

院内の MRSA と食中毒からの黄色ブドウ球菌の 形態と病原性遺伝子分布

新潟大学医学部 4 年

大津 義晃・荻野 崇之・嘉戸 慎一
山下 聡・和田 真一

指導：細菌学教室

種池 郁恵・中川 沙織
小塩 精一・山本 達男

Distinct Distribution of the Pathogenic Determinants among Hospital-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Food-Poisoning-Derived *S. aureus*

Yoshiaki OHTSU, Takayuki OGINO, Shinichi KATO,
Satoshi YAMASHITA, Masakazu WADA

School of Medicine, Niigata University

Supervisor: Ikue TANEIKE, Saori NAKAGAWA,

Seiichi KOJIO and Prof. Tatsuo YAMAMOTO

Department of Bacteriology

Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from the Niigata-University hospital and *S. aureus* isolated in Niigata from a food-poisoning case (unrelated to a hospital) carried distinct pathogenic determinants. The MRSA carried the enterotoxin genes encoding for toxic shock syndrome toxin (TSST)-1 and staphylococcal enterotoxin (SE) C, in contrast to the *S. aureus* which carried SEA.

Reprint requests to:

Division of Bacteriology Department of
Infectious Disease Control and International
Medicine Niigata University Graduate
School of Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科国際感染医学講座
細菌学分野

はじめに

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、鼻粘膜に常在する細菌である。抗菌剤を多用する病院内では、メチシリン・セフェム耐性菌 (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA) として分離されることが多い。MRSA は、緑膿菌とともに分離頻度の高い院内感染の原因菌で、院内で深刻な感染流行を引き起こすことがある¹⁾。MRSA 感染症としては、新生児集中治療室 (NICU) の新生児が感染・発症する新しい疾患、新生児 TSS 様発疹症 (neonatal toxic-shock syndrome-like exan-

thematous disease, NTED) が近年注目されつつある²⁾。

一方、黄色ブドウ球菌は毒素型食中毒の主要な病原体であって、院外では食中毒との関連で注目されることが多い。平成12年にも1万人以上の感染者をだした雪印乳業食中毒事例が発生している。

本研究では、新潟大学医学部附属病院の患者から分離された MRSA と食中毒事例で分離された黄色ブドウ球菌について、電子顕微鏡を用いて形態観察するとともに、PCR によって毒素遺伝子の分布を解析した。

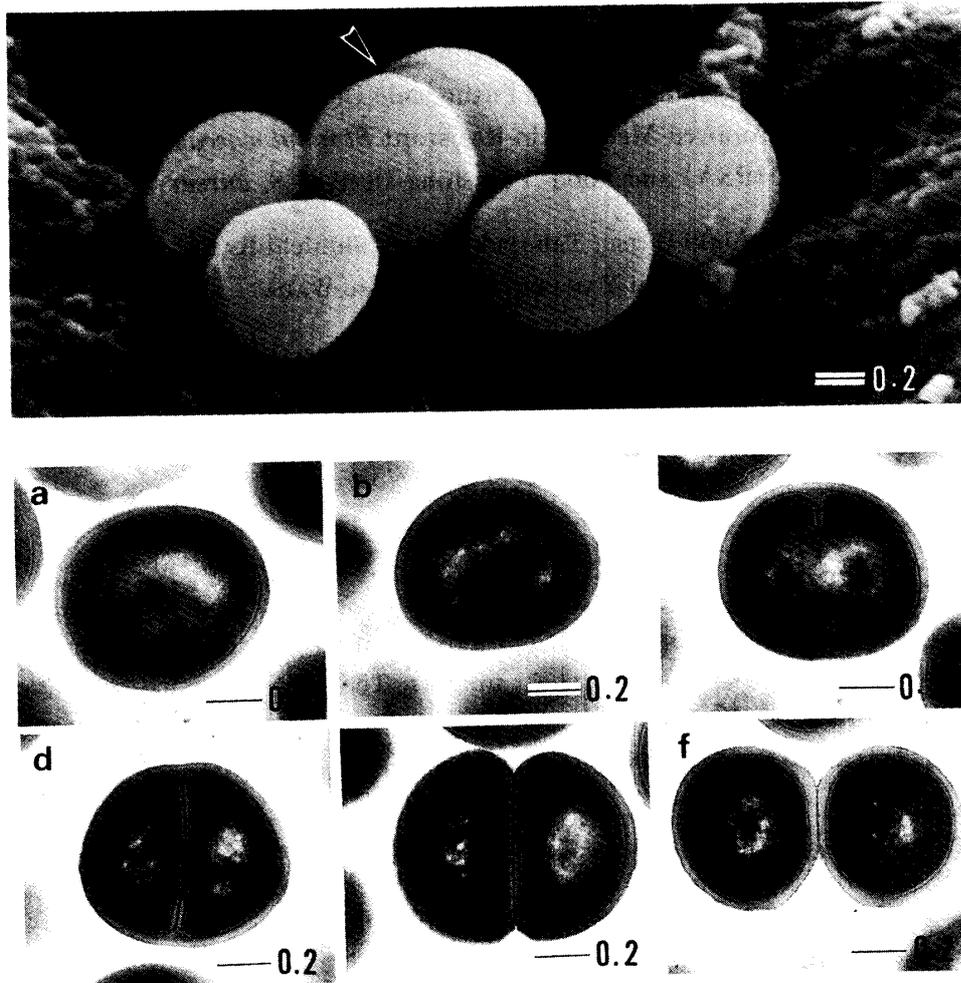


図1 MRSA の電子顕微鏡観察

上側：走査電子顕微鏡像 (矢印は分裂過程の細菌を示す)

下側：透過型電子顕微鏡像 (隔壁合成が a から f へと起きている)

方 法

使用した MRSA は、平成13年に新潟大学付属病院で NTED 患者から分離された NE 6 株と、新潟県下で平成12年に食中毒事例から分離された黄色ブドウ球菌 NT1株であった。細菌の形態は、血液寒天培地で培養後、集落をグルタルアルデヒドで固定し、走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡によって観察した。薬剤の最少発育阻止濃度

(MIC) は Mueller-Hinton 寒天培地を用いた寒天平板希釈法によって測定した³⁾。staphylococcal enterotoxin (SE) A, SEB, SEC, SED, toxic shock syndrome toxin (TSST) 1 (別名 SEF) をコードする各毒素遺伝子は PCR によって解析した⁴⁾。

結 果

MRSA の電子顕微鏡解析像を図1に示した。典型的な厚い細胞壁と隔壁形成が観察された。

PCR 診断の結果、MRSA (NE 6 株) は TSST-1 遺伝子と SEC 遺伝子をもっていた (図2)。一方、食中毒由来の黄色ブドウ球菌 (NT 1 株) は SEA 遺伝子のみが陽性であった (図2)。セファゾリンの MIC ($\mu\text{g/ml}$) は、MRSA (NE 6 株) の場合には ≥ 256 で、食中毒由来の黄色ブドウ球菌 (NT 1 株) は 0.5 であった。

考 察

院内で分離された黄色ブドウ球菌は、メチシリン・セフェム耐性遺伝子 (*mecA*) をもち、かつ毒素遺伝子である TSST-1 遺伝子と SEC 遺伝子を

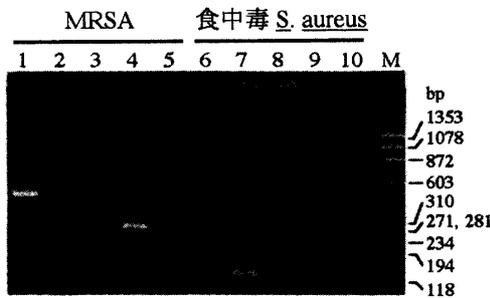
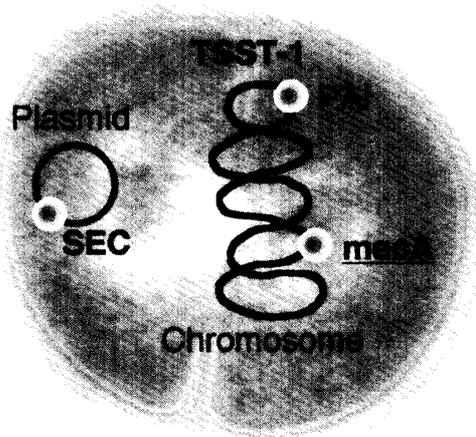


図2 PCRによる毒素遺伝子診断

使用したプライマー：lanes 1 & 6, TSST-1；lanes 2 & 7, SEA；lanes 3 & 8, SEB；lanes 4 & 9, SEC；lanes 5 & 10, SED. M：分子量マーカー (ϕ X174 *Hae* III 切断断片)

MRSA



食中毒 *S. aureus*

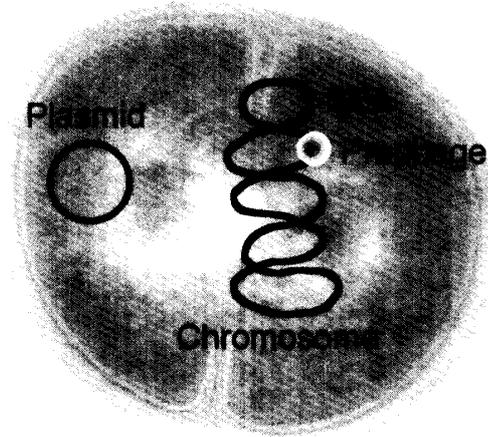


図3 院内で分離した MRSA と食中毒由来黄色ブドウ球菌への毒素遺伝子の分布様式

もっていた (図 3). TSST-1 はショックに関連する強毒性遺伝子である. 新生児の MRSA 疾患 NTED は, この TSST-1 によって惹起されることが報告されている. SEC は NTED に関係しないといわれる.

一方, 食中毒由来の黄色ブドウ球菌の場合には, *mec* 遺伝子がなくてメチシリン・セフェム感受性で, TSST-1 遺伝子と SEC 遺伝子も存在しなかった. 代わりに, 食中毒に強く関連する SEA 遺伝子をもっていた. 雪印乳業食中毒事例株も, TSST-1 と SEC が陰性で, SEA が陽性である.

院外に分布する食中毒菌が MRSA に変化するには, SEA を失い, TSST-1 と SEC の 2 つの遺伝子を獲得し, さらに *mec* 遺伝子を獲得する, 少なくとも 3 段階の遺伝変化が必要になる. おそらく, MRSA と食中毒関連黄色ブドウ球菌は, 相互に容易に変換するものではなく, 遺伝学的に分岐した 2 つの群であると結論される.

なお, 黄色ブドウ球菌による食中毒は, 平成12年の雪印乳業食中毒事例のように 1 つの事例で多数の感染者をだすことがあるが, 近年一般的には

検出頻度が著しく減少している.

文 献

- 1) Solberg CO. Spread of *Staphylococcus aureus* in hospitals: causes and prevention. Scand J Infect Dis 32: 587-595 2000.
- 2) Takahashi N, Nishida H, Kato H, Imanishi K, Sakata Y and Uchiyama T: Exanthematous disease induced by toxic shock syndrome toxin 1 in the early neonatal period. Lancet 351: 1614-1619 1998.
- 3) Japan Society of Chemotherapy: Committee report. Chemotherapy (Tokyo) 29: 76-79 1981.
- 4) Becker K, Roth R and Peters G: Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. J Clin Microbiol 36: 2548-2553 1998.