

200734027A

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

訂正版

平成19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20(2008)年3月

目 次

I. 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―― 1
主任研究者 山本茂貴

II. 分担・協力研究報告書

1. 日本及び海外の鶏肉におけるカンピロバクター汚染に関する文献調査―― 1 5
分担研究者 鈴木穂高
2. 米国産牛肉輸入量と腸管出血性大腸菌による食中毒、および感染症発生との関係―― 8 7
分担研究者 鈴木穂高
3. 畜水産食品におけるサルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌、腸炎ビブリオの
汚染実態調査について―― 1 0 7
分担研究者 武士甲一
研究協力者 牧野 壮一、Bich Thuy Nguen、Khuan Walai Maklon
4. 輸入非加熱食肉食品の *Listeria monocytogenes* による汚染状況調査―― 1 3 1
分担研究者 岡田由美子
5. 東南アジアにおける *Salmonella*, *Campylobacter*, 腸管出血性大腸菌, *Listeria* 等の発生・分布状況、
ラオスの水牛および牛の *Campylobacter* 保菌状況ならびにネパールにおける搾乳水牛・昨乳牛の牛結
核菌分離状況―― 1 3 9
分担研究者 森田幸雄
研究協力者
6. 輸入畜水産食品の食中毒菌汚染実態調査―― 1 4 9
主任研究者 山本茂貴
委託事業 齋藤文一（日本分析センター）

平成19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

平成19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. 国内及び海外の鶏肉におけるカンピロバクター汚染に関する文献調査

輸入食品に限定して食中毒菌サーベイランスを構築することの妥当性を考察するため、日本と諸外国の国内流通食品の食中毒菌汚染状況を文献的に調査することにした。今年度は調査対象食品と食中毒菌の組み合わせとして、鶏肉とカンピロバクターを選択した。2002年以降の日本国内31文献、諸外国76文献から市販鶏肉のカンピロバクター汚染状況について表にまとめ、検討したところ、使用する培地や方法によって報告されているカンピロバクター汚染状況は大きく異なるものの、市販鶏肉の汚染率は概して高く、国内外で大きな違いや地域差等は認められなかった。

2. 米国産牛肉の輸入禁止前後における腸管出血性大腸菌 O157 食中毒の発生原因に関する調査

平成15年(2003年)12月、米国においてBSE感染牛が報告され、わが国においても速やかに米国産牛肉の輸入停止措置が取られた。今年度の本分担研究においては、BSEの発生を契機とする米国産牛肉の輸入量の減少と、腸管出血性大腸菌食中毒ならびに感染症の発生の推移について関連が認められるかどうか検討し、わが国における腸管出血性大腸菌に関わる健康被害に対する米国産牛肉の影響について考察することを目的とした。平成16年以降、米国産牛肉の輸入量は激減していたが、腸管出血性大腸菌(VT産生)食中毒事件数、あるいは腸管出血性大腸菌感染症の報告数等に米国産牛肉の輸入量減少との関連は認められなかった。腸管出血性大腸菌(VT産生)食中毒患者数は平成16年、17年に減少が見られ、米国産牛肉の輸入量減少との関連が疑われた。しかし、個々の食中毒事例を検討した結果、患者数の減少は平成16年、17年に患者数50人以上の大規模な事例が起きていないことが原因であり、米国産牛肉の輸入量減少とは偶然の一致であろうと考えられた。

3. 輸入エビの腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌汚染実態調査

輸入エビをP量販店の協力により、国内でリパックされていない商品(ブロック)を買い上げて検査した。検査項目を腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌とし、食品衛生検査指針にしたがって実施した。その結果、100検体のエビから腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌は分離されなかった。

4. 輸入生ハムおよびサラミソーセージにおけるリステリア汚染実態調査

輸入食品の微生物モニタリングシステムの検証の一助とする目的で、一般に流通し

ている輸入食品におけるリステリアの汚染状況の調査を行った。対象食品としては、昨年度の研究で 16.7%から本菌が分離された生ハム、サラミソーセージ等の非加熱食肉製品を用いた。その結果、市販非加熱食肉製品の 5.9% (68 検体中 4 検体) から *Listeria monocytogenes* が分離され、それらはすべてスペイン産の製品であった。

5. 東南アジアにおける *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌、*Listeria* 等の発生・分布状況、ラオスの水牛および牛の *Campylobacter* 保菌状況ならびにネパールにおける 搾乳水牛・搾乳牛の牛結核菌分離状況

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。アジア諸国のうち欧州、米国、日本に加工食品を輸出しているタイや中国では食品や家畜の食中毒菌に関する報告はアジア諸国のなかでは比較的多く、年々その報告数も増加しているが、それでも十分とはいえない。他の国々（インドネシア、フィリピン、マレーシア等）では公表されている食中毒に関する論文は極めて少ないか無い状況である。東南アジアの国々に共通していることは、健康人の食中毒菌保菌率が高いということである。また、ネパールでは水牛や牛の牛結核も制御されておらず、アジア諸国では食中毒菌による危害のみならず、動物由来感染症による危害についても考慮に入れなければならないと思われる。アジア諸国は食品輸出産業に力をいれており、欧州、米国、そして日本に食品や食肉（加工食肉）を輸出するため食品工場では ISO や HACCP の導入が進んでいる。しかしながら、従業員の食中毒菌の保菌検査、食肉中の食中毒菌の汚染検査、食肉中の薬剤残留物質検査等の健康危害にかかわる検査実施状況および検査技術はかならずしも十分であるとはいえない。食品を輸入する際には、その国の衛生状態を把握し、原材料の管理、従業員の健康管理等幅広い衛生管理が必要と思われる。

分担研究者

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、国内外での畜水産食品における食中毒菌汚染実態を文献的および検査により調査し、また、食中毒事例を精査することにより、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。

B. 研究方法

今年度は食中毒菌のカンピロバクター対象とし輸入食品と国内流通品における汚染実態を文献的に調査比較した。また、輸入食品の食中毒菌汚染についてサルモネラ属菌、リステリア モノサイトゲネス、腸管出血性大腸菌 O157、腸炎ビブリオについて食品を検査した。

腸管出血性大腸菌 O157 の食中毒事例を米国からの牛肉輸入禁止前と後で比較検討

した。

C. 研究結果

1. 国内及び海外の鶏肉におけるカンピロバクター汚染に関する文献調査

日本国内分 31 文献、諸外国分 76 文献についてまとめた。

正肉の汚染率はササミの汚染率が低いことを除けば、すべて約 6 割であった。また、内臓においてもハツの汚染率が若干低いことを除けば、汚染率は約 6 割であった。一方、輸入鶏肉(冷凍)の汚染率は約 23%と低く、国産冷凍鶏肉においても汚染率は約 29%と輸入鶏肉(冷凍)に比べ若干高い結果であった。また、検体数は少ないが、タイ産、ブラジル産の輸入鶏肉の汚染率が高く、アメリカ産、中国産の輸入鶏肉の汚染率が低い傾向が認められた。ひき肉は約 2 割の汚染率であった。

鶏肉(冷蔵、非冷蔵)の汚染率は、旧ソ連、東欧諸国で約 2 割と低いことを除けば、4 割から 9 割で、平均では約 6 割と日本の正肉の汚染率と大きな差は認められなかった。ただし、旧ソ連、東欧諸国の中で、汚染率が著しく低く報告されているエストニアの 2 報を除くと(エストニアは 2 報で 739 検体、汚染率 8.12%)、旧ソ連、東欧諸国の汚染率も 64.6%と諸外国の平均的な汚染率であった。なお、鶏肉は日本では正肉(部分肉)として、部位ごとに分けられて販売されることが多いが、諸外国においては丸鶏(中抜き)として販売されることも多いため、諸外国分については部位ごとの集計は行わなかった。内臓(冷蔵、非冷蔵)の汚染率は約 5 割か

ら 9 割、平均約 8 割と、日本の約 6 割に比べ、若干高い傾向が見られた。冷凍鶏肉に関しても、諸外国では平均約 5 割と、日本の冷凍鶏肉に比べ、若干高い傾向が見られた。一方、ひき肉に関しては平均約 13%と、日本の 22%と大差のない結果であった。

Campylobacter 各菌種の構成割合については、国により若干の差異が認められた。

2. 米国産牛肉の輸入禁止前後における腸管出血性大腸菌 0157 食中毒の発生原因に関する調査

米国産牛肉の輸入量は平成 16 年以降著しく減少していた。(米国産牛肉の輸入停止措置は平成 15 年 12 月に取られたため、輸入量の減少は平成 16 年から反映されている。米国産牛肉の輸入量減少に伴い、豪州産、ニュージーランド産牛肉の輸入量は若干増加しているが、牛肉の輸入量は全体としても減少傾向であった。国産牛肉の生産量はほとんど変動していないため、牛肉全体の流通量も輸入量の低下の影響でやはり減少傾向であった。

感染症発生動向調査による腸管出血性大腸菌感染症の報告数は、平成 12 年以降、腸管出血性大腸菌感染症の報告数は 3000 人から 4500 人の間で推移していた。

食中毒発生事例による腸管出血性大腸菌(VT 産生)食中毒の件数は、平成 12 年以降、12 件から 24 件の間で推移していた。

食中毒発生事例による腸管出血性大腸菌(VT 産生)食中毒の患者数は 70 人から 378 人と年によるばらつきが大きかった。

腸管出血性大腸菌(VT 産生)食中毒の患者数と米国産牛肉輸入量は、平成 16 年か

らの米国産牛肉輸入量の減少に一致するように、平成16年、17年の患者数が平成13～15年の患者数に比べて減少していた。

一方、腸管出血性大腸菌(VT産生)食中毒の事件数、あるいは腸管出血性大腸菌感染症の報告数においては、米国産牛肉の輸入停止措置前後で変化は認められなかった。

腸管出血性大腸菌感染症の報告数と国産牛肉、輸入牛肉を合わせた牛肉の流通量は若干減少傾向だが、腸管出血性大腸菌感染症の報告数はほぼ横ばいであった。

3. 輸入エビの腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌汚染実態調査

輸入エビをP量販店の協力により、国内でリパックされていない商品(ブロック)を買い上げて検査した。検査項目を腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌とし、食品衛生検査指針にしたがって実施した。その結果、100検体のエビから腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌は分離されなかった。

4. 輸入生ハムおよびサラミソーセージにおけるリステリア菌汚染実態調査

今回調査した市販輸入非加熱食肉加工品の5.9%(68検体中4検体)から*L. monocytogenes*が分離された。これらはすべてスペイン産であり、原産国別にみるとその分離率は13.8%(29検体中4検体)であった。そのうち2検体は、一夜増菌培養した懸濁液から*L. monocytogenes*が検出されたが直接培養法からは検出されなかったため、汚染菌数は100CFU/g未満であった。他の2検体は直接培養法でリステリア菌が分離され、汚染率はそれぞれ100CFU/gと400CFU/gであった。

4 検体中2検体は同一メーカーの製品であったが、分離株の血清型は1検体が1/2bであり、他方が3bであった。リボタイピングの結果では両者とも少なくとも一株はDUP1042株と高い相同性を示し、LineageはIに分類された。

なお、試験した68検体のうち65検体に水分活性値が表示されていたが、その内の9検体で表示に記載された数値以上の水分活性値を示していた。しかしながら、*L. monocytogenes*が分離された4検体の中で水分活性値がラベルの表記より高かったものは1検体であった。なお、水分活性値の記載されていない3検体はナチュラルチーズと生ハムの加工品であった。

5. 東南アジアにおける *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌、*Listeria* 等の発生・分布状況、ラオスの水牛および牛の *Campylobacter* 保菌状況ならびにネパールにおける 搾乳水牛・搾乳牛の牛結核菌分離状況

1) アジア諸国の衛生状態情報

Pub-Med(H20年3月1日現在とH19年3月1日現在)における検索項目ごとの文献数を表1-1に、各国の患者、動物、食肉からの *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌(STECまたはO157)の分離率のまとめを表1-2に示した。

菌種では *Listeria*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌に関する研究論文が少なく、また、調査国ではベトナム、フィリピン、インドネシア、マレーシア、バングラディッシュ、ラオスにおける調査報告が少ないことが判明した。また、ベトナム、インドネシア、バングラディッシュでは *Salmonella* の

文献のうち、*S. Typhi*に関するものが約半数を占めており、食中毒のみの問題ではなく、感染症対策が必要な国々であると思われた。

タイ：比較的調査論文が多く、また、継続的に調査が実施されていた。*Salmonella* および *Campylobacter* の市販食肉での検出率が高く、*Salmonella* は豚肉の 29-65%、鶏肉の 57-75%が、*Campylobacter* は豚肉の 23%、鶏肉の 47%が汚染されていた。STEC の牛の保菌率は 2-19%であった。また、下痢症患者のうち *Salmonella* が分離された患者は 7-18%、*Campylobacter* が分離された患者は 28%であった。健康人の 5-36%が *Salmonella* を、4%が *Campylobacter* を保菌していた。Treebupachatsakul P ら (2006)により、*Listeria* による脳膿瘍が初報告された。

ベトナム：平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。*Salmonella* の論文の半数が *S. Typhi* に関するものであった。*Salmonella* および *Campylobacter* の市販食肉での検出率が高く、*Salmonella* は牛肉の 49%、豚肉の 70%、鶏肉の 8-49%が、*Campylobacter* は鶏肉の 28-31%が汚染されていた。豚肉や家畜の保菌率調査報告を検索することはできなかった。STEC の牛の保菌率は 8%であった。Isenbergar ら(2002)は、タイとベトナムで分離された *Campylobacter*、*Salmonella* 等の抗生物質に対する感受性を比較したところ、タイではキノロン系およびマクロライド系抗生物質の高度耐性菌が年々増加しており、その背景を調査する必要があると提唱している。

フィリピン：平成 18 年から平成 19 年の一

年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、動物・食肉からの分離報告はきわめて少ない。6%の鶏・あひる肉から *Salmonella* が検出された報告があるにすぎない。下痢症患者の 8-12%から *Salmonella* が、3-4%から *Campylobacter* が検出されている。一方、下痢症状を呈していないヒトにおいても *Salmonella* は 5-8%、*Campylobacter* は 1-2%の検出率であり、下痢の有無における検出率の有意差は無かった($p>0.01$)。また、下痢症子供由来 *Salmonella* はフルオロキノロン耐性が高いとする報告もみうけられた (Olsen ら：2001)。腸管出血性大腸菌に関する調査報告は確認できなかった。

我々の現地基礎調査では、10 頭中 1 頭の牛の糞便から *S. Saintpoul* が分離された。また、*Campylobacter* は 10 頭中 2 頭の牛の糞便、10 頭中 2 頭の豚の糞便、20 検体中 1 検体の鶏肉から分離された。

中国：平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、今までの *Salmonella* や *Campylobacter* の動物や食肉からの報告は少ない。*Salmonella* は豚枝肉の 55%から、*Campylobacter* は 3%から検出された報告があるにすぎない。下痢症患者からは *Salmonella* は 11-45%、*Campylobacter* は 5-12%、ST 産性 O157 は 3%検出されている。また、Chen ら (1995) は健康な子供の 5%が *Campylobacter* を保菌しているという報告をしていた。1988 年に STECO157 による感染症が Xu ら (1990) により報告されてから、O157 は患者のみならず、牛、羊、鶏等さまざまな動物から分離されている。牛の保菌率は 2%、牛肉および豚肉の汚染率は、それぞれ 5%、1%であ

ると報告されている。*Listeria* については National Institute for Nutrition and Food Safety によりサーベイランスが実施されておりランダムにサンプリングされた食品 (4,034 検体) の 1.74% から *L.*

monocytogenes を分離している (Fu ら : 1999)。

インドネシア : 平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、*Salmonella* や *Campylobacter* の動物や食肉からの報告はきわめて少ない。

下痢症患者から *Salmonella* は 26%、*Campylobacter* は 2-10% 検出されている。

マレーシア : 平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。

また、*Salmonella* や *Campylobacter* の動物や食肉からの報告は少なく、*Salmonella* は鶏の 14% から、鶏肉の 36-50% から検出された報告があるにすぎない。36% の牛肉から STEC が分離されている。また、*Listeria* 属菌および *L. monocytogenes* は Wet

Market においてそれぞれ、輸入冷凍牛肉の 74%、65%、国産牛肉の 44%、30%、発酵魚の 56%、12% から分離されている。しかし、スーパーマーケットの輸入冷凍牛肉からは

Listeria 属菌は分離できないことから、これらの汚染は Wet Market における二次汚染が原因と考えられている (Hassan ら : 2001)。

2% の生野菜から *Listeria* 属菌が分離され、そのうち *L. monocytogenes* はレタス、sengkuang、selom の野菜から検出されている。

バングラディッシュ : 平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、動物や食肉に関する調査はほとんど実施されていない。入院患者につ

いての原因物質調査が実施されており、下痢症患者から *Salmonella* は <1-17%、*Campylobacter* は 5% 検出されている。バングラディッシュでは *Vibrio cholerae* O1 や O139、赤痢が下痢症患者から頻繁に検出されている。腸管出血性大腸菌や *Listeria* に関する報告はない。

ラオス : 動物や食肉に関する調査はほとんど実施されていない。下痢症患者から *Salmonella* は 1%、*Campylobacter* は 3-4%、EHEC は 0.1% 検出されている。また、ラオスでは赤痢が下痢症患者から 7-17% 検出されている。腸管出血性大腸菌や *Listeria* に関する報告はない。

我々の現地基礎調査では、50 頭中 4 頭 (8%) の水牛の糞便および 49 頭中 37 頭 (76%) の豚の糞便から *Salmonella* が分離された。また、*Campylobacter* は 184 頭中 3 頭の水牛の糞便から分離されたが、82 頭の牛の糞便からは分離することはできなかった。

2) タイとの共同研究によるラオスの牛および水牛の *Campylobacter* 保菌状況調査

水牛では、1.6% (3/184) の盲腸内容と 1% (1/100) の胆汁から分離され、2 頭の盲腸内容と 1 頭の胆汁分離株は *C. jejuni*、1 頭の盲腸内容分離株は *C. fetus* であった。乳牛 (82 頭) は本菌を保菌していなかった (表 2)。雨期と乾期の保菌率の有意差はなかった。

3) ネパールとの共同研究によるネパールの搾乳水牛および牛の牛結核菌保有状況調査

39% (14/36) の水牛ならびに 34% (11/32) の牛から 36 株の *Mycobacterium* 属菌が分離された。36 株中 28 株は 8 菌種に同定され、13 株は *M. bovis*、6 株は *M. thermoresistibile*、2 株は *M. xenopi*、2 株

は *M. fortuitum*、2 株は *M. chelonae*、1 株は *M. gordonae*、1 株は *M. ulcerans*、1 株は *M. kansasii* であり、残りの 8 株は同定不能であった。牛結核菌は 17%(6/36)の水牛、16%(5/32)の牛が保有し、2 頭は糞便と乳から、6 頭は乳のみから、3 頭は糞便のみから分離された(表 3)。

4) フィリピンおよびネパールとの家畜および食肉中の *Salmonella* ならびに

Campylobacter 保有状況調査

フィリピン：10 頭中 1 頭の牛の糞便から *S. Saintpoul* が分離された。また、*Campylobacter* は 10 頭中 2 頭の牛の糞便、10 頭中 2 頭の豚の糞便、20 検体中 1 検体の鶏肉から分離された。分離菌の薬剤感受性試験および *Campylobacter* の同定試験は現在実施中である。

ネパール：牛の糞便 21 検体、鶏の糞便 10 検体についてサルモネラとカンピロバクターの分離を試みたところ、*Salmonella* は検出されなかったが、6 検体の牛および 3 検体の鶏から *Campylobacter* が検出された。*Campylobacter* の薬剤感受性試験および同定試験は現在実施中である。

D. 考 察

1. 国内及び海外の鶏肉におけるカンピロバクター汚染に関する文献調査

日本国内、および諸外国の市販鶏肉のカンピロバクター汚染状況について、文献的に調査を行ったところ、国や地域により若干の違いはあるものの、諸外国の市販鶏肉のカンピロバクター汚染率は、日本国内の市販鶏肉の汚染率と大きな違いはなかった。*Campylobacter* 各菌種の構成割合が国によって異なっていたことは、

確認方法の違いの影響もあると考えられたが、考察しえなかった。

本年度は調査対象として、鶏肉とカンピロバクターに限定して調査を行ったが、少なくとも、鶏肉のカンピロバクター汚染に関しては、国内外で大きな差は認められなかったことから、国内産鶏肉に規格基準も公定法もない現状で、輸入鶏肉にのみ食中毒菌サーベイランス/モニタリング・システムを構築・運用することには疑問が残る。昨年度の本分担研究で結論付けたように、現在、日本国内で行われている「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 つの食品サーベイランスは、いずれも食中毒菌サーベイランスとしての意義は限定的であることから、輸入食品に限らず、国内産食品をも含めた包括的な食中毒菌サーベイランス/モニタリング・システムの構築が望ましいのではないかと考えられる。

2. 米国産牛肉の輸入禁止前後における腸管出血性大腸菌 0157 食中毒の発生原因に関する調査

感染症発生動向調査による腸管出血性大腸菌感染症の報告数は全数把握であり、その数値の信頼性は高いが、反面、すべてが食品を原因とするわけではなく、人一人感染例も多数含まれている。一方、食中毒発生事例による腸管出血性大腸菌(VT 産生)食中毒の事件数、患者数は、すべてが食品を原因とする事例であるが、食品が原因であると断定するに足る根拠がない場合には報告されず、その数値は氷山の一角に過ぎないという指摘もある。

腸管出血性大腸菌(VT産生)食中毒事件数、あるいは腸管出血性大腸菌感染症の報告数は、米国産牛肉輸入量との間に関連は認められず、むしろ、国産牛肉、輸入牛肉を合わせた牛肉の流通量がほぼ横ばいであるのと一致しているように思われた。

平成16年度以降の米国産牛肉輸入量の減少と、平成16年、17年における腸管出血性大腸菌(VT産生)食中毒患者数の減少が一致しているように見える。この点について、平成12～18年の食中毒事例を個別に見ていくと、平成16年、17年には患者数50人以上、あるいは100人以上の大規模な事例は報告されていないが、平成13年、14年、15年に関しては1件で年間患者数の半数を超えるような100人以上の大規模事例が報告されており、これらが年間患者数を大きく押し上げていると考えられる。食中毒事例による腸管出血性大腸菌(VT産生)食中毒の事件数は年間12～24件と少ないことから、年間患者数は大規模事例に大きく影響される。このことは、食中毒事例1件当たりの患者数の中央値と平均値が、平成13年、14年、15年には大きく乖離していることから推測できる。

平成13年3月に起きた、滝沢ハム株式会社の牛たたき、ローストビーフによる腸管出血性大腸菌0157食中毒事件(患者数195人)では、米国産牛肉が原因であった。そこで、米国産牛肉が大規模な腸管出血性大腸菌食中毒に特に深く関与しているか否かについて考察した。

患者数100人を超える腸管出血性大腸菌食中毒事件は、平成13年、14年、15

年に1件ずつ報告されている。そのうち、米国産牛肉を原因とする事件は、前述した平成13年の滝沢ハムの1件のみであり、大規模な腸管出血性大腸菌食中毒が常に米国産牛肉を原因とするとは言えない。しかし、米国産牛肉の輸入量が減少した平成16年以降、患者数100人を超える腸管出血性大腸菌食中毒事件は1例も起きていないことから、関連があるのではないかという見方もできる。大規模な腸管出血性大腸菌食中毒事件は年に1件あるかどうかの偶発的な事件であるため、正確な評価は困難であると考えられる。

3. 輸入エビの腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌汚染実態調査

100検体のエビから調査対象の菌は分離されなかった。輸出国では出荷時に次亜塩素水に浸漬して梱包冷凍するなどの衛生管理措置を行っている可能性が考えられた。

4. 輸入生ハムおよびサラミソーセージにおけるリステリア汚染実態調査

今回の調査により、一般に流通している輸入非加熱食肉製品68検体中4検体から*L. monocytogenes*が検出された。そのうち2検体では*L. monocytogenes*の汚染菌量が100CFU/g以上を示し、定性的な日本のリステリア汚染基準のみならず、輸出国側の基準となるEUの*L. monocytogenes*汚染基準にも違反していた。他の2検体は汚染菌量が100CFU/g未満であった。これらの検体は食品衛生法違反として輸入者による商品の自主回収及び検疫所での命令検査が行われた。また、スペイン産の非加熱食肉製品からの本菌の分離率は昨年度の本研究では

28.6%、本年度では 13.8%を示しており、スペイン産の非加熱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。

5. 東南アジアにおける *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌、*Listeria* 等の発生・分布状況、ラオスの水牛および牛の *Campylobacter* 保菌状況ならびにネパールにおける搾乳水牛・搾乳牛の牛結核菌分離状況

1) アジア諸国の衛生状態情報

アジア地域の公衆衛生および食品衛生に関する調査報告は少ない。また、平成 18 年から平成 19 年の一年間に、新たに研究・報告された調査報告も少ないことが判明した。アジア諸国では *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。特に、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。

タイやベトナムにおける動物や食肉からの食中毒菌検出に関する研究は、他のアジア諸国と比較すると数多く実施され、報告されている。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、食品衛生学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 年より報告されている。腸管出血性大腸菌症に関する疫学報告も頻繁に行われており、調査したアジア諸国の中では唯一多くの報告が存在した。また、

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。さらに、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た。

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た。

2) タイとの共同研究によるラオスの牛および水牛の *Campylobacter* 保菌状況調査

ラオスでは牛と水牛のカンピロバクター保菌率が低いと、牛と水牛は人の *Campylobacter* 感染症の主要な疫学的要因ではないと思われた。本年度は高病原性鳥インフルエンザの流行から、鳥の検査ができなかった。今後は、鳥を含め食肉の検査を実施したい。

3) ネパールとの共同研究によるネパールの搾乳水牛および牛の牛結核菌保有状況調査
本研究により、ネパールには多くの牛結

核に罹患した搾乳水牛および牛が存在することが判明した。WHO では牛結核の撲滅には罹患動物の **test-and-slaughter policy** が必要であるとしている。しかしながら、ネパールはヒンズー教を国教としており、牛について **test-and-slaughter policy** を実施することは不可能である。ツベルクリン反応陽性牛の隔離や生乳の確実な牛乳殺菌の実施等が緊急に必要な必要であるとともに、ネパール国民に適切な感染症の情報や教育を実施することが必要であると思われた。

4) フィリピンおよびネパールとの家畜および食肉中の *Salmonella* ならびに

Campylobacter 保有状況調査

本研究により、フィリピンおよびネパールの家畜の *Salmonella* と *Campylobacter* 保菌状況の一部が判明した。分離菌についてはさらに詳細な検査を実施し、各国に分布する菌の特徴を把握したい。

Campylobacter はその発育条件として微好気条件が必要であることが、アジア諸国で検査が実施されない理由のひとつである。本共同研究によって微好気条件が簡単に作製できるガスパックや分離培地を提供するとともに、分離方法・同定方法を含めた技術指導を実施した。フィリピン、ネパールでは食中毒菌に関する情報がきわめて少ないことから、今後の共同研究の継続により、より詳細な検査成績が得られると思われる。なお、これらの成果については平成 20 年度に学会発表・論文公表を行いたい。

E. 結 論

1. 国内及び海外の鶏肉におけるカンピロバクター汚染に関する文献調査

日本国内、および諸外国の市販鶏肉の

カンピロバクター汚染状況については、国や地域により若干の違いはあるものの、国内外で大きな違いは認められなかった。現在、日本国内で行われている食品サーベイランスの食中毒菌サーベイランスとしての意義が限定的であることと合わせて考えると、輸入食品だけでなく、国内産食品をも含めた包括的な食中毒菌サーベイランス/モニタリング・システムの構築が望ましいのではないかと考えられた。

2. 米国産牛肉の輸入禁止前後における腸管出血性大腸菌 O157 食中毒の発生原因に関する調査

平成 15 年(2003 年)12 月、米国における BSE 発生を契機とする米国産牛肉の輸入量の減少と、腸管出血性大腸菌食中毒ならびに感染症の発生の推移について検討した。平成 16 年以降、米国産牛肉の輸入量は激減していたが、腸管出血性大腸菌(VT 産生)食中毒事件数、あるいは腸管出血性大腸菌感染症の報告数等に米国産牛肉の輸入量減少との関連は認められなかった。腸管出血性大腸菌(VT 産生)食中毒患者数は平成 16 年、17 年に減少が見られたが、これは同年に患者数 50 人以上の大規模な事例が起きていないためであり、米国産牛肉の輸入量減少とは無関係であると考えられた。

これらの結果より、米国産牛肉の輸入量減少はわが国の腸管出血性大腸菌による健康被害の発生状況に大きな影響を与えていないと考えられた。

3. 輸入エビの腸炎ビブリオ、赤痢菌、サルモネラ属菌、リステリア菌汚染実態調査

100 検体のエビから腸炎ビブリオ、赤痢

菌、サルモネラ属菌、リステリア菌は分離されなかった

4. 輸入生ハムおよびサラミソーセージにおけるリステリア汚染実態調査

今回の調査の結果、国内で一般に流通している輸入非加熱食肉製品の 5.9%から *L. monocytogenes* が分離されたことから、現行の微生物モニタリングのみでは輸入食品による食品媒介感染症の防除に十分ではない可能性が示された。特にスペイン産の非加熱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、検査強化項目及びサンプリング方法の設定は今後効率的な輸入食品の微生物モニタリングシステムを構築していくにあたり、十分に考察すべき点と考えられた。

5. 東南アジアにおける *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌、*Listeria* 等の発生・分布状況、ラオスの水牛および牛の *Campylobacter* 保菌状況ならびにネパールにおける搾乳水牛・搾乳牛の牛結核菌分離状況

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、平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告もきわめて少ないことが判明した。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、そして結核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。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る。

F. 健康危機情報

L. monocytogenes が検出された非加熱食肉製品に関し厚生労働省を通じて管轄の検疫所、保健所及び輸入代理店に連絡し、当該商品の命令検査及び回収が行われた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) K. Takeshi, M. Kitagawa, M. Kadohira, T. Maruyama, S. Igimi, K. Kawamoto, S. Makino. 2007. Hazard Analysis of *Listeria monocytogenes* Contaminations in Processing of Salted Roe from Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) in Hokkaido, Japan. J. Food Protect., in press.
- 2) 小熊恵二, 横田憲治, 武士甲一, 有満秀幸: バイオテロを含むボツリヌス中毒への新しい対策の確立と毒素の治療への応用. 平成 17 年度~平成 18 年度文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究(B)), 課題番号 17390127, 文部科学省, 東京, 2007.
- 3) Jae-Chul Lee, T. Yokoyama, Hyun-Jung Hwang, H. Arimitsu, Y. Yamamoto, T. Takigawa, K. Takeshi, A. Nishikawa, H. Kumon & Keiji Oguma. 2007. Clinical application of *Clostridium botulinum* type A neurotoxin purified by a simple procedure for patients with urinary incontinence caused by refractory destrusor overactivity. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 51:201-211.

5) 牧野壮一, 川本恵子, 武士甲一. 2007. 土壤中の強毒病原菌について, 感染症, 37(6):16-27.

6) Sumalee BOONMAR, Yukio MORITA, Masahiro FUJITA, Leelaowadee SANGSUK, Karun SUTHIVARAKOM, Pawin PADUNGTOD, Soichi MARUYAMA, Hidenori KABEYA, Kunihisa KOZAWA, Hirokazu KIMURA, Serotypes, antimicrobial susceptibility, and *gyr A* gene mutation of *Campylobacter jejuni* isolates from humans and chickens in Thailand. *Microbiology and Immunology*, 51(5), 531-537.

7) Sumalee BOONMAR, Chantha CHANDA, Khanchana MARKVICHITR, Sujate CHAUNCHOM, Sangchai YINGSAKMONGKON, Shigeki Yamamoto, Yukio MORITA, Prevalence of *Campylobacter* spp. in Slaughtered Cattle and Buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic, *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(8): 853-855.

8) Vijay Chandra JHA, Yukio MORITA, Mermagya DHAKAL, Bishunu BESNET, Teruo SATO, Akira NAGAI, Masahiko KATO, Kunihisa KOZAWA, Shigeki YAMAMOTO, Hirokazu KIMURA (2007), Isolation of *Mycobacterium* spp. from milking buffaloes and cattle in Nepal, *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(8): 819-825.

2. 学会発表

1) 鈴木穂高, 山本茂貴: 国内、および諸外国の市販鶏肉のカンピロバクター汚染状況

(文献調査) 第145回日本獣医学会学術集会 2008年3月 (相模原市)

2) Y. OKADA, N. OKADA, S. IGIMI, S. YAMAMOTO. : The alternative sigma factor RpoN of *Listeria monocytogenes* contributes to its stationary growth. 107th General Meeting of American Society for Microbiology, カナダ・トロント 2007年5月

3) 五十君静信、岡田由美子、石和玲子、森田邦雄、松崎勝: ナチュラルチーズ製造工程におけるリステリアの増殖性に影響を及ぼす環境要因について 第93回日本食品衛生学会 東京 2007年5月

4) 岡田由美子、岡田信彦、山本茂貴、五十君静信: *Listeria monocytogenes* の定常期における増殖性に関わる遺伝子の網羅的解析 第81回日本細菌学会総会 京都 2008年3月

5) Sumalee BOONMAR, 森田幸雄, Chantha CHANDA, Kanchana MARKVICHITR, Sujate CHAUNCHOM, Sangchai YINGSAKMONGKON, 藤田雅弘、加藤政彦、山本茂貴、丸山総一、木村博一、Prevalence of *Campylobacter* spp. in Slaughtered Cattle and Buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic 日本食品微生物学会、東京 (発表 9月26日)

6) 森田幸雄、Vijay Chandra JHA, Mermagya DHAKAL, Bishunu BESNET, 佐藤輝夫、長井章、加藤政彦、丸山総一、小澤邦壽、山本茂貴、ネパールにおける搾乳牛からのミコバクテリウム属菌の分離、日本食品微生物学会、東京 (発表 9月26日)

H. 知的財産権取得状況

特になし

平成19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. 日本及び海外の鶏肉におけるカンピロバクター汚染状況

分担研究者 鈴木 穂高

平成 19 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」

分担研究報告書

分担研究：日本、および諸外国の市販鶏肉のカンピロバクター汚染状況

分担研究者 鈴木穂高 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 主任研究官

研究要旨

昨年度の本分担研究においては、日本国内で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。その結果、現在行われている「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」は、いずれも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。この結果を踏まえ、今年度の本分担研究では、輸入食品に限定して食中毒菌サーベイランスを構築することの妥当性を考察するため、日本と諸外国の国内流通食品の食中毒菌汚染状況を文献的に調査することにした。今年度は調査対象食品と食中毒菌の組み合わせとして、鶏肉とカンピロバクターを選択した。2002 年以降の日本国内 31 文献、諸外国 76 文献から市販鶏肉のカンピロバクター汚染状況について表にまとめ、検討したところ、使用する培地や方法によって報告されているカンピロバクター汚染状況は大きく異なるものの、市販鶏肉の汚染率は概して高く、国内外で大きな違いや地域差等は認められなかった。

A. 研究目的

昨年度の本分担研究においては、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・システム構築の参考とするため、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。その結果、現在行われている「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」は、いずれも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。国内産食品(一部、輸入食品も対象とされているため、正確には国内流通食品)の食中毒菌サーベ

ランスが十分ではないと考えられる現状で、輸入食品だけを対象とした食中毒菌サーベイランス/モニタリング・システムを構築することが妥当なのかについて考察するため、今年度の本分担研究においては、日本の国内流通食品と諸外国の国内流通食品の食中毒菌汚染状況について文献的に調べることにした。

B. 研究方法

日本、および諸外国の国内流通食品の食中毒菌汚染率に関する文献は膨大な数で、すべてを網羅することは不可能である。そこで、今年度は調査対象として、

汚染食品と汚染食中毒菌の関連性が高い鶏肉とカンピロバクターを選択した。

文献の検索は、JDreamII (JSTPlus と JMEDPlus)、医学中央雑誌、PubMed、ScienceDirect 等のデータベースを用い、[カンピロバクター、*Campylobacter*] と [鶏肉、chicken、poultry] という2群のキーワードを組み合わせて行った。検索は2002年以降の文献に限定し、2007年7～8月に行った。

検索結果はまず、表題と要旨により一次選別し、次に実際に本文を読んで、市販鶏肉のカンピロバクター汚染状況について言及している文献を二次選別した。流通食品の調査が目的であることから、市販鶏肉の汚染のみを対象とし、農場、食鳥処理場における鶏、鶏肉の汚染については対象から除外した。

文献は、日本国内と諸外国に分け、検体名、調整方法、使用培地、培養方法、確認方法、汚染率・汚染菌量等について表にまとめた。日本国内の文献については詳細な検体調整方法についても表にまとめた。

C. 研究結果

指定した2群のキーワードの組み合わせで、JDreamII (JSTPlus と JMEDPlus) では292文献、医学中央雑誌では61文献、PubMedでは710文献、ScienceDirectでは113文献が該当した。そのうち、最終的に日本国内分31文献、諸外国分76文献について表1、表2にまとめた。なお、参考文献リストは報告書の最後に添付した。

日本国内の鶏肉のカンピロバクター汚染状況について、数学的に正しい方法ではないが、おおよその傾向を知るために、検体数と汚染率から単純な平均を算出した(表3)。同一検体を複数の方法で調べている場合には、最も高い汚染率を用いて計算した。

正肉の汚染率はササミの汚染率が低いことを除けば、すべて約6割であった。また、内臓においてもハツの汚染率が若干低いことを除けば、汚染率は約6割であった。一方、輸入鶏肉(冷凍)の汚染率は約23%と低く、国産冷凍鶏肉においても汚染率は約29%と輸入鶏肉(冷凍)に比べ若干高い結果であった。また、検体数は少ないが、タイ産、ブラジル産の輸入鶏肉の汚染率が高く、アメリカ産、中国産の輸入鶏肉の汚染率が低い傾向が認められた。ひき肉は約2割の汚染率であった。

鶏肉のカンピロバクター汚染率は検出方法により大きく異なっており、同一検体を複数の方法により調べた文献で、検出率に大きな差が認められる場合もあった。このことから、比較的多くの文献で用いられており、検出率も高いとされているPreston培地、もしくはBolton培地で増菌し、mCCDA培地で分離するという方法を用いた検出結果のみを選択し、同様に検体数と汚染率から単純な平均を算出した(表4)。しかし、結果はすべての結果を用いて計算した値と大きく違わなかった。(なお、現在、わが国においては鶏肉のカンピロバクターについて規格基準等が存在せず、公定法も存在しない。)

諸外国の鶏肉のカンピロバクター汚染状況についても同様に、検体数と汚染率から国ごとの集計を行った(表5)。1カ国で3文献未満の場合には適宜、地域ごと、あるいは諸外国すべてとして集計した。

鶏肉(冷蔵、非冷蔵)の汚染率は、旧ソ連、東欧諸国で約2割と低いことを除けば、4割から9割で、平均では約6割と日本の正肉の汚染率と大きな差は認められなかった。ただし、旧ソ連、東欧諸国の中で、汚染率が著しく低く報告されているエストニアの2報を除くと(エストニアは2報で739検体、汚染率8.12%)、旧ソ連、東欧諸国の汚染率も64.6%と諸外国の平均的な汚染率であった。なお、鶏肉は日本では正肉(部分肉)として、部位ごとに分けられて販売されることが多いが、諸外国においては丸鶏(中抜き)として販売されることも多いため、諸外国分については部位ごとの集計は行わなかった。内臓(冷蔵、非冷蔵)の汚染率は約5割から9割、平均約8割と、日本の約6割に比べ、若干高い傾向が見られた。冷凍鶏肉に関しても、諸外国では平均約5割と、日本の冷凍鶏肉に比べ、若干高い傾向が見られた。一方、ひき肉に関しては平均約13%と、日本の22%と大差のない結果であった。

Campylobacter 各菌種の構成割合については、国により若干の差異が認められた。

最後にカンピロバクターの検査法について概説する。検体の調整方法としては、1. ストマッカー法…ストマッカー等を用いて検体を乳剤化し、乳剤を試料とし

て用いる。

2. リンス法…検体を培地内で洗う、揉む等し、洗った後の培地を試料として用いる。

3. 浸漬法…検体を培地内に浸して、そのまま培養し、培養後の培地を試料として用いる。

4. ドリップ法…検体から自然に染み出た肉汁や血液等を試料として用いる。

5. スワブ法…検体表面を拭い、それを試料として用いる。

等の方法が取られていた。

検出方法としては、

1. 増菌法…増菌培地で増菌した後、分離培地で検出する。

2. 直接法…分離培地で直接、検出を行う。定量性がある。

3. MPN法…試料を段階希釈し、増菌法と同様に検出を行う。定量性がある。

その他、分子生物学的手法、免疫化学的手法、あるいは、それらを増菌法と組み合わせた方法が取られていた。

D. 考察

日本国内、および諸外国の市販鶏肉のカンピロバクター汚染状況について、文献的に調査を行ったところ、国や地域により若干の違いはあるものの、諸外国の市販鶏肉のカンピロバクター汚染率は、日本国内の市販鶏肉の汚染率と大きな違いはなかった。*Campylobacter* 各菌種の構成割合が国によって異なっていたことは、確認方法の違いの影響もあると考えられたが、考察しえなかった。

本年度は調査対象として、鶏肉とカン