

平成 26 年度に茨城県で集団下痢症事例から分離された *Campylobacter jejuni* の分子疫学解析

衛生研究所 ○木澤千里 相原義之 山本和則 増子京子

1 はじめに

カンピロバクター食中毒は近年日本および茨城県において最も多く発生している細菌性食中毒であり^{1),2),3)}、また、ギラン・バレー症候群などの重篤な疾病が統発するリスクがあると報告されている^{2),4)}ことから、喫緊の対策が求められている。その原因細菌は主に *Campylobacter jejuni* および *C.coli* であり、特に *C.jejuni* はヒトから分離されるカンピロバクター属菌の 97% を占めると報告されている⁵⁾。

カンピロバクター食中毒の特徴として、患者数の少ない散発事例が多く、潜伏期が長いために原因不明となることが多い^{2),6)}。これらの理由から、事例ごとの疫学的背景の関連性などは把握できないことが多い。そこで、平成 26 年度に茨城県で発生した集団下痢症事例から分離された *C.jejuni* 株間の近縁関係から事例間の関連性を解明するため、パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE 法) を用いた分子疫学解析を実施した。また *C.jejuni* の病原性と関連が示唆されている Penner 式血清型別⁷⁾を実施した。併せて、最も多く分離された血清型の菌株について、衛生研究所で平成 24 年度から蓄積してきたカンピロバクター属菌の PFGE 法による分子疫学解析などの情報をもとに、過去 3 年間の菌株の比較も行った。

2 材料および方法

(1) 材料

平成 26 年度に衛生研究所で集団下痢症事例に関する試験検査から分離された *C.jejuni* 162 株 (患者便由来 144 株, 参考食品由来 18 株) を用いた。

(2) 方法

カンピロバクター属菌の分離同定検査は食品衛生検査指針⁸⁾に従った。

PFGE 法は以下の方法で行った。菌液の調製は BHIA 培地 (42°C 24 時間, 微好気培養) に発育したコロニーをかきとり, MacFarland 5 程度になるよう PBS に混濁した。制限酵素は *Kpn I* を用いた。標準マーカーは *Salmonella Braenderup H9812* 株を用いた。電気泳動は 0.5×TBE buffer, 1% アガロースゲルを用い, CHEF-DR®III System (Bio Rad) システムで泳動条件は 6.0V/cm, 5.2 to 42.3sec, 19 時間, 14.0°C とした。バンドパターンは BioNumerics Ver6.6 (Applied Maths) を用いて解析した。系統樹の作成や血清型別結果の集計においては、重複を避けるために、同一検体由来で性状, PFGE パターンがともに一致した株については同一クローン株として集計から除外した。

C.jejuni の Penner 式血清型別は市販のカンピロバクター免疫血清「生研」(デンカ生研) を使用した。いずれの血清型にも凝集しない場合を untypable(UT) とした。

3 結果

(1) 平成 26 年度に発生した *C.jejuni* による集団下痢症事例について

過去 3 年間に茨城県で発生し、*C.jejuni* が分離された集団下痢症事例数について図 1 に示した。

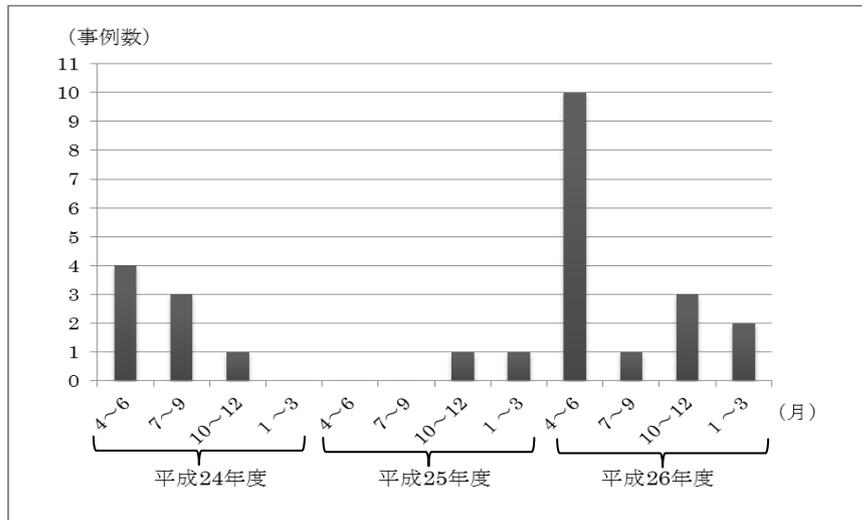


図 1 : *Campylobacter jejuni* が分離された集団下痢症事例数 (平成 24~26 年度, 茨城県)

また、平成 26 年度に県内で発生した事例の情報を表 1 に示した。平成 26 年度もほとんどの事例で原因食品が不明であったが、生あるいは加熱不十分の鶏肉、鶏刺し、鶏レバーなどを喫食していた事例が多かった。発生時期は 4 月から 6 月、10 月が多かったが、発生場所に共通点はみられなかった。

(2) PFGE 解析

PFGE 解析では同じ事例や関連性の高い事例由来の菌株間では高い相同性が認められ、逆に、異なる事例由来の菌株間では相同性が低い傾向となるが、平成 26 年度に発生した集団下痢症事例は PFGE 解析の結果、互いに関連性の低い散発事例が多いことが分かった。しかし、表 1 の事例 1, 5, 12, また事例 2, 10, 11 は異なる事例であるにも関わらず分離菌株が 90% 以上の高い相同性を示した。

(3) Penner 式血清型別

Penner 式血清型別の結果を図 2 に示した。血清型不明以外では血清型 HS15 が 16 株で、最も多く分離された。過去 3 年間で分離された血清型 HS15 株は平成 24 年度に 1 株、平成 25 年度に 5 株のみで、平成 26 年度は顕著に多く分離された。

(4) 過去 3 年間に当所で分離された血清型 HS15 株の PFGE 解析

平成 24 年度から平成 26 年度までに当所で分離された血清型 HS15 の *C.jejuni* 27 株について PFGE 解析をした結果を図 3 に示した。事例 1 および 5 から分離された菌株と事例 12 および平成 27 年 1 月に認定小規模食鳥処理場 Y から分離された菌株がそれぞれ 95% 以上の非常に高い相同性を示した。

4 考察

(1) PFGE 解析結果について

PFGE 解析により、異なる3つの事例から分離された菌株が相同性90%以上を示したクラスターが2つあったことから、これらの事例では何らかの共通点があることが推測された。しかし、発生時期や場所、喫食状況などの疫学情報からは、原因食品の多くが不明であることもあって、直接的な共通点を見出すことはできず、間接的な共通点が存在することを示唆するにとどまった。

(2) Penner 式血清型別結果について

平成26年度は血清型HS15株が多く分離された。血清型HS15株の分離率はアジアでは高い傾向にあるが世界的には低く、血清型HS15固有の病原性に関する報告は特にな⁹⁾。

県内で分離される *C.jejuni* の主要な血清型は過去3年間で毎年変化しており、ギラン・バレー症候群との関連が示唆されている血清型HS19株¹⁰⁾の分離率は今のところ低いが、今後も県内でみられる主要な血清型の変化や病原性にも注目して情報を蓄積していきたい。

(3) 過去3年間に当所で分離された血清型HS15株のPFGE解析結果について

過去3年間で当所において分離された血清型HS15株についてPFGE解析をした結果、同じHS15株の中でも、事例1および5から分離された菌株、また、事例12および平成27年1月に認定小規模食鳥処理場Yから分離された菌株がそれぞれ非常に高い相同性を示した。

事例1, 5, 12は生または加熱不十分の鶏肉を喫食したことが共通していた(表1)。うち、事例5が発生した飲食店は認定小規模食鳥処理場Yから食肉を仕入れており、また、事例12が発生した飲食店が食肉を仕入れていた県内の認定小規模食鳥処理場Oは、認定小規模食鳥処理場Yと共通の搬入元から食鳥を搬入することがあることが分かった。このことから、共通のクローン源を持つHS15株が茨城県において一時的に広がった可能性が推測された。

5 まとめ

平成26年度に茨城県で発生した集団下痢症事例の関連性を解明するため、当所で集団下痢症事例に関する試験検査から分離された *C.jejuni* 162株について、PFGE法による分子疫学解析およびPenner式血清型別を実施した。その結果、疫学的関連は不明だが異なる複数の事例から相同性の高い菌株が分離され、間接的な共通点の存在が示唆されたこと、また、平成26年度は血清型HS15株の分離率が顕著に高かったことが分かった。

過去3年間に当所で分離した *C.jejuni* 血清型HS15株のPFGE解析の結果、平成26年度は県内で共通のクローン源を持つHS15株が一時的に広がった可能性が推測された。

県内でみられる主要な血清型は年々変化しており、同じ血清型でもPFGE解析で多様な遺伝子型に分かれることから、今後も情報の蓄積と解析に努めたい。

6 参考文献

- 1) 厚生労働省: 食中毒統計調査(Website)
- 2) 仲西寿男ほか: 食品由来感染症と食品微生物(2009);中央法規出版:347-364
- 3) 茨城県 保健福祉部 生活衛生課 食の安全対策室: 食中毒発生状況(Website)
- 4) Jeremy H. Rees *et al.*: *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barre Syndrome. N. Engl. J. Med. 1995;333:1374-9
- 5) 国立感染症研究所感染症情報センター: 病原微生物検出情報 Vol.27(2006);167-175
- 6) Nathanon T.: *Campylobacter jejuni*: An emerging pathogen. S. J. Sci. Tec. 2003;25:141-157
- 7) Patricia G. *et al.*: *Campylobacter* polysaccharide capsules: virulence and vaccines. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 2012;vol.2(7):1-11
- 8) 社団法人秘本食品衛生協会: 食品衛生検査指針 微生物編 2004:225-235
- 9) Brian L. P. *et al.*: Global Distribution of *Campylobacter jejuni* Penner Serotypes: A Systemic Review. Ploss one 2013;Vol.8(6):e67375
- 10) Allos, B. M. *et al.*: *Campylobacter jejuni* strains from patients with Guillain-Barre syndrome. Emerg Infect Dis 1998;4:263-268

表 1: *Campylobacter jejuni* が分離された集団下痢症事例 (平成 26 年度, 茨城県)

事例番号	発生日	発生場所	患者数 (<i>C.jejuni</i> 分離者数) / 摂食者数	潜伏期/主な症状	原因食品 (推定)
1	2014/4/8探知	M市	5(2)/6	2日/発熱、吐き気、倦怠感、下痢など	2014/3/26に提供した食事 (レバー、ささみの串焼き) (レバー、ささみはほとんど生だった)
2	2014/4/14	TU市	15(4)/37	3日/腹痛、下痢、発熱	2014/4/11に提供した食事 (鶏刺しなど)
3	2014/4/20	KU市	6(0)/9 参考食品から <i>C.jejuni</i> 検出	1日/下痢	2014/4/19に提供した食事 生食したもの: 鶏刺し、鳥レバー
4	2014/4/28	H市	13(9)/312	不明/下痢(水様)、発熱	不明(施設内で調理した食事)
5	2014/5/4	TS市	4(4)/4	2日~/発熱、下痢	鶏ささみ焼(中心は生焼けだった)
6	2014/5/26	KM市	1(1)/1	3~1日/吐き気、下痢	生焼けのレバー (患者は5/22,23もレバー炙りを喫食)
7	2014/5/24	TK市	2(1)/4	3日/発熱、下痢、嘔吐、血便	2014/5/21に提供した食事 (焼き鳥、生焼けのレバー)
8	2014/6/4	H市	6(5)/12	3日/腹痛、下痢、発熱、頭痛	2014/6/11に提供した食事 (枝豆、棒々鶏サラダなど)
9	2014/6/1	TK市市	6(0)/21 参考食品から <i>C.jejuni</i> 検出	2日/下痢、腹痛、発熱	2014/5/29に提供した食事
10	2014/6/22	TU市	36(11)/61	不明/発熱、下痢、急性胃腸炎症状	不明(施設内で調理した食事)
11	2014/8/4	M市	4(1)/6	3日/下痢、発熱、倦怠感	不明(祭りの屋台で食べた食事)
12	2014/10/4	Y市	6(6)/38	2日/下痢、嘔吐	2014/10/2に提供した食事 (鶏刺し)
13	2014/10/11	TK市	3(1)/6	1日/下痢、腹痛、血便	2014/10/11に提供した食事 (鴨レバーの炙り、焼き鳥など)
14	2014/10/13	HN市	4(3)/4	2日/下痢、発熱、吐き気	2014/10/11に提供した食事
15	2015/2/13 ~18	H市	20(3)/81	不明/急性腹痛	不明(海外で食べた食事?)
16	2015/3/4探知	M市	複数名(1)/5	不明/下痢、発熱	不明

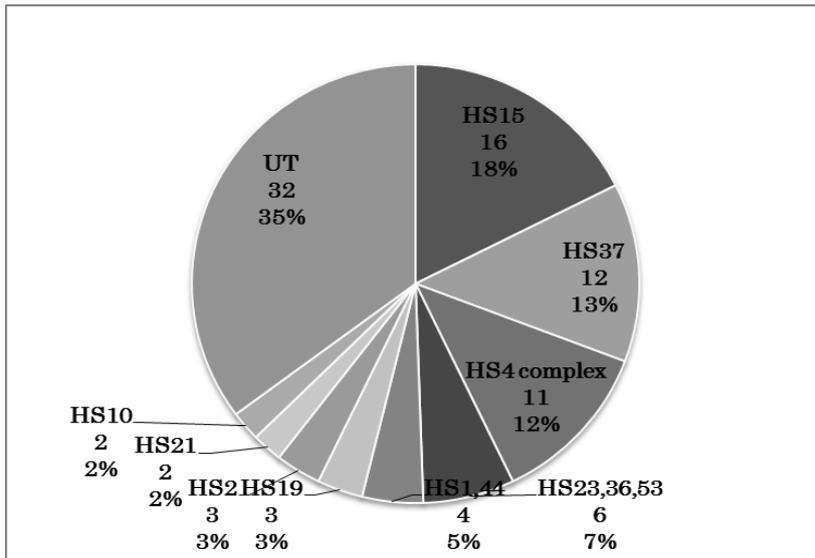


図 2 : Penner 式血清型別結果 (平成 26 年度, 茨城県, 集団下痢症事例由来株)
データは抗原因子, 分離菌株数, 割合の順に示した。

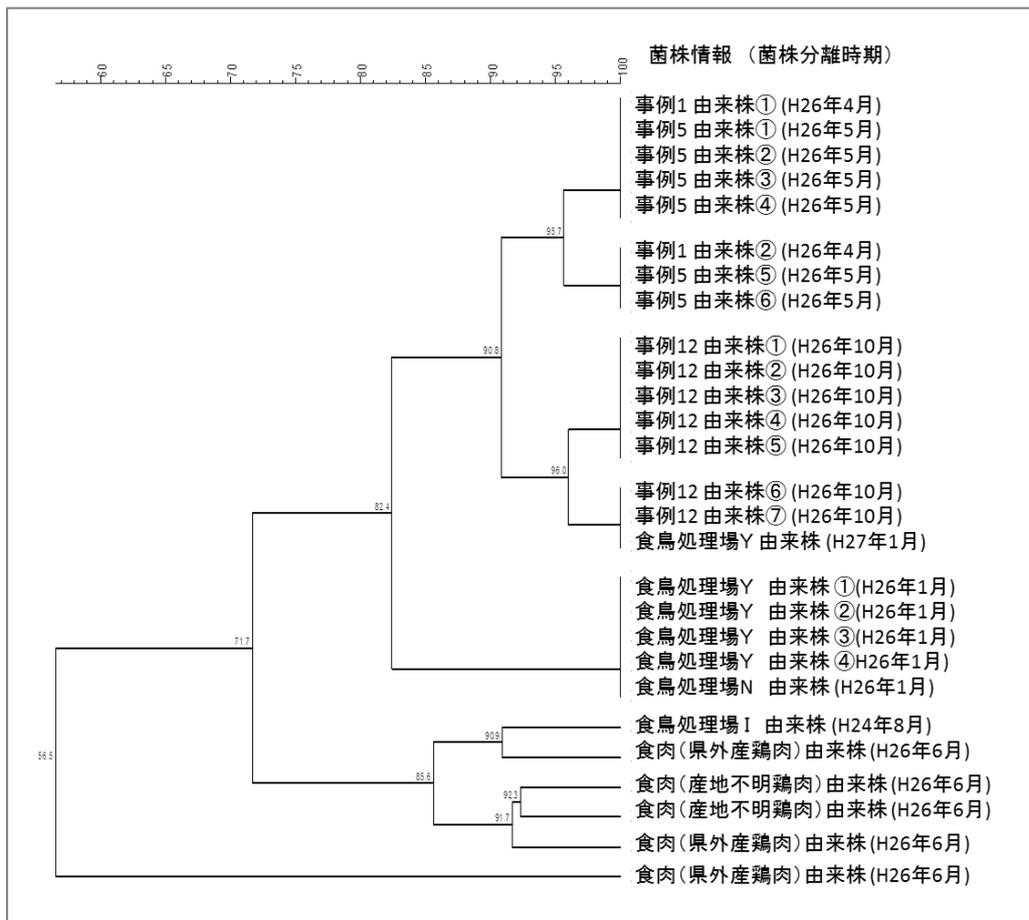


図 3 : HS15 株の PFGE 解析結果 (平成 24 年度~平成 26 年度, 茨城県)