

厚生労働科学研究費補助金

新興再興感染症研究事業

食品由来の2類感染症のリスクアセスメントモデル
構築に関する研究

平成17-19年度 総合研究報告書

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20(2008)年3月

目 次

I. 総合研究報告書

- 食品由来の2類感染症のリスクアセスメントモデル構築に関する研究 ————— 1
主任研究者 山本茂貴

II. 分担研究報告書

1. 2類感染症の発生状況とリスクファクターに関する研究 ————— 19
分担研究者 岡部信彦
研究協力者 伊藤健一郎、多田有希、山下和予、松野重夫、太田正樹、飯田真里子
森屋一雄、中山 宏、長山澄彦、九州・山口地区19自治体感染症担当者
松崎充宏
2. 細菌性赤痢、コレラにおける食品—人感染、人—人感染の疫学調査 ————— 25
分担研究者 相楽裕子
研究協力者 山下和予、大西健児、角田隆文、今村顕史、滝沢慶彦、山陰敬、
深山牧子・濁川博子、寺野隆、小花光夫・小井戸則彦、水野芳樹、
清水恒広、阪上賀洋、春田恒和、藤井肇、青木知信、岡田薫
3. 食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上 ————— 29
分担研究者 牧野壮一
研究協力者 川本恵子、門田修子、武士甲一
4. 海外渡航者由来のコレラ菌分離株の疫学解析に関する研究 ————— 37
分担研究者 泉谷秀昌
研究協力者 荒川英二、森田昌知、三戸部治郎、西村聖美、竹内真人、岡村徳子
5. 食品からのコレラ検査法に関する研究 ————— 43
主任研究者 山本茂貴
研究協力者 五十君静信、朝倉 宏、石和玲子、荒川英二

平成17－19年度厚生労働科学研究費補助金・新興再興感染症研究事業
総合研究報告書

食品由来の2類感染症のリスクアセスメントモデル構築に関する研究

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

2類感染症の国内感染事例における原因食品を推定するため、2類感染症とその原因食品の情報を収集し、リスクファクターを解析した。

1. 旧2類感染症発生状況を発生動向調査システム及び厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の食中毒発生状況から収集した。平成19年の赤痢の国内発生数は163例で大半がソネ菌であった。そのうち集団事例が少なくとも4件あった。一つは学生実習に使用した菌によるものであった。

2. 赤痢を中心に、コレラ、腸チフス・パラチフスについて、国内事例発生の際に、改訂した標準化喫食調査票、行動調査票を活用し九州・山口県内自治体で、積極的疫学調査を行った。九州・山口県内の全19自治体の感染症担当者と2回の会議を開き、標準調査票による調査の方法を検討した。平成19年度の九州・山口地区での国内発生数は2件で、そのうち9月の調査開始後の1件について標準調査票による調査が行われた。また、国内発生例について簡易標準調査票で調査を行った。

3. 原因食品情報についてPubMedによる文献調査を行った。

医学情報検索エンジンPubMedで2類感染症特に赤痢と食品や環境の汚染状況について調査した。概要から食品やについて記述がありそうな論文を選び出した。これらをまとめて推定を含む原因食品について表を作成した。

昨年報告したように我が国で食品から原因菌として赤痢菌が検出されたのは、2000年から2001年にかけて、全国で150名以上の感染者を出した韓国産牡蠣による1例だけと食品から分離された事例は稀である。先進国の調査でも疫学的な解析によって原因食品を推定している報告が多い。今回の調査では発展途上国の2類感染症が蔓延している地域のstreet food（路地で販売している食品）が多く検索された。ガーナやエジプト、エジプト、メキシコの路地商が販売している多くのそのまま食べられる食品から菌が検出された。サラダとして生で食べるレタスや野菜などの他揚げ物やマカロニなど加熱した料理からも分離されている。また、インドでは家庭の離乳食を集めて調べたところ菌が検出された。素手で調理済みの食品を提供するなど衛生的に問題があるものが多い。冷凍庫の底にたまった水から大量のチフス菌などが分離されている。菌が大量に付着して、死滅または環境に耐える形態（VBNCや飢餓状態）に変わる前に検査しているために検出されるのであろう。タイ産のベビーコーン、米国の輸入トマト、韓国のトマトなどは菌

は分離されていないが、疫学的に原因食品と推定された。菌が分離された食品は、輸入鶏、インドの家庭の離乳食、路地商のココナッツスライス・サラダ・コリアンダーソース、メキシコのオレンジジュースとその材料のオレンジ、エジプトの Tamae (豆とパセリの揚げ物)、インドの家庭の離乳食、ガーナのレタスとトマトがある。

4. パイロット試験として食材の検査

平成19年度は19種類の市販生鮮野菜について合計56検体について行った。内訳は、キャベツ (検体数11、以下同様)、セロリ (2)、カイワレ大根 (1)、ニンジン (1)、きゅうり (3)、長ネギ (2)、もやし (10)、みょうが (1)、にら (4)、枝豆 (1)、アスパラガス (2)、さやえんどう (1)、トマト (1)、にんにく (1)、小松菜 (5)、ブロッコリー (1)、かぶ (1)、しめじ (1)、エノキ (7) の計56検体である。

Klebsiella-Enterobacter 群は、ニンジン、えだまめ及びさやえんどうを除く他の検体から検出された。*Citrobacter freundii* がニンジン及びえだまめから検出された。*Escherichia coli* がキャベツ、こまつな、アスパラガス及びさやえんどうから検出された。腸管出血性大腸菌 O157 は56検体すべて陰性であった。

5. 細菌性赤痢、コレラにおける食品一人感染、人一人感染の疫学調査

1) 患者背景

細菌性赤痢の患者数は358、うち国内例は44 (12.3%)、国内例の判明した血清型は *S.flexneri* 10, *S.sonnei* 29 であった。コレラの患者数は35、うち国内例は6 (17.1%)、すべて血清型 O1 でコレラ毒素産生性であり、生物型 Eltor Ogawa, Eltor Inaba 各3であった。

2) 年齢・性別

細菌性赤痢患者358例では20代が圧倒的に多く、その多くは国外由来例であった。国内例44 (12.3%) は全年齢層に分布し、20歳未満の41.9%、60歳以上の34.6%が国内例であった。コレラ患者は35例で、20代と50代以降 (8, 17例) に多く、国外由来例が多数を占めていた。国内例は若年層にはみられず、40代以上であった。患者総数では細菌性赤痢では女性が、コレラでは男性が多かったが、国内例でも同様の傾向であった。

3) 原因が推定された国内事例

国内例のうち、原因が推定された細菌性赤痢39例、コレラ6例についてまとめた。食品媒介性と推定された事例は細菌性赤痢12例、コレラ4例であった。赤痢菌の血清型は *S.sonnei* が圧倒的に多かった。コレラ菌は Eltor Ogawa, Eltor Inaba が各2であった。推定原因とされた飲食物は細菌性赤痢では海鮮丼、すし、刺し身、イクラ醤油漬等、コレラでは3例が路上生活者で食品・水媒介性と推定された。いずれも保健所の調査では原因は特定されなかった。その他、細菌性赤痢では学生寮やキャンプでの集団発生5例と家族内発生4例がみられた。集団事例は食品媒介性と推定された。

6. 食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上

食品からの赤痢菌検出法の標準化を図り、感度の向上を目指した。食品中の赤痢菌の検

出法については、2001年に西日本で韓国産輸入カキが原因で細菌性赤痢が発生したとき、厚生労働省により参考試験法が示された。初年度においては、この参考法に変更を加え、検出感度に優れかつ迅速に結果が得られる試験法を考案し、1 個以上の赤痢菌が試料中に存在すれば、24 時間以内に検出を可能とするシステムを構築した。今年度においては、海外産のカキについて本試験法の有用性を国内産を含めて確認したが、すべて陰性であった。しかし、赤痢菌のヒトに対する発症菌数は著しく低いという観点から、本菌が食品中で VBNC のように培養不可能な状態になる可能性について検討し、赤痢菌もある条件下で VBNC に移行することが確認された。

7. 食品からのコレラ菌検出法の改良

通知検査法の中にある PCR スクリーニング法で擬陽性反応が報告されたことを受け、同法における内部標準に関する検討を行い、より精度の高い反応系を確立した。また、コレラ菌の食品からの培養に際する至適条件に関する知見を得た。加えて、魚介類からのコレラ菌検出を目的とした Multiplex リアルタイム PCR 法を構築し、少数の汚染菌数を定量的に把握できる検出系として、その有用性を示した。

8. 海外渡航者由来の赤痢菌分離株の疫学解析に関する研究

本研究では主として海外渡航者由来の赤痢菌分離株に着目しこれらの特徴づけを行うべく、国際的な統一手法となりつつあるパルスネット プロトコールによる赤痢菌のパルスフィールドゲル電気泳動法による解析を行った。その結果、赤痢菌、特に *S. sonnei* 株について南アジアなどといった非常に大きな枠ではあるものの、明確なクラスターが形成されることが明らかとなった。今後、これらの情報を活かしながら疫学調査を進めることで、原因究明の一助になることが期待される。

分担研究者

岡部信彦 国立感染症研究所
泉谷秀昌 国立感染症研究所
相楽裕子 市立横浜病院
牧野壮一 帯広畜産大学

A. 研究目的

我が国では、細菌性2類感染症のうち、赤痢及びコレラは常在していないと考えられる。また、腸チフス・パラチフスにおいても長期保菌者は少なくなり、感染地はほとんどが海外となってきた。そのため、国内で感染したと思われる事例は輸入食品が原因と推定されるが、特定するのは困難

である。原因食品が残存しないため検査できないことや、食品中の原因菌量が少ないため検出が困難なこと、さらに、事例数が少ないため各自治体の行っている喫食調査では疫学的に推計が困難であることなどが原因として挙げられる。そこで、2類感染症とその原因食品の情報を収集し、発生状況と患者・無症状病原体保有者等の行動・喫食調査を組みあわせリスクファクターを解析するための方法を検討する。

B. 研究方法

1. 疫学調査

2 類感染症発生状況を感染症発生動向調

査システムに2007年1月から2008年3月までの報告についてまとめた。また、病原微生物検出情報月報と厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の食中毒発生状況を検索した。

2. 積極的疫学調査

(1) 九州・山口地区での積極的疫学調査
昨年に引き続き、赤痢を中心にコレラ、腸チフス・パラチフスの国内事例について九州・山口県の19自治体で積極的疫学調査を行った。標準喫食調査票等の見直しを行った。(2) 国内発生例の積極的疫学調査

発生動向調査システムで国内発生と確認された事例について、簡易標準調査票による調査を依頼した。また、分離菌株を感染症研究所細菌第一部に送付するように依頼した。フレキシネル赤痢菌の血清型および細菌第一部で調べた PFGE 型とともに週別の発生状況を解析した。

3. 2類感染症情報

検索エンジンのPubMed(アメリカ国立医学図書館の医療文献データベース)でShigella、cholera、enteric fever、typhi、paratyphi A と food 等をキーワードに論文を検索した。

4. 食品検査

昨年に続きパイロット試験として食材を検査した。検査項目としては、一般生菌数、大腸菌群、腸管出血性大腸菌 O157、黄色ブドウ球菌(コアグラゼ陽性)・サルモネラ属菌・カンピロバクター・クロストリジウム属菌を対象として、食品検査指針に従って行った。

5. 細菌性赤痢、コレラにおける食品一人感染、人一人感染の疫学調査

2000年1月から2006年12月までの7年

間に感染性腸炎研究会に属する東京都及び13政令指定都市の感染症指定医療機関に入院または通院した細菌性赤痢とコレラの国内事例について発生状況を調査した。

6. 食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上

1) 使用菌株および培地

当研究室の保管株である *Shigella flexneri* YSH6000 を Trypticase-Soy Broth (TSB、Becton Dickinson) にて一晚培養し、滅菌生理食塩水で希釈して使用した。分離用の固形培地については Trypticase-Soy Agar (TSA) を使用した。

2) VBNC への誘導実験と蘇生因子のクローニング

保存株を TSB にて一晚培養後、遠心し、洗浄して得られたペレットを滅菌済みの3%、7%、13% NaCl 溶液に各々懸濁し、37℃にて静置培養した。培養後、各菌液を TSA にプレーティングして培養能を試みる一方、BaLight 染色を行ってその生存率を観察した。また、*Salmonella* の *rpf* 遺伝子の配列を基に赤痢菌のゲノムデータベースを利用して PCR 法により *rpf* 遺伝子をクローニングした。上記でクローニングした配列から組換えタンパクを作成、精製した。さらに、濃度別(0.001~10 μg/ml)の rRpf を含んだ培地(5%BHI ブロス)に VBNC 状態の赤痢菌を接種後、7日間培養しコロニー形成の有無を確認する事により赤痢菌由来の組換え Rpf タンパクによる VBNC 状態からの蘇生が成立するか観察した。

3) 培養上清の増殖促進能試験

赤痢菌を通常の培養後、滅菌生理食塩水で洗浄後、赤痢菌の培養上清(ろ過滅菌済み)を適当に TSB 培地により希釈し、適当

な菌数を接種し、37℃で24時間まで培養し濁度を測定することにより増殖を調べた。

7. 食品からのコレラ菌検出法の改良

コレラ菌の通知検査法の中にあるPCRスクリーニング法で擬陽性反応が報告されたことを受け、本年度は同法における内部標準に関する検討を行い、より精度の高い反応系について検討した。また、コレラ菌の食品からの培養に際する至適条件について検討した。6. 海外渡航者由来のコレラ菌分離株に着目しこれらの特徴づけを行うべく、パルスネット プロトコールによるコレラ菌のパルスフィールドゲル電気泳動法による解析を行った。

8. 海外渡航者由来の赤痢菌分離株の疫学解析に関する研究

成田空港検疫所で分離された海外渡航者由来株および2007年の国内例分離株を供試菌株とした。

型別の方法として、昨年、国際的共同研究で提唱されたパルスネット プロトコールに基づいたパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)を使用した。泳動像の解析には同じくパルスネットで利用されているBionumerics(もしくはFingerprinting II)ソフトウェアを使用して、コンピューターに取り込んだ泳動像の解析を行った。

C. 研究結果

1. 2類感染症の発生状況

(1) 感染症発生動向調査

わが国で2007年に報告された腸チフス患者は47名(推定国内感染7名)、パラチフス患者22名(同4名)、コレラ患者13名(同4名)、赤痢患者は1桁多く454名(同

163名)であった(推定感染地が不明の腸チフス患者1名、赤痢患者11名を含む、表1-表3)。この3年間の比較ではコレラが減少しているのが目立つ。21世紀に入ってから最も少ない件数だが、2001年から2003年にかけて35~15件と少ない年もあり減少傾向にあるということではない。他の3疾患は海外及び国内事例とも昨年までとほぼ同様な傾向であった。原因食品が明らかになった事例はなかった。また、2008年1月~3月11日までの報告数は、腸チフス7名、パラチフス6名、コレラ2名及び赤痢60名(推定国内感染19名)で、赤痢以外はすべて海外事例であった。

なお、感染症法改正により本疾患は2類感染症から3類感染症に変更になり、それに伴う擬似症例はなくなった。また、感染症サーベイランスシステムは2006年4月から新システムに移行したため、旧システムの2006年1月~3月はまとめて別欄に載せた。

(2) 腸チフス・パラチフス

2007年1月から2008年3月の間に報告された腸チフス国内発生例は7例で、男性が2例と女性が5例と女性が多く2006年とは逆になった。年齢は3歳から86歳まで分布したが60歳以上が4人と大半を占めた。86歳の男性は無症状病原体保持者であった。発症月に偏りはみられなかった。家族内感染例はなかった。感染源は特定できなかった。

パラチフスは4例で、男性が1例と女性が3例であった。年齢は56歳から85歳に分布した。すべて患者で無症状病原体保持者はいなかった。散发例で家族内感染例

はなく、感染源は特定されなかった。

(3) 赤痢

2007年1月から2008年3月の間に報告された赤痢国内発生例は、182例（発生数の3分の1）で、男性105例と女性77例と男性が多かった。表7に赤痢国内発生例一覧を示した（3月6日現在）。集団事例は、2件の保育園、障害者施設、学生実習と4件あり、このうち埼玉の施設の事例では、4月の初発患者発見から8月に最後の患者と10月に最後の無症状病原体保有者を経てと解決するまで長期にわたった。保育所と学生実習の集団事例は7月に発生しているが、一方、散発例は1年を通じて発生していた。年齢は2歳から88歳まで分布した。24例が無症状病原体保有者だが、これは集団事例に由来するものがほとんどで、散発事例では4名であった。いずれも、患者家族の検査によって見つけられたケースである。感染源特定はなかったが、備考欄には、白子、カキ、輸入牛肉、家庭で作った弁当、カレーの煮付け・カレーライス・トンカツ、刺身、寿司店での食事、角切りステーキ、井戸水、生ホタテなどが記載されている。

菌種別では全体、国内例、海外事例ともソネ菌が7割～8割を、フレキシネル菌が2割弱を占めていて例年と同様であった。食中毒事例では、赤痢は毎年1から3件が食中毒事件として届けられていたが、最新の2006年では1件となっている。

備考欄の記述から、家族や友人との接触による2次感染は10件あった。2001年18件、2002年31件、2003年12件、2004年14件、2005年10件、2006年8件と推移しているが、本年度も相

変わらず多く注意が必要である。年齢分布は、海外例では20代にピークがあり、一方国内例では全年齢層になだらかに分布していた。これも例年と同じ傾向である。

(4) コレラ

2007年1月から2008年3月の間に報告されたコレラ国内事例は4例で、男性3例と女性1例であった。年齢は35歳、56歳、65歳とコレラ患者が高年齢者に多い傾向は変わらなかった。発症月は夏場に3件と1月に1件であった。2次感染を疑わせる事例はなかった。いずれも感染源は特定できなかった。

2. 積極的疫学調査

(1) 九州・山口地区

赤痢を中心にコレラ、腸チフス・パラチフスの国内事例について九州・山口県の19自治体で積極的疫学調査を行った。標準喫食調査票について項目が多くて記載しにくいとの指摘があり改善した。主な改善点は特定食品質問票の「食べたかもしれない」及び「加熱」欄の削除とその他食品に「調理パン・サンドイッチ」を追加したことである。さらに、食品担当者は原因食品の調査に経験が深いことなどから行動・喫食調査では共同で調査に当たるのが望ましいので、原因調査実施要領に付け加えた。

埼玉県で行った「0157等感染症発生原因調査事業」で使用した喫食・行動調査票を参考にして作成した。9月から調査を開始した。

九州・山口地区の赤痢国内事例は調査開始から1件で標準調査票による調査が行われた。腸チフスは1件あったが、発生動向調査票の備考欄にインドネシアでカットフルーツを食べている由記載があり、海外事

例と判断し標準調査票による調査は行わなかった。

昨年度の調査と併せ4件の調査票が回収された。それぞれの事例は県（熊本2件、福岡、長崎）や時期（2006年7月、8月、12月と2008年2月）が異なっているので、行動関係は割愛した。なお、熊本の2件については、患者KMはステロイド剤服用と腎不全、患者KWは胃切除と病歴を有していた。患者FとNについては同様の記載はなかった。福岡の事例は家族内感染と思われた。n数が少なく解析はできなかったが、共通した食材はほとんどなく、わずかにニンジンだけであった。同県で、ほぼ同時期に起きた熊本の事例では刺身・エビ・ニンジン・他の卵料理・他の牛肉料理が一致した。

同地区の国内赤痢事例は例年10件くらい報告されてきた。調査期間中の発生数は予想をかなり下回ることが事前にわかり、緊急にアンケートをとった。6自治体計32保険所から回答があった。旧2類感染症発生の場合は多くの保健所で感染症担当が対面で調査を行っている。調査時間は1時間が最も多かった。腸管出血性大腸菌が発生した場合も、各保健所の対応はほとんど同様であった。集団でも、ほとんど同様であった。シチュエーションがはっきりしていないため回答に困難があったように感じられる。対応が異なると答えた保健所の主な変更点は、感染症担当から感染症担当と食品担当の共同、施設の調査や説明が入る、そのためあって調査時間が長くなる。

調査票等の改善点について、①被調査者の負担を考えシンプルにするか優先順位をつける、②わかりにくい点があり、変更す

るか記入要領を添付などが挙げられた。これらを参考にして調査票を見直すこととした。

（2）全国

感染症発生動向調査システムに報告が載った国内事例を疑わせる事例について、電話により担当者に簡略化した標準調査票により調査を依頼した。当然のことながら、あらかじめ各自治体の担当者に説明会を開いた九州・山口地区よりも食品に関する情報は少なかった。後述のソネ赤痢菌のPFGE型やフレキシネル赤痢菌の血清型が同じものについて、さらに詳細に検討したが共通の行動や食材は抽出できなかった。

（3）赤痢散発事例の報告週と血清型・PFGE型の解析

赤痢の国内散発事例について、発生報告があった自治体に、感染症研究所細菌第一部への菌株送付と簡易型の発生原因調査票を依頼した。回答のあった菌株情報（菌種、フレキシネル菌の血清型）と細菌第一部で行ったソネ菌のPFGE型について、週ごとの発生状況についてグラフを作成した。

海外渡航例及び国内発生例ともに1年を通じて発生している。海外事例が増えると国内発生例が増えるなどの相関は見られなかった。国内発生例で夏場にピーク用のもが見えるのは、前述のように4件の集団発生が重なったためである。

さらに、フレキシネル赤痢菌は型抗原で6種類、さらに群抗原で細分される。これにより細かく分類できる。わが国では菌株が地方衛生研究所に送られれば型別され報告が発生動向調査に反映される。菌株送付が少なくなっているため貴重な情報が得られていないことになる。週別発生状況に血

清型情報を入れると、同時期に異なる地域で同じ血清型のフレキシネル赤痢菌による患者が出ているのが見える。n 数が少ないため偶然か汚染された食品が全国に流通したかは結論できない。

ソンネ赤痢菌はフレキシネル赤痢菌と異なり血清型が1種類しかないため、血清型は疫学マーカーに使用できない。そこで、コリシン型別など他の方法が開発されている。現在では分子疫学的手法の一つであるパルスフィールド (PFGE) 電気泳動法がよく使われている。ソンネ菌の PFGE 型は大きく分けて、東南アジア大・東南アジア小・南アジア・南米・国内型に分けられている(詳細は感染研細菌第一部の報告書を参照されたい)。2007 年の国内例では南米型を除く PFGE 型が出た。埼玉の障害者施設の集団事例は南アジア型で、静岡県の集団事例は国内型であった。この情報を同様に組み込んで週別の発生状況を解析した。やはり、n 数が少ないため、偶然か汚染された食品が全国に流通したかは結論できない。なお、埼玉県が多いように見えるのは菌株の送付数が多いこともある。

3. 原因食品情報

医学情報検索エンジン PubMed で2類感染症特に赤痢と食品や環境の汚染状況について調査した。概要から食品やについて記述がありそうな論文を選び出した。これらをまとめて推定を含む原因食品について表を作成した。

昨年報告したように我が国で食品から原因菌として赤痢菌が検出されたのは、2000 年から 2001 年にかけて、全国で 150 名以上の感染者を出した韓国産牡蠣による 1 例だけと食品から分離された事例は稀である。

先進国の調査でも疫学的な解析によって原因食品を推定している報告が多い。今回の調査では発展途上国の2類感染症が蔓延している地域の street food (路地で販売している食品) が多く検索された。ガーナやエジプト、エジプト、メキシコの路地商が販売している多くのそのまま食べられる食品から菌が検出された。サラダとして生で食べるレタスや野菜などの他揚げ物やマカロニなど加熱した料理からも分離されている。また、インドでは家庭の離乳食を集めて調べたところ菌が検出された。素手で調理済みの食品を提供するなど衛生的に問題があるものが多い。冷凍庫の底にたまった水から大量のチフス菌などが分離されている。菌が大量に付着して、死滅または環境に耐える形態 (VBNC や飢餓状態) に変わる前に検査しているために検出されるのであろう。タイ産のベビーコーン、米国の輸入トマト、韓国のトマトなどは菌は分離されていないが、疫学的に原因食品と推定された。菌が分離された食品は、輸入鶏、インドの家庭の離乳食、路地商のココナッツスライス・サラダ・コリアンダーソース、メキシコのオレンジジュースとその材料のオレンジ、エジプトの Tamae (豆とパセリの揚げ物)、インドの家庭の離乳食、ガーナのレタスとトマトがある。

4. 食品の検査

平成19年度は19種類の市販生鮮野菜について合計56検体について行った。内訳は、キャベツ(検体数11、以下同様)、セロリ(2)、カイワレ大根(1)、ニンジン(1)、きゅうり(3)、長ネギ(2)、もやし(10)、みょうが(1)、にら(4)、枝豆(1)、アスパラガス(2)、さやえんどう(1)、トマト

(1)、にんにく (1)、小松菜 (5)、ブロッコリー (1)、かぶ (1)、しめじ (1)、エノキ (7) の計 56 検体である。

Klebsiella-Enterobacter 群は、ニンジン、えだまめ及びさやえんどうを除く他の検体から検出された。*Citrobacter freundii* がニンジン及びえだまめから検出された。*Escherichia coli* がきゃべつ、こまつな、アスパラガス及びさやえんどうから検出された。腸管出血性大腸菌 0157 は 56 検体すべて陰性であった。

5. 細菌性赤痢, コレラにおける食品—人感染, 人—人感染の疫学調査

(1) 患者背景

細菌性赤痢の患者数は 358, うち国内例は 44 (12.3%), 国内例の判明した血清型は *S.flexneri* 10, *S.sonnei* 29 であった。コレラの患者数は 35, うち国内例は 6 (17.1%), すべて血清型 O1 でコレラ毒素産生性であり, 生物型 Eltor Ogawa, Eltor Inaba 各 3 であった。

(2) 年齢・性別

細菌性赤痢患者 358 例では 20 代が圧倒的に多く, その多くは国外由来例であった。国内例 44 (12.3%) は全年齢層に分布し, 20 歳未満の 41.9%, 60 歳以上の 34.6% が国内例であった。コレラ患者は 35 例で, 20 代と 50 代以降 (8, 17 例) に多く, 国外由来例が多数を占めていた。国内例は若年層にはみられず, 40 代以上であった。患者総数では細菌性赤痢では女性が, コレラでは男性が多かったが, 国内例でも同様の傾向であった。

(3) 原因が推定された国内事例

国内例のうち, 原因が推定された細菌性赤痢 39 例, コレラ 6 例についてまとめた。

食品媒介性と推定された事例は細菌性赤痢 12 例, コレラ 4 例であった。赤痢菌の血清型は *S.sonnei* が圧倒的に多かった。コレラ菌は Eltor Ogawa, Eltor Inaba が各 2 であった。推定原因とされた飲食物は細菌性赤痢では海鮮丼, すし, 刺し身, イクラ醤油漬等, コレラでは 3 例が路上生活者で食品・水媒介性と推定された。いずれも保健所の調査では原因は特定されなかった。その他, 細菌性赤痢では学生寮やキャンプでの集団発生 5 例と家族内発生 4 例がみられた。集団事例は食品媒介性と推定された。

6. 食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上

(1) 新規検出法による赤痢菌検出

新規検出法により, 10^8 倍希釈した菌液を接種したサンプルで PCR 後の電気泳動から, *invG*, *ipaH*, 16S rDNA 3 つのプライマーが検出された。即ち, 理論上 1 個以下の菌数が存在していれば, 検出が可能であると考えられる。又, 冷凍カキから *Shigella sonnei* を検出した例を参考に, 二段階培養法を生カキと冷凍カキで実施したところ, 二段階培養法は冷凍カキに使用したほうが検出感度は良好であった。

国内で赤痢菌の検出は困難であると考え、タイ国バンコク市内で市販されているエビ 45 検体およびカキ 40 検体の合計 85 検体を用い、新規に考案した方法にしたがって検査を行った。その結果、培養法においては赤痢菌陽集落は検出できなかった。そこで、PCR による検出を試みたが、全て陰性であった。

(2) 一般細菌数

本研究に使用したカキの一般細菌数は 2.0×10^3 /g であり、大腸菌数は 1.5×10^3 /g

であった。無菌のヤングコーンに大腸菌を接種し検出感度を調査した例では、 1.2×10^5 CFU/g 接種サンプルから PCR 法にてバンドが検出されているが、カキは消化管に細菌叢があるとされ、無菌状態とは考え辛い。又、食材中の高いタンパク質濃度などにより検出感度が低いと考えられており、食材からの DNA 抽出に検討が求められていたが、新規検出法でジルコニアビーズ破碎法キットを使用した事により問題解決に至ったと思われる。よって、本検出法はこの一般細菌や大腸菌存在下においても殆ど検出に影響を受けず、高感度であると考えられる。

(3) 赤痢菌の VBNC への移行について

赤痢菌を 3%、7%、13% NaCl 溶液に浮遊し、37℃で静置培養を行った結果、7%および 13% NaCl 溶液中では 5 日後に TSA 上での集落形成が確認できなかった(図 2)。一方、3%溶液中では 6 日後に集落が確認できなかった。また、顕微鏡にて観察すると、6 日後において約 40~50%の生存率であり、赤痢菌も VBNC に移行することが示された。

(4) 蘇生因子について

Salmonella の *rpf* 遺伝子の配列を基に赤痢菌のゲノムデータベースを利用して PCR 法により *rpf* 遺伝子をクローニングした。PCR の結果得られた PCR 断片の TA クローニングにより塩基配列を決定し(図 3)、更に PCR 断片を GST 融合タンパク発現用ベクター pGEX-6P-1 にクローニングし、大腸菌 BL21 をトランスフォーメーションした。IPTG 1 mM 添加後 8 時間で発現誘導し、GST カラムとタグ切断酵素による精製後、SDS-PAGE を行った結果アミノ酸配列から推定される 25KDa 付近にバンドが見られた事

から、赤痢菌の組換えタンパクの作成と精製に成功したと考えられた(図 4)。rRpf による VBNC からの蘇生は、培養期間中のサンプルからコロニー形成が見られず、今回の条件では蘇生を誘導できなかった。

(5) 増殖因子の存在について

赤痢菌の培養上清を赤痢菌に加え培養すると、12 時間後には増殖促進効果のあることが明らかになった(図 5)。この効果は培養上清の濃度に依存していた。接種した赤痢菌の菌数は 1 ml あたり 2.6 個であり、菌数が高くなるが、その原因は明らかにならなかった

7. 食品からのコレラ菌の検出法の改良

(1) 内部標準の検討

前年度に報告したとおり、通知法における PCR スクリーニング検査段階で、擬陽性反応が報告され、内部標準が原因として推察されたことから、本年度はその見直しを行った。擬陽性の一因と目された、内部標準検出用にコントロール DNA 及びプライマーの併用に着目し、*ctxA* プライマー配列を両端に保有する 16sDNA 断片のみを、反応液に添加することで改善を図った。

同内部標準遺伝子は *ctxA* プライマーを用いた現行反応系において、*ctxA* 遺伝子と共に増幅された。その至適濃度について検討した結果、1 反応 (50 μ l) あたり 781pg 以上の添加により、*ctxA* 遺伝子の増幅は干渉されたが、1 反応あたり 50pg の添加

(1pg/ μ l) により、*ctxA* 遺伝子は無添加コントロール群と同等の検出感度を示した。

次に、検出感度・精度を確認するため、冷凍エビサンプル中にコレラ菌を添加し、加熱変性 DNA 抽出溶液を用いて PCR を行ったが、*ctxA* 遺伝子の検出感度は、無添加対

照群と同等であった（データ未載）。また、前年度、擬陽性の原因菌として報告した *Aeromonas* 属菌（62-11291 株）を添加し、同様の試験を試みたが、擬陽性反応は認められなかった。以上の結果より、本内部標準の優位性が確認され、これを PCR 反応系へ取り入れることで、より精度の高いスクリーニング検査を担保できることが実証された。

（２）アルカリペプトン水における至適 pH の設定

先述の通り、コレラ菌の検出頻度は極めて低いと想定されたため、増菌培養において、より高い増殖効率を示しうる至適 pH の設定を試みた。まず、*Vibrio cholerae* 01 および 0139 各 3 株を用いて、pH8.6 および pH9.2 のアルカリペプトン水中での増殖性を比較した。血清型 01 の 3 菌株は、何れも両 pH で同等の増殖性を示したが、pH9.2 における 0139 菌株の増殖は、pH8.6 のそれに比べ明らかに低下していた。

更に、市販冷凍エビを用いて、当該菌の添加回収試験を行ったところ、血清型 01 および血清型 0139 は上述の結果と同様に、pH8.6 の APW でより高い増殖性を示した。

（３）市販冷凍エビからの TCBS 発育菌の分離と、夾雑菌によるコレラ菌増殖への影響

市販冷凍エビについて通知法に従って、懸濁溶液を調整し、APW で 20 時間培養後、TCBS 寒天培地に接種し、発育したコロニーのうち、優勢な代表 10 コロニーを釣菌し、生化学性状に基づいて、同定した。

病原性を示す *Vibrio* 属である *V. parahaemolyticus*、*V. vulnificus* については、コレラ菌の増殖に大きな影響を及ぼさなかったが、エビより分離された *V. fluviae*

Iis は P6973 株の APW 中での増殖を顕著に抑制した。本菌は pH9.2 の APW でも同様に干渉作用を示した（データ未載）ことから、pH 調整のみによる夾雑菌の増殖抑制は困難と考えられた。

（４）食品からのコレラ菌検出に伴う PCR 検出限界

上述のように、食品からのコレラ菌検出に際して、本菌の増殖を左右する複数の因子が想定された。実際に食品への接種試験によりコレラ菌の検出限界を検討したところ、 10^1 CFU 以上の接種菌数では血清型に関わらず、PCR スクリーニングは陽性となったものの、1-10CFU 接種食品については非常に弱い PCR 反応を示すに留まった。このことは、本培養法を用いてコレラ菌を検出するためには、少なくとも 10^1 個以上の汚染菌数が必要であることを示している。

（５）リアルタイム PCR 検出系

コレラ菌は、しばしば生きているが培養できない、いわゆる VNC 状態に陥ることが知られており、その定量的検出は食品におけるコレラ汚染の危険性を図る上では、重要な課題といえる。加えて、先述のとおり、培養によってコレラ菌はしばしば競合的増殖抑制を受けること、そして通知法における培養では少なくとも 10^1 個以上の汚染菌数が必要であるという結果を受けて、食品汚染の定量化には直接的検出が必要となると考えられた。そこで、我々はより感度の高いリアルタイム PCR 法を用いて、その定量化への道を探った。

1) 対象遺伝子の設定

血清型 01 および 0139 以外の血清型の *V. cholerae* 計 9 株 (9 血清型) については、*ompW* 遺伝子が陽性となったが、*ret* 遺伝子

については全て陰性を示した。また、*ret* 遺伝子の多様性についても懸念されたため、代表株について当該遺伝子の塩基配列も決定したが、01 および 0139 菌株間の相同性は 99.9%以上であり（データ未載）、血清型 01 および 0139 の特異的検出に適した遺伝子候補と考えられた。

2) 各遺伝子のコレラ菌検出感度

各ターゲット遺伝子における定量性を確認するため、 10^0 – 10^5 CFU のコレラ菌懸濁液 1ml より全 DNA を抽出し、リアルタイム PCR 反応に供した。各遺伝子は血清型 01 および 0139 に対して、ほぼ同等に定量的な検出結果を示した（データ未載）。

3) Multiplex real time PCR による検出感度および定量性

検出に際する感度・精度の両面から、Multiplex での評価を行った。最終的に何れのターゲット遺伝子もプライマー 250 μ M、プローブ 175 μ M で特異的な増幅が認められ、それぞれの検出感度にも定量性が認められた。

4) 冷凍エビへの添加回収試験における DNA 抽出法の比較

冷凍エビ 25g に 10^0 , 10^1 , 10^2 CFU/g の *V. cholerae* 01 株を接種後、APW (pH 8.6, 1% NaCl) 225ml を添加し、十分にストマッカーにより混合させた後、2.0ml を DNA 抽出に供した。同時に、2.0ml を加熱変性させた。これらを鋳型としてリアルタイム PCR を行ったところ、 10^0 接種群においても、濃縮 DNA 抽出法により、各遺伝子は検出された。

8. 海外渡航者由来の赤痢菌分離株の疫学解析に関する研究

1. コレラ菌

感染研細菌第一部保存株 (1992 年–1997 年) 30 株、および成田空港検疫所保存株 (1999 年–2006 年) 18 株について、パルスネット プロトコールによる PFGE を行った。DNA 消化に使用した制限酵素は *NotI* であった。サイズマーカーとして *Salmonella* Braenderup H9812 株の DNA を *XbaI* 消化したものを使用した。泳動像はスキャナーを用いてコンピューターに取り込み、Bionumerics ソフトウェアによるクラスター解析を行った。比較のため、異なる 5 種類の血清型からなる NAG ビブリオ (*non*-01, *non*-0139 *V. cholerae*) 分離株 15 株についても同様に処理を行い、クラスター解析に供した。その結果を図 1 に示す。*V. cholerae* 01 株は 1 株を除き、NAG ビブリオ株とは異なるクラスターを形成し、また、NAG ビブリオはそれぞれの血清型でクラスターを形成した。各クラスター間を分ける類似度の閾値は約 75% であった。

V. cholerae 01 株に関しては、ほとんど全てが 80% 以上の類似度を示した一方で、類似度 100% を示したのは 4 組 (8 株) のみであった。このうち 3 組はそれぞれ 1992 年南米、1997 年フィリピン、2005-6 年フィリピンで分離されたもので、年代および/もしくは地域によって異なるクラスターに分類された (図 2)。こうした結果から、PFGE による解析が今後のコレラ患者の疫学解析において有用であることが示唆された。

2. 赤痢菌

成田空港検疫所保存株 (2003 年–2005 年) 約 200 株 (渡航者由来株) および国内分離株約 50 株について、パルスネット プ

ロトコールによる PFGE を行った。DNA 消化に使用した制限酵素は *Xba*I であった。

コレラ菌と同様にして Bionumerics ソフトウェアによるクラスター解析を行った。供試菌株の 8 割以上は *S. sonnei* であった。残りの 8 割が *S. flexneri* で、および *S. boydii* が残りを占めた。渡航者由来株のクラスター解析の結果、ほぼ菌種ごとにクラスターが形成された。*S. sonnei* では比較的大きなクラスターが 2 つ、小さなクラスターが 2 つ形成された。これらは推定感染地域とある程度の相関が見られ、南アジア地域は大きいクラスターの一つ (1) に、東南アジア地域はもうひとつの大きいクラスターおよび小さいクラスターの一つ (2) に、中南米地域が別の小さいクラスター (3) に分布していた (図 3)。

国内例の疫学調査から、何例かについては海外渡航者との接触が疑われるものがあり、それらの株の PFGE クラスター解析の結果は、疫学調査のそれと一致するものもあった (図 4)。例えば、フィリピンに渡航していた人との接触があった患者からの分離株は、他のフィリピン渡航者由来株の近傍に位置づけられた。

2007 年国内例の中には渡航歴があるものも含まれており、それらの分離株の PFGE パターンは、これまでの渡航歴由来株のクラスターの中で同じ地域に関連したものに位置づけられた。

2007 年 8 月および 9 月にタイ産 Babycorn によると思われる *S. sonnei* 集団事例がデンマークおよびオーストラリアで発生した。本集団事例関連株の PFGE パターンを本研究でのクラスター解析に組み入れると、やはり、東南アジアのクラスター

に位置づけられた。その近傍にはインドネシアと抗歴のある国内分離株および渡航歴のない国内分離株もあったが、PFGE パターンには若干の違いが見られた。結果的には当該 Babycorn による国内事例は確認されなかった (2008 年 1 月現在)。

2007 年 7 月に S1 県で発生した集団事例は、上記渡航歴由来株で観察された海外地域クラスターのいずれにも属さないものであることがわかり、本事例が非常にユニークな株によって発生したことが示唆された。

一方、S2 県で発生した集団事例は南アジア地域のクラスター内に位置づけられた。本事例の株の PFGE パターンにはバリエーションがありそのため、クラスター内に散在する形となった。しかしながら、他の国内例のほとんどが東南アジアクラスターに含まれることを考えると、本集団事例関連株が特異であることが示唆された。

D. 考 察

2 類感染症の疫学調査

細菌性赤痢、コレラともに国外由来例が圧倒的に多く、国内例は 15% 前後であった。細菌性赤痢の場合には家庭内の二次感染があるため、国内例のどこまでが食品・水媒介性なのか分からないが、コレラの場合は二次感染がほとんどないため、国内例はほぼ飲食物由来と推定される。今回原因が推測された事例では細菌性赤痢もコレラも生鮮魚介類の関与が疑われた。

両疾患とも 2007 年 4 月から 3 類感染症に移行したため、今後は食中毒としての届け出がなければ原因調査はさらに困難になるであろう。発生数が減少したとはいえ、食料自給率の低い我が国では輸入食品を通し

て国内に持ち込まれる可能性は高い。日常のサーベイランスとともに侵入した場合の早期発見システムを確立しておく必要があると思われる。

食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上

サルモネラ属菌や EHEC 0157 は、食品中で容易に VBNC に移行することが報告されており、今回、赤痢菌においても同様な現象が起きることが確認された。発症菌量が著しく低い赤痢菌の場合、VBNC 状態で食品を汚染すると、原因食材の特定は著しく困難となる。本研究により VBNC に赤痢菌が移行することが確認されたので、この VBNC の効率的かつ迅速な蘇生法の確立が今後の検討課題となる。サルモネラの蘇生因子として Rpf 蛋白が同定されており、その蘇生法が確立されているので、サルモネラについては、Rpf 蛋白による蘇生効果についてさらに検証を行い、検出感度を上げる必要があると考える。また、他の病原菌においても同様の現象が確認されているので、赤痢菌の VBNC についても同様な対応が必要であると考える。一方、赤痢菌の培養上清中には赤痢菌の増殖に関与する物質の存在が示唆された。このことは、赤痢菌の検査過程において、わずかの菌数の赤痢菌を検出する系に応用できるのではないかと考えられ、実際の現場での使用に有用になる可能性が示唆された。

食品からのコレラ菌の検出法の改良

コレラを含む 2 類感染症病原体は、昨秋の法改正により、3 類感染症へと移管された。これに伴い、検疫所等での監視対象からも外れることとなったが、本感染症の発生はわが国でも少数ながら毎年発生してお

り、ルーチン検査として行なわれない体制への移行期にあたる今こそ、同検査法の精度を更に充実させ、不測の事態に備えておく必要がある。

検疫所での輸入冷凍食品のコレラ菌検査において、PCR 反応系で擬陽性が出たことを受け、前年度は内部標準にその原因があることを明らかにした。本年度は、これを是正するため、新たな内部標準の設定を行い、改善を確認した。

また、冷凍エビへのコレラ菌接種試験の結果から、極めて少数の菌数 (1-10 CFU) を接種した際には検出されない場合も認められた。さらに、食品からのコレラ菌検出に際して、腸炎ビブリオ (*V. parahaemolyticus*) あるいはビブリオバルニフィカス (*V. vulnificus*) はコレラ菌の増殖を干渉しなかったが、エビ検体に多数含まれていた、*V. fluvialis* はコレラ菌の増殖を顕著に抑制していた。これらの結果は、培養法自体の改善を改めて講じる必要性を示唆しているといえよう。

その方法の改善策の一端として、本年度はアルカリペプトン水 (APW) の至適化を行ない、pH8.6 が血清型 01 と 0139 の増殖に有意に高い増殖を示すことを報告した。現行法における APW の規定は、pH8.6 もしくは pH9.2 で 0 もしくは 1%食塩を含むこととされていることから、今回の検討結果を踏まえて、これを修正事項として提案したい。

今から約 10 年前に実施された、輸入魚類のコレラ菌汚染調査によると、全 7,439 検体中 2,803 検体 (37.4%) が、NAG ビブリオ陽性であった (1) が、それ以降の検疫所での調査では、コレラ菌はほとんど検出さ

れていない。その原因としては、1) 輸出国における衛生管理の向上により、汚染菌菌が検出されないレベルにまで低下した、2) 通知法の変更（一例としては、検査対象食品重量が 100g から 25g へ変更）されたために、検出限界が低下した、3) 食品中で、損傷あるいは生きているが培養できない（VNC）状態（2）に移行しているために、通常の培養法では検出されないこと、などが想定される。

こうした状況を踏まえ、本年度は極めて低い汚染菌数を検出できるリアルタイム PCR を用いた遺伝学的な定量検出法についての検討を行った。本法では食品 1 グラムあたり 0.1CFU のコレラ菌を検出可能であり、更に対象病原体となる、コレラ毒素（Ctx）陽性の血清型 01 及び 0139 を選択的に検出する遺伝子検出系を構築した。本法のフィールド調査への応用は、わが国に流通している、（輸入）魚介類のコレラ菌汚染実態を正確に把握することが可能となり、ひいてはリスクアセスメントモデルの構築へとつながるものと期待される。

E. 結 論

1. 2 類感染症発生状況を 2007 年 1 月から 2008 年 3 月 11 日までの報告分について感染症サーベイランスシステムをもとに解析した。昨年度の報告書にも記述したが、2 類感染症はほとんどが海外感染であるが、いまだに国内感染が発生し減少傾向にない。本年度分の赤痢に関しては、昨年の 21% より比率は上がり 35% となった。大きな集団事例があったのも原因の一つである。

2. 昨年度から行っている、標準調査票を使用した積極的疫学調査を九州・山口地区

において継続した。

事例数は少ないが、将来、我が国における疫学調査の標準調査票を作成するための検討を行っている。実際に調査を行う方への疫学調査の重要性を訴える必要がうかがえた。食品と特定するためには n 数を大きくする必要があり、全国規模での調査が必要となる。そのためには調査と菌株の収集について必要性を訴えかつ法的な根拠を与える必要がある。

3. 原因食品情報を、病原微生物検出情報月報と厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の食中毒発生状況、PubMed から検索した。発展途上で旧 2 類感染症が蔓延している地域では、路次で売られている調理品など、多くの食品から菌が検出されている。

4. パイロット試験として食材を検査した。2 類感染症の原因物質（細菌）と性状がよく似ている菌が頻繁に分離されている。2 類感染症が常在している地域からの輸入食品に関しての監視体制を構築する必要があると思われる。

5. 食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上

赤痢菌は発症菌数が著しく低いので、食品からの迅速かつ正確な赤痢菌検出法の確立は、食品の安全確保の上で非常に重要である。本年度においては新規に考案された検査法により、タイ国産の水産物を検査対象として実用試験を試みた。考案された試験法の実用性を検討するためには、今後、汚染率の高い地域における現地での検査およびわが国へ輸入される冷凍食品を検査対象として幅広く検査を実施する必要がある。また、赤痢菌は容易に VBNC に移行すること

が確認されたので、その蘇生法を早期に確立して検査法に応用する必要がある。

6. 一次増菌に用いるアルカリペプトン水 (APW) の至適条件を、コレラ菌の増殖性および他菌による増殖抑制の点から検討し、1%食塩を含む pH8.6 が選択的かつ高い増殖効率を示す条件であることを確認した。

食品中から病原性の高い、すなわち制御すべき対象となるコレラ菌を低い菌数でも定量的に検出できる遺伝学的手法を構築した。

7. 腸チフス・パラチフス、コレラ、細菌性赤痢はいずれも輸入例が多い一方で、国内例の原因解明は不十分であることが多い。本研究のように、海外の動向も含めた形で原因菌の解析をしておくことで、今後新たに発生する国内例の疫学調査の一助になることが期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Morita M, K. Ito, K. Hirose, H. Takahashi, K. Shimuta, J. Terajima, M. Ohnishi, M. Harada, M. Matsuzaki, H. Watanabe and H. Izumiya. Development of a Real-Time PCR Assay for Detection of *gyrA* Mutations Associated with Reduced Susceptibility to Ciprofloxacin in *Salmonella enterica* Serovar Typhi and Paratyphi A. Microbiol. Immunol. 50 (9): 707-711, 2006.

2) Morita M, K. Ito, K. Hirose, H. Takahashi, K. Shimuta, J. Terajima, M. Ohnishi, M. Harada, M. Matsuzaki, H. Watanabe and H.

Izumiya. Development of a Real-Time PCR Assay for Detection of *gyrA* Mutations Associated with Reduced Susceptibility to Ciprofloxacin in *Salmonella enterica* Serovar Typhi and Paratyphi A. Microbiol. Immunol. 50 (9): 707-711, 2006.

2. 学会発表

1) Sou-ichi Makino. Resuscitation of the viable but non-culturable (VBNC) state of *Salmonella enterica* serovar Oranienburg by recombinant resuscitation-promoting factor derived from *Salmonella* Typhimurium strain LT2. In 10th International Symposium on Toxic Microorganisms- Meeting the Challenges of Toxic Microorganisms and Pathogens: Implications for Food Safety and Public Health-. Washington, DC (2006年11月7-9日)

2) 朝倉宏、石和玲子、山本茂貴、五十君静信. Multiplex real time PCR を用いた魚介類からの *Vibrio cholerae* 検出に関する研究. 第 27 回日本食品微生物学会学術総会. 2006 年 9 月. 大阪.

3) Sou-ichi Makino. Resuscitation of the viable but non-culturable (VBNC) state of *Salmonella enterica* serovar Oranienburg by recombinant resuscitation-promoting factor derived from *Salmonella* Typhimurium strain LT2. In 10th International Symposium on Toxic Microorganisms- Meeting the Challenges of Toxic Microorganisms and Pathogens: Implications for Food Safety and Public Health-. Washington, DC

(2006 年 11 月 7-9 日)

4) Shuko Monden, Sou-ichi Makino,
Keiko Kawamoto. Detection Method of
Shigella from oyster by PCR. The Asian
Conference on Diarrhoeal Diseases and
Nutrition (ASCODD), March, 2006.

H. 特許出願状況

特になし

平成17－19年度 厚生労働科学研究費補助金・新興再興感染症研究事業
(研究課題名:食品由来の2類感染症のリスクアセスメントモデル構築に関する研究)

分担研究課題「2類感染症の発生状況とリスクファクターに関する研究」

分担研究者 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

研究協力者 伊藤健一郎・多田有希・山下和予・松野重夫・太田正樹・飯田真里子(感染症情報センター)、森屋一雄(佐賀県健康福祉部)、矢野俊昭(熊本県健康福祉部)、糸数公(沖縄県福祉保健部)、九州・山口地区19自治体感染症担当者、松崎充宏(海事検定協会)

平成17－19年度研究要旨

2類感染症の国内感染事例における原因食品を推定するため、2類感染症とその原因食品の情報を収集し、リスクファクターの解析法について検討した。

本年度は、(1)旧2類感染症発生状況を発生動向調査システム及び厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の食中毒発生状況から収集した。平成19年の赤痢の国内発生数は163例で大半がソネ菌であった。そのうち集団事例が少なくとも4件あった。一つは学生実習に使用した菌によるものであった。

(2)赤痢を中心に、コレラ、腸チフス・パラチフスについて、国内事例発生の際に、改訂した標準化喫食調査票、行動調査票を活用し九州・山口県内自治体で、積極的疫学調査を行った。九州・山口県内の全19自治体の感染症担当者と2回の会議を開き、標準調査票による調査の方法を検討した。平成19年度の九州・山口地区での国内発生数は2件で、そのうち9月の調査開始後の1件について標準調査票による調査が行われた。また、国内発生例について簡易標準調査票で調査を行った。

(3)原因食品情報についてPubMedによる文献調査を行った。

(4)パイロット試験として食材の検査を継続した。

A. 研究目的

我が国では、細菌性2類感染症のうち、赤痢及びコレラは常在していないと考えられる。また、腸チフス・パラチフスにおいても長期保菌者は少なくなり、感染地はほとんどが海外となっている。そのため、国内で感染したと思われる事例は輸入食品が原因と推定されるが、特定するのは困難である。原因食品が残存しないため検査できないことや、食品中の原因菌量が少ないため検出が困難なこと、さらに、事例数が少ないため各自治体の行っている喫食調査では疫学的に推計が困難であることなどが原因として挙げら

れる。そこで、2類感染症とその原因食品の情報を収集し、発生状況と患者・無症状病原体保有者等の行動・喫食調査を組みあわせリスクファクターを解析するための方法を検討する。

B. 研究方法

1. 2類感染症発生動向

2 類感染症発生状況を感染症発生動向調査システムに2007年1月から2008年3月までの報告についてまとめた。また、病原微生物検出情報月報と厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の食中毒発生状