

広島市の食中毒事例から分離された Penner0 群 *Campylobacter jejuni* 菌株の分子疫学検討

京塚 明美 田内 敦子*¹ 井澤 麻由*² 鈴木 康仁*¹
池田 伸代 清水 裕美子 青田 達明 千神 彩香
松室 信宏 石村 勝之

はじめに

広島市において平成26年5月～8月にかけて、カンピロバクターを原因とする集団食中毒事例等が例年に比べ多く発生した。このため、各事例から検出された *Campylobacter jejuni* (*C. j*) 分離菌株について血清型別、薬剤感受性試験及び遺伝子型別による疫学的検討を行ったので概要を報告する。

方 法

1 供試菌株

平成 26 年 5～8 月に発生した *C. j* 食中毒事例等 9 事例の患者由来 18 株、従事者由来 3 株、参考食品由来 13 株、スワブ由来 4 株の *C. j* 計 38 株及び平成 25 年以前の当所保存(過去保存)Penner0 群 *C. j* 4 株、平成 26 年医療機関提供散発下痢症由来 Penner0 群 *C. j* 17 株を供試した。

2 解析方法

(1) 血清型別

カンピロバクター血清型別用試薬(デンカ生研)を用いて Penner 法による型別を実施した。

(2) 薬剤感受性試験

6 種類の抗生物質 (EM, TC, NA, NFLX, OFLX, CPF)X) について、Sensi-Disc (BD) を用いた一濃度ディスク法 (CLSI 法) により実施した。

(3) 遺伝子型別

制限酵素 *Sma* I 及び *Kpn* I 消化によるパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法¹⁾ 及び鞭毛遺伝子 (*flaA*) の PCR-RFLP (*flaA*-RFLP) 法²⁾ を実施した。PFGE 泳動像は Fingerprinting II (Bio-Rad) を用いて UPGMA 法による系統樹解析を行い、両酵素とも類似度 90% 以上を示したものを同一型とした。*flaA*-RFLP 解析は PCR 産物の *Dde* I 切断パターンを比較した。

結 果

1 食中毒等 9 事例菌株の解析

*1: 現 健康福祉局保健部食品指導課

*2: 現 健康福祉局保健部食肉衛生検査所

表 1 に結果を示した。

血清型別では、PennerJ 群を示した事例 D と事例 G の 1 株を除き、Penner0 群及び型別不能 (UT) を示した。薬剤感受性は、事例 D 株と F 株及び事例 I の 1 株 (全てに感受性) を除き同一の感受性 (EM のみに感受性) を示した。PFGE 法では *Sma* I, *Kpn* I の組合わせで 7 種の PFGE 型に分類され、*flaA*-RFLP 法では 5 種類の切断パターンが認められた (図 1, 図 2, 図 3)。この 2 法の結果の組み合わせで 7 つの遺伝子型にグループ分けされた。

5～6 月に発生した 5 事例中 PennerJ 群の事例 D を除く 4 事例の *C. j* 株は、Penner0 群又は UT を示し、同一の薬剤感受性、同一の遺伝子型 Group1 に分類された。一方、7 月発生事例 G 由来の Penner0 群及び UT 株と 8 月発生事例 H, I の Penner0 群株は、5～6 月の分離株とは異なる同一遺伝子型 Group4 に分類された。

2 散発下痢症患者等由来 Penner0 群菌株の解析

結果を表 2, 表 3 に示した。

過去保存の Penner0 群株は、1 株が遺伝子型 Group4 に分類されたが他の 3 株は各々食中毒事例とは異なる、別々のグループに分類された。

平成 26 年散発下痢症由来 0 群株は、5・6・9 月分と株全てが遺伝子型 Group 1 に、8 月株の全てが遺伝子型 Group4 に分類された。

Penner0 群株は、*flaA*-RFLP 法では全て同一の切断パターン 1 を示した。

考 察

一連の異なる食中毒事例等から分離された *C. j* 菌株の多くが Penner0 群あるいは UT を示した。Penner0 群は例年それ程多くは検出されない血清群であるが、遺伝子型別の結果、多くの 5・6 月事例株と 7・8 月事例株とが類似する 2 種類の遺伝子型 (Group1 及び 4) に型別された。これらのグループに型別された UT 株と 0 群株が同一の *flaA*-RFLP パターンを示したことから、PennerUT 株は何らかの原因から 0 群抗原発現が減弱していることが考えられた。従って同一時期に発生した一連の食中毒事例は同一又は近縁

の0群株が関与した可能性が示唆された。一方、保健所の疫学調査では、食中毒原因施設の多くで同じ食鳥処理業者からの鶏肉原材料の取扱いを認めたことから、同一源からの鶏肉が一連の事例に関与した蓋然性が高く、予防的観点から同業者への行政対応が行われた。

平成26年は例年より多くの市内散発下痢症患者由来0群株が分離されており、これらを同様に解析した結果、食中毒事例と同一系統株と推定される0群株による散発下痢症が同時期に起こっていたことがわかった。

謝 辞

この調査にご協力いただきました医療機関及び保健所の関係各位に対し深謝いたします。

文 献

- 1) 八尋俊輔 他：厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」18 年度総括・分担研究報告書, 219～230 (2007)
- 2) Chuma T et al.: Analysis of Distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Broilers by Using Restriction Fragment Length Polymorphism of Flagellin Gene, J. Vet. Med. Sci, 59(11), 1011 ~ 1015 (1997)

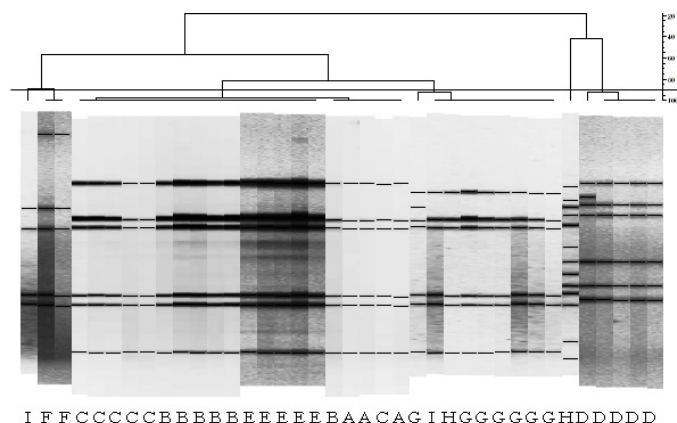


図1 制限酵素 *Sma* I による PFGE パターン
(集団食中毒事例等由来菌株)

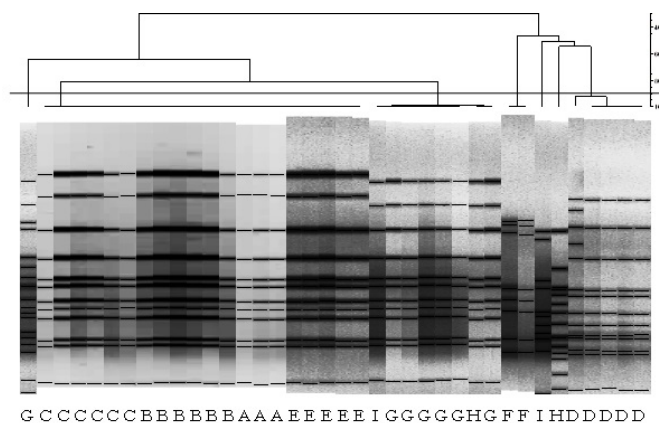
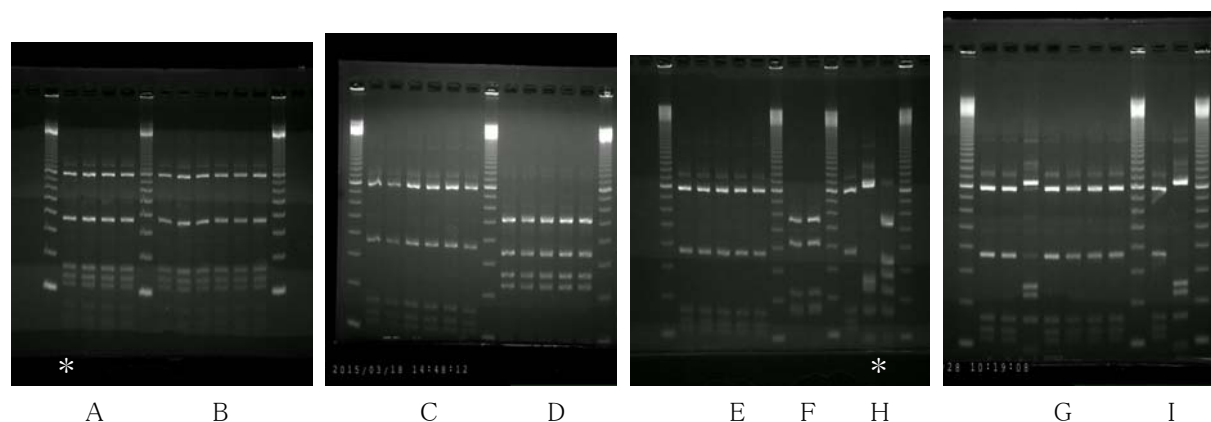


図2 制限酵素 *Kpn* I による PFGE パターン
(集団食中毒事例等由来菌株)



* : 本報告以外の検体

図3 *f/aA*-RFLP パターン
(集団食中毒事例等由来菌株)

表 1 集団食中毒事例等由来菌株検査結果

事例 (発生日)	由来	Penner 血清型	薬剤感受性試験						遺伝子解析			
			NFLX	OFLX	CPFX	NA	EM	TC	<i>Sma</i> I	<i>Kpn</i> I	<i>FlaA</i>	遺伝子型別
A (5月)	スワブ①	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	スワブ②	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	鶏肉	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
B (5月)	スワブ	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	鶏肉①	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	鶏肉②	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便①	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便②	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便③	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便④	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
C (5月)	スワブ	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	鶏肉	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者菌株①	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者菌株②	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者菌株③	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
D (6月)	患者便①	J	S	S	S	S	S	S	i	I	2	Group 2
	患者便②	J	S	S	S	S	S	S	i	I	2	Group 2
	患者便③	J	S	S	S	S	S	S	i	I	2	Group 2
	患者便④	J	S	S	S	S	S	S	i	I	2	Group 2
	従事者便	J	S	S	S	S	S	S	i	I	2	Group 2
E (6月)	鶏肉	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便①	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便②	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便③	O	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	従事者便	UT	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
F (7月)	鶏肉	UT	S	S	S	S	S	S	v	IV	3	Group 3
	患者便	UT	S	S	S	S	S	S	v	IV	3	Group 3
G (7月)	牛肉	UT	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	鶏肉①	UT	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	鶏肉②	O, Z6	R	R	R	R	S	R	iii	VII	4	Group 5
	鶏肉③	UT	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	患者菌株①	O	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	患者菌株②	O	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	患者菌株③	O	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
H (8月)	鶏肉	O	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	患者便	UT	R	R	R	R	S	R	ii	II	5	Group 6
I (8月)	鶏肉①	O	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	鶏肉②	UT	S	S	S	S	S	S	vi	III	4	Group 7

表 2 過去保存 Penner0 群 *C. j* 菌株検査結果

分離 (年月)	由来	薬剤感受性試験						遺伝子解析			
		NFLX	OFLX	CPFX	NA	EM	TC	<i>Sma</i> I	<i>Kpn</i> I	<i>FlaA</i>	遺伝子型別
2010. 01	患者便	R	R	R	R	S	S	iii	V	1	Group 4
2010. 02	患者便	R	R	R	R	S	S	iv	IV	1	Group 8
2010. 02	患者便	R	R	R	R	S	S	vii	IX	1	Group 9
2011. 08	患者便	R	R	R	R	S	S	iv	VIII	1	Group 10

表 3 平成 26 年散発下痢症患者由来 Penner0 群 *C. j* 菌株検査結果

受付月日	薬剤感受性試験						遺伝子解析			
	NFLX	OFLX	CPFX	NA	EM	TC	<i>Sma</i> I	<i>Kpn</i> I	<i>FlaA</i>	遺伝子型別
05. 02	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
05. 12	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
05. 20	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
05. 20	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
05. 28	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
05. 28	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
06. 06	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
06. 18	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
06. 18	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
06. 18	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
06. 18	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
06. 18	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
06. 18	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
08. 22	R	R	R	R	S	S	iii	V	1	Group 4
08. 22	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
08. 22	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
09. 16	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1