

病原性細菌の有無 (マイクロアレイ解析)

【概要】

系統分類された 926 種類 (29 系統、926 属) の属に保存されている DNA マイクロアレイで一般細菌相の菌相分布を、ヒト・動物・植物・魚類の病原体 1012 種類の菌種に保存されている配列の DNA マイクロアレイで病原体の菌相分布を解析した。さらに、病原性の強い菌群 96 種類 (レベル 2、3*) を検出するプライマーセット (表 1.) を用いて、当該微生物製剤の DNA を定量解析した。抽出された DNA に対し、感染症予防法に記載され土壌に生息すると予測される危険度が高い病原体を特異的に増幅する遺伝子増幅法を用いて、人病原体が周辺環境に比較して異常増殖していないかどうかを解析した。

表 1. 使用プライマーのターゲット (菌群・遺伝子) の一覧

<i>Acholeplasma</i> spp. 16S rDNA	<i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	<i>Orientia tsutsugamushi</i> 16S rDNA
<i>Actinomadura madurae</i> group 16S rDNA	<i>Clostridium tetani</i> Tetanospasmnin	<i>Orientia tsutsugamushi</i> Specific(virulence)
<i>Actinomyces bovis</i> group 16S rDNA	<i>Clostridium perfringens</i> -tetani-botulinum group 16S rDNA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> group 16S rDNA
<i>Aeromonas hydrophila</i> group 16S rDNA	<i>Corynebacterium diptheriae</i> group 16S rDNA	<i>Rickettsia/Ehrlichia</i> spp. 16S rDNA
<i>Anaplasma marginalis</i> group 16S rDNA	<i>Cowdria ruminantium</i> group 16S rDNA	<i>Rochalimea quintana</i> group 16S rDNA
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> group 16S rDNA	<i>Coxiella burnetii</i> Specific antigen	<i>Salmonella</i> spp. Enterotoxin
<i>Bacillus anthracis</i> Capsular gene	<i>Ehrlichia-Anaplasma</i> spp. 16S rDNA	<i>Salmonella typhi</i> VipR
<i>Bacillus anthracis</i> Protective antigen	Enterobacteriaceae(major) 16S rDNA	<i>Shigella</i> spp. VirG(lcsA)
<i>Bacillus anthracis</i> S-layer	<i>Enterococcus</i> spp 16S rDNA	<i>Staphylococcus aureus</i> MecA
<i>Bacillus cereus</i> Haemolysin	<i>Escherichia coli</i> VirB	<i>Streptobacillus moniliformis</i> group 16S rDNA
<i>Bacillus cereus-antiacis</i> group 16S rDNA	<i>Escherichia coli</i> Shiga 1	<i>Streptococcus</i> spp. 16S rDNA
<i>Bartonella</i> spp. 16S rDNA	<i>Escherichia coli</i> Shiga 2	<i>Streptomyces</i> group 16S rDNA
<i>Bilophila-Lawsonia</i> group 16S rDNA	<i>Escherichia coli</i> ST1	<i>Vibrio cholerae</i> CT
<i>Borrelia</i> group 16S rDNA	<i>Escherichia coli</i> LT	<i>Vibrio</i> group 16S rDNA
<i>Brucella melitensis</i> group 16S rDNA	<i>Escherichia</i> group 16S rDNA	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Tdh
<i>Burkholderia cepacia</i> group 16S rDNA	<i>Francisella</i> group 16S rDNA	<i>Yersinia</i> group 16S rDNA
<i>Burkholderia pseudomallei</i> /mallei group Flagellin	<i>Francisella tularensis</i> OMP	<i>Yersinia pestis</i> Pesticin
<i>Burkholderia pseudomallei</i> /mallei group 16S rDNA	<i>Haemobartonella canis</i> group 16S rDNA	<i>Yersinia pestis</i> Plasminogen activator
<i>Burkholderia pseudomallei</i> /mallei group GroEL	<i>Haemophilus influenzae</i> group 16S rDNA	<i>Yersinia pseudotuberculosis/pestis</i> group 16S rDNA
<i>Cardiobacterium hominis</i> group 16S rDNA	<i>Haemophilus-Pasteurella-Actinobacillus</i> group 16S rDNA	<i>Candida</i> spp. 18S rDNA
<i>Chlamydophila/Chlamydia</i> spp. 16S rDNA	<i>Klebsiella pneumoniae</i> group 16S rDNA	<i>Cryptosporidium parvum</i> group HSP70
<i>Chromobacterium violaceum</i> 16S rDNA	<i>Legionella</i> group 16S rDNA	<i>Cryptococcus</i> spp. 16S rDNA
<i>Clostridium bifementans</i> group 16S rDNA	<i>Leptospira interrogans</i> group 16S rDNA	<i>Aspergillus</i> group. 18S rDNA
<i>Clostridium botulinum</i> Toxin type ABF group 16S rDNA	<i>Listeria monocytogenes</i> group 16S rDNA	<i>Coccidioides immitis</i> group 28S rDNA
<i>Clostridium botulinum</i> Toxin type EFB group 16S rDNA	<i>Mycobacterium avium/paratuberculosis</i> IS900	<i>Blastomyces dermatitidis</i> group WI-1 adhesin
<i>Clostridium botulinum</i> Toxin type ABF group NTNH	<i>Mycobacterium avium</i> 16S rDNA	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .group 28S rDNA
<i>Clostridium botulinum</i> Toxin type G group 16S rDNA	<i>Mycobacterium intracellulare</i> group 16S rDNA	<i>Histoplasma capsulatum</i> group H antigen
<i>Clostridium botulinum</i> Toxin type F BONT toxin	<i>Mycobacterium</i> spp. 16S rDNA	<i>Ajellomyces capsulatus/dermatitidis</i> 28S rDNA
<i>Clostridium botulinum</i> Toxin type E BONT toxin	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> DnaJ	<i>Penicillium mameffei</i> group 18S rDNA
<i>Clostridium botulinum</i> Toxin type CD group 16S rDNA	<i>Mycoplasma mycoides-pneumoniae</i> group 16S rDNA	Fungal universal 18S rDNA
<i>Clostridium difficile</i> group 16S rDNA	<i>Neorickettsia-E.sennetsu</i> group 16S rDNA	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (inner marker) 16S rDNA
<i>Clostridium perfringens</i> group 16S rDNA	<i>Nocardia</i> group 16S rDNA	<i>Bacteria universal</i> 16S rDNA

【結果】

当該微生物製剤 (オープンハイマー・フォーミュラ) から抽出した DNA を解析した結果、特異的な病原体の病原因子の増幅は見られなかった。よって、本製剤中には、人に重篤な疾病を起こすレベル 2 以上の病原因子を保有する病原体は含まれていないと判定された。

(解析：岐阜大学大学院医科研究科病原体制御学分野 江崎孝行教授)

※日本細菌学会：病原細菌に関するバイオセーフティ指針 改定第2版，2002年

【病原体などのバイオセーフティレベルを分類する基準】

レベル1（個体及び地域社会に対する低危険度）

ヒトに疾病を起し、或いは動物に獣医学的に重要な疾病を起す可能性のないもの。

レベル2（個体に対する中等度危険度、地域社会に対する軽微な危険性度）

ヒト或いは動物に病原性を有するが、実験室職員、地域社会、家畜、環境等に対し、重大な災害とならないもの、実験室内で暴露されると重篤な感染を起す可能性はあるが、有効な治療法、予防法があり、伝播の可能性は低いもの。

レベル3（個体に対する高い危険度、地域社会に対する低危険度）

ヒトに感染すると重篤な疾病を起すが、他の個体への伝播の可能性は低いもの。