

(社会的損失額) × (サルモネラ食中毒死亡者減少数)
=2.42 億円/人×1.74 人/年
=約 4.21 億円/年
と推定される。

2. 1. 3 3つの対策全体の社会的便益の推定

3つの対策全体の年間社会的便益(年間)は、2. 1. 1 および2. 1. 2 において推定したサルモネラ食中毒の患者減少便益と死亡者減少便益の合計として、約 234.5 億円/年と推定される。

1. 4 と同様に、計算期間 10 年間の現在価値での社会的便益は、

$$\sum_{t=0}^{9} \frac{234.4}{1.04^t} = \text{約 } 1,978 \text{ 億円}$$

と推定される。

2. 2 3つの対策全体の社会的便益に対する各対策の寄与度の推定

2. 2. 1 リスクアセスメントモデルの見直し

3つの対策全体の社会的便益に対する各対策の寄与度を推定するために、平成 20 年度研究において USDA/FSIS(2005)をベースに、わが国における殻付き卵の生産・流通・喫食の実態や対策シナリオ(コールドチェーン導入および日付表示義務)を反映したリスクアセスメントモデルを構築した。

平成 21 年度研究では、有識者との議論を通じて、平成 20 年度研究において設定した殻付き卵の保管・流通時間や温度等に関する値のうち、根拠データを欠いた仮定値の見直しを図った。図表 8 には、対策を講じなかった場合(ベースケース)の設定値の見直し結果を示す。また、図表 9 には対策シナリオの設定値の見直し結果を示す。なお、図表 7 としてリスクアセスメントモデルにおいて想定した殻付き卵のフードチェーンを示した。

また、平成 20 年度研究においてはコールドチェーンの導入率を 30%と設定したが、平成 21 年度研究においては 30%をベースケースとし、感度分析的に 20%、10%のケースも設定した。

2. 2. 2 シナリオ別の食中毒リスクの推

定

2. 2. 1 に示したリスクアセスメントモデルの見直し結果に基づき、ベースケースおよび3つの対策シナリオを組み合わせた8つのシナリオについて、それぞれモンテカルロシミュレーションソフトである Palisade 社@Risk4.5 日本語版を用いてラテンハイパーキューブ法による 10 万回のシミュレーションを再実行した。その結果として得られた食中毒リスク(年間サルモネラ食中毒発症確率)の平均値を図表 10 に示す。

2. 2. 3 個別対策の便益への寄与度の推定

(1) 個別対策の食中毒リスク低減効果の推定

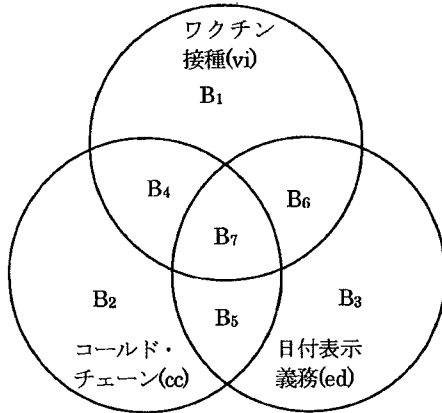
個別対策の食中毒リスク低減効果を推定する方法としては2つの方法がある。第一の方法は、全ての対策が講じられていない場合(Without ケース)と、ある対策のみが講じられた場合(With ケース)とを比較したときの食中毒リスクの低減度合から推定する方法である。第二の方法は、全ての対策が講じられている場合(With ケース)と、ある対策のみが講じられていない場合(Without ケース)とを比較したときの食中毒リスクの増加度合から推定する方法である。

平成 20 年度研究においてはいずれの方法でも個別対策の食中毒リスク低減効果に大きな差が生じなかったため、どちらの考え方を採用すべきかを明示しなかった。

平成 21 年度研究においては、相互に部分代替性を有する対策を含む3つの対策がほぼ同時期に講じられたとの経緯を踏まえるとともに、ある対策がなくても、「他の対策でサルモネラ食中毒リスクをある程度低減させることができるならば、当該対策の社会経済的意義は小さい」との考え方にに基づき、第二の方法によって食中毒リスク低減効果を推定する。第一の方法では対策間の代替性は考慮されない。なお、3つの対策が完全に独立であれば、両者は一致するが、少なくとも日付表示義務とコールドチェーンは部分代替的である。

下図に各対策を複合的に講じた場合の対策別の食中毒リスク低減効果の概念図を示す。3つの円の和集合が3つの対策を全て講じた場合の食中毒リスク低減効果となる。この図を用いると、各対策の食中毒リスク低減効果は次のとおりとなる。

ワクチン接種 : $B_{vi} = B_1$
 コールドチェーン : $B_{cc} = B_2$
 日付表示義務 : $B_{ed} = B_3$



(2) 個別対策の便益への寄与度の推定

ある対策の食中毒リスク低減効果への寄与度を、当該対策の食中毒リスク低減効果を3つの対策の食中毒リスク低減効果の和で除した値として定義する。すなわち、(1)の標記を用いると、各対策の寄与度は次式で表わされる。

$$\text{ワクチン接種} : b_{vi} = \frac{B_{vi}}{B_{vi} + B_{cc} + B_{ed}}$$

$$\text{コールドチェーン} : b_{cc} = \frac{B_{cc}}{B_{vi} + B_{cc} + B_{ed}}$$

$$\text{日付表示義務} : b_{ed} = \frac{B_{ed}}{B_{vi} + B_{cc} + B_{ed}}$$

各対策の食中毒リスク低減効果への寄与度を図表 11 に示す。コールドチェーン導入率が 30% の場合 (ベースケース)、各対策の寄与度は、ワクチン接種が 12.4%、コールドチェーンが 49.8%、日付表示義務が 37.7% である。

2. 3 3つの対策の個別便益の推定

2.1 において推定した3つの対策が全て講じられた場合の計算期間 10 年間の現在価値での社会的便益は 1,978 億円であった。

これに 2.2.3 で推定した個別対策の便益への寄与度を乗じることで個別対策の便益は図表 12 のとおり推定される。

コールドチェーン導入率が 30% の場合 (ベースケース)、ワクチン接種が 246 億円、コールドチェーンが 986 億円、日付表示義務が 746 億円と推定される。

なお、相互に部分代替性を有する複数の対策を同時に講じた場合に、ここで採用した寄与度を用いて個別便益を推定する方法は、相互に代替可能な部分の便益 (2.2.3 (1) の図における $B_4 \sim B_7$) を、個別対策の代替不可能な部分の便益 (B_1, B_2, B_3) の比率で按分して個別対策の便益に計上することを意味する。

3. 殻付き卵のサルモネラ汚染防止対策の経済効果の推定

各対策について計算期間 10 年の現在価値として 1. で推定した社会的費用 (C) (推定結果の一部を図表 13 として再掲) と、2. で推定した社会的便益 (B) を用いて、殻付き卵のサルモネラ汚染防止対策の経済効果を純便益 (NPV: Net Present Value) および費用便益比 (CBR: Cost Benefit Ratio) として推定した結果を図表 14 および図表 15 に示す。

コールドチェーン導入率が 30% の場合 (ベースケース)、ワクチン接種の純便益は 164 億円、費用便益比は 3.00、コールドチェーンの純便益は 556 億円、費用便益比は 2.29、日付表示義務の純便益は 584 億円、費用便益比は 4.61、3つの対策全体の純便益は 1,304 億円、費用便益比は 2.93 と推定される。

また、コールドチェーン導入率が 20% および 10% の場合においても、いずれの個別対策および 3つの対策全体の純便益は正であり、費用便益比は 1 を超えている。

4. 研究成果のまとめ

4.1 3つの対策全体の経済効果

3つの対策全体の経済効果は、感度分析として設定したコールドチェーン導入率によって異なるものの、NPV は 1300~1600 億円、CBR は 2.9~5.1 となっていることから、3つの対策は全体として社会経済的な実施妥当性が認められる。

なお、With ケースでのコールドチェーン導入率が不確実であるため、その値を 30%、20%、10% と変化させて設定して経済効果を分析したが、これが高いほど3つの対策全体の NPV、CBR が低下している。これは、3つの対策全体の社会的便益 1,978 億円が固定されている下で、これを生み出すために、コールドチェーン導入率が高いほど、コールドチェーン導入に係る社会的費用が

より多くかかっているためである。従って、施策としてコールドチェーン導入率を高めるほど NPV、CBR が低下するわけではないことに留意が必要である。

4. 2 個別対策の経済効果

3つの個別対策すべてについて NPV > 0、CBR > 1 となっていることから、いずれの個別対策も社会経済的な実施妥当性が認められる。

3つの対策のうち日付表示義務の効率性が最も高い (CBR=4.9~7.1)。

また、コールドチェーン導入とワクチン接種の効率性については、コールドチェーン導入率が10%、30%の場合にはワクチン接種の方がコールドチェーンよりも効率性が高く、コールドチェーン導入率が20%の場合にはコールドチェーン導入の方がワクチン接種よりも効率性が高い。これも3つの対策全体の社会的便益1,978億円が固定されている下で、コールドチェーン導入率を変化させたときに、その社会的費用と寄与率が変化す中でこのような結果が得られたものである。

D. 考察

1. 便益が過大評価されている可能性

本研究では、サルモネラ食中毒患者数、死亡者数の減少が全て3つの対策のみによる効果であると仮定しており、他の要因は考慮されていない。例えば、3つの対策の他にも、飲食店、旅館・ホテル等において、朝食に生卵を出さない等の個別取組みが行われている。また、鶏卵の消費量の減少や、鶏卵の生食量の減少といった食生活の多様化や食習慣の変化もみられる。このため、3つの対策の便益は過大評価されている可能性がある。

一方で、上記の例などはサルモネラ汚染防止対策の実施による波及的影響である可能性も有識者から指摘されている (すなわち、こうした対策の実施により、飲食店や旅館・ホテル等の意識が変容し衛生管理の強化が図られた、一般消費者の意識が変容し生食が減少したなど)。

いずれにしても、個別対策の CBR は最低でも 2.29 であるため、これが過大評価されているとしても、3つの対策の社会経済的な実施妥当性は認められ得るといえる。

2. 対策の効果等に関する地域的季節的差異

本研究ではサルモネラ汚染防止対策に係る社会

的費用、社会的便益を日本全国で一括して推定し、経済効果を分析した。しかし、リードタイム短縮 (コールドチェーン導入、日付表示義務) や温度管理 (コールドチェーン導入) の効果やランニングコストは、気温が異なる地域・季節によって異なる可能性が高い。従って、個別対策の効率性は地域・季節によって異なる可能性が高い。例えば、気温が低い地域・季節 (北海道地方・東北地方や冬期) においては、コールドチェーン導入や日付表示義務の効率性が低く、ワクチン接種の効率性が高くなることが想定される。逆に、気温が高い地域・季節 (九州・沖縄地方や夏期) においては、コールドチェーン導入や日付表示義務の効率性が高く、ワクチン接種の効率性が低くなることが想定される。

E. 結論

平成 21 年度研究においては、日付表示義務およびコールドチェーンの導入に係る社会的費用の推定方法を見直すとともに、ワクチン接種を含む3つのサルモネラ汚染防止対策それぞれの社会的費用の推定を行った。コールドチェーンについては導入率が不確実なため、30%をベースケースとして、20%、10%の値を設定した感度分析を実施した。

また、3つの対策全体の社会的便益を、サルモネラ食中毒患者減少便益およびサルモネラ食中毒死亡者減少便益として推定した。

3つの対策それぞれの個別便益を推定する手法については、ベースケースおよび対策シナリオにおける殻付き卵の保管・流通時間や温度等に関する設定値の見直しを行った。これに基づいて、3つの対策それぞれの個別便益を推定した。

3つの対策全体、個別対策の NPV、CBR を推定した結果、3つの対策全体、3つの個別対策の社会経済的な実施妥当性が検証された。また、3つの対策のうち日付表示が最も効率的であることが検証された。

今後の課題としては、社会的費用、社会的便益の推定に用いた設定値のさらなる見直しと精緻化を図る必要がある (特に感度分析を実施したコールドチェーン導入率)。

また、対策の効果に関する地域的・季節的差異の分析を実施し、その結果をよりきめ細かな対策実施に反映させていく必要がある。

さらに、本研究で実施した経済効果分析をサルモネラ以外の食中毒原因物質に適用することで、より効率的かつ効果的な食中毒防止対策の選択（事前）および食中毒防止対策実施後の効果の検証（事後）を行い、さらに効率的かつ効果的な食中毒防止対策の実施に反映させていくなど、PDCA サイクルの実現のためのツールとして活用していくことが望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図表1 ワクチン接種に伴う社会的費用項目

項目	影響主体	定量的把握の可能性	備考
薬剤費	養鶏業者	◎	本研究における社会的費用として計上
人件費	養鶏業者	◎	
ワクチン接種に係るコストの鶏卵価格への転嫁による鶏卵売上減	鶏卵業者	△	
ワクチン接種に伴う安心感向上による鶏卵売上増	鶏卵業者	△	

図表2 日本で認可されているSE ワクチン一覧

商品名称	イナクティ/バック-SE	オイルバックス SET	京都微研ポールセーバー SE/ST	サレンバック	ビニューバックス SE	レイヤーミューン SE
製造販売業者名	(株)ゲン・コーポレーション	(財)化学及血清療法研究所	(株)微生物化学研究所	(株)インターベット	メリアル・ジャパン(株)	(株)シーエーエフラボラトリーズ
投与経路	皮下注射	皮下注射	筋肉内注射	筋肉内注射	筋肉内注射	皮下注射
用法用量	1羽あたり 0.5mL×2回	1羽あたり 0.5mL	1羽あたり 0.25mL×2回	1羽あたり 0.5mL×2回	1羽あたり 0.3mL	1羽あたり 0.5mL
シェア(H20)	11%	42%	6%	27%	9%	5%

図表3 賞味期限、産卵日、包装日等の表示状況

表示媒体	パック数	%	賞味期限以外の表示内容（パック数）
表示書	72	57.1	産卵日 2、包装日 6
表示書及び豆シール	34	27.0	包装日 16、「生食」文字 18
豆シール	16	12.7	産卵日 7、包装日 7
卵殻印字	4	3.1	

注：％は全調査126パックに対する割合

出典：中央鶏卵規格取引協議会「2008年度パック詰小売鶏卵の規格及び品質検査の概要」

図表4 殻付き卵のサルモネラ汚染防止対策の社会的費用の推定

対策	初期投資 (億円)	ランニングコスト (億円/年)	総社会的費用* (億円)
ワクチン接種	0	9.74	82

コールド チェーン導入	コールド チェーン 導入率	30%	240	22.5	430
		20%	160	15.0	287
		10%	80	7.5	143
日付表示義務			14.75	17.5	162
合計	コールド チェーン 導入率	30%	254.75	49.74	674
		20%	174.75	42.24	531
		10%	94.75	34.74	387

*計算期間 10 年間、社会的割引率 4 % の下での現在価値合計

図表5 サルモネラ食中毒患者数、死亡者数の推移

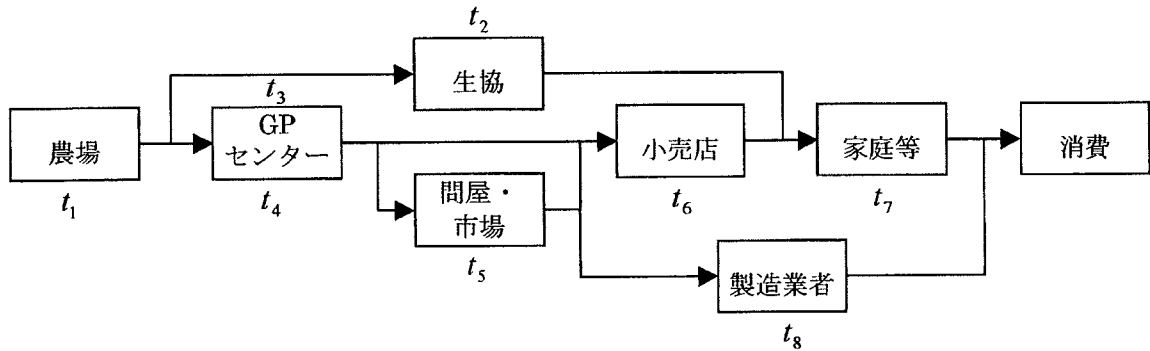
	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	計
患者数 (人)	16,576	10,926	11,471	11,888	6,940	4,912	5,833	6,517	3,788	3,700	2,053	3,603	2,551	90,758
推定患者 数(千人)	3,978	2,622	2,753	2,853	1,666	1,179	1,400	1,564	909	888	493	865	612	21,782
死亡者数 (人)	3	2	1	3	1	0	2	0	2	1	1	0	0	16

*出典：厚生労働省「食中毒監視統計」(患者数、死亡者数)

図表6 With/Without ケースと対策効果

	Without ケース	With ケース	Without-With (対策効果)
推定患者数 (千人)	3,118 (H8-10 平均)	753 (H16-H20 平均)	2,364
推定死亡者数* (人)	2.29	0.55	1.74

*推定患者数と患者平均死亡率から推定



図表7 リスクアセスメントモデルにおいて想定した殻付き卵のフードチェーン

図表 8 ベースケースにおける設定値の見直し結果

段階	項目	設定値	備考		
生産(農場)	産卵時の卵内部温度 T_0 (°C)	$T_0 = 37$	熊谷ら(2001) ¹³		
	保管時間 t_1 (日)	$t_1 = RiskUniform(0,3)$	熊谷ら(2001)		
	保管温度 T_1 (°C) (常温)	$T_1 = T$	常温 : 品川(1999) ¹⁴		
流通・保管	流通経路別流通時間(日)	生協から家庭直送	$t_2 = RiskUniform(1,3)$	熊谷ら(2001)	
		GPC*1-小売店-家庭等	GPC	$t_3 = RiskUniform(1,2)$	熊谷ら(2001)
			小売店	$t_6 = RiskUniform(1,3)$	熊谷ら(2001)
			家庭等	$t_7 = RiskTriang(0.5,1,7)$ → $RiskTriang(0.5,2,14)$	仮定
		GPC-問屋-小売店-家庭等	GPC	$t_4 = RiskUniform(1,5)$	熊谷ら(2001)
			問屋・市場	$t_5 = RiskUniform(2,6)$	熊谷ら(2001)
			小売店	$t_6 = RiskUniform(1,3)$	熊谷ら(2001): 前掲
			家庭等	$t_7 = RiskTriang(0.5,1,7)$ → $RiskTriang(0.5,2,14)$	仮定 : 前掲
		GPC-問屋-製造業者	GPC	$t_4 = RiskUniform(1,5)$	熊谷ら(2001): 前掲
			問屋・市場	$t_5 = RiskUniform(2,6)$	熊谷ら(2001): 前掲
	製造業者		$t_8 = RiskUniform(1,7)$	熊谷ら(2001)	
	温度(°C)	流通時 T_2 (常温)	$T_2 = T$	常温 : 品川(1999)	
		生協・小売店・製造業者 T_3	$T_3 = IF(T > 30, 30, IF(T < 5.5, T))$ → $IF(T > 25, 25, IF(T < 15, 15, T))$	仮定 : 冷暖房考慮	
		家庭等 T_4	$T_4 = 5 \rightarrow RiskTriang(5, 8, 10)$	仮定 : 冷蔵温度	
	経路割合	生協から家庭直送	$r_1 = 11\%$	熊谷ら(2001)	
		GPC-小売店-家庭等	$r_2 = 48\%$		
GPC-問屋-小売店-家庭等		$r_3 = 2\%$			
GPC-問屋-製造業者		$r_4 = 38\%$			
共通	常温 T	$T = RiskDuniform(\{T_m\})$ $T_m = RiskDuniform(\{T_{m,i}\})$ $T_{mi} = RiskTriang(T_{mi_min}, T_{mi_ave}, T_{mi_max})$ $m=1\sim 12$ (月), $i=1\sim 47$ (県庁所在都市) $t_{mi_}$: 都市 i の月平均気温の最小値、平均値、最大値 ('70-'00 の 31 年間)	都道府県庁所在都市月平均気温: 気象庁データ		

*1: GPC=GPセンター, *2: 流通・保管温度 $T_1 \sim T_3$ ではシミュレーションの同一試行中で同一の常温 T を用いる。
 ※網掛け箇所はモデルを修正した箇所であることを示す。

図表 9 サルモネラ汚染対策シナリオにおける設定値の見直し結果

- ¹³ 熊谷進、春日文子、山本茂貴、岩堀淳一郎、豊福肇、小坂健、温泉川肇彦、大森牧子、和田正道、藤川浩、広田雅光「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に関する試行的リスクアセスメント」平成 12 年度厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)「食中毒原因究明方策に関する研究」(主任研究者: 三瀬勝利), 分担研究報告書, 2001
- ¹⁴ 品川邦汎「卵及び卵加工品におけるサルモネラエンテリティディスの汚染とその対策」食品衛生雑誌 Vol.40 No.1, 1999.2

段階	項目	ベースケース	ベースケースからの変更点			
			コールドチェーン	日付表示義務		
生産(農場)	産卵時の卵内部温度 T_0 (°C)	$T_0 = 37$				
	保管時間 t_1 (日)	$t_1 = Uniform(0,3)$	$Uniform(0,2/3)$	$Uniform(0,2/3)$		
	保管温度 T_1 (°C)	$T_1 = T$	10			
流通・保管	流通経路別流通時間(日)	生協から家庭直送	$t_2 = Uniform(1,3)$	$Triang(1,1,2)$	$Triang(1,1,2)$	
		GPC*1-小売店-家庭等	GPC	$t_3 = Uniform(1,2)$	$Uniform(1/3,7/12)$	$Uniform(1/3,7/12)$
			小売店	$t_6 = Uniform(1,3)$		
			家庭等	$t_7 = Triang(0.5,1,7)$ → $Triang(0.5,2,14)$		$Triang(0.5,1,3)$ → $Triang(0.5,2,14)$
		GPC-問屋-小売店-家庭等	GPC	$t_4 = Uniform(1,5)$	流通経路として考慮せず	$Uniform(1/3,7/12)$
			問屋・市場	$t_5 = Uniform(2,6)$		$Uniform(1,3)$
			小売店	$t_6 = Uniform(1,3)$		
			家庭等	$t_7 = Triang(0.5,1,7)$ → $Triang(0.5,2,14)$		$Triang(0.5,1,3)$ → $Triang(0.5,2,14)$
		GPC-問屋-製造業者	GPC	$t_4 = Uniform(1,5)$		$Uniform(1/3,7/12)$
			問屋・市場	$t_5 = Uniform(2,6)$		$Uniform(1,3)$
			製造業者	$t_8 = Uniform(1,7)$		$Uniform(1,3.5)$
		温度(°C)	流通時 T_2 (常温)	$T_2 = T$		10
			生協・小売店・製造業者 T_3	$T_3 = IF(T > 30, 30,$ $IF(T < 5, 5, T))$ → $IF(T > 25, 25,$ $IF(T < 15, 15, T))$	10	
			家庭等 T_4	$T_4 = 5$ → $RiskTriang(5,8,10)$		
		経路割合	生協から家庭直送	$r_1 = 11\%$	$r_1 = 20\%$	
			GPC-小売店-家庭等	$r_2 = 48\%$	$r_2 = 80\%$	
GPC-問屋-小売店-家庭等	$r_3 = 2\%$		$r_3 = 0\%$			
GPC-問屋-製造業者	$r_4 = 38\%$		$r_4 = 0\%$			

図表 10 モデルによる食中毒発症リスクのシミュレーション結果の平均値

サルモネラ汚染防止対策 シナリオの組合せ	コールドチェーン導入率		
	30%	20%	10%
リスク管理措置なし	0.797%	0.797%	0.797%
ワクチンのみ	0.764%	0.764%	0.764%
コールドチェーンのみ	0.540%	0.569%	0.699%
日付表示のみ	0.589%	0.589%	0.589%
ワクチン+コールドチェーン	0.507%	0.537%	0.666%
ワクチン+日付表示	0.547%	0.547%	0.547%
コールドチェーン+日付表示	0.424%	0.430%	0.538%
ワクチン+コールドチェーン+日付表示	0.383%	0.389%	0.497%

※網掛けはコールドチェーン導入率の影響を受ける組合せ

図表 12 各サルモネラ汚染防止対策の個別便益

サルモネラ汚染	コールドチェーン導入率
---------	-------------

防止対策	30%	20%	10%
ワクチン	246 億円	234 億円	311 億円
コールドチェーン	986 億円	903 億円	383 億円
日付表示	746 億円	841 億円	1,283 億円
3つの対策全体	1,978 億円	1,978 億円	1,978 億円

*計算期間 10 年間、社会的割引率 4% の下での現在価値

図表 13 各サルモネラ汚染防止対策の社会的費用（抜粋再掲）

サルモネラ汚染 防止対策	コールドチェーン導入率		
	30%	20%	10%
ワクチン	82 億円	82 億円	82 億円
コールドチェーン	430 億円	287 億円	143 億円
日付表示	162 億円	162 億円	162 億円
3つの対策全体	674 億円	531 億円	387 億円

*計算期間 10 年間、社会的割引率 4% の下での現在価値

図表 14 各サルモネラ汚染防止対策の経済効果：純便益（NPV）

サルモネラ汚染 防止対策	コールドチェーン導入率		
	30%	20%	10%
ワクチン	164 億円	152 億円	229 億円
コールドチェーン	556 億円	616 億円	240 億円
日付表示	584 億円	679 億円	1,121 億円
3つの対策全体	1,304 億円	1,447 億円	1,591 億円

*計算期間 10 年間、社会的割引率 4% の下での現在価値

図表 15 各サルモネラ汚染防止対策の経済効果：費用便益比（CBR）

サルモネラ汚染 防止対策	コールドチェーン導入率		
	30%	20%	10%
ワクチン	3.00	2.86	3.79
コールドチェーン	2.29	3.15	2.68
日付表示	4.61	5.19	7.92
3つの対策全体	2.93	3.73	5.11

*計算期間 10 年間、社会的割引率 4% の下での現在価値

平成 21 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）
細菌性食中毒の防止対策に関する研究

分担研究報告書

腸炎ビブリオ食中毒の防止対策に関する研究

研究分担者 小西良子（国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部）

研究要旨

腸炎ビブリオ食中毒は、1998年から食中毒防止対策がとられ2009年には患者数が約1/40、事件数が1/60に減少し食中毒統計上の最少の事件数を示し2008年に続き低い発生レベルであった。対策の効果による食中毒減少であるか検討を行うために、今年度は過去2年間の本研究での成果のまとめを考慮し、国産および輸入の二枚貝での汚染状況を調査し解析した。*tdh*陽性検体は輸入アサリ（29検体）で14%、国産アカガイ（37検体）で5%、輸入アカガイ（94検体）で18%であり、国産アオヤギ（28検体）では検出されなかった。検出された中で輸入アカガイの陽性率は国産アカガイと比較して有意に高かった。*Tdh*陽性株は7検体（いずれも輸入検体）から分離され、世界的な流行株であり日本でも1998年をピークに大流行した血清型O3:K6が4検体から分離された。また、本研究での分離株の一部はPFGE解析で食中毒由来株と一致することも認められた。本研究によって、①腸炎ビブリオ食中毒の激減はO3:K6によるものだけでなく他の血清型によるものにも認められていること、②現状では、O3:K6以外の血清型の*tdh*陽性腸炎ビブリオが魚介類から分離されており、*tdh*陽性検体率も以前と変わらないにもかかわらず、これら血清型菌による食中毒発生が認められないこと、③PFGE解析でpandemic株の腸炎ビブリオが流行した1998年前後に分離された株がいまだに国内に生息し輸入食品にも存在し、それが現在でも少数ながら食中毒を起こしていることが明らかになった。さらに、食品営業者へのアンケート調査や海水温等の公表データからも、平成13年以降（厳密には指導を開始した12年以降）の流通末端から消費における魚介類取り扱いの衛生的改善が、食中毒減少をもたらしたものと考えられた。

研究協力者

秋田県健康環境センター	齋藤志保子
埼玉県衛生研究所	大塚佳代子
静岡県環境衛生科学研究所	杉山寛治
三重県保健環境研究所	岩出義人
長崎県衛生公害研究所	山崎省吾
熊本県保健環境科学研究所	八尋 俊輔
国立大学法人弘前大学大学院	大友良光
東海大学海洋学部	小沼博隆
(財)日本食品分析センター	川村美佐子、田中廣行
(株)BMLフード・サイエンス	矢部美穂、中川 弘
(株)デンカ生研	権平文夫
国立医薬品食品衛生研究所	工藤由起子

A. 研究目的

腸炎ビブリオ食中毒は、平成 10 年（1998 年）までに急増し、事件数 839 件、患者数 12,318 人に至った。このため、平成 13 年（2001 年）6 月に「食品衛生法施行規則」および「食品、添加物等の規格基準」の一部改正として通知され、規格基準の新設（「生食用鮮魚介類」、「ゆでがに」）、規格基準の改正（「食品一般の製造、加工及び調理基準」、「生食用鮮魚介類」、「冷凍食品（生食用冷凍鮮魚介類）」、「ゆでだこ」）、成分規格（「ゆでだこ」、「飲食の際に加熱しないゆでがに」）は腸炎ビブリオ陰性；生食用鮮魚介類、むき身の生食用かき、生食用冷凍鮮魚介類は 1g あたり腸炎ビブリオが 100 MPN 以下）、10℃以下で管理することなどが示された。これらは翌月に施行に至った。その後、現在まで腸炎ビブリオ食中毒は減少し平成 20 年（2008 年）までに患者数は 168 名（約 1/70）に、事件数は 17 件（約 1/50）に減少している。しかし、この減少については対策の効果によるものか自然減少によるものか不明である。このため、対策を講じた時期の魚介類の腸炎ビブリオ汚染と現在の汚染状況が異なるのか調査の必要がある。

平成 21 年度（2009 年度）は過去 2 年間の本研究での成果のまとめを考慮し、国産および輸入の二枚貝での汚染状況を調べ、得られた分離菌株の血清型、*tdh/trh* 保有、pandemic 株解析、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）解析などを調べ、平成 10 年（1998 年）前後の腸炎ビブリオ流行時の食品等からの分離株や

近年の食中毒患者株由来株ともそれら特徴を比較し検討した。

B. 研究方法

1. 検体

平成 21 年（2009 年）7 から 11 月に、国産アオヤギ（28 検体）、国産アカガイ（37 検体）、輸入アカガイ（94 検体）、輸入アサリ（29 検体）、国産アサリ（1 検体）を検体種とし、消費者が直接入手する小売店など消費末端で購入し検体とした。検体はいずれも産地が国内地名および国名が明記してあるものを選び、各研究協力者（機関番号 1～8）が試験の当日に入手し直ちに試験に供試した（表 1）。検体の国内の産地は、北海道、東北、関東、中部・近畿、中国・四国、九州に区別した。

検体は、殻付の場合は殻を取り除き中身を滅菌はさみで細断し検体とした。25 g に足りないときは複数個体から採取して、いずれも裁断し 25 g を 1 検体とした。

2. 検出方法

平成 13 年（2001 年）の調査時および 19・20 年度（2007・2008 年度）本研究事業と同様の方法で試験を行った（図 1）。

（1）増菌方法

2 種類の培地を組み合わせ、三段階増菌法にて培養した。まず、ストマッカー一袋に入れた検体 25 g にアルカリペプトン水（日水製薬）225ml を加え、35-37℃で 18 時間培養した。この培養液 1 ml を食塩加ポリミキシンプイオン（日水製薬）10 ml に加え 35-37℃で 18 時間培養した。さらに、この培養液 1 ml を事前に 35℃に

加温した食塩加ポリミキシンプイオン 10 ml に加え 35-37°C で 6 時間培養した。これらは、定性試験および定量試験（最確数法）の両方に共通して用いられた。

（2）分離培養方法

定性試験の 3 段階目増菌培養液 1 ml を検体とし腸炎ビブリオ K6 抗原に対する免疫磁気ビーズを用いて免疫磁気ビーズ濃縮法を行った。まず、増菌液 1 ml をマイクロチューブに取り、免疫磁気ビーズ腸炎ビブリオ K6（デンカ生研）を約 25 μ l 滴下し、10 分間室温放置後、混和させ 10 分間隔で 30 分反応させた。次に、磁石スタンドに 5 分間静置し、磁気ビーズを集め、上清を除いた。そこに洗浄液を 1 ml 加え、混和した。この作業を 3 回繰り返し行い、磁気ビーズを洗浄した。最終的に 0.1 ml の洗浄液にビーズを浮遊させ、これを濃縮菌液とした。このうち 10-20 μ l をクロモアガー・ビブリオ培地（クロモアガー社）に画線し、35-37°C で 18 時間培養した。*Tdh* 検出の PCR の結果が陽性の場合には多数のコロニーが釣菌できるよう希釈列を塗抹した。また、同増菌培養液 10 ml をクロモアガー・ビブリオ培地に直接塗抹し、35-37°C で 18 時間培養した。

（3）腸炎ビブリオの確定試験

生育したクロモアガー・ビブリオ培地上のコロニーを観察し、腸炎ビブリオと思われる藤色のコロニーを釣菌し糖分解性試験、硫化水素生産性試験、塩分濃度耐性試験および *toxR* 遺伝子を標的にした PCR 法を行い確定した。糖分解性試験に 2% NaCl 添加 Triple Sugar Iron Agar (TSI) 半斜面培地、また、塩分濃度耐性

試験に NaCl 添加 Nutrient Broth (NB) を使用した。分離した藤色のコロニーを釣菌し、0%、3%、7% および 8% NaCl 添加 NB 培地に浸した後、TSI 培地に画線および突刺し、それぞれ 35°C で 18 時間培養を行った。腸炎ビブリオの典型的な性状は NB 培地において、0% 塩濃度で生育せず、3%、7% および 8% 塩濃度で生育し、2% NaCl 添加 TSI 半斜面培地において、斜面部が赤色、高層部が黄色を示す。また、各コロニーを腸炎ビブリオ *toxR* 遺伝子を対象にした PCR に供試した。

（4）DNA 抽出方法

増菌液 1 ml および 0.1 ml を 10,000 \times g で 10 分間遠心後、上清を除き沈殿に滅菌蒸留水を加え再浮遊させた。滅菌蒸留水量は、増菌液 1 ml には 0.1 ml（これを 10 倍濃縮とする）、増菌液 0.1 ml には 1 ml（これを 10 倍希釈とする）とした。その後、100°C で 5 分加熱し、10,000 \times g で 5 分遠心して得られた上清を Template DNA とした。また、クロモアガー・ビブリオ培地上に生育した藤色のコロニーおよび 2% NaCl 添加 TSA 培地に生育したコロニーは、滅菌蒸留水 0.1 ml にコロニーを適当量浮遊させ、100°C で 10 分間加熱し、DNA を抽出し、10,000 \times g で 5 分遠心して得られた上清を Template DNA とした。

（5）*tdh* 遺伝子検出 PCR 法

Template DNA の調整のために、培養液 1 ml および 0.1 ml を高速遠心（6,000 rpm 以上 10 分）し、上清を捨て沈殿に滅菌蒸留水を加え再浮遊させた。滅菌蒸留水量は、培養液 1 ml には 0.1 ml（10 倍濃

縮)、培養液 0.1 ml には 1 ml とし (10 倍希釈)、使用時まで -30°C で保存した。PCRはTadaらの方法(Molecular Cellular Prob. 1992, 6: 477 -487) によって行い、反応試薬液 45 μl に Template DNA 5 μl を加え計 50 μl の反応とした。PCR 条件は、熱変性 94°C 1 分、アニーリング 55°C 1 分、伸長 72°C 1 分を 1 サイクルとし、35 サイクルとした。得られた PCR 産物を泳動し *tdh* 遺伝子の確認を行った。PCR 産物は 3%アガロースゲル (Nu Sieve 3 : 1 agarose : Cambrex Bio Science Rockland) にて電気泳動し産物の大きさの確認を行った (251 bp)。特に、目的の産物のサイズが小さい核酸フラグメントため近い大きさの産物を陽性と判定してしまう危険がある。これを避けるためにも産物がお適したアガロースゲルを選択することが必要であった。

(6) *toxR* 遺伝子検出 PCR 法

腸炎ビブリオと思われるコロニーの Template DNA を用いて、Takahashi らの方法 (J. Microbiol. Methods. 2005, 61:77-85) によって行い反応試薬液 20 μl に Template DNA 5 μl を加え計 25 μl の反応とした。PCR 条件は、熱変性 94°C 1 分、アニーリング 63°C 1.5 分、伸長 72°C 1.5 分を 1 サイクルとし、20 サイクルとした。得られた PCR 産物を泳動し *toxR* 遺伝子の産物 (386 bp) の確認を行った。

(7) 最確数 (MPN) 法

3 管法の 5 段階までの MPN 法にて腸炎ビブリオ菌数および *tdh* 陽性菌数を測定した。検体乳剤の 10 ml、1 ml および 0.1 ml を 3 本ずつアルカリペプトン水 10 ml

に加えた。0.1 ml をアルカリペプトン水 10 ml に加えたものについては、さらにその 1 ml をアルカリペプトン水 10 ml に加える。さらにこの 1 ml をアルカリペプトン水 10 ml に加えた。これらを $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で 18 時間培養した。次に、各培養液 1 ml を食塩加ポリミキシンプイオン 10 ml に加え $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で 18 時間培養した。さらに、その 1 ml を事前に 35°C に加温した食塩加ポリミキシンプイオン 10 ml に加え $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で 6 時間培養した。(2) に示した分離培養法に従い、各 MPN 試験管培養液をクロモアガービブリオ培地に画線し $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で 18 時間培養した。クロモアガー・ビブリオ培地上のコロニーを観察し、腸炎ビブリオと思われるコロニーを釣菌し性状試験を行い腸炎ビブリオであるか確認した。定性試験で *tdh* 陽性検体については、*tdh* 陽性菌をできるだけ分離するために多くのコロニーを (5) の方法に従い PCR にて試験した。また、各 MPN 試験管培養液についても PCR を行った。

(8) Box screening 法

クロモアガー・ビブリオ培地上に生育した藤色のコロニーに No. 1-100 までの番号をつけた。その後、滅菌蒸留水 0.1 ml に若い順に No. 1-10、No. 11-20 というように 10 番ずつ藤色のコロニーを同一のチューブに浮遊させた。また、同じように下一桁が同一の藤色のコロニーを同一のチューブに浮遊させた。合計 20 本のチューブについて 100°C で 5 分間加熱し、 $10,000 \times g$ で 5 分遠心して得られた上清を Template DNA とした。これを用いて PCR 法にて *tdh* 遺伝子の有無を確認し、結

果からいずれのコロニーが *tdh* 遺伝子陽性か判定した。

(9) 菌の分離および血清試験

Tdh 検出の PCR で陽性の検体については、クロモアガー・ビブリオ培地上の 100 コロニーを選択し Box screening 法を利用し PCR にて *tdh* の有無を試験した。*Tdh* 陽性コロニーが分離できた場合は血清型を確認した。*Tdh* 検出の PCR で陰性の検体においても、一部コロニーについて血清 (デンカ生研) による凝集試験を行ない血清型を判定した。スライド凝集法による K 型別試験を行った。混合血清での試験を行うために 2%NaCl 添加 TSA に生育したコロニーを釣菌し、スライドグラスの区画毎に各混合血清を約 30 μ l 滴下して混和した。透過光下でスライドグラスを前後に傾けながら 1 分間反応させて目視で凝集の有無を確認し、凝集が確認された菌株を陽性とした。混合血清で陽性と判定された場合、その混合血清を構成する単味血清を用いて同様の試験を行い、K 型を確定した。また、混合血清が全て陰性と判定された場合、K70 及び K71 の血清を用いて同様の試験を行った。さらに、スライド凝集法による 0 群別試験を行った。5%グリセリン加 3%塩化ナトリウム液 0.3 ml に、2%NaCl 添加 TSA 培地で前培養したコロニーを釣菌し浮遊させた。その後、121°C で 1 時間加熱処理を行い、900 \times g で 20 分間遠心分離し、上清を除き沈渣に 3%塩化ナトリウム液 0.5 ml を加え、浮遊させてスライド凝集法 0 群別試料とした。スライドグラスの区画毎に各混合血清を約 30 μ l 滴下した。そこに、

0 群別試料 5 μ l を混和させた。透過光下で 1 分間反応させて目視で凝集の有無を確認し、凝集が確認された菌株を陽性とし 0 群を確定した。

(10) RPLA 法

逆受け身ラテックス凝集反応キット (KAP-RPLA, デンカ生研) を用いた。まず、分離菌株の一白金耳量を釣菌し、5%食塩加マンニットペプトン水に接種し、35°C で 18 時間培養を行った。その培養液 1 ml を 3,000 \times rpm で 20 分間遠心し、上清 0.1 ml を取りサンプルとした。その後、V 型マイクロプレートに希釈液 25 μ l を分注し、最前列の穴にサンプル 25 μ l を滴下した。同一サンプルについて 4 段目まで 2 倍段階希釈を行った。同様に陽性コントロールとして対象耐熱性溶血毒を用いて、上記と同様の操作を行った。さらに、感作ラテックスをそれぞれの系列に 25 μ l ずつ滴下して液を均一になじませ、18 時間室温で静置後に結果の判定を行った。結果の判定は、V 型マイクロプレートを黒い台の上に置き、上から各穴のラテックス沈降像を肉眼で観察し、凝集を確認できたサンプルを陽性とした。

(11) Group specific-PCR

腸炎ビブリオ分離株の Template DNA を用いて、Matsumoto らの方法 (J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 578-585) によって行い、反応試薬液 45 μ l に Template DNA 5 μ l を加え計 50 μ l の反応とした。PCR 条件は、96°C 5 分の後に、96°C 1 分、45°C 2 分、72°C 3 分を 1 サイクルとして 25 サイクル繰り返し、その後に 72°C 7 分とした。得られた PCR 産物 (651bp) を泳動

し pandemic 株に特異的な遺伝子の確認を行った。

(12) *trh* 遺伝子検出 PCR 法

腸炎ビブリオ分離株の Template DNA を用いて、西沢らの方法（日本臨床. 1992. Vol. 50, p348-352.）によって行い、反応試薬液 45 μ l に Template DNA 5 μ l を加え計 50 μ l の反応とした。PCR 条件は、熱変性 94°C 1 分、アニーリング 55°C 1 分、伸長 72°C 1 分を 1 サイクルとし、35 サイクルとした。得られた PCR 産物 (250 bp) を泳動し *trh* 遺伝子の確認を行った。

3. PFGE 解析

PFGE 解析は、平成 21 年度 (2009 年度) だけでなく本研究事業平成 19 年 (2007 年) から平成 21 年 (2009 年) の *tdh* または *trh* 陽性株、03:K6 株についても解析した。また、平成 9 年 (1997 年) 以降の食品および患者由来の *tdh* または *trh* 陽性株、平成 13 年 (2001 年) の厚生科学研究事業での食品からの分離株を含めて総合的に行った。血清型によって大きく分け 01:K25・01:KUT、03:K6、04:K8、04:K9、04:K68 の 5 グループとその他血清型のグループについて別個に解析し型番を付した。

各菌株を LB にて短時間培養した培養液 0.1ml に 1%Seakem gold 0.1 ml を加え混合し、プラグキャストに流し入れ固めた。Protainase K 溶液に固化したプラグを入れて 50°C で一夜振とうし反応した。プラグを適当な大きさに切り、TE buffer および PMSF 0.01ml を加えて 50°C で 30 分振とうを 2 回繰り返した。その後、氷

冷下で 30 分振とうし、さらに酵素バッファーに変え氷冷下で 30 分振とうし、50U の制限酵素 *Not*I を加え 37°C で、また *Sfi*II については 50°C で 4 時間反応した。酵素処理したプラグを PFGE 用のアガロースゲルに埋め込み 14°C の泳動バッファーにて泳動した。泳動条件は *Not*I では 6V/cm を 4-8 秒で 11 時間、8-50 秒で 9 時間、*Sfi*II では 6V/cm を 10-35 秒で 18 時間であった。泳動後、ゲルをエチレンブロマイドにて染色し、UV 下にて泳動像を確認した。系統解析は、Fingerprinting II (バイオ・ラド) を用いて類似性係数 Jaccard としデンドログラムタイプ UPGMA を設定して行なわれた。相同性が 100% のものを同型とし、90% 以上の相同性を示した場合は同型の亜型とした。

4. 統計学的解析

国産アオヤギ、国産アカガイ、輸入アカガイおよび輸入アサリについて、各検体種間の総腸炎ビブリオ菌数の平均値の差、*tdh* 陽性腸炎ビブリオ菌数の平均値の差、*tdh* 陽性腸炎ビブリオ検出率の差の有意差検定 (Welch の *t* 検定、Student の *t* 検定または χ 二乗検定) を行った。また、各検体種における *tdh* 陽性検体と *tdh* 陰性検体の総腸炎ビブリオ菌数の平均値の差、全検体での *tdh* 陽性検体と *tdh* 陰性検体の総腸炎ビブリオ菌数の平均値について、同様に有意差検定を行った。

5. 食品取り扱い営業を対象としたアンケート調査

静岡県とその近県において魚介類を取り扱う食品業者を対象に、下記項目の質問からなるアンケート調査を実施した。

アンケート用紙は主に直接手渡し方式で、書き込み済み用紙は郵送で回収した。

(1) 業種

魚介類販売業 飲食店、旅館、ホテル、
弁当・総菜製造、その他
()

(2) 従業員数 うち食品取り扱い従事者数をカッコ内に記載してください。
1名() 2名() 5名以下()
10名以下() 50名以下()
100名以下() 500名以下()
1000名以下()

(3) 調理場(厨房)について

面積 6.6㎡(2坪)以下 9.9㎡(3坪)以下 13.2㎡(4坪)以下 33㎡(10坪)以下 冷房(有 無)
床の構造(ウェット ドライ)

(4) 取り扱い生鮮魚介類

さけ ぶり はまち まぐろ さば
あじ いわし さんま たい ひら
め かれい ふぐ かき ホタテ貝
えび ほや うに いか くじら
たこ その他

(5) 生食用で提供する生鮮魚介類

さけ ぶり はまち まぐろ さば
あじ いわし さんま たい ひら
め かれい ふぐ かき ホタテ貝
えび ほや うに いか くじら
たこ その他

(6) 食中毒警報について知っていますか?

はい いいえ

(7) 腸炎ビブリオ注意報について知っていますか?

はい いいえ

(8) 平成13年に、「生食用鮮魚介類は腸炎ビブリオ菌数が100グラム中100個以下であること」と定められたことを知っていますか?

はい いいえ

(9) 平成13～15年頃から、魚介類の取り扱いに対する指導や取り締まりが従来よりも強化されたと思いますか?

はい いいえ

(10) 平成13年以降、調理場(厨房)施設の増改築または新築を行いましたか?

はい いいえ

「はい」の場合、増改築または新築によって改善をはかった点は、(ア 自動ドアにした イ トイレを広くした ウ 冷蔵庫を新設した エ 排水溝を閉鎖式にした オ 何もしない)

増改築または新築した年(平成13年 14年 15年)

(11) 宴会場や食堂の施設設備の改修は、平成13年以降に1) 宴会場 2) 食堂の(ア クーラーを増設した イ クーラーの性能を強化した ウ 除湿機を設置した エ 何もしない)。改修した年(平成13年 14年 15年)以降

(12) 調理場(厨房)の設備の改修は平成13年以降(ア 冷蔵庫を一台追加した イ シンクを増設した ウ 水道蛇口を足踏み式にした エ 何もしない)。

改修した年(平成13年 14年 15年)

- 年)以降
- (13) 調理器具は、平成13年以降に(ア 木製まな板をプラスチック製まな板に変更した イ 生食用と加工用のまな板を区別した ウ 包丁を増やし食材による使い分けを徹底した エ 何もしない)。
改善した年(平成13年 14年 15年)
- (14) 生鮮魚介類の保存または保管の方法は、平成13年以降に(ア 調理後の生食用魚介類を氷上で提供するようになった イ 生食用魚介類は提供しないようにした ウ 生食用魚介類は提供直前まで冷蔵するようになった エ 何もしない)。
改善した年(平成13年 14年 15年)以降
- (15) 生鮮魚介類の取り扱いや調理の方法は、平成13年以降に(ア 生食用の魚は調理後のものを購入するようになった イ まな板と包丁の洗浄を頻繁に行うようにした、ウ 生食用の包丁および包丁を熱湯消毒とした エ 何もしない)。
改善した年(平成13年 14年 15年)以降
- (16) いけすの管理は、平成13年以降に(ア いけすの人工海水の入れ替えを頻繁に行うようにした イ 天然海水から人工海水に変えた ウ いけすでの飼育を廃止した エ 何もしない)。
改善した年(平成13年 14年 15年)以降

- (17) 従業員の衛生管理について、平成13年以降に(ア 検便を義務づけた イ 手洗い方法の点検を定期的に行うようにした ウ 研修の機会を設けた エ 何もしない)。
改善した年(平成13年 14年 15年)以降
- (18) 魚介類の自主検査は、平成13年以降に(ア 実施するようになった イ 以前から行っている ウ 今後行う予定である エ 行っていない)。
実施した年(平成13年 14年 15年)以降
- (19) その他注意していることがありましたら下記へご記入ください。

6. 気象庁海水温データ

気象庁ホームページに掲載されている海面水温のデータより、平成2年(1990年)から平成20年(2008年)の黄海、東シナ海北部、東シナ海南部、釧路沖、三陸沖、関東の東、関東の南、日本海北東部、日本海中部、日本海南部、四国東海沖北部、四国東海沖南部、先島諸島の計13カ所の年次変化値を入手した。

7. 漁業統計

農林水産省が公表している漁業・養殖業生産量と冷凍・冷蔵工場の冷蔵能力の年次変化はポケット水産統計(平成14、21年度版)、冷蔵水産物の在庫量の年次変化はポケット食品統計(平成20年度版)より入手した。

C. 結果

1. 各試験検査機関の結果

機関番号 1-8 の各機関について、腸炎ビブリオの分離の定性分析、*tdh* 定性分析、腸炎ビブリオ菌数 (MPN 値)、*tdh* 陽性菌数 (MPN 値) 分離菌株の血清型について以下に示すように結果を得た (表 2)。菌数については、NT (非検出)、<3、3-10、>10、>100 および >1,000 に分けて記載した。

(1) 機関番号 1 : アカガイ検体は平成 21 年 (2009 年) 7 月 13 日から 11 月 2 日にかけて水産市場 (卸売) 及び一部小売店から中華人民共和国 (中国) 産 20 検体 (殻付 16、むき身 4)、国産 12 検体 (すべて同一海域) の合計 32 検体を購入し、実験室に搬入後直ちに検査に供した。その結果、腸炎ビブリオは 7 月 21 日から 10 月 19 日に購入した 20 検体 (62.5%、中国産 12、国産 8) すべてから検出され、その期間前後に購入された各 12 検体 (中国産 8、国産 4) からは検出されなかった。腸炎ビブリオが検出された 20 検体中、7 月 21 日に購入した中国産のむき身 4 検体中 1 検体の定性試験用一次増菌培養液中に *tdh* 遺伝子が検出された。しかし、この検体から分離された 100 菌株には *tdh* 保有菌は確認されなかった。さらに、10 g 当たりの腸炎ビブリオの MPN 値を <3、3-10、>10、>10,00 に区分した場合の検出数はそれぞれ 15、4、7、6 検体あり、このうち >10,00 の検体は 7 月 27 日と 9 月 7 日に購入した中国産のむき身 4 検体 (このうち 1 検体が *tdh* 保有) と国産の殻付き 2 検体であった。

分離された 30 菌株の血清型は多種類にわたり、しかも K 抗原の不明な菌株が多かった。血清型が判明した 01:K33 (1 株)、

03:K6 (2 株)、03:K45 (3 株)、04:K8 (1 株)、そして 08:K39 (1 株) のうち、購入日が異なる検体から検出された血清型菌は 03:K45 であった。また、新型クローンと称されている菌株と同様の血清型である 03:K6 型菌は 9 月 7 日に購入した 4 検体中 2 検体から検出されたが *tdh* は保有していない。

今回の調査では輸入品のむき身 1 検体から *tdh* 遺伝子が確認されたが、この検体は輸入後、いくつかの仲買を経て搬入後むき身にされ、しかも 5 個まとめて一つのパックにして小売されていた商品であり腸炎ビブリオ数も多かった。さらに、9 月 7 日購入の 1 検体で今回の検査中では最高値の 15,000 MPN/10 g を示すものがあり、この検体は 9 月 4 日に A 県海域で捕獲された後に A 県外に搬送され 9 月 4 日に再び A 県に搬入された経緯がある。これらのことは、アカガイの複雑な流通過程で菌数の増加があった可能性を示唆するものである。一方、血清型 03:K45 株は近海域で最初の検出から 2 週間後に購入され検体からも検出されており、特定の血清型が海域で継続してアカガイを汚染していることを示しており、自明のことではあるが、腸炎ビブリオ食中毒原因魚介類から病原性腸炎ビブリオが検出されない場合でも非病原性菌の血清型別を行うことは感染源追及に重要と考えられた。

(2) 機関番号 2 : 7 から 10 月に市場 2 か所で国産アカガイを 9 検体、輸入アカガイ (中国産、韓国産、ロシア産) 15 検体の合計 24 検体を購入し検査に供した。

国産アカガイは全て殻付きで輸入アカガイは殻付きが9検体、むき身が6検体で、何れも市場の水槽から取り出しビニール袋か紙袋で簡易包装したものを保冷剤入りの容器に入れて冷蔵状態を保って持ち帰った。検査の結果、腸炎ビブリオは国産アカガイでは9検体中の9検体(100%)、輸入アカガイでも15検体中の15検体(100%)で分離された。総腸炎ビブリオ菌数は、国産アカガイでは $<3/10\text{g}$ が1検体(11.1%)、 $3-10/10\text{g}$ が4検体(44.4%)、 $>10/10\text{g}$ が2検体(22.2%)、 $>1000/10\text{g}$ が2検体(22.2%)で、輸入アカガイでは $3-10/10\text{g}$ が5検体(33.3%)、 $>10/10\text{g}$ が5検体(33.3%)、 $>100/10\text{g}$ が4検体(26.7%)、 $>1000/10\text{g}$ が1検体(6.7%)であり、規格基準の「腸炎ビブリオ数 100 MPN/g」を超える検体の割合は国産アカガイのほうが高かった。

また、今回腸炎ビブリオ食中毒で主要な血清型とされるO3:K6については、国産アカガイで4検体(44.4%)、輸入アカガイで3検体(20.0%)の計7検体から検出され、こちらも国産アカガイのほうが検出率は高かった。PCRによる*tdh*検出は、全ての検体で陰性となった。

(3) 機関番号3：魚介類販売店で購入した国産アオヤギ2検体、国産アカガイ1検体、輸入アカガイ2検体および輸入アサリ7検体の合計12検体を試験に供した。検査の結果、腸炎ビブリオは国産アオヤギ2検体、国産アカガイ1検体、輸入アサリ7検体すべてから検出された。輸入アカガイ2検体からは腸炎ビブリオは検

出されなかった。総腸炎ビブリオ菌数は、国産アオヤギでは $>100/10\text{g}$ が1検体(50%)、 $>1000/10\text{g}$ が1検体(50%)、国産アカガイでは $<3/10\text{g}$ が1検体(100%)、輸入アサリでは $>10/10\text{g}$ が2検体(28.6%)、 $>1000/10\text{g}$ が5検体(71.4%)であった。*tdh*遺伝子が検出されたのは、全12検体のうち輸入アサリ1検体(8.3%)のみであった。分離した*tdh*陽性腸炎ビブリオの血清型はO10:KUTであった。

(4) 機関番号4：アオヤギ(国産)22検体中18検体(81.8%)から定性試験で腸炎ビブリオが検出され、そのうち血清型O3:K6株は4検体(18.2%)から分離された。また、定量試験(MPN法)の結果は、ND/10gが3検体(13.6%)、 $<3/10\text{g}$ が5検体(22.7%)、 $3-10/10\text{g}$ が4検体(18.2%)、 $>10/10\text{g}$ が5検体(22.7%)、 $>100/10\text{g}$ が2検体(9.1%)、 $>1000/10\text{g}$ が3検体(13.6%)であった。また、アカガイ(国産)2検体は2検体とも、定性試験で腸炎ビブリオが検出され、そのうち血清型O3:K6株は1検体(50%)から分離された。また、定量試験(MPN法)の結果は、 $>100/10\text{g}$ と $>1000/10\text{g}$ であった。アカガイ(中国産)1検体は、定性試験で腸炎ビブリオが検出され、定量試験(MPN法)の結果は、 $<3/10\text{g}$ であった。アオヤギ4検体及びアカガイ1検体から検出されたO3:K6は全て*tdh*陰性であった。また、培養液の*tdh*スクリーニングが陽性の検体も認められなかった。

(5) 研究機関5：県内の魚介類販売所からアカガイ24検体(国産6検体 中国産9検体 韓国産9検体)を採取した。

腸炎ビブリオの 10g 当たりの NPN 値は、国産では、<3 以下が 3 検体、3~10 が 1 検体、>10 が 2 検体であった。輸入品では、<3 が 6 検体、3~10 が 4 検体、>10 が 5 検体であった。8 月から 9 月上旬まで、>10 であった。*Tdh* 陽性腸炎ビブリオの検出率は、国産 33.3% (2/6)、輸入品 33.3% (6/18) と同率で国内外の差はなかった。また、10g 当たりの NPN 値は、<3 が 4 検体、>3 が 4 検体であった。*Tdh* 陽性腸炎ビブリオの分離は、1 検体のみで、その菌数は 3.6 MPN/10g で、腸炎ビブリオ菌数は、 2.4×10^3 MPN/10g (2.4×10^2 MPN/g) で中国産であった。この菌株は、ビーズ法から分離され血清型は、03:K6 であった。今回の検査で規格基準値 100 MPN/g (1.0×10^3 MPN/10g) 以上であったのはこの 1 検体のみであった。

今回、7 月の検体が思っていたよりも腸炎ビブリオ菌数が少なかった。10 月以降は、腸炎ビブリオがほとんど検出されなかった。

今回、供試されたアカガイは、2 店の小売店から買い上げた。1 店舗は、東京築地市場から仕入れを行っており、もう 1 店舗は、市内の市場から仕入れており、仕入れまでの時間差が結果に影響があった可能性も否定できない。8 月の輸入アカガイは、すべて韓国産であった。

(6) 機関番号 6 : 魚介類販売店で購入した輸入アカガイ 18 検体、国産アカガイ 6 検体及び漁業従事者より提供された国産アオヤギ 4 検体を試験に供した。全ての検体から腸炎ビブリオが検出されたが、輸入アカガイ 1 検体は腸炎ビブリオ菌数

(MPN 値) では検出限界以下 (3 未満/10g) となった。また、9 検体 (輸入アカガイ 5 検体、国産アカガイ 2 検体、国産アオヤギ 2 検体) は腸炎ビブリオ菌数が 1000/10g 以上であった。*tdh* 定性分析で輸入アカガイ 5 検体が PCR 陽性となり、それらの腸炎ビブリオ菌数は 3-10/10g が 2 検体、>10/10g が 1 検体、>100/10g が 2 検体で、*tdh* 陽性菌数 (MPN 値) は、3 未満/10g が 3 検体、3-10/10g が 2 検体であった。*tdh* 陽性腸炎ビブリオは 03:K6 を 2 検体から、05:KUT を 1 検体から検出した。血清型別が可能であった *tdh* 陰性腸炎ビブリオは、国産アカガイから 04:K34 及び 04:K63、輸入アカガイから 01:K56、02:K3、02:K28、02:K52、03:K6、04:K34 及び 011:K49、国産アオヤギから 01:K33、02:K28、03:K6、03:K31 及び 04:K34 を検出した。

(7) 機関番号 7 : 魚介類販売所から韓国産 17 検体および中国産 4 検体の輸入アサリ 21 検体と国産アサリ 1 検体、輸入の韓国産アカガイ 2 検体の計 24 検体を材料に供した。検体のアサリは全てトレー入りビニール包装で、氷入り水槽中で浸漬し販売され、アカガイは凍り入り水槽中に保存販売されていたものを購入した。

腸炎ビブリオ数は、輸入アサリの 14 検体 (輸入アサリのうち 66.7%) が規格基準値 100 MPN/g 以上を示した。うち、輸入アサリ 3 検体 (輸入アサリのうち 14.3%) が *tdh* 遺伝子陽性であった。国産アサリ 1 検体は、腸炎ビブリオ数が 10^6 MPN/g 以上を示し、*tdh* 遺伝子が陽性であった。今回実験に供したアサリ 22 検体中 4 検体が