

忘れてはいけない、ボツリヌス毒素の脅威を

はじめに

ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) が産生するボツリヌス毒素は、自然界に存在する最強の致死毒と言われています。以前は、北海道・東北地方で、魚類の発酵食品である「いずし」を原因とするボツリヌス食中毒が多発し、多くの患者が死亡しました。最近では、「いずし」による食中毒は影を潜め、野菜・穀類が主要な原因食品となる傾向にあります。2000 年以降に発生した成人のボツリヌス症は 6 例ありますが、この中で原因食品が特定されたのは「自家製いずし」と「あずきばっとう」の 2 例だけです。ボツリヌス食中毒が減少傾向にある一方で、乳児ボツリヌス症は 2000 年以降 14 例発生しました(表-1)。しかし、幸いなことにボツリヌス症による死者は、1986 年以降はまったく報告されていません。

ボツリヌス症による致命率は、医療の進歩により以前に比べて大きく改善されました。しかし、ヒトの生命と健康を脅かす、決して忘れてはならない重要な疾病の一つであることに変わりはありません。

今回は、ボツリヌス症、特にボツリヌス食中毒に関する基礎知識をご紹介します。

表-1 2000 年以降に発生したボツリヌス症

年	食中毒(食品 毒素型)	乳児ボツリヌス症(毒素型)
2000~2003	無し	無し
2004	無し	東京(E)
2005	無し	愛知(A) 大阪(B)
2006	宮城(井戸水?:A)	宮城(A) 大阪(B)
2007	岩手(自家製アユいずし:E)	岩手(A) 宮城(B)
2008	**栃木(不明:A)	岩手(A)
2009	無し	無し
2010	千葉(不明)	福岡(A)
2011	**広島(不明:A)	岡山(A) 愛媛(B) 愛知(B) 広島(A) 大阪(A)
2012	鳥取(あずきばっとう:A) 熊本(不明)	無し

*食中毒と感染症の両方で届出, **感染症としてのみ報告

ボツリヌス菌の名前の由来

属名の *Clostridium* は、細胞内に形成される芽胞が細胞の幅よりも広い形状が、ギリシャ語の closter (英語の spindle) に似ていることに由来します。種形容語である *botulinum* は、ラテン語でソーセージを意味する botulus に由来しますが、これはヨーロッパで血液ソーセージによる中毒が多発したためです。現在の学名を和名にするとボツリナム菌になりますが、菌分離当時の学名が *Bacillus botulinus* であったことから、現在でもボツリヌス菌と呼ばれています。

ボツリヌス症の多彩な発生機序

ボツリヌス菌は、土壌や海・湖・川の泥のような自然界では、耐久性のある芽胞の型で長期間生残するため、この芽胞が農作物、魚介類、動物の肉などのあらゆる食品の原材料を汚染する可能性があります。ボツリヌス症の発症機序は、芽胞により直接感染を受けるか、あるいは芽胞が食品中で発芽増殖した際に産生される毒素を摂取するかに大別できます。いずれにしても、最終的にはボツリヌス毒素が原因となって、

- ①ボツリヌス食中毒
- ②乳児ボツリヌス症
- ③創傷ボツリヌス症
- ④成人腸管定着ボツリヌス症
- ⑤吸入ボツリヌス症

のような、非常に多彩で重篤なボツリヌス症が発生します。ボツリヌス毒素のマウスでの最小致死量はわずか数 pg であり、ヒトに対しては1 g の毒素で100万人を殺すという猛烈な毒力があると言われています。

ソーセージやハムを食べて特異な食中毒が発生することは、ヨーロッパでは1,000年以上も前から知られていました。細菌学の黎明期の1896年になってから、このような食中毒は、食品内で産生されたボツリヌス毒素が原因であることが明らかになりました。ボツリヌス食中毒は、その後に発見されたブドウ球菌食中毒やセレウス菌食中毒とともに、「食品内毒素型食中毒」に分類されています。

米国で1976年に発見された乳児ボツリヌス症は、経口的に摂取された芽胞が腸管内で発芽増殖した際に産生された毒素によって発症するので、「感染毒素型食中毒」に該当します。成人腸管定着ボツリヌス症は、乳児ボツリヌス症と同様の機序で発症する疾病で、外科手術や抗菌薬の投与によって腸内細菌叢の破壊や菌交代現象を起こした成人で発症します。

創傷ボツリヌス症は、深い傷口に入り込んだボツリヌス菌芽胞が感染局所の組織内で発芽増殖し、その際に産生される毒素により発症します。成人腸管定着ボツリヌス症や創傷ボツリヌス症は、今のところ日本での報告例はありません。近年、米国や西欧では麻薬の注射を原因とする創傷ボツリヌス症が注目されています。

ボツリヌス毒素がバイオテロに使用される場合には、空気中に散布された毒素を吸引することにより、吸入ボツリヌス症を発生する可能性があります。失敗に終わったとは言え、オウム真理教は地下鉄霞ヶ関駅などでボツリヌス毒素を噴霧したバイオテロを実行しました。

ボツリヌス菌は分類学上異なる菌種の集団である

ボツリヌス菌は、酸素がないところでしか増殖できない偏性嫌気性で、タンパクや糖の分解性のような生化学的性状の違いによりI群～IV群に区分され、抗原性の異なるA～Gの7つの毒素型が知られています(表-2)。医学的に重要であるとの観点から、“ボツリヌス毒素を産生する菌がボツリヌス菌である”という他の細菌とは異なる特異な分類方法が採用されています。このため、ボツリヌス菌には遺伝学のおよび生化学的に均一ではない、すなわち分類学的に異なる複数の菌が単一種として取り扱われています。比較的新しく発見されたボツリヌス毒素産生性の *Clostridium butyricum*, *Clostridium baratii*, *Clostridium argentinense* は細菌分類学に基づいた名称です。いずれにしても、毒素の証明なしにはボツリヌス菌とその関連菌種の分離・同定はできません。

表-2 代表的なボツリヌス毒素産生菌の性状

性状	I 群	II 群	III 群	IV 群 (<i>C. argentinense</i>)
毒素型	(A, B, F)	(B, E, F)	C, D	G
タンパク分解性	+	-	-	+/-
至適温度	37°C	30°C	40~42°C	37°C
発育条件	最低温度	10°C	3.3°C	15°C
	最低 pH	4.6	5.0	ND
	最低 Aw	0.94	0.97	ND
	上限食塩濃度	10%	5%	ND
芽胞のD _{100°C}	25 分	<0.1 分	0.1-0.9 分	0.8-1.2 分
毒素の活性化	-	+	-	-
同一菌種	<i>C. sporogenes</i>	ND	<i>C. novyi</i>	

ND: 調べられていない

ヒトのボツリヌス症の原因となる I 群菌には、タンパク分解性の A, B, F 型菌が、II 群菌にはタンパク非分解性の B, E, F 型菌が含まれます。I 群菌か II 群菌かによって、芽胞の耐熱性や発育温度域にかなりの差があるので、食中毒予防対策などが異なります。ちなみに、著者が外国産のからし粉から分離した株が、日本では唯一の食品由来の II 群 B 型菌と考えられ、それ以外はすべて I 群 B 型菌です。*C. butyricum* は、中国やインドでは食中毒原因食品や患者から、イタリアや日本では乳児ボツリヌス症の患者から分離されました。疫学調査などには分離菌に関する種々の情報が必要ですので、たとえ時間・手間・経費がかかっても、ボツリヌス毒素産生菌の分離同定は大変重要な作業と位置づけられます。

III 群の C 型菌は鳥類のボツリヌス症を発症させ、D 型菌はウシ、ヒツジ、ウマなどのボツリヌス症の原因菌として重要です。日本各地の牧場でも、350 頭以上のウシがボツリヌス症で大量死したことが報告されました。2012 年 6 月には、岐阜県の牧場の 4 棟ある牛舎の 1 棟で、80 頭飼育していた牛のうち、45 頭がボツリヌス症で死亡した疑いがあると発表されました。魚類は E 型中毒により大量死を起こすため、養魚場に甚大な被害をもたらすことがあります。

分離したボツリヌス菌の毒素産生性を調べてもらいたい

ボツリヌス毒素の検出同定法としては、酵素抗体法や毒素のエンドペプチダーゼ活性を利用した方法等も報告されていますが、今のところマウスを使用する毒素検出法は信頼性が高く感度も良いと言われています。毒素の同定も抗毒素血清によるマウス中和試験で行うので、マウスの飼育場所や取り扱い手技に加えて、ボツリヌス毒素を接種したマウスの特有の症状を判定するための経験も必要になります。

経験を積めばボツリヌス毒素を検出するのは比較的容易ですが、菌の分離は困難なことが少なくありません。ボツリヌス毒素研究で世界的な権威の故阪口玄二先生は、以前に(財)日本食品分析センターの学術顧問をされておられ、著者の恩師でもあります。阪口先生は、ボツリヌス菌の分離は、「科学というより芸術である」と書かれています¹⁾。著者らは、毒素を検出したボツリヌス症の患者便から、1 カ月以上にわたり、100 枚以上の分離平板を使用し、200 個以上の集落を調べて、やっとボツリヌス菌を分離したことがありました。“菌の分離は芸術である”という表現が、まさに言い得て妙であることを身をもって体験しました。

I群ボツリヌス菌は*Clostridium sporogenes*と、III群ボツリヌス菌は*Clostridium novyi*とは分類学的にそれぞれ同一菌種であるため、毒素産生性を調べない限り両菌種を互いに区別できません。以前、ボツリヌス菌を分離したので、毒素産生性を調べてもらいたいとの依頼が何回かありました。分離株を16S rRNAの塩基配列のホモロジー検索によりボツリヌス菌と同定したとのことでした。しかし、ボツリヌス毒素を調べない限りボツリヌス菌を分離同定できないので、このような依頼は明らかに知識不足から生じたものです。なお、依頼株はすべて毒素を産生しなかったので*C. sporogenes*となりました。食品や糞便中のボツリヌス菌の存否は、これらの検体から直接毒素を抽出するか、あるいは毒素産生用培地で増菌培養し、その上清中の毒素を検出することにより確認します。毒素を検出・同定すれば、たとえ菌が分離できなくてもボツリヌス菌陽性と判定できます。ボツリヌス菌とその類縁菌を鑑別できる生化学的性状はないので、毒素検査なしにボツリヌス菌を確実に分離できる選択培地はありません。言い換えれば、“ボツリヌス菌の検査は毒素の検査である”と言っても過言ではないでしょう。ボツリヌス菌・毒素検査の詳細については、著者の拙著^{2), 3)}を参考にして下さい。

日本と欧米などでのボツリヌス症の発生状況

(1) ボツリヌス食中毒

1.1 原因食品

日本は、北海道・東北地域の郷土料理である「いずし」を主たる原因食品とする、世界でも有数のE型食中毒多発国でした⁴⁾。最近では、不適切な殺菌や保存をした、次項で示す“容器包装詰低酸性食品”で散発的にA型食中毒が発生しています。(表-3)。1984年にはカラシレンコンによる患者数36名、死者11名の14都府県にまたがる広域A型食中毒が発生しました。カラシレンコン事件は、約80°Cの加熱処理をした製品を脱酸素剤とともに真空包装し(図-1)、土産品として室温で流通したことが原因で発生した悲惨な食中毒でした。80°Cという中途半端な加熱処理では、芽胞を殺せないばかりか、むしろ芽胞の発芽を促進し、熱に弱い夾雑菌を殺すために、ボツリヌス菌が発育しやすい環境を準備したことになってしまいます。その後も、里芋の缶詰(1993年)、ハヤシライスの具(1999年)、「あずきぱっとう」(2012年)によるA型食中毒が発生しました。大阪市で発生した事件(A型, 1999年)では、原因食品は不明でしたが、ハンバーグか?と報道されたように、容器包装詰低酸性食品の可能性も疑われました。



図-1 カラシレンコン事件 (1984年) の検体

表-3 E型以外の主要なボツリヌス症

1. カラシレンコン (お土産用真空パック)	1984年
A型: 患者36名, 死者11名	
2. 里芋の缶詰 (95°C, 60分の加熱殺菌)	1993年
A型: 患者4名, 死者なし	
3. グリーンオリーブの塩漬け (イタリア産ビン詰め)	1998年
B型: 患者18名, 死者なし	
4. ハヤシライスの具 (レトルト類似食品)	1999年
A型: 患者1名, 死者なし	
5. 原因食品不明 (レトルト類似食品)	1999年
A型: 患者1名, 死者なし	
6. 原因食品不明	A型: 患者1名, 死者なし
7. 原因食品不明	A型: 患者1名
8. 原因食品不明	毒素型不明: 患者1名
9. あずきぱっとう (レトルト類似食品)	2012年
A型: 患者2名 (60代夫婦), 死者なし	
10. 原因食品不明	毒素型不明: 患者1名

輸入食品が原因となった事件として、1969年の西ドイツ製の瓶詰キャビア (B型)、1998年のイタリア製の瓶詰グリーンオリーブ塩漬 (B型) があります。イタリア製では1993年に市販のオイル漬けの焼きナスビでB型食中毒が2件 (製造所は同一) 発生しました。患者の一人はオイル漬けの中に入れたフォークで他の食品を食べただけで発症しました。オイル漬けの食品は空気と遮断され嫌気状態になるので、ボツリヌス毒素の産生に都合が良い条件でした。

米国で最近問題となった食品として、サラダ、アルミホイルで包んで焼いたポテト、オイル漬のガーリック、ホットドッグ用チリソース缶詰、人参ジュース、プラスチック容器入りのイモのスープがありますが、これらはいずれもA型菌による食中毒でした。珍しい食中毒事例として、カリフォルニア州の2ヶ所の刑務所に収監されていた複数の受刑者が、“pruno” (発酵酒) を飲んでA型ボツリヌス食中毒を発症しました。“pruno” は、受刑者が盗んできた皮付きジャガイモと昼食に出されたリンゴ、古いモモ、ジャムおよびケチャップを用いて作ったもので、“刑務所ワイン” とも呼ばれているそうです。

タイの伝統的なタケノコの缶詰によって、2006年に患者数が163名にも達する世界的にも最大規模のA型食中毒が発生しました。アラスカでは、伝統的な食品である塩漬けや発酵した魚が原因食品となって、E型食中毒が多発しています。エジプトではファラオの時代からの伝統的な食品である、塩漬けの魚 (faseikh) で初めての大規模 (患者数91名) なE型食中毒が1991年に発生しました。ヨーロッパでは、A型食中毒が多い米国とは異なり、B型食中毒が多く発生しています。英国はボツリヌス食中毒が非常に少ない国の一つですが、1989年にヘーゼルナッツヨーグルトで患者数27名のI群B型食中毒が発生しました。

1.2 容器包装詰低酸性食品の危険性

「カラシレンコン」や「ハヤシライスの具」によるA型食中毒の発生を契機として、2002年から「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」に関する厚生労働省の研究班が発足し、著者も班員として参加する機会を与えられました。ここでいう容器包装詰低酸性食品とは、「容器包装に密封した常温流通食品のうち、pHが4.6を超え、かつ、水分活性が0.94を超えるものであって、120℃で4分間に満たない条件で殺菌を行ったものです。殺菌は、容器包装に詰める前後を問わない。」とされています。米国FDAは食品をpHの高低で分類し、pHが4.6を超え、かつ水分活性が0.85を超える食品を低酸性食品（low-acid food）としていますので、日本の低酸性食品の定義とは少し異なります。ちなみに、酸性食品（acid food）とは、食品元来のpHが4.6以下のもので、酸性化食品（acidified food）とは低酸性食品に酸あるいは酸性食品を添加し、pHを4.6以下にした水分活性が0.85を超える食品と定義されています。

岩手県で製造された「あずきぱっとう」を食べた鳥取県在住の60代の夫妻が、ボツリヌス食中毒を発症して意識不明の重体になりました（2012年）。市販食品が原因となったのは、1999年に発生した「ハヤシライスの具」による食中毒以来、13年ぶりのことです。日本で数多く市販されている容器包装詰低酸性食品は、ボツリヌス菌に汚染され、かつ温度管理が不十分であれば、ボツリヌス食中毒の危険性を秘めた食品となります⁵⁾。

厚生労働省は、平成11年、平成15年に引き続き平成20年にも、容器包装詰低酸性食品に対するボツリヌス食中毒防止対策を講じることを都道府県に要請しました。その内容は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品（いわゆるレトルト食品や缶詰など）と同様の、①120℃で4分間加熱する方法、あるいはこれと同等の効力を有する方法で殺菌すること、または、②10℃以下で冷蔵保存することです。ただし、ボツリヌス菌の接種試験で毒素産生が認められない食品では、①や②の措置は不要となっています。私どもは、ボツリヌス菌株を多数保有しており、各種食品への接種試験の依頼をお受けしております。

消費者がレトルト食品と間違えやすい食品は、低温保存しないとボツリヌス食中毒の原因となる可能性の高い食品の一つと思われます。ヨーロッパでは、下処理を施した食材と調味液をフィルム袋に入れ、真空密封してから100℃以下で加熱調理する、sous-vide（真空調理）食品の安全性が問題となっています。sous-videとは、1970年代にフランスで開発された、フォアグラを調理するための調理法です。

(2) 乳児ボツリヌス症

日本では、1986年にハチミツを原因食品とする乳児ボツリヌス症が千葉県で初めて発生し、翌1987年にはハチミツ摂取歴のある合計9名の患者が連続発しました。この事態を重く見た当時の厚生省が、「1歳未満の乳児にはハチミツを与えないように」との通知（1987年）を出した効果により、ハチミツを原因とする乳児ボツリヌス症の報告はなくなりました。しかし、1990年以降に発生した乳児ボツリヌス症19例のうち、原因食品が明確に特定されたのは野菜スープだけです。宮城県の事例（2006年）では、井戸水と開缶した粉ミルクの両方からボツリヌス菌が分離されましたが、疫学調査の結果から井戸水が原因であると結論されました。

英国では、粉ミルクが原因のB型菌による乳児ボツリヌス症の報告があります。乳児ボツリヌス症の原因食品・感染源として、ベビーフード、コーンシロップ、缶詰、ハウダストなどの可能性があげられています。日本だけではなく、年平均100件以上発生する米国でも、大半の乳児ボツリヌス症の原因は分かっています。食中毒よりも乳児ボツリヌス症が多く発生するのも米国と同様で、2011年には大阪など西日本で年間5例も報告されたことは注目に値します。

乳児ボツリヌス症の原因となるのは、I群のA型菌とB型菌に限られ、発症させるのに必要な芽胞数は少数であると推定されています。通常は生後2週間から1年未満の乳児に発生しますが、例外的に生後わずか54時間で発症した事例もあります。乳児突然死症候群は、正常な乳児が多くは睡眠中に突然死亡する疾患ですが、この原因の一部は乳児ボツリヌス症であるとの報告もあります。

ボツリヌス症の臨床症状

ボツリヌス症に共通の症状として、視力低下、かすみ目・複視、対光反射の遅延・欠如などの眼症状が最初にみられ、これらの症状と相前後して口渇、発語障害、嚥下障害などの咽喉部の麻痺が起こります。麻痺症状は左右対称で下降性に進行するのが特徴で、症状が進行すると四肢の麻痺により歩行困難となりますが、意識障害はありません。これらの神経症状が早く現れるほど症状は重篤になり、死亡の原因は呼吸筋の麻痺による呼吸障害のためです。

ボツリヌス食中毒の潜伏時間は通常12～36時間（最短2時間，最長14日）で、神経症状に先行して嘔気、嘔吐、腹痛、下痢、便秘などの胃腸炎症状を示しますが、便秘以外は毒素に非特異的な症状です。人工呼吸は通常2～8週間（最長7カ月）必要であり、治癒するまで数週間～数カ月、時には1年以上を要するといわれています。

乳児ボツリヌス症では、出生後順調に発育していた乳児が便秘傾向を示すのが特徴的で、著者が経験した事例では、約1カ月間で3回しか排便がありませんでした。大半の患者は便秘状態が数日間続き、全身の筋力が低下する脱力状態になり、哺乳力が低下し泣き声が小さくなります。とくに顔面は無表情となり、頸部筋肉の弛緩により頭部を支えられなくなります。便から長期間（1～2カ月）菌が排泄される例も珍しくありませんが、致命率はボツリヌス食中毒に比べて低く、2%程度です。

ボツリヌス菌・毒素の取り扱い制限

ボツリヌス症は、2007年に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（以下、感染症法）により、4類感染症として届出対象疾患に指定されています。乳児ボツリヌス症は、食品が原因であれば食品衛生法に従い食中毒の届け出が必要です。ハウスダストや土などの食品以外が原因となった場合、あるいは感染源が不明の場合は感染症となります。食中毒と感染症のいずれの場合も、感染症法に基づいた届出の義務があります。

感染症法では、生物テロに使用される恐れのある病原体等の管理の強化も図られました。このため、二種病原体等に指定されたボツリヌス菌およびボツリヌス毒素を所持・輸入しようとする者は、厚生労働大臣の許可が必要であることなどによって厳格に規制されています。私どもは、ボツリヌス菌・毒素を取り扱うことのできる登録検査機関です。

食中毒の予防

ボツリヌス菌の芽胞は自然界に広く分布しているので、食品の原材料が芽胞に汚染されるのを防ぐことは困難です。したがって、根本的なボツリヌス食中毒予防法は、耐熱性のもっとも強いI群菌の芽胞を殺菌できる条件で加熱することです。この殺菌条件は、諸外国ではbotulinum cookあるいは12-D concept（ $1/10^{12}$ 減少）と呼ばれ、121℃で3分間の加熱に相当します。日本では、缶詰やレトルト食品などで、121℃で4分以上の加熱が義務づけられていますが、実用的には、この数倍の加熱時間に設定されているようです。

殺菌しない場合は、食品中での菌の発芽・増殖を抑制することが重要です。具体的には、Ⅰ群菌では 10℃以下の、Ⅱ群菌では 3.3℃以下での低温保存、水分活性の制御 (Aw 0.94 以下)、pH の制御 (4.6 以下) のいずれか一つの条件がクリアできれば、ボツリヌス菌の増殖は防止できます。

容器包装が異常膨張したもの、または内容物に異臭がある場合には喫食しない、味見もしないことが重要な予防策です。ボツリヌス毒素は、80℃で 30 分あるいは 100℃で 1~2 分の加熱で失活するので、食べる直前に食品を加熱することが効果的です。

乳児ボツリヌス症の原因食品や感染源の多くは不明ですので、その予防はボツリヌス食中毒よりも困難です。現時点では、芽胞に汚染される恐れのある食品（蜂蜜、コーンシロップ、野菜ジュース等）を 1 歳未満の乳児に与えないことが肝要です。

おわりに

常温に近い温度で流通する容器包装詰低酸性食品、あるいはレトルト類似食品とも言われている多種多様な食品が市販されています。これらの食品は潜在的にボツリヌス食中毒の原因となる危険性があります。牛生肉やレバ刺しのように、製造や販売をすれば罰則が適用される方向に向かうとは思えませんが、このような食品の食中毒リスクは決して低くはありません。最近では、腸管出血性大腸菌のリスクに注意が集中していますが、ボツリヌス毒素の脅威を忘れてはなりません。

参考資料

- 1) 阪口玄二：食品微生物学の今後の課題，日本食品微生物学雑誌，**17**，55-59（2000）
- 2) 浅尾 努：食品中の食中毒菌検査法，ボツリヌス菌．防菌防黴学雑誌，**31**，289-296（2003）
- 3) 浅尾 努，河合高生：食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法（13）ボツリヌス菌，日本防菌防黴学会誌，**38**，273-287（2010）
- 4) 阪口玄二：いずしと E 型ボツリヌス中毒，日本食品微生物学雑誌，**14**，1-6（1997）
- 5) 浅尾 努 ほか：平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）分担研究報告，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（2005）