

Campylobacter jejuniのブロイラー農場における汚染と Polymerase Chain Reaction法による検出に関する基礎的 研究

誌名	日本家畜臨床学会誌 = Japanese journal of large animal clinics
ISSN	13468464
著者	伊藤, 隆
巻/号	25巻2号
掲載ページ	p. 51-58
発行年月	2002年11月

*Campylobacter jejuni*のブロイラー農場における汚染と Polymerase Chain Reaction法による検出に関する基礎的研究

伊藤 隆

秋田県中央家畜保健衛生所

A fundamental study of the contamination of *C. jejuni*
at a broiler farm and the detection of *C. jejuni* by
means of polymerase chain reaction method

Ryu Itoh

Akita Prefecture Chuo Livestock Hygiene Service Center

要約 *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*)は、ヒトの下痢症の起原因菌として重要な位置を占めている。本研究では、ブロイラー農場における本菌の浸潤状況およびブロイラーへの感染経路について調査を行った。調査を行ったブロイラー農場の糞便101検体中67検体(66.3%)から*C. jejuni*が分離され、これらの血清型は散発性下痢症および食中毒からの分離率の高いものであった。*C. jejuni*のブロイラーへの感染経路についての調査はこの農場の3つの鶏群について行った。A群はウインドレス鶏舎で、作業員は鶏舎に入る際履き物および作業服の交換を行った。B群、C群は開放鶏舎で、履き物のみの交換を行った。*C. jejuni*は1週齢時には全く分離されなかったが、B群、C群では3週齢以降の全サンプルから継続的に分離された。A群では4週齢時2羽、7週齢時1羽から*C. jejuni*が分離されたのみであった。これらの血清型はJ-5が大半を占めた。*C. jejuni*の分離は、J-5に汚染されているH鶏群の出荷後であった。また出荷の際、作業員は作業服および履き物の交換を行っていなかった。*C. jejuni*の経時的分離状況、分離菌の血清型から本菌は作業員を介して伝播するものと考えられた。*C. jejuni*検出にPolymerase Chain Reaction法(PCR)を応用したところ、flagellin A遺伝子(*fla A*)から設計したプライマーセットにより*C. jejuni*の特異的検出に成功した。ニワトリ糞料中の検出限界は $10^{2.0}$ CFU/gであった。血清型別試験用菌株のPCR産物を用いて制限酵素*MboI*による分解を行ったところ、4つの切断パターンが得られた。Type-1と2は既報の*fla A*と判断され、*C. jejuni*は制限酵素断片長多型(RFLP)によって少なくとも4つのタイプに分けられる可能性が示唆された。Liorの血清型別とPCR-RFLPとの相関についてLior 4、Lior 6、TCK 12及びLior 7の菌株を用いて実施した。この結果、本研究で見いだされたPCR-RFLPとLiorの血清型別結果との間に一致性が確認された。今回設計したプライマーセットを用いたPCR-RFLPは、本菌の疫学調査ならびに食中毒の原因食を決定する上で有効な手段であると思われる。

—キーワード: *Campylobacter jejuni*, ブロイラー, 感染経路, PCR-RFLP

.....家畜臨床誌 25 (2): 51-58, 2002

ABSTRACT *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) is a major causative agent of human diarrheal disease. In this study, the survey of the dissemination of *C. jejuni* in a broiler farm and the infection route of *C. jejuni* to the broiler was carried out. *C. jejuni* was isolated from 67 fecal matters of 101 specimens in one broiler farm. The survey of the transmission route of *C. jejuni* was carried out on three flocks in this farm. A flock was kept in the windowless house, and the workers changed their clothes and shoes when they went into the poultry house. B and C flocks were kept in the usual house, and the workers changed only their shoes. *C. jejuni* wasn't isolated in the one week old chickens, but it was isolated from all of the samples from 3 weeks old chicken in B and C flocks, and was widely detected at each week of age throughout the survey period in B and C flocks. In A flock, *C. jejuni* was isolated from only two chickens of four weeks of age and one chicken of seven weeks of age. These serotypes were mostly J-5. *C. jejuni* isolation happened after the shipping H flock which was contaminated by J-5. When the shipping, the workers did not change clothes or shoes. Therefore, it was considered that *C. jejuni* was transmitted through workers. Polymerase chain reaction method (PCR) was applied for the detection of *C. jejuni*, and specific detection of *C. jejuni* was achieved by PCR with a pair of primers from the flagellin A gene (*fla A*). The detection limit in chicken litter was $10^{2.0}$ CFU/g. PCR products of *C. jejuni* used for the serotyping were digested with *MboI*. 4 patterns were obtained, type-1 and 2 products were considered the *fla A* gene reported previously, and suggested the ability to divide *C. jejuni* into at least four types by restriction fragment length polymorphism (RFLP). The correlation between the results Lior serotyping and PCR-RFLP was carried out in Lior 4, Lior 6, TCK 12, and Lior 7. And concluded that the PCR-RFLP results of this study and the sero-typing results were quite the same. PCR-RFLP with this primer pair was considered to have potential for epidemiological surveys and the detection of the source of food poisoning due to *C. jejuni*.

—Key Words: *Campylobacter jejuni*, Broiler chicken, Infection route, PCR-RFLP

.....Jpn. J. Large Anim. Clinics 25(2):51-58,2002

はじめに

Campylobacter jejuni (*C. jejuni*) はヒトの下痢症の起因菌として重要な位置を占めており、本菌による散発性下痢症はサルモネラと同等あるいはそれ以上の発生率である。また本菌による集団食中毒が多発し[11] 食品衛生上重要な菌種となっている。しかし、本菌による食中毒の感染源、ヒトへの感染経路については必ずしも明らかになっていない[12,14,16,22]。このような状況下で、*C. jejuni*の汚染割合から鶏肉が本菌感染症の原因食品として有力視され[3,7,10,21,24]、WHOによって*C.jejuni*フリー農場の確立が提唱されている[27]。一方、家畜衛生サイドから肉用鶏における*C.jejuni*のコントロールを行うため、本菌の疫学調査が是非とも必要となる。この際調査の対象はニワトリ糞便あるいは敷料などである。しかし、その菌分離による調査は、本菌が微好気下のみで発育すること、他の腸管病原性細菌よりその発育が遅いこと、材料の保存条件によって生存割合が違ふこと、乾燥条件にはきわめて感受性が高く数時間で死滅してしまうことなどのため難しい。こうしたことから、培養検査によらない、シンプルで、迅速かつ感受性の高い*C. jejuni*検出法の確立が望まれている。

本研究では、ブロイラー農場での本菌の浸潤状況ならびに鶏肉の汚染実態を把握し、さらに*C.jejuni*高度汚染農場において経時的な本菌保菌を調査し、*C.jejuni*の感染ルートに考察を加えた。また、Polymerase Chain Reaction 法 (PCR) の応用を検討した。*C.jejuni*鞭毛タンパクflagellin Aをコードする遺伝子 *fla A* から設計したプライマーを作成し、PCRによって*C. jejuni*の特異的検出に成功した。

表1 農場産ブロイラーの直腸便からの *Campylobacter* の分離状況

No.	菌量	分離菌	No.	菌量	分離菌
1	2.5*	<i>C.jejuni</i>	9	4.5	<i>C.jejuni</i>
2	6.0	<i>C.jejuni</i>	10	2.5	<i>C.jejuni</i>
3	6.5	<i>C.jejuni</i>	11	7.0	<i>C.jejuni</i>
4	7.0	<i>C.jejuni</i>	12	5.0	<i>C.jejuni</i>
5	3.0	<i>C.jejuni</i>	13	6.5	<i>C.jejuni</i>
6	3.0	<i>C.jejuni</i>	14	4.0	<i>C.jejuni</i>
7	7.0	<i>C.jejuni</i>	15	7.0	<i>C.jejuni</i>
8	7.0	<i>C.jejuni</i>			

* : log(CFU/g)

1.ブロイラー農場における *C. jejuni* 感染経路の検討

1) *C. jejuni* 汚染実態の調査

ブロイラー農場における*C. jejuni* の浸潤状況を知る目的で、農場飼育ニワトリならびに市場に出荷前のブロイラー肉の*C. jejuni*汚染実態調査を行った。

*C. jejuni*は直接培養を行った糞便101検体中67検体(66.3%)、また定量培養を行った15検体すべてから分離された。分離菌量は、最も多いもので $10^{7.0}$ CFU/gで、平均 $10^{6.6}$ CFU/gと著しく多量であった(表1)。また、農場の付属食鳥処理場で採材した鶏肉7検体の全例(100%)から*C. jejuni* が分離された。分離*C. jejuni* の血清型別試験では6株中4株がJ-1型、2株がJ-5型であった(表2)。これらの血清型は、*C.jejuni* による散発性下痢症および食中毒からの分離率の高い血清型であった[2]。なお、飼料とコントロール鶏からは本菌は検出されなかった。

以上の成績から、この農場が*C. jejuni* に汚染されていることが明らかになったが、*C. jejuni* は乾燥に弱く、卵殻に付着した菌は孵化時には死滅することが知られており[9]、孵化場からこの農場に菌が運び込まれる可能性は少ないと考えられた。また、オールアウト後18日間の空舎期間に2日間の乾燥・感作処理をセットした消毒を4クール実施していることから、鶏舎内に残留した菌によって新規導入の鶏群が感染するとは考え難く、*C.jejuni* の鶏群への感染経路、時期について疑問が残った。

2) *C. jejuni* の感染経路および時期についての調査

調査は3つの鶏群について行った。A群はウインドウレス鶏舎で、作業員は鶏舎に入る際に履き物および作業服の交換を行った。B群、C群は開放鶏舎で、履き物の

表2 直腸便および鶏肉から分離された菌株の血清型*

菌 株	血清型	由来	菌 株	血清型	由来
1-1	J-1	直腸	16-2	J-5	鶏肉
2-1	J-5	〃	17-1	J-5	〃
3-1	J-1	〃	19-1	J-1	〃
4-2	J-5	〃	20-2	J-1	〃
7-3	J-5	〃	21-1	J-5	〃
8-4	J-5	〃			

* : 秋田県衛生科学研究所法 (PHA)

みの交換を行った。各群とも5羽ずつ1週間隔で直腸便を採取し、AとB群については採血を実施した。また*C. jejuni*の腸管での感染様相を知る目的でB群の腸管を採取した。

*C. jejuni*は3群とも1週齢時には全く分離されなかったが、B群およびC群は3週齢から調査鶏の全例から継続して分離された。初生時には菌分離陰性であった群が3～4週齢で菌分離陽性になるとする坂井と伊藤[22]、森重ら[15]、Schankerら[23]と同様の成績であった。A群は4週齢と7週齢でそれぞれ2羽、1羽から本菌が分離されたのみであった。これらの血清型はJ-5型が過半数を占めた(表3)。この菌分離状況を経時的にみると(表4)、本菌の分離はいずれの鶏群でもH鶏舎(経時的調査対象以外の鶏群)の出荷後であった。H鶏舎は、

C. jejuni(血清型J-5)に66%(66羽/100羽)汚染されていた。

この農場の作業員は8名で、それぞれ3～4鶏舎を担当していた。調査3鶏群の作業員は別々であり、H鶏舎の作業員が調査鶏群に直接接触することはなかった。しかし出荷は共同作業で行われ、この際作業服と履き物の交換は行われていなかった。*C. jejuni*の経時的な分離状況、分離菌の血清型から、本菌は作業員を介して伝播したと考えられた。

各鶏群とも3週～4週の一定の期間を経て*C. jejuni*が分離され、移行抗体の関与が考えられたため、A群とB群について抗体検査を行った(表5)。検査は分離*C. jejuni*(血清型J-5)を用いた受身血球凝集反応[20]によって行った。抗体が確認されたのはB群のみで、

表3 鶏群の経時的*C. jejuni*分離状況および分離株の血清型

群	第1週	2	3	4	5	6	7	8
A	—	—	—	2* ¹	—	—	1	
				J-5(2/2)* ²			(1/1)	
B		—	—	5	5	5	5	5
				J-5(1/3)	(2/3)	(1/3)	(2/3)	(2/3)
C			—	—	5	5	5	5
					J-5(1/4)	(1/3)	(3/5)	(2/4)

*1: *C. jejuni*分離陽性羽数, *2: 血清型J-5の株数/検査株数
—: *C. jejuni*分離陰性

表4 時間的経過からみた鶏群の*C. jejuni*分離状況

群	第1週	2	3	4	5	6	7	8
A	0/5*	0/5	0/5	2/5	0/5	0/5	1/5	
B		0/5	0/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
C			0/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
備考				↑ H鶏舎出荷		↑ A群 中抜き出荷		

*: 分離陽性羽数/検査羽数

表5 *C. jejuni*の経時的抗体保有状況

群	1週齢	2	3	4	5	6	7
A	0/5* ¹	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
B	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5* ²	0/5

*1: 抗体陽性羽数/検査羽数 *2: 抗体価2倍1羽
抗体価8倍1羽

6週齢5例中2例に、それぞれ2倍、8倍と低い抗体価が認められた。血清型別用の抗血清は128倍を示した。このことから、鶏群の*C. jejuni*感染に移行抗体の関与はないと考えられた、なお、ヒトでは回復期に凝集抗体価40倍以上を示すとされている[13,16,19,25]。

2. *C. jejuni* の鶏腸管における感染態度の検討

C. jejuni の腸管における感染様相は、*C. jejuni* 血清型 J-5 に対する家兎抗血清を一次血清とする Avidin-Biotin-Peroxidase Complex 法により観察した。

C. jejuni は、小腸には全く認められず、盲腸および直腸に定着していた。*C. jejuni* の菌体は管腔のみに確認され、腸管には組織学的になんらの異常は認められなかった。これ以外に抗原物質は粘膜上皮細胞表面・細胞間隙にも証明されなかった。ヒトでは、粘膜上皮細胞のみならず固有層にまでも侵入し、甚だしい場合は腸間膜リンパ節に膿瘍を形成することが知られている[4]。この感染様式の相違が抗体価の差に影響を与えていると推察された。

3. PCR による *C. jejuni* 検出の検討

1) 保存菌株についての検討

使用菌株は *C. jejuni* については参照株の GIFU 8734T、血清型別用菌株26株、ヒト下痢症由来株1株、ニワトリ糞便由来株4株の合計32株である。*C. coli* については参照株の GIFU 8733T、JCM 2529 を、*C. fetus* subsp. *fetus* については参照株の GIFU 2487T、ウマ糞便由来株1株を用いた。*Campylobacter* 以外の菌株は *Salmonella* 3株、*E. coli* 3株を用いた。

プライマーは flagellin A 遺伝子 (*fla A*) から設計

した。*flagellin* は鞭毛を構成するタンパクで *Campylobacter* では A・B の2種類が知られている。このうち *fla A* は *Campylobacter* の病原性のうち、腸管への定着や組織侵入性に関与するとされている[1, 17, 25]。*fla A* については、Fischer と Nachamkin[5] および Nuijten ら[18] の報告がみられるが、これら2つのシーケンスに高い相同性の認められた上流域 410 base pair (bp) を増幅目標シーケンスとし、プライマー CJF-1 (5'-CGT ATT AAC AAC AAT GTT GC-3') および CJF-2 (5'-CCA CTT AAA AGT TGC TTA CC-3') を設計した(図1)。反応液は全量 50 μ l で行い、組成は 50mM KCl、10mM Tris-HCl、Triton X-100 0.1%、2mM MgCl₂、各ヌクレオチド 0.2mM；各プライマー 0.2 μ M；耐熱性 DNA ポリメラーゼ 2.5U；サンプル 5.0 μ l である。増幅は、熱変性 94 $^{\circ}$ C 1分、アニール 55 $^{\circ}$ C 1分、伸長反応 72 $^{\circ}$ C 2分のヒートサイクルを 30 サイクル行った。サンプルは加熱法により作成した。

プライマー CJF-1 および CJF-2 は、すべての *C. jejuni* DNA を増幅し 410bp のバンドが確認された。しかし *C. jejuni* 以外の *Campylobacter*、*Salmonella*、*E. coli* の DNA は増幅されなかった。このことから、410bp の増幅断片は *C. jejuni* の *fla A* の一部と考えられた。

2) PCR 産物の確認

この増幅 410bp 断片が目標として選択した Fischer と Nachamkin あるいは Nuijten らの報告した *fla A* であるか否かの確認のため、*C. jejuni* 血清型用の菌株 26 株の PCR 産物の制限酵素 *Mbo I* による分解を行った。

その結果、4つのパターンが得られた(表6)。断片

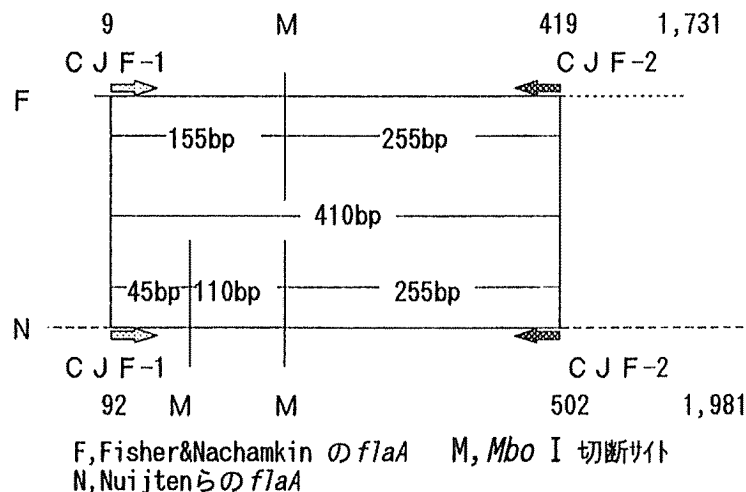


図1 *fla A* の比較およびプライマー CJF-1 と CJF-2 の結合部位の模式図

数と個々の分子量からtype-1がFischerとNachamkinの報告した*fla A*、type-2がNuijtenらの報告した*fla A*と判断された。さらに、制限酵素断片長多型 (restriction fragment length polymorphism:RFLP) によって*C. jejuni* が少なくとも4つのタイプに分けられる可能性が示唆された。

PCR産物の解析のためPCR-RFLPを実施したが、参考とした *fla A* シークエンス以外と思われる切断パターンが得られた。このためPCR産物のシークエンシングをプライマーCJF-1およびCJF-2を用いた直接シークエンシングによって行った。表7に示すとおりtype-1に分類された菌株のシークエンスはFischerとNachamkinの報告したシークエンスとの相同性が高く、type-2はNuijtenらの報告したシークエンスとの相同性が著しく高い値であった。また、type-3およびtype-4のシークエンスもFischerとNachamkinおよびNuijtenらの報告したシークエンスと86.1~90.5%の比較的高い相同性を示した。また、得られたDNAシークエンスを

アミノ酸に翻訳したところ、type-1に分類された菌株のアミノ酸配列はFischerとNachamkinの報告から翻訳したアミノ酸配列と全く同じであり、type-2はNuijtenらの報告から翻訳したアミノ酸配列と完全に一致した。type-3およびtype-4のアミノ酸配列は、他のtypeとはそれぞれ違ったものであった。

PCR産物の制限酵素*Mbo I*の切断部位の解析では(図2)、type-1の*Mbo I*切断部位は1ヶ所でFischerとNachamkinの報告したシークエンスと一致し、type-2の*Mbo I*切断部位は2ヶ所でNuijtenらの報告したシークエンスの*Mbo I*切断部位と一致した。これに対してtype-3の*Mbo I*切断部位は、type-2の第2の切断部位の下流100bpにさらに第3の切断部位が確認された。またtype-4では、type-3の第2の*Mbo I*切断部位が認められない形を示した。これらPCR産物の遺伝子解析から得られた*Mbo I*切断部位と、RFLPの結果はよく一致した。

RFLPの結果およびPCR産物のシークエンシング

表6 制限酵素 *Mbo I* による *C.jejuni* PCR産物の Restriction fragment length polymorphism

Type	断片数	株名
1	2 (255,155bp)*	LIO 1,2,4,9,10,11,17,27, 28,36,49,53,54,60 TCK 1,13,26
2	3 (255,110,45bp)	LIO 6,22,30,50 TCK 12
3	4 (155,110,100,45bp)	LIO 15,33
4	3 (210,155,45 (bp))	LIO 7,39

* : 断片の分子量

表7 PCR産物のDNA塩基配列とFisher and Nachamkin*¹およびNuijtenら*²の*flaA*との相同性

RFLP-Type	菌株	F* ¹	N* ²
1	LIO 1	97.8%	91.6%
	LIO 17	98.6	92.1
2	LIO 6	91.0	99.4
	LIO 15	90.5	88.9
3	LIO 33	90.2	89.0
	LIO 7	86.1	86.4
4	LIO 39	86.4	87.5

* 1 : Fisher and Nachamkinの*fla A*

* 2 : Nuijtenらの*fla A*

の結果から、プライマーCJF-1およびCJF-2は*C. jejuni*の*fla A*の一部を増幅したことが確認された。

4. *C. jejuni* の検出へのPCRの応用

1) PCRによる敷料中の*C. jejuni* 検出の検討

ニワトリ敷料中の*C. jejuni* 検出の検討は、*C. jejuni* フリーの敷料1gに本菌を $10^{6.0}$ CFU接種した汚染敷料を作成して行った。敷料は*C. jejuni* フリー鶏群出荷後のもので、Preston培地を用いた増菌培養によって本菌フリーを確認した。接種菌量は、*C. jejuni* 汚染鶏群の調査報告から設定した。汚染敷料は30℃の乾燥器中で乾燥感作を加えた。*C. jejuni* 検出は、乾燥感作後3時間、5時間、7時間、9時間および12時間の計5回行った。培養による検査はバツラー培地を用いた。PCRのサンプル作成はFrankelらの方法[6]によって行った。培養法では、乾燥感作3時間以降の敷料からは*C. jejuni* が確認されず、本菌が乾燥に極めて弱いこと[8]が確認された。しかし、PCRではすべてのサンプルで

C. jejuni が検出された。すなわち、PCRは死滅した*C. jejuni* のDNAからでも検出可能であるといえる。このことは、特に家畜衛生サイドで使用する場合、充分考慮する必要があると思われた。なお、検出感度は $10^{2.0}$ CFU/gであった。

2) 保存菌株のPCR産物の制限酵素による分解

ヒト散発性下痢症由来の*C. jejuni*を用いて、Liorの血清型別とPCR-RFLPとの相関について検討を行った。菌株は血清型 LIO 4 20株、LIO 6 4株、TCK 12 1株、LIO 7 1株の合計26株である。この結果、本研究で見出されたPCR-RFLPとLiorの血清型別の結果との間に一致性が確認された(表8)。

以上のことからプライマーCJF-1およびCJF-2を使用したPCRは、敷料の処理時間を考慮しても1日で結果が得られ、省力的、且つ特異性の高い有効な方法と考えられた。また、本法は死滅した*C. jejuni* DNAの検出も可能であり、RFLPと組み合わせることで、本菌の疫

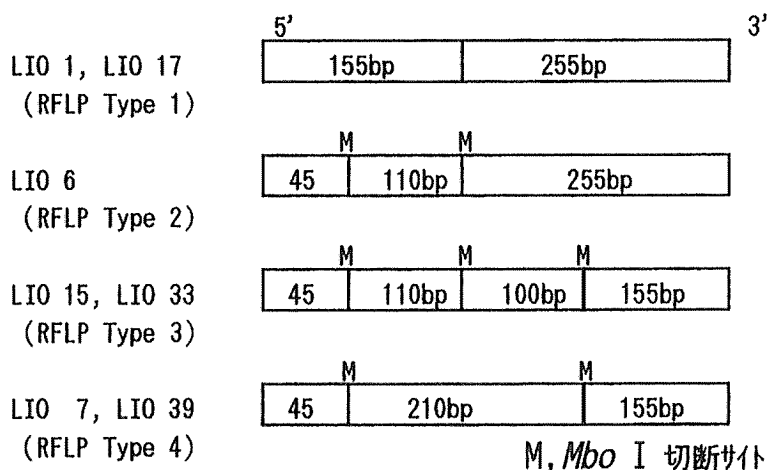


図2 PCR産物の制限酵素 *MboI* 切断サイトおよび断片の分子量

表8 保存*C. jejuni* PCR産物のRestriction fragment length polymorphismおよび血清型

RFLP	血清型* ¹	保存株名* ²
1	LIO 4	1685,1687,1890,2028,2030,2047 1330,2333,2344,2348,2349,2351 1361,2365,2368,2369,2370,2373 2381,2383
2	LIO 6	2352,2288,2296,2263
	TCK 12	2203
4	LIO 7	2364

* 1 : Liorの型別法 * 2 : ヒト散発性下痢症由来 *C. jejuni*

学調査ならびに食中毒の原因食を決定する上で有力な手段として活用可能であると思われた。

文 献

1. Aguero-Rosenfeld, M.E., Yang, X.-H., and Nachamkin, I. (1990). Infection of adult Syrian hamsters with flagellar variants of *Campylobacter*. *Infect. Immun.* 58:2214-2219.
2. 秋田県衛生科学研究所微生物部 (1985). 秋田県で分離されたカンピロバクター菌の血清型成績について. 秋田衛研所報 29:29.
3. 秋山真人, 林 道明, 塩沢寛治, 仁科徳啓, 村上正博 (1987). 食鳥におけるカンピロバクターの分布. 獣畜新報 790:292-295.
4. Blaser, M. J., Hardesty, H. L., Powers, B., and Wang, W.L. (1980). Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in biological milieu. *J. Clin. Microbiol.* 11:309-313.
5. Fischer, S. H. and Nachamkin, I. (1991). Common and variable domains of the flagellin gene, *flaA*, in *Campylobacter jejuni*. *Mol. Microbiol.* 5:1151-1158.
6. Frankel, G., Giron, J. A., and Schoolnik, G.K. (1989). Multi-gene amplification: simultaneous detection of three virulence genes in diarrhoeal stool. *Mol. Microbiol.* 3:1729-1734.
7. 橋本和典 (1981). *Campylobacter* と *Campylobacteriosis*. 日獣会誌34:357-363.
8. 伊藤 武, 斎藤香彦, 高橋正樹, 坂井千三 (1983). Thermophilic *Campylobacter* の発育態度および各種条件下における生存について. 日細誌 38:337.
9. 伊藤 武, 坂井千三 (1984). 食禽と *Campylobacter* について. 鶏病研報20:2-12.
10. 伊藤 武 (1988). 市販食肉および食肉店舗や食鳥処理場の環境における *Campylobacter* の汚染状況ならびに分離菌株の血清型別に関する研究. 感染症誌 1:17-24.
11. 厚生省大臣官房統計情報部 (1984). 食中毒統計, p.13-33, 厚生統計協会, 東京.
12. Lior, H., Woodward, D. L., Edgar, J. A., Laroche, L. J., and Gill, P. (1982). Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *J. Clin. Microbiol.* 15:761-768.
13. 水野新一, 牧 淳, 本田武司, 三輪谷俊夫, 有田耕司 (1984). *Campylobacter* 腸炎患者血清と反応する *C.jejuni* 抗原の分離精製. 感染症誌 58:733-738.
14. 水野昭三, 野田朱実, 笠倉貞男, 渡辺恒明 (1983). 昭和56年, 57年度に栃木県内で発生した *Campylobacter* による集団下痢症について. 栃木衛研報13:89-94.
15. 森重正幸, 金城俊夫, 源 宣之 (1984). *Campylobacter jejuni* の鶏卵汚染の可能性について. 食品と微生物 1:114-118.
16. 村上正博, 中津川修二, 塩沢寛治, 浅川 豊 (1981). 静岡県内の小学校並びに女子高校で発生した *Campylobacter jejuni/coli* による集団下痢症. 静岡衛研報 24:29-33.
17. Newell, D. G., McBride, H., and Dolby, J. M. (1985). Investigations on the role of flagella in the colonization of infant mice with *Campylobacter jejuni* and attachment of *Campylobacter jejuni* to human epithelial cell lines. *J. Hyg.* 95:217-227.
18. Nuijten, P. J. M., van Asten, F. J. A. M., Gaastra, W., and van der Zeijst, B. A. M. (1990). Structural and functional analysis of two *Campylobacter jejuni* flagellin genes. *J. Biol. Chem.* 265:17798-17804.
19. 岡部正道, 山本いつ子, 渡辺清志 (1980). *Campylobacter jejuni* による散発性下痢症および1集団発生例ならびに患者の血中抗体価に関する研究. 衛生検査31:48-53.
20. Penner, J. L. and Hennesy, J. N. (1980). Passive haemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens. *J. Clin. Microbiol.* 12:732-737.
21. 斎藤志保子, 庄司キク, 森田盛大, 斎藤 豪, 石黒申一, 渡辺正幸, 鈴木かつ子, 長沼雄峰 (1986). 秋田県における *Campylobacter jejuni* の分離成績と血清型別調査成績について (第3報). 秋田衛研所報 30:53-56.
22. 坂井千三, 伊藤 武 (1985). *Campylobacter* 感

染症. 日細誌 40:563-550.

23. Shanker, S., Lee, A., and Sorrel, T.C.(1986).
Campylobacter jejuni in broilers:the role of vertical transmission. J. Hyg. Camb. 96:153-159.
24. Simmons, N. A. and Gibbs, F.J.(1979).
Campylobacter spp. in ovenready poultry. J. Infect. 1:159-162.
25. 滝沢金次郎, 浅井良夫, 安田哲夫, 中村美千子, 小原 寧, 倉辻忠俊 (1980).*C.jejuni*腸炎患児血清の凝集価について. 神戸衛研報 10:36-37.
26. Ueki, Y., Umeda, A., Fujimoto, S., Mitsuyama, M., and Amako, K.(1987).
Protection against *Campylobacter* infection in suckling mice by anti-flagellar antibody. Microbiol. Immunol.31:1161-1171.
27. WHO審議会報告 (1984). カンピロバクター感染の予防および制御に関する獣医公衆衛生学的見地. Moscow.pp.20-22, 石田名香雄, 山本仁訳.