

Campylobacter jejuni の遺伝子型別法（Penner PCR 法）について

1 はじめに

東京都内で発生した細菌性食中毒のうち、カンピロバクターを原因とする食中毒は17年連続で事件数第1位となっている。令和4年4月より、食中毒患者等から検出した *Campylobacter jejuni*（以下「*C.jejuni*」という。）の菌型試験で用いる型別法を、従来の血清型別法から遺伝子型別法へ変更したので、本稿でその概要を紹介する。

2 *C.jejuni* 型別法の経緯

C.jejuni の型別法は、主にスライド凝集反応法（Lior 法）¹⁾と受身血球凝集反応法（Penner 法）²⁾の2つの血清型別法が用いられてきた³⁾。健康安全研究センターでは、平成28年3月まで Lior 法による型別結果を報告してきたが、同年4月から市販の型別用血清がある Penner 法に変更した。しかし、近年は型別率の低下が顕著になり、「型別不能」として検査成績を報告する事例が全体の半数以上を占めるようになっていた。

一方、Penner 法の血清型関連遺伝子を PCR で検出する遺伝子型別法（Penner PCR 法）が開発され、その型別率が高いことが報告された⁴⁾。健康安全研究センターにおいても、食中毒検体等から分離した *C.jejuni* 421 株を用いて遺伝子型別法と血清型別法の型別率を比較したところ、遺伝子型別法（94.8%）の方が血清型別法（37.5%）よりも顕著に高いことを確認した⁵⁾。以上の経緯を踏まえ、令和4年4月から健康安全研究センターでの食中毒試験における *C.jejuni* の菌型試験は遺伝子型別法で実施し、検査成績を報告することとした。なお、各型別法の概要は表1のとおりである。

表1 Lior 法、Penner 法、Penner PCR 法の概要

型別法	血清型別法 (Lior 法)	血清型別法 (Penner 法)	遺伝子型別法 (Penner PCR 法)
検査原理	スライド凝集反応	受身血球凝集反応	マルチプレックス PCR
型別数	30 種類	25 種類	37 種類
型別率	60~70%	50%未満	90%以上
特徴	手技は簡易だが血清の 自家調製が必要	血清の市販品はあるが 型別率が低い	型別率が高く、血清型別 法 より数日早く判定可能

3 遺伝子型別法（Penner PCR 法）の概要

本法は、37種類のプライマーを用いたマルチプレックス PCR 法である⁴⁾。これらのプライマーを4つのグループに分けて PCR 反応を行い、*C.jejuni* の各遺伝子型に特異的な遺伝子を増幅させ、それら増幅産物のサイズを確認して型別する。本法が血清型別法より優れている点は、型別率が高い（90%以上）こと、及び大量の純培養菌が不要なので型別判定にか

かる日数が1日から2日短縮できることである。血清型と遺伝子型の対応表は表2のとおり。

表2 遺伝子型(Penner PCR法)と血清型(Penner法)の型別対応表

No.	遺伝子型	血清型	No.	遺伝子型	血清型
1	HS 1	A 群	19	HS 29	—
2	HS 2	B 群	20	HS 31	U 群
3	HS 3	C 群	21	HS 32	V 群
4	HS 4c	D 群	22	HS 33	—
5	HS 5	E 群	23	HS 35	—
6	HS 6c	F 群	24	HS 37	Y 群
7	HS 8c	G 群	25	HS 38	Z 群
8	HS 9	—	26	HS 40	—
9	HS 10	I 群	27	HS 41	Z2 群
10	HS 11	J 群	28	HS 42	—
11	HS 12	K 群	29	HS 44	A 群
12	HS 15	L 群	30	HS 45	Z4 群
13	HS 18	N 群	31	HS 52	Z5 群
14	HS 19	O 群	32	HS 53	R 群
15	HS 21	P 群	33	HS 55	Z6 群
16	HS 22	—	34	HS 57	Z7 群
17	HS 23c	R 群	35	HS 58	—
18	HS 27	S 群	36	HS 60	—
			37	HS 63	—

※市販血清に含まれていない血清型は「—」とした。

4 最近5年間に都内食中毒検体から分離した *C. jejuni* の遺伝子型検出状況

平成29年から令和3年までに、都内食中毒事例(疑い事例含む。)の検体(患者、鶏肉等)から分離した *C. jejuni* 1,497株の遺伝子型別結果は表3のとおりである。型別率は95.7%で、検出した主な遺伝子型はHS4c(224株15.0%)、HS2(207株13.8%)、HS23c(186株12.4%)、HS19(139株9.3%)、HS8c(129株8.6%)、HS3(105株7.0%)であり、これら6つの遺伝子型で全体の66.1%を占めていることが分かった。

表3 平成29年～令和3年（5年間）に都内食中毒事例（疑い事例含む。）の
検体（患者、鶏肉等）から分離した *C. jejuni* の遺伝子型別結果（1,497株）

順位	遺伝子型	菌株数	(%)	順位	遺伝子型	菌株数	(%)
1	HS 4c	224	15.0	14	HS 10	28	1.9
2	HS 2	207	13.8	14	HS 21	28	1.9
3	HS 23c	186	12.4	16	HS 55	13	0.9
4	HS 19	139	9.3	17	HS 42	11	0.7
5	HS 8c	129	8.6	18	HS 9	8	0.5
6	HS 3	105	7.0	18	HS 29	8	0.5
7	HS 1	76	5.1	20	HS 11	6	0.4
8	HS 45	47	3.1	21	HS 5	5	0.3
8	HS 6c	47	3.1	22	HS 27	4	0.3
10	HS 37	46	3.1	23	HS 57	3	0.2
11	HS 12	42	2.8	24	HS 18	2	0.1
12	HS 31	35	2.3	型別不能		65	4.3
13	HS 15	33	2.2	合 計		1,497	100.0

5 まとめ

従来の血清型別法と比較して顕著に型別率が高く、検査日数を1日から2日程度短縮できる遺伝子型別法を用いることで、患者や鶏肉等から分離された *C. jejuni* の疫学解析の精度が向上し、より迅速な型別結果の報告が可能になった。

本法を用いて最近5年間に都内食中毒事例の検体から分離した *C. jejuni* の遺伝子型を調べたところ、HS4c、HS2、HS23c、HS19、HS8c、HS3 の上位6種類の遺伝子型で全体の66.1%を占めていることがわかった。

6 参考文献

- 1) Lior H., et al.:JCM.15(5):761-768(1982)
- 2) Penner J. L., et al.:JCM.12(6):732-737(1980)
- 3) 横山敬子:東京都微生物検査情報.第37巻.第2号(2016)
- 4) Poly F., et al.:PLos ONE.10(12):e0144349(2015)
- 5) 赤瀬悟ら:日本食品微生物学会雑誌.第37巻.第2号:69-74(2020)