

食品製造施設における黄色ブドウ球菌疫学指標の解析

植松香星 高村知成 柳本恵太 矢澤彩 三井智昭¹ 野田妙子 浅山光一²

Analysis of Epidemiological Indicators on *Staphylococcus aureus*
Isolated from Food Production Line

Kosei UEMATSU, Chisei TAKAMURA, Keita YANAGIMOTO,
Aya YAZAWA, Tomoaki MITSUI, Taeko NODA and Koichi ASAYAMA

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

黄色ブドウ球菌は、手指や鼻前庭などの皮膚に常在しており、手指を介して製造環境や食品が汚染されることが知られている。汚染された食品中で本菌が増殖し、エンテロトキシンが産生されることで食中毒を引き起こすことがある¹⁾。

山梨県では食品の収去を実施する際、製造施設の衛生状況の把握及び食中毒防止の観点から食品製造施設における拭き取り検査を実施し、大腸菌群及び黄色ブドウ球菌について検査を行ってきた。黄色ブドウ球菌の検査については、コアグラージェ試験による定性を行い、検出された黄色ブドウ球菌がエンテロトキシン産生株と仮定して製造施設の衛生指導を行っている。今回、検出された黄色ブドウ球菌についてコアグラージェ型別及びエンテロトキシン型別を行い、食中毒の原因となるエンテロトキシン陽性株の分布を調査し、全国の大規模食中毒事例と比較した。

方 法

1 検査対象

平成24年6月から26年5月までを調査対象期間とし、その間行われた延べ751施設、4,380検体を対象とした(表1, 2)。

2 拭き取り方法

ふきふきチェックⅡ(栄研化学株)を用いて水道のカラン、冷蔵庫及び冷凍庫の取手、従事者の手指、作業台、まな板、包丁の柄について拭き取りを行った。施設の状況に応じてアルコールスプレーの取手、番重やボール等についても拭き取りを行った。

拭き取り終了後は冷蔵保存により当所へ搬入された。なお、拭き取り面積が広いまな板、作業台、手指等の拭き取り面積については統一していない。

表1 調査対象施設内訳

製造施設分類	施設数
弁当総菜	287
和・洋生菓子	128
生麺類	91
調理パン	62
ソフトクリーム	57
豆腐	39
生食用食肉	31
中央道飲食店	29
その他	27
合計	751

表2 拭き取り場所別検体数

拭き取り場所	検体数
水道カラン	649
冷蔵庫・冷凍庫	600
の取手	
手指	432
作業台	346
まな板	241
包丁の柄	230
へらの取手	84
その他	1,798
合計	4,380

3 分離方法

ふきふきチェックを手で混和後、容器中の溶液1mLを10mLの7.5%NaCl加TSB(日水製薬株)製に塩化ナトリウムを加えた)に加え、混和後35℃、一夜培養した。

その後、一白金耳量を卵黄加マンニット食塩培地(関東化学株)で35℃、48時間培養後生じた卵黄反応陽性のコロニーについて同定を行った。

同定は市販のウサギ血漿(栄研化学株)を用いたコアグラージェ反応を取扱説明書のとおり行い、ウサギ血漿の凝固が認められた株を陽性と判定した。

4 コアグラージェ型別

コアグラージェ型別については、潮田²⁾により行い、市販のウサギ血漿及び抗血清(それぞれデンカ生研)を用いてI型からX型までの型別を行った。

5 エンテロトキシン型別

普通寒天培地にて純培養のコロニーをTSB培地(OXOID)に植え35℃18~20時間振とう培養し、10,000r.p.m.、4℃、15分間遠心(トミー精工)し、得られた上清を用いた。

エンテロトキシン型別については、SET-RPLA(デンカ生研株)を用いA~Dの型別を行った。

1 現 中北保健福祉事務所 2 現 健康増進課

6 全国の大規模食中毒事例の調査

平成23年1月から平成26年12月までに発生した事例を対象とし、厚生労働省のポータルサイト（NESFD）からデータを検索、抽出した。原因施設については厚生労働省食中毒統計資料から調査した³⁾。

なお、コアグラゼ型が不明な事例については当該自治体に問い合わせをした。

結 果

1 分離状況

4,380検体中、115検体から黄色ブドウ球菌が分離された。分離された115株のコアグラゼ型及びエンテロトキシン型を表3に示した。エンテロトキシン陽性株ではコアグラゼⅢが6株で最も多く、次いでⅦ型の5株、Ⅱ型及びⅣ型がそれぞれ4株であった。エンテロトキシン型ではB型が最も多く12株、次いでA型の7株、C型の5株であった。

次に拭き取り場所別エンテロトキシン陽性率を表4に示した。手指及びアルコールスプレーの取手が37.5%と最も高く、次いで水道カラン21.7%、冷蔵庫・冷凍庫の取手18.2%であった。

表3 製造施設由来株結果（菌株数）

コアグラゼ型	エンテロトキシン型別			陰性	合計
	A	B	C		
Ⅱ	1	3		3	7
Ⅲ	2	1	3	13	19
Ⅳ	4			6	10
Ⅴ		1		26	27
Ⅵ		1	1	12	14
Ⅶ		4	1	9	14
Ⅷ		1		4	5
型別不能		1		18	19
合計	7	12	5	91	115

表4 分離株のエンテロトキシン陽性率

拭き取り場所	手指	アルコールスプレー取手	水道カラン	冷蔵庫・冷凍庫取手	包丁の柄	まな板	その他	合計
陽性菌株数	9	3	5	4	1	0	2	24
分離菌株数	24	8	23	22	6	3	29	115
陽性率	37.5	37.5	21.7	18.2	16.7	0.0	6.9	20.9

表6 食中毒高リスク黄色ブドウ球菌検出一覧

施設分類	拭き取り場所	コアグラゼ型	エンテロトキシン型	施設数
弁当総菜	手指	Ⅳ	A	2
洋生菓子	水道カラン	Ⅳ	A	1
中央道レストラン	アルコールスプレー取手	Ⅱ	A	1
生めん類	手指	Ⅳ	A	1

2 全国の大規模食中毒事例の結果

全国の大規模食中毒事例の結果を表5に示した。抽出できた事例は13事例であった。最も多かった事例は、コアグラゼⅣ型でエンテロトキシンA型の4件であり、それに次いでコアグラゼⅡ型及びⅦ型がそれぞれ2事例、エンテロトキシンG、I型による希少事例が1事例であった。

また、行政からの要請がないとの理由でコアグラゼ型別未実施の自治体も存在していた。

表5 全国食中毒事例の集計結果（件数）

コアグラゼ型	エンテロトキシン型	事例数
Ⅱ	A	2
Ⅱ	D	1
Ⅳ	A	4
Ⅶ	A	2
Ⅶ	G, I	1
未実施	A	3
合計		13

3 食品製造施設の拭き取り結果と全国の大規模食中毒事例の結果の比較

全国の大規模食中毒事例のコアグラゼ型別及びエンテロトキシン型の発生頻度からコアグラゼⅡ及びⅣ、Ⅶ型でエンテロトキシンA型を食中毒高リスク型と仮定したところ、今回の結果から5施設5株が高リスク型の黄色ブドウ球菌であった。（表6）。

考 察

県内の食品製造施設におけるエンテロトキシン陽性黄色ブドウ球菌の分布状況を初めて明らかにした。

分離株のエンテロトキシン陽性率が高かった手指、アルコールスプレーの取手、水道カラン、冷蔵庫・冷凍庫の取手、包丁の柄から食品が汚染される可能性が考えられることから、これらの場所の消毒を重点的に行う指導が必要である。また、一度食品が汚染されるとエンテロトキシンは熱に強い⁴⁾除去が困難となることから、手指の消毒、手袋の着用で器具を汚染しないようにすることが重要である。食品衛生監視員の施設に対する拭き取り結果の指導については、エンテロトキシン産生株として食中毒原因菌となる可能性があることを考慮していることを前述したが、今回の調査で検出した黄色ブドウ球菌全体の20.9%がエンテロトキシンが陽性であったことから、その指導方法は適切と思われる。入倉⁵⁾は手指由来株のエンテロトキシン陽性が59.9%と報告しており、従事者への衛生教育の徹底が重要であることを述べている。

次にコアグラゼ型、エンテロトキシン型の組み合わせによる食中毒の発生リスクについて全国の大規模食中毒事例を参考に3段階の分類を試みた。

事例で最も多かったコアグラゼⅡ及びⅣ、Ⅶ型でエンテロトキシンA型をレベル1とした。エンテロトキシンA以外の事例があったことから、コアグラゼ型別に関係なくA以外のエンテロトキシン陽性をレベル2、エンテロトキシン陰性をレベル3とした。

今後はこのレベルを参考に食中毒発生事例の検証を行いながら、データを集積したいと考える。

この調査結果が食品監視員の業務の参考としていただけると幸いである。

まとめ

- 1) 食品製造施設 751 施設について黄色ブドウ球菌拭き取り検査を行った。4,380 検体から 115 株を分離し、そのうち 24 株、20.9%がエンテロトキシン陽性であった。
- 2) エンテロトキシン型別ではB型が 12 株と最も多く分離され、次いでA型の 7 株、C型 5 株であった。

- 3) 拭き取り場所別エンテロトキシン陽性黄色ブドウ球菌陽性率は、手指 37.5%、アルコールスプレーの取手 37.5%、水道カラン 21.7%、冷蔵庫・冷凍庫の取手 18.2%、包丁の柄 16.7%であった。これらの場所を中心に消毒等の指導を行う必要があると思われる。
- 4) 全国の大規模食中毒事例について施設分類及びコアグラゼ型別、エンテロトキシン型別について集計を行った。最も多かった事例は、コアグラゼⅡ、Ⅳ、Ⅶ型でエンテロトキシンAの事例であった。
- 5) 最も多かったコアグラゼⅡ、Ⅳ、ⅦでエンテロトキシンAについて食中毒高リスク黄色ブドウ球菌と仮定すると、5 施設 5 株が該当した。

謝 辞

全国の事例について集計するにあたり、コアグラゼ型別及びエンテロトキシン型の問い合わせにご協力いただいた各自治体に感謝いたします。

参考文献

- 1) 植松香星, 金子道治: 月見だんごによる黄色ブドウ球菌食中毒について, 山梨衛公研年報, **33**, 30~33(1989)
- 2) 潮田弘ら: 黄色ブドウ球菌のコアグラゼ型別簡易法とその応用, 東京衛研年報, **26**, 1-6(1975)
- 3) 厚生労働省: 食中毒統計資料, 過去の食中毒発生状況, http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/04.html (最終検索日平成28年5月13日)
- 4) 五十君静信: “食品由来感染症と食品微生物”, 初版 P. 424(2009), (中央法規)
- 5) 入倉善久ら: 各種食品取り扱い者からの黄色ブドウ球菌の検出状況および分離菌株のコアグラゼ型とエンテロトキシン産生性, 東京衛研年報, **38**, 145-149(1987)