

病因物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	204	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	13	6	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	3	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	2	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	55	15	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	6	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	984	55	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	9	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	19	8	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	25	7	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	13	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	18	8	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	6	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	6	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	14	6	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	9	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	128	13	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	9	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	1002	16	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	販売店	3	3	0
		2522	179	0

病因物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	7	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	9	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	6	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	12	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	6	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	6	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	14	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	76	30	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	3	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	6	6	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	9	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	9	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	3	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	10	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	8	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	13	5	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	5	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	45	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	21	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	6	3	0
		266	105	0

病因物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	その他	174	9	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	事業場-そ	6	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	その他	91	11	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	609	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	1570	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	377	110	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2544	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	6729	10	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	7	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	26	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	6	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	113	53	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	5	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	339	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	13	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	5	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	8	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	498	3	0
		13124	235	0
		12628	70	0

病因物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	仕出屋	199	4	1
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	151	5	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	10	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	4	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	477	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	125	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	54	11	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	8	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	仕出屋	3476	141	0
		4508	184	1

病因物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	その他	不明	30	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	6	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	事業場-給	162	74	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	9	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	病院-給食	19	7	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	10	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	病院-給食	876	123	9
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	5	1	0

細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	旅館	29	14	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	11	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	2	0
		1116	273	9

病因物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	14	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	1	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	製造所	454	195	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	15	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	11	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	4	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	8	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	旅館	199	86	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	12	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	506	4	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	事業場-給	不明	5	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	223	29	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	製造所	不明	26	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	製造所	5	3	0
		1460	378	0

病因物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2821	10	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	1	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	2	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	仕出屋	203	24	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	7	7	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	4	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	事業場-給	79	8	1
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	3	3	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	1	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	2	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	その他	569	41	0
細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	7	5	0
		3708	116	1
		3705	113	1

表7 平成12年食中毒発生事例

都道府県名等	発生月日	発生場所	原因食品	病原物質	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
横浜市	2月10日	神奈川県	オリジナルハンバーグ	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	2821	10	0
愛知県	3月22日	国内不明	不明	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	1	1	0
沖縄県	4月13日	沖縄県	不明(家庭の食事)	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	2	2	0
豊橋市	4月24日	愛知県	仕出し料理のうち、えびフライ、焼	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	仕出屋	203	24	0
和歌山市	5月4日	国内不明	不明	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	7	7	0
東京都	5月9日	国内不明	不明	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明		3	0
広島県	5月9日	広島県	不明	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	家庭	4	3	0
東京都	6月21日	東京都	不明(飲食店の食事)	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	2	0
横浜市	6月22日	神奈川県		細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	1	0
埼玉県	6月23日	埼玉県		細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	事業場	79	8	1
沖縄県	7月10日	沖縄県		細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	不明	不明	1	0
東京都	7月18日	東京都	不明(飲食店の食事)	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	1	0
大阪市	7月24日	大阪府		細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	4	2	0
福岡県	8月25日	福岡県		細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	不明	2	0
千葉県	10月29日	千葉県	生の丸焼き	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	その他	569	41	0
徳島県	11月28日	徳島県	不明(焼肉)	細菌-腸管出血性大腸菌(VT産生)	飲食店	7	5	0
計	16例					3705	113	1

表8 食中毒事例 腸管出血性大腸菌食中毒事件1件当たりの患者数の中央値と平

	平成12年	平成13年	平成14年	平成15年	平成16年	平成17年	平成18年
中央値	2.50	2.00	6.00	4.00	3.00	3.00	4.00
平均値	7.06	15.75	21.00	15.33	3.89	4.38	7.46

図1 国産牛肉と輸入牛肉の流通量

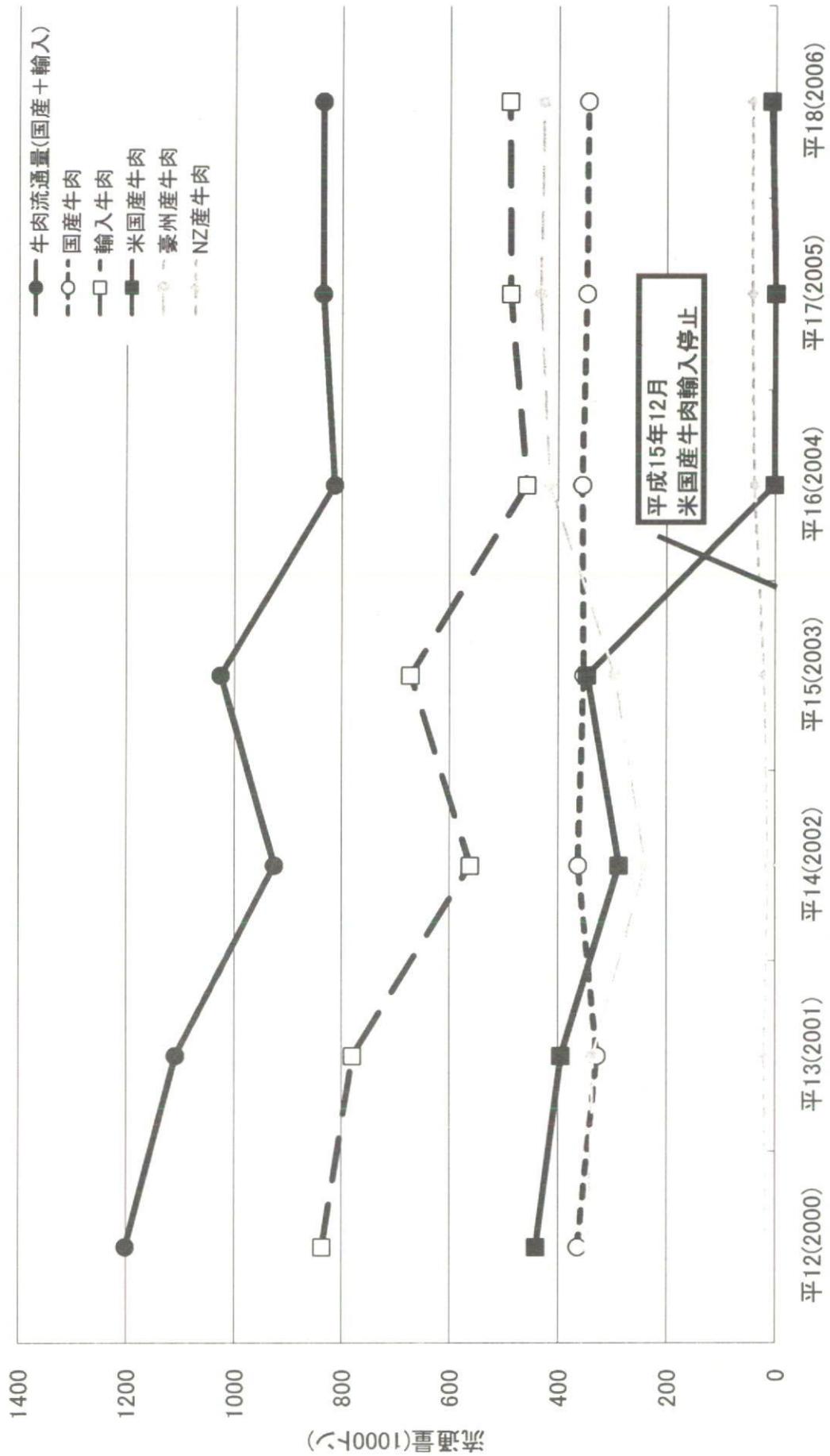


図2 感染症発生動向調査 腸管出血性大腸菌感染症 報告数

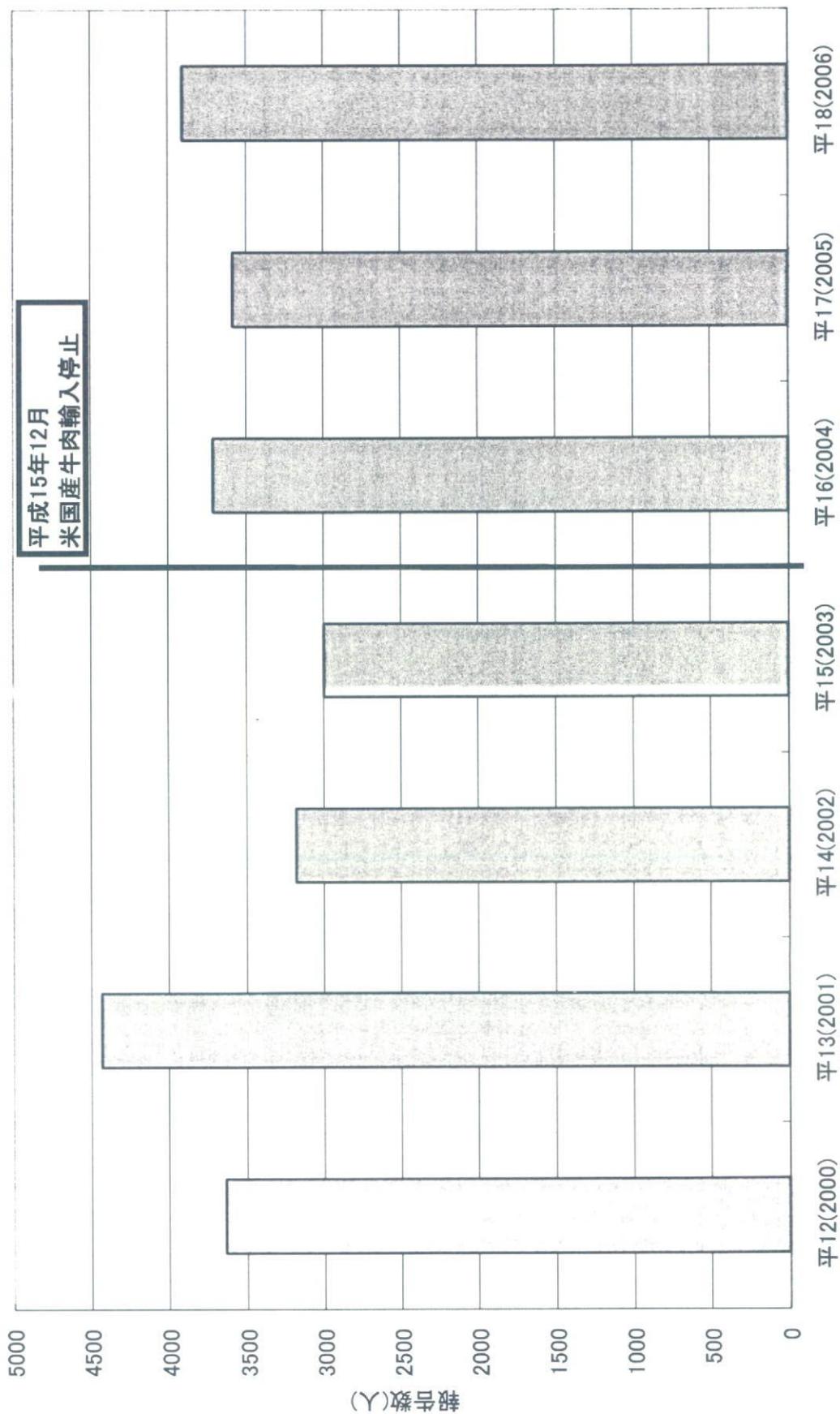


图3 食物中毒事例 腸管出血性大腸菌(VT産生) 事件数

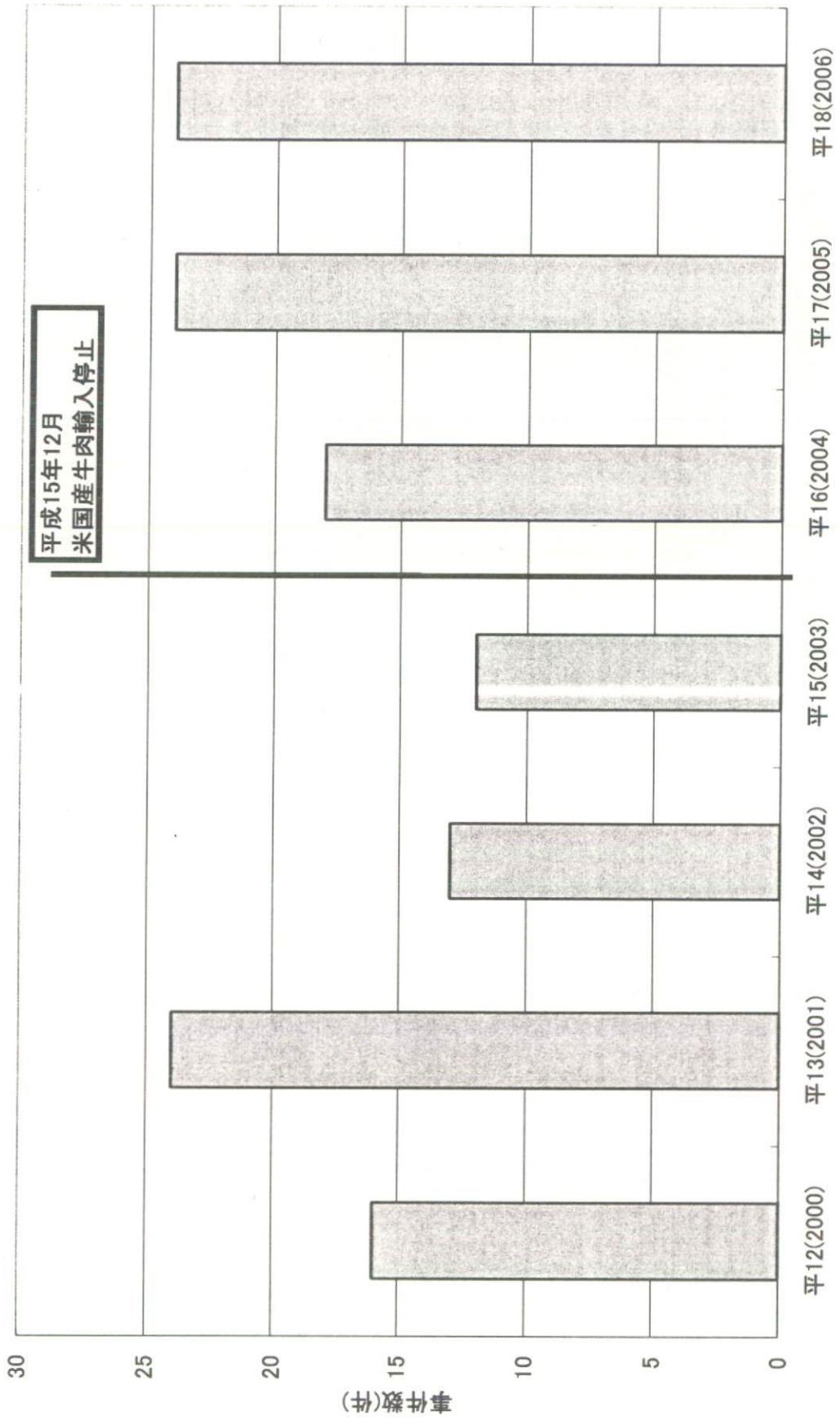


图4 食物中毒发生事例 腸管出血性大腸菌(VT産生)患者数

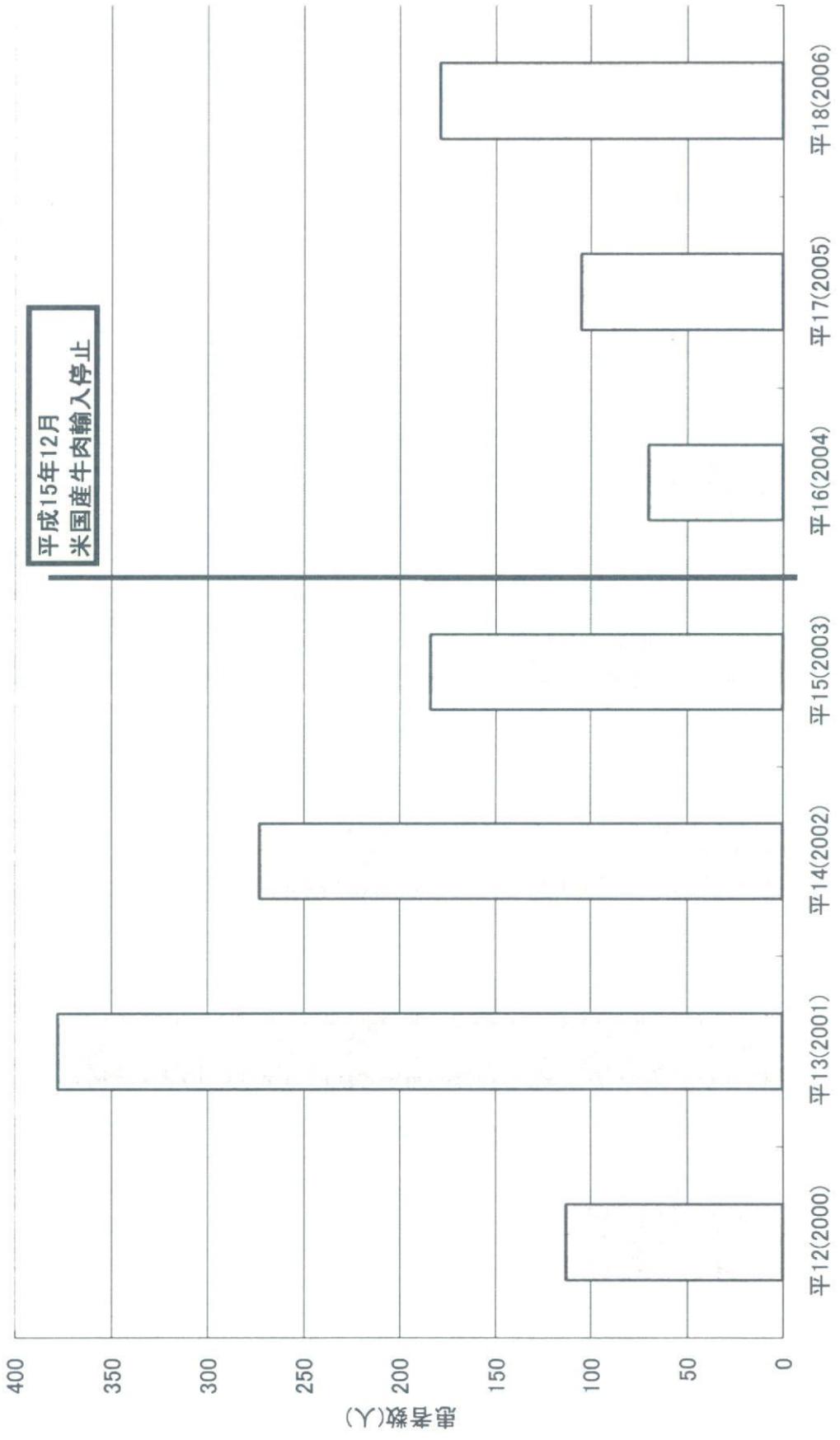


图5 食中毒発生事例 腸管出血性大腸菌(VT産生)患者数と米国産牛肉輸入量

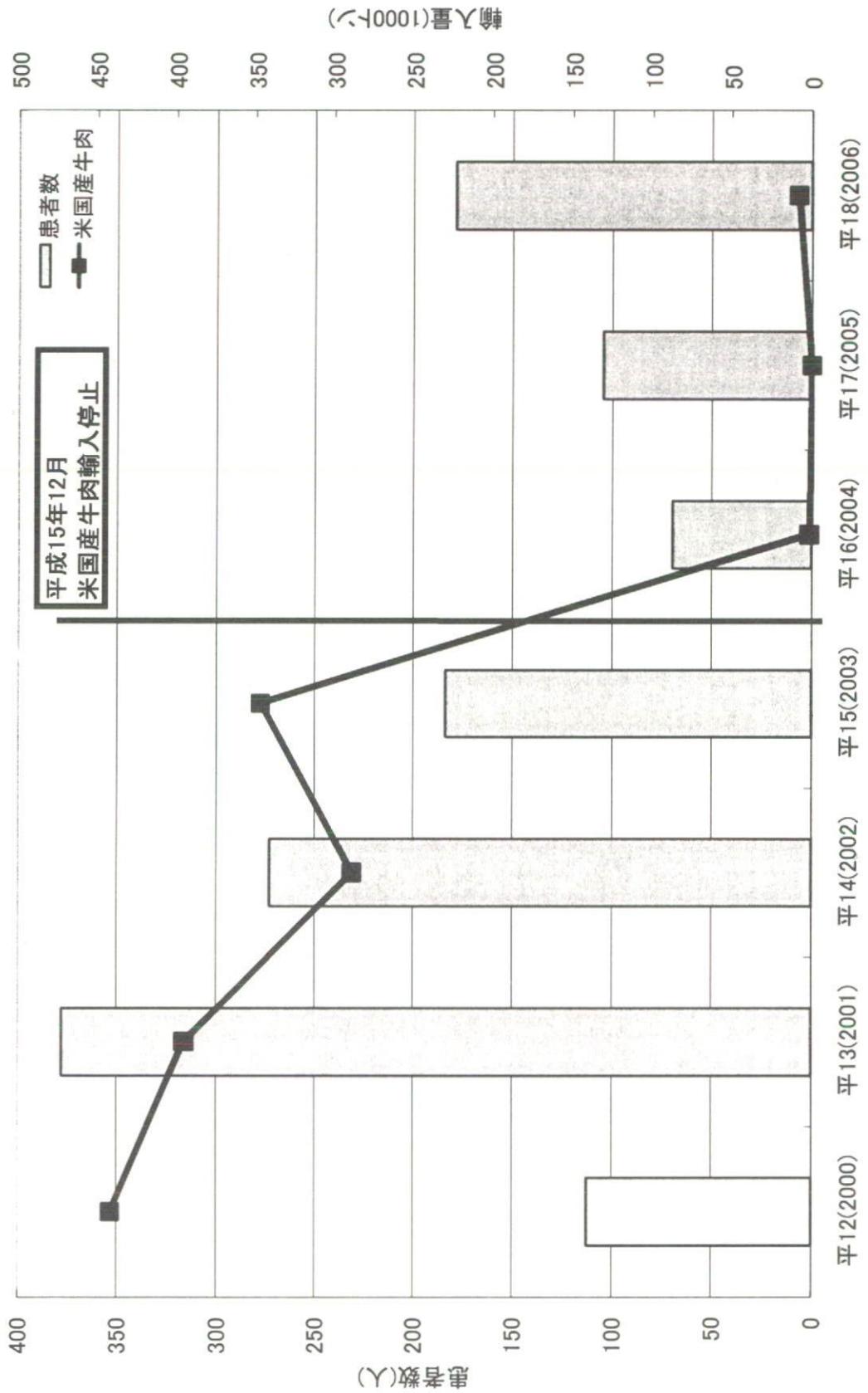


図6 食中毒発生事例 腸管出血性大腸菌(VT産生) 事件数と米国産牛肉輸入量

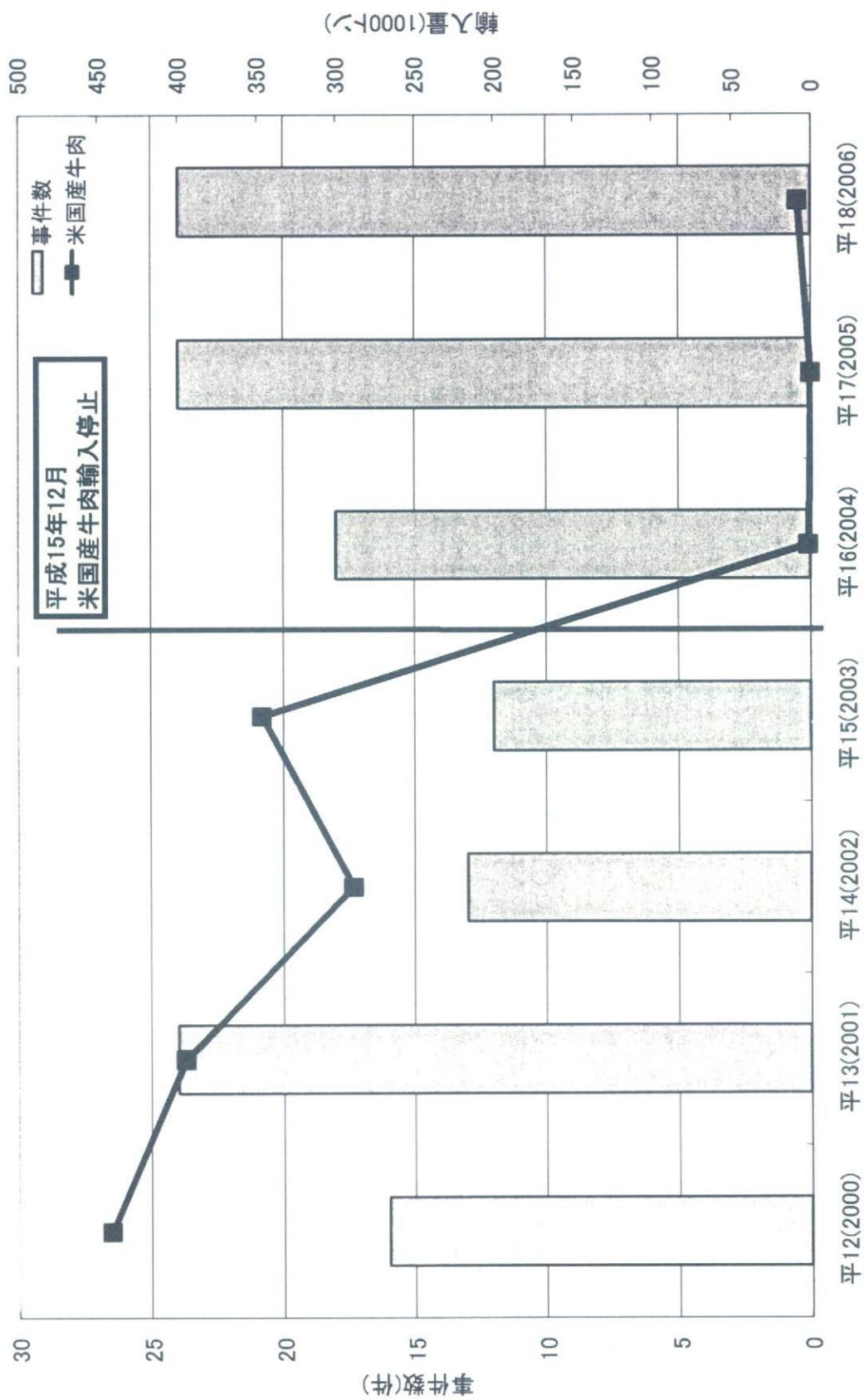


図7 感染症発生動向調査 腸管出血性大腸菌感染症 報告数と米国産牛肉輸入量

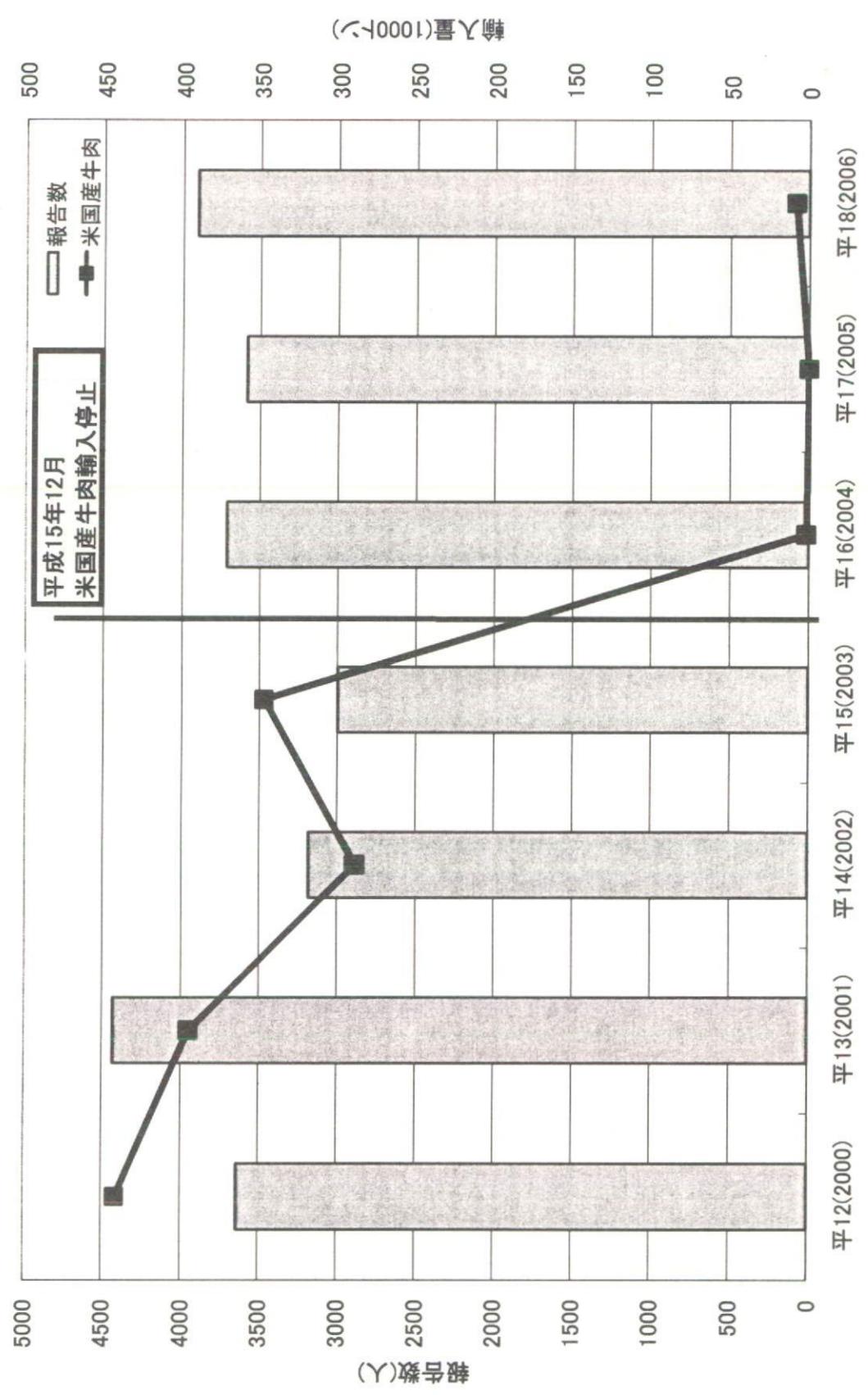
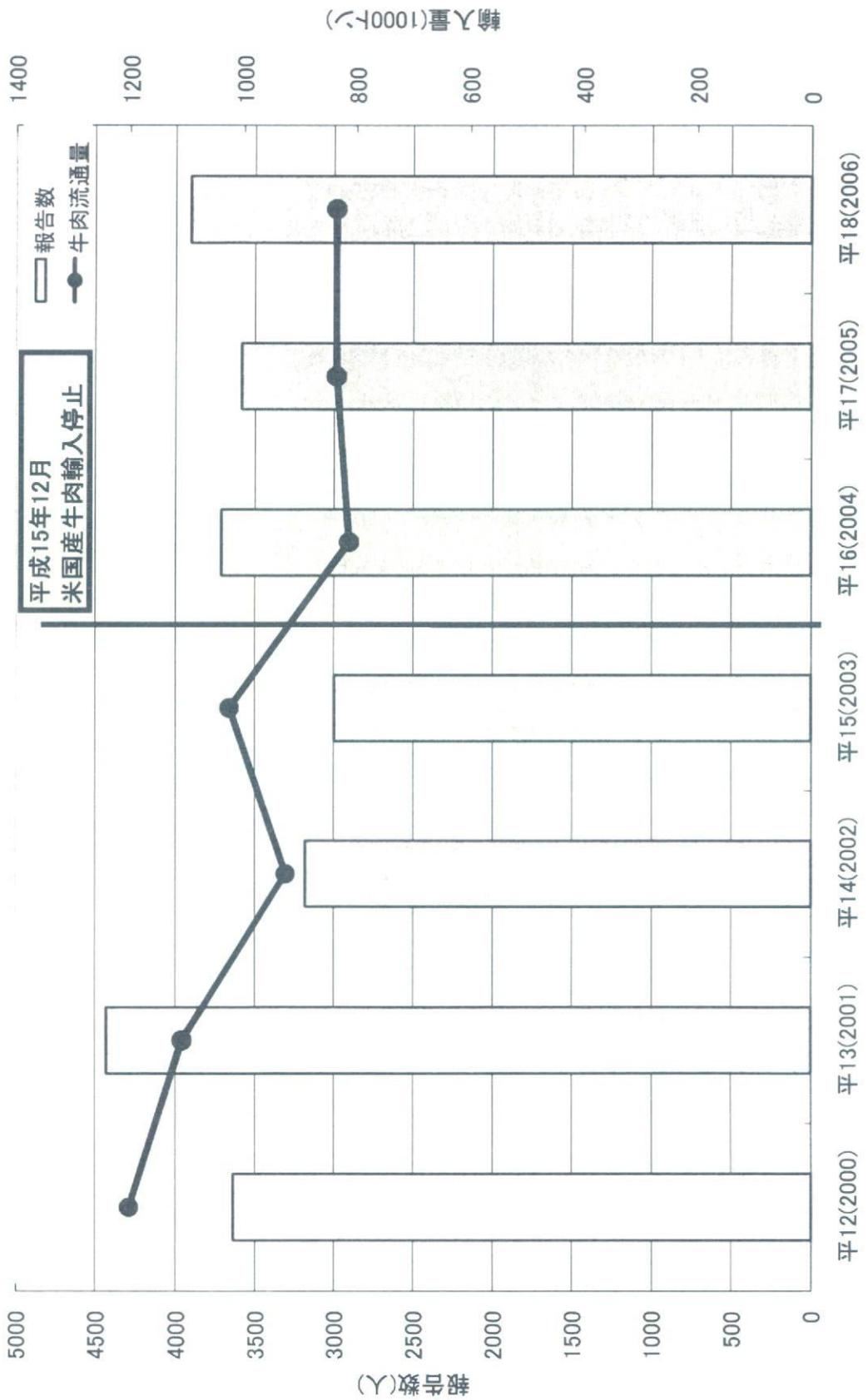


図8 感染症発生動向調査腸管出血性大腸菌感染症報告数と牛肉流通量



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

4. 輸入非加熱食肉食品の *Listeria monocytogenes* による汚染状況

分担研究者 岡田 由美子

厚生労働科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

輸入非加熱食肉食品の *Listeria monocytogenes* による汚染状況

分担研究者 岡田由美子

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

主要な人畜共通感染症のひとつであり、脳脊髄膜炎、流死産を引き起こすリステリア症の原因菌である *Listeria monocytogenes*（以下リステリア）は、家畜の腸管内、土壌、河川水や食品工場など様々な環境に遍在している。人へは主にナチュラルチーズ、食肉製品、サラダ等の非加熱喫食食品を中心とする汚染食品の摂取を通じて媒介されるが、本菌は食塩耐性、低温増殖能などの高度な環境抵抗性を持つことから、食品やその原料への1次汚染や食品製造工程での2次汚染、保存過程での増殖の抑制は困難である。欧米では数年おきに乳製品や食肉製品によるヒトのリステリア症の集団事例が報告されており、わが国でも年間約80例の散発事例の発生が推測されている。髄膜炎等の重篤なリステリア症では潜伏期間が約1ヶ月と長期にわたるため、その原因食品が特定されないことがしばしばみられる。しかしながら、近年人気を博しておりその輸入量が増大している生ハム等の非加熱食肉製品やナチュラルチーズは賞味期限が長く、長期の冷蔵保存がなされるため、リステリア症の感染源としていくつかの国では妊婦、高齢者などのハイリスクグループには喫食の自粛を呼びかけている食品であり、国内での主要な原因食品のひとつと疑われるものである。今回、国内で行われている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。

A. 研究目的

自然界に幅広く分布しており、多種の食品から分離される *L. monocytogenes* の人への主な感染経路は汚染食品の摂取及び感染した母体から胎盤や産道を通じた母子感染である。本菌は0℃以下でも増殖可能な低温増殖能や20%もの高食塩濃度下でも生残できる高塩濃度耐性能を持つことから食品原

料の一次汚染のみならず製造工程及び保存期間での二次汚染・食品内増殖を防ぐことも困難となっている。近年国内で人気が高く、輸入される量、種類共に増加している非加熱食肉製品は、製造工程における熟成期間が長く、出荷後の冷蔵保存下での賞味期限も数ヶ月にわたるものが多いため食品内での本菌の増殖が起こりやすく、食品媒介リステリア

症の有力な原因食品のひとつである可能性が高い。本研究では、効率的な輸入食品の微生物モニタリングシステム構築のための研究の一端として、現在国内で一般に流通している輸入非加熱食肉加工品における *L. monocytogenes* の保菌状況について調査を行った。

B. 研究方法

1. 検体

都内デパート、スーパーマーケット等で購入した、輸入非加熱食肉加工品 68 検体について調査を行った(表1)。これらのうち67検体は、原産国でパッケージされ、日本国内では加工されていないものであった。

2. *L. monocytogenes* の分離・同定及び型別
各検体を25gに無菌的に切断してリステリア選択培地(UVM II 培地)(オキシノイド) 22.5 ml とともにストマッカー袋に入れ、ストマッカー(GSI クレオス製、マスティケーター)にかけ(毎秒8ストロークで120秒)、懸濁液を作成した。その1 ml を PALCAM リステリア選択寒天培地(oxoid) 3枚に塗布し30°C一夜以上培養した。疑わしいコロニーを全数釣菌し、確認試験を行った(直接培養)。残った懸濁液を30°Cで48時間培養してその0.2 ml を1枚の PALCAM 寒天平板に塗布し、30°C一夜以上培養した。疑わしいコロニー5個を釣菌し、確認試験を行った(増菌培養)。

確認試験のため、得られたリステリア様コロニーを CHROM agar *Listeria* (関東科学) に画線培養し、ハローを周囲に持つ青色コロニーの形成を確認した。PALCAM 寒天平板上で単一コロニーを形成するよう培養し、得られたコロニーからポアメディア羊血液寒

天(栄研)を用いた CAMP test および API *Listeria* (日本ビオメリュー)を用いて性状を検査した。さらに、単一コロニーをバッファー(Tris(pH8.0) 10mM, EDTA (pH8.0) 1mM) 50 μ l に懸濁し、100°C10分間加熱処理したものを高速遠心機で15000rpm 10分処理した上清を用いて PCR を行った。PCR には *L. monocytogenes* の病原因子、*hly* および *iap* 内からそれぞれ一組のプライマー(*hly* は CATCTCCGCCTGCAAGTCCTAA と ATTACGGCTTTGAAGGAAGAA、*iap* は CAAAGGTGGATCCAAAGTAACTGT と TGGAGCTTCCGAATTCACCTTCTG)を用いた。

L. monocytogenes と同定された株について、リステリア免疫診断用血清「生研」(デンカ生研)を用いて血清型別を行った。また、分子遺伝学的型別としてリボプリンターシステム(日本ロシュ)を用いたリボタイピングを行った。

3. 生化学性状の評価

各検体の pH をラコムテスター pH 計(アズワン)を用いて、Aw 値は水分活性計(GSI クレオス)を用いて測定した。

C. 研究結果

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(表2)。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 (表 3)。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 (表 3)。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。

D. 考察

1. 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。

E. 結論

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。

F. 健康危険情報

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. 学会発表

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

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

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

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1. 検体

種類別内訳	検体数(%)
生ハム	49(72.1)
サラミソーセージ	19(27.9)

原産国別内訳

イタリア	35 (51.5)
スペイン	29 (42.6)
アメリカ合衆国	4 (5.9)

表 2. 輸入非加熱食肉製品からの *L. monocytogenes* 分離率

陽性検体数/ 検体数 (%)				
食品別	生ハム	サラミ	合計	
	2/ 49 (4.1%)	2 / 19 (10.5%)	4/ 68 (5.9)	
原産国別	イタリア	スペイン	USA	合計
	0/ 35 (0%)	4/ 29% (13.8%)	0/ 4(0%)	4/ 68(5.9%)