

〔短 報〕

湧水に起因したカンピロバクター食中毒

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部

緩 詰 沙 耶・城 座 美 夏・中 村 幸 子
北 川 恵 美 子

〔和文要旨〕

2023年8月、石川県において湧水に起因したカンピロバクター食中毒が発生した。患者及び従事者の糞便、原因施設が使用していた湧水（原水）から *C. jejuni* が検出され、血清型別、遺伝子解析の結果から、湧水は複数の血清型、遺伝子型の *C. jejuni* で汚染されていたことが確認された。本事例のカンピロバクター検査においては、改良Penner PCR型別法による血清型別試験及びmP-BIT法による遺伝子解析を実施し、これらの有用性が確認できた。

キーワード：カンピロバクター、食中毒、湧水、Penner 遺伝子型、mP-BIT

本報の一部は以下で発表した。

第97回日本細菌学会

2024年8月8日 北海道

第45回日本食品微生物学会学術総会

2024年9月6日 青森県

第26回腸管出血性大腸菌感染症研究会/第17回日本カンピロバクター研究会

2024年11月19日 茨城県

1 はじめに

カンピロバクター属菌はグラム陰性らせん状桿菌で、34～43℃、微好気（酸素濃度：5～10%）下で発育する¹⁾。ニワトリ、ウシ等の家きんや家畜をはじめ、ペット、野鳥、野生動物など多くの動物が保菌しており、ヒトに感染すると、2～5日程度の潜伏期間の後、下痢、腹痛、発熱、頭痛などの症状を引き起こす¹⁾。また、神経疾患であるギラン・バレー症候群の発症との関連が指摘されている¹⁾。

カンピロバクター属菌による食中毒は国内で発生している細菌性食中毒の中で、発生件数が最も多く²⁾、患者から分離されるカンピロバクター属菌の95%以上は *Campylobacter jejuni*（以下、*C. jejuni*）である¹⁾。主な原因食品は、生や加熱不足の鶏肉である¹⁾が、水も感染源の一つであり、野生動物等を介した河川や湧水の汚

染、ヒトや家畜の糞便による井戸水の汚染が発生要因としてあげられる¹⁾。

本稿では、2023年8月に石川県で発生した湧水に起因したカンピロバクターによる食中毒事例の概要と分離菌株について実施した改良Penner PCR型別法による血清型別試験及びmultiplex PCR binary typing（以下、mP-BIT）法による遺伝子解析結果について報告する。

2 事例概要

2023年8月16日、県内の飲食店を利用した別々の2グループ（それぞれ8月11日、8月12日に利用）から、下痢等の消化器症状を呈している旨の連絡が管轄保健所にあった。調査の結果、8月11～17日に当該飲食店を利用した1,298名のうち、892名が消化器症状（下痢、嘔吐、嘔気、腹痛）又は発熱の症状を有していたことから当該飲食店（以下、施設）に起因する食中毒が疑われた。

Campylobacter food poisoning caused by spring water. by YURUZUME Saya, SHIROZA Mika, NAKAMURA Sachiko and KITAGAWA Emiko(Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Campylobacter, Food poisoning, Spring water, Penner genotype, mP-BIT

潜伏期間と症状別の患者数をそれぞれ図1と表1に示す。患者の多くはカンピロバクター感染による潜伏期間及び症状と一致しており、患者及び従事者の糞便（以下、糞便）から *C. jejuni* が検出された。また、施設で使用する水（以下、使用水）の水源としていた湧水（原水）からも同菌が検出され、当時、塩素注入装置を稼働させていなかった。加えて、施設が提供した飲食物を喫食したこと以外に患者の共通点が見られなかった。これらのことから、本事例は湧水を使用した飲食物を原因食品、*C. jejuni* を病因物質とする食中毒と判断された。なお、本事例は、平成以降に県内で発生した食中毒患者数としては最多であった。

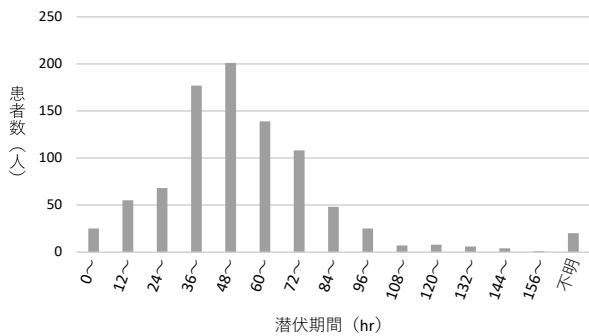


図1 潜伏期間別患者発生状況

表1 症状別の患者数

症状*	下痢	発熱	嘔吐	倦怠感	嘔気	頭痛	腹痛	その他
患者数	849	693	123	107	94	154	556	98
(%)	(95.2)	(77.7)	(13.8)	(12.0)	(10.5)	(17.3)	(62.3)	(11.0)

※症状は重複あり

3 検査方法

3・1 施設使用水の水質基準検査（細菌検査項目）

8月16日に施設の厨房シンク、外手洗い、イワナプールの水栓から採取した水3検体について、管轄保健所にて水道法に基づく水質基準検査方法³⁾に準じ、一般細菌数及び大腸菌の検査を実施した。

3・2 カンピロバクターの分離と同定

(1) 糞便

採取できた患者の糞便4検体、従事者の糞便12検体について、mCCDA培地（OXOID社製）を用いた直接分離培養（42℃、24～48時間、微好気）とプレストン培地（OXOID社製）を用いた増菌培養（42℃、24～48時間、微好気）を実施した。増菌培養後は、培養液1白金耳をmCCDA培地に塗抹し42℃で24～48時間微好気培養した。

(2) 湧水（原水）及び使用水

検査対象は、施設が使用していた湧水（原水）及び施

設の給水設備末端の水栓から採取した使用水の2検体で、いずれも8月18日に採水した。なお、事例を探知した8月16日には、保健所から消毒装置を稼働するよう指導している。

方法は全量3Lの検水を1Lずつ孔径0.2μmのポリカーボネートメンブレンフィルター（ADOVANTEC社製）でろ過濃縮し、それぞれのフィルター1枚をプレストン培地10mLに入れ、3つの増菌培地を42℃で24～48時間微好気培養した。その培養液1白金耳をmCCDA培地に塗抹し42℃で24～48時間微好気培養した。

(3) 同定試験

(1) 及び(2)から、mCCDA培地上に発育したカンピロバクターを疑う集落を釣菌し、DNA抽出を行い、Wintersら⁴⁾及びLintonら⁵⁾のプライマーを用いたマルチプレックスPCRで同定した。

3・3 分離菌株の血清型別試験及び遺伝子解析

(1) 血清型別試験

3・2(3)で *C. jejuni* と同定された分離株について今野ら⁶⁾の改良Penner PCR型別法による血清型別試験を実施した。

(2) 遺伝子解析

血清型別試験において同一血清型と判定された分離株についてYamadaら⁷⁾のmP-BIT法による遺伝子解析を行った。

4 結果

4・1 施設使用水の水質基準検査（細菌検査項目）

厨房シンク、外手洗い、イワナプール水栓いずれの検体からも大腸菌が検出された。一般細菌数については、厨房シンクは590CFU/mL、外手洗いは490CFU/mL、イワナプール水栓は400CFU/mLといずれの検体も基準の100CFU/mLを超えていた。なお、8月16日の採水時に厨房シンクで残留塩素は検出されなかった。

4・2 カンピロバクターの分離と同定

(1) 糞便

患者の糞便4検体中3検体、従事者の糞便12検体中5検体から *C. jejuni* が検出された。

(2) 湧水（原水）及び使用水

湧水（原水）は全量3Lの検水を1Lずつ集菌し、それぞれに増菌培養を実施した3つの増菌液全てから *C. jejuni* が検出された。一方、使用水（保健所の指導により消毒実施済）からは *C. jejuni* は検出されなかった。

4・3 分離菌株の血清型別試験及び遺伝子解析

(1) 血清型別試験

糞便及び湧水（原水）から分離された *C. jejuni* それぞれ2～13コロニーについて血清型別試験を実施した

結果, gB群, gD群, gB群とgD群の3つの検出パターンがみられた(表2)。

表 2 血清型別結果

検体		血清型 (供試コロニー数)	
湧水 (原水)		gB 群 (13)	gD 群 (2)
糞便	P1	gB 群 (6)	
	P2		gD 群 (2)
	P3		gD 群 (2)
糞便	W1	gB 群 (3)	
	W2	gB 群 (3)	
	W3		gD 群 (2)
	W4	gB 群 (3)	gD 群 (6)
	W5		gD 群 (2)

P1 ~ 3 : 患者, W1 ~ 5 : 従事者

(2) 遺伝子解析

mP-BIT法による遺伝子解析の結果を表3に示す。血清型gB群については、糞便及び湧水(原水)から分離された菌株のmP-BITパターンは一致していた。一方、血清型gD群については一致していなかった。

5 考 察

(1) 湧水の汚染

本事例にて、糞便及び湧水(原水)から分離された*C. jejuni*の血清型はgB群とgD群であり、国内でカンピロバクター感染の腸炎患者から多く検出される血清型¹⁾であった。また、遺伝子解析(mP-BIT)の結果、血清型gB群については、糞便と湧水(原水)の菌株は一致していた。加えて、他県在住の患者から分離された*C. jejuni*についても、血清型gB群であり、当センターで分離された菌株のmP-BITパターンと一致していた旨、カンピロバクターレファレンスセンター(愛知県衛生研

究所)から情報提供があった。一方、血清型gD群については、mP-BITパターンに一致が見られなかったことから、湧水は複数の血清型、遺伝子型の*C. jejuni*で汚染されていたことが確認された。カンピロバクター食中毒では同一事例から複数の血清型の菌が分離される¹⁾ことが知られており、本事例も同様であったと思われるが、湧水の汚染源は不明である。

(2) 施設の衛生管理上の問題

保健所による立入検査の結果、今回の食中毒が発生した背景として、施設使用水(湧水)の衛生管理上の問題が指摘されている。

当該施設は例年、夏期のみなど期間を限定して営業を行っていたが、その年の営業開始にあたり、湧水の水質検査を実施していなかった。また、営業開始後においても使用水の消毒を行っておらず、客に提供する食品をまかないとして喫食等していた従事者の体調に異変がみられなかったため、未消毒のまま使用を継続していた。(1)及び(2)より、本事例は*C. jejuni*に汚染された湧水を使用した飲食物を喫食したことが原因で患者数892名にのぼる大規模な食中毒が発生したと考えられた。

(3) 血清型別試験及び遺伝子解析

本事例で分離された*C. jejuni*の血清型別試験においては、今野ら⁶⁾の改良Penner PCR型別法を用いた。改良Penner PCR型別法は、従来の受身血球凝集反応による血清型別法に比べ型別率が高い⁶⁾ことが利点である。ギラン・バレー症候群はO群など特定の血清型との関連性が高いとされており¹⁾、型別率の高い改良Penner PCR型別法による血清型別試験は*C. jejuni*感染症のサーベイランスにおいて重要であると考えられる。

また、分離された*C. jejuni*の遺伝子解析ではYamada⁷⁾らのmP-BIT法を使用した。mP-BIT法は特定の18遺伝子の有無を2系統のマルチプレックスPCRで検出し、*C. jejuni*を識別する方法である。従来使用していた*C. jejuni*の分子疫学解析法の一つである

表 3 mP-BIT法による遺伝子解析結果

血清型	検体	標的遺伝子																mP-BIT score			
		CJE 1500	CJE 1733	virB8/comB1	Cj1135	Cj1136	cfrA	Cj0265	maf5/pseE	Cj0008	cgtA	tetO	flgE2	gmhA2	Cj1321	wlaN	panB		Cj0423	Cj0122	hipO
gB 群	湧水 (原水)	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	15-55
	糞便 P1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	15-55
	W1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	15-55
	W2	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	15-55
	W4	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	15-55
gD 群	湧水 (原水)	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	10-48
	糞便 P2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	4-288
	P3	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	4-288
	W3	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	4-288
	W4	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	4-288
W5	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	4-288	

P1 ~ 3 : 患者, W1 ~ 5 : 従事者

pulsed-field gel electrophoresis（以下、PFGE）法と比べ、迅速かつ簡便な手技で解析が可能である。本事例でも、多数の菌株の解析を比較的少ない労力で実施することができた。また、PFGE法では困難であった他機関で行った解析結果の照合が可能であり、本事例の他県の患者から分離された菌株と当センターで分離した菌株の一致を確認することができた。これらのことから、カンピロバクター検査において改良Penner PCR型別法による血清型別試験及びmP-BIT法による遺伝子解析が有用であることが確認できた。

6 まとめ

- (1) 2023年8月に石川県において湧水を使用した飲食物を原因食品、*C. jejuni*を病因物質とする食中毒が発生した。本事例は患者数が892名にのぼる大規模な食中毒事例となった。
- (2) 糞便及び湧水（原水）から*C. jejuni*が分離され、血清型はgB群、gD群であり、国内でカンピロバクター感染の腸炎患者から多く検出される血清型であった。また、湧水は複数の血清型、遺伝子型の*C. jejuni*で汚染されていたことが確認された。
- (3) カンピロバクター検査において改良Penner PCR型別法による血清型別試験及びmP-BIT法による遺伝子解析が有用であることが確認できた。

疫学調査、水質基準検査、患者及び従事者糞便のカンピロバクター検査を行った管轄保健所職員に深謝いたします。また、改良Penner PCR法による血清型別の陽性コントロールを分与していただいた山本章治先生（国立感染症研究所細菌第一部）、他県で分離された*C. jejuni*について情報提供いただいたカンピロバクターレファレ

ンスセンターの山田和弘先生（愛知県衛生研究所）に深謝いたします。

文 献

- 1) 横山敬子, 高橋正樹: 食品由来感染症と食品微生物, 347-364, 中央法規出版 (2009)
- 2) 厚生労働省: 食中毒統計資料, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoushoku_hin/syokuchu/04.html, 2024年8月15日
- 3) 厚生労働省告示第216号: 水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法, 令和5年4月1日
- 4) Winters,D.K., Slavik,M.F.: Evaluation of a PCR based assay for specific detection of *Campylobacter jejuni* in chicken washes, **9**, 307-310 (1995)
- 5) Linton,D., Lawson,A.J., Owen,R.J., Stanley, J.: PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrhetic samples, *J Clin Microbiol*, **35**, 2568-2572 (1997)
- 6) 今野貴之, 山田和弘, 赤瀬悟, 坂田淳子, 尾羽根紀子, 森美聡, 横山敬子, 山本章治, 朝倉宏: 国内の *Campylobacter jejuni* 血清型別に対応した改良 Penner 型別法, *日本食品微生物学会雑誌*, **38** (3), 123-128 (2021)
- 7) Yamada,K., Ibata,A., Suzuki,M., Matsumoto,M., Yamashita,T., Minagawa,T., Kurane,R.: Designing multiplex PCR system of *Campylobacter jejuni* for efficient typing by improving monoplex PCR binary typing method, *J Infect Chemother*, **21**, 50-54 (2015)