

令和6年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

ウエルシュ菌食中毒の制御のための検査法の開発

及び汚染実態把握のための研究

研究代表者 大西 貴弘 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

ウエルシュ菌の汚染調査及び食品中の増殖挙動の解析

研究分担者 大西 貴弘 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

昨年度、牛肉非添加のカレー中ではウエルシュ菌はほとんど増殖できないが、牛肉を添加するとウエルシュ菌は増殖できることを明らかにした。今年度は、牛肉以外の食肉でも、牛肉同様のウエルシュ菌増殖促進作用を持つのか、また、カレーミックスの種類を変更しても同じ現象が認められるのかについても検討した。その結果、食肉を添加したカレー中でウエルシュ菌は発育したが、添加した食肉の種類によって増殖性に違いは認められなかった。カレーミックスの種類では、固形ルーを用いたカレー中での増殖が最も良かった。カレーミックスを添加していないもの（野菜と水だけ）でも、食肉を添加すると増殖が認められた。以上の結果から、昨年度調査した牛肉だけでなく、豚肉、鶏肉にもウエルシュ菌の増殖促進効果があること、またこの現象は、カレーミックスの種類に依存しておらず、カレーミックス非添加でも認められることが明らかになった。

A. 研究目的

ウエルシュ菌食中毒はグラム陽性桿菌 *Clostridium perfringens* によって引き起こされる食中毒である。ウエルシュ菌は芽胞を形成するため、調理時の加熱によって発芽し、加熱によって嫌気状態になった食品中で急速に増殖するという特徴を持つ。ウエルシュ菌食中毒は依然発生が続いており、減少の傾向が認められない。その大きな原因として、エンテロトキシン産生性ウエルシュ菌食中毒の原因食品が明らかになっていないことがあげられる。この研究班では、これまでに食品におけるウエル

シュ菌の汚染状況の調査を行っている。食中毒の直接の原因となるエンテロトキシン遺伝子（*cpe*）保有ウエルシュ菌芽胞に特に着目して調査したところ、カレー粉・香辛料、貝、イリコ・干しエビ、魚介類、根菜、鶏肉などさまざまな食品から *cpe* 保有ウエルシュ菌芽胞が検出された。この中で、検出されたウエルシュ菌の *cpe* 保有率が高かったのが、カレー粉・香辛料、貝、イリコ・干しエビであった。一方、牛肉、豚肉からは *cpe* 保有ウエルシュ菌芽胞は検出されなかった。特に牛肉からは、*cpe* 非保有ウエルシュ菌芽胞も検出されなか

った。これらの結果から、*cpe* 保有ウエルシュ菌芽胞の汚染源として、牛肉および豚肉の重要性は低いことが示唆された。しかしながら、ウエルシュ菌食中毒は食肉を使用した食品が原因食であることが多い。昨年度、ウエルシュ菌食中毒が多発する煮物中のウエルシュ菌の増殖挙動を、カレーを用いて調べたところ、牛肉非添加のカレー中ではウエルシュ菌はほとんど増殖できないが、牛肉を添加するとウエルシュ菌は増殖できることを明らかにした。これらの結果から、汚染源としての牛肉の重要性は、他の食品と比較すると高くないが、牛肉はウエルシュ菌の増殖を促進することから、ウエルシュ菌食中毒を考える上で重要な要素であると結論した。

今年度は、牛肉以外の食肉でも、牛肉同様のウエルシュ菌増殖促進作用を持つのか、また、使用するカレーミックスの種類を変更しても同じ現象が認められるのかについても検討した。

B. 研究方法

[1] カレー中での増殖挙動の解析

ウエルシュ菌食中毒が頻発する煮物におけるウエルシュ菌の増殖挙動を解析するために、カレーをモデル食品として採用した。カレーは、牛肉、豚肉、鶏肉、食肉非添加の4種類、さらにそれぞれにつきカレーミックスとして固形ルー使用、粉末カレー粉(破碎された香辛料の混合物)使用、カレーミックス非使用の3種類を用意し、

計12種類のカレーを作成した。カレーは、玉ねぎ100g、ジャガイモ110g、ニンジン50gに固形ルー120gもしくは粉末カレー粉??gを加え、水で800mL(カレー3人分)に調整した。カレーは調理後、42℃まで冷却したのち、カレー3人分に対して、チオグリコレート培地で一昼夜培養したウエルシュ菌を10~60 cfu接種した。その後、42℃、6時間培養し、1時間ごとの菌数を測定した。使用したウエルシュ菌株は香辛料由来のエンテロトキシン遺伝子保有5株を使用した。

C. 研究結果

[1] 固形ルーを使用したカレー中でのウエルシュ菌の増殖挙動

カレーミックスとして固形ルーを使用したカレーに牛肉、豚肉、鶏肉のいずれかを添加した場合、ウエルシュ菌の増殖は非常に良好であった(図1)。培養開始後2から3時間程度で菌が検出され始め、多くの場合、 $10^5 \sim 10^7$ cfu/mL程度まで増殖した。一方、食肉を添加していない検体では、最も増殖の良いものでも、約 10^3 cfu/mLであった。多くの検体では、培養6時間後でも菌を検出できなかった。牛肉、豚肉、鶏肉間で増殖性に差は認められなかった。

[2] 粉末カレー粉を使用したカレー中でのウエルシュ菌の増殖挙動

カレーミックスとして粉末カレー粉を使用したカレーに牛肉、豚肉、鶏肉のいずれかを添加した場合、培養開始から2から

3 時間後にウエルシュ菌の増殖が認められた。最もよく増殖した検体では、培養 6 時間で約 10^6 cfu/mL に達した検体もあったが、多くの検体は約 10^5 cfu/mL 以下であった。固形ルーを使用したカレー中に比べると、ウエルシュ菌の増殖は良くなかった。牛肉、豚肉、鶏肉間で増殖性に差は認められなかった。食肉非添加の検体では、ウエルシュ菌の増殖は認められなかった。

〔3〕 カレーミックス非使用のカレー中でのウエルシュ菌の増殖挙動

カレーミックス非使用のカレー(野菜と水だけ)に牛肉、豚肉、鶏肉のいずれかを添加した場合、2 から 4 時間後にウエルシュ菌の増殖が認められた(図 3)。最もよく増殖した 1 検体では、培養 6 時間で約 5×10^5 cfu/mL に達したが、それ以外の検体は約 10^5 cfu/mL 以下であった。固形ルーを使用したカレー中に比べると、ウエルシュ菌の増殖は良くなかったが、粉末カレー粉を使用したカレーとは増殖性に大きな差は認められなかった。牛肉、豚肉、鶏肉間で増殖性に差は認められなかった。食肉非添加の検体では、培養 6 時間後に 1 検体が 20 cfu/mL に増殖したが、それ以外の検体では、ウエルシュ菌の増殖は認められなかった。

D. 考察

昨年度の研究では、牛肉非添加のカレー中ではウエルシュ菌はほとんど増殖できないが、牛肉を添加するとウエルシュ菌は

増殖できることを明らかにした。今年度は同様の現象が他の食肉を用いた場合でも見られるのか、また、使用するカレーミックスの種類に依存するか検討を行った。今回の結果から、食肉の種類に関わらず、牛肉、豚肉、鶏肉を添加した場合でもウエルシュ菌の増殖が認められた。また、食肉添加によるウエルシュ菌の増殖は、カレーミックスの種類に依存していないことが明らかにになった。ただし、固形ルーを用いた場合は、粉末カレー粉もしくはカレーミックス非添加の場合と比べて、ウエルシュ菌の増殖が良好であった。これは、固形ルーには香辛料以外に、肉エキス、野菜エキス、酵母エキス、粉乳、澱粉等の栄養となりうる成分が含まれているためと考えられた。

今年度の結果から、カレーミックス非添加でも、食肉添加に伴うウエルシュ菌の増殖が認められた。このことから、カレー以外の食品においても食肉の添加がウエルシュ菌の増殖に影響を及ぼすことが示唆された。カレー以外にもウエルシュ菌食中毒が多く発生している食品として、シチュー、肉じゃが、芋のそぼろ煮などがあるが、これらの食品においても食肉を添加するタイミングによってウエルシュ菌の増殖を制御できる可能性が示唆された。

E. 結論

昨年の研修で食肉を添加しないカレー中ではウエルシュ菌の増殖が抑制されることを明らかにした。このことから、ウエ

ルシ菌食中毒の予防法として、次の方法を提唱した。

- 1) 煮物を作る際にはまず食肉を炒める。
- 2) 一旦、鍋から食肉を取り出す。
- 3) 残りの材料で煮物を作る。
- 4) 配膳直前の再加熱の際に、先に調理した食肉を合わせ、提供する。

今年度の研究成果から、この予防法は牛肉以外の食肉を使用した食品、カレーミックスを使用していない食品でも応用できる可能性が示唆された。今後、食肉がウエルシ菌の増殖に及ぼす影響を検討し、食品におけるウエルシ菌増殖の制御法を確立したい。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohnishi T, Watanabe M, Yodotani Y, Nishizato E, Araki S, Sasaki S, Hara-Kudo Y, Kojima Y, Misawa N, Okabe N: Contamination of Japanese retail foods with enterotoxigenic *Clostridium perfringens* spores, Journal of Food Protection, 2025; 88: 100429.

2. 学会発表

- 1) Ohnishi T., Watanabe M., Yodotani Y., Nishizato E., Araki S., Kojima Y., Sasaki C., Hara-Kudo Y., Misawa N, Okabe N., Prevalence of enterotoxigenic

Clostridium perfringens in retailed foods and intestinal contents of animals in Japan. United States and Japan Conference on the Development and Utilization of Natural Resources-Joint Panel on Toxic Microorganisms (2024. 9. 18)

- 2) Ohnishi T., Watanabe M., Yodotani Y., Nishizato E., Araki S., Kojima Y., Misawa N, Okabe N., Prevalence of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in retailed foods in Japan. International Microbiological Societies Congress (2024. 10. 25)
- 3) 大西貴弘、渡辺麻衣子、淀谷雄亮、西里恵美莉、荒木靖也、佐々木賢美、工藤由起子、小嶋由香、三澤尚明、岡部信彦「国内の市販食品および動物の腸内容物におけるエンテロトキシン遺伝子保有ウエルシ菌の汚染状況」日本食品微生物学会学術総会（令和6年9月6日）

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

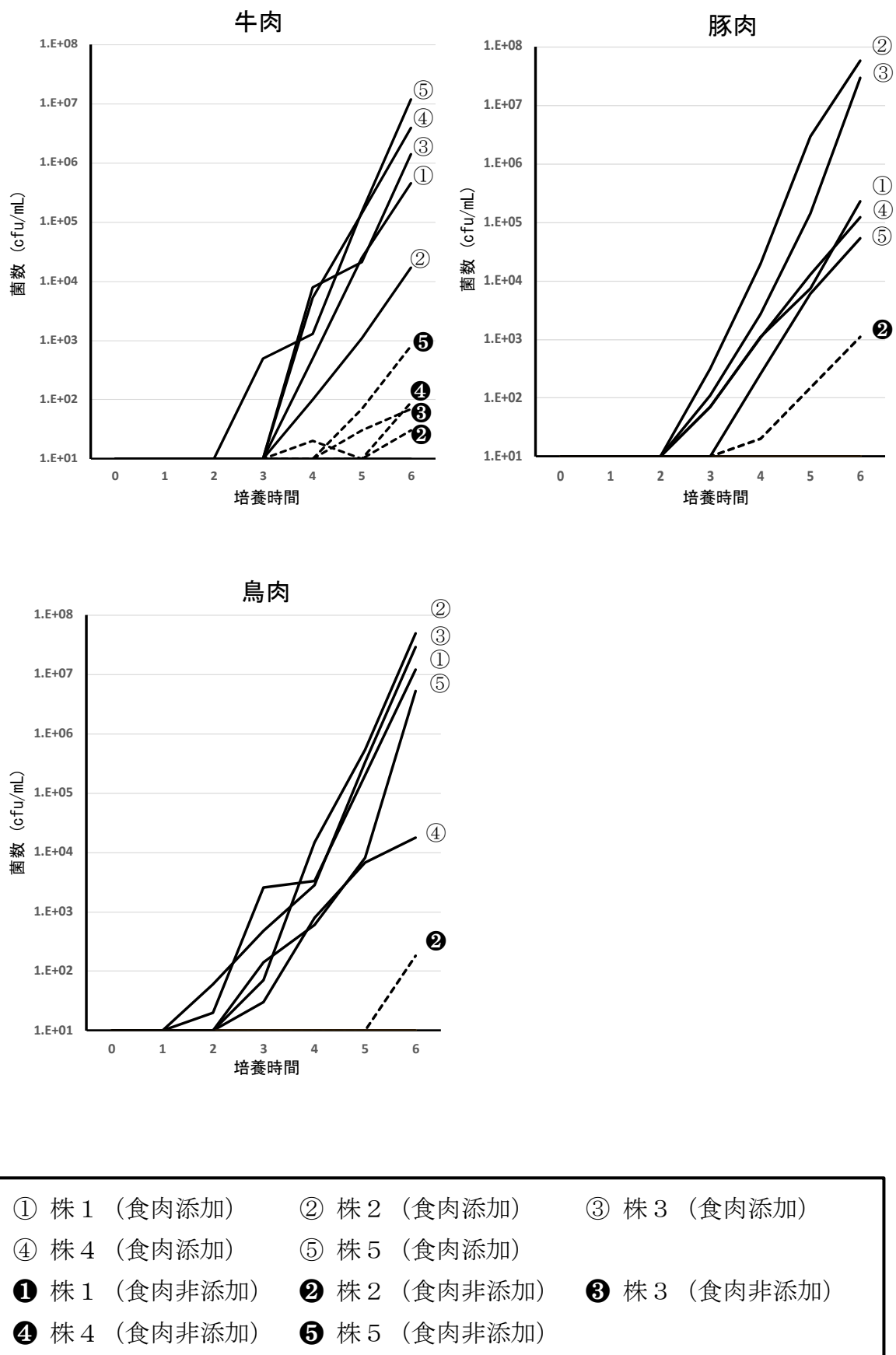
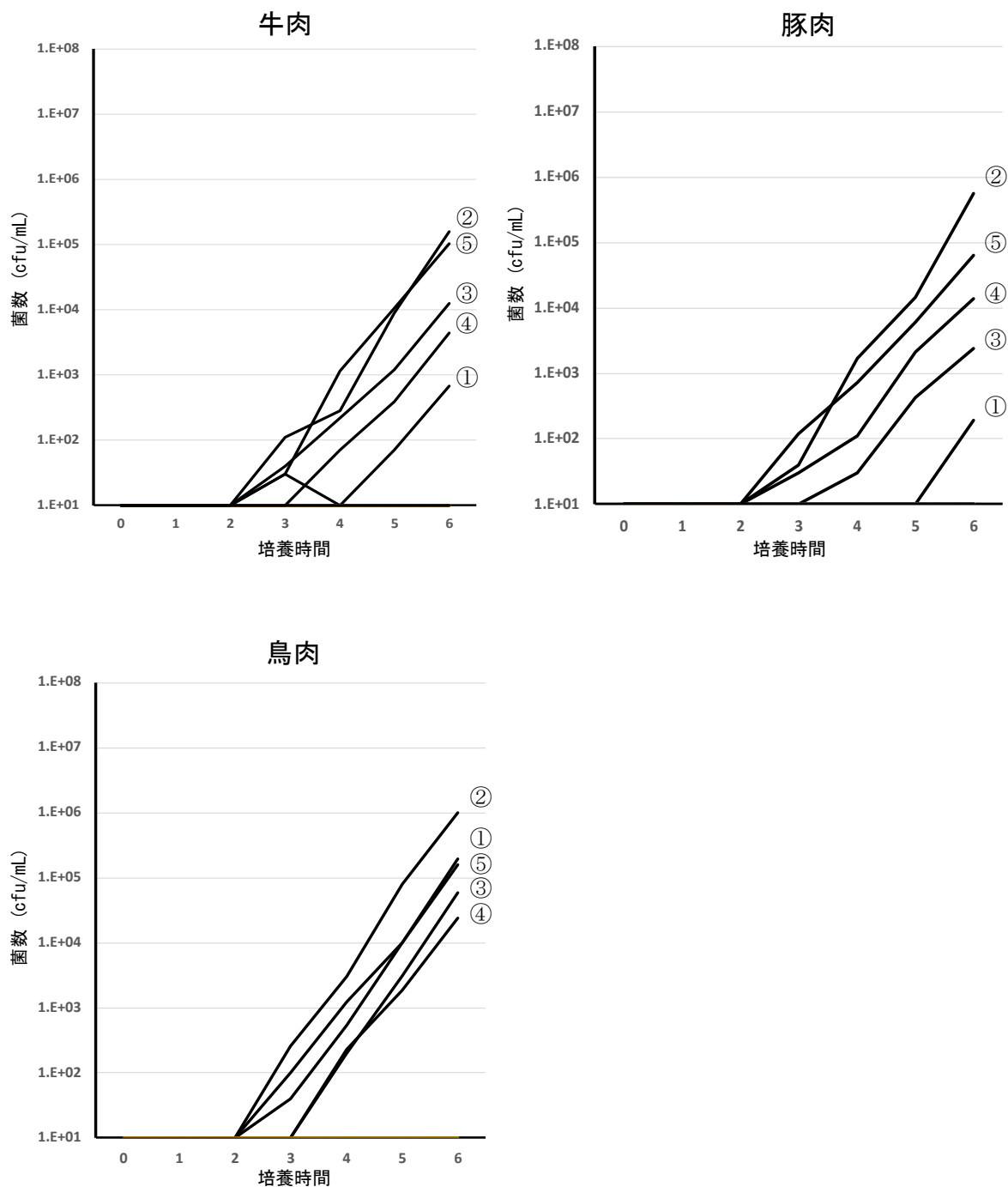
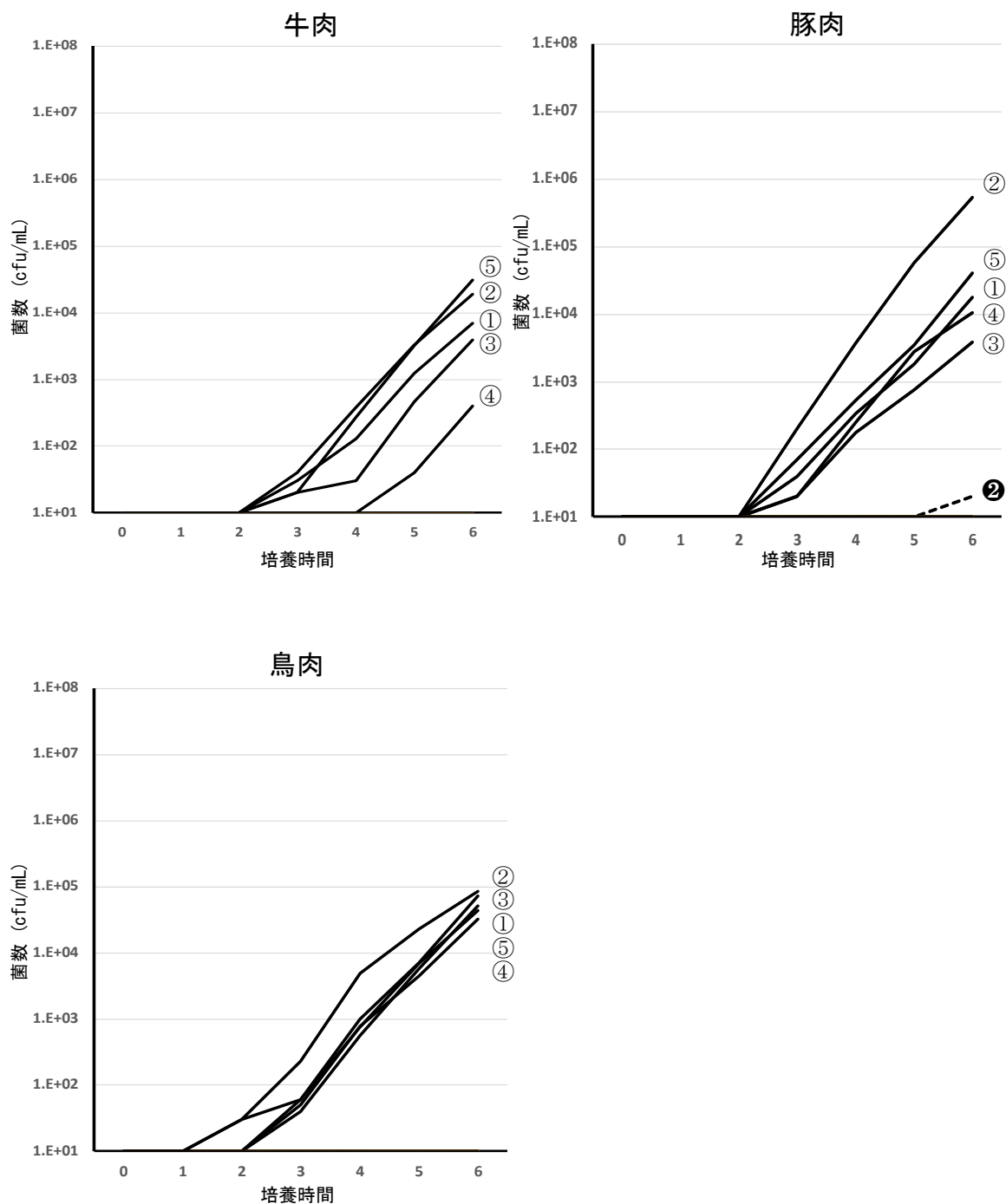


図 1 固形ルーを使用したカレー中でのウエルシュ菌の増殖



- | | | |
|---------------|---------------|---------------|
| ① 株 1 (食肉添加) | ② 株 2 (食肉添加) | ③ 株 3 (食肉添加) |
| ④ 株 4 (食肉添加) | ⑤ 株 5 (食肉添加) | |
| ① 株 1 (食肉非添加) | ② 株 2 (食肉非添加) | ③ 株 3 (食肉非添加) |
| ④ 株 4 (食肉非添加) | ⑤ 株 5 (食肉非添加) | |

図 2 粉末カレー粉を使用したカレー中でのウエルシュ菌の増殖



- | | | |
|---------------|---------------|---------------|
| ① 株 1 (食肉添加) | ② 株 2 (食肉添加) | ③ 株 3 (食肉添加) |
| ④ 株 4 (食肉添加) | ⑤ 株 5 (食肉添加) | |
| ① 株 1 (食肉非添加) | ② 株 2 (食肉非添加) | ③ 株 3 (食肉非添加) |
| ④ 株 4 (食肉非添加) | ⑤ 株 5 (食肉非添加) | |

図 3 カレーミックス非添加でのウエルシュ菌の増殖

