

アサマNEWS レポート

1996-9 No. 54

食 品 衛 生 三 三 講 座

54. 猛威を振るう病原大腸菌O157:H7による感染症

1996年5月末、岡山県邑久郡邑久町で小学校児童および幼稚園児382名の患者と2名の死者を出した病原大腸菌O157（正確には腸管出血性大腸菌O157:H7）による感染症はその後急激に全国に広がり、連日テレビや新聞紙上を賑わしている。特に7月13日に起こった大阪府堺市の事件は、92の小学校中53校で発病し、7月20日午後4時現在で児童の患者数が6,311人になったと発表された。このうち溶血性尿毒症症候群(HUS)と診断され重症となった児童、幼児も68人に増え、その中の18人は重体であるという。今まで細菌性食中毒では二次感染は起こらないといわれてきた。しかし、今回の堺市の事例では二次感染によって60人が発病したのは特筆すべきことである。厚生省食品保健課の発表（7月24日現在）では病原性大腸菌O157:H7による患者の発生状況は、40都府県で約8,300人、死者は7人に達したという。新聞等では今回の一連の事件を「食中毒」と報道しているが、今までにたった1件の集団発生を除いて（岐阜市の小学校給食メニューのうち“おかかサラダ”から同菌を検出しているが、ただし、これが岐阜で発生した事件の共通原因食品であると確定されていない）現在のところ、邑久町や堺市の集団発生例では原因食品や感染経路などが解明されないため有効な感染防止対策は見い出されていない。このため、このため厚生省や各都道府県の衛生担当者はO157:H7感染症発生の原因究明などの対応に追われている。筆者は今回邑久町や堺市で発生したO157:H7による集団発生事件は、原因食品や発生経路が明確でないこと、さらに二次感染の発生状況等から今の時点では「病原性大腸菌O157による食中毒事件」とするよりむしろ「腸管出血性大腸菌O157:H7による集団感染症事例」として捉えるべきだと考える。

1. 大腸菌と病原大腸菌

腸管出血性大腸菌O157:H7の特徴や性質等を理解するためまず大腸菌や病原大腸菌について説明しよう。大腸菌はヒトや温血動物の腸管に常在する細菌で、健康なヒトの大腸の内容物や糞便中には1g当たり1億から10億個の大腸菌が存在している。大腸菌は一般に病原性を示さないが、中にはヒトに下痢などの症状を起こさせる病原性を持つものもいることが分かってきた。細菌の分

類学で大腸菌というのは*Escherichia coli*, *E. coli*の1種類であるとされているが、血清学的手法を用いると大腸菌は多くの型に分類することができる。大腸菌の菌体に含まれる糖脂質という成分を抗原(O抗原といわれる)として作った免疫血清を用いると、大腸菌は173のタイプに分けられる。また、大腸菌の菌体表面の成分で作ったK抗原を使うと30のタイプ、鞭毛のタンパク抗原を使うと60のタイプに分けられる。これらO抗原とH抗原を組み合わせることで大腸菌は血清型による詳細な分類が行われている。今話題になっている「病原大腸菌O157」正しくは「腸管出血性大腸菌O157:H7」というべきで、大腸菌のO抗原による分類では157番目に該当し、H抗原の7番目に該当するという意味である。ところで病原大腸菌と言われるものは次の4つのグループに分けられる(表1参照)。

表1 病原大腸菌の分類

	下痢原性大腸菌 (EPEC) *1	腸管侵襲性大腸菌 (EIEC) *2	腸管毒素原性大腸菌 (ETEC) *3	腸管出血性大腸菌 (EHEC) *4
主要臨床症状	下痢、腹痛	発熱、腹痛、粘血便、しぶり腹	下痢、嘔吐、腹痛	血便(下痢)、腹痛
感染様式	飲食物媒介(接触)	飲食物媒介(接触)	飲食物媒介(接触)	飲食物媒介(接触)、二次感染
病原(発病)機序	不詳	組織侵入増殖	エンテロトキシン(易熱性、耐熱性)	ベロ毒素(細胞毒)
関連O血清型	26, 44, 55, 56, 111, 114, 119, 125, 126, 128, 142, 145など	28ac, 112ac, 124, 136, 143, 144, 152, 164など	6, 8, 11, 25, 27, 78, 148, 159など	O157:H7 O145:H- O111:H- O26:H11など
診断法	血清型別	血清型別、侵入性試験	エンテロトキシンの検出	血清型別、ベロ毒素(細胞毒)の検出

注：*1：Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

*2：Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

*3：Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

*4：Enterohemorrhagic *E. coli* (EHECまたはVTEC)

- (1) 下痢原性大腸菌：単に病原大腸菌ともいわれる。この菌による食中毒は、平均12時間程度の潜伏期で発病し、下痢・腹痛等の胃腸症状を呈する。今までわが国ではこの下痢原性大腸菌食中毒が最も多かった。
- (2) 腸管組織侵入(侵襲性)大腸菌：経口伝染病の赤痢と同じ病気を起こす。つまり、急性大腸炎を起こし、発熱、腹痛、しぶり腹(裏急後重/キョウコウジュリ)等の症状があり、大便には粘液だけでなく膿や血液が混じる。この菌は赤痢菌と同様、本来ヒトを宿主とする病原菌で、赤痢菌同様伝染性(二次感染)がある。従って、この菌による感染症は本来「赤痢」と言うべきであるが、現在行政的には食中毒菌として扱われている。
- (3) 腸管毒素原性大腸菌：本菌がヒトの腸管内で産生する毒素(エンテロトキシン)「熱に弱い毒素(LT)または耐熱性の毒素(ST)」によって下痢を引き起こす。東南アジアなど

一般に細菌性食中毒の予防には次の3原則がある。(1) 清潔の原則、(2) 温度の原則、これには①低温保蔵と②加熱殺菌、そして(3) 迅速の原則の3つである(今回は紙面の都合でその説明は省略する)。すでに指摘したように、普通の細菌性食中毒では原因菌が飲食物中でおびただしく増えたものを食べることが発病の前提となっている(感染型、毒素型共に)。病原性の比較的強いサルモネ

ラ菌でも10万個以上、腸炎ビブリオなどでは数百万個以上の菌を摂取することが発症の必要量とされている。これに対し腸管出血性大腸菌は数百個というごく微量で感染するので、集団発生の際には二次感染も当然発生しよう。従って、本菌の予防対策には上記細菌性食中毒予防の3原則以外に経口伝染病予防対策を取り入れる必要がある。すなわち、感染源（病原体）対策、感染経路対策および宿主（感受性）対策の3つである。具体的には感染源および感染経路の早期発見と感染源対策（感染経路の遮断、患者の隔離、汚染物品や排泄物の殺菌・消毒等）、患者や家族を通じての二次感染予防対策を考えることである。残念ながら現在のところ今回のO157：H7による集団発生事例では原因食品や感染経路は特定されていない。従って、本菌による集団感染症に対する確実な予防策を見い出すのは容易ではなさそうである。

国立予防衛生研究所の病原微生物検査情報によると1991年から94年までにO157：H7が検出された件数は全国で386件に達し（これらは血便を出した患者として病院の検査の結果の集計）、このうち15歳以下の患者が322件（83%）を占めている。幼稚園や保育園、学校などでの集団発生はもちろん、散発的に家庭内で発生した場合でも子供だけに症状が出たものが圧倒的に多く、大人は感染しても症状の出ない場合が多い。従って、親が感染しながら知らないまま子供にうつしていた可能性が高いとも考えられる。いずれにせよ、上記調査結果や今回の全国規模での患者の発生状況から見て、本菌はすでに国内に広範に分布していることは明らかで、今後は早急にその感染経路を究明し、適切な予防対策を立てることが急務であると考えられる。

厚生省では8月6日付の官報で、病原大腸菌O157を含む「腸管出血性大腸菌」による感染症を伝染病予防法に基づく指定伝染病とすることを告示した。

適用される規程は①患者を診察した医師には届け出、②感染を疑われる人の健康診断（検便）の実施、③患者・保護者が飲食物に直接手を触れる業務につくことの制限、④感染症のおそれのある施設への立ち入り検査、⑤汚染された飲食物、井戸水の販売、使用の制限など。

（河端俊治：日本食品保全研究会会長・農学博士）

微生物制御に関するトピックス

1. ナイシン

乳酸菌 *Streptococcus lactis*（現在では *Lactococcus lactis subsp. lactis* と呼称されている）が抗菌性物質を生産することをRogersおよびWhittier(1928)が見い出し、ShattockおよびMattick(1943)がこの物質をナイシン(nisin)と命名した。その後分離された *Strept. lactis* の多くの菌株の約4分の1以上のものがナイシンを生産することが認められ、抗生物質として取り扱われた。ナイシンは、医療関係への利用はできないが、チーズのガス膨化の阻害効果のあることが英国で見い出され、1955年頃より“Nisaplin”(Aplin&Barrett Ltd)という商標で市販されるようになった。

ナイシンは食塩並みの低毒性であるので(LD₅₀<ラット、マウス、経口>=6950mg/kg)、後述するように食品添加物としての利用研究が進展し、現在ではBacteriocin(バクテリオシン)の

代表的なものとなっている。

Bacteriocinは乳酸菌などの生産するたん白質様物質で、狭い範囲の細菌に対して抗菌作用を示すものと定義されている。Bacteriocinのうちでナイシンは比較的作用範囲が広く、半世紀に及ぶ長期にわたって研究され現在に至っている。

1. ナイシンの物理化学的性状

ナイシンの化学構造は図1に示したように34のアミノ酸残基よりなり、アミノ末端、カルボキシル末端をもち、5個のチオール結合によって分子構造内で環状を形成している。

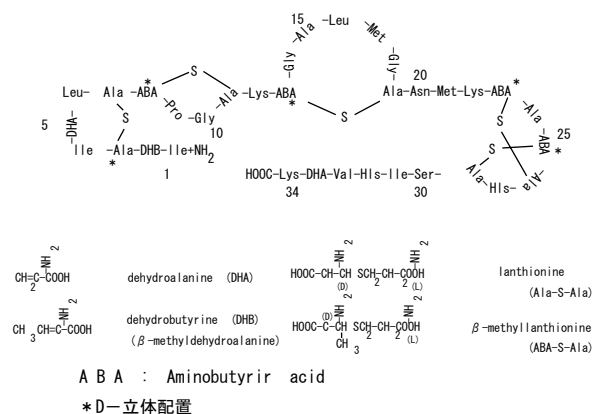


図1 ナイシンの化学構造

分子量3510daltonであるが、7000、14000daltonの二量体、四量体も得られている。分子のうちには特殊なS-アミノ酸としてLanthionine、 β -methylanthionineを含んでいるのが特徴である。

ナイシン分子は酸性で、低pH域で熱に安定で水によく溶ける（pH2.5の稀塩酸溶液中で12%、pH5.0で4%の溶解度を示す）。ナイシンはパンクレアチン、 α -キモトリプシンにより分解不活性化されるが、トリプシン、エラスターゼ、カルボキシペプチダーゼA、ペプシン、エレプシンにより不活性化されない。*Lact. plantarum*や*Strept. thermophilus*などはnisinaseと称するdehydropeptide reductaseを生産することが認められている。

2. ナイシンの抗菌作用

ナイシンはグラム陽性細菌や孢子形成細菌のかなり広い範囲の細菌に作用するが、グラム陰性細菌、かび、酵母に対しては作用しない。

表1にはナイシンの抗菌作用力をIU(International unit)で示したが、40IUがナイシン純品1 μ gに相当する。ナイシンは*Staphylococcus*、*Streptococcus*、*Micrococcus*、*Lactobacillus*、*Clostridium*、*Bacillus*、*Listeria*に対して働く。*Clostridium*、*Bacillus*孢子的発芽後生育(Outgrowth)はpHの低下、温度上昇、熱ショック時間の延長、孢子数の減少によって阻害作用は増幅される。

ナイシンはグラム陰性細菌に対して作用しないが、キレート剤(EDTA、EGTA、ケン酸塩、リン酸塩)の共存により*Salmonella typhimurium*や*E. coli*などに対して阻害作用することが認められている。例えばナイシン50 μ g/mlに50mM EDTAを加えて37℃、60分作用させるとき、*E. coli*に対して4.3、*Salmonella typhimurium*に対して2.3log菌数低下する結果が得られている。

表 1 ナイシンの抗菌作用

微 生 物	最小発育阻止濃度 (IU)
<i>Bacillus</i> *	2~4
<i>Clostridium</i> *	0.25~80
<i>Corynebacterium</i>	4~120
<i>Es.coli</i>	無 効
<i>Mycobact.tuberculosis</i>	100~50
<i>Neisseria</i>	2~50
<i>Nei.meningitis, Nei.catarhalis</i>	無 効
<i>Pneumococcus</i> type I	100
<i>Pneumococcus</i> type II	無 効
<i>Sal.typhi</i>	無 効
<i>Shigella shigae</i>	無 効
<i>Staph. aureus</i>	100
<i>Staph. aureus</i>	4~128
<i>Streptococcus</i> group A, B, N	0.25
<i>Streptococcus</i> group D	無 効
<i>B.cereus</i> 孢子	75~100
<i>B.megaterium</i> 孢子	25~100
<i>B.polymyxa</i> 孢子	50
<i>B.stearothermophilus</i> 孢子	~2
<i>Bacillus</i> sp. 孢子	3~13
<i>C.botulinum</i> type A, B 孢子	500~5000
<i>C.botulinum</i> type E 孢子	50~1000

* 栄養型細胞

IU : International unit (Reading unit)

Nisin 1 μ g=40IU

さらに*C.botulinum*、*C.thermosaccharolyticum*、*B.coagulans*、*B.stearothermophilus*の孢子に対して、ナイシン14ppmの添加によって、 $D_{110^{\circ}\text{C}}$ 、 $D_{115^{\circ}\text{C}}$ 、 $D_{120^{\circ}\text{C}}$ の値が50~60%低下することが認められ、細菌孢子は加熱損傷を受けるときナイシン感受性が著しく上昇するということができる。

ナイシンの栄養型細胞に対する作用機構としては、細胞膜に存在する受容体(リン脂質)に結合することによって膜機能に影響を与え、細胞成分(例えばATP)、アミノ酸、カチオンなどの漏出を来すこととなり、pHバランスの消失、あるいは溶菌するに至る。細菌孢子に対しては、まず孢子が膨潤した段階で作用して孢子膜に結合、膜機能を崩壊することによって発芽後の生育を阻害するものと考えられている。

3. ナイシンの食品の分野への利用

ナイシンはプロセスチーズ、プロセスチーズスプレッドのガス膨化の原因となる*C.butyricum*、*C.tyrobutyricus*、*C.sporogenes*などを250~500IU/gの添加によって阻害することができる。しかし、*C.botulinum*を対象とするときは500~10,000IU/gの添加が必要とされているが、通常は500IU/gが添加されている。

クリームカaramelやチョコレートデザートなどのDairy dessertに対して50~100IU/gの添加によってshelf lifeを無添加対象に対して2倍ないし7倍以上の延長が可能となる結果が得られている(貯蔵温度によって効果に変動が認められるが)。

低温殺菌された牛乳は必ずしも貯蔵期間は長くないが、ナイシン30~50IU/mlの添加によって2倍以上の延長が可能となる。従って、牛乳の長距離輸送ができ、温暖地域や冷蔵設備の不備の地方での牛乳の流通に有効に利用できることになる。殺菌牛乳での商業的殺菌条件の適用によっても好熱性細菌の孢子が生残するおそれがあるが、ナイシンの微量添加によって発芽後の生育が阻害することができる。缶詰濃縮牛乳でも同様の効果が期待できる。

ナイシンは種々の缶詰食品に対しても加熱殺菌条件の緩和に役立つことが古くより確かめられている。すなわちpH4.5以上の低酸性食品では*C.botulinum*の死滅のための $F_0=3.0$ の加熱条件が最低限必要であるが、*B.stearothermophilus*や*C.thermosaccharolyticum*など好熱性細菌の孢子は $F_0=3.0$ 以上で生残するが、ナイシンの添加により加熱殺菌条件が緩和される。例えばトマトソース添加ビーンズ、チキンヌードル、クリーム状コーン、マッシュルーム、ピーズ、チョコレート添加ミルクなどが $F_0=3\sim4$ の加熱条件でナイシン40~200IU/mlの添加にて十分商業的無菌性を保持することができる。また、ビーフシチュー、チキンスープのレトルト缶詰では $F=9$ の加熱が必要であるが、ナイシン200IU/mlの添加によって $F=3$ で十分商業的無菌性が保持される結果も得られている。

pH4.5以下の酸性食品では*B.macerans*や*C.pasteurianum*などの耐酸性孢子形成菌の発育阻害の目的に100~200IU/gの添加が適用されている。トマトジュース缶詰では $F=0.018$ 、ナイシン560IU/mlとか、100 $^{\circ}\text{C}$ 、30分処理に代わり、ナイシンを40~560IU/mlの添加によって6分でもよい結果が得られている。

塩漬食品において NaNO_2 の代替にナイシンを利用できないが、 NaNO_2 とナイシンとの併用によってニトロソアミン生成の原因となる NaNO_2 の添加量を減らすことができる。例えば*C.botulinum*孢子の発芽後生育の阻害に対して、750ppmナイシン+40ppm NaNO_2 の組み合わせは150ppm NaNO_2 にまるといわれている。

その他魚の缶詰、燻製魚、キセピアの貯蔵性の延長やアルコール飲料の発酵時の汚染乳酸菌の制御などへのナイシンの適用についても検討されている。

ナイシンは1950年後半より食品添加物として利用され、現在50か国以上の国々でナイシンの使用が許可されている。許可品目は国々によって異なるが、全体をまとめると、牛乳(低温殺菌牛乳、フレーバ牛乳、ロザイフ牛乳)、プロセスチーズなど酪農製品、缶詰類(野菜、果物、トマトピューレ、トマトバルブ、スープなど)、幼児食、ベーカーリー食品、マヨネーズ、調理食品、クリーム、カスタードなどとなっていて、ナイシンの添加量は無制限から100~10,000IU/gとなっている。米国FDAではナイシンをGRAS物質(generally recognized as safe substance)として低温殺菌したプロセスチーズ、チーズスプレッドに最高250ppmの添加量で許可している。

ナイシンのほかBacteriocinとして多数のものが見い出されているが、精製して利用されている例は見い出せない。次に代表的なものとその生産菌とを示す。

Diplococcin(*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*)、Lactostrepsin(*L.Lactis* subsp.*Lactis*, *L.lactis* subsp.*diacetylactisi*)、Acidosphilin、Acidolin(*Lact.acidophilus*)、Helveticin、Lactocin(*Lact.helveticus*)、Sakacin(*Lact.sake*)、Thermophilin(*Strept.thermophilus*)、Pediocin A(*Pediococcus pentosaceus*)、Pediocin AH(*P.acidilactici*)、Enterocin(*Enterococcus faecium*)、Colicin(*Es.coli*)
(芝崎 勲：大阪大学名誉教授)

アサマ化成株式会社

E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
http://www.asama-chemical.co.jp

・本社	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町20-3	TEL (03) 3661-6282 FAX (03) 3661-6285
・大阪営業所	〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル	TEL (06) 6305-2854 FAX (06) 6305-2889
・東京アサマ化成	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5	TEL (03) 3666-5841 FAX (03) 3667-6854
・中部アサマ化成	〒453-0063 名古屋市中村区東宿町2-28-1	TEL (052) 413-4020 FAX (052) 419-2830
・九州アサマ化成	〒811-1311 福岡市南区横手2-32-11	TEL (092) 582-5295 FAX (092) 582-5304
・桜陽化成	〒006-1815 札幌市手稲区前田五条9-8-18	TEL (011) 683-5052 FAX (011) 694-3061