

食品中のセレウス菌に関する用量反応解析

山形大学大学院農学研究科 学生会員 ○金谷祐里

ガジャマダ大学農学部 非会員 NURMANGIRASARI Yunita ajeng

山形大学農学部 正会員 渡部徹

1. はじめに

食中毒を引き起こすバクテリアの1つにセレウス菌があげられる。セレウス菌は、土壌細菌のひとつで、病原性バクテリア病原性のある芽胞を形成する。さらに、芽胞は熱耐性も生産でき、調理での温度を含む、過酷な環境下で生き残る事が出来る。また、水、米飯やパスタ、乳製品に野菜や肉などの、多くの食物はこの菌によって汚染されている。セレウス菌は2種類の毒素によって下痢と嘔吐の2つの症状を引き起こす。また、セレウス菌による食中毒の事例は、各国で報告されており、食物の安全において国際的に問題になっている。このことから、セレウス菌によって引き起こされる食中毒のリスクを評価する事が必要であると考えた。本研究では、それぞれの毒素に関連するセレウス菌の用量反応モデルを構築し、構築したモデルを用いて、食品汚染のシナリオについてリスク評価を行った。

2. 方法

2. 1 用量反応モデルの構築

下痢と嘔吐、これらのセレウス菌によって引き起こされる症候群の因果メカニズムは完全に異なっていたため、2種類の異なる用量反応モデルを持っている。はじめに下痢症について述べる。下痢症のリスク推定のために、データセットを用意した。本研究ではLangeveldら（1996年）による、セレウス菌によって汚染された低温殺菌牛乳の感染または疾病についての実験データを用いた。

下痢症は細菌感染によって引き起こされるため、指数モデルとベータポアソンモデルによって用いることによって算出する事が出来た。それぞれのモデルは、変数を有している。指数モデルは r 、ベータポアソンモデルは α 、 N_{50} がある。最適なパラメータは最尤推定法で推定しなければならない。その後、下痢症のリスク推定に用いる。

セレウス菌の汚染データは、食物の汚染における用量反応モデルの適用に必要だった。このシナリオにおいて、下痢のリスクは、上記のLangeveldらの実験に基づいて算出した。バクテリア濃度の量は、modified gompertz モデルを通して算出した。算出したシナリオのリスクは、通常のリスクと比較する。

次に嘔吐症状のリスクについて述べる。嘔吐症は毒素産生されることで起き、人体の外から入ってくるためワイブルモデルが適用された。毒素用量および投与量に関する情報を提供するデータセットは、Agataら（1995年）の実験を用いた。ワイブルモデルは α と β の2つのパラメータを持っている。最適なパラメータの推定は、下痢症の時と同じく、最尤推定法で推定した。最良の推定されたパラメータが決定されるとID50を決定することができる。セレウス菌の濃度と毒素の算出データは、食物の汚染における用量反応モデルの適用に必要であった。このシナリオにおける、嘔吐のリスクはセレウス菌による米の汚染に基づいて算出された。バクテリアの濃度量は下痢症と同じように算出し、細菌濃度および毒素産生量との関係は、Agataらによって実験された。算出したシナリオのリスクは、通常のリスクと比較する。

2. 2 食品汚染のシナリオ

セレウス菌による下痢症のデータはLangeveldらの実験（1996年）から得た物を用いた。低温殺菌牛乳の消費量 11.09L/年と米の消費量 102kg/年は、インドネシアの消費量に基づき、汚染のシナリオのために選択した。リスクシナリオは、インドネシアの国際規格 2009 に基づいた牛乳中のセレウス菌の標準リスクと、オーストラリアとニュージーランドの米のセレウス菌の標準リスクと比較した。リスクシナリオはインドネシアのこれら症候群の罹患率の値と比較した。

3. 結果と考察

3. 1 下痢症のリスク

指数モデルのために推定された最適なパラメータは $\log=-2.38$ であった。このパラメータはリスクの算出に用いた。 10^5-10^{11} CFU の範囲の細菌の用量において指数モデルでは膨大な下痢症リスクの増加が示された。

ベータポアソンモデルでは、パラメータの推定によって、それぞれ $\log \alpha=-4.3$, $\log N_{50}=59.3$ と推定された。このパラメータを用いて計算されたリスクを図1に示す。ベータポアソンモデルの結果から、このグラフは、実験データに正確であったことを示している。

3. 2 嘔吐症のリスク

Weible model のパラメーターは、 $\log \alpha=0.98$, $\log \beta=2.77$ と推定された。Weible model での結果を図3に示す。毒素量は $4\mu\text{g/mL}\sim 32\mu\text{g/mL}$ の範囲だった。このグラフは、ワイブルモデルが実験データに正確であったことを示している。嘔吐症状を引き起こすセレウス菌のワイブルモデルによって、嘔吐毒素の ID50 は、 $14\mu\text{g/mL}$ であることがわかった。

3. 3 下痢症の汚染のシナリオ

低温殺菌牛乳の許容可能な年間リスクを 0.12, セレウス菌に標準的に汚染される値を 10^2cfu/mL と設定した (Anderson ら, 2011 年)。さらに 0~26 日間, $5\sim 13^{\circ}\text{C}$ で牛乳を保管したと考え、リスクを算出したところ, $5\sim 13^{\circ}\text{C}$ で 26 日以内であれば, 上記用量のセレウス菌に汚染された場合でも 0.12 を下回ることがわかった。

3. 4 嘔吐症の汚染のシナリオ

過去の食中毒の事例から, 10^7 CFU/ g のセレウス菌によって汚染されたコメを想定した。これは, 3 時間室温で保管した時のセレウス菌濃度である。この細菌濃度で催吐毒素は 33.93 NG/ g 生成される。リスク値をワイブルモデルで算出した結果, 0.98 という高い値が算出された。これはインドネシアにおける年間の米の消費量を消費した人が, すべて嘔吐症状を得ることが可能であることを意味する。計算の結果, 胃腸炎の罹患率を最小限に抑え、リスク基準レベルを満たすために、室温で 1 時間以上に米を保管しないことが推奨された。

4. まとめ

本研究で食品中のセレウス菌の用量反応モデルを開発することができた。ベータポアソンモデルは、下痢症候群のデータセットへの最高のフィッティングパラメータを与えた。ワイブルモデルはセレウス菌によって産生される毒素が原因の催吐性症候群のデータセットに良いパラメータを提供した。

下痢のための許容可能なリスクを満たすには、低温殺菌牛乳は、10 日間, $5-13^{\circ}\text{C}$ 未満で維持すること勧める結果だった。室温では、米を汚染から防ぐために、1 時間未満を維持する方が推奨された。

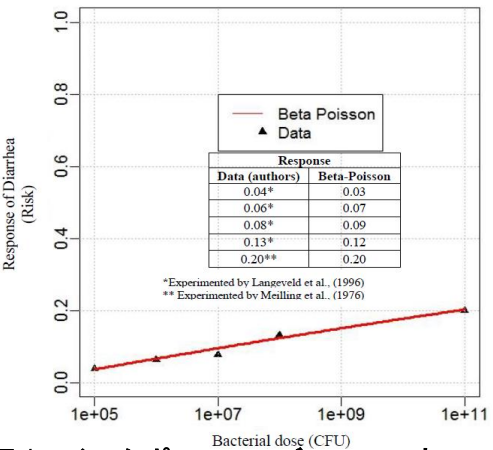


図1：ベータポアソンモデルでの下痢のリスク推定

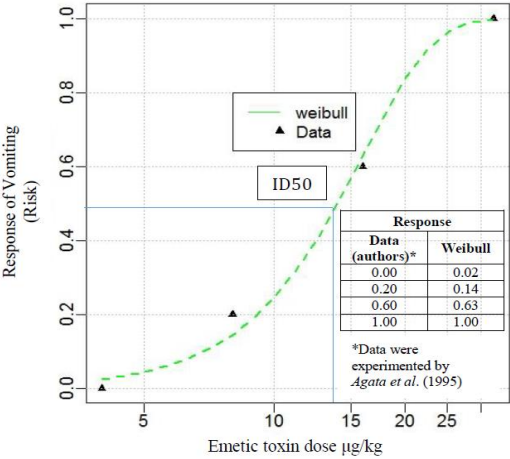


図2：ワイブルモデルでの嘔吐症のリスク推定

食品中のセレウス菌に関する用量反応解析

山形大学大学院農学研究科 学生会員 ○金谷祐里

ガジャマダ大学農学部 非会員 NURMANGIRASARI Yunita ajeng

山形大学農学部 正会員 渡部徹

1. はじめに

食中毒の原因細菌の1つにセレウス菌がある。セレウス菌に感染したときの症状は下痢と嘔吐の2つに大別される。このうち下痢症は、食品とともに摂取したセレウス菌がヒトの小腸で増殖し、毒素を産出することによって起こる。一方嘔吐症は、セレウス菌が食品中で産出する毒素セレウリドの摂取によって起こる。この細菌は30-40℃で増殖でき、熱耐性を持つ芽胞を形成するため、通常の調理温度で生存できる。そのため、多くの食品がこの細菌によって汚染される可能性があり、実際に多様な食品を原因とする食中毒事例が報告されている。本研究では、それぞれの症状に関連するセレウス菌の用量反応モデルを構築し、構築したモデルを用いて食品汚染のシナリオでリスク評価を行った。

2. 方法

2. 1 下痢症の用量反応モデルの構築

下痢症のリスク推定のためのデータセットを表1に示す。このデータは、セレウス菌に汚染された低温殺菌牛乳を健康な成人に摂取させた実験のデータである。また、サルに 10^{11} CFUの用量のセレウス菌を与えた実験のデータも用いた。表1のデータに微生物リスク評価に一般的に用いられる指数モデル(式1)とベータポアソンモデル(式2)をフィッティングして、モデル中のパラメータを決定した。フィッティングには最尤推定法を用いた。

$$P(d) = 1 - \exp(-rd) \quad (\text{式1}) \quad P(d) = 1 - \left[1 + \frac{d}{N_{50}} (2^\alpha - 1)\right]^{-\alpha} \quad (\text{式2})$$

ここで、 d は細菌の用量、 $P(d)$ は疾病が起こる確率、 r 、 α 、 N_{50} はパラメータを表す。

2. 2 嘔吐症の用量反応モデルの構築

嘔吐症のリスク推定のためのデータセットを表2に示す。このデータは、セレウス菌が生産する毒素セレウリドをマウスに投与する実験から得られた、細菌が産出する毒素も化学物質の1つであるため、2.1に示す2つのモデルではなくワイブルモデル(式3)を用いた。パラメータのフィッティングには、最尤推定法を用いた。

$$P(d) = 1 - \exp\left(-\left(\frac{d}{\beta}\right)^\alpha\right) \quad (\text{式3})$$

ここで、 d は用量、 α 、 β はパラメータ、 $P(d)$ は疾病が起こる確率を表す。

表1：下痢症の用量反応モデル構築に
用いたデータセット

Langeveld et al., (1996)

Meilling et al.,(1976)

No. <i>B.cereus</i> cells ingested (CFU)	Risk
10^5 *	0.04
10^6 *	0.06
10^7 *	0.08
10^8 *	0.13
10^{11} **	0.20

表2：嘔吐症の用量反応モデル構築に
用いたデータセット

Agata et al.,(1995)

Dose ($\mu\text{g/kg}$)	Risk
4	0.00
8	0.20
16	0.60
32	1.00

キーワード：セレウス菌、用量反応モデル、下痢と嘔吐、ベータポアソンモデル、ワイブルモデル

住所：山形県鶴岡市若葉町1-23 Tel:0235-28-2907 Email:to-ru@tds1.tr.yamagaata-u.ac.jp

2. 3 セレウス菌による食品汚染の下痢症のリスク評価

はじめに下痢症について、セレウス菌に汚染された低温殺菌牛乳を、0~26 日間、5~13℃で牛乳を保管し、それを年間 11.09L 飲むシナリオでリスク評価を行った。牛乳中のセレウス菌の増加は、Valik らの実験結果にもとづいて保存期間と温度別にゴンベルツモデルで推定した。初期のセレウス菌の汚染量は 10^2 CFU/ ml と仮定した。

次に嘔吐症については、セレウス菌に汚染された米飯を、0~5 時間、20~35℃の温度で保管し、それを年間 102kg 食べる、というシナリオでリスク評価を行った。米飯中のセレウス菌の増加は、Agata ら (2005) の実験データにもとづいて、下痢症と同じくゴンベルツモデルで推定した。米飯中の毒素セレウリドの濃度は菌濃度から求めた。初期のセレウス菌濃度は 10^7 CFU/ とした。

3. 結果および考察

3. 1 用量反応モデル

下痢症の指数モデルの最適なパラメータは $\log r = -2.38$ であった。一方、ベータポアソンモデルの最適なパラメータは $\log \alpha = -4.3$, $\log N_{50} = 59.3$ であった (図 1)。この 2 つのモデルのうち、ベータポアソンモデルがより良いフィッティングを与えた。

嘔吐症のワイブルモデルの最適なパラメータは、 $\log \alpha = 0.98$, $\log \beta = 2.77$ であった (図 2)。

3. 2 食品汚染シナリオのリスク評価結果

はじめに下痢症の結果を述べる。日本をはじめとする先進国では、下痢症の許容リスクは 10^{-4} とされており、これに従うと 5℃なら 26 日間、7℃なら 10 日間、9℃なら 4 日間、11・13℃なら 2 日間までの保存期間にすべきである。一方、現在のインドネシアでの下痢症の年間リスク 0.12 と比較すると、5~13℃で 26 日間の保存中に、推定されている下痢症のリスクがこれを上回ることには無かった。

次に、嘔吐症である。ニュージーランドとオーストラリアで、米を原因とするセレウス菌食中毒の許容年間リスクは 10^{-8} と定められている。本研究でのリスク評価の結果、この許容リスクを満足するには、炊きあげた米は 20℃なら 3 時間以内、30℃なら 2 時間以内、35℃なら 2 時間以内で保存することが望ましい事が解った

4. まとめ

2 種類の毒素を想定してのセレウス菌の用量反応モデルを開発することができた。これらのモデルを用いることで、種々のシナリオのもとで、セレウス菌の食中毒リスクが計算でき、食品衛生の向上に貢献できる。

5. 参考文献

- Agata N. et al. 2002. International Journal of Food Microbiology. 73: 23-27.
Agata N. et al. 1995. A FEMS Microbiology Letters 129:17-20.
Langeveld L. P. M. et al. 1996. Journal of Food Protection. 59 :723-726.
Melling J. et al. 1976. J. Clin. Path., 29 : 938-940.
Valik L. et al. 2003. Journal of Food Science. 21 : 195-202.

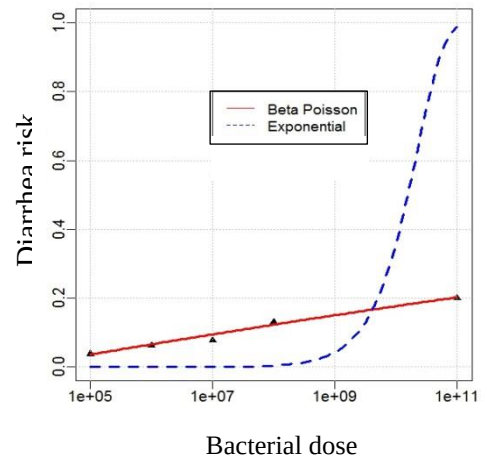


図 1: セレウス菌による下痢症に関する用量反応

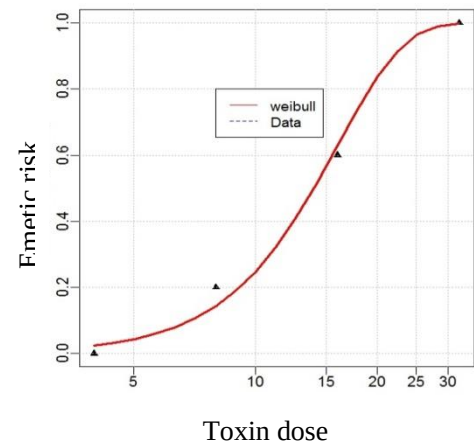


図 2 : セレウス菌による嘔吐症に関する用量反応モデル