

黄色ブドウ球菌同定のためのラテックス凝集試験の検討

三瓶 憲一 小岩井 健司 内村 真佐子 矢崎 広久

Examination of the Latex Slide Agglutination Test for Identification of *Staphylococcus aureus*

Kenichi SANBE, Kenji KOIWAI, Masako UCHIMURA and Hirohisa YAZAKI

I はじめに

黄色ブドウ球菌(以下*S.aureus*と略)と他のブドウ球菌との鑑別には、マンニット分解性、コアグラゼ産生性、DNase産生性などの検査が必要であり、これらの成績を得るには分離後さらに1~2日間を要する。

最近、Essersら¹⁾はヒトの血漿をラテックスに感作した試薬を用い、スライド凝集法により*S.aureus*のプロテインAおよびクランピング因子を同時に検査する方法を報告している。この方法は、臨床の分野ではすでに追試され、その有用性が認められているが、²⁾⁻⁴⁾ 食品衛生、食中毒検査の分野では未だ報告されていない。

著者らは、食中毒事例や日常の食品衛生に関するふきとり検査由来株について追試し、若干の知見を得たので報告する。また、*S.aureus*の選択分離培地に生育可能な2、3の既知病原菌についても同様に検討したのであわせて報告する。

II 材料および方法

1. 供試菌株：県内で発生した食中毒由来*S.aureus* 94株、食品製造施設由来ブドウ球菌13株の計107株を用いた。内訳は食中毒患者由来56株、原因食品由来28株、食中毒関連ふきとり由来10株、まな板のふきとり由来9株、食品由来4株である。

2. 試験方法

1) ラテックス凝集試験：PSラテックス(栄研)を使用した。

2) コアグラゼ産生性：ウサギブラズマ(栄研)を用い5%ウサギブラズマ加BHIで、37°C、1夜培養後判定した。

3) DNase産生性：DNA培地(栄研)にて37°C、20時間培養後、1、5N塩酸溶液を加え、室温に15分間

放置後判定した。

4) 卵黄反応：マンニット食塩培地(栄研)に50%卵黄液を5%の割合に加えた卵黄加マンニット食塩培地(以下MSEY培地)により37°C、48時間培養後、集落の周囲にみられる白濁帯の有無により判定した。

5) マンニット分解性：MSEY培地で37°C、48時間後、集落周囲の黄変で判定した。

III 結果および考察

1. コアグラゼ活性とラテックス試験の一致率

トリプトソイ寒天斜面上の菌により実施したコアグラゼ活性とラテックス試験の相関性を表1に示す。

食中毒由来の94株は、コアグラゼ活性、ラテックス試験ともに陽性、食品由来4株は両試験とも陰性で共に100%の一致率であった。一方、ふきとり由来9株は、コアグラゼ陰性であったが、ラテックス試験は8株が陰性、1株が陽性であった。このラテックス試験陽性株は精査したところ、*S.warneri*と同定された。

2. MSEY培地によるラテックス試験

トリプトソイ寒天斜面上の菌で、ラテックス試験陽性を示した食中毒由来の94株について、MSEY培地に培養後、ラテックス試験を実施した。その結果、94株すべて陽性で、トリプトソイ寒天斜面上の菌による成績と100%一致した。この結果からラテックス試験をMSEY培地上の菌で実施することにより、コアグラゼ試験の結果が判明する前に*S.aureus*か否かの判定が可能と思われる。なお、前述のラテックス陽性、コアグラゼ陰性株は、トリプトソイ寒天斜面上の菌では生理食塩水に凝集はなく、ラテックス試験陽性を示したが、MSEY培地上からでは生理食塩水に凝集したため判定出来なかった。したがって、MSEY培地から直接にラテックス試験を行う時は、生理食塩水に浮遊させる際、自発凝集のないことを確認することが重要と思われる。

3. 既知病原菌に関するブドウ球菌選択分離培地上の性状
MSEY培地、スタヒロコッカス培地No110に生育可

表1. コアグララーゼ活性とラテックス試験の相関性

由来	株数	コアグララーゼ陽性	ラテックス試験陽性	一致率(%)
食中毒	94	94	94	100
食品	4	0	0	100
ふきとり	9	0	1	89

※トリプトソイ寒天斜面上の菌による

能な *S.aureus* を含む既知の病原菌 5 菌種, すなわち *B.cereus*, *S.epidermidis*, *S.aureus*, *V.fluviialis*, *V.parahaemolyticus* について, 上記の試験法を用いて, これまでと同様に検討した。

供試株の両平板上の性状を表2に示した。

これら5菌種7株中, *S.aureus* と類似する性状を呈した菌株は *S.aureus* の他に *Vibrio fluviialis* 1株と *Vibrio parahaemolyticus* 2株であった。

表2. 既知病原菌の分離培地上の性状

菌種	性状	MSEY 培地		スタヒロコッカス培地No.110		
		マンニット	卵黄反応	色素	マンニット	ゼラチン分解
<i>B. cereus</i>		-	+	-	-	+
<i>S. epidermidis</i>		-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>		+	+※1	+	+	-
<i>V. fluviialis</i>		+	-	-	+	+
"		+	+※2	-	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i>		+	+※2	-	+	+
"		+	+※2	-	+	+

※1: 集落周辺に明瞭な白濁

※2: 淡い真珠様光沢

表3. 既知病原菌とラテックス試験の関係

菌種	性状	MSEY 培地		スタヒロコッカス培地No.110	
		平板	斜面※3	平板	斜面※3
<i>B. cereus</i>		-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>		-	-	-	-
<i>S. aureus</i>		+	+	+	+
<i>V. fluviialis</i>		-	-	-	-
"		-	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>		(+)※1	-	+※2	-
"		(+)※1	-	+※2	-

※1: 1分~1分30秒で陽性

※2: 1分以内に陽性

※3: トリプトソイ寒天斜面

4. 既知病原菌に関するラテックス試験

MSEY 培地およびスタヒロコッカス培地No.110平板上の集落ならびにそれらからトリプトソイ寒天斜面に移殖した菌について行ったラテックス試験の成績を表3に示した。

S.aureus 以外では *Vibrio parahaemolyticus* の2株について, 両平板上の集落が凝集を示したが, それらの平板から移殖したトリプトソイ寒天斜面上の菌では, まったく凝集はみられなかった。

以上のことから, ラテックス試験を実施する際にはトリプトソイ寒天斜面上の菌では問題ないが, MSEY 培地やスタヒロコッカス培地No.110から実施する場合は, 必ずカタラーゼ陽性のグラム陽性球菌であることの確認が必要であろう。

IV まとめ

黄色ブドウ球菌同定用のラテックス凝集試験に食中毒

および食品製造施設由来ブドウ球菌を用いて追試し、次の様な結論を得た。

1. コアグラーゼ活性とラテックス凝集試験は食中毒由来株および食品由来株では100%一致することから、臨床面と同様に*S.aureus*の鑑別法として、日常検査に充分使用出来ると思われる。

2. ラテックス凝集試験はトリプトソイ寒天斜面上の菌のみならず、MSEY培地上の集落についても適用可能であった。しかし、この培地に生育可能な*Vibrio parahaemolyticus*にも凝集することから、試験の際は、生理食塩水に自発凝集しないこと、カタラーゼ陽性、グラム陽性の球菌であることなどを確認する必要がある。

文献

1) Ludwig Essers and Klaus Radebold (1980)

: Rapid and Reliable Identification of *Staphylococcus aureus* by a Latex Agglutination Test, J. Clin. Microbiol., 12, 641~643.

2) 設楽政次, 入江美佐子, 河端正樹, 小林はる美, 奥田 稔. (1981): ヒト血漿感作ラテックスによる *Staphylococcus aureus* の迅速同定法, 臨床病理 XXIX 総会号, 52.

3) Barryett A. Myrick and Paul D. Ellner (1982): Evaluation of the Latex Slide Agglutination Test for Identification of *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol., 15, 275~277.

4) Gary V. Doern (1982): Evaluation of a Commercial Latex Agglutination Test for Identification of *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol., 15, 416~418.