

口述発表9

食中毒事例で分離された *Campylobacter jejuni* の遺伝子解析結果について

川口 愛¹⁾ 和栗 敦¹⁾ 澤田 譲¹⁾
三上 稔之¹⁾ 阿部 幸一¹⁾ 畑山 一郎¹⁾

1) 青森県環境保健センター

Key Words : ① *Campylobacter jejuni* ② PFGE
③ Nucleotide sequence

I. はじめに

Campylobacter jejuni、*C. coli* は細菌性食中毒の主な原因菌で、ヒトに食品等を介して感染しカンピロバクター腸炎を発症させる。我が国における食中毒の年間事例数は、本菌とサルモネラ属菌によるものが大部分を占め、その発生件数は増加傾向にある。

C. jejuni は散発下痢症起因菌としても検出数が多く、*C. coli* やその他の *Campylobacter* の感染事例は少ない。本菌による集団事例の感染源は、汚染された食肉や飲料水であり、特に鶏肉であるケースが多い。

II. 目的

食中毒事例における感染源の特定及び感染経路の究明の手段としては、現在、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による分子疫学解析が主流となっており、その有用性が報告されている。

本研究は、2005年4月に三沢市内で発生した食中毒事例において、原因病原体として検出された *C. jejuni* 及び、同時期に別の地域で散発患者から検出された *C. jejuni* について、感染源、感染経路究明の資料とするため、PFGE法及び *Campylobacter* の *lpx A* 領域を標的としたPCR法による種別検出を行い、さらに増幅DNAのダイレクトシーケンスによる分子疫学的検討を行った。また、疫学マーカーとして血清型別を実施した。

III. 研究方法

食中毒事例で分離された *C. jejuni* 11株、散発感染例由

来 *C. jejuni* 3株、計14株について、血清型別、PFGE法による型別、さらに、*lpx A* 領域の部分的塩基配列解析を行った。血清型別は、耐熱性抗原による Penner の型別法に準拠した市販血清を用いた。

PFGE法は、制限酵素 *Sma* I を用いて行い、泳動パターンの解析には Fingerprinting Plus (Bio-Rad) を使用した。塩基配列決定は、*C. jejuni* と *C. coli* を同時識別するためのマルチプレックスPCR法によるPCR産物について、ダイターミネーター法で行った。*lpx A* 領域に位置する278塩基について、Clustal Wを用いNj法により系統樹を作製した。

IV. 結果

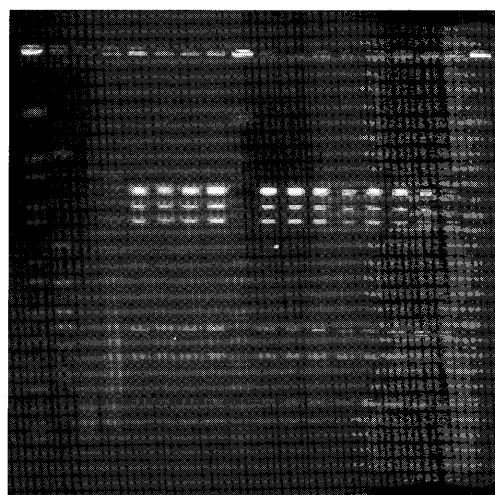
1. 血清型

食中毒事例で分離された *C. jejuni* 11株の血清型は、全てD群であった。散発感染例由来 *C. jejuni* 3株の血清型は、D群1株、G群1株、型別不明1株であった。

2. PFGE

食中毒事例で分離された *C. jejuni* は、11株全てパターンが一致した。さらに、散発感染例由来 *C. jejuni* 3株のうち1株 (血清型D群) が食中毒由来株と同一のパターンを示したが、残りの2株は、異なるDNAパターンを示した (図1)。

M 1 2 3 4 5 6 7 M 8 9 10 11 12 13 14 15 M



M : Salmonella Braenderup H9812

1 : *C. coli*

2 - 4 : 散発感染例由来 *C. jejuni*

5 - 15 : 食中毒事例ヒト由来 *C. jejuni*

図1 PFGEパターン

3. シークエンス解析

塩基配列による系統樹分類では、散発感染例由来 *C. jejuni* 1株 (血清型G群) が、英国の NCTC11168

(AL111168)、ニュージーランドのKLC2851 (AY531522) ヒト分離株と一致した。一方、食中毒及び散発感染例由来12株（血清型D群）については一致する株はなかったが、前述の英国及びニュージーランドで分離されたヒト由来株と1塩基の置換が認められた。この塩基置換は、データベース上で一致した1株では、AATであるのに対して、12株ではGATであり、推定アミノ酸配列からアスパラギンのアスパラギン酸へのアミノ酸置換があることを示していた。

V. 考察

食中毒由来11株が同じPFGEパターンとなり、血清型、*lpx A* 領域の塩基配列も一致したことは、疫学調査を裏付ける科学的根拠の一つであり、今回の食中毒事例においては、PFGE法の有用性が確認された。

食中毒由来11株及び散発感染例由来1株は、血清型、PFGEパターン、*lpx A* 領域の塩基配列が一致した。この散発感染例由来株は、食中毒事例発生時と同一時期に検出され、比較的、近い地域であることから、食中毒及び散発事例の感染源は共通している可能性が推測される。

また、この12株は、データベースで1塩基置換が認められたことから、変異株である可能性が高いと考えられる。

C. jejuni のシーケンスに用いた *lpx A* 領域は、種内で相同性が高い部位であること、シーケンスした菌株数が少ないことから、1塩基の違い（0.36%）が菌株間の差を検出するのにどの程度有用性があるか判断するため、今後さらに本研究をすすめる必要があると思われる。

VI. 文献

John D.Klena, Craig T.Parker, Krista Knibb, et al.: Differentiation of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter upsaliensis* by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the lipid A gene *lpxA*. J.Clin.Microbiol., 42(12)5549-57, 2004.