

*Campylobacter jejuni*における血清型別法について

Campylobacter jejuni(以下 *C. jejuni*)は、細菌性散発下痢症や食中毒の重要な原因菌であり、都内では、細菌性食中毒の内、本菌による食中毒事例数が最も多く、平成17年以降11年連続で第1位となっている。その疫学的検査手法として、サルモネラや病原性大腸菌などと同様に血清型別法が用いられている。平成28年度より、当センターから報告する *C. jejuni* の血清型別法・表記法を変更するため、その背景について概説したい。

1. 血清型別法の経緯

1977年、イギリスの Skirrow らにより、ふん便から *C. jejuni* を分離するための優れた選択分離培地が考案された。それ以降、世界各国で本菌に関する調査研究が行われ、下痢症起因菌として広く認識されるようになった。一方、本菌の血清型別法についても異なるシステムによる多くの研究報告がなされてきたが、相互の型別試験成績の比較ができないという問題点から、国際的な統一システム構築が望まれ、1981年 *Campylobacter* 国際型別委員会が設立された。その後、1985年、カナダのオタワで開催された本委員会において、統一システム移行にあたり、当面、*C. jejuni* 血清型別法として「スライド凝集反応法による Lior 法」及び「受身血球凝集反応法による Penner 法」の2種類が採択・承認された。

2. わが国における *C. jejuni* 血清型別システム

C. jejuni の腸管系病原菌としての重要性は、我が国においても諸外国と同様に、1978年頃より散発下痢症の原因菌として注目され始め、1979年には東京都において、初めて集団事例が確認された¹⁾。こうした事例を受けて原因食品の推定や汚染経路の調査に活用するための血清型別システムの開発が急務となっていた。そのため、8カ所の地方衛生研究所(秋田県、東京都、愛知県、大阪府、神戸市、広島県、山口県、熊本県)から成るワーキンググループが結成され、東京都立衛生研究所で独

自に開発された *C. jejuni* 血清型別法(TCK法)を基に型別法の評価並びに血清型の分布状況について調査を進め、その有用性を示すデータを蓄積し公表してきた。

しかし、上述の国際型別委員会による勧告以後、ワーキンググループでは血清型別法をTCK法と手法が酷似し、WHO(世界保健機構)も推奨した Lior 法に移行せざるを得ない状況になった。そこで、これまでの調査研究の成績を踏まえて、Lior 法血清型標準株26種に加えて、わが国に高頻度に分布するTCK法血清型標準株の4種計30種による型別血清セットを分担作製し、これまでと同様な調査研究を継続することにした。その型別血清のセット内容は表1に示した。一方、Penner 型別用抗血清については、神戸市環境保健研究所を中心として検討され、1993年に「カンピロバクター免疫血清」として25種類の型別血清から構成される製品が市販された。製品内容は表2に示した。

表1. Lior 法による *C. jejuni* 型別用抗血清*

混合Ⅰ	LIO 1	LIO 4	LIO 10	LIO 18	LIO 30	TCK 1
混合Ⅱ	LIO 2	LIO 11	LIO 15	LIO 33	LIO 39	LIO 49
混合Ⅲ	LIO 5	LIO 6	LIO 7	LIO 19	LIO 22	LIO 50
混合Ⅳ	LIO 9	LIO 26	LIO 28	LIO 36	LIO 53	LIO 60
混合Ⅴ	LIO 17	LIO 27	LIO 54	TCK 12	TCK 13	TCK 26

*ヒトから分離される頻度が高い30血清型

表2. Penner法によるカンピロバクター免疫血清と抗原因子

血清群	抗原因子
A群	1, 44
B群	2
C群	3
D群	4,13,16,43,50
E群	5
F群	6,7
G群	8
I群	10
J群	11
K群	12
L群	15
N群	18
O群	19
P群	21
R群	23,36,53
S群	27
U群	31
V群	32
Y群	37
Z群	38
Z2群	41
Z4群	45
Z5群	52
Z6群	55
Z7群	57

市販品添付文書より

3. Lior 法と Penner 法の術式概要

(1) Lior 法: 菌体表面に存在する鞭毛抗原や K 抗原様物質などの易熱性抗原の免疫学的特異性により型別する方法である。C. jejuni, C. coli, C. lari を対象に 118 種類の血清群に分類されている。本法は、ホルマリン処理抗原によるウサギ免疫血清を作製後、原法では同種免疫株の 100℃, 2 時間加熱菌による吸収操作を行い、次いで異種免疫株抗血清相互の類属反応を吸収し因子血清を作製するものである²⁾。ただし、この内、加熱菌による吸収操作は再現性が立証されず、実際には、この操作は省略している。術式は簡易なスライド凝集反応法である。市販血清は無い。

(2) Penner 法: 耐熱性の菌体抗原 (LOS: Lipooligosaccharide、または K 抗原様物質である PS: Polysaccharide) を標的抗原として型別する方法である。1989 年当初、Penner らは、耐熱性抗原を O1~O65 に分類し、後に C. jejuni 40 血清群、C. coli 17 血清群として報告している。現在、それらの内、C. jejuni 25 種の血清群が市販されている。市販品の型別法は、原法による加熱抽出³⁾とは異なり、亜硝酸抽出法により耐熱性抗原を抽出するものである。また抗原感作についても、原法のヒツジ生血球の代わりに固定ヒヨコ血球を用いている。術式は受身血球凝集反応 (PHA; passive hemagglutination) 法で、操作的には煩雑である。

4. Lior 法および Penner 法による C. jejuni 血清型

成績

2012~2014 年に病原体レファレンス事業により、当センターに搬入された散発下痢症患者由来 C. jejuni 293 株の血清型につき、両法での型別率を比較した(表3)。

表3. Lior法 および Penner法 の血清型別率の比較 (2012~2014年)

	Lior 法		Penner法	
	菌株数	(%)	菌株数	(%)
型別可能	202	(68.9)	146	(49.8)
複数血清	5	(1.7)	2	(0.7)
型別不能(UT)	86	(29.4)	145	(49.5)
計	293	(100)	293	(100)

Lior 法では、C. jejuni 293 株中 202 株(68.9%) が型別可能であり、複数の型別血清に反応した株は 5 株(1.7%)、型別不能株は 86 株(29.4%)であった。これに対して Penner 法では、型別可能株 146 株(49.8%)、複数の型別血清に反応したものは 2 株(0.7%)、型別不能株 145 株(49.5%)、であった。上記に示した様に、性能、操作性の面から Lior 法は利便性のある型別法ではあるが、市販血清がないことが大きなネックとなり、普及し得ない状況にあった。そのため、カンピロバクターの Lior 法型別用血清は 1989 年以来、地方衛生研究所の協働で作製してきた。しかし、近年の地方衛生研究所の頻繁な人事異動、マンパワー不足等の事情により、診断用血清を自家調製することは困難となってきた。

一方、Penner 法にも多くの問題点が残されているが、市販品があることが大きな利点となり、本法による型別法を採用する施設が多くなっている。また、国際的な論文でも、本法よるものが殆どである。以上の状況から、当センターにおいても平成 28 年度より行政上 Penner 法を採用することに至った。

表4に、両法で実施した血清型別成績を示した。LIO1 に型別された株が、Penner 法では A 群、B 群、C 群、D 群の 4 菌型に分れる等、両法を組み合わせることでより詳細な解析結果が得られた。この手法は理想的であるが、そのためには、サルモネラや赤痢菌のように詳細な抗原解析を行い、新たなシステムの構築が必要である。また近年、Molecular Serotyping と称して、血清型関与抗原の合成遺伝子を PCR 法で検出し、型別する手法が、大腸菌、サルモネラ、赤痢菌、コレラ菌などで応用されている。C. jejuni についても、Penner 法での PS 合成遺伝子による手法が報告されてきており⁴⁾、遺伝子解

析分野のさらなる進歩が、有用かつ標準的な *C. jejuni* 血清型別法の開発につながると期待される。

(微生物部 横山 敬子)

参考文献

1) Itoh, T. et al. (1980): An outbreak of acute enteritis due to *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* at a nursery school. *Microbiol. Immunol.*,24,371-379.
 2) Lior, H. et al.(1982): Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *J. Clin.*

Microbiol., 15,761-768.

3) Penner, JL. et al. (1980): Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens. *J. Clin Microbiol.*, 12, 732-737.

4) Poly, F. et al. (2015): Updated *Campylobacter jejuni* capsule PCR multiplex typing system and its application to clinical isolates from south and southeast asia. *PloS ONE*.10(12), e0144349.

表4. Lior法 および Penner法 の *C. jejuni* 血清型別成績 (2012~2014年)

Lior 型	株数	Penner 型
LIO 1	13	A群, B群, C群, D群, UT
LIO 2	1	UT
LIO 4	69	B群, D群, G群, L群, Y群, UT
LIO 5	7	R群, UT
LIO 6	1	F群
LIO 7	11	D群, O群, UT
LIO 9	1	E群
LIO 10	10	G群, L群, UT
LIO 11	15	D群, R群, UT)
LIO 15	2	P群
LIO 17	1	D群
LIO 18	2	Z6群
LIO 19	2	UT
LIO 22	0	
LIO 26	4	UT
LIO 27	0	
LIO 28	9	Y群, UT
LIO 30	0	
LIO 33	2	A群
LIO 36	12	C群, UT
LIO 39	0	
LIO 49	9	G群
LIO 50	1	UT
LIO 53	0	
LIO 54	1	UT
LIO 60	1	UT
TCK 1	22	D群, L群, B/L群, UT
TCK 12	5	J群, UT
TCK 13	0	
TCK 26	1	D群
LIO1/LIO30	1	UT
LIO6/LIO50	2	F群, UT
LIO18/LIO19	1	UT
LIO28/LIO36	1	UT
UT	86	A群, B群, C群, D群, L群, O群, P群, R群, S群, F/O/Z6群, UT
合計	293	

表1 検査機関別検査件数及び病原菌検出状況

2016年2月分

検査機関名	検査件数	病原菌検出状況													
		コレラ菌		赤痢菌					チフス菌	パラチフスA菌	その他のサルモネラ	腸管出血性大腸菌	その他*	合計	
		O1, O139	O1, O139以外	A	B	C	D	計							
千代田区千代田保健所	307														
中央区保健所	968														
港区みなと保健所	86														
新宿区保健所	25													1	1
文京区保健所保健サービスセンター 本郷支所	94														
台東区台東保健所	54													7	7
墨田区保健所	1318														
江東区深川南部保健相談所	103														
品川区保健所検査室	100											1			1
目黒区碑文谷保健センター	1687														
大田区保健所	0														
世田谷区世田谷保健所	91													2	2
渋谷区保健所															
中野区保健所	0														
杉並区衛生試験所	1377 (3)														
豊島区池袋保健所															
北区保健所	1601														
荒川区保健所	175														
板橋区保健所	27														
練馬区保健所	4842											11		4	15
足立区衛生試験所	669											1			1
葛飾区保健所	0														
江戸川区保健所	3580											2	2	2	6
小計	17104 (3)											14	3	16	33
島しょ保健所大島出張所															
島しょ保健所三宅出張所	77														
島しょ保健所八丈出張所	115														
島しょ保健所小笠原出張所	64														
小計	256														
健康安全研究センター	542 (2)											1	2	28	31
小計	542 (2)											1	2	28	31
合計	17902 (5)											15	5	44	64

() : 海外旅行者分再掲

* : 表2参照

表2 病原微生物検出状況(全国及び東京都)

菌 種 名	全国 (2016年1月分)		東京都 (2016年2月分)		
	地研・保健所		健康安全 研究センター	島しょ・区 検査機関	民間登録 衛生検査所
大腸菌	33		2	3	497
毒素原性					
組織侵入性					
病原血清型	3				
腸管出血性	26		2	3	
その他・不明	4				497
赤痢菌	2				1
A群					
B群	1				1
C群					
D群	1				
その他・不明					
チフス菌					
パラチフスA菌					
その他のサルモネラ	8	(1)	1	14	14
O4	1			7	5
O7	2		1	4	3
O8	4				
O9					4
その他	1	(1)		3	2
不明					
エルシニア・エンテロコリチカ	2				
エルシニア・シュードツベルクローシス					
コレラ菌 (O1)					
コレラ菌 (O139)					
コレラ菌 (O1, O139以外)					
腸炎ビブリオ					
その他のビブリオ					
エロモナス					53
プレジオモナス・シゲロイデス					4
カンピロバクター	39		6		196
黄色ブドウ球菌	8			6	133
A型ウエルシュ菌	6		22		58
ボツリヌス菌					
リステリア・モノサイトゲネス	1				
セレウス菌					
淋菌					32
クラミジア・トラコマチス					
髄膜炎菌					2
レンサ球菌 (A群)	17				332
レンサ球菌 (B群)					2345
レンサ球菌 (CまたはG群)	2				
レンサ球菌 (その他)					518
肺炎球菌	12				1174
ジフテリア菌					
百日咳菌	2				
インフルエンザ菌	3				
レジオネラ	1			3	3
肺炎桿菌					
結核菌	26				
非結核性抗酸菌					
マイコプラズマ	1				
レプトスピラ					
赤痢アメーバ					1
マラリア					
その他				7	
合計	163	(1)	31	33	5363

() : 海外旅行者分のうち、全国は別掲、東京都は再掲

全国の数字は「病原微生物検出情報」(国立感染症研究所)より引用
民間登録衛生検査所の集計値は、LSIメディエンス株式会社の協力による

表3 性感染症検査成績

2016年2月分

東京都健康安全研究センター

区 分	梅毒検査		クラミジア検査				淋菌遺伝子検査	
			抗体検査		遺伝子検査			
	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性
保健所*	182	6	57	18	130	7	59	0
東京都南新宿検査・相談室	322	16						
計	504	22	57	18	130	7	59	0
累計(2016年1月～)	1004	50	130	31	301	17	160	0

保健所* : 当センターで検査した区または都保健所検体の合計

梅毒検査** : TPLA 法と RPR 法にてスクリーニングを行い、TPHA 法・TPLA 法中和試験にて特異性を確認した。

区及び島しょ保健所

	梅毒血清反応			クラミジア抗体				
	検査件数	STS法 陽性	TP抗原法 陽性	検査件数	陽性件数	内訳		
						IgA 抗体陽性	IgAIgG 抗体陽性	IgG 抗体陽性
男	60	0	0	34	3	0	1	1
女	40	0	0	29	6	0	3	3

表4 都内性感染症病原体定点医療機関から送付された検体の細菌検査成績

2016年2月分

東京都健康安全研究センター

検査項目		検査数	検出数	検査材料	臨床診断名
クラミジア	トラコマチス	遺伝子	32	7	陰部擦過物/分泌物、 尿道炎、淋菌性尿道炎 クラミジ ア膣炎/細菌性膣炎
ナイセリア	淋菌	遺伝子	32	8	陰部擦過物/分泌物、 尿道炎、淋菌性尿道炎 カンジダ 膣炎
		培養	32	4	

表5 HIV検査数および陽性数

2016年2月分

東京都健康安全研究センター

区 分	男性		女性		性別不明		合計	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
東京都南新宿検査・相談室	557	8	194	0	0	0	751	8
特別区保健所	151	2	73	0	0	0	224	2
確認検査依頼	0	0	0	0	0	0	0	0
合計(2016年 2月分)	708	10	267	0	0	0	975	10
累計(2016年 1月～)	1477	20	585	0	1	0	2063	20

区及び島しょ保健所

	男	女	不明
検査者数	213	98	0
陽性者数	1	0	0

表6 東京都におけるヒト由来ウイルス検出状況

2016年2月分

東京都健康安全研究センター

ウイルス/型	検出数	検査材料	臨床診断名	
インフルエンザ	AH1pdm09型	77	咽頭拭い液、鼻腔拭い液	インフルエンザ、インフルエンザ様疾患、肺炎
	AH3亜型	7	咽頭拭い液、鼻腔拭い液	インフルエンザ様疾患
	B型	50	咽頭拭い液、鼻腔拭い液	インフルエンザ様疾患、肺炎
アデノ	31型	1	直腸拭い液	感染性胃腸炎
	56型	1	結膜拭い液	流行性角結膜炎
エンテロ	型別不明	1	鼻汁	上気道炎
ライノ		4	咽頭拭い液、鼻腔拭い液	インフルエンザ様疾患
単純ヘルペス	1型	3	陰部尿道頸管擦過物/分泌物	性器ヘルペス感染症
	2型	1	陰部尿道頸管擦過物/分泌物	性器ヘルペス感染症
ヒトヘルペス	6型	2	鼻汁、咽頭拭い液	突発性発疹、インフルエンザ様疾患
	7型	2	咽頭拭い液	突発性発疹
パルボ	B19	2	咽頭拭い液	麻疹、伝染性紅斑
ムンプス		4	咽頭拭い液、尿	流行性角結膜炎
ノロ	G1群	1	直腸拭い液	感染性胃腸炎
	G2群	2	糞便、直腸拭い液	感染性胃腸炎
サポ		1	直腸拭い液	感染性胃腸炎
ヒトパピローマ	6型	3	陰部尿道頸管擦過物/分泌物/コンジローマ患部生検	尖圭コンジローマ、疣贅
	11型	2	陰部尿道頸管擦過物/分泌物	尖圭コンジローマ
	16型	1	陰部尿道頸管擦過物/分泌物	尖圭コンジローマ
	53型	2	陰部尿道頸管擦過物/分泌物	尖圭コンジローマ、疣贅
	58型	2	陰部尿道頸管擦過物/分泌物	尖圭コンジローマ

表7 東京都におけるウイルス性胃腸炎・食中毒疑い検査成績

2016年2月分

東京都健康安全研究センター

区分	検体数	検出病原体	陽性数
ふん便・吐物	276	ノロウイルス (G I)	5
		ノロウイルス (G II)	114
		ノロウイルス (G I, G II)	1
		A群ロタウイルス	2
		サポウイルス	0
		アストロウイルス	0
食品・拭き取り	112	ノロウイルス (G I)	0
		ノロウイルス (G II)	3
		ノロウイルス (G I, G II)	1
合計	388	陽性数合計	126

表8 ヒト由来抗酸菌検出状況

区及び島しょ保健所

	管理健診	家族健診	接触者健診	その他	計
検査件数	0	0	0	36	36
陽性件数	0	0	0	3	3
結核菌	0	0	0	0	0
非結核性抗酸菌	0	0	0	0	0

◆東京都微生物検査情報◆

2016年 4 月 25 日

編集・発行

東京都健康安全研究センター

〒169-0073

東京都新宿区百人町3-24-1

TEL:03-3363-3213

FAX:03-5332-7365

S0000786@section.metro.tokyo.jp

<http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/>