

厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

輸入食品における食中毒菌サーベイランス及び
モニタリングシステム構築に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山本 茂貴
国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

平成19(2007)年3月

平成18年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

総括研究報告書

輸入食品における食中毒菌サーベイランス及び
モニタリングシステム構築に関する研究

主任研究者 山本茂貴

輸入食品における食中毒菌のサーベイランス及びモニタリングシステム構築に関する研究

主任研究者 山本茂貴 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：

1. 海外の微生物モニタリングおよびサーベイランス

我が国の微生物モニタリングシステム構築の基礎資料を得るため、アメリカ、カナダ、EC、イギリス、アイルランド及びデンマークの微生物モニタリングの実施状況を調査した。

微生物の検査として、ECのように過去数年のトレンドを解析するための微生物モニタリング、USDAのHACCP規則の一部として実施する *Salmonella* 検査のように HACCP 等の特定のリスク管理措置の効果をモニターするための微生物モニタリング、及び国産または輸入のハイリスク食品のサーベイランス的な色彩の強いモニタリングが行われていた。トレンド解析のためのモニタリングが行われていた食品は、卵、食肉等の動物性食品が多かった。

ほとんどの国では対象微生物として、*Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*、ベロ毒素産生病原性大腸菌 (VTEC) といった病原菌を対象に検査を行っており、指標菌を用いている国またはプロジェクトは少なかった。

我が国においても、継続的に全国的に統一的なサンプリングスキームに従い、同一の検査法で食中毒の原因としての報告が多い食品と微生物の組み合わせについて、フードチェーンの主な段階における汚染率、汚染菌数に関する調査を行い、我が国の微生物汚染の実態を把握するとともに、国産及び輸入のリスク管理措置の実施とその効果をモニターするためのハイリスク食品のサーベイランスシステムを効率的に実施する必要があると考えられた。

2. 東南アジアで発表されている論文調査

タイ・インドネシア・フィリピン・中国等のアジア諸国の研究者において論文として英語記載され国際的に公表されている食中毒発生状況や菌保有状況について情報入手したところ、アジア諸国では公表されている食中毒に関する論文は少ないとともに、健康人の食中毒菌保菌率も高いことが判明した。

3. タイ国内で流通する食品の汚染実態調査

輸入食品の汚染実態の把握及び海外渡航者への的確な情報提供を行うことを目的として、タイ国内で流通する食品の汚染実態調査を現地で行った。その結果、サルモネラ属菌による汚染率が極めて高く、特に鶏肉で高率であることが判明した。また、牛肉、豚肉、エビなどの畜水産食品についても、わが国で生産される畜水産食品よりも汚染率が

高い傾向にあったので、当該食品の製造、流通、販売においては、より厳しい衛生管理体制を構築することが必要である。輸入食品の汚染実態の把握及び海外渡航者への的確な情報提供を行うことを目的として、タイ国内で流通する食品の汚染実態調査を現地で行った。その結果、サルモネラ属菌による汚染率が極めて高く、特に鶏肉で高率であることが判明した。また、牛肉、豚肉、エビなどの畜水産食品についても、わが国で生産される畜水産食品よりも汚染率が高い傾向にあったので、当該食品の製造、流通、販売においては、より厳しい衛生管理体制を構築することが必要である。

さらに、タイにおいてヒトおよび鶏から分離された *Campylobacter jejuni* の血清型、薬剤感受性および *gyrA* の遺伝子変異を調査したところ、タイで分離される *C. jejuni* のうち、ヒト由来株の 51% (36/70) は 10 の Penner 血清型(血清型 B、C、R、E、G、A、K、D、I および L) に、家禽由来株の 68% (47/69) は 9 の血清型(血清型 A、C、I、K、D、E、S、D および L) にそれぞれ型別された。また、ヒト由来株のナリジクス酸、シプロフロキサシン、アンピシリン、テトラサイクリン、エリスロマイシンに対する耐性株の比率は、96%、96%、29%、57% および 14%、家禽由来株のそれは 77%、77%、22%、26% および 17% だった。ヒトや家禽由来のキノロン系薬剤耐性株はすべて *gyrA* 遺伝子変異 (T₈₆→I₈₆) 株であり、タイではこの *gyrA* 遺伝子変異 (T₈₆→I₈₆) のキノロン系薬剤耐性株が広く分布していることが判明した。東南アジアから食品を輸入する際には、輸入国の衛生状態を把握するとともに、食品加工場従業員の健康状況把握を確実に実施することが必要であると思われる。また、特に肉製品については高度キノロン系薬剤耐性菌の出現状況に注意をする必要があると思われる。

4. 日本国内のモニタリングもしくはサーベイランスの調査

輸入食品の食中毒菌サーベイランス及びモニタリングシステムを構築するための参考として、現在、日本国内において行われている食品のサーベイランスの現状について調べた。現在、厚生労働省により日本国内で行われている食品のサーベイランスには、「食品、添加物等の夏期一斉取締り」、「食品、添加物等の年末一斉取締り」、「食品の食中毒菌汚染実態調査」という 3 つがあるが、「食品、添加物等の夏期一斉取締り」、「食品、添加物等の年末一斉取締り」では、食中毒菌サーベイランスに相当するものが収去検査の一部に過ぎず、結果についても食品衛生法第 6 条違反のその他、及び第 11 条違反の成分規格・その他として(食中毒菌以外の違反も合わせて)集計されており、詳細が不明であった。一方、「食品の食中毒菌汚染実態調査」では、対象食品、検査項目、検体数、検査方法等が実施通知により詳細に規定されていたが、検査項目としては大腸菌、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ菌、赤痢菌に限られていること、全国調査ではなく全国 17~18 自治体による実施であること等、食中毒菌サーベイランスとしての意義は限定的であると考えられた。

5. 日本に輸入された食品の汚染実態調査

一般に流通している輸入食品であり家庭での保存期間が比較的長いと思われるチー

ズ、サラミソーセージにおけるリステリアの保菌状況について調査を行った。また、リステリアと同様の低温増殖性を持つ食中毒細菌であるエルシニアについてもその保有状況を調査した。その結果、市販サラミソーセージの33.3% (12検体中4検体) から *Listeria* 属菌が、16.7% (12検体中2検体) から *L. monocytogenes* が分離され、市販ナチュラルチーズの2.9% (70検体中2検体) から *Yersinia enterocolitica* が分離された。

輸入魚介類、牛肉、豚肉、鶏肉のそれぞれ10検体について食品分析センターに委託して調査したが、腸炎ビブリオ、サルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157、カンピロバクターはすべて陰性であった (委託研究報告書参照のこと)。

分担研究者

豊福 肇 国立医薬品食品衛生研究所
鈴木穂高 国立医薬品食品衛生研究所
岡田由美子 国立医薬品食品衛生研究所
武士甲一 帯広畜産大学
森田幸雄 群馬県感染制御センター

A. 研究目的

我が国にはシステムチックな微生物モニタリングシステムは存在しない。そこで、本研究では、我が国において統合的な輸入食品の微生物モニタリングシステムを構築することを目的とする。そのための基礎資料を得るため、アメリカ、カナダ、EC、イギリス、アイルランド及びデンマークの微生物モニタリングシステムについて調査した。なお、純粋な微生物汚染率の年次変化、トレンドを見るモニタリングとなんらかの食品衛生上の問題をきっかけに監視の意味で行うサーベイランスを両方合わせて調査した。

さらに、食品の輸入が多いタイ・インドネシア・フィリピン・中国等のアジア諸国の食中毒発生状況や菌保有状況について調査した。また、これら東南アジア地域における現地調査を行った。

一方、現在、日本国内において行われて

いる食品のサーベイランスの現状、輸入食品の汚染状況について調査した。

B. 研究方法

アメリカ、カナダ、EC、イギリス、アイルランド及びデンマークの微生物モニタリングシステムについて現地におけるヒアリングおよびインターネットを用いた調査を行った。なお、純粋な微生物汚染率の年次変化、トレンドを見るモニタリングとなんらかの食品衛生上の問題をきっかけに監視の意味で行うサーベイランスを両方合わせて調査した。

タイ・インドネシア・フィリピン・中国等のアジア諸国の研究者において論文として英語記載され国際的に公表されている食中毒発生状況や菌保有状況について調査した。また、これら東南アジア地域における現地調査を行った。

さらに、現在、日本国内において行われている食品のモニタリングもしくはサーベイランスの現状、輸入食品 (チーズおよびサラミソーセージ) のリステリア・モノサイトゲネス及びエルシニア・エンテロコリチカの汚染状況について調べた。

C. 研究結果および D. 考察

1. 海外の微生物モニタリングおよびサーベイランス

微生物の検査として、ECのように過去数年のトレンドを解析するための微生物モニタリング、USDAのHACCP規則の一部として実施する *Salmonella* 検査のようにHACCP等の特定のリスク管理措置の効果をモニターするための微生物モニタリング、及び国産または輸入のハイリスク食品のサーベイランス的な色彩の強いモニタリングが行われていた。トレンド解析のためのモニタリングが行われていた食品は、卵、食肉等の動物性食品が多かった。

ほとんどの国では対象微生物として、*Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*、ベロ毒素産生病原性大腸菌 (VTEC) といった病原菌を対象に検査を行っており、指標菌を用いている国またはプロジェクトは少なかった。

2. 東南アジアで発表されている論文調査

アジア地域の公衆衛生および食品衛生に関する研究報告は少なく、また、これらの国々では *Salmonella* や *Campylobacter* 等の食中毒菌の他に感染症のチフス、赤痢、コレラ等の感染症の発生が公衆衛生学的に重要な課題であることが確認された。とくに、熱帯地域ではチフスの発生が深刻であり、ベトナム・バングラディッシュでは *Salmonella* に関する論文の半数近くが *S. Typhi* に関するものであった。

タイやベトナムは、他のアジア諸国と比べて動物や食肉からの食中毒菌の検索が行われている。調査報告のある国における食肉の *Salmonella* の汚染率は高く、その国の気温やコールドチェーンの普及等を考える

と、食品衛生的に極めて深刻な問題と思われる。

下痢症患者から分離される病原体は国によってやや異なり、中国では腸管出血性大腸菌感染例が1988年より報告され、疫学報告も頻繁に行われている。ラオスでは赤痢、バングラディッシュではコレラが下痢症患者から分離されるという特徴を有していた。また、中国やマレーシアでは食品中の *Listeria* モニタリングも実施しているが、調査した他の国々では食品中の *Listeria* に関する報告はみあたらなかった。

S. Typhi を含めた *Salmonella* や *Campylobacter* では、患者分離株や動物分離株にかかわらず、キノロン系抗生物質耐性菌の出現に関する調査報告が多数認められていることから、これらの国々からの輸入食品についてはキノロン系抗生物質耐性菌についてモニタリングする必要があると思われる。

アジア諸国では非下痢症患者や健康な人も食中毒菌を保菌していることがある。よって、アジア諸国の食品製造施設から食品を輸入する際には、その国で流行、または日常的に存在する食中毒や感染症について把握するとともに、製造施設での従業員の衛生管理、すなわち就労前の検便や定期的な検便を実施しているか否かについても確認することが重要と思われる。

3. タイ国内で流通する食品の汚染実態調査

本研究においてサルモネラの分離頻度は非常に高く、現地で流通する食肉にサルモネラ属菌による高度な汚染が広がっていることを確認した。サルモネラ属菌の食肉汚

染については、世界各地で増加傾向にあることが確認されている。今回の調査でマーケットの様式の違いにより、分離頻度には差が認められた。食品衛生管理が良好であるといわれているオープンマーケット（図4）においては、通常のスーパーマーケットに比べ、サルモネラ属菌による汚染率がより高いことが明らかになった。分離株の血清型については、O群についてのみ実施したが、H抗原を含めより詳細に血清型を検討し、わが国で分離される血清型との状況を比較する必要がある。同時に遺伝子型及び病原性因子についても詳細に検討し、タイ国とわが国で分離される株の特性をさらに検討する必要がある。また、エビからもサルモネラ属菌が高頻度に分離されており、これはバックヤードにおける二次汚染の可能性も高く、マーケットにおける衛生管理について検討する必要があると考えられた。

EHEC O157の分離頻度は低く、わが国における状況と大きな差異は認められなかった。分離された1株の志賀毒素の産生能についてはまだ調べていないが、血清型O157に限定せず、志賀毒素産生性大腸菌のカテゴリーで調査すると、さらに高頻度に分離できる可能性がある。

腸炎ビブリオの分離頻度は、カキにおいて高率であった。このうち数株調べた結果、TDH遺伝子を保有しなかったことから、ヒトへの直接の毒性は低いと考えられた。しかし、タイ国内で流通している食材は汚染の頻度が高いため、渡航者に対するリスクは、わが国において国産のカキを摂食する場合のリスクよりも高いと推察される。タイ国における水産食品の腸炎ビブリオによる汚染頻度が、わが国への輸入食品の汚染

の状況を反映するならば、輸入水産食品のモニタリング試験を行って、わが国における輸入水産食品を介した腸炎ビブリオ食中毒の発生を未然に防止する必要があると考える。

ヒトおよび家禽由来 *Campylobacter* について調査したところ、血清型、薬剤感受性、遺伝子多形性解析および *gyrA* 遺伝子変異においてヒトおよび家禽由来株は若干異なっていた。また、これらの株の多くは *gyrA* 遺伝子の変異を伴うキノロン系抗生物質耐性菌であることが判明した。

Campylobacter を分離した家禽は育成期にアンプロリウム、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシンを飼料中に添加していた。米国ではエンフロキサシンの家畜の飼料添加剤としての投与は、キノロン系抗生物質の耐性が出現する可能性があることから禁止されている。エンロフロキサシン投与がキノロン系抗生物質耐性株の出現に関与していたかもしれない。また、タイでは市場での鶏肉の *Campylobacter* 汚染率が高く、また、患者と鶏肉からの分離株の薬剤感受性等の結果から、ヒトへ感染としては市場等の流通過程での二次汚染が重要であるとの結果が報告されている

（Padungtodら：2006）。

タイのヒトおよび家禽に分布する *Campylobacter* の多くは *gyrA* 遺伝子の変異を伴うキノロン系抗生物質耐性株であること、さらに、食肉の流通過程で二次汚染が頻繁におこることから、タイでの滞在生活時やタイからの食品の輸入時には、キノロン耐性株の存在について考慮に入れる必要があると思われた。

4. 日本国内のモニタリングもしくはサーベイランスの調査

現在、厚生労働省により日本国内で行われている食品のサーベイランスには、「食品、添加物等の夏期一斉取締り」、「食品、添加物等の年末一斉取締り」、「食品の食中毒菌汚染実態調査」という3つがあるが、「食品、添加物等の夏期一斉取締り」、「食品、添加物等の年末一斉取締り」では、食中毒菌サーベイランスに相当するものが収去検査の一部に過ぎず、結果についても食品衛生法第6条違反のその他、及び第11条違反の成分規格・その他として(食中毒菌以外の違反も合わせて)集計されており、詳細が不明であった。一方、「食品の食中毒菌汚染実態調査」では、対象食品、検査項目、検体数、検査方法等が実施通知により詳細に規定されていたが、検査項目としては大腸菌、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ菌、赤痢菌に限られていること、全国調査ではなく全国 17~18 自治体による実施であること等、食中毒菌サーベイランスとしての意義は限定的であると考えられた。

5. 日本に輸入された食品の汚染実態調査

今回の調査により、一般に流通している輸入サラミソーセージ12検体中2検体から *L. monocytogenes* が検出された。*L. monocytogenes* の汚染菌量は100CFU/g未滿であり、輸出国側の基準となるEUの *L. monocytogenes* 汚染基準には違反していなかった。しかしながら日本では本菌の衛生基準は定性的なものであり、食品衛生法違反として商品の回収が行われた。また、本研究による検査時は当該検体の製造から間もない時期であったが、本菌は低温

増殖菌でありこれらの検体の賞味期限が8-10ヶ月と長期であったため、店舗及び家庭での保存期間中に菌が更に増殖する可能性が高いと思われた。また、今回試験した中でスペイン産のサラミソーセージの半数近くから *Listeria* 属菌が分離されており、1検体からは *L. monocytogenes* と *L. innocua* の両方が分離された。また、*L. monocytogenes* が分離された2つの検体は同一メーカーの製品であるが血清型、リボタイプ共に異なる株が分離されており、スペイン産の食肉製品が高度に本菌に汚染されている可能性が示唆された。一方ナチュラルチーズに関しては今回の調査では *L. monocytogenes* は分離されなかった。

今回の調査により、一般に流通している輸入ナチュラルチーズ70検体中2検体からエルシニアが検出された。2検体共にフランス原産の未殺菌製白カビチーズであった。現在行われているエルシニア試験法は低温増菌法であり、定性的な解析であるため汚染菌量は不明であった。また、両検体共に試験日から賞味期限が2週間以内であり、3週間の増菌培養及びその後の同定試験の間に流通が終了していると思われた。更に今回の分離菌は非病原株であることが確認されたため、当該商品の回収等は不要とした。一方で、文献調査の結果から多くの国で生乳や乳製品からエルシニアが分離されており、汚染乳製品を原因とする集団感染も報告されていることから、国内でも輸入乳製品を通じたエルシニア症の感染に注意する必要があると思われた。輸入ナチュラルチーズには現在国内での生産が認められていない未殺菌乳を原料としたものがしばしばみられるが、今回の調査結果からも病原菌

を保有しているリスクが殺菌乳を原料とするものよりも高いと思われるため、原産国のラベルにも必ずしも表記されていない原料の殺菌の有無について明確に表記したほうがよいのではないかと考えられた。また、現在行われているエルシニアの検査法は同定までに大変長期間を要し、選択培地についても表5に示したように多くの類似コロニーが形成されることから、迅速でより選択性の強く定量的な分離法の確立が望ましいと思われる。

ナチュラルチーズには乳酸菌由来の抗リステリア活性を持つバクテリオシンが含まれていることがあり、また、国内では現時点では認められていないがEUでは食品添加物としてバクテリオシンが添加されることがある。また、ゴータチーズ等の表面を覆うワックスへのナタマイシン添加もEUでは認められているため、今回調査した検体について抗リステリア活性の有無を調べたが、全検体でコントロールとして用いたナイシンと比較して全く活性は見られなかった。

E. 結 論

1. 海外のモニタリング及びサーベイランス

アメリカ、カナダ、EC、イギリス、アイルランド、デンマークの微生物モニタリングの実施状況を調査した。

微生物の検査として、ECのように過去数年のトレンドを解析するための微生物モニタリング、USDAのHACCP規則の一部として実施する*Salmonella*の検査のようにHACCP等、特定のリスク管理措置の効果をモニターするための微生物モニタリング、及び国

産または輸入のハイリスク食品のサーベイランス的な色彩の強いモニタリングが行われていた。トレンド解析のためのモニタリングが行われていた食品は、卵、食肉等の動物性食品が多かった。

ほとんどの国では対象微生物として、*Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, VTECといった病原菌を対象に検査を行っており、指標菌を用いている国またはプロジェクトは少なかった。

農薬や動物用医薬品のモニタリングと異なり、モニタリングの結果に基づき、特定の輸出国の特定の食品の検査を強化するという性質のプロジェクトはほとんど認められなかった。また、検査法、検体数、検体採取の枠組み等が異なる場合には、これらを統一しない限り、異なる国間に病原体の汚染率の比較は行うのは難しいと考えられた。しかし、統一された検査の枠組みで行われた産卵鶏のベースライン検査のような例(図7)では、ポルトガル、ポーランド、スペイン、チェコ等は*Salmonella*汚染率が高いが、デンマーク、ノルウェー、スウェーデン、フィンランド、アイルランド等は著しく汚染率が低いことから、仮に卵の輸入が行われている場合、前者の国々から輸入される卵のモニタリングを高い優先度で行うというように、諸外国のデータを参考にして、輸入時モニタリングの優先度を定めることはできると考えられた。

我が国においても、継続的に各都道府県が統一的なサンプリングスキームに従い、同一の検査法で食中毒の原因としての報告が多い食品と微生物の組み合わせについて、フードチェーンの主な段階における汚染率、汚染菌数に関する調査を行い、我が国の微

生物汚染の実態を把握するとともに、国産及び輸入のリスク管理措置の実施とその効果をモニターするためのハイリスク食品のサーベイランスシステムを効率的に実施する必要があると考えられた。

2. 東南アジアで発表されている論文調査

アジア地域の公衆衛生および食品衛生に関する研究報告は少なく、また、これらの国々では *Salmonella* や *Campylobacter* 等の食中毒菌の他にチフス、赤痢、コレラ等の感染症の発生が公衆衛生的に重要な課題であることが確認された。また、食品流通過程における二次汚染や、その国に生活している人々が食中毒菌を保菌していることもあることから、食品製造を扱う上では、取扱者の衛生教育や検便等の実施状況についても監視しなければならないと思われた。

3. タイ国内で流通する食品の汚染実態調査

タイ国内で流通する畜水産食品のサルモネラ属菌による汚染率が高く、特に鶏肉で高率であること、しかもその汚染率は牛肉、豚肉、淡水産エビを含め、わが国における汚染率よりも著しく高いことが判明した。このためタイ国内においては、食品の製造、流通、販売においてより厳しい衛生管理体制を整える必要があると考えられた。

今回の調査結果は、次年度以降に実施する輸入食品の種類及び検出対象となる病原体の種類等を考察する上で、有益な情報となると考えられた。

タイのヒトおよび家禽から分離される *Campylobacter* の多くは *gyrA* 遺伝子の変異

を伴うキノロン系抗生物質耐性株であることが判明した。食肉の流通過程で二次汚染が頻繁におこることから、タイでの滞在生活時やタイからの食品の輸入時には、キノロン耐性株の存在について常に考慮にいれるべきであると思われた。

4. 日本国内のモニタリングもしくはサーベイランスの調査

「夏期一斉取締り」と「年末一斉取締り」に関しては対象食品、検体数、検体の採取方法、検査項目、検査方法等が明確でないこと、検査違反の詳細が不明であること等より、「汚染実態調査」については全国調査ではないこと、対象食品、検査項目が限られていること等より、食中毒菌サーベイランスとして十分なものとは言えないのではないかと考えられた。

5. 日本に輸入された食品の汚染実態調査

今回の調査の結果、国内で一般に流通している輸入サラミソーセージの33.3%から *Listeria* 属菌が、16.7%から *L. monocytogenes* が分離されたことから、現在行われている微生物モニタリングでは必ずしも効率的に有害微生物に汚染された輸入食品の排除ができていないことが示された。特にスペイン原産の食肉製品については更に詳細なモニタリングを実施するべきであると思われた。また、現在ほとんど注目されていない輸入乳製品のエルシニア汚染についても注意が必要であると思われた。

F. 健康危機情報

L. monocytogenes が検出されたサラミソーセージに関し厚生労働省を通じて輸入

代理店に連絡し、当該商品の回収が行われた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小熊恵二, 武士甲一, 中野宏幸, 2006. 第5章 病原細菌 「ボツリヌス菌—毒素と食中毒」, 熊谷 進ら監修, 科学は食のリスクをどこまで減らせるか—食の安全科学—, (株)エヌ・ティー・エス, 東京, 19:143-153.
- 2) 武士甲一, 木村浩一, 小熊恵二, 2006. ボツリヌス症, 山口恵三ら監修, 日本臨床臨時増刊号15巻3号—新感染症下巻一, (株)日本臨床, 東京 in press
- 3) Y. Sassa, D. Fukui, K. Takeshi, T. Miyazawa. 2006. Neutralization Antibodies against feline Parvoviruses in nondomestic felids Inoculated with commercial Inactivated Polyvalent Vaccines. J. Vet. Med. Sci., 68(11): 1195-1198.
- 4) Okada Y., Okada N., Makino S., Asakura H., Yamamoto, S., Igimi S. 2006. The sigma factor RpoN (sigma54) is involved in osmotolerance in *Listeria monocytogenes*. FEMS Microbiol Lett. vol. 263 p54-60.
- 5) Sumalee BOONMAR, Yukio MORITA, Masahiro FUJITA, Leelaowadee SANGSUK, Karun SUTHIVARAKOM, Pawin PADUNGTOD, Soichi MARUYAMA, Hidenori KABEYA, Kunihiisa KOZAWA, Hirokazu KIMURA, Serotypes, antimicrobial susceptibility, and *gyr A* gene mutation of *Campylobacter jejuni* isolates from humans and chickens in Thailand. Microbiology and Immunology (in Press)

2. 学会発表

- 1) Y. OKADA, S. MAKINO, N. OKADA, H. ASAKURA, S. YAMAMOTO, S. IGIMI Identification and analysis of the osmotolerance associated genes in *Listeria monocytogenes*. 天然資源の開発利用に関する日米会議主催の第10回食品媒介微生物学・細菌毒素解析に関する国際シンポジウム 2006年11月ワシントンDC
- 2) Sumalee BOONMAR, Pawin PADUNGTOD, 森田幸雄, John KANEENE, Robert HANSON, 加藤政彦, 木村博一, 小澤邦壽: Antimicrobial resistance in *Campylobacter* isolated from food animals and humans in northern Thailand、日本食品微生物学会、大阪府堺市 (9月)

H. 知的財産権取得状況

特になし

平成18年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

分担研究報告書

1. 諸外国の微生物サーベイランスシステムの調査に関する研究

分担研究者 豊福 肇
研究協力者 窪田邦宏、苅和宏明

平成18年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

輸入食品における食中毒菌サーベイランス及びモニタリングシステム構築に関する研究

(H18-食品ー一般-015)

分担研究報告書

諸外国の微生物サーベイランスシステムの調査に関する研究

分担研究者 豊福 肇 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部主任研究官

研究協力者 窪田邦宏 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部研究員

研究協力者 苺和宏明 北海道大学大学院獣医学研究科助教授

研究要旨：我が国の微生物モニタリングシステム構築の基礎資料を得るため、アメリカ、カナダ、EC、イギリス、アイルランド及びデンマークの微生物モニタリングの実施状況を調査した。

微生物の検査として、欧州連合では過去数年のトレンドを解析するため、米農務省では特定のリスク管理措置の効果をモニターするため HACCP 規則としてサルモネラ検査を実施していた。また英国等ではハイリスク食品のサーベイランス（特定輸出国の特定食品の検査強化が目的ではない）のためモニタリングを行っていた。トレンド解析の対象食品は、卵、食肉等の動物性食品が多かった。ほとんどの国ではサルモネラ、カンピロバクター、リステリア、ベロ毒素産生病原性大腸菌といった病原菌を対象に検査を行っており、指標菌を用いている国またはプロジェクトは少なかった。検査法、検体数、検体採取の枠組み等が異なる場合には、異なる国間における病原体の汚染率の比較を行うのは難しいと考えられた。我が国でも公衆衛生上重要な病原菌のトレンド解析及びリスク管理措置の効果をモニターするため、継続的に全国的に統一的なサンプリングスキームに従い、同一の検査法で食中毒の原因としての報告が多い食品と微生物の組み合わせについて、フードチェーンの主な段階における汚染率、汚染菌数に関する調査を行い、我が国の微生物汚染の実態を把握するとともに、国産及び輸入食品に対するリスク管理措置の実施とその効果をモニターするためのサーベイランスシステムを効率的に実施する必要性があると考えられた。

A. 研究目的

我が国にはシステムチックな微生物モニタリングシステムは存在しない。そこで、本研究では、我が国において統合的な微生物

モニタリングシステムを構築するための基礎資料を得るため、アメリカ、カナダ、EC、イギリス、アイルランド及びデンマークの微生物モニタリングシステムについて

調査した。

なお、純粋な微生物汚染率の年次変化、トレンドを見るモニタリングとなんらかの食品衛生上の問題をきっかけに監視の意味で行うサーベイランスを両方含めて調査した。

B. 研究方法

アメリカ、カナダは直接担当者に会って聞き取り及び食品安全担当部局の Website から、EC、デンマーク、イギリス及びアイルランドは website 及び Email による問い合わせにより調査した。

なお、EC 等多くの国ではフードチェーンの統合したモニタリングとして、食用動物の飼育段階でモニタリングをしている場合が多いが、それらは今回の調査対象からはずし、食品を対象とした病原菌または指標菌の検査を対象とした。

C. 研究結果 ならびに D. 考察

全体の調査した範囲は表 1 のとおり。

C.1 アメリカ合衆国

アメリカ食品医薬品局 (FDA) の食品安全応用栄養センター (CFSAN) ではシステムチックな微生物モニタリングは行われていなかった。

輸入の生鮮野菜果実の政策を決定するに当たり、データが必要であったため、1999年に生鮮輸入野菜のサーベイとして、ブロッコリー、カンタロープ、セロリ、チラントロ、キュラントロ、レタス、パセリ、スカリオン、イチゴ、及びトマトを対象とし、21カ国から 1,003 検体の検査を行った。このうち 96%は病原体汚染陰性であったのに対し、44 検体 (4%) は陽性であった。*E.coli*O157 : H7 陽性の検体はなかった。

汚染率が最も高かったのはチラントロ、カンタロープ及びキュラントロで陽性率はそれぞれ 1.6%、1.1%、0.6%であった(表 2)。カンタロープは陽性 11 検体 (*Salmonella* 8, 赤痢 3)、セロリは同 3 (*Salmonella* 1, 赤痢 2)、チラントロは同 16 (*Salmonella*16)、キュラントロは同 6 (*Salmonella*6)、レタス同 2 (*Salmonella* 1, 赤痢 1)、レタス同 2 (*Salmonella* 1, 赤痢 1)、スカリオン同 3 (*Salmonella* 1, 赤痢 2)、イチゴ同 1 (*Salmonella*1) であった。赤痢菌により輸入時自動的に留め置き検査対象に移行したのはコスタリカ、グアテマラ及びメキシコのカンタロープ農家各 1 施設、メキシコのセロリ、チリのレタス及びカナダのスカリオン各 1 施設、また *Salmonella* ではメキシコのカンタロープ、セロリ及びチラントロ農家各 1 施設、コスタリカのキュラントロ 1 施設、並びにトリニダットトバゴ 1 施設であった。

2000~1 年、今度はアメリカ産生鮮野菜のサーベイランスが行われた。カンタロープ、セロリ、チラントロ、レタス、パセリ、スカリオン、イチゴ、及びトマトを対象とし、1,028 検体の検査を行った。このうち 99%は病原体汚染陰性であったのに対し、11 検体 (1%) は陽性で、*Salmonella* 陽性が 6 件、*Shigella* 陽性が 5 件であったが、*E.coli*O157 : H7 陽性の検体はなかった。(表 3)

また、2005 年には国産のカンタロープ、トマト、ルーズリーフレタス、グリーンオニオン、スピナッチ、チラントロ、バジル、パセリについて、表 4 に示した病原微生物について検査を、また輸入のカンタロープ、トマト、ルーズリーフレタス、グリーンオ

ニオン、スピナッチ、チラントロ、バジル、パセリ、snow peas（サヤエンドウをもっと厚くし、緑も濃いもの）について、表 5 に示した病原微生物について検査を行った（結果はまだとりまとめられていない）。

一方、FDA はリステリアモニタリングプログラムを有しており、当初米国産及び輸入のチーズ及び乳製品を当初対象にしていたが、後にその他の RTE（Ready to Eat）食品（サンドイッチ、調理済みサラダ及びスモーク魚）も対象とした。1987～1992 年 3 月まで、105 施設が製造した 516 の製品が回収された。2005 年 11 月に公表された Current FDA Activities Related to the *Listeria monocytogenes* Action Plan によると、2003 年 9 月 2 日～10 月 2 日にメキシコ国境でメキシコ人が個人輸入したチーズ 57 検体を検査したところ、32 検体（56%）が generic *E.Coli* 陽性、32 検体（56%）が黄色ブドウ球菌陽性、7 検体（12%）が *Salmonella* 属菌陽性、5 検体（8%）が *L.monocytogenes* 陽性であった。

また、農務省 Agriculture Market Service は、2002～6 年、カンタロープ、セロリ、リーフレタス、ロメインレタス、トマト（2004 年からはチラントロ、グリーンオニオンも、2005 年からはスプラウト）について *Salmonella*、病原性大腸菌の検査を行った。

2002 年、10,315 検体の *Salmonella* の検査を行い、陽性はリーフレタス 3 検体、一方大腸菌は 10,276 検体の検査を行い、病原性因子を有する陽性は 64 検体であった。2003 年、10,965 検体の *Salmonella* の検査を行い、陽性はリーフレタス、ロメインレタス及びトマト各 1 検体、一方大腸菌は

10,972 検体の検査を行い、病原性因子を有する陽性は 44 検体であった。2004 年、11,211 検体の *Salmonella* の検査を行い、陽性はカンタロープ 3 検体、チラントロ 3、グリーンオニオン 1 検体、レタス 3 検体、トマト 7 検体の合計 17 検体、一方大腸菌は 11,211 検体の検査を行い、病原性因子を有する陽性は 43 検体であった。

2005 年、11,512 検体の *Salmonella* の検査を行い、陽性はカンタロープ 1 検体、パセリ 4、トマト 1 検体の合計 6 検体、一方大腸菌は 11,508 検体の検査を行い、病原性因子を有する陽性は 48 検体であった。

2006 年、7,646 検体の *Salmonella* の検査を行い、陽性はカンタロープ 1 検体、グリーンオニオン 1、スプラウト各 1 検体の合計 3 検体、一方大腸菌は 7,646 検体の検査を行い、病原性因子を有する陽性は 29 検体であった。（表 6）

USDA/FSIS（農務省食品安全検査局）は全米での若鳥の Generic *E.coli* 及び *Salmonella* の汚染率及び汚染菌数のベースラインを調査するため、1999 年 11 月～2000 年 10 月に若鳥のとたいのリンス液 1,225 検体を検査したところ、Generic *E.coli* は陽性 1,167 検体で陽性率 95.3%、*Salmonella* 属菌は陽性 107 検体で陽性率 8.7%であった。（表 7）同様にガチョウのベースラインを調査するため、1997 年 9 月～同年 11 月にガチョウのとたいのスポンジ拭き取り 102 検体を検査したところ、Generic *E.coli* は陽性 99 検体で陽性率 96.5%、*Salmonella* 属菌は陽性 14 検体で陽性率 13.7%であった（表 8）。さらに若七面鳥のベースラインを調査するため、1997 年 7 月～1998 年 6 月に七面鳥のとたいの

スポンジ拭き取り 1,396 検体を検査したところ、Generic *E.coli* は陽性 1,294 検体で陽性率 92.7%、*Salmonella* 属菌は陽性 273 検体で陽性率 19.6%であった(表 9)。牛枝肉のベースラインを調査するため、1997 年 6 月～1998 年 5 月に牛枝肉のスポンジ拭き取り 1,881 検体を検査したところ、Generic *E.coli* は陽性 312 検体で陽性率 16.6%、*Salmonella* 属菌は陽性 23 検体で陽性率 1.2%であった(表 10)。1997 年 6 月～1998 年 5 月にブタ枝肉のスポンジ拭き取り 2,127 検体を検査したところ、Generic *E.coli* は陽性 937 検体で陽性率 44.1%、*Salmonella* 属菌は陽性 147 検体で陽性率 6.9%であった(表 11)。

1996 年 8 月～1997 年 7 月に行われた若七面鳥リンス液によるベースライン調査では、アメリカで処理されている七面鳥施設の 99%から採取した 1,221 検体について調査し、指標菌である 35°Cでの APC(Aerobic Plate Count) は 100,000CFU/ml 未満が 99.4%、total coliform が 1,000cfu/ml 未満が 95.6%、及び *E.coli* (BiotypeI) が 1,000cfu/ml 未満が 97.4%、*Salmonella* 陽性が 227 検体 (陽性率 18.6%)、*E.coli* O157:H7 は陽性数 0、*Campylobacter jejuni/coħ* は陽性数 1,102 検体 (陽性率 90.3%)、*Listeria monocytogenes* は陽性数 72 検体 (陽性率 5.9%)、黄色ブドウ球菌は陽性数 814 検体 (陽性率 66.7%)、ウエルシュ菌は陽性数 357 検体 (陽性率 29.2%) であった (表 12)。

1995 年 3～5 月及び 9～11 月に行われた生鶏ひき肉ベースライン調査では、アメリカで処理されている 30 施設から採取した 285 検体について調査し、35°Cでの APC

の平均は 35,621cfu/g、total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の平均がそれぞれ 717cfu/g 及び 286cfu/g であった。Total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の汚染率はそれぞれ 99.7%及び 99.3%であった。*Salmonella* 陽性率は 44.6%、*E.coli* O157:H7 は陽性数 0、*Campylobacter jejuni/coħ* は陽性率 59.8%、*Listeria monocytogenes* は陽性率 41.1%、黄色ブドウ球菌は陽性率 90.0%、ウエルシュ菌は陽性率 50.6%であった(表 13)。

1995 年 1～3 月及び 9～11 月に行われた生七面鳥ひき肉ベースライン調査では、アメリカで処理されている 40 施設から採取した 296 検体について調査し、35°Cでの APC の平均は 14,305cfu/g、total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の平均がそれぞれ 156cfu/g 及び 93cfu/g であった。Total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の汚染率はそれぞれ 95.5%及び 84.4%であった。*Salmonella* 陽性率は 49.9%、*E.coli* O157:H7 は陽性数 0、*Campylobacter jejuni/coħ* は陽性率 25.4%、*Listeria monocytogenes* は陽性率 30.5%、黄色ブドウ球菌は陽性率 57.3%、ウエルシュ菌は陽性率 28.1%であった (表 14)。

1995 年 4 月～1996 年 5 月に行われた市販豚肉枝肉ベースライン調査では、2,112 検体について調査し、35°Cでの APC (Aerobic Plate Count) の平均は 4,887cfu/cm²、total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の平均がそれぞれ 77cfu/cm² 及び 76cfu/cm² であった。total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の汚染率はそれぞれ 45.4%及び 31.0%であった。*Salmonella* 陽性数は 184 検体で陽性率は 8.7%、*E.coli*

O157:H7 は陽性数 0 , *Campylobacter jejuni/coħ* は陽性数 666 検体で陽性率 31.5%、*Listeria monocytogenes* は陽性数 157 検体で陽性率 7.4%、黄色ブドウ球菌は陽性数 337 検体で陽性率 16.0%、ウエルシュ菌は陽性数 220 検体で陽性率 10.4%であった(表 15)。

1994 年 7 月～1995 年 6 月に行われたブロイラーチキンベースライン調査では、連邦政府が検査をしているアメリカのブロイラーチキン施設の約 99%の施設から採取した 1,297 検体について調査し、35℃での APC の平均は 396cfu/cm²、total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の平均がそれぞれ 12cfu/cm² 及び 6.7cfu/cm² であった。Total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の汚染率はそれぞれ 99.9%及び 99.6%であった。*Salmonella* 陽性率は 20.0%、*E.coli* O157:H7 は陽性数 0 , *Campylobacter jejuni/coħ* は陽性率 88.2%、*Listeria monocytogenes* は陽性率 15.0%、黄色ブドウ球菌は陽性率 64.0%、ウエルシュ菌は陽性率 42.9%であった(表 16)。

1993 年 12 月～1994 年 11 月に行われた乳牛及び去勢雄牛ベースライン調査では、連邦政府が検査をしているアメリカのこれら動物のとさつ解体施設の約 99%の施設から採取した 2,112 検体について調査し、35℃での APC の平均は 1,130cfu/cm²、total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の平均がそれぞれ 40cfu/cm² 及び 33cfu/cm² であった。Total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の汚染率はそれぞれ 32.4%及び 15.8%であった。*Salmonella* 陽性率は 2.7%、*E.coli* O157:H7 は陽性数 0 , *Campylobacter jejuni/coħ* は陽性率 1.1%、

Listeria monocytogenes は陽性率 11.3%、黄色ブドウ球菌は陽性率 8.4%、ウエルシュ菌は陽性率 8.3%であった(表 17)。

1993 年 8 月～1994 年 3 月に行われた生の牛挽肉ベースライン調査では、661 施設から採取された 2,112 検体について調査し、35℃での APC の平均は 7,920cfu/g、total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の平均がそれぞれ 96cfu/g 及び 54cfu/g であった。total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の汚染率はそれぞれ 92.0%及び 78.6%であった。*Salmonella* 陽性率は 7.5%、*E.coli* O157:H7 は陽性数 0 , *Campylobacter jejuni/coħ* は陽性率 0.002%、*Listeria monocytogenes* は陽性率 11.7%、黄色ブドウ球菌は陽性率 30.0%、ウエルシュ菌は陽性率 53.3%であった(表 18)。

1992 年 10 月～1993 年 9 月に行われた Steers (虚勢牛) & Heifers (若雌牛) のベースライン調査では、2,089 検体について調査し、35℃での APC の平均は 474.7cfu/cm²、total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の平均がそれぞれ 35.3cfu/cm² 及び 35.3cfu/cm² であった。Total coliform 及び *E.coli* (BiotypeI) の汚染率はそれぞれ 16.3%及び 8.2%であった。*Salmonella* 陽性数は 20 検体で陽性率は 1.0%、*E.coli* O157:H7 は陽性数 4 で陽性率は 0.2%、*Campylobacter jejuni/coħ* は陽性数は 82 検体で陽性率は 4.0%、*Listeria monocytogenes* の陽性数は 86 検体で陽性率は 4.1%、黄色ブドウ球菌は陽性数 87 検体で陽性率は 4.2%、ウエルシュ菌は陽性数 54 検体で陽性率 2.6%であった(表 19)。

また FSIS は生の牛挽肉中の *Escherichia coli* O157:H7 の微生物検査プ

ログラムを 1994 年から実施しており、1994 年は 891 検体検査して陽性 0、1995 年は 5,407 検体検査して陽性 3 検体、1996 年は 5,703 検体検査して陽性 4 検体、1997 年は 6,065 検体検査して陽性 4 検体（この年 10 月から検体量が 25g から 325g に引き上げられた）、1998 年は 8,080 検体検査して陽性 14 検体、1999 年は 7,785 検体検査して陽性 32 検体（1999 年 9 月から検査の感度が上昇した）、2000 年は 6,375 検体検査して陽性 55 検体、2001 年は 7,010 検体検査して陽性 59 検体、2002 年は 7,025 検体検査して陽性 55 検体、2003 年は 6,584 検体検査して陽性 20 検体、2004 年は 8,010 検体検査して陽性 14 検体、2005 年は 10,976 検体検査して陽性 19 検体、2006 年は 11,779 検体検査して陽性 20 検体であった。2001-2007 年の陽性検体のデータでは輸入品は 2005 年のコスタリカ産 1 検体のみであった。

FSIS は RTE 食肉及びその製品（加熱済みソーセージ（含む フランクフルト及びポローニャ）、加熱済みローストビーフ、加熱済みにコーンビーフ、スライス済み缶詰ハム、スライス済み缶詰ランチオンミート、ジャーキー、加熱済み鶏肉、及び鶏肉及び食肉を含むサラダ並びにスプレッド等）の *Salmonella* 及び *L.monocytogenes* の regulatory 検査プログラムを 1983 年から実施している。完全に加熱したミートパテについては *E.coli* O157:H7 並びに乾燥及び半乾燥発酵ソーセージについては Staphylococcal enterotoxins, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, 及び *Salmonella* の検査を行っている。RTE 中の *L.monocytogenes* 陽性率を年別に表 21

に示した。

FSIS は各施設の HACCP の効果をモニターするため、*Salmonella* の行政検査を行っている。各年の食肉のカテゴリー別、施設のサイズ別の *Salmonella* 汚染率は図 1 に示した。ブロイラーの汚染率は 2002 年から 2005 年にかけて増加していた。また CDC のヒトの *Salmonella* 症のデータでも 96-98 年の人口 100,000 人当たり患者 16.8 人から 2004 年の同 14.7 人とあまり変化が見られないことから FSIS は鶏肉処理業者に対策の強化を促した。なお、1999 年のブタ肉及び 2006 年の鳥挽肉で規則が施行時のベースラインを超えていた。

また FDA (CVM)、USDA 及び CDC が共同で行っている National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) のなかで、小売りの鶏胸肉、七面鳥の挽肉、牛挽肉及びポークチョップの *Campylobacter*、*Salmonella*、*Enterococcus* 及び *E.coli* の検査を行っている。これは市販のこれら食肉中から分離されるこれら菌の耐性菌の性状を調べるためのものである。2002 年～2004 年の検査データを表 22 に示した。

C.2 ヨーロッパ

人獣共通感染症に関するモニタリング及び情報収集の Community システムは、Zoonoses Directive (2003/99/EC) に基づいており、欧州委員会加盟国に人獣共通感染症、その病原体、抗菌薬耐性及び食品由来アウトブレイクに関連する適切で比較可能なデータの収集を義務付けている。また、加盟各国は各管轄地域におけるこれらの病

原体とアウトブレイクの傾向及び感染源を評価し、毎年欧州委員会に収集データを含む報告書を提出する。欧州食品安全機関（EFSA：European Food Safety Authority）は収集データの検討及びCommunity Summary Reportの作成を担当する。

このDirectiveではMonitoringの定義は“a system of collecting, analysing and disseminating data on the occurrence of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance related thereto”と規定されている。

同Directive第4.1条には、“ハザードを特定し、特徴付けるために、加盟国は適切かつ比較できるデータを収集しなければならない。第4.2条にはモニタリングは対象の人獣共通感染症およびその病原体に関してフードチェーンのなかで最も適切なステージ（1か所または複数ヶ所）で行われなければならない”と規定されている。

同Directiveでは収集するデータとしては次の3つが規定されている：1）ヒト及び動物の人獣共通感染症、食品及び飼料中の人獣共通感染症の病原体、2）食品由来疾患のアウトブレイク、3）*Salmonella* 及び *Campylobacter* の分離菌の抗菌性物質耐性。また、強制的に集めなければならない8つの人獣共通感染症としては *brucellosis*、*campylobacteriosis*、*echinococcosis*、*listeriosis*、*salmonellosis*、*trichinellosis*、*Mycobacterium bovis* による結核、ベロ毒素産生大腸菌の8つが規定されている。そのほかに任意で報告されるものとして、エルシニア症、狂犬病、トキソプラズマ症、*Cysticerci*、*Sarcocystis*、

Q熱及びE.Coliの抗菌剤耐性情報がある。

しかしながら、2005年のECサマリーレポート（The Community Summary Report 2005, The EFSA Journal(2006), 94）には *Campylobacter* は21加盟国から、*Echinococcus* 22加盟国から、*Listeria* は23加盟国から、VTECは20加盟国から抗菌剤耐性については *Salmonella*（21加盟国）及び *Campylobacter*（14加盟国）、食品由来疾患のアウトブレイクは22加盟国から、そのほかにQ熱が2加盟国から、*Cysticercus/Sarcocystis* は1加盟国から報告があった。以下はECサマリーレポートの概要である。

食品中の *Salmonella*

鶏肉及び鶏肉製品

多くの加盟国が鶏肉中の *Salmonella* のモニタリング法を導入していた（表23）。デンマーク、フィンランド、アイルランド、スウェーデン及びノルウェーは、長年の間ブロイラー肉の *Salmonella* コントロールプログラムを行っている。このうち、スウェーデン、フィンランド及びノルウェーが報告した *Salmonella* 汚染率は、最近5年以上にわたり非常に低い（スウェーデン（食鳥処理場）：2001年4,243検体中陽性0、2002年4,466検体中陽性率0.1%、2003年4,209検体中陽性0、2004年3,730検体中陽性率0.1%、2005年3,506検体中陽性0、フィンランド（加工施設）：2001年637検体中陽性率0.2%、2002年946検体中陽性率0.2%、2003年1,034検体中陽性率0.1%、2004年777検体中陽性率0.1%、2005年772検体中陽性0及びノルウェー（食鳥処理場）：2001年7,135検体中陽性0、2002年6,959検体中陽性0、2003年