

令和4～6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

総合分担研究報告書

二枚貝におけるウエルシュ菌の汚染調査

研究分担者 大島 千尋 国立研究開発法人 水産研究・教育機構

研究要旨

本研究の目的は、過去の研究において高いウエルシュ菌汚染が明らかとなった二枚貝について、より詳細に汚染実態を把握することである。1年の研究期間内に、産地の異なる多様な二枚貝を対象に、ウエルシュ菌およびその毒素産生株であるエンテロトキシン産生ウエルシュ菌の汚染実態調査を行った。調査の結果、多くの種類の二枚貝がウエルシュ菌に汚染される可能性があること、一部の貝種からはエンテロトキシン産生ウエルシュ菌が検出されることが明らかとなった。異なる産地の貝や、同一海域で生産された二種の貝の調査結果、時期別の調査結果を比較することにより、貝種や時期、産地によりウエルシュ菌汚染率には差があること、一度ウエルシュ菌を取り込んだ後に排出される可能性も示唆された。また、増菌培養液をPCRでスクリーニング検査する場合、貝種によっては偽陰性が生じやすいことが明らかとなった。本研究の成果は、ウエルシュ菌のリスク評価および食中毒防止対策の基礎資料として有用な知見を提供するものである。

A. 研究目的

ウエルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) は、芽胞形成能を持つ偏性嫌気性の桿菌である。芽胞形成時にエンテロトキシンを産生し、ヒトがそのエンテロトキシンを含む食品を喫食すると、腹痛や下痢などの食中毒症状が現れる。ウエルシュ菌を原因とした食中毒は、毎年1000人ほどの患者が報告されており、減

少傾向にない。多くのウエルシュ菌食中毒事例では原因となる食事を明らかにできた場合でも、原因食材を同定できない事例が多く、また食中毒の原因となるエンテロトキシン産生株の主たる汚染食品が明らかになっていないことから、飲食店等へウエルシュ菌食中毒の発生防止に向けた効果的な指導を行うための基礎的なデータが不足してい

る。これが、ウエルシュ菌食中毒の発生を防止できない一因になっていると考えられる。そのため、効果的な食中毒発生防止措置のためには、エンテロトキシン産生ウエルシュ菌による汚染食品の種類や汚染経路を明らかにする必要があった。昨年度までの研究において、畜産物、水産物、野菜、香辛料におけるウエルシュ菌の大規模な汚染実態調査が実施された。その結果、水産物のウエルシュ菌やエンテロトキシン産生ウエルシュ菌汚染率は畜産物や野菜よりも高いことが明らかとなった。特に、貝類のエンテロトキシン産生ウエルシュ菌による汚染率が高かった。そこで本課題では、R6年度の1年間に二枚貝のウエルシュ菌およびエンテロトキシン産生ウエルシュ菌汚染率を調査した。異なる産地の二枚貝を一定期間継続的に調査することで、生産方法や貝種、産地の違いによる汚染率の違いを明らかにし、二枚貝のウエルシュ菌汚染防除法検討時の基礎データとすることを目標とした。

B. 研究方法

[1] 検体

調査は、令和6年の4月から8月にかけて、国内の11か所で生産された7種の貝を対象とした。貝の軟

体部を対象に、チオグリコレート培地およびCHROM agar perfringens培地を用いてウエルシュ菌を選択的に分離し、純粋分離した。分離した菌について、ウエルシュ菌が保有する*cpa*遺伝子、エンテロトキシン産生ウエルシュ菌が保有する*cpe*遺伝子を対象としたPCRを行い、それぞれの遺伝子を保有していた場合にウエルシュ菌もしくはエンテロトキシン産生ウエルシュ菌と判定した。

また、増菌したチオグリコレート培地を集菌して得たペレットからDNAを抽出し、分離株と同様にPCRを行ってウエルシュ菌の検出検査を実施した。さらに、その結果を分離株の結果と比較し、PCRスクリーニングの有用性を検証した。

C. 研究結果

[1] 貝種別ウエルシュ菌検出結果

本研究で対象としたすべての貝種からウエルシュ菌が検出された。また、ヒオウギガイ、ムラサキイガイ、ホタテガイからエンテロトキシン産生ウエルシュ菌が検出された。

[2] 産地別のウエルシュ菌検出結果

ホタテガイのウエルシュ菌汚染率は産地により異なった。一方、ムラサキイガイ

においては産地によるウエルシュ菌検出率の差はなく、検出率が高かった。ムラサキイガイの産地はホタテガイにおいてウエルシュ菌検出率の高い2か所のものを供していた。

[3] 月別のウエルシュ菌検出結果

ホタテガイのウエルシュ菌汚染率は夏に向けて減少し、8月の試験では検出されなくなった。一方、同じ地域で生産されたムラサキイガイのウエルシュ菌の汚染率は8月に向けて徐々に増加した。ヒオウギガイについては7月下旬から8月はウエルシュ菌が検出されなかった。

[4] 同一海域で生産されたホタテガイとムラサキイガイからのウエルシュ菌検出結果

試験期間の前半は、ホタテガイとムラサキイガイの両方からウエルシュ菌が検出されるケースが多かったが、後半はムラサキイガイからのみウエルシュ菌が検出されるケースが増えた。

[5] 増菌培養液のPCR結果と分離株のPCR結果の比較

チオグリコレート培地の増菌培養液を用いたPCRの結果が偽陰性、偽陽性を示すケースが確認されたが、偽陰性を示すケースが多かった。また、偽陰性を示したケースでは、

ヒオウギガイを検体としたケースが多かった。

D. 考察

[1] 二枚貝のウエルシュ菌汚染経路

これまでの研究において、二枚貝がウエルシュ菌に高確率で汚染されていると示されていた。本研究では、産地、採取時期、種類の異なる二枚貝を調査対象とし、二枚貝のウエルシュ菌汚染経路について考察する知見を得た。本研究の結果から、貝種が異なる場合でも産地によってウエルシュ菌汚染率に違いがあったことから、生産海域のウエルシュ菌汚染度が二枚貝のウエルシュ菌汚染率に影響する可能性が示唆された。二枚貝が海水を取り込む際に海水中のウエルシュ菌を体内に取り込むと考えられており、貝種によらず、そのような活動により二枚貝が生産海域でウエルシュ菌に汚染される可能性が示唆された。

[2] 二枚貝のウエルシュ菌汚染逡減法に関して

本研究の結果から、貝種によっては、春先はウエルシュ菌汚染率が高いが夏にウエルシュ菌汚染率が下がる可能性が示唆された。また、出荷前の畜養がウエルシュ菌汚染率を低下させる可能性も示された。こ

これらの現象についてさらなる研究を実施することで、出荷前の畜養や生産海域の移動などにより、二枚貝のウエルシュ菌汚染を低減させる方法の開発につながると考えられた。

E. 結論

本研究では二枚貝のウエルシュ菌汚染実態を調査した。その結果、二枚貝は多くの種でウエルシュ菌に汚染されており、一部の種からはエンテロトキシン産生ウエルシュ菌も検出された。また、産地や時期、同一海域で生産される場合においても貝種によって汚染率に差があったことから、これらの知見を精査し、さらなる検証を行うことで、二枚貝のウエルシュ菌汚染を防除する方法の検討につながると期待された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

