

高校で発生した *Campylobacter jejuni* による 集団発生事例について

植松香星 柳本恵太

A case of Traveler's Diarrhea Caused by *Campylobacter jejuni*
on the High School in Yamanashi Prefecture

Kosei UEMATSU, Keita YANAGIMOTO

キーワード: *Campylobacter jejuni*, traveler's diarrhea, PFGE, Lior 6, Penner F群

Campylobacter jejuni 及び *C. coli* は、1982年に厚生省が食中毒原因菌の1種として指定されて以来、各地で本菌による食中毒、散発下痢症が多く発生している¹⁾。その発生件数は、細菌性食中毒の中では、首位を占めており²⁾、今後の発生状況が注目される。

国内のカンピロバクターによる集団発生は、1979年東京都内の保育園における集団発生が最初である³⁾。

山梨県内では、1983年の事例が最初である。県内の施設が原因と推定され、東京都において患者の菌検索がされた事例であった。

以後、県内の主な事例については、1986年の学生寮⁴⁾、2005年の飲料水によるものがあり⁵⁾、その事例については、年報に報告されている。

今回は、高校生の海外修学旅行による事例で、分離株の血清型が一致した事例を経験したので報告する。

事例の概要

平成24年3月13日、某高校の養護教諭から「3月6日から10日のシンガポール海外修学旅行に参加した生徒の中で、3月13日から消化器症状と発熱で学校を休ん

でいる生徒が複数確認されている。」という連絡が中北保健所にあった。

3月9日から3月14日にかけて腹痛、下痢、発熱の症状で最終的に38名の患者発生があった。修学旅行中の食事や飲料水が原因と疑われ保健所での調査が開始された(表1)。

方法

1 疫学調査

患者の発生状況、症状、修学旅行中の喫食調査、原因と疑われた食品の調理状況等については、保健所の聞き取り調査等によった。

また、現地の患者発生状況や調理状況については、保健所が旅行業者を通じて調査を行った。

2 検査材料

平成24年3月14日から3月19日までに保健所が当研究所に搬入した糞便26検体(無症状2名を含む)を用いた。内訳は、生徒25名及び職員1名であった。

3 検査方法

定法に従い原因菌の検索を行った⁶⁾。

C. jejuni の同定については、糞便を mCCDA 培地に塗抹し、48時間微好気培養後に生じた疑わしいコロニーについて PCR を行った。コロニーからの遺伝子抽出は、煮沸法により行い、*Campylobacter*(*cdt* gene) PCR Detection and Typing Kit⁷⁾(タカラバイオ)を使用し PCR を行った。遺伝子の増幅は、Perkin-elmer/cetus DNA Thermal Cycler を用いた。増幅産物の検出は、2%アガロース電気泳動法により行い *cdtB* プライマーで 714bp の大きさに、*cdtC* プライマーで 524bp の大きさに増幅された場合を陽性とした。

表1 某高校食中毒疑い事例の概要

発生年月日	平成24年3月10日
修学旅行参加者	1学年 95名
患者数	38名
共通食品	修学旅行中の食事
原因食品	不明
原因物質	<i>C. jejuni</i>
渡航先	シンガポール・インドネシア (ピンタン島)
渡航日	3月6日~3月10日

なお、腸管凝集付着性大腸菌については、小林ら⁸⁾の方法を参考とした。

ただし、PCR 試薬については、Ready-To-Go の代わりに TaKaRa Taq (タカラバイオ) を用いた。

細菌検査以外にウイルス検査 (ノロウイルス、サポウイルス、アイチウイルス、アストロウイルス、エンテロウイルス、ロタウイルス、アデノウイルス) 及び原虫検査 (ランブル鞭毛虫、クリプトスポリジウム属) を同時に行った。

4 血清型別試験

分離された菌株の Lior 型及び Penner 型の血清型別について、東京都健康安全研究センターに依頼した。

5 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、分離された *C. jejuni* 14 株について行った。

使用薬剤は、ノルフロキサシン (NFLX)、オフロキサシン (OFLX)、シプロフロキサシン (CPFX)、ナリジクス酸 (NA)、テトラサイクリン (TC) 及びエリスロマイシン (EM) の 6 剤である。

6 パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)

方法は、国立感染症研究所の New Protocol に準拠した。制限酵素は、*Kpn* (40u/100 μl) を用い 37 で DNA を切断させた。

泳動装置は、CHEF-DR (Bio-Rad) を用い泳動条件は、スイッチタイムを 6.8 秒から 38.4 秒、6V、14、18 時間泳動した。

泳動後、エチジウムブロマイド染色し撮影を行った。

結 果

1 疫学調査結果

保健所の調査で患者が 38 名であり、そのうち 1 名が医療機関に入院していることが判明した。38 名の主な症状は、腹痛、下痢及び発熱でそれぞれの発現率を表 2 に示した。発現率の最も高い症状は、腹痛の 89.5%、次いで下痢の 81.6% であった。腹痛、下痢の発現率が高いことから腸管感染症が強く疑われる状況であった。

発症曲線を図 1 に示した。帰国時の 3 月 10 日から 15 日まで患者発生が見られ、12 日がピーク (10 名) であった。

旅行行程を表 3 に示した。基本的に食事については、シンガポール市内の宿泊先ホテルや市内のレストランである。7 日は、班別行動をしており、各自で昼食をとっている。8 日のインドネシア、ピンタン島では、島内ホテルの夕食及び 9 日の朝食、ホテルが調製したランチボックスを喫食していた。9 日の昼食は、シンガポール市

内のレストランであり、夕食は市内観光組は、市内のレストランで喫食しており、ナイトサファリ組については、サファリ内のレストランで喫食している。6 日及び 10 日の機内食を含めランチボックス以外は、他の団体も喫食しているが、患者発生の報告は、無かった。

保健所では、他団体への提供状況が不明であった 8 日のピンタン島のホテルが調製したランチボックスについて調査した。

食品の内訳は、ハムサンド、チキンサンド、BLT サンド、ケーキ、アイス、ジュース、ミネラルウォーター、お菓子であり、発症者と非発症者の有意差は、認められなかった。

サンドイッチ原材料のパン、ハム、チーズは、ホテルの宿泊客 518 名が朝食で同じものを喫食しており、ハムサンド及びチキンサンドも同じキッチンで製造されたものがホテル内のカフェで販売されていることが調査で判明した。ホテルの他の利用者について患者発生の情報は、無かった。

現地の水についても生徒から聞き取り調査をしたが、発症者と非発症者との有意差は、無かった。

2 検査結果

糞便 26 検体について細菌検査を行った結果、14 検体から *C. jejuni* が検出された。血清型は、14 株全て Lior 6 型、Penner F 群であった。

薬剤感受性試験の結果は、14 株のうち 13 株については、使用した 6 剤について全て感受性であった。残る 1 株については、NFLX、OFLX、CPFX、NA の 4 剤が耐性であった。

また、1 検体から *C. jejuni* 以外に腸管凝集付着性大腸菌 O15:H2 が検出された。

なお、ウイルス及び原虫検査結果は、全て陰性であった。

また、分離された *C. jejuni* のうち保存状況が良好であった 13 株について制限酵素 *Kpn* を用いた PFGE を行ったところ、全ての株において同一パターンを示した (図 2)。

なお、NFLX、OFLX、CPFX、NA の 4 剤が耐性株は、レーン 8 である。

考 察

今回の事例は、県内高校の海外修学旅行による患者 38 名の事例であった。他の学年での発症が無いことやカンピロバクターの潜伏期間が平均 2 日から 3 日であることから国内での感染は考え難かった。発症曲線が一峰性であることと、血清型、PFGE のパターンが一致していることから同一時期に同一クローンによる感染の可能性が考えられた。キノロン系耐性株が 1 株分離されたことから、

表2 有症者の症状及び症状別人数

症状	症状あり	症状なし	発顕率 (%)
腹痛	34	4	89.5
下痢	31	7	81.6
発熱	25	13	65.8
悪寒	13	25	34.2
吐き気	7	31	18.4
嘔吐	1	37	2.6

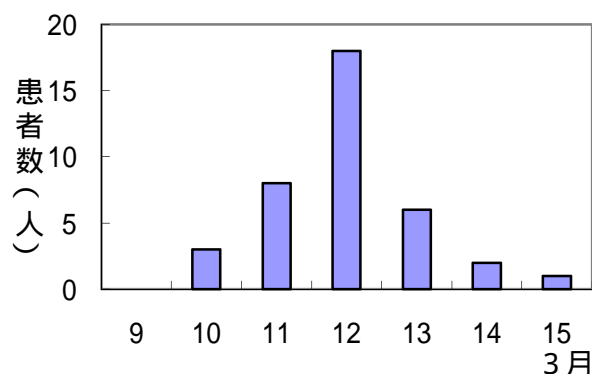


表3 修学旅行行程及び食事状況

月日	行程
3月6日	成田空港発 昼食：機内食 シンガポール着 夕食：市内レストラン (タイ式しゃぶしゃぶ)
3月7日	シンガポール市内 朝食：ホテル(バイキング) 昼食：班別自由行動 夕食：市内レストラン(海鮮中華)
3月8日	シンガポール発 インドネシア ビンタン島着 朝食：シンガポール市内ホテル (バイキング) 昼食：ビンタン島内ホテルで調製 ランチボックス ハムチーズサンド 50名 チキンサンド 50名 (BLTサンド、ケーキ、アイス、ジュース、ミネラルウォーター、お菓子は、共通食) 夕食：ビンタン島内ホテル(バイキング)
3月9日	インドネシア ビンタン島発 シンガポール着 朝食：ビンタン島内ホテル(バイキング) 昼食：シンガポール市内レストラン(飲茶) 夕食：市内レストラン (市内観光組、中華バイキング) ナイトサファリレストラン (ナイトサファリ組、バイキング) シンガポール発
3月10日	成田空港着 朝食：機内食

図1 日別患者発生数

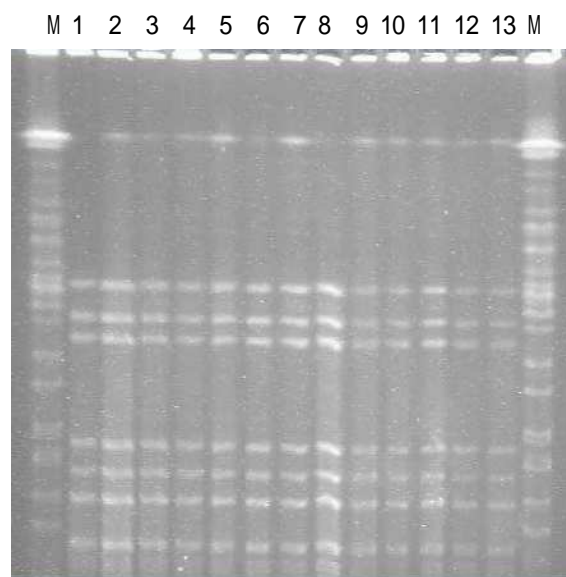


図2 患者由来13株のPFGEパターン(Kpn)
M: マーカー、*Salmonella* Braenderup H9812
レーン1~13: 患者株

現地の血清型別流行状況や薬剤耐性率について、興味あるところである。

カンピロバクターの潜伏期間が長いことと海外での感染であり、原材料や飲用した水についての検査が出来なかったことから原因食品や水についての特定は出来なかった。

PFGE に用いる制限酵素は、できるだけ多くのバンドが生じるよう *Sma* や *Kpn* がよく用いられることから⁹⁾、今回の事例において当初 *Sma* を用いたが、1,135bp 付近のバンドが1本生じただけで同一クローンか否かの判断が出来なかった。分離菌株に適した制限酵素を選択することが重要である。

近年、海外への修学旅行が一般的となってきている。海外渡航の前には、渡航先の感染症流行状況を把握し、感染予防の知識を習得することが必要である。

謝 辞

最後に *C. jejuni* の血清型別をしていただいた東京都健康安全研究センターの横山敬子先生及び疫学調査をしていただいた山梨県中北保健所衛生課の諸氏に深謝いたします。

参考文献

- 1) 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 31, 7～11 (2010)
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課：食中毒統計, 平成23年 (2011)
- 3) 伊藤武ら：東京衛研年報 30-1, 1～6 (1979)
- 4) 金子通治ら：山梨衛公研年報 31, 30～33 (1987)
- 5) 大沼正行ら：山梨衛公研年報 49, 24～27 (2006)
- 6) 厚生省監修：微生物検査必携細菌真菌検査, 第3版, 日本公衆衛生協会, 東京 (1987)
- 7) Masahiro, A. et al.: Development of a cytolethal distending toxin (*cdt*) gene-based species-specific multiplex PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter fetus*, FEMS Immunol. Med. Microbiol., 52, 260-266 (2008)
- 8) 小林一寛ら：感染症誌 76, 911～920 (2002)
- 9) 横山敬子ら：食品由来感染症と食品微生物, 347～364, 中央法規 (2009)