

# 食品中金黃色葡萄球菌凝固酶之型別試驗

游禎義 陳嘉瑜 林俊杰\*

## 摘要

本報告以過去兩年來由食物中毒檢體及一般食品檢體所分離到的 50 株金黃色葡萄球菌做其凝固酶之型別試驗，結果發現以第Ⅶ型為最多，佔 64%；第Ⅲ型次之，佔 28%；尚發現有少數菌株屬於第Ⅷ型（6%）及第Ⅴ型（2%）。與國外之情形相近似。

## 前 言

過去兩年來金黃色葡萄球菌曾引起多次的食物中毒，因此有關金黃色葡萄球菌之流行病學調查（epidemiological investigation）至屬必要。金黃色葡萄球菌噬菌體型別試驗（phage typing）多年來曾被廣泛使用，然而 Ushioda 等（1981）的報告指出在 1188 株分離菌中，有 751 株無法以噬菌體來區分型別，且有 43 株是屬於混合型（mixed group）的（1）。

金黃色葡萄球菌能產生使血漿凝固之凝固酶（coagulase），此酵素是用來鑑定該株菌之主要生化反應之一（2）。Rammelkamp 等（1950）以 143 個人的血清來做凝固酶之中和試驗（neutralization test），發現游離態凝固酶可分成三種不同的類型；後來 Duthie（1954）分成四型（3）。到目前則已分成八型，Ushioda 等（1981）對所分離的 1188 株分離菌，皆能以八種凝固酶型別來分類（1）。

本文係將過去兩年來由食品所分離出來的金黃色葡萄球菌做凝固酶之型別試驗，藉以了解在台灣地區金黃色葡萄球菌之型別分佈情況。

## 材料與方法

### 一、菌種：

由食物中毒檢體及各縣市衛生局送驗之一般食品檢體所分離出來之金黃色葡萄球菌。這些保存菌係依據美國食品藥物管理局細菌分析手冊之方法予以鑑定。保存菌每隔三週以營養洋菜斜面培養基（nutrient agar slants）更新壹次。

### 二、葡萄球菌凝固酶用抗血清：

係由日本東芝化學株式會社製造。

### 三、凝固酶用血漿：

採用 Difco 公司出品之凍結乾燥兔血漿。

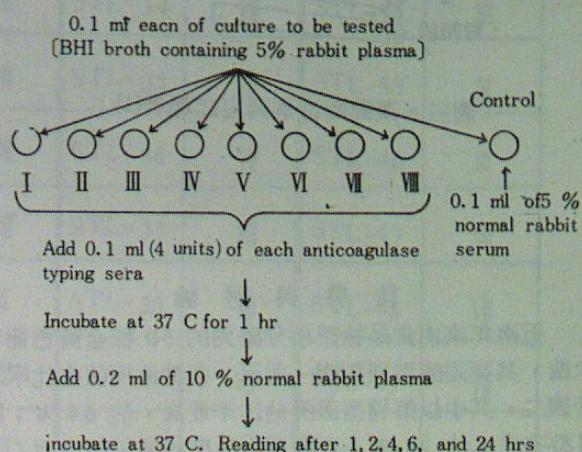
### 四、培養基

BHI 肉汁（brain heart infusion broth）。

### 五、凝固酶型別試驗：

配製每管 3 公撮之 BHI 肉汁，121 °C 殺菌 15 分鐘，放冷後加入 0.15 公撮凝固酶用血漿，置於 37 °C 培養，形成凝塊（clot）後，以吸管連續吸取數次將凝塊弄碎，各分注 0.1 公撮於 9 支已備妥之試管中，每管

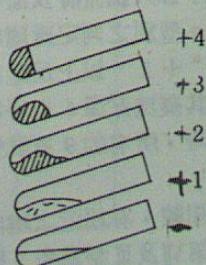
依序加入 0.1 公撮各型抗血清，而第 9 管則加入 0.1 公撮正常兔血清，於 37 °C 保溫一小時後，每管再加 0.2 公撮血漿，繼續置於 37 °C 保溫，適時觀察各管凝固情。（見圖一）



圖一：金黃色葡萄球菌凝固酶型別試驗之流程圖(1)

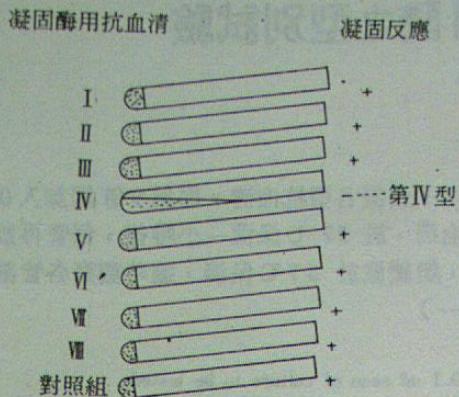
Figure 1: Flow Sheet of coagulase typing of *S. aureus*. (1)

將試管傾斜觀察，若凝塊固結於管底不移動者，判為“+4”反應；若凝塊會移動但旁無澄清液者，判為“+3”反應；若凝塊會移動且旁有澄清液者，判為“+2”反應；若凝塊不明顯，但有纖維（fibrin）存在者，判為“+1”反應；若連纖維皆未形成者，判為“-”反應。凝固情形以“+2”以上程度為基準。（見圖二）



圖二：凝固酶凝固反應之判讀

若同一株菌的 9 支試管中的 8 支（包括對照組）已有“+2”以上的凝固反應產生，則所餘未凝固試管之抗血清型即為該株菌之凝固酶型。（見圖 3）



圖三、凝固酶型別判定之範例(1)

### 結果與討論

近兩年來由食品檢體所分離到的 50 株金黃色葡萄球菌，其凝固酶型別如表一所示，各型菌所佔之比率示於表二，其中以第VII型菌所佔比率最高，佔 64%；第III型次之，佔 28%；尚發現少數菌株屬於第VIII型（6%）及第V型（2%）。Ushioda 等（1981）之報告指出：在 198 件由金黃色葡萄球菌所引起之食物中毒案中，其中以第VII、II 及 III 型菌所發生之比例為最高，依序為 42.4%、23.2% 及 22.2% (1)。寺山武等（1981）之報告指出：73 件由金黃色葡萄球菌所引起之食物中毒案中，以凝固酶第VII型所佔比例最高（56.2%），第III型次之（21.9%），而以第VIII型為最少（2.7%）(4)。

由於本報告係以保存菌來做凝固酶型別試驗，發現保存菌之凝固酶多有弱化之傾向。有些菌株接種於含血漿之 BHI 肉汁，在 37°C 經過夜培養後，即發現有凝塊形成，但有些菌株則需較長時間之培養才會形成凝塊。故本報告建議以後應以剛分離之凝固酶陽性菌立即做凝固酶之型別試驗。

凝固酶強之分離菌應以滅過菌未接種之 BHI 肉汁適當稀釋後以之為抗原，再依序加入抗血清及血漿做型別試驗，否則不易判定其型別。型別之判定應隨時注意是否有凝塊形成（其判定需以“+2”以上反應為基準），有些凝固酶較弱之菌株，其凝塊保溫 6 小時仍未形成，但等至 24 小時再觀察時，所有的 9 支試管都已凝固。

以上所得之結果與國外相較，有相近之趨向，即金黃色葡萄球菌凝固酶型別以第VII 及 III 型為多。雖然本報告僅以 50 株分離菌為對象，但仍可了解該菌流行病學之一般狀況，如果能就本省各地區，各季節的凝固酶型別做一番廣泛之調查，將更有意義。

### 誌謝

本報告承蒙鄭局長彰澤、洪副局長其璧之鼓勵，預研所李智隆博士、劉秉仁技正及本科同仁之協助始得完成，謹致謝忱。

### 參考文獻

- (1) Ushioda, H., Terayama, T., Sakai, S., Zen Yoji, H., Nishiwaki, M., and Hidano, A. (1981) Coagulase typing of *Staphylococcus aureus* and its application to *lococci* and *Staphylococcal* infection, J. Jeliaszewicz(ed), Zbl. Bakt. Suppl. 10, Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, NY, U.S.A.
- (2) Bennett, R.W. (1979) *Staphylococcus aureus*. Chap. XI. 5th ed. FDA's Bacteriological Analytical Manual
- (3) Zen Yoji, H., Terayama, T. and Benoki, M. (1961) Studies on staphylococcal coagulase I. Antigenic difference of coagulase and distribution of the anticoagulase in human sera. J. J. of Microbiol. 5(2): 237-247.
- (4) 寺山武, 五十嵐英夫 (1981) ブドウ球菌食中毒におけるエンテロトキシン検査および原因菌の型別成績。食品衛生研究, 31(3):37-45.

表一：由食品檢體所分離出金黃色葡萄球菌之凝固酶型別

分離菌 編號	凝固酶 型別								
STL-1	III	STL-11	VII	STL-21	III	STL-32	VII	STL-42	III
STL-2	VII	STL-12	VII	STL-22	III	STL-33	VII	STL-43	III
STL-3	VII	STL-13	VII	STL-23	III	STL-34	VII	STL-44	III
STL-4	VII	STL-14	VII	STL-24	VIII	STL-35	VII	STL-45	III
STL-5	V	STL-15	VII	STL-25	VIII	STL-36	VII	STL-46	III
STL-6	VII	STL-16	VII	STL-26	VIII	STL-37	VII	STL-47	VII
STL-7	VII	STL-17	VII	STL-27	III	STL-38	VII	STL-48	VII
STL-8	VII	STL-18	VII	STL-29	VII	STL-39	VII	STL-49	VII
STL-9	VII	STL-19	VII	STL-30	VII	STL-40	VII	STL-50	III
STL-10	VII	STL-20	III	STL-31	VII	STL-41	III	STL-51	III

表二：金黃色葡萄球菌凝固酶型別分佈比率

凝固酶型別	菌株數(比率)
I	0 (0%)
II	0 (0%)
III	14 (28%)
IV	0 (0%)
V	1 (2%)
VI	0 (0%)
VII	32 (64%)
VIII	3 (6%)

速胺阻害在比水解速，最想是用

Cho  
其中在  
tyl choli  
中磷酸或氨基  
Choline 傳送

通常 ace  
(AChE) 產

$(\text{CH}_3)_3\text{N}^+ \text{CH}_2$   
Acetyl  
 $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+ \text{CH}_2$   
choline  
主顯著作用之反應  
esterase 的表面作用  
Acetyl Cholinesterase  
反應非常迅速，  
Irreversible re

Anionic

$\text{O}_2\text{N}-$

酯與碘離子是以整個  
Esteric Site 發  
作用，具有弱的可逆

$(-) \text{ACh}$