

表1 植物抽出液の抗ボツリヌス菌作用

検体(和名)	学名	部位等	EtOH抽出液	熱水抽出液
セントジョーンズワート	<i>Hypericum perforatum</i>	葉	3+	-
カレーブランツ	<i>Helichrysum italicum</i>	葉	3+	-
ローズマリー	<i>Rosmarinus officinalis</i>	葉	3+	1+
ユーカリ	<i>Eucalyptus globulus</i>	葉	2+	2+
レモンユーカリ	<i>Eucalyptus gcitriodora</i>	葉	-	-
ミモザ	<i>Acacia baileyana</i>	葉	2+	2+
ナツメグゼラニウム	<i>Pelargonium fragrans</i>	葉	2+	2+
アップルゼラニウム	<i>Pelargonium odoratissimum</i>	葉	2+	1+
レモンゼラニウム	<i>Pelargonium crispum</i>	葉	2+	1+
パイナップルゼラニウム	<i>Pelargonium mollicomum</i>	葉	2+	-
ジンジャーゼラニウム	<i>Pelargonium nervosum torento</i>	葉	-	-
ハーブゼラニウム	<i>Pelargonium graveoklens</i>	葉	-	-
セージ	<i>Salvia officinalis</i>	香辛料	3+	-
チェリーセージ	<i>Salvia microphylla</i>	葉	1+	1+
ラベンダーセージ	<i>Salvia cv. Indigo Spires</i>	葉	2+	-
ゴールデンセージ	<i>Salvia officinalis icterina</i>	葉	-	-
ウッドセージ	<i>Teucrium canadense</i>	葉	-	-
パイナップルセージ	<i>Salvia elegans</i>	葉	-	-
ロシアンセージ	<i>Perovskia atriplicifolia</i>	葉	-	-
カラミンサ	<i>Calamintha grandiflora</i>	葉	2+	-
イブキジャコウソウ	<i>Thymus serpyllum</i>	葉	-	-
カモマイル	<i>Matricaria chamomilla</i>	花&葉	2+	-
クチナシ	<i>Gardenia jasminoides</i>	実	1+	-
サントリナ	<i>Santolina chamaecyparissus</i>	葉	1+	-
ヒソップ	<i>Hyssopus officinalis</i>	葉	-	-
ライムリーフ	<i>Oenothera spesiosa</i>	香辛料	-	ND
タラゴン	<i>Artemisia dracunculus</i>	香辛料	-	ND
フィファチ	<i>Piper retrofractum</i>	香辛料	-	ND
タイム	<i>Thymus vulgaris</i>	香辛料	1+	ND
オレンジタイム	<i>Thymus xcitricodorus</i>	葉	-	-
ステビア	<i>Stevia rebaudiana</i>	葉	-	-
シソ	<i>Perilla frutescens</i>	葉	1+	-
笹の葉	<i>Sasa veitchii</i>	葉	-	-
山椒	<i>Zanthoxylum piperitum</i>	香辛料	1+	-
肉桂	<i>Cinnamomum cassia</i>	香辛料	-	-
八角	<i>Illicium verum</i>	香辛料	-	-
ドクダミ	<i>Houttuynia cordata</i>	葉	-	-
メース	<i>Myristica fragrans</i> (種皮)	香辛料	3+	-
ナツメグ	<i>Myristica fragrans</i> (種子)	香辛料	3+	-
ベイリース	<i>Laurus nobilis</i>	香辛料	3+	2+
パプリカ	<i>Capsicum annuum</i>	香辛料	2+	-
アニス	<i>Pimpinella anisum</i>	香辛料	-	-
ペパーミント	<i>Mentha piperita</i>	葉	1+	-
スペアミント	<i>Mentha spicata</i>	葉	2+	-
アップルミント	<i>Mentha suaveolens</i>	葉	-	-
ラベンダー	<i>Lavandula angustifolia</i>	葉	-	-
黄連	<i>Coptis japonica</i>	漢方	-	3+
川棟子	<i>Melia azedarach</i>	漢方	-	-
銀杏	<i>Ginkgo biloba</i>	漢方	-	-
トウガラシ	<i>Capsicum annuum</i>	香辛料	-	-

3+:0.2%以下で完全抑制 2+:0.5-1.0%で完全抑制 1+:部分的増殖抑制 -:効果無し

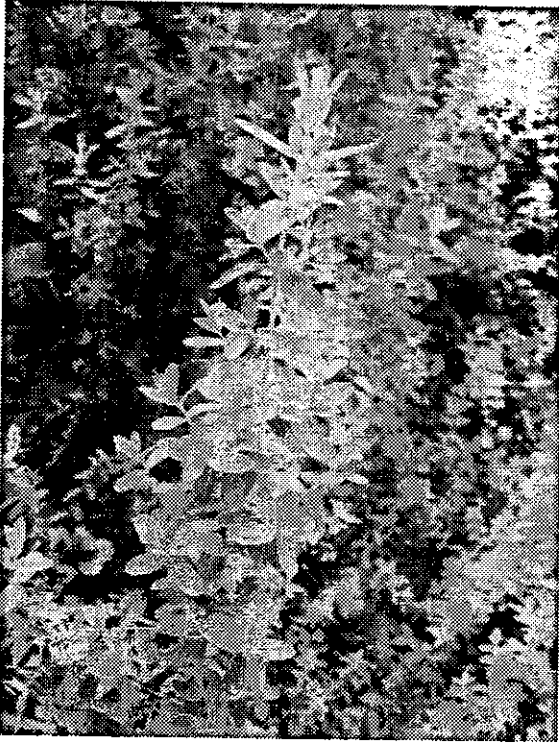


図1-1 セントジョーンズワート



図1-2 カレープランツ



図1-3 ユーカリ

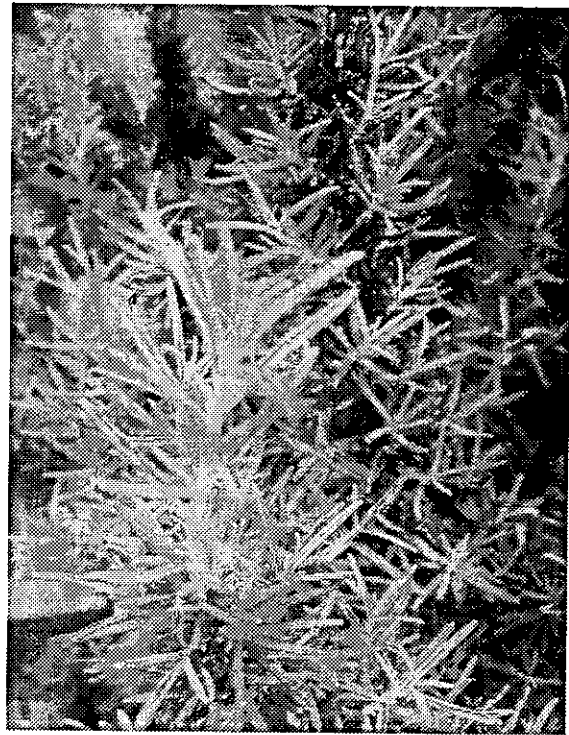


図1-4 ローズマリー

表2 植物抽出液の抗菌性に及ぼすpHの影響

試験培地: TPGY agar (NaCl 0%)

植物名 (エタノール抽出液)	pH	植物抽出液のMIC (%)						
		A	A (s)	A乳児	B	B (s)	F	C.spo
セントジョーンズワート	7	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	6	0.02	0.05	0.02	0.1	0.02	0.05	0.05
	5.5	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
カレープランツ	7	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
	6	0.05	0.05	0.02	0.02	0.02	0.05	0.05
	5.5	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
メース	7	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2
	6	0.1	0.05	0.1	0.2	0.05	0.2	0.2
	5.5	0.1	0.05	0.1	0.2	0.05	0.2	0.2
セージ	7	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
	6	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
	5.5	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
ナツメグ	7	0.2	0.1	0.2	0.5	0.05	0.5	0.5
	6	0.05	0.02	0.05	0.1	0.02	0.05	0.05
	5.5	0.05	0.02	0.05	0.05	0.02	0.05	0.05
ベイリーブス	7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	6	0.5	0.2	0.2	0.5	0.2	0.5	0.5
	5.5	0.5	0.2	0.2	0.5	0.2	0.5	0.5
パプリカ	7	1	0.5	0.5	△	0.5	0.5	0.5
	6	1	0.5	0.5	△	0.5	0.5	0.5
	5.5	1	0.5	0.5	△	0.5	0.5	0.5

A: 62A A (s): 62A 芽胞 A乳児: Kyoto B: Okra B (s): Okra 芽胞 F: Langeland
C.spo: *C.sporogenes* PA3679 △: 1%で発育抑制あり

表3 植物抽出液の抗菌性に及ぼすNaClの影響

試験培地: TPGY agar (pH 7.0)

植物名 (エタノール抽出液)	NaCl (%)	植物抽出液のMIC (%)						
		A	A (s)	A乳児	B	B (s)	F	C.spo
セントジョーンズワート	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	1	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
	2	0.1	0.1	0.02	0.1	0.1	0.05	0.1
カレープランツ	0	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
	1	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
	2	0.05	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
メース	0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2
	1	0.1	0.02	0.05	0.2	0.02	0.02	0.05
	2	0.05	0.02	0.02	0.05	0.02	0.02	0.02
セージ	0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
	1	0.05	0.05	0.05	0.1	0.05	0.05	0.1
	2	0.05	0.05	0.05	0.1	0.05	0.05	0.05
ナツメグ	0	0.2	0.1	0.2	0.5	0.05	0.5	0.5
	1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.05	0.1	0.1
	2	0.05	0.02	0.05	0.1	0.02	0.05	0.05
ベイリーブス	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	1	0.2	0.2	0.5	0.5	0.2	0.5	0.5
	2	0.1	0.1	0.1	0.5	0.1	0.1	0.1
パプリカ	0	1	0.5	0.5	△	0.5	0.5	0.5
	1	1	0.05	0.5	△	0.05	0.5	0.5
	2	1	0.05	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05

A: 62A A (s): 62A 芽胞 A乳児: Kyoto B: Okra B (s): Okra 芽胞 F: Langeland
C.spo: *C.sporogenes* PA3679 △: 1%で発育抑制あり

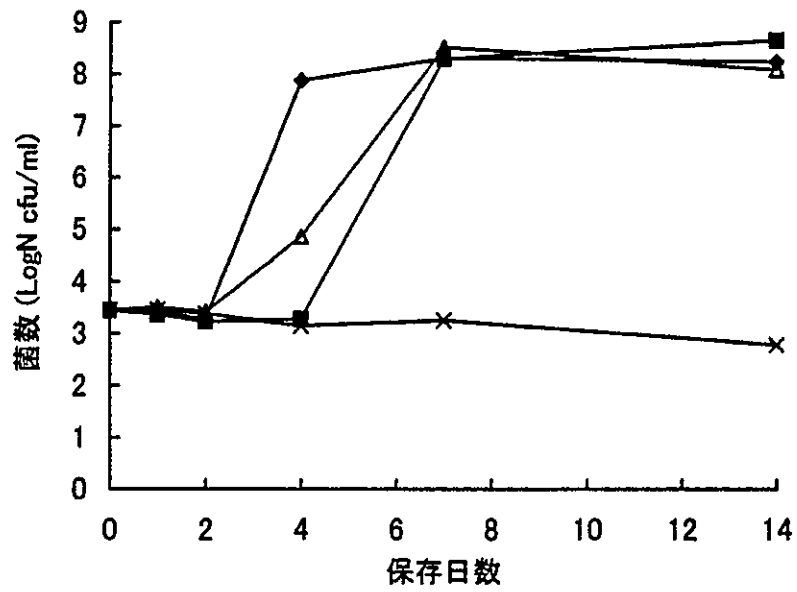


図3 亜硝酸塩とナツメグの併用効果 (62A株)

- ◆ コントロール
- ▲ ナツメグ 0.01%
- 亜硝酸塩 15ppm
- × ナツメグ0.01% & 亜硝酸塩15ppm

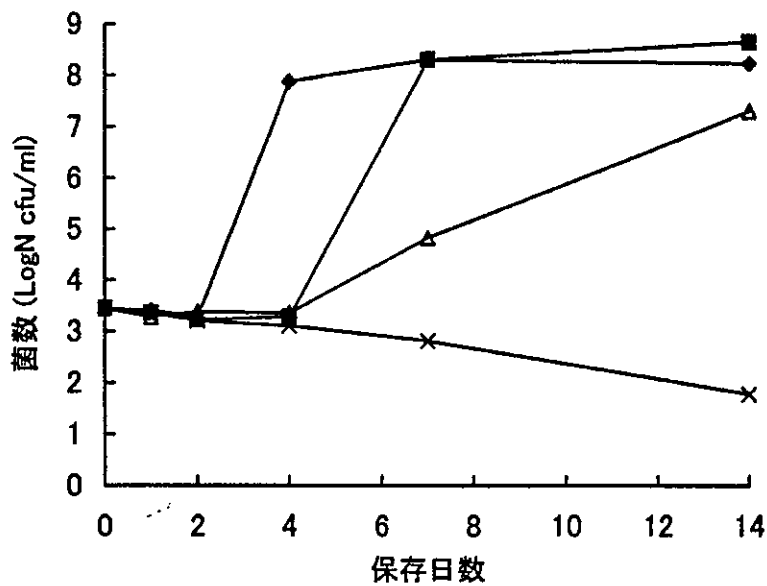


図4 亜硝酸塩とCP (カレープランツ) の併用効果 (62A株)

- ◆ コントロール
- ▲ CP 0.01%
- 亜硝酸塩 15ppm
- × CP0.01% & 亜硝酸塩15ppm

表6 日本ソバのボツリヌス菌芽胞接種試験

検体処理内容					理化学・細菌試験						
区分	処理内容	検体数	番号	試験項目	保存日数	容器変化	SPC(cfu/g)	Clt(cfu/g)	毒性試験	pH	Aw
	無処理	3	JS-46	理化学試験	0日	NT	NT	NT	NT	5.0	1.00
			JS-47							5.0	1.00
			JS-48							5.0	1.00
A	無処理	3	JS-40	細菌試験 (陰性確認)	0日	NT	<10	<10	陰性	NT	NT
			JS-41							NT	NT
			JS-42							NT	NT
B	無処理	3	JS-43	保存試験 (未開封)	(90日) 継続中	[無し]					NT
			JS-44			[無し]					NT
			JS-45			[無し]					NT
C	開封 DW接種	3	JS-34	細菌試験 (開封操作確認)	0日	NT	<10	<10	NT	5.1	NT
			JS-35							<10	NT
			JS-36							<10	NT
D	開封 DW接種	3	JS-37	保存試験 (開封)	(90日) 継続中	[無し]					NT
			JS-38			[無し]					NT
			JS-39			[無し]					NT
E	開封 芽胞接種	3	JS-31	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	NT	<10	7.8×10 ³	NT	5.1	NT
			JS-32							<10	NT
			JS-33							<10	NT
F	開封 芽胞接種		JS-1	細菌試験	36日	無し	<10	2.6×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-2		64日	無し	<10	4.8×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-3		64日	無し	<10	8.1×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-4		(90日)	[無し]					NT
			JS-5		(90日)	[無し]					NT
			JS-6		36日	無し	<10	3.1×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-7		64日	無し	<10	4.4×10 ³	陰性	4.8	NT
			JS-8		64日	無し	<10	8.5×10 ³	陰性	4.8	NT
			JS-9		(90日)	[無し]					NT
			JS-10		(90日)	[無し]					NT
			JS-11		36日	無し	<10	3.1×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-12		64日	無し	<10	5.5×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-13		64日	無し	<10	5.8×10 ³	陰性	4.8	NT
			JS-14		(90日)	[無し]					NT
			JS-15		(90日)	[無し]					NT
			JS-16		36日	無し	<10	5.6×10 ³	陰性	4.9	NT
			JS-17		64日	無し	<10	5.4×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-18		64日	無し	<10	5.5×10 ³	陰性	5.0	NT
			JS-19		(90日)	[無し]					NT
			JS-20		(90日)	[無し]					NT
JS-21	36日	無し	<10	3.8×10 ³	陰性	4.9	NT				
JS-22	64日	無し	<10	8.5×10 ³	陰性	5.0	NT				
JS-23	64日	無し	<10	3.4×10 ³	陰性	4.8	NT				
JS-24	(90日)	[無し]					NT				
JS-25	(90日)	[無し]					NT				
JS-26	(90日)	[無し]					NT				
JS-27	(90日)	[無し]					NT				
JS-28	(90日)	[無し]					NT				
JS-29	(90日)	[無し]					NT				
JS-30	(90日)	[無し]					NT				

SPC:一般生菌数 Clt:嫌気性菌数(クロストリジヤ数)
(90日)は保存実験継続中



図5-1
カスタードプディング
(検体)



図5-2
カスタードプディング
(陽性検体：CP-13&14)
(保存5日目)
(破裂および液体漏出)

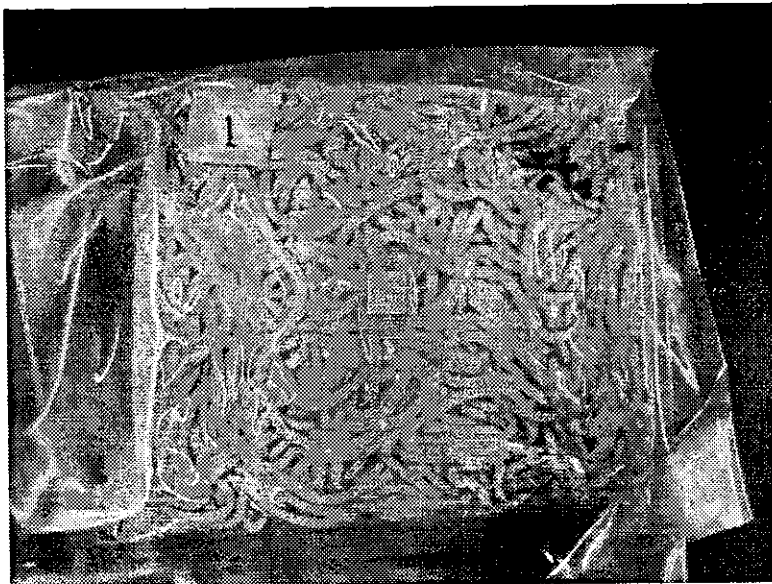


図5-3
ゆで日本そば
(検体)

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食品衛生管理部第三室長

研究要旨

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アセスメント手法として適切なあり方を提言するために、微生物学的リスクアセスメントの方法やタイプを検討した。またリスクアセスメントのために必要な情報を整理することを目的に、レトルト類似食品を対象としたリスクプロファイルを作成した。さらに、レトルト類似食品以外の容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒のリスク評価のあり方について考察した。

A. 研究目的

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前提に、当分担研究では、適用可能な微生物学的リスクアセスメントのタイプや手法を検討し、また諮問の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ためのリスクプロファイルを作成することを目的とした。

B. 研究方法

文献や国内外の政府機関、国際機関のホームページ等から、現在発表されている微生物学的リスクアセスメントの事例を検索し、比較検討した。また、コーデックス食品衛生部会において、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、我が国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。

C. 結果

平成 14 年度

ボツリヌス毒素は、食品中に存在することが許されないものであるため、そのリスクアセスメントは半定量的に行なわれ、アメリカ FDA によって行われた *Listeria monocytogenes* リスクアセスメントのように、対象食品のリスクを比較検討するリスク

ランキングが適用可能であると考えられた。

平成 15 年度

前年度の研究班の結果から、レトルト類似食品を優先的に考慮すべきという判断がなされ、6 月 30 日付で通知が出されたことから、この食品に限定したリスク評価を前提にリスクプロファイル作成を開始した。

平成 16 年度

レトルト類似食品のボツリヌス食中毒に関するリスクプロファイルを完成させた。さらに、レトルト類似食品以外の容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒のリスク評価のあり方、ならびに規格基準の設定のあり方について考察した。

D. 考察ならびに結論

今回、近い将来、食品安全委員会に対し、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。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する。

研究成果の刊行に関する一覧表

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	ボツリヌス菌 感染症と免疫.		日本医事新 報 No. 4212.	日本医事新 報社		2005	95-97.
小熊恵二	ボツリヌス毒 素およびボツ リヌス中毒に ついて。(特別 講演)	日本食品 微生物学 会	日本食品微 生物学会雑 誌.	日本食品微 生物学会雑 誌		2004	1-7
武士甲一, 小熊恵二	食中毒/細菌 性食中毒/ボ ツリヌス食 中毒.		家庭医学大 全科.	法研出版		2004	
小熊恵二	ボツリヌス症	木村哲, 喜田宏 (編)	人獣共通感 染症,	医薬ジャー ナル社		2004	
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	医薬ジャー ナル社		2003	289-305
小 熊 恵 二、武士 甲一	ボツリヌス菌	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	大阪市	2003	91-110
小 熊 恵 二、藤永 由佳子、 他	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	ボツリヌス神 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、ボツ リヌス中毒、 ガス壊疽など	ユージン ブラウン ワルド、 他	ハリソン内 科学	メ デ ィ カ ル・サイエ ンス・イン ターナシヨ ナル		2003	951-960
小熊恵二	嫌気性菌、他	伊 藤 正 男、他	医学大辞典	医学書院		2003	
小熊恵二	細菌の蛋白お よび DNA の分 泌・注入様式 について;タイ プ I~IV シ ステム		トピック総 説			2002	4 : 36-40

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Suzuki T, Watanabe T, Mutoh S, Hasegawa K, Kouguchi H, Sagane Y, Fujinaga Y, <u>Oguma K</u> , and Ohyama T.	Characterization of the interaction between subunits of the botulinum toxin complex produced by serotype D through tryptic susceptibility of the isolated components and complex forms.	Microbiol			In press
Fujinaga Y, Inoue K, Watarai S, Sakaguchi Y, Arimitsu H, Lee J, Jin Y, Matsumura T, Kabumoto Y, Watanabe T, Ohyama T, Nishikawa A, and <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	150	1529-1538	2004
Arimitsu H, Lee J, Sakaguchi Y, Hayakawa Y, Hayashi M, Nakaura M, Takai H, Lin SN, Mukamoto M, Murphy T, and <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.	11	496-502	2004
Nishikawa A, Uotsu N, Miura Y, Arimitsu H, Lee J, Fujinaga Y, Nakada H, Ohyama T, Sakano Y, and <u>Oguma K</u> .	The receptor and transporter for internalization of <i>Clostridium botulinum</i> type C progenitor toxin into HT-29 cells.	Biochem. Biophysic Res. Communi.	319	327-333	2004
Hasegawa K, Watanabe T, Sato H, Sagane Y, Mutoh S, Suzuki T, Yamano A, Kouguchi H, Takeshi K, Kamaguchi A, Fujinaga Y, <u>Oguma K</u> , and Ohyama T.	Characterization of toxin complex produced by a unique strain of <i>Clostridium botulinum</i> serotype D 4947.	Protein J.	23	371-378	2004
Inoue K, Sobhany M, Transue TR, <u>Oguma K</u> , Pedersen LC, and 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	3361-70	2003
Woodward L. A, Arimitsu H, Hirst R, and <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, and <u>Oguma K.</u>	Passive length-tensile properties of extraocular muscles under botulinum toxin type C.	Jpn. J. Ophthalmol.	47	145-150	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
Mahmut N, Inoue K, Fujinaga Y, Arimitsu H, Sakaguchi Y, Hughes L, Hirst R, Murphy T, Tsuji T, Watanabe T, Ohyama T, Karasawa T, Nakamura S, Yokota K, and <u>Oguma K.</u>	Mucosal immunisation with <i>Clostridium botulinum</i> type C 16S toxoid and its non-toxic component.	J. Med. Microbiol.	51	813-820	2002
Sagane Y, Watanabe T, Kouguchi H, Sunagawa H, Obata S, <u>Oguma K.</u> and Ohyama T. Biochem.	Spontaneous nicking in the nontoxic-nonhemagglutinin component of the <i>Clostridium botulinum</i> toxin complex.	Biophysic Res. Communi.	292	434-440	2002
Mahmut N, Inoue K, Fujinaga Y, Hughes L, Arimitsu H, Sakaguchi Y, Ohtsuka A, Murakami T, Yokota K, and <u>Oguma K.</u>	Characterisation of monoclonal antibodies against haemagglutinin associated with <i>Clostridium botulinum</i> type C neurotoxin.	J. Med. Microbiol.	51	286-294	2002

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	ボツリヌス 菌、ボツリヌ ス毒素		化学療法 の 領域			2002	
小熊恵二	「特集 2」ボツ リヌス療法の 現状と将来の 展望 ボツリ ヌス毒素の基 礎知識		脳 21			2002	5 : 53-60
武士 甲 一、牧野 壮一、小 熊恵二、 他	食品細菌の自 動検査装置「バ クテクター」 開発		食品工業				45 : 1-10
小熊恵二	乳児ボツリヌ ス症	別 所 文 雄、他	小児科臨床	日本小児医 事出版社	東京	2002	1291-1300
小熊恵二	概説 III 細菌 毒素の応用、 ボツリヌス毒 素、C3 酵素	櫻井純、 他	細菌毒素ハ ンドブック	サイエンス フォーラム	東京	2002	