

都内定点病院において分離された黄色ブドウ球菌の型別成績（2005～2009年）

藤元 琢也，奥野 ルミ，畠山 薫，貞升 健志，甲斐 明美

Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolated from Patients of Sentinel Hospital in Tokyo Between 2005 and 2009

Takuya FUJIMOTO, Rumi OKUNO, Kaoru HATAKEYAMA,
Kenji SADAMASU and Akemi KAI

都内定点病院において分離された黄色ブドウ球菌の型別成績 (2005~2009年)

藤元 琢也*, 奥野 ルミ*, 畠山 薫*, 貞升 健志*, 甲斐 明美**

市中病院におけるMRSA保有状況を調査する目的で、2005年1月から2009年12月までの都内小児科定点病院外来患者の咽頭ぬぐい液を中心に検査を実施し、分離された*S.aureus*菌株のMRSA鑑別、コアグララーゼ型別、毒素産生性の検査を実施した。その結果、119株のMRSA、55株のMSSAが分離された。MRSAでは、コアグララーゼII型が45.4%と多数を占めており、次いでIII型が21.0%であり、従前からの傾向を踏襲していた。毒素産生性については、コアグララーゼII型、III型ともにSEC+TSST-1の産生株が最も多くを占めた。MSSAについては、コアグララーゼIV型の株が多く、MRSAと比べ、毒素非産生型の株が多くを占めていた。

キーワード: 黄色ブドウ球菌, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌, コアグララーゼ型, エンテロトキシン, トキシックショックシンドロームトキシン-1

はじめに

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、グラム陽性の球菌であり、ヒトの皮膚、外鼻孔や中咽頭に常在し、健康者からも10~30%の割合で分離される。また、本菌は、皮膚感染症や中耳炎、結膜炎、食中毒などの原因菌として多く認められている。特に、院内感染の重要な原因菌であるメチシリン耐性*S.aureus* (MRSA) は、近年、市中感染症患者¹⁾や健康学生の鼻腔²⁾から分離され、新たな感染源として問題視されている。また、*S.aureus*は staphylococcal enterotoxin (SE) やtoxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) 等の毒素を産生することから、*S.aureus*により引き起こされる病態は極めて多彩となっている。

我々は、1993年6月より、市中病院における患者から分離された*S.aureus*におけるMRSAの占める割合ならびにSEの産生状況を調査する目的で、都内小児科病院外来患者の咽頭ぬぐい液を中心に検査を実施し、分離された*S.aureus*のMRSA鑑別、コアグララーゼ型別、毒素産生性を報告してきた。今回、2005年から2009年までの5年間の試験結果をまとめたので報告する。

材料および方法

1. 材料

2005年1月から2009年12月までの都内の4小児科定点病院から送付された咽頭ぬぐい液175検体について*S.aureus*の検査を実施した。また、定点病院にて分離された菌株120株についても同検査を実施した。

2. 検査方法

咽頭ぬぐい液は、卵黄加マンニット食塩培地(栄研)に塗抹、48時間培養して*S.aureus*を分離した。MRSA鑑別試験は、6 µg/mlのオキサシリンを含有したMRSA Screen Agar (BBL) に分離菌株を塗抹し、35°Cで24時間培養後発育

が認められたものをMRSAと判定した。コアグララーゼ型別は、ウサギ血漿加BHI broth (Difco) に分離菌株を接種し、37°C、24時間培養後、3,000rpmで10分間遠心し、上清についてコアグララーゼ型別用免疫血清(デンカ生研)を用いて実施した。なお、コアグララーゼIX, Xについては、自家免疫血清を用いて試験した。ブドウ球菌毒素産生性試験は、BHI brothに接種し、37°C、100rpm/min.の条件で48時間振盪培養後、12,000rpmで遠心を行い、その上清を用いてSEA, B, C, D, E及びTSST-1についての毒素産生性試験³⁾を逆受身ラテックス凝集反応にて実施した。

結 果

1. *S.aureus*の分離成績

2005年~2009年に検査した咽頭ぬぐい液175検体から、分離された*S.aureus*は54株であった(表1)。その内のMRSAは8株であり、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)は46株であった。

病院で分離された菌株については合計120株のうち、MRSAは111株、MSSAは9株であった(表2)。

2. コアグララーゼ型別成績

調査期間中に分離されたMRSA及びMSSAのコアグララーゼ型別成績を表3及び表4に年次別に示した。

MRSA 119株の主なコアグララーゼ型は、II型が45.4%と最も多く、次いでIII型(21.0%)、I型(18.5%)の順であった。しかしながら2005年以降、II型の検出率は低下傾向にある(図1)。コアグララーゼVI, IX, X型のMRSA株は認められなかった。

一方、MSSA 55株の最も多いコアグララーゼ型はIV型であり(21.8%)、次いでIII型20.0%、V型18.2%の順であった。また、MRSAと同様にX型のMSSA株は認められなかった。MRSAでは認められなかったコアグララーゼ型のうち、VI型

* 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

** 東京都健康安全研究センター微生物部

表 1. 都内定点病院患者由来咽頭ぬぐい液の検査件数(2005～2009年)

	調 査 年					総数
	2005	2006	2007	2008	2009	
検体数	22	30	19	80	24	175
黄色ブドウ球菌	7	5	6	29	5	52
MRSA	1	2	0	4	1	8
MSSA	7	4	6	25	4	46

表 2. 都内定点病院患者由来 *S.aureus* の年次別株数(2005～2009年)

菌種	調 査 年					総数
	2005	2006	2007	2008	2009	
MRSA	55	15	17	16	8	111
MSSA	4	0	0	2	3	9

表 3. MRSA のコアグララーゼ型別成績

年	コ ア グ ラ ー ゼ 型											合計
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	UT	
2005	11	34	8		1		2					56
2006	3	9	3								2	17
2007	3	4	7	1	1		1					17
2008	5	6	4		3		2					20
2009		1	3	1	3			1				9
合計	22	54	25	2	8	0	5	1	0	0	2	119
%	18.5	45.4	21.0	1.7	6.7	0.0	4.2	0.8	0.0	0.0	1.7	100.0

表 4. MSSA のコアグララーゼ型別成績

年	コ ア グ ラ ー ゼ 型											合計
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	UT	
2005			5		1		2				3	11
2006			1		1			1			1	4
2007	1				1		3		1			6
2008		3	2	9	7	1	2	1			2	27
2009			3	3				1				7
合計	1	3	11	12	10	1	7	3	1	0	6	55
%	1.8	5.5	20.0	21.8	18.2	1.8	12.7	5.5	1.8	0.0	10.9	100.0

表 5. *S.aureus* の毒素産生性

	毒素型						総計
	A	B	C	D	TSST1	非産生	
MRSA	3	8	61	0	67	37	176
MSSA	7	6	3	1	8	35	60

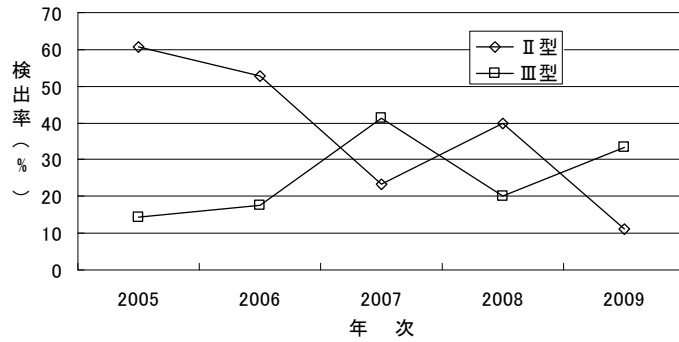


図1. MRSA コアグララーゼ II, III型の年次別比較

表 6. MRSA のコアグララーゼ型と毒素産生性

毒素型	コアグララーゼ型								合計
	I	II	III	IV	V	VII	VIII	UT	
A		1							1
B			1				3		4
C					1				1
D									0
E									0
T		6							6
A+B		1				1			2
A+T									0
B+C									0
C+T		41	17						58
B+C+T		2							2
非産生	22	3	7	2	7	1	1	2	45
合計	22	54	25	2	8	5	1	2	119

表 7. MSSA のコアグララーゼ型と毒素産生性

毒素型	コアグララーゼ型										合計
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	UT	
A				1							1
B							2	1		1	4
C											0
D			1								1
E											0
T				3							3
A+B							1				1
A+T				7							7
B+C							1				1
C+T			1						1		2
非産生	1	3	9	1	10	1	3	2		5	35
合計	1	3	11	12	10	1	7	3	1	6	55

については1株, IX型の株については1株認められた。

3. 毒素産生性試験成績

MRSA 119株, MSSA 55株の毒素産生性を表5に示した。MRSAでは, TSST-1産生株が67株, エンテロトキシンC (SEC)産生株が61株, 毒素非産生株は37株であった。SEB産生株は, 今回の調査では, 8株にとどまった。また, 2種類以上の毒素を産生しているものが62株認められた。

一方, MSSAでは, 毒素非産生株が35株と最も多く, 次いでTSST-1産生株が8株, SEA産生株が7株という順であった。

4. コアグラウゼ型別と毒素産生性

MRSAのコアグラウゼ型別毒素産生性試験成績を表6に示した。コアグラウゼI型は全てが毒素非産生性の株であった。コアグラウゼII型では, SEC+TSST-1産生の株が圧倒的に多く75.9%を占め, 毒素非産生性の株は3株と, 他のコアグラウゼ型に比べ, 毒素非産生性の株の占める割合が小さかった。コアグラウゼIII型についても, SEC+TSST-1が25株中17株を占めていた。1株はSEB産生株であり, 残りの7株は毒素非産生株であった。

MSSAのコアグラウゼ型別毒素産生性試験成績を表7に示した。MSSAでは, MRSAに比べ, 毒素非産生性の株の割合が高く, その中でもコアグラウゼIV型では, SEA+TSST-1産生株が7株, TSST-1産生株が3株, SEA産生株が1株認められるなど, 毒素産生株の割合が多かった。また, コアグラウゼVII型についても, SEA産生株が1株, SEB産生株が2株, SEA+B産生株が1株, SEB+C産生株が1株認められた。

考 察

Staphylococcal enterotoxinは, *S.aureus*が産生する耐熱性の外毒素であり, その抗原性によりA, B, C, D, Eに分類されている。食品中で本菌が産生した毒素を経口摂取することは食中毒の原因となる。

TSST-1は, *S.aureus*の一部の菌が産生する蛋白毒素であり, 毒素性ショックを引き起こす原因物質の一つである。

これらの毒素産生性の分布状況や年次傾向を調べることは, 疾患の予防に重要であり, また毒素産生性の経時変化を追うことで, 菌の変遷を知ることができ, 疫学的指標としても有用である。

今回調査した5年間の結果では, MRSAではコアグラウゼII型が45.4%と多数を占めており, 次いでIII型が21.0%であった。1993年~2004年に実施した調査においても, 東京都においてはコアグラウゼII型が多数を占めていた⁵⁾。2005~2009年の傾向からみると, II型の割合が徐々に低下しているものの, この傾向は現在も続いていることが明らかとなった。

MRSAのコアグラウゼ型と毒素産生性の関係を検討では, コアグラウゼI型は全てが毒素非産生性の株であった。コ

アグラウゼII型では, SEC+TSSA-1産生株が75.9%と多数を占めた。沖井ら⁶⁾の報告によれば, 1991年~1993年のコアグラウゼII型の毒素型はSEA+SEC産生株が83.9%を占めていたが, 遠藤ら⁵⁾の1998~2000年の調査ではその割合はわずか1.1%まで減少したことが報告されている。今回の2005~2009年の結果では, SEA+SEC産生株は1株も検出されず, こうした動向を反映しているものと思われた。

SEC+TSST-1産生株については, 1993年には約83%を占めていたのに対し, その後減少傾向が続き, 2001年には約51%まで低下している。その後, 再び増加傾向を示し, 2004年には1993年の水準まで戻っている。今回の調査結果でも, 相変わらず高水準での推移を続けている。このように, 同一のコアグラウゼ型であっても, 毒素産生性には数年単位での周期性があるものと考えられ, 継続して調査を実施し, 今後の動向に注意すべきである。

一方, MSSAはMRSAと比較すると, 毒素非産生株の割合が多い傾向が認められたが, コアグラウゼIV型については, 毒素産生性の株が多くを占めていた(91.7%)。

1980年代には, IV型の毒素産生性のMRSA株が多数を占める傾向が認められた⁷⁾。現在ではMRSAのコアグラウゼIV型株は少なくなったが, MSSAではその分離割合が増加している。今後, コアグラウゼIV型のMSSAがMRSAとなり, 再びIV型の毒素産生性のMRSAが増加する可能性もあるため, 引き続きその動向を監視する必要がある。

*S.aureus*は, 健常者であっても10~30%の割合で鼻腔などに保菌していることから, 保菌していることが問題となるわけではない。しかし, 新生児や高齢者など, 免疫力の弱いヒトに対しては, 時に重篤な症状を呈することもあると考えられる。特に新生児については, 近年, 新生児に重篤な症状をもたらす新生児TSS様発疹症 (Neo natal toxic-shock-syndrome-like exanthematous disease:NTED) の報告がしばしば寄せられており⁸⁾, その原因は*S.aureus*の産生する毒素の一つであるTSST-1と考えられている。さらに, 現在MRSAに有効な抗生物質として使用されているバンコマイシンに耐性を持つバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌の出現も危ぶまれる。

このような状況から, 当センターでは病原体レファレンス事業を平成20年度から開始し, MRSAをはじめとした菌株を積極的に収集し, 調査しているところである。

今後も, *S.aureus*の市中分離株におけるMRSAの占める割合ならびにstaphylococcal enterotoxin (SE)の産生状況, 薬剤耐性などの状況を監視していく必要がある。

文 献

- 1) T. baba, F. Takeuchi, K. Hiramatsu, et al: *Lancet*, **359**, 1819-1827, 2002.
- 2) 石原 ともえ, 高橋 智恵子, 岡本 正孝, 他: 環境汚染, **16**, 125-130, 2001.
- 3) 奥野 ルミ, 遠藤 美代子, 榎田 隆一, 他: 臨床と微

- 生物, **24**, 221, 1997.
- 4) 新垣 正夫, 五十嵐 英夫, 藤川 浩, 他: 東京衛研年報, **33**, 129-134, 1982.
- 5) 遠藤美代子, 奥野 ルミ, 畠山 薫, 他: 東京衛研年報, **56**, 35-39, 2005.
- 6) 沖井一哉, 横山隆, 竹松芳生, 他: 感染症学雑誌, **73**, 219, 1999.
- 7) 木村 昭夫, 五十嵐 英夫, 潮田 弘, 他: 感染症学雑誌, **66**, 1543-1549, 1992.
- 8) 宮脇正和, 番浩: 日本未熟児新生児学会雑誌, **15**, 67-72, 2003.

Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolated from Patients of Sentinel Hospital in Tokyo Between 2005 and 2009

Takuya FUJIMOTO*, Rumi OKUNO*, Kaoru HATAKEYAMA*,
Kenji SADAMASU* and Akemi KAI*

Staphylococcus aureus is a gram positive cocci and is commonly found in the human nasal cavity, skin, and mesopharynx. We isolated *S.aureus* from patient samples of Sentinel Hospital in Tokyo to survey methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) distribution. We examined methicillin resistance, types of coagulase (serotype), and toxin production of these isolates. In MRSA, coagulase serotype II accounted for 45.4% of cases and coagulase serotype III accounted for 21.0% of cases. In terms of toxin production, staphylococcal enterotoxin type C (SEC) + toxic shock syndrome toxin type 1 (TSST-1) was the most common type found in MRSA, showing coagulase serotype II or III. However, coagulase serotype IV was most frequently found in methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), and many strains of MSSA did not produce any toxin.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, MRSA, staphylocoagulase typing, staphylococcal enterotoxin, toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1)

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan