

ボツリヌス菌および毒素の基礎知識

大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
小崎 俊司

第3回 ボツリヌス症の診断と菌および毒素の取り扱い

ボツリヌス中毒の検査は検体中に存在する毒素の検出、型別と菌の検出、分離、同定に分けられるが、診断には毒素の検出がより重要である。毒素の検出には、マウス接種試験が最も広く利用されている。

検体からの抽出液あるいは培養液を希釈後、マウス腹腔内に投与し、その生死を4日間観察する。血清以外の検体を調べる際、タンパク非分解性菌の毒素は投与前にトリプシン処理を行う必要がある。毒素が検出された場合に診断用抗血清を用いた中和試験により毒素の型別を行う。菌群間で全ての型の菌株に最適な培地、培養法はない。一般には増菌培地として0.5%グルコースを添加したクックドミート培地が用いられる。芽胞の発芽を促進するために0.2%可溶性澱粉を加えることもある。

検体を培地に接種後、80℃10分間加熱（E型菌60℃10分間）する。培養は卵黄加GAM寒天培地あるいは卵囊加CW寒天培地が適している。嫌気条件下で30あるいは37℃2日間培養し、弱い卵黄反応を呈し、リパーゼ産生により集落周辺に真珠様光沢を示す集落を検索する。

PCR(polymerase chain reaction)法による毒素遺伝子の迅速診断法が報告されているが、菌により毒素産生量が異なるため、確定診断法としてよりも毒素検出前のスクリーニングなどの補助的方法として有用性が高い。

ボツリヌス菌および毒素の使用については使用制限が法令で定められているため、利用にあたっては内容を熟知する必要がある。

ボツリヌス菌および毒素の取扱いはBSL2でおこなう。感染症法で菌および毒素は二種病原体に指定され、保持した場合には1日以内（同定した次の日）に届ける必要があり、取扱いについても厳密な制限が設けられている。

しかし、A型ボツリヌス毒素を含有する製剤500単位以下のもの又はB型ボツリヌス毒素を含有する製剤10,000単位以下のもの、0.1 mg以下のボツリヌス毒素については上記の規制の対象外になっている。

ボツリヌス毒素のハザード対策で最も重要な点は、非経口的に毒素が体内に入ることである。毒素を経気道から吸入した場合、経口的に摂取するより非常に少ない量で発症すると考えられている。サルへの実験の成績では、経口的に投与するよりも吸入による方が毒素型による毒性に大きな差がないことが指摘されている。

ボツリヌス毒素は煮沸処理（数分間）あるいは0.01%次亜塩素酸ナトリウム溶液、2.5%水酸化ナトリウム溶液（1時間以上）に浸漬することにより不活化できる。欧米ではボツリヌス菌および毒素を取り扱う研究者および作業従事者にはトキソイドによる能動免疫が実施されている。わが国でも破傷風トキソイドの調製に準じた方法でトキソイド（A、B、E、F型）が作成され、その有効性は確認されている。