

厚生労働科学研究補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

食品中の毒素産生微生物および試験法に関する研究

平成25年度

分担研究報告書

新型下痢毒素産生性ウエルシュ菌による食中毒事例  
の解析と原因ウエルシュ菌株のゲノム解析

岩手大学農学部

鎌田 洋一



厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

「食品中の毒素産生微生物及び試験法に関する研究」

分担研究報告書

新型下痢毒素産生性ウエルシュ菌による食中毒事例の解析と  
原因ウエルシュ菌株のゲノム解析

分担研究者 鎌田 洋一 岩手大学農学部 共同獣医学科 教授

協力研究者 長井 和哉 岩手大学農学部 技術室 技術員  
門間 千枝 東京都健康安全研究センター 微生物部 主任研究員  
仲真 晶子 東京都健康安全研究センター 微生物部 科長  
鈴木 康規 東京都健康安全研究センター 微生物部 研究員  
甲斐 明美 東京都健康安全研究センター 微生物部 部長  
堀口 安彦 大阪大学微生物病研究所 分子細菌毒素学領域 教授

研究要旨: ウエルシュ菌食中毒は、エンテロトキシン産生性のウエルシュ菌によって発生するものと認知されてきた。1997年に起こった事例では、ウエルシュ菌が原因菌の可能性が非常に高いにもかかわらず、分離株はエンテロトキシン遺伝子を持たず、また、産生もしなかった。同様の事例を検証した。現在まで計4事例発生しており、いずれもエンテロトキシン遺伝子を持たず、同タンパク質の産生も認められなかった。分離菌が、新種の下痢誘発性毒素を産生していることにも確証が得られた。これらの事例は、エンテロトキシン産生性ウエルシュ菌のみを対象とする試験法には不備があること、したがって、現在のウエルシュ菌食中毒の疫学情報は不完全で、この度の事例も含んだ解析が必要となる。事例分離菌株 W5052 株の部分的ゲノム解析を行った。W5052 株は約 3 M bp の大きさの染色体と、少なくとも 2 種類のプラスミドを保有することが明らかになった。ゲノム中にはエンテロトキシン遺伝子は存在しなかった。新種の下痢誘発性毒素遺伝子の種間伝播ならびに毒素遺伝子の変異など、ゲノム解析を通じて明らかにできる可能性が示された。

## A . 研究目的

ウエルシュ菌食中毒は、我が国では、年間約 30 件程度発生している。発生件数は多くはないものの、一事件あたりの患者数が多い。過去には 1,000 名を越す患者数を示した事例もある<sup>1)</sup>。原因食は、カレーやシチュー、煮込み料理、惣菜、仕出し弁当などである。これらの原因食には2つの共通点がある。原因施設は、仕出し製造工場や、学校・刑務所などの給食施設の整った施設になっている。原因食品と原因施設の種類の、ウエルシュ菌食中毒発生機構を反映してのものとなる。ウエルシュ菌は芽胞の形態で土壌に広く分布する。そのため、農産品、食品工場、仕出し施設をウエルシュ菌は汚染する。芽胞の食品への付着、施設の持ち込みは、避けることができない。食材を加工する際、加熱するが、ウエルシュ菌芽胞は、調理時の加熱では殺菌できない。周辺の共存菌が殺菌される中、ウエルシュ菌芽胞は、加熱によって発芽が促進される。仕出し工場や給食施設では、大量の調理を一度に行う。大型の調理機器は、高さがあり、機器の底辺部分は嫌気度が増す。ウエルシュ菌は、発育指摘温度が 40 数 で、一般の細菌より高い。「深鍋で加熱され、大量の食材の量で、また、粘性の高い所品で、加熱料理後ゆっくりと冷却されるような食品とその条件が、ウエルシュ菌食中毒発生を生み出す。

ウエルシュ菌食中毒の研究は長く、その原因物質は 1960 年代に明らかにされている。すわなち、分子量が 30 K Da 程度

の、タンパク質毒素で、毒素そのものは易熱性で、80 10 分の加熱で失活する。毒素は事例菌株の培養液中に分泌される。そのため、培養液を、ウサギ腸管ループテストに供すると、強い陽性反応、すなわち下痢原生を示す。この毒素はエンテロトキシンと呼ばれる。エンテロトキシンについても、精力的に研究が行われ、受容体を保持する Vero 細胞では細胞致死毒性を示し、受容体を持たない L929 細胞では、高濃度のエンテロトキシンによっても細胞毒性が見られないことがわかっている<sup>2)</sup>。

ウエルシュ菌食中毒と診断する場合、患者便および推定原因食品から、ウエルシュ菌を分離し、菌株がエンテロトキシン遺伝子を保有すること、所定の毒素産生培地に接種し、エンテロトキシン産生性を確認することが必須の検査項目になっている。遺伝子検査には PCR 法が、エンテロトキシン産生性については、抗体を利用しての逆受け身ラテックス凝集テスト (RPLA テスト) が実施される。

1997 年に、東京都で発生したウエルシュ菌食中毒がある。患者症状が下痢・腹痛、原因施設が飲食店であること、原因食が弁当であること、平均の潜伏時間が 15 時間程度であったことは、典型的ウエルシュ菌食中毒を推測させるものであった。患者便から分離した菌株について、エンテロトキシン遺伝子の有無、および培養液中のエンテロトキシンの有無を試験したところ、いずれも陰性を示した。一方、当該菌株を培養し、その濾過滅菌液につ

いて、ウサギ腸管ループ試験を行ったところ、陽性反応を示した。濾過滅菌培養液は RPLA テスト陰性で、菌株から抽出した DNA 検体についての、エンテロトキシン遺伝子検査も陰性だった。培養液は Vero 細胞および L-929 細胞に毒性を示した。以上の結果は、ウエルシュ菌は、エンテロトキシンでなく、未同定の、新型エンテロトキシンを産生し、食中毒を発生させる可能性を示唆している。

以上の見地から、本厚生労働科学研究では、事例菌株の部分的ゲノム解析、部分精製毒素標品のタンパク質の網羅的検索を通じて、新型毒素を同定した。新型毒素は2種類の成分から構成される、2コンポーネント毒素であることが示されている<sup>3)</sup>。

本研究の目的は、上記のような、非エンテロトキシン産生性のウエルシュ菌食中毒事例を収集し、その実態を明らかにすることにある。さらに、事例菌のゲノム解析を行い、毒素遺伝子伝播機構を明らかにすることを目的とする。

## B . 実験方法

### 1 . 東京都における食中毒事例で、ウエルシュ菌が分離された事例

東京都健康安全研究センター食中毒得研究室では、都内で発生した食中毒の、患者材料および推定原因食品からの菌分離を行っている。患者の呈した症状、潜伏期、原因食、患者規模から、ウエルシュ菌食中毒と推定され、上記材料からウエルシュ

菌が分離された例について、その分離株について、エンテロトキシン遺伝子検査および、毒素産生培地中での、エンテロトキシン産生を調べた。その結果、エンテロトキシン遺伝子陰性、エンテロトキシン産生性陰性の事例をまとめた。

### 2 . ウサギ腸管ループ試験

分離ウエルシュ菌株を変法 DS 培地<sup>4)</sup>で培養し、フィルターろ過滅菌(ポアサイズ 0.45  $\mu\text{m}$ )し、検体とした。ウサギ(日本在来種、オス、体重 1.5~2.0 Kg)をペントバルビタール麻酔下で回復し、空腸を体外に取り出した。5~10 cm 程度の間隔で、腸管を結紮し、ループを作製した。各ループに、検体 1.0 ml を接種した。検体は、上記の変法 DS 培地の培養液で、陰性対象に、Phosphate buffered saline (PBS)を、陽性対象にコレラ毒素(Sigma)を使用した。各検体をループ内に接種後、腸管を腹腔内に戻し、閉腹した。約 18 時間後、ペントバルビタール麻酔液の大量静脈内投与でウサギを安楽死させた。接種した腸管ループを取り出し、腸管ループの腫脹や内部の液体貯留の状況を写真にて記録した。

### 3 . ウエルシュ菌エンテロトキシン遺伝子検出

分離したウエルシュ菌を、Brain Heart Infusion 培地 (BHI、BD) に接種し、好気状態で 24 時間培養した。1.5 ml の培養液を、10,000xg、10 分間、遠心分離を行った。上清を捨て、回収した菌体を 100  $\mu$

1 の Milli-Q 水で懸濁し、95℃、10 分間加熱した。10,000xg、10 分間遠心分離を行い、上清を回収し、ウエルシュ菌 DNA テンプレートとした。

エンテロトキシン遺伝子の検出には、ウエルシュ菌エンテロトキシン遺伝子検出キット(タカラバイオ)を用いた。テンプレートの量、および PCR の条件は、キットの取り扱い説明書に準じた。毒素遺伝子の検出にはアガロースゲル電気泳動法を用いた。

#### 4 . 分離菌株のエンテロトキシン産生試験

分離菌は、Cocked Meat Medium に接種して保存した。保存菌液を BHI 培地に接種し、37℃ 24 時間、好氣的条件で培養した。変法 DS 培地に、BHI 培地での培養液を、1 / 10 量接種し、37℃ 24 時間培養した。培養液を 10,000xg、10 分間遠心分離し、上清を回収、毒素検査材料とした。

培養液中のエンテロトキシンタンパク質は、RPLA 反応を利用したキット(デンカ生研)を用いた。培養液の希釈には 96 ウェル(尖底)プレートを用いた。ウェルに培養液を 25  $\mu$ l を加え、さらに、キット添付の希釈液を 25  $\mu$ l 加えて、検体の 2 倍希釈を作製した。同様の操作を繰り返し、段階希釈を 2 列作製した。各ウェルに、キット添付の抗エンテロトキシン抗体結合ラテックスおよび、陰性コントロールとして、未感作(抗体が結合していない)ラテックスを、おのおの 25  $\mu$ l 添加し、混合後、室温にて 24 時間静置した。

希釈液に加えたラテックス粒子を入れたウェルを凝集反応陰性指標に、また、キット中に含まれるエンテロトキシン溶液での反応を凝集反応陽性指標にして、分離菌培養液中のエンテロトキシン産生性を検証した。

#### 5 . 細胞致死試験

研究室保有中の Vero 細胞および L929 細胞を用いた。Dulbecco 変法 MEM 培地(DMEM 培地、Sigma)に、10% Fetal Bovine Serum (FBS、Difco)を加え培地を、両細胞の培養に用いた。通常法方法で継代中のそれぞれの細胞を、1 x 10<sup>5</sup> cell/ml に培地で希釈し、96 ウェルプレートに 100  $\mu$ l / well の割合で播種した。5 %CO<sub>2</sub> インキュベータ内で 1 晩培養後、ウェルあたり 10  $\mu$ l の割合で、上記変法 DS 培地で培養した検液を添加した。さらに 24 時間培養を継続し、その後、両細胞への、ウエルシュ菌培養上清の効果を判定した。培地添加時に、陽性対象として、ウエルシュ菌エンテロトキシン(Sigma)を用いた。

#### 6 . ゲノム解析

1997 年に発生した事例より分離した株 W5052 株の部分的ゲノム解析を行った。同菌株を BHI 培地で 37℃ 24 時間培養した。培養液について 10,000 rpm10 分の遠心分離を行い、上清を捨て、菌体を回収した。DNA 抽出キットとして、DNeasy Blood&Tissue Kit(Qiagen)を用い、菌体からゲノム DNA を回収した。

解析として、Shotgun 法と Mate-pair 法

を用いた。上記のゲノム DNA について、Mata-pair 用のライブラリーを作製し（Rhche 社に依頼）解析の対象とした。

Rhche 社の GS Junior を用い、W5052 株のゲノムを解析した。シークエンス解析には機器付属のソフトウェア（GS Junior Software 2.7）の一部を利用した。ウエルシュ菌ゲノムの比較を行った。比較対象は、すでにシークエンスデータが公表されているウエルシュ菌 St.13 株とした<sup>5)</sup>。

## C . 結果

### 1. エンテロトキシン非産生性のウエルシュ菌による食中毒事例

1997 年以降、2003、2009、2010 年に事例が発生した。表 1 にその概要を整理した。

事例は、その患者皆 11 名と小規模のものから、84 名と 100 名に近い大規模型食中毒の様式を示した。原因施設は飲食店であることも、ウエルシュ菌食中毒の共通の性状を示した。原因食品はローストビーフおよび煮物と、これらもウエルシュ菌食中毒の代表的原因食品になっていた。

4 事例ともに患者は下痢および腹痛を示し、平均の潜伏時間が約 10 時間から 15 時間と、これらも通常のウエルシュ菌食中毒患者が示すものの特徴を示した。

### 2 . 4 事例株における変法 DS 培地培養液の腸管毒性

4 事例から分離した、各 1 株について、変法 DS 培地における培養液について、腸管ループ試験を実施した。コレラ毒素を接種したループと同様、各事例分離株の培養液は、ループを腫張させた。また、ループ内部に液体を貯留させた。

### 3 . 4 事例からの分離株のエンテロトキシン遺伝子保有とエンテロトキシン産生性

4 事例からは、患者材料から、5~10 株程度の菌株を分離した。おのおのの菌株について、加熱抽出法によってテンプレート DNA を調製し、PCR を実施した。いずれの菌株も、キットが指示するサイズの DNA の増幅を確認できなかった。

分離菌株の変法 DS 培地培養液中のエンテロトキシンの存在を、抗体を用いた RPLA 法で検討したところ、いずれの菌株の培養液においても、RPLA 法 陰性を示し、エンテロトキシンの産生は確認できなかった。

### 4 . 4 事例株における変法 DS 培地培養液の細胞毒性

4 事例から分離した、各 1 菌株について、変法 DS 培地で培養し、その培養液の Vero 細胞および L929 細胞への毒性を検証した。市販のウエルシュ菌は Vero 細胞へ毒性を示した。一方、L929 細胞には変化を与えなかった。この現象はすでに確認されており<sup>2)</sup>、L929 細胞にはエンテロトキシン受容体が存在しないことで、L929 細胞への致死毒性が発現しないと説



明されている。一方、この度の4事例からの分離菌株を、変法DS培地で培養して得た培養液を、Vero細胞およびL929細胞の培地中に添加したところ、両細胞への致死作用が観察された。

## 5. 事例株のゲノム解析

Shotgun シーケンシング法で、W5052株のゲノム情報を得た。平均のリード数（一回あたりに読み取れた塩基配列の数）は472 bpだった。全読み取り塩基数は68 Mbpを示した。それらの配列を、付属のソフトGS de novo Assemblerで処理をしたところ、17種類のScaffoldを得た。Scaffoldは、信頼性のある塩基配列の固まりを示している。17種のサイズは、2 Kbpから3.2 Mbpの間に分布した。Scaffoldの塩基サイズが大きいものは染色体を、小さいものはプラスミドを示唆する。

同様の解析をMate-pair法で実施した。平均リード数は451 bp、読み取った全塩基数は90 Mbpを示した。Mate-pair法とShotgun法の双方で得た配列を合わせて、de novo Assembleで解析したところ、scaffoldは3種にまで減少した。具体的には約310万bp、約5万4千bp、および約1万2千bpのScaffoldを示した。

これら3種のScaffoldに対し、GS Reference Mapperを用いて、ウエルシュ菌St.13株ゲノムとのマッピングを行い、塩基配列の相同性を比較した。それぞれを図に示す（図1、2、3）。最も塩基数の多いScaffoldは、SM101株との比較か

ら、染色体であることが推察された。他の2種のscaffoldは、塩基サイズから、プラスミドと推察された。

## D. 考察

ウエルシュ菌は各種の毒素を産生する。それら毒素のうち、食中毒を誘発する直接の毒素がエンテロトキシンで、腸管粘膜上皮細胞に障害を与え、下痢を誘発することがわかっている。ウエルシュ菌食中毒は、エンテロトキシン産生性のウエルシュ菌生菌が、食品とともに人体に取り込まれ、腸管内で増殖し、エンテロトキシンを産生することによって発症する。一方、ウエルシュ菌は環境中や糞便中にも存在する。それらの、食中毒とは無関係のウエルシュ菌では、エンテロトキシン遺伝子は保持せず、毒素産生を誘発しやすい培地に接種してもエンテロトキシン産生は認められない。したがって、ウエルシュ菌食中毒を起こす菌株は、必ずエンテロトキシン遺伝子を保有し、かつ、毒素産生培地でのエンテロトキシン産生が確認できる。

ウエルシュ菌食中毒は、腸管内での増殖と毒素産生のために、ブドウ球菌やセレウス菌毒素性食中毒より長時間の潜伏期を示すのが通常である。前者は早いと喫食後30分程度で症状の発現をみるが、ウエルシュ菌では平均的に10時間程度の潜伏時間を要するとされている。症状は、水様性下痢、洪り腹と呼ばれる腹痛を主とする。予後はよい。

ウエルシュ菌食中毒は、原因食品に特徴を持つ。ウエルシュ菌は耐熱性の芽胞を産生する。食材に同菌芽胞が含まれて、加工調理される際、加熱により共存菌の死滅、芽胞の加熱による活性化と一斉増殖が起こる。そのため、原因食には肉、野菜等の煮込み料理や、ローストビーフなどの加熱加工食品がある。

ウエルシュ菌食中毒は、原因施設にも特徴がある。家庭での発生は通常みられない。上述のように、加工加熱する食品がウエルシュ菌の原因食となるのであるが、嫌気性菌のウエルシュ菌の食品内増殖を許す条件があり、食品内嫌気度を上昇させる大量調理施設が該当する。同施設では、容量の大きな調理器具を使用する。同器具は高さがあり、大気の器具底部への浸透が弱い。加熱によって排出された酸素が、再び食品内に浸透する際に、深さのある調理器具は食品内嫌気度を高く保つ危険性がある。さらに、カレー、シチュー、煮物のように、粘性の高い食品は、大気の浸透を妨げる。飲食店、給食施設、仕出し弁当をつくる調理施設が、ウエルシュ菌食中毒の原因施設になりやすい条件は、ウエルシュ菌固有の性状が原因になっている。飲食店や給食施設で調理された「同一の食品」は多くの人に提供され、大規模な人数の食中毒に発展することもウエルシュ菌食中毒の大きな特徴となっている。

以上のウエルシュ菌とウエルシュ菌食中毒の特徴は、同食中毒を診断する際に有効に作用する。原因施設、原因食、患者数、潜伏期間、症状、から推測し、原因食

および患者糞便から、ウエルシュ菌を培養する。同菌が耐熱性の芽胞を産生すること、嫌気性菌であることを利用し、菌分離を行う。また、患者下痢便中にはエンテロトキシンが検出されることも多い。

患者材料や推定原因食からウエルシュ菌が分離された場合、菌体 DNA をテンプレートして PCR を行い、エンテロトキシン遺伝子があること、また、毒素産生培地に接種し、エンテロトキシンタンパク質が産生されていることを確認し、ウエルシュ菌食中毒と診断する。

1997年、ウエルシュ菌食中毒が疑われ、患者材料からウエルシュ菌が分離された事例が発生した。ウエルシュ菌食中毒と診断するため、常法に従い、エンテロトキシン遺伝子と同タンパク質の有無を検査したところ、いずれも陰性だった。同事例から、複数の菌株について検査しても同様だった。以降、2010年に至るまで、4例の同様な事例の発生があった。

4事例から分離された菌株について、その腸管病原性を検証した。ウサギ腸管ループ試験は、対象物が直接に腸組織に接触し、下痢原性を実証する。液体の貯留、すなわち下痢誘発性と、貯留した液体による腸管ループの腫脹が認められた場合、検査対象に下痢誘発性、腸管病原性があり、食中毒を惹起する能力を証明する。4事例のそれぞれから分離された菌株の、培養液ろ液は、腸管ループテスト陽性を示した。

ウエルシュ菌エンテロトキシンは、細胞膜上の受容体に結合し、細胞膜に小孔

を開け、細胞内容物の流出と、細胞死を誘導することがわかっている。これまでの受容体研究から、ミドリザル腎臓由来 Vero 細胞は同受容体を持ち、したがってエンテロトキシン感受性を示すことが明らかになっている。一方、マウス繊維芽細胞 L929 細胞は、エンテロトキシン受容体を保有せず、したがってエンテロトキシン非感受性細胞になる。両細胞に対し、事例分離株の培養液は、細胞毒性を示した。これらの事実は、4 事例を発生させたウエルシュ菌は、エンテロトキシンではなく、新種の下痢誘発毒素があること、複数の事例が観察され、現状の検査法と、検査者のウエルシュ菌食中毒に対する知識では、同菌食中毒の正確な疫学情報を得ているとは言い難いことを示している。

昨年度までの、本厚生労働科学研究の成果から、上記の新種の腸管毒性物質が、事例菌が産生するタンパク質性の毒素であることが明らかになっている<sup>4)</sup>。本年度は、事例由来の菌株の性状を蓄積して、新型毒素産生ウエルシュ菌の存在が、普遍的である可能性を示すとともに、事例分離菌の、ゲノム情報を解析した。

ウエルシュ菌のゲノムは、数株についてはすでに公開されている、それらのうちのひとつ SM101 株は、エンテロトキシン産生性の菌株として分析され、事実、染色体上にエンテロトキシン遺伝子が存在している<sup>5)</sup>。事例由来株の一つ、W5052 株について、次世代シーケンシング解析を行った。同法では、Mate-pair 法による解析が有効だった。次世代シーケン

シングでは、信頼性ある塩基配列の固まり (scaffold) が大きくなり、その数が少なくなり、一定数の scaffold で収束した場合、ゲノム構成成分が規定される。細菌の場合、数 M bp のレベルの染色体と、菌が保有するプラスミドがゲノム構成成分となる。W5052 株の Mate-pair 解析では、3 種の scaffold に収束し、そのうちのひとつが 3 Mbp と大きく、染色体であることを示す。一方、50,000 bp 程度および 12000 bp 程度の小さな scaffold も存在し、これらはプラスミドであることを示唆する。

昨年度までの解析では、当該腸管毒性物質は、イオタ毒素に相同性のあるタンパク質であることが示されている。イオタ毒素は、ウエルシュ菌で発見されたものであるが<sup>6)</sup>、イオタ毒素に類似の毒素がスピロフォルム菌でも発見され、イオタ毒素様毒素として、ウサギの下痢症に関わることが明らかになっている<sup>6)</sup>。新種の腸管毒素は、ウエルシュ菌のイオタ毒素よりも、スピロフォルム菌のイオタ毒素様毒素に相同性が高かった<sup>4)</sup>。以上のことは、イオタ毒素が、ウエルシュ菌からスピロフォルム菌に伝播し、変異を受け、さらに、エンテロトキシン遺伝子を持たないウエルシュ菌に伝播して、さらに変異をしたことを想像させる。本年度の新型下痢毒素産生性ウエルシュ菌のゲノム解析研究は、ウエルシュ菌食中毒の疫学情報を正確に刷新できるだけでなく、病原性遺伝子の伝播と、同遺伝子を保有する生物種の間関係を明らかにできる可能性がある。

#### E . 文献

- 1 ) 山中英明、藤井建夫、塩見一雄、微生物性食中毒、「食品衛生学第二版」恒星社厚生閣、東京 (2007)
- 2 ) Kimura J, Abe H, Kamitani S, Toshima H, Fukui A, Miyake M, Kamata Y, Sugita-Konishi Y, Yamamoto S, Horiguchi Y. *Clostridium perfringens* enterotoxin interacts with claudins via electrostatic attraction. J. Biol. Chem. 2010, 285, 401-408.
- 3 ) 鎌田洋一ら、厚生労働科学研究補助金平成 24 年度食の安全推進研究事業「独資産生微生物及び試験法に関する研究」
- 4 ) 大谷仁己, 氏家淳雄. 1987 . 変法 DS 培地におけるウエルシュ菌の芽胞形成とエンテロトキシン産生性、食衛誌、28、281 - 285 .
- 5 ) Shimizu T, Ohtani K, Hirakawa H, Ohshima K, Yamashita A, Shiba T, Ogasawara N, Hattori M, Kuhara S, Hayashi H. 2002. Complete genome sequence of *Clostridium perfringens*, an anaerobic flesh-eater. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2002,99, 996-1001.
- 6 ) 桜井淳、本田武史、小熊恵二(編)細菌毒素ハンドブック、Science Forum, 2002 , 東京 .

#### E . 健康危害情報

特になし。

#### F 研究発表

なし。

#### G . 学会発表

- 1) Kamata Y, Irikura D, Monma C, Namaka, A, Kai A, Sugita-Konishi, Y. (2013) *Clostridium perfringens* new enterotoxin (1) detection and identification of a new enterotoxin using genome analysis and *in silico* screening. Clostpath 2013. Palm Cove. Qld, Australia, Sep. 2013.
- 2) Monma C, Suzuki Y, Irikura D, Kamata, Y, Sugita-Konishi Y, Nakama A, Fukui-Miyazaki A, Horiguchi Y, Kai A. (2013) *Clostridium perfringens* new enterotoxin (2) biochemical characterization of an new enterotoxin. Clostpath 2013. Palm Cove. Palm Beach, Qld, Australia, Sep. 2013.
- 3) 門間千枝、赤瀬 悟、石塚理恵、齋木大、小西典子、横山敬子、仲間晶子、鎌田洋一、甲斐明美(2013) 人ふん便における新型エンテロトキシン産生ウエルシュ菌の保有状況、第 34 回日本食品微生物学会 .

#### H . 知的所有権の取得情報

特許申請なし。



表1 ウエルシュ菌が分離されたが、従来と性状の異なる食中毒事例

	事例1	事例2	事例3	事例4
発生年月	1997.1	2003.6	2009.8	2010.1
発生地	東京	東京	大阪	栃木
患者数(人)	39	11	84	79
原因施設	飲食店	飲食店	飲食店	飲食店
原因食品	シラタキと牛肉 の煮物	子羊煮物	ローストビーフ	ローストビーフ
主要症状	下痢・腹痛	下痢・腹痛	下痢・腹痛	下痢・腹痛
平均潜伏時間 (時間)	15.4	10	12.2	9.7

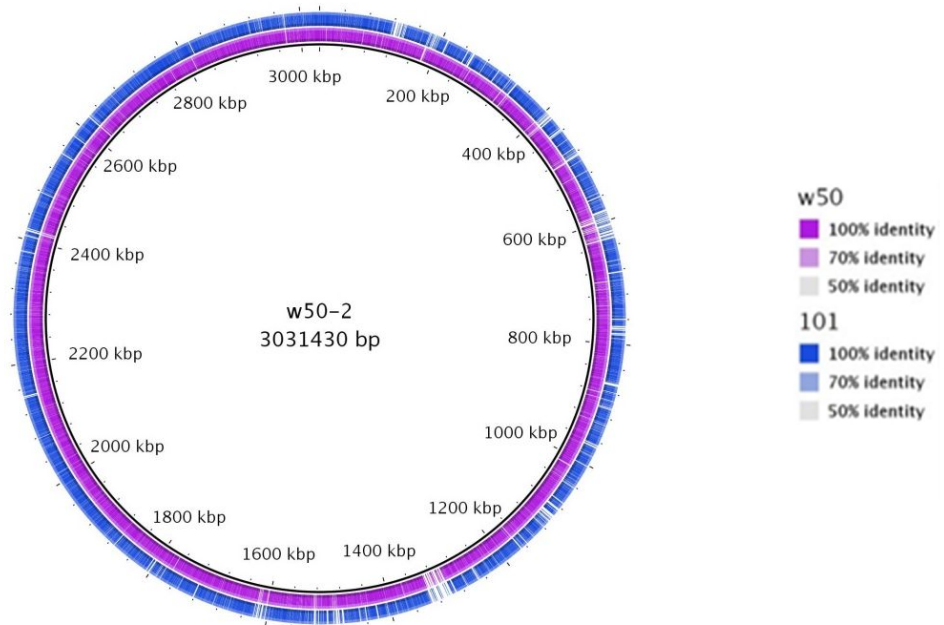


図1 エンテロトキシン非産生性ウエルシュ菌 W5052 株のゲノムマップ  
W5052 株のゲノムシーケンスを、公開されているウエルシュ菌 SM101 と比較した。

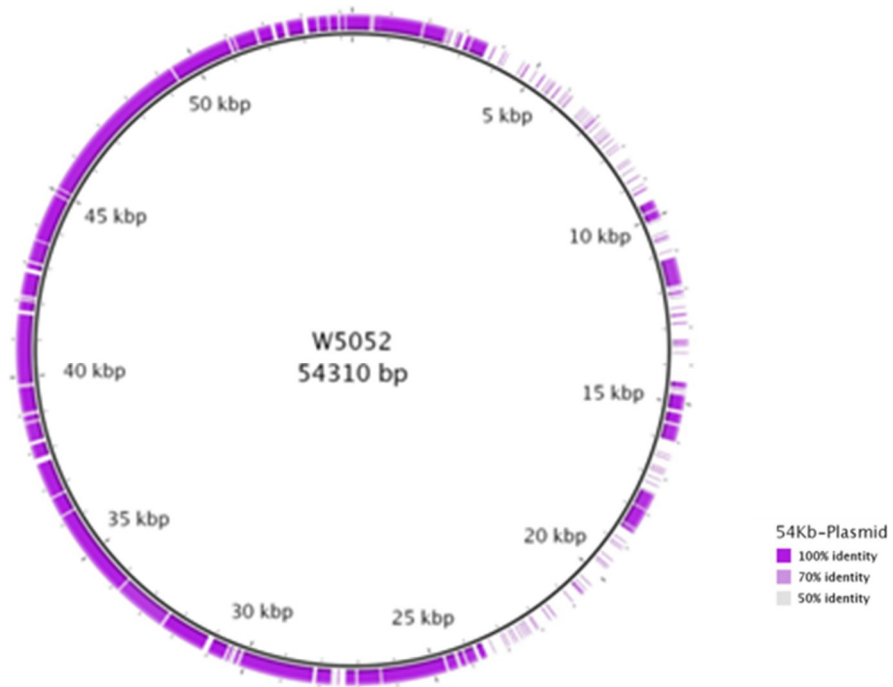


図2 エンテロトキシン非産生性ウエルシュ菌 W5052 株のゲノムマップ  
 W5052 株のゲノムシーケンスを、公開されているウエルシュ菌 SM101 と比較した。



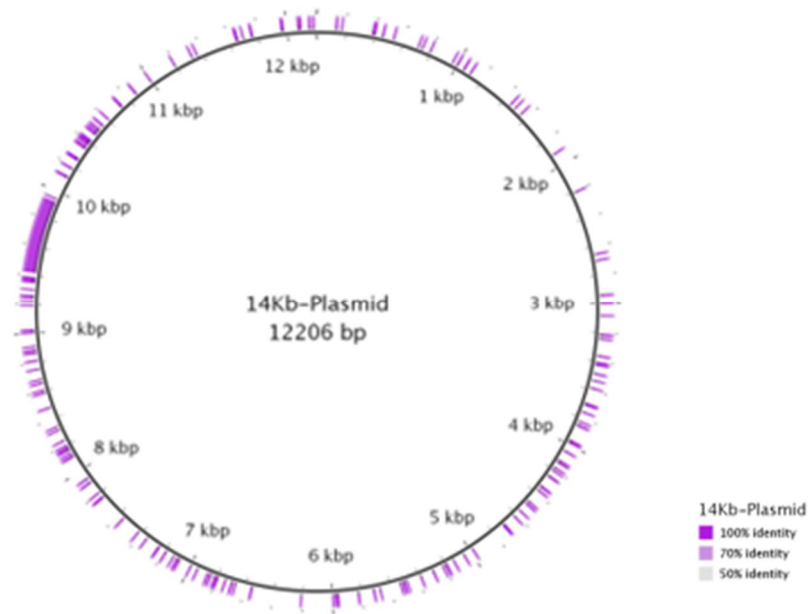


図3 エンテロトキシン非産生性ウエルシュ菌 W5052 株のゲノムマップ

W5052 株のゲノムシーケンスを、公開されているウエルシュ菌 SM101 と比較した。