

7. 4 測定手順

7.4.1 試験菌添加培地の作成

- ① *M.luteus*・・・普通寒天斜面培地に 30℃18 時間培養し、発育した菌株 1 コロニーを感受性測定用ブイヨンに接種する。30℃18 時間の培養を 3 継代まで行い、3 代目の菌株を使用する。(継代を行なうときは 100 μ L ずつ接種する) この菌液を AM5 培地 50mL に 1mL 添加し、8mL ずつペトリ皿に流して試験用培地とする。アンピシリン 0.025 μ g/mL 含有ペーパーディスクを置いて 30℃18 時間培養し、現れる阻止円直径が 14 \pm 1mm であることを確認する。
- ② *B.subtilis*・・・普通寒天斜面培地に 30℃1 週間培養し、芽胞を形成させ所定の濃度に合わせた芽胞菌液を作製する。この菌液を AM5 培地 50mL に 500 μ L 添加し、8mL ずつペトリ皿に流して試験用培地とする。カナマイシン 0.5 μ g/mL 含有ペーパーディスクを置いて 30℃18 時間培養し、現れる阻止円直径が 14 \pm 1mm であることを確認する。
- ③ *Mycoides*・・・普通寒天斜面培地に 30℃1 週間培養し、芽胞を形成させ所定の濃度に合わせた芽胞菌液を作製する。この菌液を AM5 (または AM8) 培地 50mL に 500 μ L 添加し、8mL ずつペトリ皿に流して試験用培地とする。オキシテトラサイクリン 0.25 μ g/mL 含有ペーパーディスクを置いて 30℃18 時間培養し、現れる阻止円直径が 14 \pm 1mm であることを確認する。

7.4.2 試験溶液の作製

- ① 食肉、養殖魚類・・・各材料 5g にクエン酸・アセトン緩衝液 20mL を加え、ホモジナイズした後濾紙で濾過し、その濾液を試験溶液とする。濾過がしにくい場合は、3,000rpm で 15 分間遠心分離し、その上清液を濾過する。
- ② 卵・・・卵黄の全量に 4 倍量のクエン酸・アセトン緩衝液を加えて乳剤としたものを試験溶液とする。
- ③ 蜂蜜・・・蜂蜜 5g にクエン酸・アセトン緩衝液 20mL を加えて溶解したものを試験溶液とする。

7.4.3 試験方法

- ① ペーパーディスクに試験溶液及び各抗生物質を 700 μ L ずつアプライする。(この場合、試験溶液ペーパーディスクは 2 枚以上実施する) これを各検査用平板培地 (7.4.1 試験菌添加培地で作成した) に置き、30℃で 18 時間培養する。

7.4.4 判定

阻止円直径が 12mm 以上示したものを陽性とする。

8. 管理試料及び標準物質の取り扱い

クエン酸・アセトン緩衝液含有ペーパーディスクを陰性対照とする。

各抗生物質含有ペーパーディスクを標準物質とし、現れる阻止円直径が $14 \pm 1\text{mm}$ であることを確認する。

9. 測定にあたっての注意事項

1) 検体不可材料

食肉、養殖魚類、卵、はちみつ以外の材料
加熱、加工材料。

2) 測定値の変動要因

3) 測定上の注意事項

試験菌添加培地の作成で各抗生物質含有ペーパーディスクの現れる阻止円直径が $14 \pm 1\text{mm}$ の範囲からはずれる時は、各抗生物質の濃度の調節を行なう。

10. 基準値及び判定基準

1) 基準値

阻止円の直径が 12mm 未満のものを陰性とする。

2) 基準値設定根拠

畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改定)に準ずる。

11. 異常値を示した検体に取扱方法

1) 再検の実施基準

阻止円の直径が 12mm 以上のものは陽性とする。

2) 異常値を示した検体の取扱方法

再度検査を行う。

3) 異常値を示した検体の保存

検体は $4 \sim 6^\circ\text{C}$ の冷暗所に2週間保存する。

4) 異常値を示した検体の報告形態

再検済みコメントを付記して報告。

12. 精度管理の方法及び評価基準

標準抗生物質での阻止円の確認。

表1 東南アジア産冷凍水産食品の検査結果

#	原産国	商品名	原材料	賞味期限	赤病菌	残留抗生物質
1	インド	えび中ホワイト海老	鮮エビ	2009.11.23	陰性	陰性
2	インド	養殖ブラックタイガーえび	鮮養殖ブラックタイガー	2009.11.24	陰性	陰性
3	インド	養殖ブラックタイガー	鮮養殖ブラックタイガー	2010.09.03	陰性	陰性
4	インド	むきえび	鮮エビ	2009.11.13	陰性	陰性
5	インド	天然えび、ホワイトえび	鮮エビ	2009.11.17	陰性	陰性
6	インド	無頭ホワイトエビ	鮮エビ	2009.11.21	陰性	陰性
7	インド	むきえび	鮮エビ	2009.11.18	陰性	陰性
8	インド	無頭えびホワイトえび	鮮エビ	2009.11.11	陰性	陰性
9	インド	むきえび冷凍	鮮エビ	2009.11.11	陰性	陰性
10	インド	えび中	鮮エビ	2009.11.21	陰性	陰性
11	インド	天然シータイガー	鮮エビ	2009.11.24	陰性	陰性
12	インド	むきえび	鮮エビ	2009.11.26	陰性	陰性
13	インド	シーフードミックス	ヤリイカ	2009.11.11	陰性	陰性
14	インド、中国	シーフードミックス	えび(インド)、いか(中国)	2009.11.23	陰性	陰性
15	インド、インドネシア	むきえび	鮮エビ	2009.11.10	陰性	陰性
16	インド、インドネシア	お魚屋さんの シーフーズセレクション	鮮エビ	2010.05.10	陰性	陰性
17	インド、インドネシア	お魚屋さんの シーフーズセレクション	鮮エビ	2010.05.03	陰性	陰性
18	インド、インドネシア	大粒むきえび	鮮エビ	2009.11.21	陰性	陰性
19	インド、インドネシア	シーフードミックス	鮮エビ	2009.11.11	陰性	陰性
20	インド、インドネシア	むきえび冷凍	鮮エビ	2009.11.11	陰性	陰性
21	インド、インドネシア	むきえび冷凍	バナメイエビ	2009.11.11	陰性	陰性
22	インドネシア	ブラックタイガーえび特大	ブラックタイガー	2009.11.29	陰性	陰性
23	インドネシア	大きなむきえび	鮮エビ	2009.11.10	陰性	陰性
24	インドネシア	むきえび(大)	鮮エビ	2009.11.30	陰性	陰性
25	インドネシア	えび大ホワイト海老	鮮エビ	2009.11.18	陰性	陰性
26	インドネシア	むきえび	鮮エビ	2009.11.23	陰性	陰性
27	インドネシア	バナメイえび(養殖)	鮮エビ	2009.11.21	陰性	陰性
28	インドネシア	海鮮むきえび (ピンクむきえび)	鮮エビ	2009.11.08	陰性	陰性
29	インドネシア	えび(天麩羅、フライ用)	鮮エビ	2009.11.4	陰性	陰性
30	インドネシア	無頭ブラックタイガーエビ	鮮エビ	2009.11.17	陰性	陰性
31	タイ	バナメイえび	鮮エビ	2009.11.13	陰性	陰性
32	タイ	えびフライ	鮮エビ	2009.11.19	陰性	陰性
33	タイ	シーフードミックス	イカ、エビ、アケガイ	2009.11.23	陰性	陰性
34	タイ	お魚屋さんの シーフーズセレクション	ヤリイカ、甲イカ	2010.05.03	陰性	陰性
35	タイ	バナメイえび	鮮エビ	2009.11.13	陰性	陰性
36	タイ	バナメイえび	鮮エビ	2009.11.22	陰性	陰性
37	ベトナム	むきえび	鮮エビ	2009.11.21	陰性	陰性
38	ベトナム	尾付きむきエビ	鮮エビ	2009.11.01	陰性	陰性
39	ベトナム	背わたとりむきえび	鮮エビ	2009.11.18	陰性	陰性
40	ベトナム	無頭ブラックタイガーエビ	ブラックタイガー	2009.11.12	陰性	陰性
41	ベトナム	養殖ブラックタイガーえび	ブラックタイガー	2009.11.23	陰性	陰性
42	ベトナム	ブラックタイガーえび大	ブラックタイガー	2009.11.23	陰性	陰性
43	ベトナム	シーフードミックス(冷凍)	鮮エビ	2009.11.11	陰性	陰性
44	中国	むらさきいかこま切り	イカ	2009.11.23	陰性	陰性
45	中国	イカリングフライ	イカ	2010.02.09	陰性	陰性
46	中国	お魚屋さんの シーフーズセレクション	アサリ	2010.05.06	陰性	陰性
47	中国	お魚屋さんの シーフーズセレクション	アサリ	2010.05.03	陰性	陰性
48	中国	海鮮串フライ	バナメイエビ、ムラサキイカ ブルーホワイティング(オランダ)	2009.11.09	陰性	陰性
49	日本、中国、インドネシア	シーフードミックス	アカイカ(三陸沖)、むきえび(インドネシア)、 イタヤ貝(中国)	2009.11.08	陰性	陰性
50	ペルー、中国、ミャンマー	シーフードミックス	イカ(ペルー)、むきえび(ミャンマー)、 イタヤ貝(中国)	2009.11.25	陰性	陰性

表2 ベトナム国内で流通する冷凍水産食品の検査結果(1)

#	Sampling Date	Place of Sampling	Types of Foods	Company produced	<i>Shigella</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	Antibiotic Residue
1	12/8/2009	Metro (Pham Van Dong)	Steamed shrimp (without skin)	Camimex	Negative	Negative	Negative
2		Metro (Pham Van Dong)	Round cutted squid	Ha Long	Negative	Negative	Negative
3		Metro (Pham Van Dong)	Whole cleaned squid	Hai Nam	Negative	Negative	Negative
4		Metro (Pham Van Dong)	Whole cleaned squid	Cadovimex	Negative	Negative	Negative
5		Metro (Pham Van Dong)	Black tiger shrimp (without skin)	Minh Phu	Negative	Negative	Negative
6		Metro (Pham Van Dong)	Whole cleaned squid	Toan Ky	Negative	Negative	Negative
7		Metro (Pham Van Dong)	Fresh shrimp	Camimex	Negative	Negative	Negative
8		Metro (Pham Van Dong)	Round cutted squid tempura	Seajoco (HCM)	Negative	Negative	Negative
9		Metro (Pham Van Dong)	Shrimp tempura	Hai Loc	Negative	Negative	Negative
10		Metro (Pham Van Dong)	Black tiger shrimp	Jostoco (Ca Mau)	Negative	Negative	Negative
11	8/9/2009	Fivimart (Dai La)	Shrimp tempura	Trung Son (HCM)	Negative	Negative	Negative
12		Fivimart (Dai La)	Steamed shrimp (without skin)	Seafood (HCM)	Negative	Negative	Negative
13		Fivimart (Dai La)	Steamed shrimp (without skin)	Ha Long	Negative	Negative	Negative
14		Fivimart (Dai La)	Steamed tiger shrimp (without skin)	Northern Seafood Co.	Negative	Negative	Negative
15		Fivimart (Dai La)	Black tiger shrimp	Northern Seafood Co.	Negative	Negative	Negative
16		Fivimart (Dai La)	Whole squid	Dong Do	Negative	Negative	Negative
17		Fivimart (Dai La)	Whole egg-squid	Thanh Thinh	Negative	Negative	Negative
18		Fivimart (Dai La)	Whole cleaned squid	Ha Long	Negative	Negative	Negative
19		Fivimart (Dai La)	Round cut squid	Ha Long	Negative	Negative	Negative
20		Fivimart (Dai La)	Whole cleaned squid	Dai Anh	Negative	Negative	Negative
21	23/9/2009	BigC	Whole cleaned squid	Hai Hoa	Negative	Negative	Negative
22		BigC	Round cutted squid	Seaspimex	Negative	Negative	Negative
23		BigC	Black tiger shrimp (without skin)	An Vinh	Negative	Negative	Negative
24		BigC	Steamed shrimp (without skin)	NIGICO	Negative	Negative	Negative
25		BigC	Fresh shrimp	Cadovimex	Negative	Negative	Negative
26		BigC	Black tiger shrimp (without skin)	Northern Seafood Co.	Negative	Negative	Negative
27		BigC	Fresh shrimp (without skin)	Dong Do	Negative	Negative	Negative
28		BigC	Whole squid	Phu Thanh	Negative	Negative	Negative
29		BigC	Whole cleaned egg-squid	NIGICO	Negative	Negative	Negative
30		BigC	Whole cleaned squid	Hai Nam	Negative	Negative	Negative
31	13/10/2009	Fivimart (Tran Vu)	Tiger shrimp (without skin)	Gia Dinh	Negative	Negative	Negative
32		Fivimart (Tran Vu)	Whole cleaned squid	Gia Dinh	Negative	Negative	Negative
33		Fivimart (Tran Vu)	Tiger shrimp (without skin)	Northern Seafood Co.	Negative	Negative	Negative
34		Fivimart (Tran Vu)	Round cutted squid	Quang Binh Co.	Negative	Negative	Negative
35		Intimex	Whole egg-squid	Thanh Thinh	Negative	Negative	Negative
36		Fivimart (Tran Vu)	Shrimp tempura	Trung Son (HCM)	Negative	Negative	Negative
37		Fivimart (Tran Vu)	Shrimp tempura	Trung Son (HCM)	Negative	Negative	Negative
38		Intimex	Clam	Northern Seafood Co.	Negative	Negative	Negative
39		Intimex	Whole cleaned squid	Dai An	Negative	Negative	Negative
40		Intimex	Crab meat	Vertutee	Negative	Negative	Negative
41		Fivimart (Tran Vu)	Spring roll with shrimp meat	Sai Gon	Negative	Negative	Negative
42		Intimex	Tiger shrimp (without skin)	Dong Do	Negative	Negative	Negative
43		Intimex	Spring roll with shrimp meat	Ha Long	Negative	Negative	Negative
44		Intimex	Tiger shrimp (without skin)	Ca Mau	Negative	Negative	Negative
45	19/10/2009	Metro (Hoang Mai)	Scallop meat	Dong Do	Negative	Negative	Negative
46		Metro (Hoang Mai)	Steamed shrimp (without skin)	Ca Mau	Negative	Negative	Negative
47		Metro (Hoang Mai)	Scallop meat	Hai Loc	Negative	Negative	Negative
48		Metro (Hoang Mai)	Scallop meat	Hai Loc	Negative	Negative	Negative
49		Metro (Hoang Mai)	Yellow clam meat	Hai Nam	Negative	Negative	Negative
50		Metro (Hoang Mai)	Claw crab meat	Hai Loc	Negative	Negative	Negative

表3 ベトナム国内で流通する冷凍水産食品の検査結果(2)

#	Sampling Date	Place of Sampling	Types of Foods	Company produced	<i>Shigella</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	Antibiotics Residue
51	19/10/2009	Metro (Hoang Mai)	Steamed shrimp (without skin)	Hai Loc	Negative	Negative	Negative
52		Metro (Hoang Mai)	Scallop meat	Minh Phu	Negative	Negative	Negative
53		Metro (Hoang Mai)	Whole cleaned squid	Hai Loc	Negative	Negative	Negative
54		Metro (Hoang Mai)	Whole cleaned squid	Toan Ky	Negative	Negative	Negative
55		Metro (Hoang Mai)	Fillet squid	Hai Nam	Negative	Negative	Negative
56		Metro (Hoang Mai)	Whole cleaned squid	Hai Nam	Negative	Negative	Negative
57		Metro (Hoang Mai)	Fresh shrimp	Hai Nam	Negative	Negative	Negative
58		Metro (Hoang Mai)	Squid with minced pork meat	Ca Mau	Negative	Negative	Negative
59	28/12/2009	Kim Lien open market	Squid cake	Ha Long Foods	Negative	Negative	Negative
60		Kim Lien open market	Steamed shrimp (without skin)	Dong Do	Negative	Negative	Negative
61		Kim Lien open market	Shrimp tempura	Private	Negative	Negative	Negative
62		Kim Lien open market	Spring roll with whole shrimp	Vissan	Negative	Negative	Negative
63		Kim Lien open market	Clean squid's head	Dong Do	Negative	Negative	Negative
64		Kim Lien open market	Fresh shrimp	Private	Negative	Negative	Negative
75		Dong Tam open market	Fresh shrimp	Nasco	Negative	Negative	Negative
66		Dong Tam open market	Whole cleaned squid	Private	Negative	Negative	Negative
67		Phuong Mai open market	Clean squid's head	Private	Negative	Negative	Negative
68		Phuong Mai open market	Black tiger shrimp (with skin)	Private	Negative	Negative	Negative
69		Phuong Mai open market	Whole cleaned squid	Hai Nam (Phan)	Negative	Negative	Negative
70	05/01/2010	Thanh Xuan Bac open	Squid cake	Ha Long Foods	Negative	Negative	Negative
71		Khuong Dinh open market	Squid cake	Ha Long	Negative	Negative	Negative
72		Khuong Dinh open market	Steamed shrimp (without skin)	Dong Do	Negative	Negative	Negative
73		Khuong Dinh open market	Shrimp tempura	Khuong Dinh	Negative	Negative	Negative
74		Phuong Liet open market	Squid cake	Private	Negative	Negative	Negative
75		Phuong Liet open market	Steamed shrimp (without skin)	JT Foods	Negative	Negative	Negative
76		Thanh Xuan Bac open	Fresh shrimp	Private	Negative	Negative	Negative
77		Thanh Xuan Nam open	Whole cleaned squid	Private	Negative	Negative	Negative
78		Thanh Xuan Nam open	Fresh shrimp	Private	Negative	Negative	Negative
79		Thanh Xuan Bac open	Spring roll with whole shrimp	Vissan	Negative	Negative	Negative
80	26/01/2010	Hapro Thanh Xuan	Squid cake with fennel	Dai An	Negative	Negative	Negative
81		Hapro Thanh Xuan	Shrimp - roll cake	Cau Tre (HCM)	Negative	Negative	Negative
82		Hanoi Star	Shrimp tempura	Hoang Gia (HN)	Negative	Negative	Negative
83		Hapro Kim Lien	Black tiger shrimp (with skin)	Mien Bac	Negative	Negative	Negative
84		Hapro Thanh Xuan	Black tiger shrimp (with skin)	Mien Bac	Negative	Negative	Negative
85		Hapro Thanh Xuan	Steamed shrimp (without skin)	Dong Do	Negative	Negative	Negative
86		Hapro Kim Lien	Steamed shrimp (without skin)	Dong Do	Negative	Negative	Negative
87		Hapro Kim Lien	Steamed abalone	Gia Dinh	Negative	Negative	Negative
88		Hanoi Star	Steamed shrimp (without skin)	Dai An	Negative	Negative	Negative
89		Hapro Thanh Xuan	Round cutted squid	Ha Long	Negative	Negative	Negative
90		Hapro Thanh Xuan	Fresh shrimp	Nam Dinh	Negative	Negative	Negative
91		Hapro Thanh Xuan	Black tiger shrimp (with skin)	Mien Bac	Negative	Negative	Negative
92		Hapro Thanh Xuan	Fresh shrimp	Dong Do	Negative	Negative	Negative
93		Hapro Kim Lien	Clam	Gia Dinh	Negative	Negative	Negative
94		Hapro Kim Lien	Whole egg-squid	Gia Dinh	Negative	Negative	Negative
95		Hapro Thanh Xuan	Fresh crab meat	Dong Do	Negative	Negative	Negative
96		Hanoi Star	Fresh shrimp	Dong Do	Negative	Negative	Negative
97		Hanoi Star	Squid's head	Dai An	Negative	Negative	Negative
98		Hanoi Star	Crab meat	Dai An	Negative	Negative	Negative
99		Hapro Kim Lien	Spring roll with shrimp and crab	Vissan	Negative	Negative	Negative
100		Uni-Mart	Fresh shrimp (without skin)	Dong Do	Negative	Negative	Negative

表4 主な違反事例（平成19年度上半期）

違反条文	違反件数	構成比	おもな違反内容
第6条 (販売を禁止される食品および添加物)	118	18.5	とうもろこし、ハトムギ、落花生、アーモンド、ごま等のアフラトキシンの付着、キャッサバ等のシアン化合物の含有、食肉製品のリステリア菌による汚染、有毒魚の混入、下痢性・麻痺性貝毒の検出、米の輸送時中の事故による腐敗・変敗・カビの発生
第9条 (病肉等の販売等の制限)	1	0.2	衛生証明書の不添付
第10条 (添加物等の販売等の制限)	31	4.9	サイクラミン酸、TBHQ、ポリソルベート、パテントブルーV、アゾルビン等の指定外添加物を使用した加工食品
第11条 (食品または添加物の基準および規格)	479	75.2	野菜および乾燥野菜の成分規格違反(農薬の残留基準違反)、水産物およびその加工品の成分規格違反(抗菌性物質の含有、農薬等の残留基準違反)、冷凍食品の成分規格違反(一般細菌数、大腸菌、大腸菌群)、添加物の使用基準違反(ソルビン酸、安息香酸等)、添加物の過量残存(二酸化硫黄等)
第18条 (器具または容器包装の基準および規格)	8	1.3	器具・容器包装の規格基準違反 原材料の材質別規格違反
計	637(延数) 619(違反届出件数)		

表5 主な検査命令対象品目と検査実績（平成19年度上半期速報値）

対象国・地域	おもな対象食品	おもな検査項目	検査件数	違反件数
全輸出国 (15品目)	落花生、チリベツパー、ナッツ類、ハトムギ、乾燥いちじく等	アフラトキシン	4,414	20
	すじこ	亜硝酸根等	312	3
	フグ	魚種鑑別	2	0
	シアン化合物含有豆類、キャッサバ	シアン化合物	248	6
中国 (46品目)	えび、鰻、さば、しじみ、ローヤルゼリー等	テトラサイクリン系抗生物質、マラカイトグリーン、エンロフロキサシン等	7,812	24
	まつたけ、ねぎ、しいたけ、大粒落花生、未成熟えんどう等	アセトクロール、テブフェノジド、フェンプロバトリン等	14,312	42
	二枚貝	麻痺性貝毒等	1,798	24
	そば	アフラトキシン	404	0
	鰻加工品等	大腸菌群等	1,160	3
	全ての加工食品	サイクラミン酸	1,668	1
タイ (24品目)	えび	オキソリニック酸	1,790	0
	おくら、マンゴー、アカシア、ミズオジギソウ等	クロルピリホス、ジノテフラン、EPN等	446	1
	バジルシード	アフラトキシン	4	1
韓国 (20品目)	パプリカ、とうがらし、しじみ等	クロルピリホス、エトプロホス、エンドスルファン等	102	1
	二枚貝等	麻痺性貝毒	2,159	2
	生食用アカガイ	腸炎ビブリオ	13	0
台湾 (16品目)	鰻、ローヤルゼリー、スッポン等	フラルタドン、フラゾリドン、クロラムフェニコール等	2,808	2
	ウーロン茶、マンゴー、ニラ、タロイモ等	プロモプロピレート、シベルメトリン、クロルピリホス等	296	8
	全ての加工食品	サイクラミン酸	41	0
米国 (12品目)	とうもろこし、パセリ、アーティチョーク、ほうれんそう等	ピリミホスメチル、クロルピリホス、フェンバレレート等	195	1
	とうもろこし、アーモンド、りんごジュース	アフラトキシン、パツリン	1,997	38
	えび、いか等	クロラムフェニコール、フラゾリドン等	5,741	56
ベトナム (5品目)	ほうれんそう	インドキサカルブ	91	0
	ごま	アフラトキシン	21	1
	すべての加工食品	サイクラミン酸	51	0
その他(25カ国、46品目)			4,852	58
総計			52,737	292

表6 ベトナムからの輸入食品の違反事例(平成20年度)

#	製品	違反内容	検査所	#	製品	違反内容	検査所
1	その他の魚肉わり製品(FROZEN OCTOPUS BAR)	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	東京二課	32	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):その他の魚類(FROZEN STANDING SHRIMP WITH ROLLED SOLE FILLET)	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0005ppm 検出)	東京
2	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):その他の魚類(BREADED)	成分規格不適合(E.coli 陽性)	川崎	33	エビ餡粉末	使用基準不適合(二酸化硫黄 0.073g/kg 検出)	名古屋
3	無加熱採取冷凍食品:おくら(FROZEN OKURA WHOLE)	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	川崎	34	冷凍養殖えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0010ppm 検出)	東京
4	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):えび類(FROZEN NOBASHI)	成分規格不適合(E.coli 陽性)	東京	35	ビール	使用基準不適合(二酸化硫黄 0.032g/kg 検出)	東京
5	魚肉わり製品:ミニ串天(ネギ生薬)	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	大阪	36	無加熱採取冷凍食品:ケーキ(シュクレ)	保存基準不適合(耐水性のない紙製の容器包装を使用)	大阪
6	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):かのこイカ切身打粉付	成分規格不適合(細菌数 $3.8 \times 10^6/g$)	大阪	37	無加熱採取冷凍食品:ケーキ(チョコレートシュクレ)	保存基準不適合(耐水性のない紙製の容器包装を使用)	大阪
7	無加熱採取冷凍食品:かえび天ぷら	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	大阪	38	冷凍養殖えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0006ppm 検出)	大阪
8	生食用冷凍鮮魚介類:いか類(FROZEN SUSHI)	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	東京	39	無加熱採取冷凍食品:エビの鬚	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.017ppm 検出)	神戸
9	冷凍カットゆでたこ	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	成田空港	40	冷凍切り身いか	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0017 ppm 検出)	大阪
10	無加熱採取冷凍食品:いか類	成分規格不適合(細菌数 $3.4 \times 10^6/g$)	東京	41	無加熱採取冷凍食品:えび類	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.002ppm 検出)	川崎
11	無加熱採取冷凍食品:焼きサーモンハラスライス	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	東京	42	冷凍むき身いか	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0008 ppm 検出)	東京
12	生食用冷凍鮮魚介類:冷凍切身ます	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	大阪	43	冷凍切り身・むき身えび類(FROZEN PEELED SHRIMPS)	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0008 ppm 検出)	川崎
13	無加熱採取冷凍食品:SKIP JACK FLAKE	成分規格不適合(大腸菌群陽性)	川崎	44	冷凍むき身養殖えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0005 ppm 検出)	東京
14	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):FROZEN SALMON BALL	成分規格不適合(E.coli 陽性)	成田空港	45	冷凍むき身養殖えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0018 ppm 検出)	東京
15	生食用冷凍鮮魚介類:いいだこ	成分規格不適合(細菌数 $2.8 \times 10^6/g$, 大腸菌群陽性)	名古屋	46	冷凍天然むき身えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0006 ppm 検出)	門司(下関)
16	冷凍むき身養殖えび(Frozen PD (Hiso based)White-Vannamei Shrimp)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.004ppm 検出)	東京	47	無加熱採取冷凍食品:えび類(FROZEN BOILED SUSHI-EBI)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.002ppm 検出)	東京
17	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):FROZEN OTSUKI-NO BASHI SHRIMP(YOUSHOKU)	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0005 ppm 検出)	東京	48	生鮮未成熟さやえんどう	11条3項に基づき人の健康を損なうおそれのない量として定める量を超えて残留(フルシラゾール 0.02ppm検出)	川崎
18	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):FROZEN VANNAMEI EBI FRY (DX ROYAL KING)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.001ppm 検出)	名古屋	49	冷凍むき身天然えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0013 ppm 検出)	東京
19	冷凍むき身えび類(YENNAMEI PD SHRIMP)	成分規格不適合(フラソリドン 0.002ppm 検出)	東京	50	冷凍いか	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0025 ppm 検出)	神戸二課
20	加熱後冷凍食品(未加熱)えび類(YANNAMEI NOBASHI)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.001ppm 検出)	東京	51	コーヒ一製品	指定外添加物(サイクラミン酸 33 $\mu g/g$ 検出)	福岡
21	無加熱採取冷凍食品 えび類(YANNAMEI SUSHI EBI)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.005ppm 検出)	東京	52	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):えび類	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0008 ppm 検出)	東京
22	無調味乾燥製品:いか類(ROASTED SQUID)	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0008ppm 検出)	神戸二課	53	冷凍えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0011 ppm 検出)	大阪
23	無調味乾燥製品いか	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0010ppm 検出)	神戸	54	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):えび餃子	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0008 ppm 検出)	川崎
24	冷凍むき身えび類(FROZEN PEELED SHRIMP)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.003ppm 検出)	東京	55	冷凍養殖えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0008 ppm 検出)	東京
25	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):えび類(FROZEN VANNAMEI NOBASHI EBI)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.005ppm 検出)	川崎	56	冷凍養殖えび	成分規格不適合(スルフアマトキサゾール 0.08 ppm 検出)	鹿児島
26	無加熱採取冷凍食品:FROZEN VANNAMEI SUSHI EBI	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.007ppm 検出)	川崎	57	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):えびフライ	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.002ppm 検出)	大阪
27	無加熱採取冷凍食品:FROZEN VANNAMEI SUSHI EBI	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.006ppm 検出)	川崎	58	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):えびフライ	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.006ppm 検出)	大阪
28	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):えび類(FROZEN VANNAMEI NOBASHI EBI)	成分規格不適合(フラソリドン(AOZとして) 0.007ppm 検出)	川崎	59	加熱後採取冷凍食品(凍結直前未加熱):ポイルイカリング	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0009 ppm 検出)	川崎
29	スポン:活・生鮮 天然	成分規格不適合(フラクタドン(AMOZとして))	成田空港	60	冷凍養殖えび	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0007 ppm 検出)	東京
30	ハトムギ	アフラトキシン毒性(12ppb)	名古屋	61	加熱後採取冷凍食品(未加熱):ほうれんそう	11条3項に基づき人の健康を損なうおそれのない量として	神戸二課
31	冷凍 切り身・むき身:イカ	成分規格不適合(クロラムフェニコール 0.0006ppm 検出)	福岡	合計	生物危害:15件、化学危害:46件		

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

分担研究報告書

6. 食品由来 *Listeria monocytogenes* に関する分子疫学的研究

研究分担者 岡田由美子
研究協力者 五十君静信、門田修子

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

食品由来 *Listeria monocytogenes* に関する分子疫学的研究

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

協力研究者 門田修子

国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 流動研究員

協力研究者 五十君静信

国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 第一室長

研究要旨

人及び動物に脳脊髄膜炎、流死産を引き起こし、致命率が20%にも及ぶ重篤な感染症であるリステリア症の原因菌 *Listeria monocytogenes* は自然界に幅広く分布しており、様々な食品から分離されている。人への主な感染経路は汚染食品の摂取及び母体からの垂直感染であり、原因食品としては食肉加工品、乳製品などが知られている。本菌は0℃以下でも増殖可能な低温増殖能と12%もの高食塩濃度下でも増殖が可能な高食塩濃度耐性能を持ち、食品の一次汚染ならびに製造工程・保存期間での二次汚染や食品内増殖の制御は困難である。リステリア症のハイリスク食品とされる生ハム等の非加熱食肉製品やチーズ等の乳製品は、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い。一方、食品媒介感染症の発生予防には過去の事例の原因究明が大変重要であるが、これまで日本国内で発生しているリステリア症はその大半が散发例であり、欧米諸国で数年に一度の頻度で見られている集団事例は未だ発生していない。そのため、国内のリステリア症で原因食品が特定されることは極めてまれである。今回、輸入食品及び国内産食品由来のリステリア菌株を分類したデータベース構築の基礎とする目的で、輸入食品から分離されたリステリア及び研究室保有の国内食品からの分離株の型別を、現在国際的に最も広く用いられている型別法であるパルスフィールドゲル電気泳動法により解析した。その結果、泳動パターンには食品の原産国による差は見られなかったものの、食肉加工品・水産加工品等の食品カテゴリーによって異なるクラスターに属する傾向が示された。今後の国内での各種食品由来株のデータを蓄積することにより、リステリア症発生時の原因食品の究明に有益な情報を提供しようと思われた。

A. 研究目的

ど自然界の様々な環境に存在している

家畜の腸管内、土壌、河川水や食品工場な

Listeria monocytogenes (以下リステリア)

は人及び動物に脳脊髄膜炎、流死産を引き起こすリステリア症の原因菌である。本菌は乳製品、水産物及びその加工品、食肉及びその加工品、サラダ等様々な食品から分離されており、現在のわが国では輸入時の検疫により、ナチュラルチーズと生ハム等の非加熱食肉製品から本菌が分離された場合には、命令検査、自主回収等が行われる。しかしながら、検疫所における試験可能な検体数は限られており、分担研究者らが実施した平成 19 年度の厚生労働科学研究「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」の分担研究「輸入非加熱食肉食品の *Listeria monocytogenes* による汚染状況」においては、国内で一般に流通している非加熱食肉製品 68 検体中 4 検体 (5.9%) から本菌が分離されていたため、非加熱喫食食品を感染源とするリステリア症の発生は潜在的に見られると思われる。本研究では、食品媒介感染症を予防するための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、輸入食品由来株及び国内産食品由来リステリア菌株の効率的な分子型別データベースを構築することを目的として、これらの食品から分離された *L. monocytogenes* のパルスフィールドゲル電気泳動解析を実施した。

B. 研究方法

1. 検体

国内産食品由来株 19 株、輸入食品由来株 7 株、輸入食品を原材料とする国内産食品由来株 3 株の計 29 株の *L. monocytogenes* 菌株に標準菌株として ATCC19115 株を加え、合計 30 株を用いた。血清型の内訳は、1/2a が 18 株、1/2b が 4 株、1/2c が 2 株、3b が

1 株、4b が 3 株、4d が 1 株、型別不能が 1 株であった。

2. パルスフィールドゲル電気泳動 (Pulse Field Gel Electrophoresis, PFGE) による分子型別

各菌株を Brain Heart Infusion (BHI) 寒天平板 (Difco) 上で 37°C 一夜培養し、単一コロニーを形成させた。1 コロニーを中試験管内で 5ml の BHI 液体培地 (Difco) に接種し、30°C 一夜静置培養した菌液の 3ml 遠心分離し、TE バッファー (pH8.0) で戦場後、0.4ml の同バッファーに再懸濁した。その懸濁液を用いて濃度の調整を行ったのち、10mg/ml のリゾチーム溶液を 1/6 量加えて 37°C 10 分反応させ、1.5% アガロース、プロテイナーゼ K、10% SDS の混合液を 53°C に保温したアガロースミックスと等量混和して、プラグモールドに分注・固化させた。作成したプラグは 4ml の溶菌溶液 (75ml の蒸留水、5ml の 1M Tris、10ml の 0.5M EDTA、10ml の 10% Sarcosine、15mg のプロテイナーゼ K) に浸漬し、53°C 2 時間振とうした。その後、53°C の滅菌水 15ml で 10 分洗浄を 2 回、TE での 15 分洗浄を 4 回行った。プラグは制限酵素 ApaI (タカラバイオ) で 200U、30°C、16 時間の切断を行った。泳動装置には CHEF Mapper System (日本バイオラッド・ラボラトリーズ) を使用し、×0.5 TBE 中で 1% Seakem Gold Agarose により、Gradient : 6.0V/cm、Angle: 120°、Ramplig factor: Linear、Switch time: 4-40sec、泳動時間: 22 時間で泳動を実施した。泳動後のゲルは、エチジウムブロマイドで染色後、Molecular Imager FX (日本バイオラッド・ラボラトリーズ) を用いて写真撮影を行った。コンピュータによる PFGE

パターン解析は、Finger printingII ver3.0 (日本バイオラッド・ラボラトリーズ)を用いて実施し、系統樹作成にはUPGMA法を用いた。

3. 国内におけるリステリア汚染食品の検疫関連情報収集

平成20年4月から平成22年3月までの2年間で、厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課輸入食品安全対策室より出された事務連絡の内、リステリアが検出された輸入食品に関する情報を抽出し、輸出国、対象食品等について年度ごとに集計した。

4. 各国におけるリステリア汚染食品のリコール状況

平成21年4月から平成22年3月までの期間で、食品安全委員会の発表している食品安全関係情報及び日報と、国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部が発表している食品安全情報より、諸外国におけるリステリア汚染食品のリコール情報を抽出し、重複を除いて食品種、原産国、患者発生の有無等について集計した。

C. 研究結果

1. PFGEによる分子型別

輸入食品及び国内産食品由来の *L. monocytogenes* のPFGE解析の結果を系統樹として図1に示した。その結果、全30株は3つのクラスターに大別された。第1のクラスターには、食肉加工品と標準株、帆立由来株が分類された。第2クラスターには、水産食品由来株の大半が分類された。また、食肉加工品の一部もこのクラスターに分類された。第3クラスターには食肉加工品由来の2株のみが分類された。生ハム及びサラミ計6検体はスペインからの、チーズ1

検体はフランスからの輸入食品であった。原産国や由来食品が同様であっても生ハム及びサラミ由来株は単一クラスターではなく、3つのクラスター全てに分かれて分類されていた。血清型1/2aに属する18株のみを再分類したところ、食肉製品由来株のクラスターと水産加工品及びチーズ由来株のクラスターに大別された(図2)。

2. 国内におけるリステリア汚染食品の検疫関連情報収集

厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課輸入食品安全対策室より平成20年4月から平成22年3月までの2年間に出版された、リステリアが検出された輸入食品に関する事務連絡を、輸出国、対象食品等について年度ごとに集計した(表2-1及び2)。その結果、平成20年度には13件の検査命令(うち1件は積戻し)、平成21年度には15件の検査命令及び2件の積戻し命令が出されていた。対象食品は、平成20年度がチーズ5件、非加熱食肉製品7件及びそれらの複合食品1件で、平成21年度には非加熱食肉製品15件、食鳥肉1件及び食肉製品1件であった。輸出国は、平成20年度がイタリア4件、フランス3件、スペイン5件及び米国1件であり、平成21年度がイタリア10件、スペイン4件、米国1件、チリ2件であった。菌の検出は、平成20年度には輸入検疫が1件、輸入業者による自主検査が8件、原産国での試験が3件、他国情報が1件であった。平成21年度には輸入検疫が3件、輸入業者による自主検査が12件、原産国試験が2件であった。

3. 各国におけるリステリア汚染食品のリコール状況に関する情報収集

食品安全委員会から報告された食品安全

関係情報及び日報と、国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部報告された食品安全情報より、平成 21 年 4 月から平成 22 年 3 月までの諸外国におけるリステリア汚染食品のリコール情報を抽出し、重複を除いて食品種、原産国、患者発生の有無等について集計した(表 2)。その結果、48 件の食品リコールがリステリアに関連して出されていた。国別には、米国 23 件、カナダ 14 件、オーストラリア 3 件、オーストリア(内 1 件はドイツを含む)及びアイルランド各 2 件、フランス、チリ、スウェーデン及びイギリス各 1 件であった。また、対象食品をカテゴリー別に分類すると、食肉製品 20 件、乳製品 13 件、水産食品 8 件、野菜類 4 件、複合食品 2 件及び菓子類 1 件であった。回収対象食品に起因するリステリア症の発生が明確なものは 3 件あり、それぞれ患者数は 13 名、32 名及び 1 名であった。また、因果関係が疑われているものは 1 件あった。

D. 考察

今回の調査において、国内産食品由来株 19 株、輸入食品由来株 7 株、輸入食品を原材料とする国内産食品由来株 3 株の計 29 株の *L. monocytogenes* 菌株を用いたパルスフィールドゲル電気泳動法による分子型別試験を実施したところ、泳動パターンには食品の原産国による差は見られなかった。しかしながら、食肉加工品・水産加工品等の食品カテゴリーによって異なるクラスターに属する傾向が示された。今後の国内での各種食品由来株のデータを蓄積することにより、リステリア症発生時の原因食品の究明に有益な情報を提供しうると思われた。しかしながら、本型別法は結果を得るまでに約 5 日を要し、また、電気泳動像の画像解析により菌株間の比較

を行うため、研究室内及び研究室間での再現性が問題となりうると思われた。

国内の輸入食品検疫及び輸入業者の自主検査によるナチュラルチーズ及び非加熱食肉製品からのリステリア検出は、過去 2 年間にそれぞれ 15 例程度見られることが明らかとなった。更に、諸外国における本菌の検出による食品リコールが過去 1 年間に 48 例報告され、そのうち 3 例がリステリア症の原因となっていることが明らかであった。

これらの結果から、今後輸入食品を通じてリステリア症の事例が発症する危険性は高く、その原因食品の究明のために食品由来リステリアの分子疫学的サーベイランスを継続的に実施し、データベース化することが重要であることが示唆された。一方、パルスフィールドゲル電気泳動法はデータの再現性にやや問題があり、画像データであるため他の研究者とのデータの比較・交換が容易ではないため、今後は別種の分子疫学的手法についても検討していく必要があると思われた。

E. 結論

今回の調査の結果、パルスフィールドゲル電気泳動パターンには食品の原産国による差は見られなかったものの、食肉加工品・水産加工品等の食品カテゴリーによって異なるクラスターに属する傾向が示された。また、国内の輸入食品検疫及び輸入業者の自主検査によるナチュラルチーズ及び非加熱食肉製品からのリステリア検出は、過去 2 年間にそれぞれ 15 例程度見られることが明らかとなった。更に、諸外国における本菌の検出による食品リコールが過去 1 年間に 48 例報告され、そのうち 3 例がリステリア症の原因となっていることが明らかであった。これらの

状況から、食品由来リステリアの分子疫学的サーベイランスを継続的に実施し、データベース化してリステリア症発症時の原因食品の究明に役立てることの重要性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 学会発表

Y. OKADA, H. Suzuki, S. YAMAMOTO, S. IGIMI, N. OKADA.

Identification of genes associated with the growth phase transition and its mechanisms in *Listeria monocytogenes*. 109th General Meeting of American Society for Microbiology Philadelphia, USA. 2009. 5.

Okada Y, Okutani A, Suzuki H, Asakura H and Igimi S
Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan. FEMS2009. Goteburg, Sweden, 2009. 6.

岡田由美子、鈴木穂高、五十君静信、山本茂貴、岡田信彦

RpoN, the alternative sigma factor, is involved in the virulence in *Listeria monocytogenes*. 第83回日本細菌学会 横浜 2010年3月

2. 原著論文

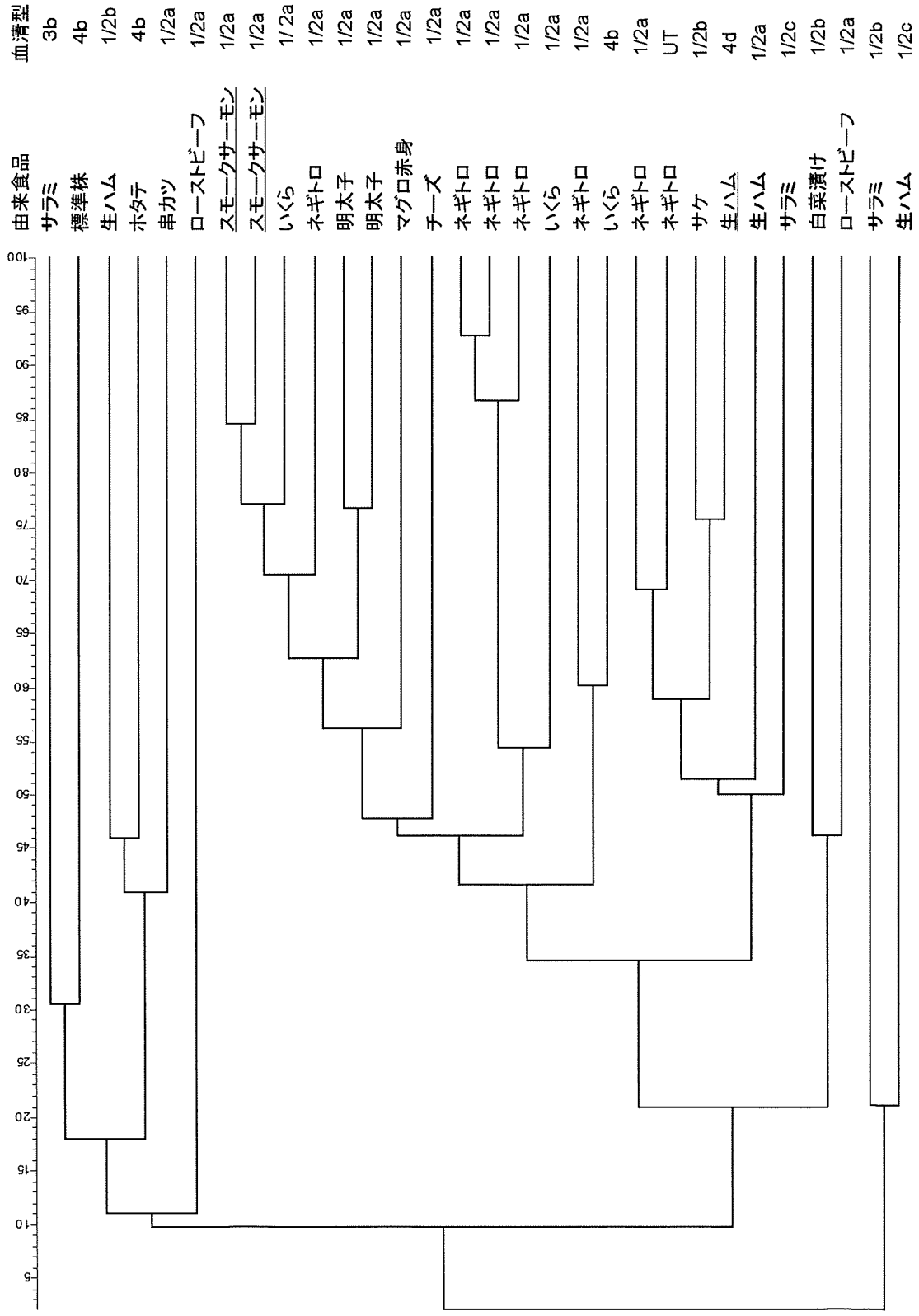
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

図1. 国内で分離された輸入食品及び国内産食品由来のリストテリア菌株のPFGE型別

太字: 輸入食品、下線: 原材料が輸入品

Pearson correlation [0.0%-100.0%]
Apel



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

分担研究報告書

7. 三類感染症の発生状況と原因食品の推定に関する研究

研究分担者 伊藤健一郎
研究協力者 多田有希、齋藤剛仁、松崎充宏

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
(研究課題名:輸入食品の食中毒菌モニタリングプラン策定手法に関する研究)

分担研究課題「3類感染症の発生状況と原因食品の推定に関する研究」

分担研究者 伊藤健一郎 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 多田有希・齊藤剛仁(感染症情報センター)、松崎充宏(海事検定協会)

平成21年度研究要旨

3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、3類感染症の発生状況とその原因食品の情報を収集した。

本年度は、(1)赤痢を中心とした3類感染症発生状況を感染症発生動向調査システムから収集した。平成20年の赤痢の国内発生数は124例、平成21年は54例であった。大半がソネ菌であった。平成20年は集団事例が多く、福岡県を中心とした輸入イカ関連の広域集団事例と、福岡県の保育園集団発生があった。

(2)赤痢について国内事例発生の際について簡易標準調査票で調査を行った。

A. 研究目的

現行の細菌性3類感染症には腸管出血性大腸菌に加え旧2類感染症に分類されていた赤痢・コレラ・腸チフス・パラチフスが含まれている。腸管出血性大腸菌やチフス菌・パラチフス菌と異なり、赤痢とコレラは我が国には常在していないと考えられている。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っているため、腸管出血性大腸菌を除く3類感染症の原因はほとんどが海外と考えられる。しかしこれらの疾患においても、海外渡航歴や患者との接触もなく国内で感染したと考えられる事例は、年ごとに変化はあるが毎年発生し、最も多い赤痢では数十例以上である。原因は輸入食品と推定されるが、特定されることは極めて少ない。原因食品が残存しないため検査できないことや、食品からの検出が困難なこと、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ている。

そこで、発生数の多い赤痢を中心として腸管出血性大腸菌以外の3類感染症の発

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. 3類感染症発生動向

3類感染症発生状況を感染症発生動向調査システムにより、2006年1月から2010年3月までの報告についてまとめた。赤痢の発生動向については、前回の研究報告に記載しなかった2008年1月から2010年3月までについて詳細に検討した[平成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、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報告書]。食中毒事例については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. 国内発生赤痢の積極的疫学調査

(1) 国内発生赤痢の積極的疫学調査

感染症発生動向調査システムに報告された赤痢患者から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(資料)。また、分離菌株を国立感染症研究所細菌第一部に送付するように依頼した。週別の発生状況を解析した。

(2) 調査票の検討

簡易標準調査票の回答内容を、発生動向調査の個票または前回の研究報告に掲載した標準調査票の回答内容と比較した。また、佐賀県の平成21年度衛生検査専門技術研修に参加して、実際に3類感染症の調査を行う調査員の方に現行の仕組みを説明し意見を交換した。

C 結果と考察

1. 3類感染症の発生状況

(1) 感染症発生動向調査

わが国で2008年に報告された腸チフス患者は57名(推定国内感染9名)、パラチフス患者27名(同1名)、赤痢患者は1桁多く320名(同124名)、コレラ患者45名(同23名)であった。(推定感染地が不明の腸チフス患者1名を含む、表1-表3)。2009年は腸チフス患者は29名(推定国内感染7名)、パラチフス患者27名(同3名)、赤痢患者は180名(同54名)、コレラ患者16名(国内発生はなし)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1名を含む、表1-表3)。また、2010年1月～3月26日までに報告された腸チフス患者は5名(推定国内感染1名)、パラチフス患者3名(同1名)、赤痢患者は35名(同7名)、コレラ患者2名(同1名)であった。(表1-表3)。

この5年間を比較すると、コレラは2008年に45名と多かったが、これは国内集団事例(23名)がかさ上げしている。2009年は腸チフスと赤痢が減少しているのが目立つ。特に、赤痢は厚生省伝染病統計以来最も少ない件数であった。

表4は食中毒事例状況をまとめたものだが、原因食の特定が難しいせいか届は少な

い。2008年は赤痢で3件、コレラで3件の届があった。赤痢の菌種別では全体、国内例、海外事例ともソネ菌が多く、残りをフレキシネル菌が占めている(表5)。2009年は国内のフレキシネル菌の割合が比較的高かった。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(表6)していた。これも例年と同じ傾向である。表7に赤痢国内発生例一覧を示した。

なお、2007年の感染症法改正により赤痢・コレラ・腸チフス・パラチフスは2類感染症から3類感染症に変更になり、それに伴い疑似症例はなくなった。また、感染症発生動向調査システムは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) 福岡を中心とした赤痢の集団事例

2008年は福岡県を中心にソネ菌による集団事例が多く、7月から8月にかけて飲食店2件と出前寿司1件が発生し、11月に保育園1件があった。7-8月の3件は、患者または無症状病原体保有者から分離された菌のPFGE型は一致していた。残念ながら食品及びふき取り等から原因菌は分離されなかったが、疫学的調査からベトナムから輸入されたイカが原因であることが証明された。

福岡市の調査により、当該食品は2008年2月5日にM商事(輸入者)が福岡市中央魚市場に687ケース(1ケースは10kg)を納入し、九州地区を中心に全国20自治体へ搬入されていた。原因食品が疫学的に特定されたため、検査・回収が指示され2008年9月13日時点で、136ケースと154.8kgが回収された(回収率22.2%)。福岡市中央魚市場に保管され未販売と合わせると58%が回収された。関連の発生は、長崎県(5例)、佐賀県(2例)、鹿児島県(2例)、埼玉県(2例)が確認されている。飲食店での食事またはスーパー販売の刺身用イカ(国内産として

販売)を喫食していた。また、当該イカの販売ルートの特定制により栃木県で感染例が確認できた[福岡市細菌性赤痢集団発生事例調査最終報告、平成20年12月15日、国立感染症研究所実地疫学専門家養成コース吉田真紀子他]。

我が国と地理的にも近く、食品輸入や観光旅行で密接な関係にある東南アジアの感染症情報はほとんどない。発生動向調査によるとベトナムでソンネ菌に感染したと推定される患者等は2007年25例、2008年4例、2009年15例であり、毎年、国別感染者数の上位にランクされている。また、当該国からは「切り身、むき身の鮮水産動物類(冷凍食品を含む)」が5,007件(35,084トン)及び「水産動物:冷凍食品」が5,557件(22,817トン)、「魚肉ねり製品」が1,211件(21,925トン)輸入している(平成20年度輸入食品監視統計、厚生労働省厚生労働省医薬食品局食品安全部。注:切り身、むき身の鮮水産動物類(冷凍食品を含む)と水産動物:冷凍食品は加工の程度による。)。厚生労働省食品安全情報のホームページ違反事例 <http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html> には大腸菌や細菌陽性による違反事例が散見されるなど今後も注意していく必要があると思われる。

2008年の福岡県ではソンネ菌による国内発生と同時にフレキシネル菌の国内散发事例も目立った。29週から41週の発生数は5例であり例年の発生数と比べると明らかに高い、しかし血清型は複数と単純ではない。また、簡易標準調査票による積極的疫学調査により、長崎市の同じ飲食店を利用してソンネ菌の集団事例(福岡県200817653、200817994、200822444、200822661、200822432)とフレキシネル菌の感染が(長崎県(200830884)と東京都(200830072))

が判明した。異なる食品にフレキシネル菌が汚染し、同時期に流通していたことが考えられる。考えにくい、ソンネ菌は他の赤痢菌に比べ比較的生存性が高いと考えられているので、同じ食品に混合汚染していた可能性も残っている。

2. 積極的疫学調査

(1) 国内発生赤痢の積極的疫学調査

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、e-mailで担当者に簡易標準調査票と参考資料を送付し、調査を依頼した。

表8、1)感染症発生動向調査届出票(以下、届出票)と2)簡易調査票に、福岡の出前寿司による集団事例の同じ患者についての記載例を示した。届出票では「感染原因・感染経路(内容)」、「その他事項」、「疾病共通備考」欄に原因食品などの情報が記載されている。1)に比べ2)はより詳細な情報が得られる。参考資料に前回の調査で用いた標準調査票による調査の参考食品の結果をまとめたものを再掲している。それぞれを比較すると、簡易調査票による調査は、あらかじめ各自治体の担当者に説明会を開いた九州・山口地区の調査に比べ食品に関する情報量は少ないが、届出票に比べればはるかに多い。

(2) 調査票の検討

簡易標準調査票の各項目の回答状況を表9に示した(Q1. 行事参加、Q2. 旅行・行楽は「無」という回答が多いために省略)。Q3. 外食の記入に比べ、Q4.1)輸入食品、Q4.2)冷凍食品では不明・無記入が多い。記入方法の説明をつけることや回答例を提示することが必要かもしれない。図に患者発生から感染症発生動向調査報告、さらに感染研から調査の依頼の流れと平均日数を示した。感染症発生動向調査報告までに各保健所が独自の調査票で調査を行っているの

は確実と思われ、すでに行われた調査から、各項目へ記入したことが想像される。2週間というタイムラグから記憶が薄れている可能性は高く、再調査する手間や負担を考えると調査依頼に応じた再調査の率は低いことが予想される。また、後述のように調査時には簡易標準調査票や参考資料がない状況であり、事前に周知しておく必要がある。福岡県の3飲食店における集団事例のように、飲食店で複数の事例が出た場合は自治体としても感知しやすく、また患者も忘れ難いと思われる。また、原因と推定された「ベトナム産の冷凍イカ」は2008年の2月5日に輸入され9月23日時点ではまだ相当の残量が存在していたなど、長期にわたり感染源となりえる。輸入食品・冷凍食品の調査に重点を置き、行事や旅行・行楽の項目は再検討して記入の負担を減ずる等検討する必要がある。Q4. 3) 参考資料の食品項目では「その他」として挙げているが、「参考資料？」という回答があり現場まで届けられなかった可能性がある。参考資料は多くの食品が羅列してあるが、患者の負担を考えると重要な項目を絞ったり、集団事例の原因食品が「冷凍イカ」と推定された時点に入れるなどの検討も必要かもしれない。

回答数は両年とも40%強であった。また、佐賀県の平成21年度衛生検査専門技術研修に参加して、実際に3類感染症の調査を行う調査員の方に現行の仕組みを説明し意見を交換した。意見は以下の通り。

・感染研からの調査票が届く頃には、既に喫食調査済み

・喫食調査時の家庭訪問の際には、母親が回答する際にナーバスになっている

(自分が提供した料理が原因ではないかと最初に心配している)

・食材が輸入製品かどうかは調査で聞き取れない(喫食者も家族も知らない)

D 結論

1. 3類感染症発生状況を2008年1月から2010年3月26日までの報告分について感染症発生動向調査システムをもとに解析した。前回の報告書にも記述したが、3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。2008年には輸入食品による大きな集団事例と広域長期集団事例があった。

2. 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、e-mailで担当者に簡易標準調査票と参考資料を送付し、調査を依頼した。

前回の九州・山口地区における調査では、19自治体の担当者と事前に打ち合わせを行うなど準備が大変であった。簡易調査票による調査は負担が軽い割には、情報量がかなり多く、また事例数は多く得られた。質問項目によって回答しにくさが見られたので、簡易標準調査票をさらに検討することが重要である。また、事前に調査票や参考資料を周知させることが望ましいことが明らかになった。原因食品を特定するためには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理解をえる必要がある。

E. 発表業績

1. 発表論文

Yoshiki Etoh, K. Murakami, S. Ichihara, et al.,(2009), Isolation of Shiga Toxin 2f-Producing *Escherichia coli* (O115:HNM) from an Adult Symptomatic Patient in Fukuoka Prefecture, Japan. *Jap. J. Infect. Dis.*, 62:315-137.

2. 学会発表

村上光一、江藤良樹、竹中重幸他、ハトの志賀毒素2f産生性大腸菌保有状況と分離株の特徴. 第149回日本獣医学会学術集会、2010年3月26、東京都

F. 知的所有権取得状況 なし

表1a. 腸チフスの年次別・推定感染地域別報告数(疑似症を含む)

報告年	月	海外			国内			不明	合計
		男性	女性	合計	男性	女性	合計		
2006	1-3	7	4	11	2	0	2	1	14
2006	4-12	39	11	50	6	2	8	0	58
2007	1-12	24	15	39	2	5	7	1	47
2008	1-12	28	19	47	5	4	9	1	57
2009	1-12	13	9	22	6	1	7	0	29
2010	1-3	1	3	4	1	0	1	0	5

感染症発生動向調査 2010. 3. 26 現在 (診断月)

表1b. パラチフスの年次別・推定感染地域別報告数(疑似症を含む)

報告年	月	海外			国内			不明	合計
		男性	女性	合計	男性	女性	合計		
2006	1-3	4	0	4	0	0	0	0	4
2006	4-12	11	9	20	1	0	1	0	21
2007	1-12	12	6	18	1	3	4	0	22
2008	1-12	19	7	26	0	1	1	0	27
2009	1-12	15	9	24	2	1	3	0	27
2010	1-3	2	0	2	0	1	1	0	3

感染症発生動向調査 2010. 3. 26 現在 (診断月)

表 2. 赤痢の年次別・推定感染地域別報告数(疑似症を含む)

報告年	月	海外			国内			不明	合計
		男性	女性	合計	男性	女性	合計		
2006	1-3	56	43	99	7	8	15	4	118
2006	4-12	137	143	280	45	45	90	0	370
2007	1-12	128	160	288	97	65	162	2	452
2008	1-12	99	97	196	47	77	124	0	320
2009	1-12	62	63	125	24	30	54	1	180
2010	1-3	14	14	28	3	4	7	0	35

感染症発生動向調査 2010. 3. 26 現在 (診断月)