

## 剣道防具「面」由来ブドウ球菌に関する研究<sup>†</sup>

田中和幸\*・遠藤麻美\*・長船哲齊\*  
八木沢 誠\*\*・袴田大蔵\*\*・志沢邦夫\*\*

(平成 11 年 4 月 13 日受付, 平成 11 年 8 月 4 日受理)

### Studies of *Staphylococci* Isolated from the MEN of KENDO throughout the Year

Kazuyuki TANAKA, Asami ENDO, Tetsuaki OSAFUNE, Makoto YAGISAWA,  
Daizo HAKAMADA and Kunio SHIZAWA

In the present study, bacteriological examinations were carried out to get information about *Staphylococci* in the MEN (a face protector) of KENDO (Japanese fencing) during the four seasons. *Staphylococcus saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. xylosus*, *S. sciuri* and *S. lentus* strains are found from the MEN during each season were rapidly identified with a Gram-Positive Identification Card used in conjunction with the Vitek AutoMicrobic System. *Staphylococcus saprophyticus* strain was most frequently observed in all seasons, followed by *S. cohnii*. *Staphylococcus epidermidis* and *S. saprophyticus* strains have recently been noticed as the bacteria of opportunistic infection in the clinical medicine. *Staphylococcus aureus* is a coagulase-positive bacterium. We found that no *S. aureus* strain which causes skin and wound infections was identified in the MEN of KENDO during the four seasons.

**Key words:** *Staphylococci*, Identification, MEN (a face protector), KENDO (Japanese fencing), the Vitek AutoMicrobic System

キーワード: ブドウ球菌, 同定, 防具面, 剣道, 迅速自動細菌検査装置

#### 序 論

体育系大学の教員や学生はスポーツ施設, 運動用具, 防具や衣類などに付着した微生物汚染や室内空気汚染等の状況, それによる疾病の要因をあらかじめ知っておくことは衛生学, 公衆衛生学的にも重要なことと考えられる<sup>1-3)</sup>。しかしながら, 現状では体育教育環境などにおける微生物の汚染状況や除菌対策等に関する詳細な研究報告はほとんどみられない。

室内競技の一つに剣道がある。剣道の競技は身体を保護するため, 常に防具(胴, 面, 小手)を身に付けて行われている<sup>4)</sup>。これらの剣道防具は, 一度購入すると使用不能になるまで長期間にわたって, ほとんど洗浄することもなく使用するのが一般的であるとされている<sup>5)</sup>。剣道防具「面」の一部は直接人体に接触する運動用具であ

り, 特定の微生物による固有の細菌叢を構成していることが示唆される<sup>5, 6)</sup>。したがって, その汚染状況をあらかじめ的確に把握することは極めて重要な意義をもつものである。1994年, 田淵は剣道防具「面」の顎部に付着した種々の細菌の個数濃度を調査し, 総細菌数を指標とした防具の除菌対策について検討している<sup>5)</sup>。また, 本学の伊藤は剣道防具「面」から分離した微生物の個数濃度により汚染度や消毒効果に関する報告をしている<sup>7)</sup>。

現在, われわれの研究室では迅速自動細菌検査装置(VITEK および ATB Expression)を導入し, 教育環境施設, 運動用具, 防具やユニホームなどに付着した微生物汚染の実態を調査している<sup>1-3, 6, 8)</sup>。1998年, 石毛らは迅速自動細菌検査装置により, 剣道の「面」の年間における細菌叢を初めて明らかにした<sup>9)</sup>。さらに防具の衛

<sup>†</sup> 本研究の一部は日本体育学会東京支部第 26 回大会で発表した。

\* 自然科学研究室(生命科学専攻), \*\* 運動方法(剣道)

生・公衆衛生学の面から、稽古後の「面」に及ぼす各種消毒剤や殺菌剤の効果を適切に把握するため、それらで処理を行った「面」を迅速自動細菌検査装置により、細菌叢の動態を経時的に追跡している<sup>8)</sup>。

本研究は剣道防具「面」について、人体の各部位や自然界に広く分布し日和見感染、化膿性疾患や食中毒の起原因菌として注目されているグラム陽性球菌 *Staphylococcus*<sup>9)</sup> に着目し、迅速自動細菌検査装置を応用して、最初にそれらの分離同定を試みたものである。その結果、*Staphylococcus* 属は「面」の顎部領域から年間を通じて11種が検出された。これらの *Staphylococcus* はすべてコアグララーゼ試験陰性を示すことがわかった。一方、多彩な感染症と食中毒を起こすことが知られている病原性黄色ブドウ球菌 *S. aureus* は剣道防具「面」の顎部領域からは、年間を通して分離されないことを明らかにしたので報告する。

## 方 法

### 1. 試料の採取

日本体育大学剣道部部員（男女）から無作為に20名を選び、剣道防具「面」の細菌叢について、継続的に1年間の調査を行った。実験試料は、剣道の練習が終了直後に、使用した「面」の内側の左側顎部領域にカウントタクト（日本ビオメリュウ KK）を接着し、カウントタクトアプリケーター（日本ビオメリュウ KK）によって、カウントタクト全体へ500gの圧力を10秒間かけて採取した<sup>6, 8)</sup>。

### 2. 培養試験

カウントタクトで採取した試料は恒温器（ヤマト IC-600）で37℃、24時間培養を行ったのち、さらに自然環境条件、剣道防具が使用される温度に3日間放置し培養した。次に、カウントタクト上の菌集落の形状や集落の色などを観察して、ハートインフュージョン寒天培地（栄研化学株式会社）を用いて各々の細菌の分離培養を行った<sup>1, 6)</sup>。さらに、ハートインフュージョン寒天培地に純培養した。

### 3. グラム染色、カタラーゼ試験およびコアグララーゼ試験

純培養した各菌株について、迅速自動細菌検査装置により判定するために、*Staphylococcus* 属と思われる試料の選択を行った。すべての試料はグラム染色を行った後、光学顕微鏡（Nikon）を用いてグラム染色陽性球菌であることを確かめ、コアグララーゼ試験を行った。次にカタラーゼ試験陽性菌を選別し、迅速自動細菌検査装置で同定した<sup>6)</sup>。

4. 鑑別培地による *Staphylococcus aureus* の検出  
病原性黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* を鑑別するため Baird Parker+RPF 培地を使用した。菌液を当培地表面に塗布し、37℃の恒温器で24~48時間培養した。コアグララーゼ陽性の *S. aureus* 集落は Baird Parker+RPF 培地上では半透明のハローを形成する。RPF はウサギ血漿、牛由来フィブリンノーゲンを示す。

### 5. テストカードの選択と自動同定法

細菌の形態が球体でグラム染色およびカタラーゼ試験陽性であることを確認し、同定用テストカードを適切に選択した後、カード内へ菌液の充填を行った。テストカードはプラスチック製で、形成された30のウェルからなり、各々に生化学性状基質などが封入されている。テストカードは迅速自動細菌検査装置（VITEK および ATB Expression）で35℃、1時間ごとに660nmのLEDで測定され、コンピュータで処理の後、プリンターによって成績がプリントアウトされ自動的に細菌の同定が行われた<sup>10, 11)</sup>。

### 6. 走査型電子顕微鏡

剣道防具「面」からは年間を通して、*S. saprophyticus* が高頻度<sup>6)</sup>で検出される。*Staphylococcus saprophyticus* を液体培養し、SEMPore (JEOL) 上に積載した。次に、

表1 剣道防具「面」由来 *Staphylococcus* 属

迅速自動細菌検査装置 VITEK により、剣道防具「面」から *Staphylococcus* 属は年間を通して、11種が分離同定された。*Staphylococcus epidermidis* は和名、表皮白色ブドウ球菌、*Staphylococcus saprophyticus* は腐敗性ブドウ球菌と呼ばれコアグララーゼ陰性を示す典型的な日和見感染菌である。

<i>Staphylococcus</i> 属	コアグララーゼ 反 応
<i>Staphylococcus capitis</i>	(-)
<i>Staphylococcus cohnii</i>	(-)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(-)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	(-)
<i>Staphylococcus hominis</i>	(-)
<i>Staphylococcus lentus</i>	(-)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	(-)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	(-)
<i>Staphylococcus simulans</i>	(-)
<i>Staphylococcus warneri</i>	(-)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	(-)

グルタルアルデヒドおよび四酸化オスミウム固定を行い、エタノール系列で脱水後に酢酸イソアミル浸漬した。臨界点乾燥して、イオンビームスパッタコーティングで回転傾斜させながら白金をコーティングした<sup>12)</sup>。試料は走査電子顕微鏡 (JSM-6301F: JEOL) により、加速電圧 10 kV で観察、撮影を行った。

## 結 果

1997年4月から1998年3月まで1年間、日本体育大学深沢校舎における剣道部員20名の剣道防具「面」由来の微生物に着目し、迅速自動細菌検査装置を用いて、特に *Staphylococcus* の調査を行ったものである。

表1に示すように、年間を通じ「面」から *Staphylococcus* が11菌種同定された。すなわち、*S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. xylosum*, *S. sciuri*, *S. lentus* が検出された。*Staphylococcus saprophyticus* は年間を通して最も高頻度に分離同定され、次いで *S. cohnii* であった<sup>6)</sup> (投稿準備中)。したがって、*S.*

*saprophyticus* は「面」に由来する代表的な *Staphylococcus* 属といえる。図1はそのような「面」から高頻度で検出された *S. saprophyticus*<sup>6)</sup> の走査型電子顕微鏡像である。*Staphylococcus saprophyticus* は直径 0.5~0.1  $\mu\text{m}$  で、球体の細胞である (図1)。*Staphylococcus* の特徴は不規則な、いわゆる葡萄の房状配列を呈する<sup>13)</sup>。図1の矢印は2分裂中の *S. saprophyticus* 細胞を示している。表2,3は迅速自動細菌検査装置 VITEK でカードタイプ GPI を用いた結果を示している。すなわち、*S. saprophyticus* のウエルの反応をコンピュータが自動的に読み取ったものである。

表4はウエル反応の判別基準を示している。当反応はコンピュータによって自動的に分析された後に印刷された (表2,3)。迅速自動細菌検査装置 VITEK で *S. saprophyticus* を同定するのに要した時間は15時間であった。表3は本研究で検索を行った病原性黄色ブドウ球菌 *S. aureus* の標準菌による試験結果である。*Staphylococcus saprophyticus* と同様に15時間で同定され、迅速自動細菌検査装置 VITEK を用いることにより、*S. aureus*

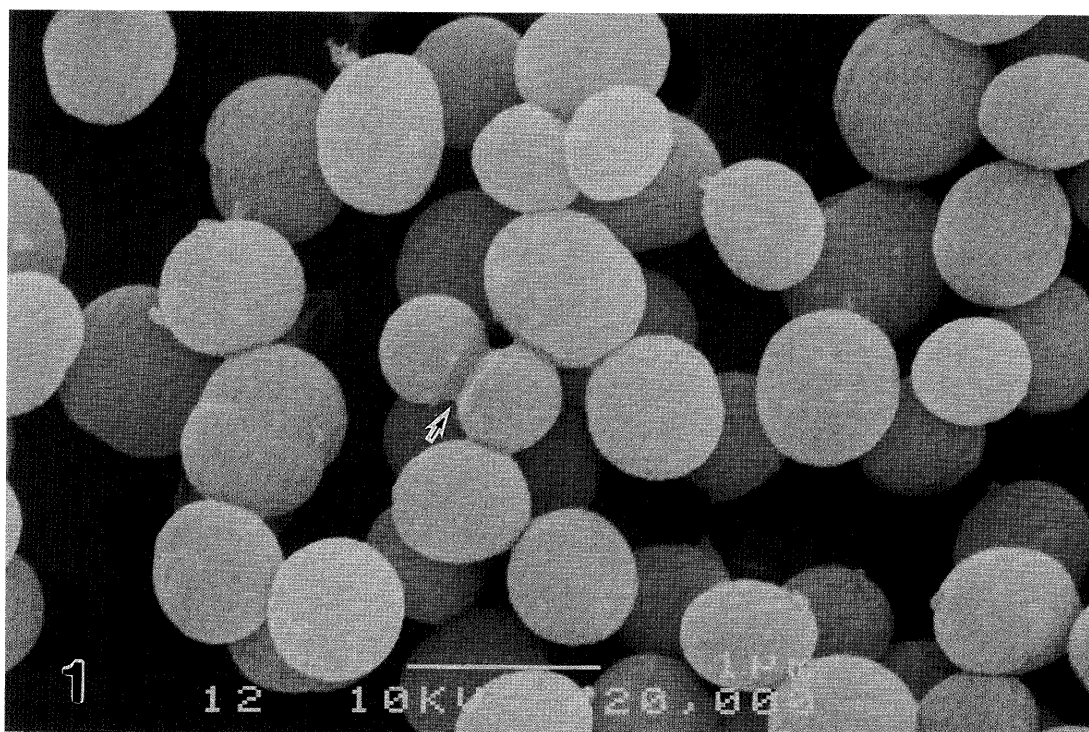


図1 剣道防具「面」由来 *Staphylococcus saprophyticus* の走査型電子顕微鏡像  
*Staphylococcus saprophyticus* は剣道防具「面」から、年間を通して高頻度で検出された。走査型電子顕微鏡像が示すように、ブドウ球菌特有の房状の複雑な配列をしているのが観察される。矢印は分裂中の細胞である。スケールは1  $\mu\text{m}$ 。

表 2 VITEK による *Staphylococcus saprophyticus* の同定

剣道防具「面」由来の *Staphylococcus* 属の中では *S. saprophyticus* が年間を通して高頻度に検出された。VITEK では 15 時間で、95% の確度で *S. saprophyticus* が同定される。バイオコードは表 4 に示す。

日時: 03/09/99 14:25:13		bioMerieux マニュアル Vitek 結果報告									
WSVTK-R05.04											
Vitek ID:	000000-0	カタラーゼ+	コアグララーゼ-								
カードタイプ:	Gram Positive Identification Card (GPI)										
測定状況:	終了										
経過時間:	15 時間										
菌名:	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>										
バイオコード:	77157030040										
PB	+	BAC	+	OPT	+	HCS	+	6NC	+	10B	+
40B	+	ESC	-	ARG	-	URE	+	TZR	-	NOV	+
DEX	+	LAC	+	MAN	+	RAF	-	SAL	-	SOR	-
SUC	+	TRE	+	ARA	-	PYR	-	PUL	-	INU	-
MEL	-	MLZ	-	CEL	-	RIB	-	XYL	-	CAT	+
BH/CO	-										
95% <i>Staphylococcus saprophyticus</i>											
1% <i>Staphylococcus simulans</i>											
報告待ち状態: なし											
—同定試験に組み込まれた追加反応—											
95% <i>Staphylococcus saprophyticus</i>											
1% <i>Staphylococcus simulans</i>											

表 3 VITEK による病原性細菌 *Staphylococcus aureus* の同定

*Staphylococcus aureus* は黄色ブドウ球菌と呼ばれ、最も病原性が高い。*Staphylococcus aureus* は標準株として、東京医科大学から分与されたものについて同定試験を行ったものである。表に示すように、コアグララーゼ陽性で、本学の VITEK による同定試験の確度は 98% であった。バイオコードは表 4 に示す。

日時: 03/04/99 16:45:24		bioMerieux マニュアル Vitek 結果報告									
WSVTK-R05.04											
Vitek ID:	000000-0	カタラーゼ+	コアグララーゼ+								
カードタイプ:	Gram Positive Identification Card (GPI)										
測定状況:	終了										
経過時間:	15 時間										
菌名:	<i>Staphylococcus aureus</i>										
バイオコード:	77121030041										
PB	+	BAC	+	OPT	+	HCS	+	6NC	+	10B	+
40B	+	ESC	-	ARG	-	URE	-	TZR	+	NOV	-
DEX	+	LAC	-	MAN	-	RAF	-	SAL	-	SOR	-
SUC	+	TRE	+	ARA	-	PYR	-	PUL	-	INU	-
MEL	-	MLZ	-	CEL	-	RIB	-	XYL	-	CAT	+
BH/CO	+										
98% <i>Staphylococcus aureus</i>											
1% <i>Staphylococcus hyicus</i>											
報告待ち状態: なし											
—同定試験に組み込まれた追加反応—											
98% <i>Staphylococcus aureus</i>											
1% <i>Staphylococcus hyicus</i>											

表 4 迅速自動細菌検査装置 VITEK で用いたウエルの反応

ウエルカードには 30 個の小孔があり、各ウエルは生化学的基質と陰性コントロール培地がセットされている。表 4 に示すような結果に基づいて、コンピュータが判定することによって、迅速な細菌の同定が行われる。

■各ウエルの反応

各ウエルにおける反応は、下表のとおりである。

ウエル No.	培地 (略号)	成分	反応	陽性	陰性
1	ペプトンベース (PB)	ペプトン ブドウ糖	菌増殖 酸産生	青色	澄明
2	バシトラシン (BAC)	バシトラシン	バシトラシン感受性	青色	澄明
3	オプトヒン (OPT)	オプトヒン	オプトヒン感受性	青色	澄明
5	6% 塩化ナトリウム (6NC)	塩化ナトリウム	塩化ナトリウム耐性	青色	澄明
6 7	10% 胆汁 (10B) 40% 胆汁 (40B)	胆汁	胆汁耐性	青色	黄色
8	エスクリン (ESC)	エスクリン クエン酸鉄アノモニウム	エスクリン加水分解	褐色-黒色	明るい黄色
9 10	脱炭酸反応コントロール (ANC) アルギニン (ARG)	塩酸アルギニン	脱炭酸	— 青色	黄色-緑色 黄色-緑色
11	尿素 (URE)	尿素	尿素分解	青色	黄色-緑色
12	テトラゾリウムレッド (TZR)	塩化トリフェニル テトラゾリウム	テトラゾリウム塩 還元	ピンク色-赤色	澄明
13	ノボビオシン (NOV)	ノボビオシン ナトリウム	ノボビオシン感受性	青色	澄明-明るい青色
4 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30	ヘミセルロース (HCS) デキストロース (DEX) 乳糖 (LAC) マンニトール (MAN) ラフィノース (RAF) サリシン (SAL) ソルビトール (SOR) 白糖 (SUC) トレハロース (TRE) アラビノース (ARA) ピルビン酸塩 (PYR) プルラン (PUL) イヌリン (INU) メリビオース (MEL) メレチトース (MLZ) セロビオース (CEL) リボース (RIB) キシロース (XYL)	ヘミセルロース デキストロース 乳糖 マンニトール ラフィノース サリシン ソルビトール 白糖 トレハロース アラビノース ピルビン酸塩 プルラン イヌリン メリビオース メレチトース セロビオース リボース キシロース	炭水化物利用/酸産生	青色	澄明-明るい青色

を 98% の確率で検出できることを示している。

図 2 は *S. aureus* の検出用 Baird Parker+RPF 鑑別培地による培養結果である。剣道防具「面」から採取した細菌の菌液を Baird Parker+RPF 培地に塗布し、24 時間培養したものである。集落はすべて黒色を示すこと

から、病原性を有する *S. aureus* ではないことが明らかである (図 2)。さらに、集落上には *S. aureus* を鑑別できるハローは全く観察されなかったことがわかった (図 2)。

図 3 は東京医科大学から分与された標準菌である病原性 *S. aureus* を同じように Baird Parker+RPF 鑑別

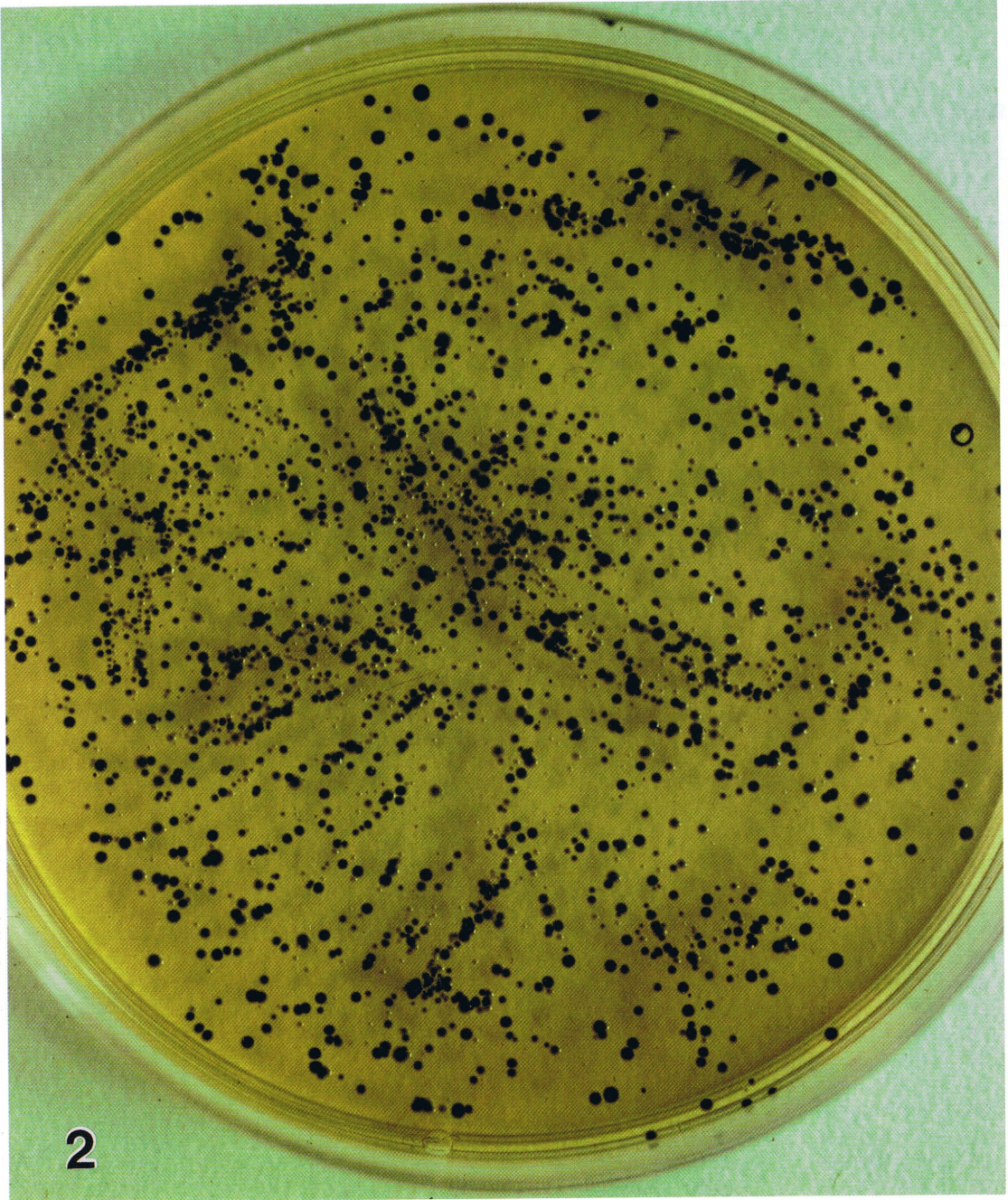


図2 剣道防具「面」から検出された細菌を Baird Parker+RPF 培地で培養した病原性黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* を鑑別するため、剣道防具「面」から分離された細菌を液体培地で培養した。次に、Baird Parker+RPF 培地を使用し当培地表面に塗布し、37°C の恒温器で 24~48 時間培養した。各菌の集落は黒色を示す。*Staphylococcus aureus* 集落特有の半透明のハローはみられない。したがって、剣道防具「面」からは鑑別培地を用いても *S. aureus* は分離されないことがわかる。RPF はウサギ血漿、牛由来フィブリノーゲンを示す。

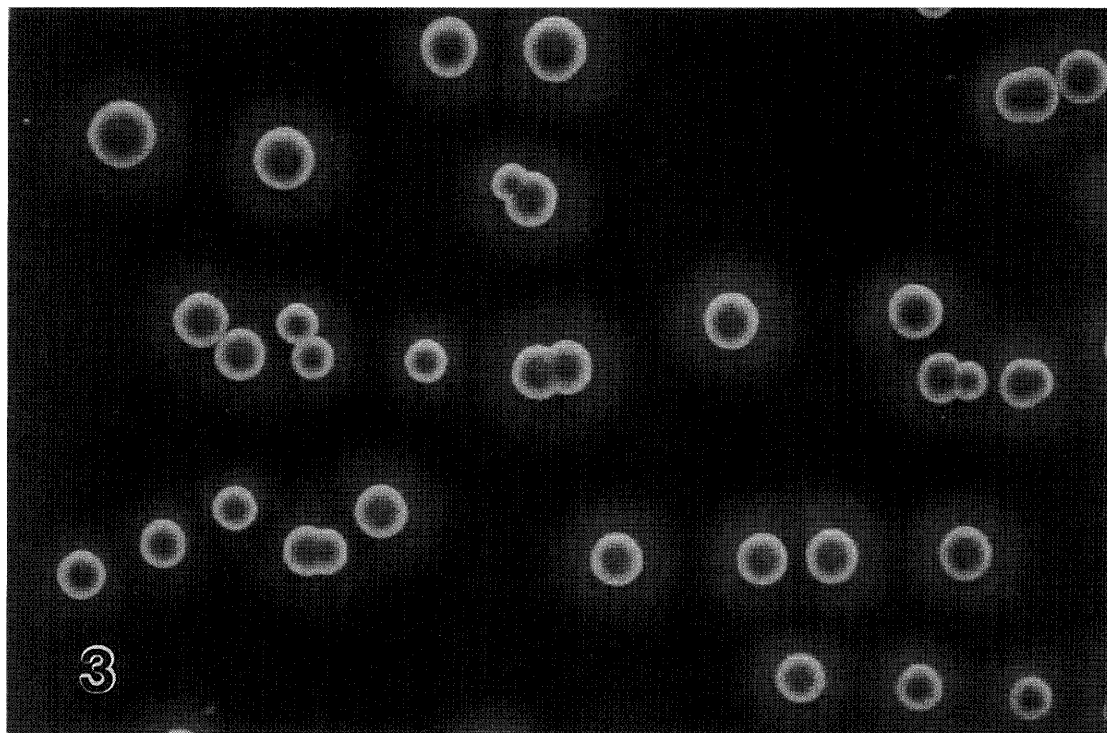


図3 Baird Parker+RPF 培地に培養した *Staphylococcus aureus*  
東京医科大学から分与された病原性黄色ブドウ球菌 *S. aureus* を Baird Parker+RPF 培地に培養した。  
集落は灰色を示し、培地上では半透明のハローを形成する。

培地に塗布し、24時間培養した結果である。*Staphylococcus aureus* の標準菌には鮮明なハローが観察された。以上の結果を総合すると、今回の実験では剣道防具「面」からは *S. aureus* は年間を通じ分離、同定されないことが明らかになった。

#### 考 察

現在、病気の診断には原因となっている細菌などの微生物を同定することが重要であり、その作業は医学臨床検査分野の領域で行われている<sup>14)</sup>。しかし、従来から用いられている定法による同定作業は、各種の試薬調製や培地の作成が繁雑であり、菌種決定までに長時間を要するのが実状である。そのため、細菌検査の分野では、近年自動化機器が使用されるようになってきた<sup>15~17)</sup>。現在、微生物同定の自動化装置は数種市販されているが、本研究で使用した Vitek AMS システムは、マクダネル・ダグラス社(米国)により開発された装置である<sup>18)</sup>。本装置は、臨床材料や環境中から分離されたグラム陽性菌<sup>16)</sup>、グラム陰性桿菌<sup>15)</sup>、真菌<sup>17)</sup>の生理生化学的性状を、

それぞれの微生物群に専用のテストカード(培地)で調べ、その結果を自動的にコンピュータに読みとりコード化する。そして得られたコードを装置に内蔵されているデータベースと照合させて、被検株の菌種を同定する(表2,3)。本システムの特徴は同定できる細菌の種類が多く、判定時間が迅速で、短い場合には4時間で同定することができる。また、分離同定された細菌の薬剤感受性試験にも利用できる機能も備えている<sup>19)</sup>。

細菌は病原性から強毒菌と弱毒菌とに分類されている。現在、高度医療の進歩によって日和見感染症が頻発するようになってきた<sup>20)</sup>。例えば、臓器移植患者、エイズ患者(後天性免疫不全)に合併する感染症、副腎皮質ホルモン、抗ガン剤や免疫抑制剤で感染抵抗力の低下している患者は容易に弱毒菌感染の発生が起こるとされている。すなわち、健康人には病気を起こさないことが明らかな弱毒菌でも、抵抗力の弱ったヒトには感染することが報告されている<sup>20)</sup>。*Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* や *Fungi* など多くの弱毒菌の感染が現在、社会問題になっている<sup>20, 21)</sup>。

本研究は剣道防具「面」について、人体の各部位やヒトの生活環境、自然界に広く分布しているグラム陽性球菌 *Staphylococcus*、和名ブドウ球菌に着目し、それらの検索を試みたものである(表1~3)。一般に、*Staphylococcus* 属は化膿や食中毒を起こす病原性をもつ細菌として知られている<sup>13, 21, 22</sup>。*Staphylococcus aureus* は毛囊炎や皮膚化膿症を起こす<sup>21</sup>。さらに、*S. aureus* は薬剤耐性菌である Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) と変異し、院内感染症の代表的な病原性感染菌として、また薬剤が効かない細菌として注目されている。主な MRSA 感染症は手術後の創傷感染、敗血症、菌欠症や呼吸感染症などがある<sup>21, 23</sup>。これらは医療現場における抗生物質の安易な使用が原因であり、高度発展社会における医療問題の一つにあげられている<sup>20, 22</sup>。すなわち、*S. aureus* が食物中で増殖しブドウ球菌エンテロトキシンを産生し、それを摂食することにより起る急性胃腸炎である<sup>13, 22, 24</sup>。一方、*Staphylococcus* 属はほとんどが弱毒菌であり、健康人には病原性を示さないが、細菌が抵抗力の低下しているヒトに特異的に感染症を起こす<sup>20, 22, 24</sup>。すなわち、日和見感染症は、現在の高度医療技術によってもたらされ、その進歩に伴って将来ますます増加することが指摘されている<sup>20, 22</sup>。

1998年、われわれの研究室では日本体育大学に新しく導入されることになった迅速自動細菌検査装置を用いて、当大学剣道部で学生が使用中の防具「面」顎部の細菌叢を初めて明らかにした<sup>6</sup>。すなわち、剣道防具「面」の細菌叢の中で、年間を通して高い頻度で同定された細菌は *Staphylococcus* 属であった。これらの菌を光学顕微鏡で観察すると菌体は球状で、いわゆる葡萄の房状をした特徴のある配列をしている<sup>13</sup>。図1は *Staphylococcus* 属の中で最も高頻度で分離同定される *S. saprophyticus* 株の走査型電子顕微鏡像を示している。本菌の形態は球体で、複数個の菌の不規則な配列が良くわかる(図1)。図1の矢印は分裂中の *S. saprophyticus* 細胞を示す。

表1は防具「面」顎部から迅速自動細菌検査装置によって同定された、*Staphylococcus* 属である。*Staphylococcus* は年間を通して11菌種が同定され、コアグラゼ反応はすべて陰性を示した。従来から用いられている定法による微生物同定作業は各種薬剤、化学反応、培地作成が繁雑であり、さらに菌種決定までには数週間から数カ月を要するのが実状<sup>13</sup>であるが、今回、迅速自動細菌検査装置 VITEK で *S. saprophyticus* を同定するのに要した時間は極めて短く、15時間であった。われわれは、このような迅速自動細菌検査装置を用いて、年間

を通じ「面」から11菌種の *Staphylococcus* 属を同定した。すなわち、*S. saprophyticus*、*S. cohnii*、*S. hominis*、*S. simulans*、*S. epidermidis*、*S. warneri*、*S. haemolyticus*、*S. capitis*、*S. xylosus*、*S. sciuri*、*S. lentus* が検出された。*Staphylococcus* 属の年間を通しての出現頻度の動態は春季(3月~5月)から増加し、夏季(6月~8月)には最も高くなり秋季から冬季に向かって減少することが明らかになった<sup>6</sup>。これらの結果から、防具「面」顎部領域から分離される *Staphylococcus* 属の個数濃度は外気温の変動に依存していることが示唆される。「面」由来の *Staphylococcus* 属のコアグラゼ試験はすべて陰性を示すことが判った。*Staphylococcus saprophyticus* は和名では腐敗性ブドウ球菌、*Staphylococcus epidermidis* は表皮白色ブドウ球菌とよばれ、コアグラゼ陰性の代表的な日和見感染菌として、ますます多くの関心が寄せられている<sup>13, 20, 22</sup>。これらの細菌は *S. aureus* と比較し、病原性は著しく弱いけれども尿路感染症や呼吸器疾患の起因菌であることが報告されている<sup>20</sup>。

*Staphylococcus epidermidis* は医療器具用のプラスチックに特異的に付着することが報告されており、医療器具による体内への移入が問題になっている<sup>20</sup>。いずれも院内感染や日和見感染の原因菌となり、臨床では無視できない菌種として論議されている<sup>20, 22, 23</sup>。同じように *S. saprophyticus*、*S. cohnii* や *S. hominis* などヒトに対し局所に感染して腫瘍、蜂巣炎やリンパ節炎を起こすことが報告されている<sup>20, 22, 23</sup>。*Staphylococcus* 属以外に、剣道防具「面」から検出された主な細菌は *Bacillus* 属、*Flavimonas* 属、*Chryseomonas* 属、*Actinobacillus* 属、*Stenotrophomonas* 属、*Corynebacterium* 属、*Comamonas* 属、*Flavobacterium* 属、*Pasteurella* 属、*Pantoea* 属、*Pseudomonas* 属、*Vibrio* 属、*Eikenella* 属、*Sphingobacterium* 属や *Acinetobacter* 属などが分離同定された(投稿準備中、1999<sup>25</sup>)。これらの細菌の中には、わが国で細菌性食中毒のうち、二番目に多い腸炎ビブリオの起因菌であり、強力な病原性を有する *Vibrio parahaemolyticus* (腸炎ビブリオ菌) が分離されている。本菌は海水中に生息し、病原性好塩として広く知られている。今回の調査で「面」から検出された *V. parahaemolyticus* は夏季に限定されている。「面」から分離される *V. parahaemolyticus* については「面」との関連性が重要な研究課題と思われる。現在、*Vibrio* 属による汚染経路やその疫学等については、いまだ多くの謎が残されている。

*Staphylococcus* 属の菌種のなかでは病原性黄色ブドウ球菌 *S. aureus* が最も病原性が強い<sup>20~23</sup>。先に述べた



ように、本菌は化膿性感染症や食中毒の原因菌としてよく知られ、コアグラエゼ試験は陽性を示す。本研究では迅速自動細菌検査装置で「面」の細菌叢に *S. aureus* が同定されなかった事実を確かなものにするため、「面」から採取されたすべての細菌の菌液を作成し、*S. aureus* 鑑別培地 Baird Parker+RPF で培養試験を行った。表 2, 3 は今回、「面」から高頻度に分離された *S. saprophyticus*<sup>6)</sup> と、標準株である病原性黄色ブドウ球菌 *S. aureus* について迅速自動細菌検査装置 Vitek で、カードタイプ GPI を用いて得られたウエル反応の結果である。表 4 はウエルの判別基準を示し、当反応はコンピュータによって自動的に分析された (表 2, 3)。標準株 *S. aureus* の同定時間は *S. saprophyticus* と同様に 15 時間であった。表 3 では、迅速自動細菌検査装置 Vitek による *S. aureus* の同定確率は 98% を示している。図 2, 3 は *S. saprophyticus* と *S. aureus* についての鑑別 Baird Parker+RPF 培地による結果である。剣道防具「面」から採取した細菌の菌液を作成し Baird Parker+RPF 培地に塗布し、24 時間、37°C の恒温器で培養しものである。図 2 の集落上にはハロー形態は全く観察ないことが分かる。したがって、*S. aureus* は鑑別培地上で検出されない (図 2)。この結果は迅速自動細菌検査装置での判定と普通培地上の集落の色彩やコアグラエゼ試験との明らかな整合性がみられる。

図 3 は東京医科大学から分与された標準菌 *S. aureus* を Baird Parker+RPF 培地に塗布し、24 時間培養したものである。*Staphylococcus aureus* の標準菌は灰色で菌体には鮮明なハローが観察される。以上の結果を総合すると、今回の実験では、剣道防具「面」由来の *S. aureus* は分離されないことがわかった。すなわち、*S. aureus* は「面」顎部領域からは年間を通しての調査から同定されなかった。しかし、今回の剣道「面」顎部からの試料採取は、20 名の学生について 1997 年 11 月から 1998 年 10 月までの 1 年間に得られた結果であり、採取部位も顎部に限られており性急に結論を導くことは危険であろうと思われる。剣道防具「面」の細菌叢は練習による「面」の使用頻度、「面」管理状態、試料採取数などによっても変化が生じる可能性がある。したがって、今後はこれらの変動要因を的確に把握しながら、「面」の細菌汚染の状況を継続的に観察する必要があると考えている。剣道防具は一般に洗浄しないため、防具の衛生管理は極めて重要である。現在、高度の医療技術の進歩によって現れてきた弱毒菌感染症、すなわち日和見感染症は増加の一途をたどっている<sup>20~24)</sup>。今後、剣道防具「面」における細菌汚染の実態が継続的に掌握できれば初めて

の基礎データとなり、「面」の衛生管理や日和見感染症の防止対策策定にも役立つものとなるであろう。

## 結 語

本研究は剣道防具「面」について、人体の各部位や自然界に広く分布し日和見感染、化膿性疾患や食中毒の起原因菌として注目されているグラム陽性球菌 *Staphylococcus* 属に着目し、迅速自動細菌検査装置により、それらの同定を試みたものである。その結果、「面」の顎部領域からは年間を通じて、11 種の *Staphylococcus* が検出された。すなわち、*S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. xylosus*, *S. sciuri*, *S. lentus* を検出した。これらの *Staphylococcus* 属はすべてコアグラエゼ試験陰性を示した。一方、年間を通しての研究結果から、多彩な感染症と食中毒を起こすことが知られている病原性黄色ブドウ球菌 *S. aureus* は、剣道防具「面」の顎部領域から分離されないことが初めて明らかになった。

## 謝 辞

貴重なご助言を戴いた衛生学公衆衛生学研究室および健康管理センター所長 伊藤 孝教授に厚く御礼申し上げます。

本研究の一部は 1999 年度文部省科学研究・基盤研究 (C) および日本私学振興財団の援助によって行われた。

## 引用文献

- 1) 古田裕子, 小早川ゆり, 大本洋嗣, 浜田元輔, 清原伸彦, 青木茂治, 江原友子, 長船哲齊, 大和真: 教育環境の細菌学的調査への迅速自動細菌検査装置の応用, 日本体育大学紀要, 26, 261-265 (1997).
- 2) 古田裕子, 小早川ゆり, 浜田元輔, 清原伸彦, 長船哲齊, 青木茂治, 大和真: 教育環境における細菌学的調査: 日本体育大学プール水にみられる細菌叢, 日本体育大学紀要, 27, 279-286 (1998).
- 3) 古田裕子, 桑谷伸一, 青木茂治, 久和彰江, 小早川ゆり, 浜田元輔, 清原伸彦, 長船哲齊, 大和真: 迅速自動細菌検査装置の応用による健常学生口腔酵母叢の研究, 日本体育大学紀要, 27, 269-278 (1998).
- 4) Ozawa, H.: KENDO: The definitive guide, Kodansya Internal Ltd. (1997).
- 5) 田淵俊彦: 剣道防具の衛生に関する研究, 一高校剣道部員の「面」顎部の細菌数について一, 武道学研究 (別冊), 26, 41 (1996).
- 6) 石毛徹也, 柳 かおり, 長船哲齊, 八木沢 誠, 袴田大蔵, 志沢邦夫: 迅速自動細菌検査装置に

- よる剣道防具からの細菌の同定, 日本体育学会第49回大会, 愛媛大学(1998).
- 7) 伊藤文恵: 剣道具「面」から分離される細菌・真菌と消毒剤の効果, 日本体育大学修士論文(1996).
  - 8) 田中和幸, 古田裕子, 長船哲齊, 八木沢誠, 袴田大蔵, 志沢邦夫: 教育環境における細菌学的調査II, 剣道防具に関する研究, 日本体育学会東京支部第26回大会, 国士館大学(1999).
  - 9) 大槻容子, 佐藤延子, 本田一陽: VITEK AMS GPIカードとモノクローナル抗体の使用によるグラム陽性球菌の迅速同定システム, 臨床微生物迅速診断研究会誌, **1**, 65-72 (1988).
  - 10) 山根誠久: 細菌の分離同定の自動化, 臨床病理, **33**, 875-883 (1985).
  - 11) 長沢光章: 自動機器-バイテック(VITEK), 臨床と微生物, **22**, 669-675 (1995).
  - 12) 宮澤七郎, 相原 薫(監修): 電子顕微鏡と周辺機器, 医学出版センター(1994).
  - 13) 天兒和暢, 南嶋洋一(編集): 戸田新細菌学, 第31版, 南山堂(1997).
  - 14) 坂崎利一(編集): 図解臨床細菌検査, 文光堂(1992).
  - 15) 山根誠久, 加藤仁美: 自動検査装置AMS-EBAカードによる腸内細菌同定の検討, 臨床と細菌, **10**, 327-336 (1983).
  - 16) Appelbaum, P. C. *et al.*: Comparative evaluation of the API20S system and the AMS Gram-Positive Identification Card for species identification of *Streptococci*, *J. Clin. Microbiol.*, **19**, 164-168 (1984).
  - 17) 山根誠久, 斎藤芳彦: 自動検査装置AMS-YBCAによる酵母状真菌同定成績, 臨床と細菌, **9**, 493-501 (1982).
  - 18) Lapage, S. P. *et al.*: Identification of bacteria by computer: General aspects and perspectives, *J. Gen. Microbiol.*, **77**, 273-290 (1973).
  - 19) Lsenberg, H. S. and Sampson-Scherer, J.: Clinical laboratory feasibility study of antibiotic susceptibility determined by the Automicrobic System, *Current chemotherapy and infectious disease*, American. Soc. Microbiol., p. 526-528 (1980).
  - 20) 島田 馨: 日和見感染, 遺伝, **52**, 34-37 (1998).
  - 21) 吉川昌之介: 医科細菌学, 南光堂(1995).
  - 22) 吉川昌之介: 細菌の逆襲, 中公新書(1995).
  - 23) 那須 勝: MRSA 最近の動向, 総合臨床, **40**, 209-215 (1991).
  - 24) 五十嵐英夫: 特集エンテロトキシンと食中毒; ブドウ球菌食中毒, 微生物, **3**, 241-247 (1987).
  - 25) 田中和幸, 長船哲齊, 八木沢 誠, 袴田大蔵, 志沢邦夫: 迅速自動細菌同定装置を応用した剣道防具の細菌叢の研究: 「面」に由来する細菌の同定(投稿準備中).