を行った。エンテロトキシン検出と型別判定は、SET-RPLA法（デンカ生研）を、またTSST-1の検出は、TST-RPLA法（デンカ生研）を用いた逆受け身ラテックス凝集反応によって行った。いずれの試験もキットに記載された方法に準拠して行った。

4. コアグララーゼ型別試験

エンテロトキシン産生、TSST-1産生の黄色ブドウ球菌についてコアグララーゼ型別試験を行った。分離株をBHI液体培地0.5mlに接種し、37°C、24時間静置培養した。遠心分離後、その上清を試料液とし、ブドウ球菌コアグララーゼ型別試験用免疫血清（デンカ生研）を用いてコアグララーゼ型別試験を行った。試験はキットに記載された方法に準拠して行った。

5. MRSAの検出

分離された黄色ブドウ球菌からスライドラテックス凝集反応によりPBP2'の検出を行うMRSA-LA法（デンカ生研）を用いてMRSAの検出を行った。

Ⅲ. 結果

1. 黄色ブドウ球菌分離状況と毒素産生性およびMRSA検出状況

看護学生198名の鼻腔より、1検体あたり1個の菌を供試した。培地上に形成されたコロニーから分離された黄色ブドウ球菌は48株で、分離状況は24.2% (48/198株)であった。さらに分離された黄色ブドウ球菌48株のうち23株 (47.9% : 23/48株) が、エンテ

ロトキシンやTSST-1を産生する毒素産生黄色ブドウ球菌であり、25株 (52.1% : 25/48株) が毒素非産生黄色ブドウ球菌であった (表1)。

今回分離された黄色ブドウ球菌は、すべてメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) でMRSAは検出されなかった。

2. エンテロトキシン産生性と型別判定およびTSST-1産生性

分離された毒素産生株23株のエンテロトキシン産生性と型別、TSST-1産生性を図1に示した。SEA、SEB、SEC、SEDを単独で産生する菌株の分離率は、それぞれ8.7% (2/23株)、30.5% (7/23株)、8.7% (2/23株)、0% (0/23株)であった。TSST-1単独産生株は17.4% (4/23株)の分離状況であった。また、同時に二つの型の毒素を産生した株の分離率は、SEA+SEB産生株が4.3% (1/23株)、TSST-1+SEA産生株が26.1% (6/23株)、TSST-1+SEC産生株が4.3% (1/23株)であった。エンテロトキシン産生性にのみ着目して分けると、SEA、SEB、SEC、SED単独産生株の分離率は、それぞれ42.1% (8/19株)、36.8% (7/19株)、15.8% (3/19株)、0% (0/19株)、SEA+SEB産生株が5.3% (1/19株)であった。また、TSST-1産生株は、単独で毒素を産生する型とエンテロトキシンと同時に産生する型を合わせると47.8% (11/23株)に達し、毒素産生株の半数近くから検出された。

3. コアグララーゼ型別

毒素産生株23株のコアグララーゼ型別を図2に示した。コアグララーゼI型が0% (0/23株)、II型が4.3% (1/23株)、III型が13.1% (3/23株)、IV型が39.2% (9/23株)、V型が0% (0/23株)、VI型が4.3% (1/23株)、VII型が34.8% (8/23株)、VIII型が4.3% (1/23

表1 分離株の毒素 (Enterotoxins, TSST-1) 産生状況

毒素産生	株数
+	23(47.9)
-	25(52.1)
計	48(100.0)

()%

Table 1 Production of toxins (Enterotoxins, TSST-1) of *Staphylococcus aureus* isolates

株)であった。IV型(39.2%)、VII型(34.8%)が多く、次いでIII型(13.1%)が多く分離された。

4. 毒素型とコアグララーゼ型別との関係

表2に菌が産生する毒素型とコアグララーゼ型の関係

を示した。エンテロトキシンあるいはTSST-1産生株23株のうち、コアグララーゼIV型でTSST-1+SEA産生株が26.1%(6/23株)と最も多く、次いで、VII型でSEB産生株が21.7%(5/23株)、IV型でTSST-1産生株が13.0%(3/23株)と多かった。

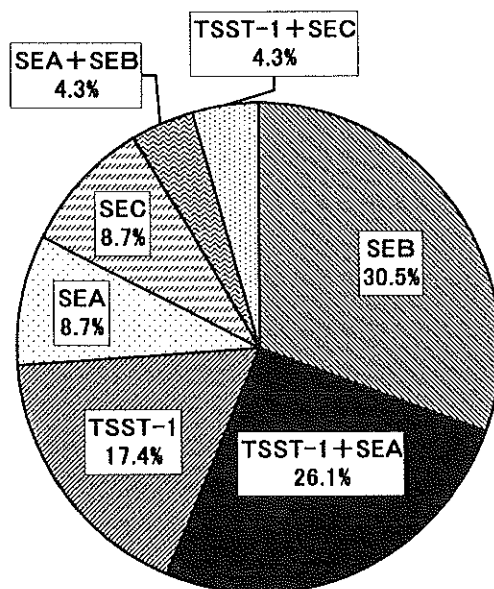


図1 毒素産生株のエンテロトキシン型およびTSST-1産生性

Fig. 1 *Staphylococcal enterotoxin (SE) types and TSST-1 production of toxin-producing Staphylococcus aureus strains*

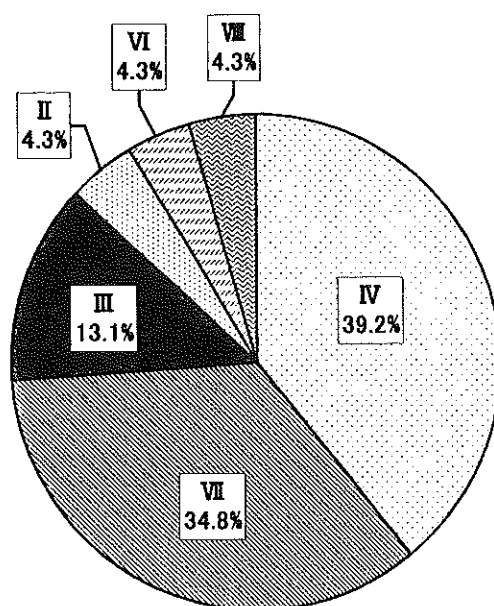


図2 毒素産生株のコアグララーゼ型別

Fig. 2 *Coagulase types of toxin-producing Staphylococcus aureus strains*

IV. 考 察

健康なヒトの鼻前庭には10~20%の割合で黄色ブドウ球菌が定着していると考えられている。島内ら⁴⁾や垣花ら⁵⁾による医療従事者と学生の黄色ブドウ球菌鼻腔内保有状況を比較した報告では、医療従事者がそれぞれ34.4%、37.0%の保菌率であるのに対して、学生は28.4%、25.0%という結果であった。本学学生の保菌状況は24.2%であり、両報告の学生の保菌率とほぼ一致していた。また、両報告ではMRSAは医療従事者からそれぞれ28.1%、15.0%の分離率で検出されているが、学生からは検出されていない。同様に本学学生からもMRSAは検出されなかった。一般に、健康なヒトのMRSA保菌率は医療従事者のものに比較して低いと言われている。医療従事者は病院という特殊な環境の中で新たにMRSAに感染し保菌者になってしまうことが考えられる。

今回分離された黄色ブドウ球菌48株のうちエンテロトキシンあるいはTSST-1産生性を示す株は23株(47.9%)であった。エンテロトキシン産生性にのみ着目するとSEA産生株が最も多く、次いでSEB、SEC産生株が多く分離された。関口ら⁶⁾の専門学校生(栄養士、看護師、理美容師)を対象とした報告では、SEB

産生株が最も多く分離され、次いでSEA、SEC産生株が分離されている。出現頻度は多少異なるものの、多く検出された毒素型は本研究と同じ傾向を示した。1986年~1995年の10年間に東京都で発生した黄色ブドウ球菌による食中毒の82.0%はエンテロトキシンA型菌により起きている⁷⁾。2000年に発生した某乳業メーカーによるブドウ球菌食中毒事件も牛乳のSEA汚染が原因であった。本学学生から分離されたSEA(SEA単独、SEA+SEB、SEA+TSST-1)産生株は、毒素産生株の39.1%(対象者の4.5%)を占めていた。黄色ブドウ球菌による食中毒は、経年的に減少してきているが⁷⁾、健康なヒトが食中毒の原因菌を保有しているという結果から考えると、今後も黄色ブドウ球菌による食中毒の危険性はあり注意する必要がある。またSEA、SEBはアトピー性皮膚炎増悪因子であったり⁸⁾、毒素性ショック症候群(toxic shock syndrome: TSS)と関連することが知られており¹⁰⁾、本学学生からも高頻度に検出された。このような身近に存在する菌が、環境によっては病原性を発揮し、人体に大きな影響を及ぼす可能性があることが示唆された。

この研究では、TSSを起こす毒素として知られているTSST-1産生性についても調査を行った。本学学生からのTSST-1産生株検出率が22.9%であったのに対し、

表2 毒素産生株のエンテロトキシンおよびTSST-1産生性とコアグララーゼ型

毒素型	コアグララーゼ型								計(%)
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
SEA	0	0	1	0	0	1	0	0	2(8.7)
SEB	0	1	0	0	0	0	5	1	7(30.5)
SEC	0	0	0	0	0	0	2	0	2(8.7)
SED	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)
SEA+SEB	0	0	0	0	0	0	1	0	1(4.3)
TSST-1	0	0	1	3	0	0	0	0	4(17.4)
TSST-1+SEA	0	0	0	6	0	0	0	0	6(26.1)
TSST-1+SEC	0	0	1	0	0	0	0	0	1(4.3)
計	0	1	3	9	0	1	8	1	23
(%)	(0.0)	(4.3)	(13.1)	(39.2)	(0.0)	(4.3)	(34.8)	(4.3)	(100.0)

Table 2 *Staphylococcal* enterotoxins (SE), TSST-1 production and coagulase types of toxin-producing *Staphylococcus aureus* strains

石原らが学生から分離したTSST-1産生株の検出率は7.0%であった¹¹⁾。私達の結果は明らかにこの報告と比較して高い検出率を示した。最近、病院で分離されるTSST-1産生株が増加していることから³⁾¹²⁾、健康なヒトのTSST-1産生株保有率も増加傾向にあるかもしれない。しかしながら、今回私達が分離し、毒素産生性を調べた黄色ブドウ球菌の菌株数は少ないため、更に検討する必要があると思われる。

毒素産生株23株のコアグラーゼ型で、最も多かった型はIV型で、次いでVII型、III型であった。学生を対象とした関口⁶⁾らの報告では、VII型が最も多く、次いでIV型、II型、III型が多く検出されている。出現頻度は多少異なるものの、多く検出された型は、本研究の結果と同じ傾向を示した。ここ数年黄色ブドウ球菌による食中毒で多くみられたコアグラーゼ型はVII型(66.0%)が一番多く、次いでIII型(14.0%)、II型(10.0%)、IV型(5.0%)であった⁷⁾。最も多い食中毒原因菌とされるVII型菌は、私達が調べたかぎりではSEBを産生する傾向にあった。特に多く分離されたコアグラーゼIV型の菌株は、食中毒の原因菌として以前はほとんど検出されていないが、最近、この型の食中毒事例が報告されてきている⁷⁾。私達が分離したコアグラーゼIV型菌株には食中毒の原因となるSEAを産生する株が多く含まれていることから、この型の菌を保有する健康なヒトが増えている可能性がある。また、分離したコアグラーゼIV型菌は、SEAと同時にTSST-1も産生していた。

アトピー性皮膚炎患者から多く分離されているコアグラーゼIII型とVII型も¹³⁾学生から多く分離されている株であるが、今後、これらの型とアレルギー性疾患既往との関係を検討することは興味深い。

本学学生から分離された毒素産生性の黄色ブドウ球菌が、食中毒やTSS、アトピー性皮膚炎などの主な原因菌と同様な毒素産生性やコアグラーゼ型を有することが明らかになった。近い将来、医療従事者となる可能性の高い学生には、黄色ブドウ球菌が常在菌として存在し、状況によってはそれが他へ伝播されることで大きな問題になることを十分に理解させ、その対策についての教育が必要であることを再認識した。

付 記

本研究の一部は2001年度西南女学院大学共同研究費の助成を得て行われた。

文 献

- 1) 五十嵐英夫：ブドウ球菌の産生するエンテロトキシンについて—ヒトにおけるトキシン産生が問題となる条件—。日本臨床微生物学雑誌。5：59-65, 1995
- 2) 岡田隆滋, 古川正強, 三和敬史：毒素産生黄色ブドウ球菌による新たな新生児発疹性疾患—分離菌の外毒素産生性と抗毒素抗体保有状況について—。感染症学雑誌。73：893-900, 1999
- 3) 木村昭夫, 五十嵐英夫, 潮田弘：全国国立病院より分離された黄色ブドウ球菌のコアグラーゼ型別及びエンテロトキシン並びに Toxic Shock Syndrome Toxin 1 産生性に関する疫学的研究。感染症学雑誌。66：1543-1549, 1992
- 4) 島内千恵子, 平尾百合子, 稲木勝英：黄色ブドウ球菌の鼻腔内保菌状況の検討。環境感染。13：68, 1998
- 5) 垣花シゲ, 植村恵美子, 岩永正明：病棟看護婦の鼻腔内細菌叢について。環境感染。13：234-237, 1998
- 6) 関口幸枝, 浅香清美, 川端彰：専門学校生からの黄色ブドウ球菌の検出率及び分離菌株のコアグラーゼ型とエンテロトキシン産生性並びに薬剤感受性。食品衛生学雑誌。38：418-424, 1997
- 7) 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研究紀要。22：7-14, 2001
- 8) 末廣豊：黄色ブドウ球菌, ウイルス感染とスキンケア。小児科臨床。51：71-77, 1998
- 9) 若木奈央子, 池田紀和, 高木祐子：黄色ブドウ球菌由来毒素の皮膚に対する影響。生化学。72：960, 2000
- 10) 野田公俊：細菌外毒素とその作用機序8 黄色ブドウ球菌のTSST。治療学。31：1485-1488, 1997
- 11) 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。環境感染。16：125-130, 2001
- 12) 藤本幹夫：当院で分離されたMRSA, 特にTSST-1産生株について。感染症学雑誌。75：641-642, 2001
- 13) 神崎寛子, 上枝万純, 森下佳子：皮膚感染症およびアトピー性皮膚炎由来の黄色ブドウ球菌の抗菌薬感受性とコアグラーゼ型別について。日本化学療法学会雑誌。44：741-745, 1996

Enterotoxins and TSST-1 production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from nares of healthy student-nurses and coagulase types

Misako Yoshitake Yuko Meno

< Abstract >

The ability to produce *Staphylococcal* enterotoxins (SE) A to D and toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) strains isolated from nares of healthy student-nurses were tested and coagulase types were examined in their toxin-producing strains. Forty-eight *S. aureus* strains (24.2%) were isolated from nares of 198 healthy student-nurses. All of the isolates were methicillin sensitive *S. aureus* (MSSA). Of 48 isolates, 23 strains (47.9%) produced at least one of the SEA to SED or TSST-1. However, 25 strains (52.1 %) did not produce any of them. Among 23 toxin-producing strains, 7 strains (30.5%), 6 strains (26.1%), 4 strains (17.4%), 2 strains (8.7%), 2 strains (8.7%), 1 strain (4.3%) and 1 strain (4.3%) were found to produce SEB, TSST-1+ SEA, TSST-1, SEA, SEC, SEA+SEB, and TSST-1+SEC, respectively. In the toxin-producing strains, coagulase type IV, type VII, and type III were detected in relatively high incidence, 39.2%, 34.8% and 13.1%, respectively.

Key words : *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, TSST-1, coagulase type, nares