

表7 供試パウチの内訳

試料 番号	容器包装	材 質	酸素透過性 (ml/m ² 24hrs atm)
①	アルミスタンドパウチ	PET12/NY15/AL7/ CPP60	0
②	ヘセーラスタンドパウチ	ヘセーラ 13/NY15/ CPP60	0.5
③	一般構成の平パウチ	PET12/NY15/ CPP50	95

PET ポリエステルフィルム, NY ナイロンフィルム, AL アルミ箔,
CPP ポリプロピレンフィルム

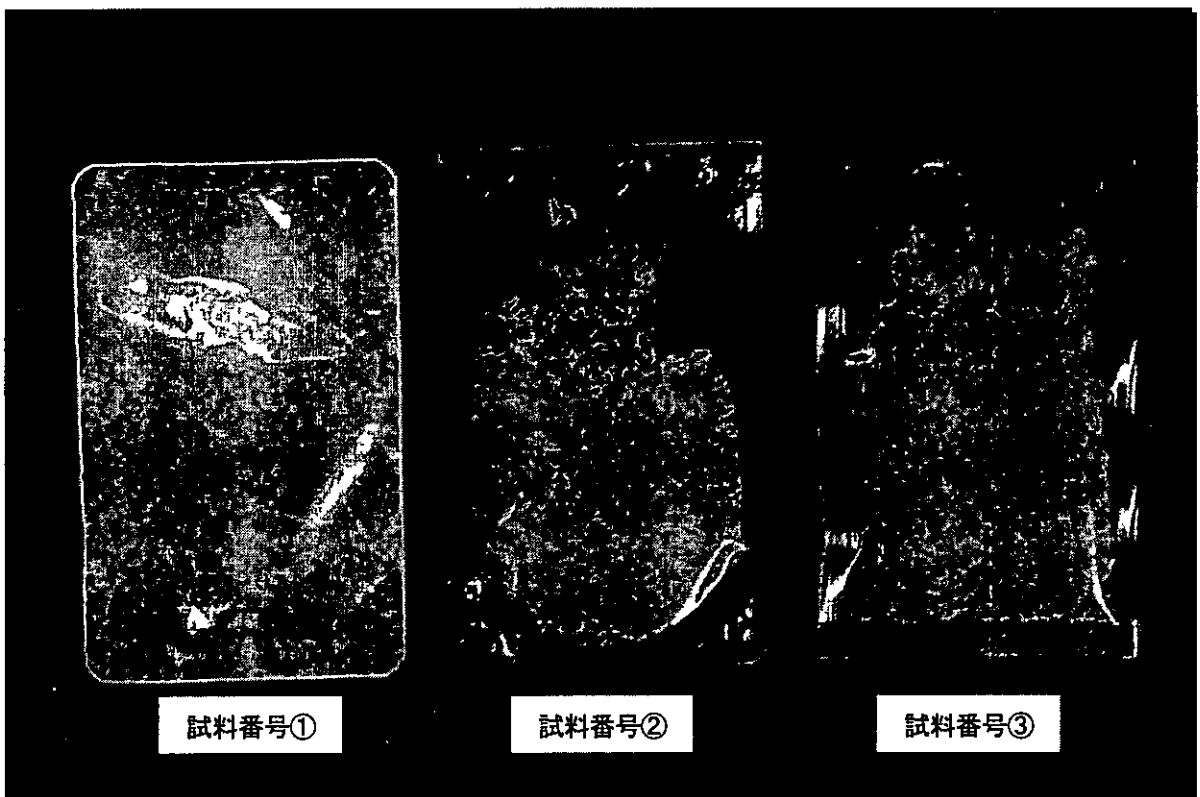


図7 供試試料の外観

表 8 接種用芽胞液の初発芽胞数

接種芽胞液	測定値	平均
	(CFU/20 μ l)	(CFU/20 μ l)
A型ホツリヌス菌	6.6 $\times 10^5$	6.7 $\times 10^5$
	5.1 $\times 10^5$	
	8.3 $\times 10^5$	
B型ホツリヌス菌	9.7 $\times 10^5$	1.0 $\times 10^6$
	1.2 $\times 10^6$	
	1.0 $\times 10^6$	
PA3679株	2.0 $\times 10^5$	2.3 $\times 10^5$
	2.6 $\times 10^5$	
	2.4 $\times 10^5$	

表 9 熱伝達測定結果及び加熱処理時間

試料番号	初 温 ($^{\circ}$ C)	カムアップタイム ^{a)} (分)	加熱処理時間 ^{b)} (分)
①	18.1 18.2	7.5 6.0	26.75
②	17.7 18.0	4.5 5.5	25.00
③	17.8 18.1	7.0 6.0	26.50

a) 80 $^{\circ}$ Cに達するまでの時間 (測定値)

b) 熱伝達測定結果より決定した時間

表 10 ヘットスペースのガス分析結果

試料 番号	総重量 (g)	総ガス量 (ml)	水素 (%)	酸素 (%)	二酸化炭素 (%)	窒素 (%)	初期封入空気 (ml)
①	54.1	1.6	0.1	15.0	0.0	85.0	1.8
②	53.7	4.9	0.0	17.8	0.0	82.1	5.2
③	53.5	2.6	0.1	20.3	0.0	79.6	2.6

表 11 加熱処理直後の試料の分析結果

試料 番号	接種区	pH	好気性生菌数 (CFU/g)	<i>Clostridium</i> 属 細菌数 (CFU/g)
①	無接種	7.0	< 10	< 10
		7.0	< 10	< 10
		7.0	< 10	< 10
	A 型ボツリヌス菌	7.0	< 10	3.5×10^4
		7.0	< 10	3.7×10^4
		7.1	< 10	2.8×10^4
	B 型ボツリヌス菌	7.0	< 10	3.1×10^4
		7.1	< 10	2.8×10^4
		7.1	< 10	3.2×10^4
	PA3679 株	7.0	< 10	3.0×10^3
		7.0	< 10	3.0×10^3
		7.0	< 10	3.8×10^3
②	無接種	7.2	< 10	< 10
		7.0	< 10	< 10
		7.1	< 10	< 10
	A 型ボツリヌス菌	7.1	< 10	2.6×10^4
		7.1	< 10	3.0×10^4
		7.0	< 10	3.6×10^4
	B 型ボツリヌス菌	7.1	< 10	2.9×10^4
		7.0	< 10	2.6×10^4
		7.1	< 10	2.5×10^4
	PA3679 株	7.1	< 10	3.4×10^3
		7.1	< 10	3.3×10^3
		7.1	< 10	4.2×10^3
③	無接種	7.1	< 10	< 10
		7.2	< 10	< 10
		7.1	< 10	< 10
	A 型ボツリヌス菌	7.1	< 10	2.4×10^4
		7.2	< 10	2.4×10^4
		7.2	< 10	2.9×10^4
	B 型ボツリヌス菌	7.2	< 10	2.3×10^4
		7.1	< 10	2.4×10^4
		7.2	< 10	2.6×10^4
	PA3679 株	7.2	< 10	3.2×10^3
		7.2	< 10	3.4×10^3
		7.2	< 10	3.5×10^3

表 12 30℃, 60 日後に膨脹した試料(試料番号①)の分析結果

接種区	pH	好気性生菌数 (CFU/g)	<i>Clostridium</i> 属 細菌数 (CFU/g)	毒素型
A 型ボツリヌス菌	5.0	< 10	> 10 ⁸	A
B 型ボツリヌス菌	4.9	< 10	2.6 × 10 ⁵	B
PA3679 株	6.0	< 10	2.8 × 10 ⁵	NT ^{a)}

a) NT 試験せず

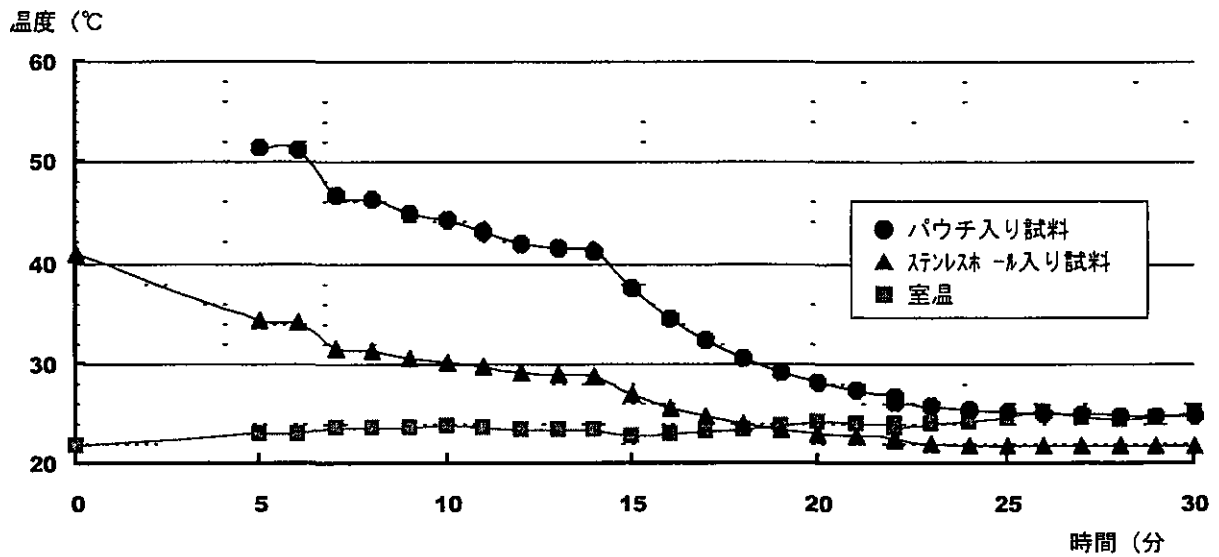


図 8 供試試料の継時的温度変化

表 13 ごはんにカレーを添加した試料のボツリヌス菌接種試験の分析結果

室温放置 期間(日)	試料	試料 番号	pH	好気性生菌数 (CFU/g)	<i>Clostridium</i> 属細菌数 (CFU/g)	マスのへい死数 (匹/2 匹)	毒素型
0	ホール	1	5.7	< 10	1.3×10^2	NT ^{a)}	NT
1	ホール	1	5.8	< 10	1.2×10^2	0	NT
		2	5.8	80	80	0	NT
		3	5.8	< 10	1.1×10^2	0	NT
3	ホール	1	5.7	$> 10^8$	2.1×10^2	1	NT
		2	5.8	$> 10^8$	5.0×10^2	0	NT
		3	5.9	3.5×10^7	8.6×10^4	2	不明
	パウチ	1	5.8	$> 10^8$	$> 10^7$	2	A
	7	ホール	1	6.4	$> 10^8$	$> 10^7$	2
2			6.6	$> 10^8$	$> 10^7$	1	NT
3			6.6	$> 10^8$	$> 10^7$	1	NT
パウチ		1	6.3	3.9×10^6	$> 10^7$	2	A,B

a) NT 試験せず

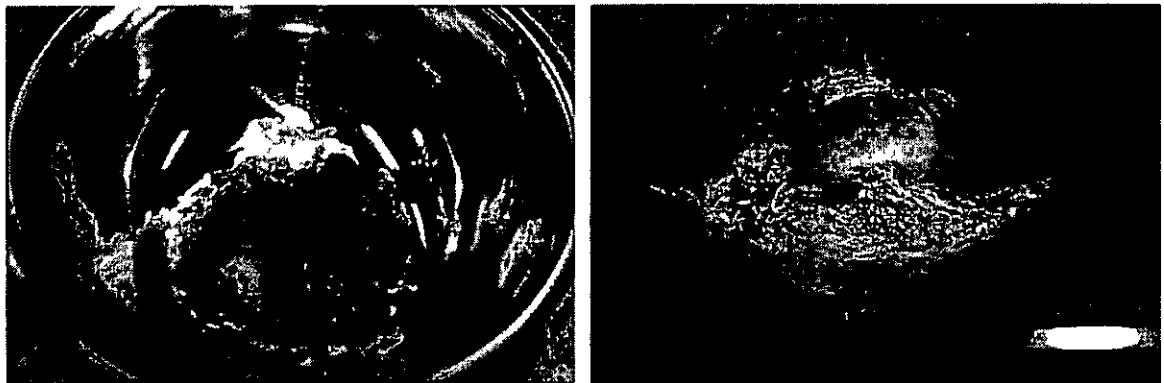


図 9 室温放置中の試料の外観 (3 日目)

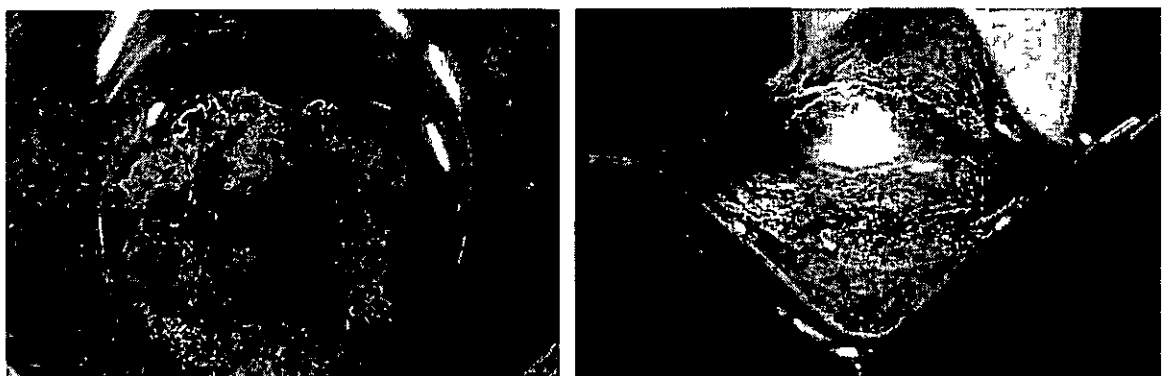


図 10 室温放置中の試料の外観 (7 日目)

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に対するリスク評価

分担研究者 春日文子 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室長
小崎俊司 大阪府立大学大学院農学生命科学研究科 教授

研究要旨 容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に関する健康影響評価にあたり必要な情報を整理するために、リスクプロファイル案を作成した。プロファイルとしての基本項目を提案し、一部の項目について内容を記述した。健康影響評価の必要な対象食品群、評価の目的を明確にした。

A 研究目的

将来、容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に関し健康影響評価を行なう場合、事前に評価の目的と対象食品や求める結果の範囲を明らかにし、現在知られている知見を系統的に整理する必要がある。食品の微生物学的危害に関するリスクアナリシスの枠組みにおいて、この作業は「リスクプロファイル作成」と位置づけられ、リスク管理機関の責任において行われるべきであると認識されている¹⁾。当分担研究では、容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に関するリスクプロファイルの作成を目的に、必要な項目を検討し、一部項目の記述を行なった。

B 研究方法

食品の微生物学的危害に関する国際的なリスク管理組織であるコーデックス食品衛生部会で、現在リスクプロファイルの草案として議論されている項目案を参照し、国内独自の健康評価に適するよう、またボツリヌスの特徴に合うよう、項目案を検討した。

一部の項目については、文献検索や海外の政府機関のホームページ等から情報を収集し、記載した。

C 研究結果

付表ならびに別添のように容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に関するリスクプロファイル（平成15年度版）を作成した。

D 考察

わが国においては、食品安全基本法の下に、食品の健康影響評価は内閣府食品安全委員会が行うものと定められた。厚生労働省は、法の定める場合には食品安全委員会に諮問を行なう必要がある。これは、国際的にはコーデックス食品衛生部会とFAO/WHO合同専門家会議との間で行なわれるリスクアセスメントの要請ならびに実施と同様の関係に位置付けられる。食品の微生物学的リスクアナリシスについては、リスクアセスメントの手法だけでなく、リスクマネジメントとリスクアセスメントとの相互関係についても、そのあり方が国際的にまだ議論されている段階にある¹⁾。わが国においても、食品安全委員会は発足後半年にしかならず、微生物関連案件については、これまでのところ2件の諮問があったのみである。リスクマネジメント機関としての厚生労働省と食品安全委員会との間で、諮問と答申のあり方について議論し、互いにモデルケースの提案をすべき時期にあると言える。また、その枠組みにおける厚生労働科学研究の意義と責務についても考えるべきであると思われる。

今回、近い将来、容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に関する健康影響評価を諮問することを想定し、厚生労働省が準備すべき科学的資料としてのリスクプロファイル作成を行なった。まだ未完成

ではあるが、健康影響評価の目的と範囲、対象食品、現時点のマネージメント体制、そして食品安全委員会に回答を求める質問事項及び解析を希望する事項を明確にしたことは、今後の諮問のあり方の一つのたたき台として位置付けられるものと考ええる。

E 参考文献

1 FAO and WHO Report of a Joint FAO/WHO Consultation Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts, 18 - 22 March 2002, Kiel, Germany (2002)

F 健康危険情報

特になし

G 研究発表

1 論文発表

①春日文字

微生物学的リスクアセスメントの普及に向けての世界の取り組み

バムサ会誌 第15巻、第2号、2-6、2003

②豊福 盛、春日文字

「食品衛生の規格、ガイドライン、関連文書の作成にあたっての微生物学的リスクアセスメントの活用に関する原則とガイドライン」に関する FAO/WHO 合同専門家会議報告

獣疫学雑誌 No 1、33-44、2003

③Kishimoto M, Hioki Y, Okano T, Konuma H, Takamizawa K, Kashio H, Kasuga F

Ribotyping and a study of transmission of

Staphylococcus aureus collected from food preparation facilities

J Food Protection, *in press*

2 学会発表

①春日文字

微生物学的リスクマネージメントにおけるリスクアセスメントの利用 - Food Safety Objective の導入について

第13回獣疫学会学術集会一般講演会、東京都、2003年4月

② I D Ogden, F Kasuga, M P Doyle, T H Pennington and N J C Strachan

Dose response modelling of *E. coli* O157 as a tool in outbreak epidemiology

VTEC 2003 (5th International Symposium on 'Shiga Toxin (Verocytotoxin) - Producing *Escherichia coli* Infections'), June 8-11, 2003, Edingburgh, Scotland

③F Kasuga, A Yamamoto, J Iwahori, V Vuddhakul, W Jaroenjiratrakul, S Kalnawakul, A Chowdhury, M Shigematsu, K Osaka, H Toyofuku, S Yamamoto, M Nishibuchi

Quantitative risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams in Southern Thailand

International Association for Food Protection 90th Annual Meeting, New Orleans, August 10-13, 2003

H 知的財産権の出願・登録状況

特になし

付表 容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に関するリスクプロファイル
(平成 15 年度版)

分担研究者 春日文子、小崎俊司

1 問題となる病原微生物・媒介食品の組み合わせについて

- 対象病原微生物
Clostridium botulinum
- この病原微生物による感染症もしくは食品衛生上の問題（食中毒など）に関与する食品または加工食品についての概略
pH 4.6 以上かつ水分活性 0.94 以上であり常温流通する容器包装詰低酸性食品、特に若干の気体透過性を有する容器包装に入れ、密封した後に 120℃ 4 分間に満たない条件で加圧加熱殺菌された食品（レトルト類似食品）

2 公衆衛生上の問題点について

- 当該病原微生物の、公衆衛生上に大きな影響を及ぼし得る鍵となる特性（病原性、毒素の性状、菌の増殖（毒素産生）抑制条件、温度抵抗性、薬剤抵抗性など）について
別添 1 菌の性状に要約する
- 引き起こされる疾病の特徴
 - 感受性人口（疾病に罹る可能性のある人々）
全ての日本人
 - 人における年間罹患率と年齢、性別、地域、季節間における、そのばらつきと違い
我が国における過去 20 年間の発生状況は、発生件数 26 件、患者数 100 人、死者数 12。なお、死者は昭和 61 年以降発生していない。（次年度早期に詳細記述予定）
 - 病原微生物への暴露による臨床症状、致死率、重症度、長期後遺症の性状と発生頻度
（次年度早期に記述予定）
 - 確立した治療方法およびその実用性
（次年度早期に記述予定）
 - 年間全症例中の食中毒の割合
全てが食品由来
- 食中毒の特徴
 - 食中毒の原因および疫学（加工、保存状況を含めた、原因食品の特徴 特性、調理方法、ハンドリングなど食品を介した伝播に影響を及ぼす事項について

の概略)

(次年度早期に記述予定)

- 集団食中毒の発生頻度と特性 (孤発性 / 散発性症例の頻度の割合も含む)
殆どが散発事例

3 食品製造、加工、流通と摂取

- リスクマネジメントに関与し、影響を与え得る媒介食品の特性

(芽胞の耐熱性、処理条件について次年度早期に詳細記述予定)

媒介食品の微生物学的安全性に影響を与える要素を含めた、生産から消費に至る連続過程 (一次生産過程、加工過程、流通・輸送、貯蔵・保存、調理など) の解説

- 原材料の汚染データ、
- 加工過程での加熱条件、pH、水分活性、酸素分圧
- 流通温度、期間

(上記項目について次年度早期に詳細記述予定)

- リスクに関して現在知られていること、例えば媒介食品の生産、加工、流通と消費者のハンドリングに関連してどの様にしてリスクが発生し、誰に影響を及ぼすか
(次年度早期に記述予定)

- 既存のリスクマネジメントの効果の範囲と有効性についての以下を含む要約 食品の生産と加工に関する食品衛生規範・基準、教育プログラムやセミナー、介入型公衆衛生プログラム (ワクチンなど)

<規格基準>

現在、我が国では容器包装詰加圧加熱殺菌食品 (いわゆるレトルト食品) について、当該食品に含まれる微生物に着目し、病原微生物はもとより腐敗細菌等当該食品中で増殖しうる微生物が存在しない状態、いわゆる商業的無菌状態を達成することにより、当該食品に含まれる微生物に起因した食中毒等食品衛生上の危害の発生を防止するために以下のとおり規格基準を設定している。

食品、添加物等の規格基準 (抜粋)

第1 食品

D 各条

- 容器包装詰加圧加熱殺菌食品

1 容器包装詰加圧加熱殺菌食品 (食品 (清涼飲料水、食肉製品、鯨肉製品及び魚肉ねり製品を除く。)) を気密性のある容器包装に入れ、密封した後、加圧加熱殺菌したものをいう。以下同じ。) の成分規格

容器包装詰加圧加熱殺菌食品は、当該容器包装詰加圧加熱殺菌食品中で発育し得る微生物が陰性でなければならない。この場合の微生物の試験法は、次のとおりとする。

試験法（略）

2 容器包装詰加圧加熱殺菌食品の製造基準

- (1) 製造に使用する野菜等の原料は、鮮度その他の品質が良好なものでなければならない。
- (2) 製造に使用する野菜等の原料は、必要に応じ十分に洗浄したものでなければならない。
- (3) 製造に当たっては、保存料又は殺菌料として用いられる化学的合成品たる添加物（次亜塩素酸ナトリウムを除く。）を使用してはならない。
- (4) 缶詰食品又は瓶詰食品以外の容器包装詰加圧加熱殺菌食品の容器包装の封かんは、熱溶解又は巻締めにより行わなければならない。
- (5) 製造の際に行う加圧加熱殺菌は、自記温度計を付けた殺菌器で行い、自記温度計によるその記録は3年間保存しなければならない。
- (6) 製造の際に行う加圧加熱殺菌は、次の二つの条件に適合するように加圧加熱殺菌の方法を定め、その定めた方法により行わなければならない。
 - 1 原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法であること。
 - 2 その pH が 4.6 を超え、かつ、水分活性が 0.94 を超える容器包装詰加圧加熱殺菌食品にあつては、中心部の温度を 120° で 4 分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法であること。
- (7) 加圧加熱殺菌後の冷却に水を用いるときは、飲用適の流水で行うか、又は遊離残留塩素を 10ppm 以上含む水で絶えず換水をしながらい行わなければならない。
- (8) 製造に使用する器具は、十分に洗浄したうえ殺菌したものでなければならない。

第3 器具及び容器包装

E 器具又は容器包装の用途別規格

- 1 容器包装詰加圧加熱殺菌食品（缶詰食品又は瓶詰食品を除く。以下この項において同じ。）の容器包装

容器包装詰加圧加熱殺菌食品の容器包装にあつては、次に掲げる条件のすべて（封かんが巻締めにより行われた容器包装にあつては(4)の条件を除く。）を満たすものでなければならない。

- (1) 遮光性を有し、かつ、気体透過性のないものであること。ただし、内容物が油脂の変敗による品質の低下のおそれのない場合にあつては、この限りでない。
- (2) 水を満たし密封し、製造における加圧加熱と同一の加圧加熱を行ったとき、

- 破損、変形、着色、変色などを生じないものであること。
- (3) 強度等試験法中の耐圧縮試験を行うとき、内容物又は水の漏れがないこと。
 - (4) 強度等試験法中の熱封かん強度試験を行うとき、測定された値が 23N以上であること。
 - (5) 強度等試験法中の落下試験を行うとき、内容物又は水の漏れがないこと。
ただし、容器包装が小売のために包装されている場合は、当該小売のための包装の状態のまま試験を行うこと。

(その他、広報啓蒙活動、ワクチンの現状について、次年度早期に記述予定)

4 食品安全委員会への諮問の必要性和諮問内容案

- リスクプロファイルに基づき、微生物学的リスクアセスメントがマネージャー側の必要とする情報の解析を十分に行い、希望する結果 内容の提供要件を満たす手段として適当であるかに対する見解と、計画しているリスクアセスメントによって求めている結果に対して、現況で想定できる提言および、それが実際の施策にどのように反映しえるかについての検討 容器包装詰低酸性食品、特にレトルト類似食品に対し、新たな規格基準の適用を図る際には、食品安全委員会における食品健康影響評価が必要とされている。(食品安全基本法)
- 仮にリスクアセスメントが必要であることが確認されたとして、マネージャー側からアセッサーへ問いかける初期の質問事項及び解析を希望する事項
 - 容器包装詰低酸性食品のうちレトルト類似食品は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品に含めるべきであるかどうか (すなわち容器包装詰加圧加熱殺菌食品の規格基準を適用すべきかどうか)
 - 容器包装詰低酸性食品のうちレトルト類似食品は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品とは別に独立した規格基準を作るべきであるかどうか
 - その他容器包装詰低酸性食品に対し、新たに規格基準を策定すべきであるかどうか

5 現在の入手可能な情報と、不足している知見および情報

- この病原体・媒介食品の組み合わせに対する、既存のリスクアセスメント
 - R C Whiting and J C Oriente Time-to-turbidity Model for Non-Proteolytic Type B Clostridium botulinum, International Journal of Food Microbiology (1997) 35 49-60
 - US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish, <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift2-toc.html> (2001)

- European Food Safety Authority Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to the effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products, *The EFSA Journal* (2003) 14 1-31,

http://www.efsa.eu.int/pdf/biohazard/opinion_biohaz_04_en.pdf

- リスクアセスメントを実行することも含め、リスクマネジメント活動を促進するその他の関連した科学的知見やデータの存在
平成 14 ならびに 15 年度小熊班研究報告書
- リスクマネジメントを行う上で欠如している情報
(次年度早期に記述予定)

6 参考文献

- ・ 武士甲一 ボツリヌス中毒、新訂食水系感染症と細菌性食中毒 (編集 坂崎)、中央法規、492-513 (2000)
ICMSF Clostridium botulinum, In Microorganisms in Foods 5 Characteristics of Microbial Pathogens, Blackie Academic & Professional, London, pp 66-125 (1996)
R C Whiting and J C Oriente Time-to-turbidity Model for Non-Proteolytic Type B Clostridium botulinum, *International Journal of Food Microbiology*, 35 49-60 (1997)
- ・ US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish, <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift2-toc.html> (2001)
European Food Safety Authority Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to the effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products, *The EFSA Journal* 14 1-31, http://www.efsa.eu.int/pdf/biohazard/opinion_biohaz_04_en.pdf (2003)

【菌の性状】

a) 定義・分類

偏性嫌気性グラム陽性の桿菌（0.8~1.2 x 4~6 μm）で、耐熱性芽胞を形成する。菌は産生する毒素の抗原性の違いによりAからG型の8型に分類されている。古くからC型とD型毒素間交差反応があり、これはC、D各型菌が免疫学的に異なる複数の毒素因子を産生することによると考えられていた。しかし、この交差反応はC、D型毒素間に存在する共通抗原部位に由来することが明らかになっている。同様にE、F型毒素間でも交差反応があることが指摘されている。ほとんどの全ての菌株は1種類の型の毒素を産生する。しかし、土壌、食中毒、乳児ボツリヌス症などの検体から例外的に2種類の毒素を産生する菌が分離されている。

b) 生化学的性状

ボツリヌス菌は生化学的な性状により4群に分類することができるが、毒素型による分類とは一致しない。第Ⅰ群菌には全てのA型菌とタンパク分解性B、F型菌が属し、最も耐熱性の高い芽胞を形成する。第Ⅰ群の株と *C. sporogenes* とは毒素産生以外の性状で区別することができない。第Ⅱ群には全てのE型菌と蛋白非分解性のB、F型菌が属している。発育至適温度は最も低く、形成する芽胞の耐熱性も最も低い。蛋白分解酵素の産生能を欠くため、毒素は毒性の低い、いわゆる「前駆体」の形で産生されるため毒素活性の測定にはトリプシンによる活性化が必要である。第Ⅲ群菌にはC、D型菌が属している。この群に属する菌の芽胞の耐熱性は第Ⅰ群菌と第Ⅱ群菌の中間の値を示す。菌の増殖に対する酸素許容量は低く、他の群の菌と比べて高い嫌気条件を要求する。*C. novyi* が極めて類似した性状を示す。第Ⅳ群菌としてG型菌のみが属している。他の群とは異なり糖非分解性でリパーゼを産生しない。第Ⅲ群菌と同様酸素に対する耐性が低い。G型菌は芽胞形成能が低く、また形成された芽胞の大部分は易熱性で一部の芽胞のみが耐熱性を獲得している。最近G型菌と遺伝学的に相同性のある菌群に対して *C. argentunense* の名称が提案された。この種には *C. subterminale* と *C. hastiforme* の毒素非産生菌が含まれる。欧米で発生した乳児ボツリヌス症から分離された菌の中で、ある種の *C. butyricum*、*C. barani* がそれぞれE、F型と非常に類似した毒素を産生することが明らかになっている。

単に分類学上の視点からでは、ボツリヌス菌の分類は不完全であるが、現在の分類は医学細菌学の研究者の利便や分類学上の混乱を避けるため残されている。

c) 分布・生態

芽胞は土壌、河川、湖沼、海岸地帯の堆積物、泥あるいは動物、鳥類の消化管内や魚類、甲殻類のえらなどから分離される。野生動物や鳥類の死体には通常多数の菌が存在し感染源になっている。温帯地方では時にはこのような死体の中で毒素が産生され、死体を摂取した動物で

散発的にボツリヌス症が発生し、また腐肉を食べる習性のある動物では大規模な発生も見られる。

蛋白分解性の第Ⅰ群菌は比較的雨量の少ない地域から分離される。アメリカではA型菌とB型菌に地理的分布に特徴が見られる。A型菌はロッキー山脈より西側でよく検出され、B型菌はミンソピー川から東部かけて分布している。土壌も菌の分布に影響を与え、A型菌は有機物の少ない中性からアルカリ性の土壌から、B型菌は有機物が比較的多い、酸性の土壌からよく分離される。ヨーロッパではA型菌の分布は非常に低い。B型菌はスイス、イタリアの土壌に第Ⅱ群菌に属する蛋白非分解性菌と混在しながら分布している。その他、ブラジル、アルゼンチン、ロシア、中国、台湾でA、B型菌、オーストラリア、ケニアでA型菌の存在が確認されている。我が国では秋田県下の土壌調査で低頻度ながらA型菌が検出されている。

第Ⅱ群菌は比較的水分および有機物の多い地域に分布している。最も分布調査が行われているE型菌はアメリカ、ヨーロッパ、ロシアなど北半球各地の海岸、湖沼に存在しているが、南半球のブラジル、アルゼンチン、オーストラリア、ニュージーランドでは検出されていない。我が国では食中毒の発生が多い北海道、東北地方の沿岸、湖沼から高頻度に検出されている。第Ⅱ群菌（B、E型菌）は他の群菌と比べ塩濃度に影響を受けやすく、海水の塩濃度（3.5%）条件下ではほとんど発育しないと思われる。このことは湖沼、河川、汽水域で菌の検出率が高いことを示唆している。

第Ⅲ群菌は淡水中の土壌や堆積物中で増殖すると考えられている。菌は気温の高い地域により分布している傾向がある。アメリカでは検出頻度は低いが、C型菌が南部の酸性土壌からD型菌が西部のアルカリ性土壌から検出された。オランダでは野生カモのボツリヌス症が発生した貯水池からC型菌が高頻度に検出されている。インドネシア、タイ、台湾、バングラディッシュ、ブラジルでC、D型菌の両方、あるいはC型菌が検出されている。第Ⅲ群菌の増殖は他の細菌（*Bacillus* 属菌など）に影響を受けやすく、実際イギリス、フランス、スペインの土壌中にC型菌の芽胞を接種後、検査しても毒素は検出されなかった。我が国では石川県下の湖の調査でC型菌が検出されている。また日本海沿岸、九州北部、瀬戸内海にもC型菌が分布している。

第Ⅳ群菌に属するG型菌はアルゼンチンとスイスの土壌から検出されている。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
小熊恵二, 武士甲一	ボツリヌス菌	松本慶蔵	病原菌の今 日的意味	医薬シャ ーナル社	大阪市	2003	289-305
小熊恵二, 武士甲一	ボソリヌス菌	日本小児 感染症学 会	小児感染症 マニュアル	(株)東京医 薬社	東京都	2003	91-110
小熊恵二, 藤永由佳 子, 井上 薫, 有満秀 幸, 阪口義 彦, 渡部俊 弘, 大山 徹, 武士甲 一	ボツリヌス毒 素の構造と標 的細胞に対す る作用		診断と治療 (特集)	診断と治療 社		2003	1231-1239
小熊恵二	ボソリヌス神 経毒素の放出 機序		日本医事新 報	日本医事新 報社		2003	99-100
小熊恵二	破傷風, ボソリ ヌス中毒, ガス 壊疽など	ユージン ブラウン ワルドほ か	ハリソン内 科学	メディカ ル・サイエ ンス・イン ターナシ ョナル		2003	951-960
小熊恵二	嫌気性菌(他)	伊藤正 男, 井村 裕夫, 高 久史磨	医学大辞典	医学書院		2003	

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujinaga Y, Inoue K, Watarai S, Sakaguchi Y, Arimitsu H, Lee J, Jin Y, Matsumura T, Kabumoto Y, Watanabe T, Ohyama T, Nishikawa A, <u>Oguma K</u> .	Molecular characterization of binding subcomponents of <i>Clostridium botulinum</i> type C progenitor toxin for intestinal epithelial cells and erythrocytes	Microbiol			In press
Arimitsu H, Lee J, Sakaguchi Y, Hayakawa Y, Hayashi M, Nakaura M, Takai H, Lin SN, Mukamoto M, Murphy T, <u>Oguma K</u>	Vaccination with recombinant whole heavy chain fragments of <i>Clostridium botulinum</i> type C and D neurotoxins	Clin Diagn Lab Immunol			In press
Inoue K, Sobhany M, Transue TR, <u>Oguma K</u> , Pederson LC, Negishi M	Structural analysis by X-ray crystallography and calorimetry of a hemagglutinin component (HA1) of the progenitor toxin from <i>Clostridium botulinum</i>	Microbiol	149	3361-3370	2003
Sagane Y, Hasegawa K, Mutoh S, Kouguchi H, Suzuki T, Sunagawa H, Nakagawa T, Kamaguchi A, Okasaki S, Nakayama K, Watanabe T, <u>Oguma K</u> and Ohyama T	Molecular characterization of GroES and GroEL homologues from <i>Clostridium botulinum</i>	J Protein Chem	22	99-108	2003
Woodward LA, Arimitsu H, Hirst R, <u>Oguma K</u>	Expression of Hc subunits from <i>Clostridium botulinum</i> types C and D and their evaluation as candidate vaccine antigens in mice	Infect Immun	71	2941-2944	2003
Arimitsu H, Inoue K, Sakaguchi Y, Lee J, Fujinaga Y, Watanabe T, Ohyama T, Hirst R, and <u>Oguma K</u>	Purification of fully activated <i>Clostridium botulinum</i> serotype B toxin for treatment of patients with Dystonia	Infect Immun	71	1599-1603,	2003
Furuse T, Hasebe S, Ohtsuki H, <u>Oguma K</u>	Passive length-tensile properties of extraocular muscles under botulinum toxin type C	Jpn J Ophthalmol	47	145-150	2003

ボツリヌス毒素およびボツリヌス中毒について

おぐま けいじ
小熊 恵二

岡山大学大学院医歯学総合研究科 病原細菌学

I ボツリヌス中毒

ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) は強力な神経毒素を産生し、ボツリヌス中毒 (botulism) をきたす。毒素の抗原性が異なることから、菌および毒素はA~G型に分類されるが、菌の生化学的性状は産生する毒素の型とは無関係で、通常、4群に分類される。近年、G型菌の性状は他のボツリヌス菌とは異なることから除外された。神経毒素の型の決定は、抗毒素血清を用いた中和試験によりなされるが、共通抗原による交差反応や、1菌株が時に2種類の毒素を産生することなどから混乱をきたすことがある。またPCRでは、毒素遺伝子が増幅されても成熟毒素が発現されていない場合もある。

ボツリヌス中毒には食餌 (事) 性ボツリヌス中毒 (food-borne botulism)、乳児ボツリヌス症 (infant botulism)、創傷 (性) ボツリヌス症 (wound botulism) の3つの形がある。この他、adult colonization- あるいは adult

intestinal toxicemia- 、 adult infectious-botulismなどと呼ばれる、成人に乳児ボツリヌス症と同様のことがおこるもの (ここでは成人腸管感染毒素型ボツリヌス症と命名)や、原因不明のこと (CDCはこれを classification undetermined botulismとしている) もある。

食餌性ボツリヌス症は典型的な“ (生体外) 毒素型中毒”である。最近では輸入品の汚染や、真空包装あるいはガス置換され気密性のある容器に密封されているが、レトルト食品のようにボツリヌス芽胞を死滅させるまでの加熱処理が行われておらず、かつ、pHが4-6以上の容器包装詰低酸性食品 (いわゆるレトルト類似食品) が問題になっている。私達は平成14年度より厚生労働省の研究費を頂き、市販の容器包装詰低酸性食品にボツリヌス芽胞を添加し、そのリスクを検討しているが、これまでの結果を紹介する。乳児ボツリヌス症は通常、2週以上1歳未満の乳児に発生する。離乳食などと一緒に

にA型あるいはB型芽胞が摂取され、これが乳児の腸内で発芽・増殖し、毒素を産生し中毒をきたすものである。創傷ボツリヌス症や成人腸管感染毒素型ボツリヌス症は希である。後者は先天的にあるいは手術により胃腸の解剖学的・生理学的状態が変化した、あるいは大量の抗生物質投与により腸内細菌叢が乱れたヒトに認められるものであり、通常の成人の腸内では菌は増殖しないと考えられていたが、最近、増殖したと思われる例が報告された。また、ボツリヌス菌以外の菌がボツリヌス毒素を産生し、中毒を起こすこともある。これらの例や私達が経験したC型菌による乳児ボツリヌス症などについて説明する。

II 毒素の構造と中毒発症機構

A～Gのすべての型の神経毒素は分子量約15万の易熱性の蛋白質であるが、食品中では無毒成分と結合し、分子量30万（12S毒素）、50万（16S毒素）、90万（19S毒素）のprogenitor toxinとして存在する。A型菌は3種の毒素を、B、C、D型菌は12Sと16S毒素を、E、F型菌は12S毒素のみを、またG型菌は16S毒素のみを産生する。12S毒素は、神経毒素に赤血球凝

集活性を示さない分子量約14万の無毒成分（私達はnon-toxic non-HAと命名している）が結合して形成される。この12S毒素に赤血球凝集活性を示す無毒成分（hemagglutinin, HA）が結合して16S、19S毒素が形成される。

経口摂取されたprogenitor toxinは胃を通過し、小腸上皮より吸収される。吸収されたprogenitor toxinは、胸管リンパ液中で神経毒素と無毒成分に解離し、その後、神経毒素は血行性に神経-筋接合部（end-plate）や自律神経節およびその末端に作用し、これらの部位でアセチルコリンの放出を阻害すると考えられている。

近年、神経毒素およびprogenitor toxinの遺伝子がクローン化され、その全塩基配列が決定された。また、各毒素が精製され、その一次～高次構造およびその機能が解明されてきた。これらについて説明する。

時間があれば、新しい毒素の検出方法や抗体の作製方法、毒素の治療への応用についても説明する。