

平成 17 年度

容器包装詰低酸性食品に関する試験検査

— 総括報告書 —

国立医薬品食品衛生研究所

食品衛生管理部

山本茂貴

五十君静信

春日文子

朝倉 宏

I 背景

食品衛生法に定義される容器包装詰加圧加熱殺菌食品については、pHが4.6を超え、かつ水分活性が0.94を超える場合、120℃、4分間以上の加熱が義務づけられているところであるが、近年、pHが4.6を超え、かつ水分活性が0.94を超える食品（低酸性食品）を、若干の気体透過性を有する容器包装に入れ密封した後に、120℃、4分間に満たない条件で加熱殺菌されたレトルト類似食品が常温流通の上で販売されている。これらについては、仮にボツリヌス菌による汚染を受けた場合、重篤な食中毒を引き起こす恐れがあるとの指摘がなされていることから、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会での審議を受け、平成15年6月30日、これら食品に対して、「中心部の温度を120°で4分間加熱する方法若しくはこれと同等以上の効力を有する方法で加熱殺菌を行う、又は10°以下で保存すること。ただし、別添のボツリヌス菌接種試験によりボツリヌス毒素の産生が認められないものにあつてはこの限りでない。」との通知が出された（食基発第0630002号/食監発第0630004号）。しかし、この時別添として示されたボツリヌス菌接種試験において使用が奨励されたボツリヌス菌株（A型3株（62A ATCC株、62A NFPA株、36A株）およびB型2株（213B株、Okra株）の計5株）は、その後のバイオテロ対策の変化により、わが国において實際上入手困難な株となり、本通知の実効性が危ぶまれる状況となった。

さらに、現在、pHが4.6を超え、かつ水分活性が0.94を超える食品であり、120℃、4分間に満たない条件で加熱された後、常温流通する食品が多岐に亘って存在することも判明している。これらについては、食材やその成分、加熱条件、容器包装の形態、微生物叢も多様であり、したがって、ボツリヌス菌汚染の起こる危険性と仮に汚染があつた場合の菌の増殖と毒素産生性もまた多様であるため、広範な食品について、さらにボツリヌス菌接種試験による検討が必要である。

厚生労働省では、厚生労働科学研究費補助金事業により、平成14～16年度に、岡山大学小熊恵二教授を主任研究者とする「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」研究を行ない、実行可能なボツリヌス菌接種試験法の確立を目指すとともに、種々の食品に関する汚染実態調査ならびにボツリヌス菌接種試験を実施してきた。その結果、複数の容器包装詰低酸性食品から好気性芽胞菌や*Clostridium*属菌、A型、B型ボツリヌス菌が検出され、また材料となりうる香辛料からもB型、C型、D型ボツリヌス菌が検出された。しかし、ボツリヌス菌接種試験に使用すべき菌株の性状の比較と長期食品保存試験に時間がかかることなどにより、ボツリヌス菌接種試験の一部については、継続して調査研究を行なうことが必要となったため、本試験検査において、最終的に知見をまとめたものである。

II 目的

本調査は、上記の背景を踏まえて、pHが4.6を超え、かつ水分活性が0.94を超える食

品を、容器包装に入れ密封した後に、120°C4分間に満たない条件で加熱殺菌された、レトルト類似食品を含む低酸性容器包装詰食品に関し、リスク管理に必要な手法を検討すると共に、現行の容器包装詰加圧加熱殺菌食品の規格基準の見直しに必要な科学的データ等を収集し、知見を取りまとめることを目的とする。

具体的には、下記の事項について調査を行い、リスクプロファイル案を作成する。

1. ボツリヌス菌添加試験に必要な菌株の選定等、試験法を確立する。
2. 食品中でボツリヌス菌が増殖し毒素を産生しうるかどうかを試験するために、代表的な容器包装詰低酸性食品に対するボツリヌス菌添加試験を実施する。
3. 主に魚介類を汚染し低温でも増殖するE型ボツリヌス菌の汚染実態や増殖動態を調査し、E型ボツリヌス菌が汚染しうる食品のリスク管理に必要な手法を検討する。
4. ボツリヌス菌の増殖・毒素の産生と食品添加物の関係について調査し、ボツリヌス菌に関する食品のリスク管理に必要な手法を検討する。

III 調査の概要

本調査は、平成17年11月から平成18年3月に、以下の構成により実施した。

1. 調査計画の立案、協力機関や検体提供時の打ち合わせ、ボツリヌス菌の標準株の維持、微生物検査方法の検討と指示、得られた各種試験結果の精査、調査報告書の確認等の技術的支援及びリスクプロファイル作成（国立医薬品食品衛生研究所）
2. ボツリヌス菌芽胞添加試験に必要な菌株の選定等、試験法の確立（国立医薬品食品衛生研究所、岡山大学大学院医歯学総合研究科、大阪府立大学大学院農学生命科学研究科、大阪府立公衆衛生研究所、（社）日本缶詰協会）
3. 代表的な容器包装詰低酸性食品へのボツリヌス菌芽胞添加試験の実施（国立医薬品食品衛生研究所、大阪府立大学大学院農学生命科学研究科、東京都健康安全研究センター、滋賀県立衛生科学センター、大阪府立公衆衛生研究所、福岡県保健環境研究所、（社）日本缶詰協会）
4. 主に魚介類を宿主とするE型ボツリヌス菌の汚染実態や増殖動態に関する調査（岡山大学大学院医歯学総合研究科、帯広畜産大学畜産学部獣医学科）
5. ボツリヌス菌の増殖・毒素の産生と食品添加物の関係の検討（岡山大学大学院医歯学総合研究科、広島大学大学院生物圏科学研究科）

IV 調査の結果と考察

1. ボツリヌス菌芽胞添加試験に必要な菌株の選定、試験法の検討
毒素産生性および芽胞形成能の優れた株として、A型(62A, 36A, 33A, CB21, Renkon)、

B型 (Okra, 67B, 407, Ginger, 326) 各 5 株を選定し、それらの耐熱性、発育 pH 域、水分活性域等の諸性状を調べた。これらの菌株は、十分な耐熱性を備えていることが明らかになったが、発育 pH 域、水分活性域には株によって若干、差が認められた。

上記各 5 株について、さらに乳児ボツリヌス症由来株等他の対照菌株とともに、遺伝学的性状を比較した。制限酵素 *Sma*I ならびに *Xho*I を用いた PFGE の切断パターンから、接種実験用に選別した各菌株はすべて異なる型に分類できたことから、本法は検査機関での病原体管理に使用できると考えられた。

実際のボツリヌス菌芽胞添加試験にあたっては、芽胞を食品 1 g あたり 5.0×10^2 接種する方法を可能とした。さらに、供試試料容器表面にゴムシールを貼り、そこへマイクロシリンジを用いて芽胞液を注入することにより、試料内部ヘッドスペースのガス組成を変えずに添加試験が行えるようにした。

また検査検体数は無処理対照ならびに接種時 3 検体以上、賞味期限の中間時ならびに賞味期限時そして賞味期限の 1.5 倍時に各 5 検体以上(ただしガス発生時は随時検査)、として確立した。

2. 代表的な容器包装詰低酸性食品へのボツリヌス菌芽胞添加試験結果

2-1. 惣菜類

惣菜として試験に供した「さばのみそ煮」「蒸かし黒豆」「甘栗」「ホタテの塩焼き」「豚汁の具」の水分活性は 0.97 以上であり pH は 5.8~6.8、「けんちん汁の具」、「さばの塩焼」「さばの照り焼」「つぶのやわらか煮」「飛魚のやき」の水分活性は 0.96 以上であり pH は 6.1~7.2 であった。したがって、すべての食品が今回接種試験に使用した I 群ボツリヌス菌の発育可能域の理化学的性状を有していた。

通知(平成 15 年 6 月 30 日)に指定された 5 株ならびに本調査で選定した 10 株を用い、それぞれの食品にボツリヌス菌芽胞を添加したところ、全ての供試食品において、ボツリヌス毒素の産生が認められた。

また、5 株法に比べて 10 株法の方が A 型毒素と B 型毒素をよりバランス良く産生することが明らかとなったことから、今回検討した 10 株法は 5 株法と比べて同等あるいはそれ以上の性能を有すると結論された。

2-2. 一部の和菓子

和菓子のうち、「上がり羊羹」「栗むし羊羹」「水羊羹」「黒ういろろ」について、ボツリヌス菌芽胞添加試験を行なった。

「上がり羊羹」および「栗むし羊羹」、「水羊羹」については、ボツリヌス菌の増殖が認められず、毒素も検出されなかった。

試験に供試した「水羊羹」にはグリシン(製品:含有量 0.88%)が含まれていた。一方、製品と同じ工程でグリシン不含品の「水羊羹」をつくり、同様に恒温試験を行

ったところ、恒温 10 日目（賞味期限の 0.5 倍日）で 5 件中 1 件にボツリヌス菌芽胞の発芽・増殖が認められ、かつボツリヌス毒素も検出された。その後の 21 日目（賞味期限日）および 31 日目（賞味期限の 1.5 倍日）ではそれぞれ 5 件すべてにボツリヌス菌芽胞の発芽・増殖が認められ、ボツリヌス毒素も検出された。

標準配糖(糖 25%)と減糖(糖 18%)の「黒ういろ」に、pH 調整剤を 0%、0.06%、0.12% 加えた各 3 種および pH 調整剤 0% にグリシンを 0.5% 加えた各 1 種、合計 8 種を作製し、ボツリヌス菌芽胞添加実験を行った。その結果、糖 18% の pH 調整剤 0%・グリシン無添加、pH 調整剤 0.06%・グリシン無添加および pH 調整剤 0%・0.5% グリシン添加の 3 種、並びに糖 25% の pH 調整剤 0%・グリシン無添加の 1 種の合計 4 種において、ボツリヌス菌の増殖が顕著に認められた。また、ボツリヌス毒素の産生は、菌の増殖が顕著でなかった 4 種の他、糖 18% の pH 調整剤 0.12%・グリシン無添加、糖 25% の pH 調整剤 0.06%・グリシン無添加および pH 調整剤 0%・グリシン 0.5% 添加の 3 種においても認められた。

2-3. 無菌化包装米飯

通知に指定された 5 株を用い、pH は 7.0~7.1 の米飯 1g 当たり 10^{-1} CFU ならびに 10CFU のボツリヌス菌芽胞を添加した。30°C で賞味期限の 1.5 倍、すなわち 9 ヶ月間試験した結果、接種濃度によってボツリヌス菌増加および毒素産生に違いがみられた。すなわち、接種濃度が 10^{-1} CFU/g では恒温放置期間が 5 ヶ月まではとくに異常はみられなかったが、6 ヶ月以後には *Clostridium* 属菌が増加する試料がみられた。しかし、*Clostridium* 属菌が増加した試料からは毒素産生はみられなかった。一方、接種濃度が 10¹CFU/g では、2 ヶ月後に *Clostridium* 属菌が増加する試料がみられ、6 ヶ月後の試料には毒素産生もみられた。

一方、pH 5.0~5.4 の別の米飯に、1g 当たり 0.04CFU ならびに 15CFU のボツリヌス菌芽胞を添加し、30°C で賞味期限の 1.5 倍の期間保存した結果、毒素産生は認められなかった。

これらの結果から、無菌化包装米飯は、潜在的にボツリヌス食中毒の発生の可能性があるものの、pH によって影響を受けるものと考えられた。

2-4. 「切り餅」

「切り餅」は接種後、賞味期限の約 1.5 倍である 395 日まで継時的に検査を行ったが、ボツリヌス毒素の産生は認められなかった。

3. 主に魚介類を宿主とする E 型ボツリヌス菌の汚染実態や増殖動態に関する調査結果

「いずし」、「塩タラコ」、「サケフレーク」にボツリヌス E 型菌芽胞を接種し、その増殖を観察した結果、これらの食品においてボツリヌス菌の増殖、毒素産生は認められなかったが、いずし製造においてボツリヌス菌を制御するためには、水晒し工程及び熟成

工程における温度管理を適切に行うとともに、熟成工程においては乳酸菌等のスターターを添加して、熟成開始後早期に pH を下げることが望ましいことがわかった。

4. ボツリヌス菌汚染実態調査結果

本年度の汚染実態調査の範囲の中では、ボツリヌス菌が検出された食品は、エスニック食品の一部のみであった。ボツリヌス菌が検出されたエスニック食品の水分活性は低く、ボツリヌス菌の増殖は困難な条件であった。しかし、ボツリヌス菌の増殖が可能なエスニック食品も多く、その中には *Clostridium* 属菌が検出された検体もあった。また一般的な取り扱いの非常に悪い食品も多く見られたことから、輸入エスニック食品への注意が必要であると思われた。

5. ボツリヌス菌の増殖・毒素の産生と食品添加物の関係の検討

「水羊羹」のところで示したように、グリシンを含む市販製品を対象にボツリヌス菌芽胞接種試験を行ったところ、30℃で賞味期限の 1.5 倍日まで恒温試験を行ったが、ボツリヌス菌は増殖せず、ボツリヌス毒素も産生されなかった。しかし、グリシンを含まない「水羊羹」では、賞味期限の 0.5 倍日からボツリヌス菌が発芽・増殖し、ボツリヌス毒素も産生されたことから、グリシンがボツリヌス菌の発芽・増殖および毒素産生に影響したことが認められた。

一方、「黒ういろろ」では、グリシン濃度とボツリヌス毒素産生の間には明確な関係が認められず、pH にも影響されることが判明した。

グリシンの効果については、さらに詳細な検討を行なった。グリシンに対する本菌の感受性は pH の低下により高まったが、食塩（2%）の添加で低くなり、さらなる検討を要した。また、グリシンを含む日持ち向上剤製剤にも同等の抗ボツリヌス効果が認められた。しかし、実際に使用される 0.5-1.0%程度の濃度では増殖遅延効果はあっても確実に抑えることは困難である。高いレベルでの安全性を確保するために、抗菌性を有する植物抽出液との併用は有用であることがわかった。さらに、黄蓮等のいくつかの植物抽出液は、バクテリオシンであるナイシン、発色剤として食肉製品に用いられる亜硝酸ナトリウムとの併用でも効果を発揮した。

また、漢方薬のエキスおよび緑茶のカテキン(EGCg)は、ボツリヌスや破傷風毒素をある程度不活化できる可能性が示された。

食品衛生法に定義される容器包装詰加圧加熱殺菌食品については、「遮光性を有し、かつ、気体透過性のないものであること。ただし、内容物が油脂の変敗による品質の低下のおそれのない場合にあっては、この限りでない。」という容器包装の規格があるが、レトルト類似食品は、「若干の気体透過性を有する容器包装」を使用している点でも、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の規格基準の適用から除外されていた。添付のリスクプロファイルの項目 3 に記載するように、気体透過性（酸素、二酸化炭素共に）があっても

ボツリヌス菌の増殖ならびに毒素産生が可能である知見が得られたことから、「気密性のある」容器包装と同様のリスクがあると考えられる。

V まとめ

- ① ボツリヌス菌接種試験に用いる菌株の選定を、毒素産生性、芽胞形成性、耐熱性などの生化学性状および遺伝学的性状の両面から行った。その結果、A型(62A, 36A, 33A, CB21, Renkon)、B型(Okra, 67B, 407, Ginger, 326)が毒素産生性および芽胞形成能において優れ、かつ、本研究で行った PFGE による型別により全て異なる型に分類できることから、検査機関での病原体管理上も使用可能であると考えられた。
- ② ボツリヌス菌接種試験の添加手技についてはゴムシール法として、また検査検体数は無処理対照ならびに接種時 3 検体以上、賞味期限の中間時ならびに賞味期限時そして賞味期限の 1.5 倍時に各 5 検体以上（ただしガス発生時は随時検査）、として確立した。
- ③ 「さばのみそ煮」「蒸かし黒豆」「甘栗」「ホタテの塩焼き」「豚汁の具」「けんちん汁の具」「さばの塩焼」「さばの照り焼」「つぶのやわらか煮」「飛魚のやき」へのボツリヌス菌接種試験の結果、全ての食品中でボツリヌス毒素産生が認められた。
- ④ 「水羊羹」と「黒ういろう」を用いて種々の糖濃度・pH 調整剤濃度・グリシン濃度の組み合わせについてボツリヌス菌芽胞添加実験を行ったところ、グリシン非添加の「水羊羹」と「黒ういろう」の複数の糖・pH・グリシンの組み合わせにおいて、ボツリヌス毒素産生が認められた。pH 調整剤やグリシンの添加によって、菌数が初期値とほぼ同数であってもボツリヌス毒素が産生されている場合があり、ボツリヌス毒素試験による安全性の確認が必要と考えられた。
- ⑤ 「上がり羊羹」および「栗むし羊羹」については、ボツリヌス菌芽胞添加実験の結果、菌数はボツリヌス菌芽胞添加直後とほぼ同じでボツリヌス毒素も検出されなかった。
- ⑥ 無菌化包装米飯へのボツリヌス菌接種試験の結果、pH 6.8～7.1 の米飯においては、芽胞接種濃度が 10^{-1} CFU/g では毒素産生は認められなかったものの、恒温放置期間 6 ヶ月以後には *Clostridium* 属菌が増加する試料が見られた。一方、芽胞接種濃度が 10^1 CFU/g では、2 ヶ月後に *Clostridium* 属菌が増加する試料が見られ、6 ヶ月後の試料には毒素産生も認められた。しかし、pH 5.0～5.4 の無菌化包装米飯においては、*Clostridium* 属菌の増加は起こらなかった。
- ⑦ 「切り餅」へのボツリヌス菌接種試験を行い、賞味期限の 1.5 倍である 395 日まで観察したが、毒素産生は見られず、接種した芽胞も減少したと考えられた。
- ⑧ 「いずし」、「塩タラコ」、「サケフレーク」にボツリヌス E 型菌芽胞を接種し、その消長を観察した結果、これらの食品においてボツリヌス菌の増殖、毒素産生は認められなかったが、いずし製造においてボツリヌス菌を制御するためには、水晒し工程及び熟成工程における温度管理を適切に行うとともに、熟成工程においては乳酸菌等のスターターを添加して、熟成開始後早期に pH を下げることが望ましいことがわかった。

- ⑨ 本年度の汚染実態調査の範囲の中では、ボツリヌス菌が検出された食品は、エスニック食品の一部のみであった。
- ⑩ ボツリヌス菌が検出された一部のエスニック食品の水分活性は低く、ボツリヌス菌の増殖は困難な条件であった。しかし、ボツリヌス菌の増殖が可能なエスニック食品も多く、また一般的な取り扱いの非常に悪い食品も多く見られたことから、輸入エスニック食品への注意が必要であると思われた。
- ⑪ グリシンがボツリヌス菌の発芽・増殖および毒素産生を抑制する結果が認められた。しかし、実際に使用される0.5-1.0%程度の濃度では増殖遅延効果はあっても確実に抑えることは困難であることもわかった。漢方薬のエキスおよび緑茶のカテキン(EGCg)は、ボツリヌスや破傷風毒素をある程度不活化できる可能性が示唆された。
- ⑫ 包装への表記が明確でないものが多い（保存温度あるいは添加物の使用等）ことは、今後のリスク管理面での検討事項であろう。

リスクプロファイル案

別紙に、常温流通容器包装詰低酸性食品によるボツリヌス食中毒の可能性に関するリスクプロファイル案を添付する。

謝辞

今回の調査にご協力をいただきました、帯広畜産大学畜産学部獣医学科、大阪府立大学大学院農学生命科学研究科、岡山大学大学院医歯学総合研究科、広島大学大学院生物圏科学研究科、東京都健康安全研究センター、滋賀県立衛生科学センター、大阪府立公衆衛生研究所、福岡県保健環境研究所、(社)日本缶詰協会の各先生に深謝いたします。

別紙

常温流通容器包装詰低酸性食品によるボツリヌス食中毒の可能性に関するリスクプロファイル（案）

本リスクプロファイルは、平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「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」（主任研究者 小熊恵二）の中で作成されたリスクプロファイルを基に、平成 14～16 年度の厚生労働科学研究費補助金研究事業「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」ならびに平成 17 年度の「容器包装詰低酸性食品に関する試験検査」の結果を総合したものである。

一連の研究の端緒となったのは、1999 年に千葉県で発生したレトルト類似食品による A 型ボツリヌス中毒事例であった。120℃、4 分間に満たない条件で加熱後容器包装された原因食品が、冷蔵保存の表示があつたにもかかわらず常温で保存されたために、容器内でボツリヌス菌が増殖して毒素が産生され、中毒の原因となったものである。平成 14 年以降の研究ならびに試験検査は、類似の加熱条件や物理化学的条件、包装形態を持つ食品を広く対象として行った。

1. 問題となる病原微生物・媒介食品の組み合わせについて

- 対象病原微生物：
Clostridium botulinum
- この病原微生物による感染症もしくは食品衛生上の問題（食中毒など）に関与する食品または加工食品についての概略：
pH 4.6 以上かつ水分活性 0.94 以上であり、120℃、4 分間に満たない条件で加熱された後、常温流通する食品（常温流通容器包装詰低酸性食品）。多岐に亘る食品が、現在、国内に流通している

2. 公衆衛生上の問題点について

- 当該病原微生物の、公衆衛生上に大きな影響を及ぼし得る鍵となる特性（病原性、毒素の性状、菌の増殖（毒素産生）抑制条件、温度抵抗性、薬剤抵抗性など）について：
別添 菌の性状に要約する
- 引き起こされる疾病の特徴：
 - 感受性人口（疾病に罹る可能性のある人々）
全ての日本人
 - 人における年間罹患率と年齢、性別、地域、季節間における、そのばらつ

きと違い

我が国の 1955～2004 年の 50 年間に於けるボツリヌス食中毒の発生状況は、発生件数 90 件、患者数 355 人、死者数 68 人である。なお、死者は、1985 年に北海道でイワシいずしによる E 型ボツリヌス中毒により死亡した一人を最後に、以降発生していない。(国立感染症研究所・厚生労働省保健医療局結核感染症課、厚生労働省食品安全部)

○ 病原微生物への暴露による臨床症状、致死率、重症度、長期後遺症の性状と発生頻度

潜伏期間は 8～36 時間であるが、数日後に発症することもある。主な症状は、弱視、複視、嚥下困難、呼吸困難、発声困難、筋弛緩、眼瞼下垂などである。神経症状は左右対称で、呼吸失調により死亡する。わが国の発生状況から算出すると、**致死率は 19.2%である。**回復後の後遺症はない。E 型中毒では初期に嘔吐や下痢が見られることが多い。(ICMSFa、阪口玄二、武士甲一)

ヒトにおける A 型毒素の致死量は 0.1 から 1.0 μg (ICMSFa)、経口摂取では E 型毒素で約 63 μg (阪口玄二) と言われる。

毒素の検出法、同定法は、基本的にマウスバイオアッセイによるが、近年、ELISA 法なども開発されている。(US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition)

○ 確立した治療方法およびその実用性

E 型中毒では、発症後も抗毒素が有効である。A 型、B 型中毒では経過が緩慢なため抗毒素の投与が遅れ、投与量が不足するためか、一般に血清療法が有効であった報告は少ない。(阪口玄二)

しかし、1998 年東京都内で発生したグリーンオリーブの塩漬けによる B 型ボツリヌス中毒事例では、摂食より 12～25 日目からの抗毒素血清投与も有効であった。(松村美由紀、岩田誠)

また、人工呼吸器や気管切開などの対症療法も有効である。

○ 年間全症例中の食中毒の割合

ボツリヌス感染症自体は、食餌性ボツリヌス症、乳児ボツリヌス症、創傷性ボツリヌス症、さらに成人の乳児ボツリヌス症に分類される。本リスクプロファイルの対象となるのは、食品中の毒素の摂取により起こる、いわゆる食中毒としての食餌性ボツリヌス症である。

● 食中毒の特徴

○ 食中毒の原因および疫学 (加工、保存状況を含めた、原因食品の特徴・特性、調理方法、取り扱いなど食品を介した伝播に影響を及ぼす事項についての概略)

本菌は、土壌、湖沼や海岸の水底、動物の腸管内など、環境中に広く存在しているため、汚染菌数は少ないものの、野菜も動物性食品も含め、ほとんど全ての食品を汚染しうる菌である。我が国のボツリヌス食中毒の原因となった食品としては、圧倒的に魚介類のいずしが多い。海外の食中毒事例では、魚の燻製や豚肉製品、半発酵や塩漬けの魚料理、ホームメイドの野菜の缶詰などが原因食品として報告されている。(ICMSFa、国立医薬品食品衛生研究所安全情報部、国立感染症研究所・厚生労働省保健医療局結核感染症課)

- **集団食中毒の発生頻度と特性（孤発性 / 散發性症例の頻度の割合も含む）**
殆どが一件一人患者の散發事例であるが、1984年のカラシレンコンによる事例では36名の患者（うち11名が死亡）が、また1998年の瓶詰めオリブによる事例では18名の患者（死亡例なし）が発生した。

3. 食品製造、加工、流通と摂取

- **リスク管理に関与し、影響を与え得る媒介食品の特性**

媒介食品の微生物学的安全性に影響を与える要素を含めた、生産から消費に至る連続過程（一次生産過程、加工過程、流通・輸送、貯蔵・保存、調理など）の解説

- **原材料や食品の汚染実態**：食肉、食鳥肉、魚介類、野菜、果実、穀類、その他の原材料と加工食品におけるボツリヌス菌の汚染頻度と菌数について、世界各国における報告がある。(ICMSFb, Lund and M. W. Peck)
- **増殖と毒素産生に与える温度の影響**：第Ⅰ群菌の増殖至適温度は 35～45℃であり、10℃未満での増殖の報告はない。第Ⅱ群菌の増殖至適温度は 28～30℃であり、液体培地中では4℃でも20日後、3.3℃でも47～81日後に毒素を産生したという報告もある。しかも、第Ⅱ群菌は増殖しても腐敗臭を發せず、食品の外観にも大きな変化をもたらさないことがある。これらの増殖性は、pHと水分活性によっても影響を受ける。(ICMSFa)
- **増殖と毒素産生に与えるpHと水分活性の影響**：第Ⅰ群菌はpH4.6以上、また水分活性0.94以上で、第Ⅱ群菌はpH5.0を超え、水分活性0.97以上で、増殖し毒素を産生することが報告されている。(ICMSFa)
- **加熱による死滅**：栄養型ボツリヌス菌は熱により容易に死滅する。pHや食品成分に影響されるが、毒素も74℃1～3分の加熱で10分の1に、1～25分の加熱で1000分の1になる。一方、芽胞の耐熱性は高く、特に第Ⅰ群菌の耐熱性は、低酸性缶詰食品のための12D死滅過程導入の根拠となった。(ICMSFa)
- **増殖と毒素産生に与える気体透過性の影響**：ボツリヌス菌添加後、12℃以下

で魚を保存した場合、真空条件下、および 70%ならびに 100%CO₂ 存在下のいずれにおいても、3~9 日後に毒素産生が認められた (ICMSFa)。ブロッコリーを気体透過性の異なる容器中で保存した結果、[酸素透過率 7,000 cm³/m²/24h, 二酸化炭素透過率 20,500 cm³/m²/24h] の容器では 13°C21 日後ならびに 21°C10 日後に、[酸素透過率 16,000 cm³/m²/24h, 二酸化炭素透過率 36,000 cm³/m²/24h] の容器では 21°C10 日後に、それぞれ毒素産生が認められた(Hao et al.)。すなわち、気体透過性があってもボツリヌス毒素は産生される。

- リスクに関して現在知られていること、例えば媒介食品の生産、加工、流通と消費者の取り扱いに関連してどの様にしてリスクが発生し、誰に影響を及ぼすか
 - 1969 年に宮崎県で起きた B 型ボツリヌス中毒は、ドイツ産キャビアを原因として患者 23 名死者 3 名を出した (国立感染症研究所・厚生労働省保健医療局結核感染症課)。前述の東京都のグリーンオリーブによる食中毒事例は、イタリアから輸入されたビン詰め塩漬けグリーンオリーブが原因であり、我が国で 3 例目の B 型ボツリヌス毒素による中毒であった(門間千枝ほか)。食品の国際貿易の発達により、外国の土壤に芽胞として存在するボツリヌス菌が、食品や食材に混入して輸入される可能性が危惧される。
 - 1999 年に千葉県で発生したレトルト類似食品による A 型ボツリヌス中毒事例では、加熱後容器包装された原因食品に冷蔵保存の表示があったにもかかわらず、包装がレトルト食品に類似していたために常温で保存されたことが、中毒の原因であった。患者が喫食した商品と同日に宅配された「ハヤシライスの具」25 検体のうち 1 検体から A 型ボツリヌス菌ならびに毒素が検出された。(小林博司ほか、内村眞佐子ほか)

4. 研究事業ならびに調査事業の結果のまとめ

平成 14~16 年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「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」ならびに平成 17 年度「容器包装詰低酸性食品に関する試験検査」の結果を以下にまとめる。

- **常温流通容器包装詰低酸性食品におけるボツリヌス菌汚染実態**

常温流通容器包装詰低酸性食品のうち、若干の気体透過性を有する容器包装に入れ、密封した後に 120°C 4 分間に満たない条件で加圧加熱殺菌された、不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品 (いわゆるレトルト類似食品) の一部と、常温流通容器包装詰低酸性食品に広く添加される可能性のある非殺菌処理香辛料、そしてエスニック食品の一部 (水分活性は低かった) から、ボツリヌス菌が検出された。また、複数の常温流通容器包装詰低酸性食品において、高い一般生菌数、

好気性芽胞菌、*Clostridium* 属菌が検出された。

- **常温流通容器包装詰低酸性食品の物理化学的分析結果**

研究ならびに調査の対象とした常温流通容器包装詰低酸性食品は、ほとんどが pH 4.6 以上かつ水分活性 0.94 以上であった。

- **常温流通容器包装詰低酸性食品へのボツリヌス菌芽胞添加試験法の検討**

供試ボツリヌス菌株、芽胞液調整法、食品への接種方法、保存期間と試験検体数について、現在の通知（本 5 項参照）に示される方法に替わる方法を提示した。

- **常温流通容器包装詰低酸性食品へのボツリヌス菌芽胞添加試験結果**

いわゆるレトルト類似食品の多く、惣菜類、一部の和菓子、無菌化包装米飯などで、ボツリヌス菌芽胞添加試験の結果、毒素の産生が認められた。

- **まとめ**

① 本菌は、土壌や動物の腸管内など、環境中に広く存在しているため、ほとんど全ての食品を汚染しうる菌であること

② ボツリヌス菌の増殖が可能である pH と水分活性の領域にある容器包装詰食品が多岐に亘り、常温で長期間流通している実態があること

③ それらの食品のうち、レトルト食品および缶詰を除くほとんどの食品では、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の製造基準（中心部の温度として 120°で 4 分間加熱あるいは同等以上）を満たす条件で加熱されていないこと

から、

○ 理論的には、原材料あるいは加工工程に由来するボツリヌス菌の芽胞が、最終製品中に残存することはありうる（混入を否定する根拠はない）と考えられる。（クロストリジアによる汚染や好気性芽胞菌の汚染もこの危険性を示唆するものである。）

さらに、

○ 万一産生された毒素を摂食した場合の健康被害は、死亡も含めて重篤である。

以上のことから、pH 4.6 以上かつ水分活性 0.94 以上であり、120℃、4 分間に満たない条件で加熱された後、常温流通する食品については、

◎ 中心部の温度として 120°で 4 分間あるいは同等以上の加熱処理を行なうことによりボツリヌス菌芽胞を死滅させる

◎ 冷蔵流通を行なうことによりボツリヌス菌の増殖と毒素産生を防ぐ

◎ 常温流通期間を短くし、ボツリヌス菌の増殖と毒素産生を防ぐ

以上のうちのいずれかの対策をとるか、あるいは

◎ ボツリヌス菌芽胞添加試験を行い、当該食品中でボツリヌス菌が増殖せず、毒素も産生しないことを証明する

以上のように規格基準の変更を検討することが必要と考えられる。

5. 既存のリスク管理措置の効果の範囲と有効性についての要約

● <規格基準>

現在、我が国では容器包装詰加圧加熱殺菌食品（いわゆるレトルト食品）について、当該食品に含まれる微生物に着目し、病原微生物はもとより腐敗細菌等当該食品中で増殖しうる微生物が存在しない状態、いわゆる商業的無菌状態を達成することにより、当該食品に含まれる微生物に起因した食中毒等食品衛生上の危害の発生を防止するために以下のとおり規格基準を設定している。

食品、添加物等の規格基準（抜粋）

第1 食品

D 各条

○ 容器包装詰加圧加熱殺菌食品

- 1 容器包装詰加圧加熱殺菌食品（食品（清涼飲料水、食肉製品、鯨肉製品及び魚肉ねり製品を除く。）を気密性のある容器包装に入れ、密封した後、加圧加熱殺菌したものをいう。以下同じ。）の成分規格

容器包装詰加圧加熱殺菌食品は、当該容器包装詰加圧加熱殺菌食品中で発育し得る微生物が陰性でなければならない。この場合の微生物の試験法は、次のとおりとする。

試験法（略）

- 2 容器包装詰加圧加熱殺菌食品の製造基準

- (1) 製造に使用する野菜等の原料は、鮮度その他の品質が良好なものでなければならない。
- (2) 製造に使用する野菜等の原料は、必要に応じ十分に洗浄したものでなければならない。
- (3) 製造に当たっては、保存料又は殺菌料として用いられる化学的合成品たる添加物（次亜塩素酸ナトリウムを除く。）を使用してはならない。
- (4) 缶詰食品又は瓶詰食品以外の容器包装詰加圧加熱殺菌食品の容器包装の封かんは、熱溶解又は巻締めにより行わなければならない。
- (5) 製造の際に行う加圧加熱殺菌は、自記温度計を付けた殺菌器で行い、自記温度計によるその記録は3年間保存しなければならない。
- (6) 製造の際に行う加圧加熱殺菌は、次の二つの条件に適合するように加圧加熱殺菌の方法を定め、その定めた方法により行わなければならない。
 1. 原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法であること。
 2. その pH が 4.6 を超え、かつ、水分活性が 0.94 を超える容器包装詰加圧加熱殺菌食品にあつては、中心部の温度を 120° で4分間加熱する方法

又はこれと同等以上の効力を有する方法であること。

- (7) 加圧加熱殺菌後の冷却に水を用いるときは、飲用適の流水で行うか、又は遊離残留塩素を 1.0ppm 以上含む水で絶えず換水を行わなければならない。
- (8) 製造に使用する器具は、十分に洗浄したうえ殺菌したものでなければならない。

第3 器具及び容器包装

E 器具又は容器包装の用途別規格

- 1 容器包装詰加圧加熱殺菌食品（缶詰食品又は瓶詰食品を除く。以下この項において同じ。）の容器包装

容器包装詰加圧加熱殺菌食品の容器包装にあつては、次に掲げる条件のすべて（封かんが巻締めにより行われた容器包装にあつては(4)の条件を除く。）を満たすものでなければならない。

- (1) 遮光性を有し、かつ、気体透過性のないものであること。ただし、内容物が油脂の変敗による品質の低下のおそれのない場合にあつては、この限りでない。
- (2) 水を満たし密封し、製造における加圧加熱と同一の加圧加熱を行ったとき、破損、変形、着色、変色などを生じないものであること。
- (3) 強度等試験法中の耐圧縮試験を行うとき、内容物又は水の漏れがないこと。
- (4) 強度等試験法中の熱封かん強度試験を行うとき、測定された値が 23N 以上であること。
- (5) 強度等試験法中の落下試験を行うとき、内容物又は水の漏れがないこと。ただし、容器包装が小売のために包装されている場合は、当該小売のための包装の状態のまま試験を行うこと。

● <通知>

容器包装詰食品に関するボツリヌス食中毒対策について

平成 15 年 6 月 30 日 /食基発第 0630002 号/食監発第 0630004 号/

各都道府県・各政令市・各特別区衛生主管部(局)長あて 厚生労働省医薬局食品保健部基準課長・厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課長通知（抜粋）

平成 15 年 6 月 19 日に薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会において、当該食品の取扱いについて審議が行われた結果、

「pH が 4.6 を超え、かつ、水分活性が 0.94 を超える食品を若干の気体透過性を有する容器包装(セラミック又はアルミニウムを蒸着した合成樹脂、エチレンビニルアルコール共重合体樹脂等を用いた合成樹脂製の容器包装)に入れ、密封した後に 120° 4 分間に満たない条件で加圧加熱殺菌する食品については、

① 当該食品は、原材料等がボツリヌス菌に汚染されている場合に食中毒を引き起こす可能性があること、

② ボツリヌス菌による食中毒を未然に防止する観点から、当該食品については、容器包装詰加圧加熱殺菌食品(「食品、添加物の規格基準」(昭和34年厚生省告示第370号)第1食品D各条に規定する「容器包装詰加圧加熱殺菌食品」をいう。)に準ずる衛生管理が行われることが望ましいこと、

③ 規格基準の策定については油脂の変敗防止の観点からも検討が必要であることから、追加試験成績の提出を待って検討すること」とされた。

については、規格基準の策定までの当分の間、下記により衛生管理が行われることが望ましいと考える。

記

食品を若干の気体透過性を有する容器包装(セラミック又はアルミニウムを蒸着した合成樹脂、エチレンビニルアルコール共重合体樹脂等を用いた合成樹脂製の容器包装)に入れ、密封した後に加圧加熱殺菌する食品(清涼飲料水、食肉製品、鯨肉製品及び魚肉練り製品を除く。)であって、pHが4.6を超え、かつ、水分活性が0.94を超えるものにあつては、中心部の温度を120℃で4分間加熱する方法若しくはこれと同等以上の効力を有する方法で加熱殺菌を行う、又は10℃以下で保存すること

ただし、別添のボツリヌス接種試験によりボツリヌス毒素の産生が認められないものにあつてはこの限りでない。

(別添)

ボツリヌス菌接種試験法 (省略)

● カナダにおける食品回収方針

カナダでは、加熱後に常温流通している pH 4.6 以上かつ水分活性 0.94 以上の容器包装詰め食品は、ボツリヌス食中毒の原因となる可能性があると判断し、微生物検査なしに食品の回収を行う。最近では、たけのこの水煮やきのこの水煮が回収されている。

6. 食品安全委員会への諮問の必要性と諮問内容案

- リスクプロファイルに基づき、微生物学的リスク評価がリスク管理機関の必要とする情報の解析を十分に行い、希望する結果・内容の提供要件を満たす手段として適当であるか：
 - 食品に新たな規格基準の適用を図る際には、食品安全委員会における食品健康影響評価が必要とされている。(食品安全基本法)
 - 対象食品におけるボツリヌス菌の汚染、汚染した場合の増殖ならびに毒素産

生、さらに毒素の致死量に関するデータならびに更なるデータの入手先がほぼ網羅されたことから、当該食品に起因するボツリヌス中毒の **Exposure Assessment** ならびに **Hazard Characterization** が可能であると考えられる。

- したがって、次項目に挙げるリスク管理措置案の効果のある程度推定することが可能と思われることから、リスク管理における施策判断の根拠として、リスク評価が十分役立つことが期待できる。
- 仮にリスク評価が必要であることが確認されたとして、リスク管理機関からリスク評価機関へ問いかける初期の質問事項及び解析を希望する事項：
 - pH 4.6 以上かつ水分活性 0.94 以上であり、120℃、4 分間に満たない条件で加熱された後、常温流通する食品に由来するボツリヌス中毒に関しての、現在のリスクのおおよその推定
 - 当該食品に対し、以下の基準を課した場合の、リスクの変化の推定
 - 中心部の温度として 120℃で4分間あるいは同等以上の加熱処理を行なうことによりボツリヌス菌芽胞を死滅させる
 - 冷蔵流通を行なうことによりボツリヌス菌の増殖と毒素産生を防ぐ
 - 常温流通期間を短くし、ボツリヌス菌の増殖と毒素産生を防ぐ以上のうちのいずれかの対策をとるか、あるいは
 - ボツリヌス菌芽胞添加試験を行い、当該食品中でボツリヌス菌が増殖せず、毒素も産生しないことを証明する

7. 現在の入手可能な情報と、不足している知見および情報

- この病原体・媒介食品の組み合わせに対する、既存のリスク評価
 - F. Carlin, et al.: Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables: a FAIR collaborative project, *International Journal of Food Microbiology*, 60: 117-135 (2000)
 - European Food Safety Authority: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to the effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products, *The EFSA Journal* 14: 1-31 (2003)
http://www.efsa.eu.int/pdf/biohazard/opinion_biohaz_04_en.pdf
 - US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition: Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish, <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift2-toc.html> (2001)
 - P.A. Voysey: A microbiological risk assessment for *Clostridium botulinum* in MAP, processed, sliced chicken, *available from the author*

- R.C. Whiting and J.C. Oriente: Time-to-turbidity Model for Non-Proteolytic Type B *Clostridium botulinum*, *International Journal of Food Microbiology* 35: 49-60 (1997)
- リスク評価を実行することも含め、リスク管理活動を促進するその他の関連した科学的知見やデータの存在
 - 平成 14、15、16 年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「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」（主任研究者 小熊恵二）総括ならびに分担研究報告書
 - 平成 17 年度「容器包装詰低酸性食品に関する試験検査」総括ならびに分担報告書
- リスク管理を行う上で欠如している情報

該当食品の種類、製造量、流通量、考えられる対策の実行可能性と必要経費（加熱加圧法の変更、冷蔵流通、消費期限の短縮、添加試験の実施を含む）

8. 参考文献

- Y.Y. Hao et al.: Microbiological quality and production of botulinal toxin in film-packaged broccoli, carrots, and green beans, *Journal of Food Protection*, 62: 499-508 (1999)
- ICMSFa: *Clostridium botulinum*, In: *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*, Blackie Academic & Professional, London, pp. 66-125 (1996)
- ICMSFb: *Microorganisms in Foods 6. Microbial Ecology of Food Commodities*, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg (1998)
- B.M. Lund and M. W. Peck: *Clostridium botulinum*, In: *The Microbiological Safety and Quality of Food*, An Aspen Publication, Gaithersburg, pp. 1057-1109 (2000)
- US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition: *Bacteriological Analytical Manual Online*, Chapter 17, *Clostridium botulinum*, January 2001.
<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>
- 内村眞佐子ほか：千葉県柏市で発生したボツリヌス食中毒事例、病原微生物検出情報、20 (12)、7 (1999)
- 厚生労働省食品安全部：食中毒・食品監視関連情報
<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/index.html>
- 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部：食品安全情報
<http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/foodinfonews/index.html>

- 国立感染症研究所・厚生労働省保健医療局結核感染症課：特集 ボツリヌス症、病原微生物検出情報、21 (3)、1-2 (2000)
- 小林博司ほか：急性弛緩性四肢麻痺を呈したボツリヌス中毒の一例、1999 年 8 月－千葉県柏市、病原微生物検出情報、20 (11)、8 (1999)
- 阪口玄二：ボツリヌス症－病因、病形、発症機構、診断と治療－、病原微生物検出情報、21 (3)、3-4 (2000)
- 武士甲一：ボツリヌス中毒、新訂食水系感染症と細菌性食中毒（編集：坂崎）、中央法規、492-513 (2000)
- 松村美由紀、岩田誠：東京都内で発生したグリーンオリーブの塩漬けによる B 型ボツリヌス食中毒事例（1）－臨床、病原微生物検出情報、21 (3)、4-5 (2000)
- 門間千枝ほか：東京都内で発生したグリーンオリーブの塩漬けによる B 型ボツリヌス食中毒事例（2）－検査結果、病原微生物検出情報、21 (3)、5 (2000)

ボツリヌスリスクプロファイル別添

大阪府立大学 小崎俊司

(平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「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」分担研究報告書より)

【菌の性状】

a) 定義・分類

偏性嫌気性グラム陽性の桿菌 (0.8~1.2 x 4~6 μm) で、耐熱性芽胞を形成する。菌は産生する毒素の抗原性の違いにより A から G 型の 8 型に分類されている。古くから C 型と D 型毒素間交差反応があり、これは C、D 各型菌が免疫学的に異なる複数の毒素因子を産生することによると考えられていた。しかし、この交差反応は C、D 型毒素間に存在する共通抗原部位に由来することが明らかになっている。同様に E、F 型毒素間でも交差反応があることが指摘されている。ほとんどの全ての菌株は 1 種類の型の毒素を産生する。しかし、土壌、食中毒、乳児ボツリヌス症などの検体から例外的に 2 種類の毒素を産生する菌が分離されている。

b) 生化学的性状

ボツリヌス菌は生化学的な性状により 4 群に分類することができるが、毒素型による分類とは一致しない。**第 I 群菌**には全ての A 型菌とタンパク分解性 B、F 型菌が属し、最も耐熱性の高い芽胞を形成する。第 I 群の株と *C. sporogenes* とは毒素産生以外の性状で区別することができない。**第 II 群菌**には全ての E 型菌と蛋白非分解性の B、F 型菌が属している。発育至適温度は最も低く、形成する芽胞の耐熱性も最も低い。蛋白分解酵素の産生能を欠くため、毒素は毒性の低い、いわゆる「前駆体」の形で産生されるため毒素活性の測定にはトリプシンによる活性化が必要である。**第 III 群菌**には C、D 型菌が属している。この群に属する菌の芽胞の耐熱性は第 I 群菌と第 II 群菌の中間の値を示す。菌の増殖に対する酸素許容量は低く、他の群の菌と比べて高い嫌気条件を要求する。*C. novyi* が極めて類似した性状を示す。**第 IV 群菌**として G 型菌のみが属している。他の群とは異なり糖非分解性でリパーゼを産生しない。第 III 群菌と同様酸素に対する耐性が低い。G 型菌は芽胞形成能が低く、また形成された芽胞の大部分は易熱性で一部の芽胞のみが耐熱性を獲得している。最近 G 型菌と遺伝学的に相同性のある菌群に対して *C. argentinense* の名称が提案された。この種には *C. subterminale* と *C. hastiforme* の毒素非産生菌が含まれる。欧米および最近東京で発生した乳児ボツリヌス症から分離された菌の中で、ある種の *C. butyricum*、*C. barati* がそれぞれ E、F 型と非常に類似した毒素を産生することが明らかになっている。

単に分類学上の視点からでは、ボツリヌス菌の分類は不完全であるが、現在の分類は医学細菌学の研究者の利便や分類学上の混乱を避けるため残されている。

c) 分布・生態

芽胞は土壌、河川、湖沼、海岸地帯の堆積物、泥あるいは動物、鳥類の消化管内や魚類、甲殻類のえらなどから分離される。野生動物や鳥類の死体には通常多数の菌が存在し感染源になっている。温帯地方では時にはこのような死体の中で毒素が産生され、死体を摂取した動物で散発的にボツリヌス症が発生し、また腐肉を食べる習性のある動物では大規模な発生も見られる。

蛋白分解性の**第Ⅰ群菌**は比較的雨量の少ない地域から分離される。アメリカではA型菌とB型菌に地理的分布に特徴が見られる。A型菌はロッキー山脈より西側でよく検出され、B型菌はミシシッピ川から東部かけて分布している。土壌も菌の分布に影響を与え、A型菌は有機物の少ない中性からアルカリ性の土壌から、B型菌は有機物が比較的多い、酸性の土壌からよく分離される。ヨーロッパではA型菌の分布は非常に低い。B型菌はスイス、イタリアの土壌に第Ⅱ群菌に属する蛋白非分解性菌と混在しながら分布している。その他、ブラジル、アルゼンチン、ロシア、中国、台湾でA、B型菌、オーストラリア、ケニアでA型菌の存在が確認されている。我が国では秋田県下の土壌調査で低頻度ながらA型菌が検出されている。

第Ⅱ群菌は比較的水分および有機物の多い地域に分布している。最も分布調査が行われているE型菌はアメリカ、ヨーロッパ、ロシアなど北半球各地の海岸、湖沼に存在しているが、南半球のブラジル、アルゼンチン、オーストラリア、ニュージーランドでは検出されていない。我が国では食中毒の発生が多い北海道、東北地方の沿岸、湖沼から高頻度に検出されている。第Ⅱ群菌（B、E型菌）は他の群菌と比べ塩濃度に影響を受けやすく、海水の塩濃度（3.5%）条件下ではほとんど発育しないと思われる。このことは湖沼、河川、汽水域で菌の検出率が高いことを示唆している。

第Ⅲ群菌は淡水中の土壌や堆積物中で増殖すると考えられている。菌は気温の高い地域により分布している傾向がある。アメリカでは検出頻度は低いが、C型菌が南部の酸性土壌からD型菌が西部のアルカリ性土壌から検出された。オランダでは野生カモのボツリヌス症が発生した貯水池からC型菌が高頻度に検出されている。インドネシア、タイ、台湾、バングラディッシュ、ブラジルでC、D型菌の両方、あるいはC型菌が検出されている。

第Ⅲ群菌の増殖は他の細菌（*Bacillus* 属菌など）に影響を受けやすく、実際イギリス、フランス、スペインの土壌中にC型菌の芽胞を接種後、検査しても毒素は検出されなかった。我が国では石川県下の湖の調査でC型菌が検出されている。また日本海沿岸、九州北部、瀬戸内海にもC型菌が分布している。

第Ⅳ群菌に属するG型菌はアルゼンチンとスイスの土壌から検出されている。