

資料

*Campylobacter jejuni*の血清型別調査(1989~1998年)

佐々木 実己子\*, 小川 博美

**Serological Survey of the *Campylobacter jejuni* Isolated from Cases of Sporadic and Outbreaks, 1989-1998**

MIKIKO SASAKI\* and HIROMI OGAWA

(Received Sept. 28, 2001)

*Campylobacter jejuni*の疫学的マーカーとしての血清型別システムの確立は、国内では1980年代から始まり日が浅い。そこで1989-1998年の10年間にわたり県内や中国、四国ブロックで収集された菌株について血清型別調査を実施し血清型別法の有用性や流行血清型の推移、Pennerシステムとの比較、薬剤感受性などについて検討した。

- 1) Lior型別による散発由来973株の型別結果は、297株が型別不能(UT型)で、676株が27血清型に型別(69.5%)された。高頻度分離型は、LIO4型、LIO2型、LIO27型、LIO1型であった。
- 2) Lior型別による集団事例由来の232株は20血清型に型別され、型別率は84.1%(195/232)を示した。高頻度分離血清型はLIO4型、UT型、LIO11型、LIO7型、LIO2型、TCK1型であった。
- 3) Pennerシステムによる型別結果では散発由来株709株の575株が21血清型に型別され、型別率は81.1%(575/709)であった。最も多く分離されたものはB型(25.7%)、O型(22.4%)、D型(13.4%)、G型(8.7%)、R型(4.2%)であった。
- 4) 供試した266株の薬剤感受性は114株(42.9%)が感受性を示したが、152株(57.1%)が耐性を示した。なかでも多剤耐性菌が97株(36.5%)を占めた。

キーワード：カンピロバクター、Penner血清型別、Lior血清型別

はじめに

*Campylobacter jejuni*(*C.jejuni*)は1938年アメリカでミルクによる集団下痢症の原因菌として初めて報告され、その後1972~1980年分離培養法、特に微好気培養の実用化によって分離症例や多方面に渡る研究が進んだ[1-3]。

国内では1979年に東京都で最初の集団事例が報告され、その後各地で大規模な集団発生が報告された[4-6]。国内においても検査方法の確立に伴い腸管感染症の原因菌として検査が進められ、本菌は散発下痢症においてもサルモネラと並んで主要な原因菌であることが明らかになった[7, 8]。

厚生省は1982年食中毒原因菌として*Campylobacter jejuni/coli*を追加指定した[9, 10]。本菌の血清型別は世界的には加熱抗原に基づくPennerの血清型別システムと易熱抗原に基づくLiorの血清型システムが開発されてきた[11, 12]。しかし、国内では本菌の疫学的マーカー

が未確立のためその分布、生態、発生事例での有効な疫学的調査はなされていなかった。そこで東京都衛生研究所を中心にLior血清型別システムによる型別検討委員会及び「カンピロバクター血清型別リファレンス・サービス事業」がスタートした。そこで我々は1989年から広島県、四国ブロックのLiorシステムによるリファレンスセンターとして本菌の血清型別事業に参加した。調査は臨床由来株を中心に型別率から血清型別法の有用性、地域での流行血清型の推移、流行株の薬剤感受性の変化を明らかにし、本菌の動向把握と発生予防への基礎データを得る目的で以下の調査を実施した。

材料及び方法

1989年~1998年の10年間、当センターに寄せられた集団事例株(22事例232株)、散発下痢症由来株(973株)を供試した。供試菌株はSkirrow血液寒天培地で再分離し、

\*広島県広島地域保健所：Hiroshima Prefectural Hiroshima Community Health Center

常法によりオキシダーゼ(+),カタラーゼ(+),43℃発育(+),馬尿酸塩加水分解(+),ナリジクス酸(30μg)感受性,セファロシン(30μg)感受性等の基本性状から*C.jejuni*と確認された株を供試した[11].抗原菌液の調整は供試菌株を普通寒天培地で37℃48時間,微好気培養し,発育した菌体を0.3%ホルマリン加生理食塩水0.5mlに浮遊させ抗原液としスライド凝集反応で型別した.Lior血清型別血清は東京都衛生研究所を中心とした型別検討委員会で分担し,自家作製した混合I~IVに含まれる30種の血清型別用免疫血清を使用した[13].1993年以降は国内でもPennerシステムによる診断用血清(デンカ生研)が市販されたので両システムを併用し比較検討した.Pennerの血清型別は血液寒天平板に42℃48hr微好気培養した菌体を使用説明書に準じてPHA反応により型別を行った.

1997~1998年収集株の中から266株についてキノロン系薬剤,ノルフロキサシン(NOR10),オフロキサシン(OFX5),シプロキサシン(CIP5),ナリジクス酸(NA30)およびテトラサイクリン(T30)について薬剤感受性試験を実施した.菌株をBHIブイヨンで培養後,その菌液をミューラヒントン寒天培地平板(Oxoid)に塗抹し,センシディスク(BBL)を置き2日間微好気培養後,阻止円を測定するK-B法による.

## 結果及び考察

### 1) 散発由来株の血清型別

Liorシステムによる散発由来973株の型別結果を表1に示した.供試株のうちUT型(型別不能)297株を除く676株が27血清型に型別された.その中で10年間の高頻度分離型は,①LIO4型142株(21.0%),②LIO2型,72株(10.7%),③LIO27型46株(6.8%),④LIO1型43株(6.4%)及び⑤LIO7型40株(5.9%)であった.型別率は年度により異なり30.4~88.2%で全期間では69.5%(676/973)を示した.(表1)

流行菌型であるLIO4型,LIO2型,LIO1型,LIO7型はいずれの期間からも分離されたが,LIO17型,LIO7型は調査した後半に増加傾向を示した.これらの成績はカンピロバクター血清型レファレンスグループの全国調査とも一致した成績であった[13].型別率は調査年度により異なるが全期間では70%であり,疫学マーカーとしての有用性が認められた.

### 2) 集団事例株の血清型別

22事例由来の232株は20血清型に型別され,型別率は84.1%(195/232)を示した.高頻度分離血清型は①LIO4型6事例89株,②UT型6事例37株,③LIO11型2事例

表1 年度別Lior血清型別結果(散発由来株;1989~1998年)

	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	総計
LIO1			11	3	1	3	6	2	6	11	43 (4)
LIO2	7	1	13	9	9	6	7	6	4	10	72 (2)
LIO4	10	7	21	3	31	20	12	3	14	21	142 (1)
LIO5			1	1	1		3	2		4	12
LIO6	6		2		1		2	2			14
LIO7	3	1	4	1	2	1	11	4	1	12	40 (5)
LIO9	1	1		2	4	5	1	2		2	18
LIO10										2	2
LIO11	3		4		3		4	1	3	6	24 (7)
LIO17					1	2		2	4	11	20
LIO18			2								2
LIO19									1	1	2
LIO22			1								1
LIO26		1	1			1				1	4
LIO27		2				2	10	12	10	10	46 (3)
LIO28	7	2		1	8	2		1	3	5	29 (8)
LIO30	2	1	2		1		2		1	2	11
LIO33										4	4
LIO36	4	3		1	2	1	5	1	2	6	25
LIO49	1			2			1				4
LIO50	14		1			1	1		1	11	29 (8)
LIO60		2						1			3
TCK1	1	4	10	4		1	2	1	9	6	38 (6)
TCK12	1	5	2		3	2		1	3	2	19
TCK13	6		1			1	2	1		4	15
TCK26										1	1
複数型	17	1	2			2	11		5	12	50 (6)
UT	13	6	17	5	9	42	38	96	17	54	297
総株数	96	37	95	38	76	92	118	138	84	199	973
型別率	86.5%	83.8%	82.1%	86.8%	88.2%	54.3%	67.8%	30.0%	79.8%	72.9%	69.5%

注:( )内は分離頻度順位

表2 集団事例株の血清型別

	1989	1990	1991	1996	1997	総計
LIO1	3					3
LIO2	8		1			9
LIO4	9	17	63			89
LIO5	1					1
LIO6	2					2
LIO7			16			16
LIO9	1					1
LIO11	26		1			27
LIO26	1					1
LIO27	2					2
LIO28					1	1
LIO36	4					4
LIO54	2					2
TCK1			6		2	8
TCK12	7					7
TCK13	1					1
TCK21	2					2
TCK24	6					6
TCK26	1					1
複数型					12	12
UT	4	1	2	30	0	37
総株数	80	18	89	30	15	232
事例数	10	1	6	2	3	22
型別率	95.0%	94.4%	97.8%	0%	100%	84.1%

27株, ④LIO7型2事例16株, ⑤LIO2型5事例9株及び⑥TCK1型3事例8株であった。(表2)

1事例当たりの分離血清型数は, 単一血清型8事例, 2血清型10事例, 3血清型3事例, 4血清型1事例と集団事例の場合は, 複数の血清型が分離される傾向が認められた。集団事例においても散発事例と同様にLIO4型(6事例)が最も多く, ついでLIO2型(5事例), TCK1型(3事例)であった。型別率は全体で84.1%と散発由来株に比較して高い値を示した。同一集団例から2~3血清型が分離されることから, 本菌食中毒の場合1検体当たり10株以上について血清型別が必要と考えられる。

### 3) Penner血清型システムによる型別

PHA反応によるPenner血清型別結果を表3に示した。供試株709株の内, UT型134株を除く575株が21血清型に型別された。最も多く分離されたものは①B型148株(25.7%), ②O型129株(22.4%), ③D型77株(13.4%), ④G型50株(8.7%)及び⑤R型24株(4.2%)であった。型別率は74.9~86.4%で全期間では81.1%(575/709)を示した。(表3)このようにPennerシステムによる型別ではB型, O型, D型が大部分(61.5%)を占めた。なかでもGuillain-Barré症候群の原因血清型であるO型(19)が多く分離されたのは注目される[15]。型別率はLiorシステムに比較して高い結果を示した。これはPennerシステムは加熱処理した比較的安定した抗原を用いて免疫血清が作成されることによると考えられた。(表3)

### 4) LiorシステムとPennerシステムの血清型の関連性

同一株について両システムで型別した成績では, 次の結果がえられた。まず, Lior型からPenner型を比較する

表3 Penner型別による血清型別

	1993	1994	1995	1996	1997	1998	総計
A(*1)	1	1	1	0	4	9	16
B(2)	39	34	17	12	16	30	148
C(3)	3	3	5	5	2	6	24
D(*2)	4	4	15	23	7	24	77
E(5)	2	1	0	0	0	0	3
F(6,7)	1	1	3	11	5	2	23
G(8)	7	4	17	15	0	7	50
I(10)	0	0	0	0	0	1	1
J(11)	1	2	0	2	1	2	8
K(12)	0	3	2	2	0	4	11
L(15)	0	0	0	1	8	4	13
N(18)	1	1	0	1	0	2	5
O(19)	2	6	26	44	16	35	129
P(21)	0	2	0	0	0	4	6
R(*3)	0	2	7	2	1	12	24
U(31)	0	6	3	2	1	0	12
Y(37)	2	0	2	1	4	5	14
Z4(45)	0	0	1	0	0	0	1
Z5(52)	0	1	0	0	0	0	1
Z6(55)	0	1	0	0	0	0	1
複数型	2	4	0	0	0	2	8
UT	11	16	19	19	19	50	134
総株数	76	92	118	140	84	199	709
型別数	65	76	99	121	65	149	575
型別率	85.8%	82.6%	83.9%	86.4%	77.4%	74.9%	81.1%

\*1; 抗原因子 A(1, 44)  
\*2; 抗原因子 D(4, 13, 16, 43, 50)  
\*3; 抗原因子 R(23, 36, 53)

と, LIO4型→B型(35/35株), LIO27型→O型(19/20株), LIO17型→O型(10/11株), LIO1型→D型(13/17株)及びTCK1型→L型(16/18株)であり, UT型67株の40株(59.7%)がPennerの9血清型に型別された。逆に, PennerからLior型を比較するとD型→LIO1型(13/31株), B型→LIO4型(35/46株), O型→LIO17型(14/35株)及びO型→LIO27型(19/51株)が対応した。LIOUT型65株の内38株(58.5%)がPenner型別では15血清型に型別された。

### 5) 薬剤感受性試験

1997年76株, 1998年190株の266株の薬剤感受性試験結果を表4に示した。全体では114株(42.9%)が供試薬剤に感受性を示したが, 152株(57.1%)が耐性を示した。なかでも多剤耐性菌が97株(36.5%)で増加傾向を示している。(表4)

薬剤感受性についてはカンピロバクター血清型レファレンスグループの報告とよく一致し, 日本でもニューキノロン系抗生剤, とくにオフロキサシン(OFX)に対する耐性菌の増加が認められる[14]。さらに, 今回NA耐性菌が37.2%(99/266株)認められた。このことからNA感受性試験は*C.jejuni*の鑑別性状項目であったが, もはや*C.jejuni*の絶対的項目とはなりえないことを意味しており, 鑑別に留意する必要がある。

### ま と め

日本でのカンピロバクターの血清型別は, リファレンスグループがLior血清型別システムにより疫学的調査に

表4 薬剤感受性試験結果

耐性薬剤名	1989		1999		計	
	菌株数	%	菌株数	%	菌株数	%
全薬剤感受性	37	48.7	77	40.5	114	42.9
NA		0.0	2	1.1	2	0.8
TC	13	17.1	40	21.1	53	20.0
NA, NFX		0.0	2	1.1	2	0.8
NA, NFX, OFLX, CPMX	11	14.5	38	20.0	49	18.4
NA, NFX, OFLX, CPMX, TC	15	19.7	31	16.3	46	17.3
計	76	100.0	190	100.0	266	100.0

NA;ナリジクス酸 CPMX;シプロキサシン  
 NFX;ノルフロキサシン TC;テトラサイクリン  
 OFLX;オフロキサシン

成果を上げてきた。その後、1993年からPennerシステムによる診断用血清(デンカ生研)が供給されて、本菌の疫学的調査はさらに発展してきた。両システムの有用性の比較は、術式としてはLiorシステムがスライド凝集法で簡便であるが、一方で型別率や安定性でPennerシステムが優れ、両システムはそれぞれの特性を有している。

次にLiorシステムとPennerシステムの血清型の関連性については、一定の関連性のある血清型も認められるが、両者の規則的な関連性は認められなかった。両システムでUT型の場合、相対するシステムで型別すると60%近くが型別可能であることが認められた。

薬剤感受性の変化については、耐性菌の増大傾向もあり、継続的で迅速なモニタリングと医療機関への有効な情報提供が重要と考えられる。

### 謝 辞

本研究は厚生省科学技術研究補助事業としての「カンピロバクター血清型別システムの開発に関する研究」とその後のレファレンス事業の結果をまとめたものである。調査に当たり散发下痢症由来株の収集に御協力をいただいた広島市医師会検査センターの諸先生方に謝意を表します。

### 文 献

[1] Dekeyser, P., Gossuin-Detrain, M., Butzler, J.P. et al. (1972): Acute enteritis due to related *Vibrio*: first positive stool cultures. *J.Infect.Dis.*, 125(4), 390-392.  
 [2] Butzler, J.P., Dekeyser, M., Detrain, M. et al. (1973): Related *Vibrio* in stools. *J.Pediatr.*, 82(3), 493-495.  
 [3] Skirrow, M.B. (1977): *Campylobacter* enteritis: a "new" disease. *Br.Med.J.*, 2(6078), 9-11.  
 [4] 伊藤 武, 齋藤香彦, 柳川義勢ら (1979): 東京都内の保育園で発生した *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* による集団下痢症. *東京都衛研年報*, 30-1, 1-6.

[5] 伊藤 武, 齋藤香彦, 柳川義勢ら (1984): 1979~1981年間に東京都内で発生した *Campylobacter jejuni* による15事例の集団下痢症に関する調査. *感染症誌*, 57(7), 576-586.  
 [6] 長尾章郎 (1984): カンピロバクターおよび病原大腸菌に汚染された井戸水による集団食中毒について. *食品衛生研究*, 34(1), 17-36.  
 [7] 吉崎悦郎, 神木照雄, 坂崎利一ほか (1983): 散发性 *Campylobacter* 腸炎に関する調査研究. *感染症誌*, 56(12), 153-1159.  
 [8] 国立感染症研究所 (1993): カンピロバクター腸炎 1990~1992. *病原微生物検出情報*, 14(7), 143-144.  
 [9] 厚生省環境衛生局 (1982): ナグビブリオ, カンピロバクター等の食品衛生上の取扱いについて. *環食第59号* (昭和57年3月11日).  
 [10] 伊藤 武, 齋藤香彦, 高橋正樹 (1984): カンピロバクターについて. *食品と微生物*, 1(1), 16-24.  
 [11] Lior, H., Woodward, D.L., Edgar, J.A. et al (1982): Serotyping of *Campyrobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *J.Clin.Microbiol.*, 15(5), 761-768.  
 [12] Penner, J.L. and Hennessy, J.N. (1980): Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens. *J.Clin.Microbiol.*, 12(6), 732-737.  
 [13] Ito, T., Saito, K., Yanagawa, Y. et al. (1982): Serological typing of thermophilic *Campylobacters* isolated in Tokyo. *Campylobacter*. *Epidemiology, Pathogenesis and biochemistry* (in ed. Newell, D.G.) MTP press, Lancaster, 106-110.  
 [14] 国立感染症研究所 (1999): カンピロバクター腸炎 1995~1998. *病原微生物検出情報*, 20(5), 107-110.  
 [15] 結城伸泰 (1993): *Campylobacter jejuni* と Guillain-Barré 症候群. *メデイヤサークル*, 38 (6), 193-199.