

20010915

厚生科学研究費補助金

生活安全総合研究事業

食品中の微生物のリスク評価に関する研究

平成13年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山本 茂貴

平成14（2002）年3月

食品中の微生物のリスク評価に関する研究班

平成13年度 研究組織

主任研究者

山本茂貴 国立感染症研究所食品衛生微生物部

分担研究者

春日文子 国立感染症研究所食品衛生微生物部
岡部信彦 国立感染症研究所感染症情報センター
熊谷進 東京大学大学院
武田直和 国立感染症研究所 ウイルス第二部
品川森一 帯広畜産大学

研究協力者

西渕光昭 京都大学
石橋正憲 大阪府立公衆衛生研究所
Varaporn Vuddhakul プリンス・オブ・ソンクラ大学 (タイ)
Sineenart Kalnauwakul プリンス・オブ・ソンクラ大学 (タイ)
岩堀淳一郎 高知医科大学
山本昭夫 兵庫県衛生研究所
筒井俊之 動物衛生研究所
藤川浩 東京都立衛生研究所
温泉川肇彦 国立公衆衛生院
伊藤嘉典 国立感染症研究所食品衛生微生物部
広田雅光 国立感染症研究所食品衛生微生物部
David Vose David Vose Consultancy
岸本満 名古屋栄養専門学校
新井麻奈美 東京顕微鏡院
中川弘 東京顕微鏡院
斉藤典子 国立感染症研究所電顕室
小坂健 国立感染症研究所感染症情報センター
松野重夫 国立感染症研究所感染症情報センター
山下和予 国立感染症研究所感染症情報センター
吉川昌江 国立感染症研究所感染症情報センター
大友良光 青森県環境保健センター
八柳潤 秋田県衛生科学研究所
斉藤章暢 埼玉県衛生研究所
小沼博隆 国立医薬品食品衛生研究所
宮原美知子 国立医薬品食品衛生研究所
工藤由起子 国立感染症研究所食品衛生微生物部
仁科徳啓 東海大学短期大学部
長谷川順子 東海大学短期大学部
長野英俊 福岡県保健環境研究所
杉山寛治 静岡県環境科学研究所
西尾治 国立公衆衛生院
三上稔之 青森県環境保健センター
石川和子 青森県環境保健センター
筒井理華 青森県環境保健センター
沖村容子 宮城県保健環境センター
篠原美千代 埼玉県衛生研究所
西香南子 三重県保健環境研究所
福田伸治 広島県保健環境センター
西田知子 山口県環境保健研究センター
栄賢司 愛知県衛生研究所
小林慎一 愛知県衛生研究所

目 次

I. 総括研究報告書

食品中の微生物のリスク評価に関する研究――	1
山本 茂貴	

II. 分担研究報告書

1. 家庭での卵の生食に伴う <i>Salmonella</i> Enteritidis 感染のリスクアセスメントモデル ――	12
山本茂貴、春日文字、岩堀淳一郎、山本昭夫、筒井俊之、藤川浩、温泉川肇彦、 広田雅光、熊谷進、David Vose	
2. 国際的リスクアセスメントの手法を用いたモデリングに関する研究――	33
1) Exposure assessment のための基礎知見としての予測微生物学的研究 （1） <i>E. coli</i> O157:H7 の熱抵抗性ならびに酸抵抗性 春日文字、広田雅光、伊藤嘉典 （2） <i>Vibrio parahaemolyticus</i> の熱抵抗性ならびに凍結に伴う菌の生残動態 春日文字、広田雅光、伊藤嘉典 2) Exposure assessment のための基礎知見としての、調理過程における二次汚染の モデル化に関する研究 （1）手指を介した一般生菌ならびに大腸菌群の移行動態 春日文字、岸本満、David Vose （2）調理器具表面を介した <i>Salmonella</i> Enteritidis の移行動態 春日文字、新井麻奈美、中川弘、斉藤典子、David Vose 3) 腸炎ビブリオのリスクプロファイル作成 春日文字、小坂健	
3. 腸炎ビブリオの汚染実態に関する研究――	69
熊谷進、大友良光、八柳潤、斉藤章暢、中川弘、小沼博隆、宮原美知子、 工藤由起子、仁科徳啓、長野英俊、杉山寛治	
4. 腸炎ビブリオの海水中生残に関する研究――	87
熊谷進	
5. タイ南部の市販海産魚介類における腸炎ビブリオ新クローンによる汚染状況と 現地の臨床分離株との関連性――	97
西淵光昭、石橋正憲、Varaporn Vuddhakul、Sineenart Kalnauwakul	
6. ノーウォークウイルスのリスク評価に関する研究――	104
西尾治、三上稔之、石川和子、筒井理華、沖村容子、篠原美千代、西香南子、 福田伸治、西田知子、武田直和	
7. 免疫捕獲 RT-PCR 法による食中毒推定原因食品からの ノーウォーク様ウイルスの検出――	123
武田直和、栄賢司、小林慎一	
8. 小型球形ウイルス（NLV s）の患者からの検出動向――	130
岡部信彦、松野重夫、山下和予、吉川昌江	
9. 家畜伝達性海綿状脳症のサーベイランス――	146
品川森一	

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

総括研究報告書

食品中の微生物のリスク評価に関する研究

主任研究者 山本茂貴 国立感染症研究所 食品衛生微生物部 部長

研究要旨

食品中の微生物のリスク評価（リスクアセスメント）については、1999年にCodexのガイドラインが示されたが、定量的リスクアセスメントに確率論的手法を用いることが欧米で発表されて以来、WHO/FAOにより国際的食品の微生物学的リスクアセスメントにおいても試みられている。本研究では生産から消費まで一貫した定量的リスクアセスメントを行うことを目的として、その方法論の検証及び必要なデータを収集するための調査研究を以下の9項目について行った。

1. 家庭での卵の生食に伴う *Salmonella Enteritidis* 感染のリスクアセスメントモデル

Exposure assessment は、卵の生産、流通、消費の3段階のみを考慮した。① RISKを用いて試行回数3万回のMonte Carloシミュレーションを行い、確率分布を伴う結果を求めた。Hazard characterization では、日本で得られた食中毒データを中心にFAO/WHOのリスクアセスメントにおいて算出された、摂食菌数-発症率の相関式を引用した。Risk characterization では、流通段階における対策案の効果を比較する方法を例示した。また、感度分析を行い、結果に大きな影響を持つ因子の求め方を示した。

今回のリスクアセスメントは関係者とのコミュニケーションも十分に行われず、また使用したデータも十分に広範な収集を行った上で採用したわけではなくあくまでもモデルケースとしての取り組みであったが、微生物学的リスクアセスメントのすべての構成要素を網羅して実施された、初めての確率論的リスクアセスメントモデルである。結果として鶏卵の汚染菌数が結果に最も影響を与えることが示唆された。今後、微生物学的リスクアセスメントを本格的に行っていく上で重要なステップであると考えられた。

2. 国際的リスクアセスメントの手法を用いたモデリングに関する研究

国際的に議論されている微生物学的リスクアセスメントの手順や手法に準じて、わが国独自のリスクアセスメントを構築するために、基礎となる知見の収集と得られたデータの数学的解析を行った。

以下の3項目（5細項目）に分けて研究を遂行した。

1) Exposure Assessmentのための基礎知見としての予測微生物学的研究

1) - (1) *E.coli* O157:H7の熱抵抗性ならびに酸抵抗性

出血性大腸菌のリスクアセスメントを行なう際に、Exposure Assessmentにおいて菌の動態の推定に資するため、平成8年に日本各地で起きた集団食中毒事例から分

分離された *E.coli* O157:H7 菌株を用い、それらの熱抵抗性と酸抵抗性を比較するとともに、熱抵抗曲線や酸抵抗曲線の近似式を求めた。日本でほぼ同時期に分離された菌株は、熱抵抗性の上で大きく2つに分類された。また、50℃ 10分間加熱した菌株は、塩酸に対して抵抗性を有するようになった。

1) - (2) *Vibrio parahaemolyticus* の熱抵抗性ならびに凍結に伴う菌の生残動態

腸炎ビブリオのリスクアセスメントを行なう際に、Exposure Assessment において菌の動態の推定に資するため、近年日本各地で分離された *Vibrio parahaemolyticus* 菌株を用い、熱抵抗曲線の近似式を求めた。さらに、凍結に弱いとされている *Vibrio parahaemolyticus* が、検食システムにより食品中で凍結保存された場合、どのような生菌数の変化が起こるのかを推定するために、食品に接種した菌数の凍結後の変化を測定した。ホタテとアオヤギに接種した *Vibrio parahaemolyticus* は0時から1日後まで、急激に $10 \sim 10^4$ 個低下し、その後緩慢に減少していった。

2) Exposure Assessment のための基礎知見としての、調理過程における二次汚染のモデル化に関する研究

2) - (1) 手指を介した一般生菌ならびに大腸菌群の移行動態

いかなる微生物を対象としたリスクアセスメントにおいても、Exposure Assessment の中で消費過程に関するデータは共通して不足している。特に、調理中の二次汚染に関し、定量的なモデリングに使用できるデータは、世界的にも少ない。そこで二次汚染を、手指を介する場合と調理器具表面を介する場合とに分け、定量実験を行った。手指を介する場合として、さらに、調理実習中の原材料から手指への一般生菌ならびに大腸菌群の移行と、手指に塗布された既知量の大腸菌の生食用食材への移行の2ステップについて、それぞれデータを採取した。

調理実習において、初期菌数の高い鶏挽肉ともやしをそれぞれ下処理した際、食材ごとに一定した割合で、一般生菌も大腸菌群も手指へ移行することがわかった。菌数測定に関する検出効率も勘案しつつ、これら移行率ならびに手指から生食用食材への移行率について、確率分布を考慮したモデリングを行った。

2) - (2) 調理器具表面を介した *Salmonella Enteritidis* の移行動態

1) - (1) と同様に、調理器具表面を介する二次汚染のモデリングのための実験を行った。*Salmonella Enteritidis* によって汚染された卵液が調理台上にこぼれ、それを拭き取ったふきんによって食卓表面に塗布され、食卓上に落下した食品を介して最終的に摂食される、というシナリオを想定した。各段階で *Salmonella Enteritidis* の菌数を測定して確率論的モデリングを行ったほか、ふきん内部の *Salmonella Enteritidis* の走査電顕写真を撮影した。

3) 腸炎ビブリオのリスクプロファイル作成

将来実行される可能性の高い腸炎ビブリオのリスクアセスメントに備え、リスクプロファイル作成を行った。

3. 腸炎ビブリオの汚染実態に関する研究

市販の岩がき 78 検体中 7 検体から、採取された後冷蔵温度下で運搬されたアオヤギ 29 袋の内 7 袋から、流通市場で販売されていたアオヤギ 31 検体中 4 検体から、それぞれ *tdh* 遺伝子が検出された。冷蔵保管と 30℃ 保管との比較実験等の成績から、

低温管理されない場合には、毒素産生株が検出されやすくなることが示された。腸炎ビブリオと *tdh* 陽性腸炎ビブリオの両者を菌数比較の結果、14 検体の内 4 検体については、腸炎ビブリオ総菌数が *tdh* 陽性腸炎ビブリオ菌数の 1000 倍以上、9 検体については 100 倍以上、すべての検体について 10 倍以上であることが認められた。

4. 腸炎ビブリオの海水中生残に関する研究

腸炎ビブリオ O3K6 とその他の株について、海水、人工海水、10 倍希釈人工海水における生残菌数を 20℃ および 5℃ 以下で逐次的に計測した。その結果、いずれの株も、低温下における方が死滅しやすいこと、いずれの温度においても O3K6 とその他の株間で顕著な差異は認められなかったことから、近年、O3K6 が優勢になったことは、海水中での生残における他株との相違によるものではないと考えられた。

5. タイ南部の市販海産魚介類における腸炎ビブリオ新クローンによる汚染状況と現地の臨床分離株との関連性

世界的な大流行を起こしている腸炎ビブリオの新型クローンによる感染症発生状況、魚介類の汚染状況、および両者の相関関係を明らかにするための研究を実施した。本クローンによる感染症が多発するタイ南部ソクラ地区の 2 つの市中病院で下痢患者糞便を検査したところ、1 年間で 317 検体から腸炎ビブリオを分離できた。そのうち 242 検体 (76%) に由来する菌株が新型クローン (*toxR* 遺伝子中の新型クローン特異的塩基を標的にした GS-PCR 法により同定) に属しており、この地域では新型クローンによる感染症が多発していることが明らかになった。新型クローンの血清型は O3:K6 型 (80%)、O4:K68 型 (8.4%) O1:K25 型 (6.9%)、O1:KUT 型 (1.8%)、O1:K41 型 (0.32%)、O4:K12 型 (0.32%) であり、従来報告されていた血清型分布より多様であることが明らかになった。一方同地域で市販されている新鮮魚介類中の新型腸炎ビブリオの分布を検査した。検査は免疫磁気ビーズ法を取り入れた高感度・特異的な方法で、1998 年から継続して実施している。2000 年度までの検査では、魚介類のうち貝類からのみ目的の新型クローンが分離できた (検査総数 284 検体のうち貝類 136 検体、陽性貝類 4 検体) ので、2001 年度は、貝類を中心に検査した (検査総数 132 検体のうち貝類 136 検体)。その結果 7 検体 (二枚貝 *Perna viridis* および *Meretrix lusoria*) が陽性であった。したがって、タイ南部ソクラ地区の海洋環境中には高頻度で新クローンが分布していると考えられる。また 2001 年度に分離した新型クローン菌株の血清型は、O3:K6 型 5 株、O3:KUT 型 (O3:K6 型の変異型と考えられる) 1 株、および O1:K25 型 1 株であった。これらの血清型分布は患者分離新型クローン菌株の血清型分布と強い相関関係を示しており、現地で漁獲・販売されている貝類が感染症の原因食品であることを示唆していると言える。

6. ノーウォークウイルスのリスク評価に関する研究

ノーウォークウイルスのリスク評価の基礎データを得る目的で、カキによる食中毒発生原因食品カキ、市販生カキの NV 汚染状況、カキ養殖海域の海水とカキの NV 汚染状況、リアルタイム PCR 法の検討を行なった。原因カキでは半分の事例からカキ 1 個当たり NV200 コピー以上の汚染が認められた。市販生カキでは 15% に 200 コピー/個以上の汚染が明らかとなり、1 月、2 月に NV 汚染されているカキの比率が高く、且つ NV 量も多いことが明らかとなった。海水とカキの汚染では明らかな関連性は

見出せなかったが、今後調査方法の検討が必要である。リアルタイム PCR 法は低い価での再現性に問題があり、今後、検出感度を高めると共に、診断基準の作成が必要である。本研究ではリスク評価の基準作成には多くの問題が提示され、今後規模を拡大して行なう必要があると思慮された。

7. 免疫捕獲 RT-PCR 法による食中毒推定原因食品からのノーウォーク様ウイルスの検出

ノーウォーク様ウイルス (NLV) は未だ培養不能なウイルスである。食中毒の推定原因食品から NLV を検出するためには、多量の食品から NLV を濃縮して回収する必要があるため、その検出には困難な点が多い。そこで、NLV に特異的な抗体を結合した磁気ビーズを調製し、推定原因食品から NLV を回収した後に RT-PCR を実施し、NLV を検出することを試みた。食中毒患者の糞便検体を用いた RT-PCR と抗原検出 ELISA の検査成績から、Chiba 型 NLV の関与が推定された食中毒事件において、本法で NLV の検出をおこなったところ、残品食品 9 品目のうちの 2 品目から NLV 遺伝子を検出することができた。また、遺伝子解析の結果、食中毒患者糞便と食品に由来する NLV は互いに極めて近縁な NLV であることが確認された。磁気ビーズを利用した免疫捕獲 RT-PCR 法は、多数の検体の迅速処理が可能であり、かつ簡便な NLV の検出法として食中毒検査には有用な方法であると考えられた。

8. 小型球形ウイルス (NLV s) の患者からの検出動向

最近まで、小型球形ウイルス (NLV s) は食中毒の原因と思われる食材から検出出来なかったため、食中毒との因果関係を特定することが出来ず、「その他の病因物質」として取り扱われてきた。1997 年 5 月 30 日に食品衛生法施行規則が一部改正施行され、新しく食中毒の原因物質に NLV s とその他のウイルスの項目が追加された。これ以降の非細菌性の食中毒については、都道府県や政令指定都市などの衛生研究所においてウイルス検査を行ない、厚生省に報告する制度が確立された。一方、1997 年 1 月から地方の衛生研究所と国立感染症研究所感染症情報センター間の病原体検出報告の収集還元がオンライン化され、これを契機にウイルス性食中毒発生の実態を明らかにするため、「ウイルス起因を疑う胃腸炎集団発生事例別情報」の収集が開始された。これをもとに感染性胃腸炎発生数、週別 NLV s 検出報告数、NLV による食中毒発生状況を調査した。

9. 家畜伝達性海綿状脳症のサーベイランス

屠畜場に搬入された反すう動物の内、神経症状が疑われた牛及び 1.5 歳以上の羊の中枢神経組織からプリオン検出を実施した。新鮮組織の場合はウエスタンブロット、固定組織の場合は免疫染色を行った。平成 13 年 10 月 18 日からは屠畜場に搬入された牛は BSE の全頭検査を行うこととなり、牛検体はまず都道府県で ELISA 法による一次検査がおこなわれ、陽性となったものが確定検査のために送付されてきた。羊は 23 及び山羊 2 頭の検体中、屠畜場外で屠殺された羊 1 頭がスクレイピーであることが判った。牛は全頭検査実施までに検査した 207 検体すべてが陰性であった。牛は平成 14 年 3 月末までに 523,844 頭が検査され、北海道及び埼玉で各 1 例、合計 2 例の陽性牛が摘発された。

確定診断のための検査法の時間短縮と感度向上を目的とした改良を加え検査法のプロトコールを完成した。

分担研究者氏名・所属機関・職名

春日文字 国立感染症研究所
食品衛生微生物部 主任研究官
岡部信彦 国立感染症研究所
感染症情報センターセンター長
熊谷 進 東京大学大学院 教授
武田直和 国立感染症研究所
ウイルス第二部 室長
品川森一 帯広畜産大学 教授

A. 研究目的

食品中の微生物のリスク評価（リスクアセスメント）については、1999年にCodexのガイドラインが示されたが、定量的リスクアセスメントに確率論的手法を用いることが欧米で発表されて以来、WHO/FAOにより国際的食品の微生物学的リスクアセスメントにおいても試みられている。本研究では生産から消費まで一貫した定量的リスクアセスメントを行うことを目的として、その方法論の検証及び必要なデータを収集するための調査研究を行った。

B. 研究方法

1. 家庭での卵の生食に伴う *Salmonella* Enteritidis 感染のリスクアセスメントモデルでは、Exposure assessment は、卵の生産、流通、消費の3段階のみを考慮した。
④ RISK を用いて試行回数3万回の Monte Carlo シミュレーションを行い、確率分布を伴う結果を求めた。Hazard characterization では、日本で得られた食中毒データを中心に FAO/WHO のリスクアセスメントにおいて算出された、摂食菌数-発症率の相関式を引用した。Risk characterization では、

流通段階における対策案の効果を比較する方法を例示した。また、感度分析を行い、結果に大きな影響を持つ因子の求め方を示した。

2. 1) - (1) *E. coli* O157:H7 の熱抵抗性ならびに酸抵抗性では、平成8年に日本各地で起きた集団食中毒事例から分離された *E. coli* 菌株を用い、それらの熱抵抗性と酸抵抗性を比較するとともに、熱抵抗曲線や酸抵抗曲線の近似式を求めた。

2. 1) - (2) *Vibrio parahaemolyticus* の熱抵抗性ならびに凍結に伴う菌の生残動態では、近年日本各地で分離された *Vibrio parahaemolyticus* 菌株を用い、熱抵抗曲線の近似式を求めた。さらに、食品に接種した菌数の凍結後の変化を測定した。

2. 2) - (1) 手指を介した一般生菌ならびに大腸菌群の移行動態では、二次汚染を、手指を介する場合と調理器具表面を介する場合とに分け、定量実験を行った。手指を介する場合として、さらに、調理実習中の原材料から手指への一般生菌ならびに大腸菌群の移行と、手指に塗布された既知量の大腸菌の生食用食材への移行の2ステップについて検討した。

2. 2) - (2) 調理器具表面を介した *Salmonella* Enteritidis の移行動態では、調理器具表面を介する二次汚染モデルを検討した。

3) 腸炎ビブリオのリスクプロファイル作成では、Codexにおける腸炎ビブリオのリスクプロファイルフォーマットを参考に作成した。

3. 腸炎ビブリオの汚染実態調査では、市販の岩がき、アオヤギから、tdh 遺伝子を有する腸炎ビブリオの分離および定量試験

を試み、腸炎ビブリオの総数と比較した。

4. 腸炎ビブリオの海水中生残に関する研究では、腸炎ビブリオ O3K6 とその他の株について、海水、人工海水、10 倍希釈人工海水における生残菌数を 20℃ および 5℃ 以下で逐次的に計測した。

5. タイ南部の市販海産魚介類における腸炎ビブリオ新クローンによる汚染状況と現地の臨床分離株との関連性では、タイ南部ソクラ地区の 2 つの市中病院で下痢患者糞便を検査し、さらに、同地域で市販されている新鮮魚介類中の新型腸炎ビブリオの分布を検査した。

6. ノーウォークウイルスのリスク評価に関する研究では、カキによる食中毒発生原因食品カキ、市販生カキの NV 汚染状況、カキ養殖海域の海水とカキの NV 汚染状況、リアルタイム PCR 法の検討を行なった。

7. 免疫捕獲 RT-PCR 法による食中毒推定原因食品からのノーウォーク様ウイルスの検出では、NLV に特異的な抗体を結合した磁気ビーズを調製し、推定原因食品から NLV を回収した後に RT-PCR を実施し、NLV を検出することを試みた。

8. 小型球形ウイルス (NLV s) の患者からの検出動向では、これまでの NLV s 検出情報を基に調査した。

9. 家畜伝達性海綿状脳症のサーベイランスでは、屠畜場に搬入された反すう動物の内、神経症状が疑われた牛及び 1.5 歳以上の羊の中樞神経組織からプリオン検出を実施した。新鮮組織の場合はウエスタンブロット、固定組織の場合は免疫染色を行った。

(倫理面への配慮)

今回の研究では人の材料を調査研究に用いていない。

C. 研究結果

1. 家庭での卵の生食に伴う *Salmonella* Enteritidis 感染のリスクアセスメントモデル 鶏卵の汚染菌数が結果に最も影響を与えることが示唆された。

2. 1) - (1) *E. coli* O157:H7 の熱抵抗性ならびに酸抵抗性

日本ではほぼ同時期に分離された菌株は、熱抵抗性の上で大きく 2 つに分類された。また、50℃ 10 分間加熱した菌株は、塩酸に対して抵抗性を有するようになった。

2. 1) - (2) *Vibrio parahaemolyticus* の熱抵抗性ならびに凍結に伴う菌の生残動態

ホタテとアオヤギに接種した *Vibrio parahaemolyticus* は 0 時から 1 日後まで、急激に $10 \sim 10^4$ 個低下し、その後緩慢に減少していった。

2. 2) - (1) 手指を介した一般生菌ならびに大腸菌群の移行動態

調理実習において、初期菌数の高い鶏挽肉ともやしをそれぞれ下処理した際、食材ごとに一定した割合で、一般生菌も大腸菌群も手指へ移行することがわかった。菌数測定に関する検出効率も勘案しつつ、これら移行率ならびに手指から生食用食材への移行率について、確率分布を考慮したモデリングを行った。

2. 2) - (2) 調理器具表面を介した *Salmonella* Enteritidis の移行動態

Salmonella Enteritidis によって汚染された卵液が調理台上にこぼれ、それを拭き取ったふきんによって食卓表面に塗布され、食卓上に落下した食品を介して最終的に摂食される、というシナリオを想定した。各段階で *Salmonella* Enteritidis の菌数を測定して確率論的モデリングを行ったほか、ふきん内部の *Salmonella* Enteritidis の走査電顕写真を撮影した。

3) 腸炎ビブリオのリスクプロファイル作

成

腸炎ビブリオのリスクプロファイルをわが国のデータに基づき作成した。考慮すべき食品として生食用魚貝類とゆでカニやゆでホタテが問題となった。その他、公衆衛生上考慮すべき点についてまとめられ、血清型として O3K6 や O4K8 が多く認められ、レストランでの発生が最も多くホテルがそれに続き、仕出しや弁当はその次であった。TDH 産生株を指標としてコントロールすることは困難である。その他考慮すべき点として経済的な問題と生食用魚貝類における生菌数の基準と保存温度基準があげられた。

3. 腸炎ビブリオの汚染実態に関する研究

市販の岩がき 78 検体中 7 検体から、採取された後冷蔵温度下で運搬されたアオヤギ 29 袋の内 7 袋から、流通市場で販売されていたアオヤギ 31 検体中 4 検体から、それぞれ *tdh* 遺伝子が検出された。冷蔵保管と 30℃保管との比較実験等の成績から、低温管理されない場合には、毒素産生株が検出されやすくなることが示された。腸炎ビブリオと *tdh* 陽性腸炎ビブリオの両者を菌数比較の結果、14 検体の内 4 検体については、腸炎ビブリオ総菌数が *tdh* 陽性腸炎ビブリオ菌数の 1000 倍以上、9 検体については 100 倍以上、すべての検体について 10 倍以上であることが認められた。

4. 腸炎ビブリオの海水中生残に関する研究

腸炎ビブリオ O3K6 とその他の株について、海水、人工海水、10 倍希釈人工海水における生残菌数を 20℃および 5℃以下で逐次的に計測した。その結果、いずれの株も、低温下における方が死滅しやすいこと、いずれの温度においても O3K6 とその他の株間で顕著な差異は認められなかった。

5. タイ南部の市販海産魚介類における腸

炎ビブリオ新クローンによる汚染状況と現地の臨床分離株との関連性

タイ南部ソングラ地区の 2 つの市中病院で下痢患者糞便を検査したところ、1 年間で 317 検体から腸炎ビブリオを分離できた。そのうち 242 検体 (76%) に由来する菌株が新型クローン(*toxR* 遺伝子中の新型クローン特異的塩基を標的にした GS-PCR 法により同定)に属しており、この地域では新型クローンによる感染症が多発していることが明らかになった。新型クローンの血清型は O3:K6 型 (80%)、O4:K68 型 (8.4%) O1:K25 型 (6.9%)、O1:KUT 型 (1.8%)、O1:K41 型 (0.32%)、O4:K12 型 (0.32%) であり、従来報告されていた血清型分布より多様であることが明らかになった。一方同地域で市販されている新鮮魚介類中の新型腸炎ビブリオの分布を検査した。検査は免疫磁気ビーズ法を取り入れた高感度・特異的な方法で、1998 年から継続して実施している。2000 年度までの検査では、魚介類のうち貝類からのみ目的の新型クローンが分離できた(検査総数 284 検体のうち貝類 136 検体、陽性貝類 4 検体)ので、2001 年度は、貝類を中心に検査した(検査総数 132 検体のうち貝類 136 検体)。その結果 7 検体(二枚貝 *Perna viridis* および *Meretrix lusoria*)が陽性であった。したがって、タイ南部ソングラ地区の海洋環境中には高頻度で新クローンが分布していると考えられる。また 2001 年度に分離した新型クローン菌株の血清型は、O3:K6 型 5 株、O3:KUT 型(O3:K6 型の変異型と考えられる)1 株、および O1:K25 型 1 株であった。

6. ノーウォークウイルスのリスク評価に関する研究

食中毒発生原因食品カキ、市販生カキの NV 汚染状況、カキ養殖海域の海水とカキの NV 汚染状況、リアルタイム PCR 法の

検討を行なった。原因カキでは半分の事例からカキ 1 個当たり NV200 コピー以上の汚染が認められた。市販生カキでは 15% に 200 コピー/個以上の汚染が明らかとなった。

7. 免疫捕獲 RT-PCR 法による食中毒推定原因食品からのノーウォーク様ウイルスの検出

食中毒患者の糞便検体を用いた RT-PCR と抗原検出 ELISA の検査成績から、Chiba 型 NLV の関与が推定された食中毒事件において、本法で NLV の検出をおこなったところ、残品食品 9 品目のうちの 2 品目から NLV 遺伝子を検出することができた。また、遺伝子解析の結果、食中毒患者糞便と食品に由来する NLV は互いに極めて近縁な NLV であることが確認された。

8. 小型球形ウイルス (NLV s) の患者からの検出動向

9. 家畜伝達性海綿状脳症のサーベイランス

平成 13 年 10 月 18 日からは屠畜場に搬入された牛は BSE の全頭検査を行うこととなり、牛検体はまず都道府県で ELISA 法による一次検査がおこなわれ、陽性となったものが確定検査のために送付されてきた。羊は 23 及び山羊 2 頭の検体中、屠畜場外で屠殺された羊 1 頭がスクレイパーであることが判った。牛は全頭検査実施までに検査した 207 検体すべてが陰性であった。牛は平成 14 年 3 月末までに 523,844 頭が検査され、北海道及び埼玉で各 1 例、合計 2 例の陽性牛が摘発された。

確定診断のための検査法の時間短縮と感度向上を目的とした改良を加え検査法のプロトコールを完成した。

D. 考 察

1. 家庭での卵の生食に伴う *Salmonella*

Enteritidis 感染のリスクアセスメントモデル

今回のリスクアセスメントは関係者とのコミュニケーションも十分に行われず、また使用したデータも十分に広範な収集を行った上で採用したわけではなくあくまでもモデルケースとしての取り組みであったが、微生物学的リスクアセスメントのすべての構成要素を網羅して実施された、初めての確率論的リスクアセスメントモデルである。結果として鶏卵の汚染菌数が結果に最も影響を与えることが示唆された。今後、微生物学的リスクアセスメントを本格的に行っていく上で重要なステップであると考えられた。

2. 1) - (1) *E.coli* O157:H7 の熱抵抗性ならびに酸抵抗性

O157 の各菌株間において、熱耐性や酸耐性に相違が見いだされたことから、Exposure assessment において菌の数値動態を推定するためには、それらの variability を考慮した予測式を構築する必要があると考えられた。

2. 1) - (2) *Vibrio parahaemolyticus* の熱抵抗性ならびに凍結に伴う菌の生残動態

凍結における菌株間の差は認められなかったが、凍結初期に菌数が急激に減少した。この減少が腸炎ビブリオに普遍的なものか否かを今後検討する必要がある。

2. 2) - (1) 手指を介した一般生菌ならびに大腸菌群の移行動態

これらの研究により世界でも不足している二次汚染モデルに関する定量的データを提供できるものと考えられた。

2. 3) 腸炎ビブリオのリスクプロファイル作成

わが国で初めてのリスクプロファイル

提示したことにより、今後、リスクプロファイル作成を担当すべきマネージャーサイドでの作業の参考となると考えられた。

3. 腸炎ビブリオの汚染実態に関する研究

冷蔵保管と 30℃保管との比較実験から低温管理されない場合には、毒素産生株が検出されやすくなることから、tdh 陽性株が保管中に増殖し、検出されやすくなったことが考えられた。

4. 腸炎ビブリオの海水中生残に関する研究

低温下における方が死滅しやすいこと、いずれの温度においても O3K6 とその他の株間で顕著な差異は認められなかったことから、近年、O3K6 が優勢になったことは、海水中での生残における他株との相違によるものではないと考えられた。

5. タイ南部の市販海産魚介類における腸炎ビブリオ新クローンによる汚染状況と現地の臨床分離株との関連性

タイ南部ソクラ地区の海洋環境中には高頻度で新クローンが分布していると考えられる。また 2001 年度に分離した新型クローン菌株の血清型は、O3:K6 型 5 株、O3:KUT 型(O3:K6 型の変異型と考えられる)1 株、および O1:K25 型 1 株であった。これらの血清型分布は患者分離新型クローン菌株の血清型分布と強い相関関係を示しており、現地で漁獲・販売されている貝類が感染症の原因食品であることを示唆している。

6. ノーウォークウイルスのリスク評価に関する研究

市販生カキでは 15%に 200 コピー/個以上の汚染が明らかとなり、1 月、2 月に NV 汚染されているカキの比率が高く、且つ NV 量も多いことが明らかとなった。海水とカキの汚染では明らかな関連性は見出せなかったが、今後調査方法の検討が必要である。リアルタイム PCR 法は低い価での

再現性に問題があり、今後、検出感度を高めると共に、診断基準の作成が必要である。本研究ではリスク評価の基準作成には多くの問題が提示され、今後規模を拡大して行なう必要があると思慮された。

7. 免疫捕獲 RT-PCR 法による食中毒推定原因食品からのノーウォーク様ウイルスの検出

食品中の NLV が極端に少ない検体からの検出が可能になったことは、画期的なことではあるが、NLV は抗原的多様性の大きいウイルスであることから、すべての型の NLV 検出に必要となる抗体の数やその組み合わせについて、今後さらなる検討を加える必要があるものと考えられた。

E. 結 論

1. 家庭での卵の生食に伴う *Salmonella* Enteritidis 感染のリスクアセスメントモデルは微生物学的リスクアセスメントのすべての構成要素を網羅して実施された、初めての確率論的リスクアセスメントモデルであり、今後のリスクアセスメントの重要なステップの一つであった。

2. 国際的リスクアセスメントの手法を用いたモデリングに関する研究

国際的手法に準じてわが国独自の微生物学的リスクアセスメントを構築するために、基礎となる知見の収集と得られたデータの数学的解析を行った。基本的に、国際的に提唱されている手法の一部について妥当性が実証され、また日本でのデータ収集が有用であることも示された。

3. 腸炎ビブリオの汚染実態に関する研究

低温下における方が死滅しやすいこと、いずれの温度においても O3K6 とその他の株間で顕著な差異は認められなかったことから、近年、O3K6 が優勢になったことは、海水中での生残における他株との相違によるものではないと考えられた。

低温下における方が死滅しやすいこと、いずれの温度においても O3K6 とその他の株間で顕著な差異は認められなかったことから、近年、O3K6 が優勢になったことは、海水中での生残における他株との相違によるものではないと考えられた。

4. 腸炎ビブリオの海水中生残に関する研究

近年、O3K6 が優勢になったことは、海水中での生残における他株との相違によるものではない事が示唆された。

5. タイ南部の市販海産魚介類における腸炎ビブリオ新クローンによる汚染状況と現地の臨床分離株との関連性

血清型分布は患者分離新型クローン菌株の血清型分布と強い相関関係を示しており、現地で漁獲・販売されている貝類が感染症の原因食品であることを示唆している

6. ノーウォークウイルスのリスク評価に関する研究

リアルタイム PCR 法は低い価での再現性に問題があり、今後、検出感度を高めると共に、診断基準の作成が必要である。本研究ではリスク評価の基準作成には多くの問題が提示され、今後規模を拡大して行なう必要があると思慮された。

7. 免疫捕獲 RT-PCR 法による食中毒推定原因食品からのノーウォーク様ウイルスの検出

磁気ビーズを利用した免疫捕獲 RT-PCR 法は、多数の検体の迅速処理が可能であり、かつ簡便なNLVの検出法として食中毒検査には有用な方法であると考えられた。

9. 家畜伝達性海綿状脳症のサーベイランス

羊は23及び山羊2頭の検体中、屠畜場外で屠殺された羊1頭がスクレイピーであることが判った。牛は全頭検査実施までに検査した207検体すべてが陰性であ

った。牛は平成14年3月末までに523,844頭が検査され、北海道及び埼玉で各1例、合計2例の陽性牛が摘発された。

確定診断のための検査法の時間短縮と感度向上を目的とした改良を加え検査法のプロトコールを完成した。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

山本茂貴、春日文子

鶏卵における *Salmonella Enteritidis* の微生物学的リスクアセスメント—FAO/WHO によるプロジェクト

獣医疫学雑誌 4, 87-89. (解説) 2000

Ebel, E., Kasuga, F., Schlosser, W. and Yamamoto, S. (2000) Exposure assessment of *Salmonella* Enteritidis in eggs. MRA 00/04, FAO/WHO

Kasuga, F., Osaka, K., Toyofuku, H., Kumagai S. and Yamamoto S.

Contribution from Asia toward International Risk Assessment.

Proceedings for 2nd Asian Symposium on Risk Assessment and Management (SASRAM 2001)

Kasuga, F., Yamamoto, A., Iwahori, J., Tsutsui, T., Fujikawa, H., Yunokawa, Hirota, M., Kumagai, S. and Yamamoto S. (2002)

Risk assessment of *Salmonella* Enteritidis infection associated with raw egg consumption at home in Japan. In Pathogenic Microorganisms and Their Toxins: A Global Perspective of Their Risk, The Ninth

International Symposium on Toxic
Microorganisms. pp. 60-68.

2. 学会発表

Kasuga, F., Osaka, K., Toyofuku, H., Kumagai
S. and Yamamoto S.

Contribution from Asia toward International
Risk Assessment.

Second Asian Symposium on Risk Assessment
and Management, Kobe, November 2001

Kasuga, F., Yamamoto, A., Iwahori, J.,
Tsutsui, T., Fujikawa, H., Yunokawa, Hirota,
M., Kumagai, S. and Yamamoto S.

Risk assessment of *Salmonella* Enteritidis
infection associated with raw egg consumption
at home in Japan.

UJNR Symposium, Tokyo, March 2002

春日 文子、山本 茂貴、広田 雅光、熊谷 進
FAO/WHO による卵のサルモネラ・エンテ
リティデイス汚染の Risk Characterization
第 10 回獣疫学会学術集会、川崎市、2002
年 3 月

山本 茂貴、春日 文子、広田 雅光、熊谷 進
日本の疫学データを用いたサルモネラ感染
の Hazard Characterization
第 10 回獣疫学会学術集会、川崎市、2002
年 3 月

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究研究事業）

分担研究報告書

家庭での卵の生食に伴う *Salmonella Enteritidis* 感染の
リスクアセスメントモデル

分担研究者：山本茂貴（国立感染症研究所食品衛生微生物部）

協力研究者：春日文字（国立感染症研究所食品衛生微生物部）、岩堀淳一郎（高知医科大学）、山本昭夫（兵庫県衛生研究所）、筒井俊之（動物衛生研究所）、藤川浩（東京都立衛生研究所）、温泉川肇彦（国立公衆衛生院衛生獣医学部）、広田雅光（国立感染症研究所食品衛生微生物部）、熊谷 進（東京大学大学院農学生命科学研究科）、David Vose (David Vose Consultancy)

研究要旨

家庭での卵の生食に伴う *Salmonella Enteritidis* 感染を対象に、試行的なリスクアセスメントモデルを構築した。

Exposure Assessment は、卵の生産、流通、消費の3段階のみを考慮した。@RISK (Palisade Corp.)を用いて試行回数3万回の Monte Carlo シミュレーション行ない、確率分布を伴う結果を求めた。

Hazard Characterization では、日本で得られた食中毒データを中心にFAO/WHO のリスクアセスメントにおいて算出された、摂食菌数－発症率の相関式を引用した。

Risk Characterization では、流通段階における対策案の効果を比較する方法を例示した。また、感度分析を行ない、結果に大きな影響を持つ因子の求め方を示した。

今回のリスクアセスメントは関係者とのコミュニケーションも十分には行われず、また使用したデータも十分に広範な収集を行った上で採用したわけではなく、あくまでもモデルケースとしての取り組みであったが、微生物学的リスクアセスメントの全ての構成要素を網羅して実施された、初めての確率論的リスクアセスメントモデルである。今後、微生物学的リスクアセスメントを本格的に行っていく上での重要なステップであると思われる。

はじめに

WTO（World Trade Organization: 国際貿易機関）や CODEX 委員会での動きを背景に、世界各国で自国の食中毒対策

や食品貿易上の問題解決のために、定量的な微生物学的リスクアセスメントを行なうことが求められるようになった。わが国での本格的なリスクアセスメント実施に備え、確率論的リスクアセスメント

によって何がどのように評価できるかを例示することを目的に、家庭での生卵摂食に伴うサルモネラ・エンテリティディス（以下 SE）食中毒をモデルに、試行的なリスクアセスメントを行った。平成 12 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究研究事業）（熊谷ら、2000）によって、Exposure Assessment と Hazard Characterization までの試みはなされているが、本年度新たな研究班において、入力方法の一部を修正しただけでなく、最後の Risk Characterization の部分において、対策案の効果および影響度の大きい因子の求め方の例示を行なった。

目的設定

本来、リスクアセスメントの目的や範囲の設定のためには、まずリスクマネージャーから明確な要請があり、それをもとに、アセッサと消費者を含む関連当事者がマネージャーと率直な議論をして最終的に決定するプロセスを経ることが望ましい。今回は試行的なアセスメントであるため、この段階を省略し、仮想の目的設定を行った。すなわち、「家庭での生卵摂食に伴うサルモネラ・エンテリティディス食中毒の頻度を科学的に推定すること、ならびに可能な対策案の比較を例示すること」である。

全体の構成

CODEX 委員会によるガイドライン¹⁾に従い、全体の構成は Hazard Identification, Exposure Assessment,

Hazard Characterization そして Risk Characterization とした。

方法

各入力情報源として、文献データ、関連業界の専門家からの聞き取りデータ、電話アンケート結果を用いた。また、各入力情報への確率分布適用その他モデリング手法については、USDA による卵のサルモネラ・エンテリティディスに関するリスクアセスメント²⁾、FAO/WHO による卵のサルモネラ・エンテリティディスに関する Exposure Assessment³⁾ と Hazard Characterization⁴⁾ の文書、そして成書⁵⁾ を参考にした。

各入力値から、@RISK ver. 4.0 (Palisade Corp., Newfield, NY) を用いて Monte Carlo simulation によるサンプリングを行ない、結果を算出した。

結果

本リスクアセスメントの概要を outline（表 1）に示す。以下の I～IV の各要素について、入力情報として扱う項目ならびにその情報源となったデータの種類、そして出力情報をまとめた。また、Exposure Assessment において入力情報にどのような関数を適用して出力情報を算出したかについて、以下、詳述する。

I. Hazard Identification

サルモネラ食中毒は世界的にも最も頻繁に起こる食品媒介感染症の一つである。日本では平成 11 年に 825 件、患者数

11,888 人、平成 12 年には 512 件、患者数 6,908 人の食中毒事例が報告されている。平成 13 年には 360 件、患者数 4,912 人と、患者数は若干減少傾向を示している。しかし最近 5 年間を見ても、サルモネラ属を原因とする食中毒によりほぼ毎年死者が発生している。(以上、厚生労働省食中毒発生状況より)

典型的なサルモネラ症は下痢、発熱、腹痛、脱水などの胃腸疾患である。ほとんどの患者は抗生物質の投与なしにも 1 週間ほどで快復する。しかし入院治療が必要な場合もある。稀に菌血症、髄膜炎などを併発し、死に至る場合もある。発症者の 93%は医療機関にかからずに治癒し、5%が受診後治癒、1.1 – 1.5%が入院治療を必要とし、0.04 – 0.1%が死亡するとも推定されている⁴⁾。

2 千以上ものサルモネラの血清型が人に病気を起こすことが知られている。そのうちチフス菌とパラチフス菌は全身感染を起こすことが知られ、その他は上述のように消化器症状を主とする。

その中でも、1980 年代から世界的に流行を起こすようになったサルモネラ・エンテリティディスは、卵か卵に関連した食品が原因食品となることが多く、卵と家禽への汚染状況と汚染のおこるメカニズム、またそれら要因の疾病発生に及ぼす影響度は、食品衛生行政のために有用な情報である。

II. Exposure Assessment

生卵の生産段階、流通保存段階、消費段階の 3 段階について解析した。

生産段階は鶏卵農場であるが、汚染卵産

卵率すなわち全鶏卵中の汚染卵の割合と新鮮汚染卵中の SE 菌数をこの段階の入力情報と考えた。汚染卵産卵率を算出するためには、文献データから、鶏群汚染率、鶏群内汚染率、陽性鶏群検出感度、そして汚染鶏の汚染卵産卵率を求め、これらの値を用いて表 2 に示すような計算を行った。新鮮汚染卵中の SE 菌数算出方法は、USDA のリスクアセスメントに準じた。汚染卵産卵率すなわち全鶏卵中の汚染卵の頻度は図 1 のように示される。

流通保存段階では、市場流通卵汚染率と汚染卵中の SE 菌数を出力情報とする。殻付き卵の汚染率は産卵以降変化しないので、生産段階で算出した全鶏卵中の汚染卵の割合がそのまま市場流通卵汚染率として適用された。汚染卵中の SE 菌数の変化を推定するためには、業界の専門家からの聞き取りによる卵の流通経路とそれぞれの経路における温度・経過時間履歴に関する情報として平成 12 年度厚生科学研究費補助金報告書⁶⁾を参照した。経過温度としては、聞き取り範囲に加え、日本の平均気温を考慮した分布を採用し、また小売店では冷暖房の影響を考慮した。さらに、農場と市場とで異なる季節の温度が適用されないよう、同様の温度帯から入力値が選択されるよう、モデルに条件を加えた(表 3)。

一定の温度における卵黄膜ブレイクダウン時間(YMB Time)関数ならびに YMB Time 経過後の卵白における SE の増殖関数には、USDA ならびに FAO/WHO のリスクアセスメントで用いられている関数を適用した。これらの具体的なデータと数式は、表 4 に示すとおりである。

その結果、消費者にわたる直前の汚染卵

中の SE 菌数は図 2 のような分布をもつと計算された。流通経路を複数に分けて解析する方法は、日本独自のものである。また、適用した温度も日本の気象データに基づいている。しかし、非常に少ない菌数のところに大きなピークを持ちかつ 10^4 個付近に小さなピークを持つという結果は、USDA の結果と類似していた。

消費段階では、生卵摂食状況に関する電話アンケートの結果⁶⁾を利用した。表 5 に、日本の家計調査等から求めた年間一人当たり家庭での卵消費量、月間一人当たり家庭での生卵消費量に関するアンケート結果、そしてブーツストラッピング法による計算方法を示す。その結果、家庭に購入された 1 個の卵が生卵として消費される確率を、正規分布に基づくとして、消費段階での入力値として算出した (図 3)。購入卵汚染率は殻付き卵の場合消費段階に至っても変わらないため、生産段階で算出した全鶏卵中の汚染卵の割合をここでも適用した。汚染卵中の SE 菌数は家庭での卵の保存温度により変化するはずであるが、卵は家庭では冷蔵保存されるという仮定を導入した。従って、消費される時点での菌数として、流通保存段階の最後における菌数を適用した。

Exposure Assessment において使用した入力データを表 6 にまとめた。

III. Hazard Characterization

摂食菌数(dose)と発症率(response)との関係として、FAO/WHO によるサルモネラのリスクアセスメントにおいて導き出された Beta-Poisson 関数、

$$Pill = 1 - \left(1 + \frac{Dose}{\beta} \right)^{-\alpha}$$

ただし、 $\alpha = 0.1382$ 、 $\beta = 57.05$ を引用した。

IV. Risk Characterization

年間鶏卵総出荷量は 2485880 トンである (表 4)。卵 1 個を 60 g とし、殻付き卵の流通割合 85.5% から、全家庭で消費される殻付き卵の年間総個数は 2.19×10^{10} 個と計算される。これに図 3 に示した家庭に購入された 1 個の卵が生卵として消費される確率を掛け合わせ、全家庭で 1 年間に生卵として消費される殻付き卵の個数 A を求めた。さらに、表 3 に示される各流通経路を通った生卵による発症率を別々に算出し、それぞれの流通経路に占める卵の流通量の割合と掛け合わせるにより、生卵 1 個による発症率 B を計算した。それに図 1 に示される全鶏卵中の汚染卵の頻度 C を用い、 $A*B*C$ に対して 3 万回のシミュレーションを行った結果、図 4 に示されるように、全国における家庭での生卵摂食に伴うサルモネラ・エンテリティディス食中毒の 1 年間あたり発症者数の確率分布を得た。

次に、対策案の比較の一例として、農場以降の流通温度を 7°C 以下に設定した場合、常温流通のまま家庭への販売期限を 7 日あるいは 14 日以内に設定した場合、の 3 案について検討した。図 5 に示すように、今回限定されたデータを使用した限りでは、これら 3 案にはあまり大きな効果は認められなかった。

最後に Sensitivity Analysis を行ない、各入力情報の患者発生数に及ぼす効果の

大きさを比較した（図6）。最も影響が大きかったのは新鮮卵中の SE 菌数、次いで鶏群汚染率と鶏群内感染率であった。他のパラメーターの影響は急激に小さくなっていると判定された。

考察とまとめ

試行的とはいえ、本研究は本邦で初めて確率論の概念を導入した微生物学的リスクアセスメントである。生卵摂食に伴う SE 食中毒をモデルに、食品の生産から消費までの各段階における、汚染の頻度と菌数の変化を、連続的に解析した。また、食中毒事例データから摂食菌数と発症率との相関関係を数式化した。最後に、1 年間に家庭で生卵を消費することに伴う食中毒発生件数を推定した。この結果を近年の食中毒統計と比較する。Hazard Identification でも述べたように、国外においては、サルモネラにより発症した患者の 90%以上は医療機関に受診もせずに治癒しているものと推定されている。さらに、受診した食中毒患者についても、特に散发事例については、それらすべてが食中毒であることの診断を受け、地元保健所に報告され、集計されるものではない。仮に報告例が実際の患者数の 5%とすると、サルモネラ症の患者は平成 11 年には 237,760 人、平成 12 年には 138,160 人だったと推定される。そのうち、サルモネラ・エンテリティディスに汚染された卵を家庭で生食することにより感染した患者数を推定する根拠を探すことは難しいが、図 4 に示される患者数の範囲が、桁違いに過大あるいは過小評価であるとは考えにくい。

今回比較した 3 対策案はほとんど現状を変えないという結果が得られた。このことは今回採用したデータの条件の範囲では、流通中に SE が急激に増殖する機会は非常に小さいことを示し、ほとんど新鮮卵中にすでに含まれる菌によってのみ患者発生が起きている、と推定されたことを意味する。このことは、Sensitivity Analysis の結果とも一致する。しかし、新鮮卵中の SE 菌数については、世界的にも今回使用したデータしか現在引用可能な報告がない。しかもそれらはすべて海外での報告である。ここに、現時点での本リスクアセスメントの限界があるが、また同時に最もデータ収集の必要性が認められる部分も明らかになった。

このように使用したデータについても限界を伴うものであるため、本モデルの計算結果を日本における現実と判断することは科学的には全く妥当ではない。本研究の目的は、少なくとも公表されたデータを用いつつ、確率論的リスクアセスメントによって何がどのように評価できるかを例示することである。確率論的リスクアセスメント自体、食品微生物の分野では新しい手法であり、本格的な導入に先立ち、その有効性を示すためには、本研究のようなモデルが必要とされた。卵と SE を対象としたのは、比較的データが揃っていること、この数年患者数、件数が減少してはいるものの、依然として重篤な症状を起こす可能性のある重要な食中毒菌の一つであるためである。

定量的な微生物学的リスクアセスメントに関し、わが国では他の先進諸国と比較して 4、5 年の遅れをとってしまった。今や国際機関によって発展途上国への啓蒙導入

が図られようとしている段階である。世界最大の食糧輸入国である日本で、この手法が未だに発達していないことは極めて問題である。アセッサー（あるいはアナリスト）の育成、マネージャーその他関連組織への教育普及等、早急に体制を整えることが必要である。

リスクアセスメントの第1義的目的は、リスクマネージャーのためにより良い、またより科学的な判断材料を提供することである。したがって、リスクアセスメントの目的設定のためには、マネージャーと関係当事者、そしてアセッサーの間で十分な情報交換があるべきである。さらに、アセスメントの結果をマネジメントにどのように反映させていくかについても、マネージャー側が十分に議論して準備することが必要である。本研究は試行的なリスクアセスメントとしてこのステップを省略して開始されたが、本格的なリスクアセスメントを実施するには、リスクアセスメント開始時に限らず、実施途中、結果の報告に当たり、情報交換の方法を検討することが急務である。また、このような枠組み自体がコーデックスを始めとする国際情勢の中で受け入れられてきている状況を踏まえ、わが国においても真剣にその理解と導入に努める必要がある。

目的設定だけでなく、リスクアセスメント全体の構成、シナリオの構築、関数の選択、そして最終的な推定結果に関しても、専門家ならびに行政、消費者、関連業界、すべての当事者による十分な議論を踏まえる必要がある^{1) 5)}。その議論の場をどのように設け、どのように有意義な議論を行なうかが、今後の課題である。

シナリオの構築から確率分布の選択にあたっては、系統的な知識の習得と習熟が必須であることが、本研究の遂行にあたって確認することができた。それら知識については、この分野で先行するアメリカとカナダの担当機関、およびコンサルタント企業の専門家から情報を入手することができた。それに加え、今年度本研究費により招聘した David Vose 氏(David Vose Consultancy)による2週間の講習会を受講した受講生の間で、数学的解析方法に関する議論を主に e-mail を介して行なうことができた。この議論に加わったのが、本分担研究における協力研究者である。このようなチームワークはまだ十分であるとは言えないものの、微生物学的リスクアセスメントにおける作業としては前進の一步であると考えられる。今後、こうした知識や経験を踏まえて、さらなる情報の入手に励み、リスクアセスメント手法の拡充を図る予定である。

業績

1. 講演等

Kumagai, S., Sugita-Konishi, Y., Kasuga, F., Itoh Y. and Hara-Kudo Y.

Control of *Escherichia coli* O157:H7 contamination in food: sprout as an example
11th World Congress of Food Science and Technology, Seoul, Korea, April 22-27, 2001

Fazil, A., Lammerding, A. M., Ebel, E., Kasuga, F., Kelly, L. and Anderson, W.:

Risk Characterization of *Salmonella* in Poultry and Eggs.

Joint FAO/WHO Expert Consultation on Risk