

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, CPFX)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Group1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O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O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O群株による散発下痢症が同時期に起こっていたことがうかがわれた。

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)

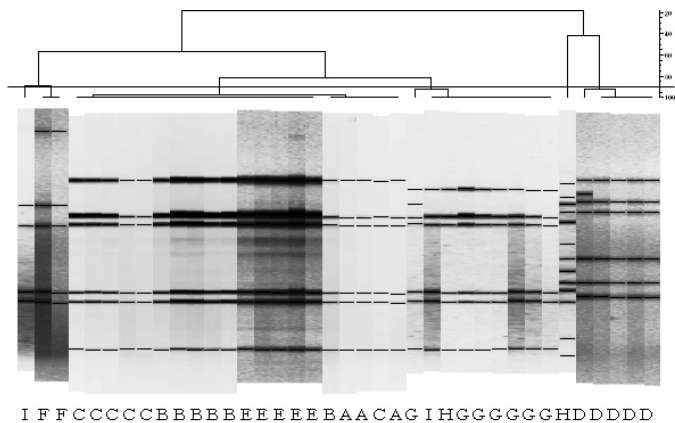


図1 制限酵素 *Sma* I による PFGE パターン (集団食中毒事例等由来菌株)

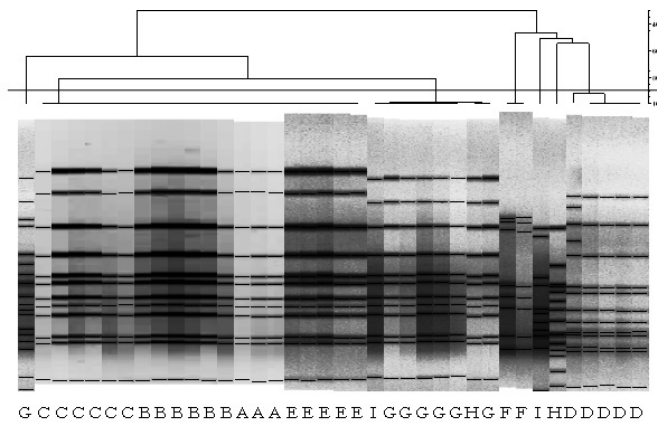
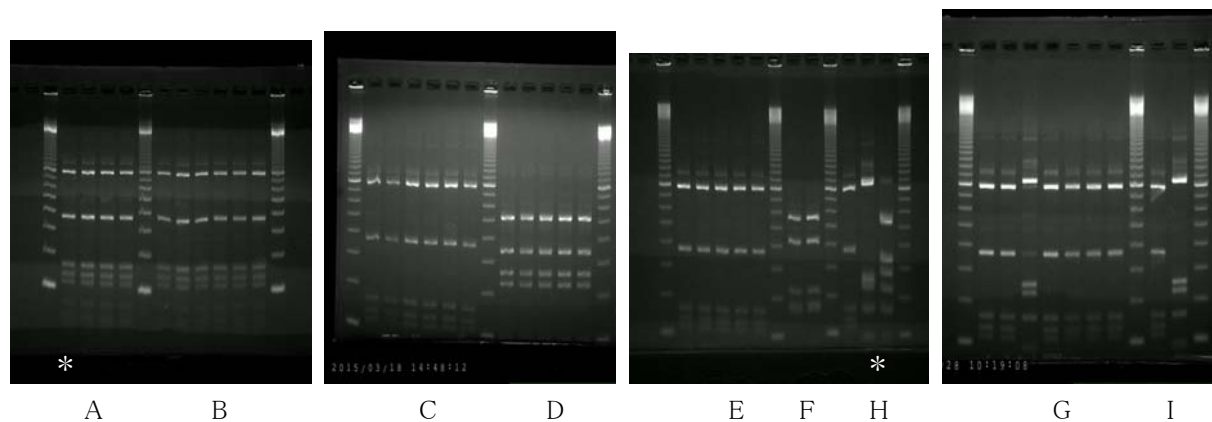


図2 制限酵素 *Kpn* I による PFGE パターン (集団食中毒事例等由来菌株)



* : 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	CPFY	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	0	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	0	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	0	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	0	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	0	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	0	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	0	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便②	0	R	R	R	R	S	R	iv	VI	1	Group 1
	患者便③	0	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	0, 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	0	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	患者菌株②	0	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
	患者菌株③	0	R	R	R	R	S	R	iii	V	1	Group 4
H (8月)	鶏肉	0	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	0	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