

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。また、今回、タイやラオスの田舎(タイ:SaKao市、ラオス:Pakse市)に市販されている肉は高率にサルモネラ汚染しており、これらの地域で生活している人は常に食肉を介したサルモネラ食中毒の危害に接しながら日々の生活をしていることが確認された。

近隣で旅行者としての訪問や食品を輸入する機会の多いアジア諸国の衛生実態についてはまだ調査すらされていない病原体も多く、継続して監視する必要があると思われる。また、未調査の食中毒菌や病原体等の分布やそれらの薬剤感受性情報については、積極的に解明・監視をする必要があると思われる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表等

・Morita Y, Komoda E, Boonmar S, Markvichir K, Chaunchom S, Chanda C, Yingsakmongkon S, Padungtod P, Jha CV, Singh S, Yamamoto S, Kimura H, Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter coli* isolated from buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *Nepalese Vet. J.*, 29: 42-45(2009)(別添 1)

・Pulsrikarn C, Chaichana C, Pornruangwong S, Morita Y, Yamamoto S, Boonmar S. Serotype, Antimicrobial Susceptibility, and Genotype of *Salmonella* Isolates from Swine and Pork in Sa Kaew Province, Thailand, *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 42(1), 印刷中

### 商業雑誌発表

- ・森田幸雄(2009)「衛生」を食肉処理場の経営戦略に生かす -衛生が「金」になる時代がやってきた-、畜産コンサルタント、537(9)、28-32.(別添 2)
- ・森田幸雄(2010) アジア諸国の口蹄疫・高病

原性鳥インフルエンザ発生状況と家畜の食中毒病原物質保有状況および市販食肉の微生物汚染実態、化学療法の領域、26(10)、114-120(別添 3)。

## 2. 学会等発表

- ・Morita Y, Komoda E, Boonmar S, Yamamoto S, Kimura H, Kabeya H, Maruyama S, Serotypes, Antimicrobial Susceptibility and *gyr A* Gene Mutation of *Campylobacter jejuni* Isolates from Humans and Chickens in Thailand. 15th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms(CHRO), 新潟市、(2009年9月2-5日)(別添 4)
- ・Boonmar S, Salika P, Pulsrikarn C, Pornruangwong S, Sawatwong P, Siludjai D, Jorakate P, Kaewpan A, 森田幸雄, Peruski LF, Malony SA. Bacteraemia due to non-typhoidal *Salmonella* in rural Thailand. 日本食品微生物学会、東京都(2009年10月19-21日)(別添 5)
- ・森田幸雄、古茂田恵美子、Subir Singh、小澤邦壽、木村博一、山本茂貴:ネパールの家畜における食中毒菌保菌状況、日本防菌防黴学会第37回年次大会、東京都2010年9月29日(別添 6)
- ・森田幸雄:「日本およびアジアにおける市販食品の微生物汚染実態および食品由来感染人獣共通感染症の発生状況」、公開国際シンポジウム(教育講演:2010年12月18日:日本大学生物資源科学部大講堂、神奈川県藤沢市)(別添 7)
- ・Boonmar S, Pulsrikarn C, Chaichana P, Pornruangwong S, 古茂田恵美子, 森田幸雄, 山本茂貴. Serotype, Antimicrobial Susceptibility, and Genotype of *Salmonella* Isolates from Swine and Pork in Rural Thailand. 日本食品微生物学会(口頭発表:

2011年10月6日：タワーホール船堀、東  
京都江戸川区(別添8)

**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

表1-1 Pub-Medにおける検索項目ごとの文献数

国名	調査日	<i>Salmonella</i>					<i>Campylobacter</i>					O157(STEC)				<i>Listeria</i>						
		Typhi	animal	food	patient	vegetable	animal	food	patient	vegetable	animal	food	patient	vegetable	animal	food	patient	vegetable				
タイランド	H22.3.18	302	59	87	81	87	11	99	30	26	25	2	22(21)	9(9)	13(12)	5(4)	2(2)	18	5	14	1 <sup>1)</sup>	0
	H23.2.11	324	64	93	88	90	11	105	34	29	31	2	23(21)	9(9)	13(12)	5(4)	2(2)	19	5	14	1 <sup>1)</sup>	0
	H24.1.23	346	67	99	98	105	13	111	36	33	31	3	24(21)	9(9)	14(12)	5(4)	3(2)	26	7	18 <sup>6)</sup>	1 <sup>1)</sup>	0
ベトナム	H22.3.18	117	69	27	19	30	2	8	2	2	2	1	3 <sup>3)</sup> (3)	3(3)	1(1)	0(0)	0(0)	1	0	0	0	0
	H23.2.11	124	73	29	21	34	2	8	2	2	2	1	3 <sup>3)</sup> (3)	3(3)	1(1)	0(0)	0(0)	3	0	0	1 <sup>3)</sup>	0
	H24.1.23	129	76	31	23	35	2	8	2	2	2	1	4(3)	4(3)	1(1)	0(0)	0(0)	3	0	0	1 <sup>3)</sup>	0
フィリピン	H22.3.18	44	14	12	6	11	2	5	1	1	2	0	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	2	1	1	0	0
	H23.2.11	47	15	12	6	14	2	5	1	1	2	0	2(1)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	2	1	1	0	0
	H24.1.23	49	15	12	6	14	2	6	1	1	2	0	2(2)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	2	1	1	0	0
中国	H22.3.18	728	109	305	168	81	18	140	40	22	54	0	128(87)	49(51)	53(31)	15(13)	4(3)	94	34	55	7 <sup>4)</sup>	5
	H23.2.11	827	119	361	199	104	18	159	53	27	60	0	152(118)	58(62)	64(40)	17(16)	4(3)	123	49	70	8 <sup>4)</sup>	7
	H24.1.23	962	132	424	237	117	19	171	59	31	63	0	175(139)	70(74)	75(49)	18(16)	5(4)	154	67	85	8 <sup>4)</sup>	7
インドネシア	H22.3.18	123	77	15	12	51	0	15	4	0	8	0	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	1	0
	H23.2.11	126	77	15	12	51	0	15	4	0	8	0	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	1	0
	H24.1.23	130	81	16	12	62	0	15	4	0	8	0	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	1	0
マレーシア	H22.3.18	132	56	29	22	31	5	21	6	4	4	3	7(6)	3(3)	5(4)	1(1)	0(0)	5	1	5	0	3
	H23.2.11	143	60	23	24	31	5	22	9	4	4	3	8(6)	3(3)	6(4)	1(1)	0(0)	5	1	5	0	3
	H24.1.23	156	64	36	27	35	5	25	11	5	6	3	10(7)	4(4)	6(5)	1(1)	0(0)	7	1	7	0	3
バングラディシュ	H22.3.18	89	56	5	7	36	0	41	8	7	26	0	5(3)	1(2)	3(1)	0(1)	0(0)	3	1	2	0	0
	H23.2.11	89	56	5	7	36	0	44	8	7	26	0	6(4)	3(3)	4(2)	0(1)	0(0)	3	1	2	0	0
	H24.1.23	108	67	6	8	48	0	47	8	7	31	0	7(4)	3(3)	5(2)	0(1)	0(0)	3	1	3	0	0
ラオス	H22.3.18	12	3	4	3	3	0	5	2 <sup>5)</sup>	2	1	0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0	0
	H23.2.11	12	3	4	3	3	0	5	2 <sup>5)</sup>	2	1	0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0	0
	H24.2.1	12	3	4	3	3	0	5	2 <sup>5)</sup>	2	1	0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0	0
ネパール	H22.3.18	52	41	2	2	25	0	8	1	2	2	1	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	0	0	1	0
	H23.2.11	63	48	3	2	37	0	8	1	2	2	1	2(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	0	0	1	0
	H24.1.23	69	51	4	2	41	0	9	1	2	2	1	2(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	0	0	1	0

1)初報告:Treebupachatsakul P, Srifeungfung S, Chayakulkeeree M. Brain abscess due to *Listeria monocytogenes*: first case report in Thailand. J Med Assoc Thai. 2006 Sep;89(9):1516-20.

2)初報告:Nakasone Nら. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from fecal samples of cows in Vietnam. Am J Trop Med Hyg. 2005. 73(3):586-587.

3)初報告:Chau TTら. Three adult cases of *Listeria monocytogenes* meningitis in Vietnam. PLoS Med. 2010. 7(7):e1000306.

4)初報告:Yang CDら. Clinical features, prognostic and risk factors of central nervous system infections in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Rheumatol. 2007. 26(6):895-901.

5)初報告:Boonmar Sら. Prevalence of *Campylobacter* spp. in slaughtered cattle and buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. J Vet Med Sci. 2007. 69(8):853-5.

6)食品の初報告:Indrawattana Nら. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Raw Meats Marketed in Bangkok and Characterization of the Isolates by Phenotypic and Molecular Methods J Health Popul Nutr. 2011. 29(1): 26-38

表1-2 各国における患者、動物、食肉からの *Salmonella*、*Campylobacter*、STEC(O157)の分離率

国名	<i>Salmonella</i>						<i>Campylobacter</i>						STEC(O157)								
	下痢症 患者	非下痢 症患者	動物			食肉			下痢症 患者	非下痢 症患者	動物			食肉	牛乳	下痢症 患者	動物			食肉	
			牛	豚	鶏	牛肉	豚肉	鶏肉			牛	豚	鶏				豚肉	鶏肉	牛	豚	水牛
タイランド	7-18	5-36 <sup>a</sup>	4	6-28	4-9	3	29-71	57-75	28	4	14	73	36-64	23	47-65	0	2-19			4	
ベトナム				5-50	8	49	16-70	8-49						28-31		8-23	27	39			
フィリピン	8-12	5-8	10 <sup>*</sup>						3-4	1-2	20 <sup>*</sup>	20 <sup>*</sup>	0 <sup>*</sup>	5 <sup>*</sup> -6 <sup>b)</sup>		0 <sup>*</sup>	0 <sup>*</sup>				
中国	6			5	17	31-55 <sup>c)</sup>	54	5-12	5 <sup>d)</sup>	8		36	3-31	27	3	2	1-5 <sup>e)</sup>	20	5	1	
インドネシア	26							2-10													
マレーシア	2			14			36-90				25	83	38-93						36		
バングラディシュ	1-19	12						5-19							2-7	7	14	9	8 <sup>d)</sup>		
ラオス	1		8 <sup>g)</sup> *	76 <sup>*</sup>		29 <sup>*</sup> , 8 <sup>g)</sup> *	51 <sup>*</sup>	3-4		0 <sup>*</sup> -6 <sup>g)</sup> *					0.1 <sup>g)</sup>						
ネパール			2 <sup>g)</sup> *	80 <sup>*</sup>	10 <sup>*</sup>	14 <sup>h)</sup>		15		15 <sup>g)</sup> *	50 <sup>*</sup>	34 <sup>*</sup>					0 <sup>*</sup>				

a: 健康人保菌者5%、牛の世話をしている農夫38%、牛の世話をしていない農夫33%

c: 枝肉

e: O157は1%、O157でないSTECは5%

g: 水牛

\*: 我々の現地調査によって判明した分離率(未発表も含む)

b: 鶏・鴨肉

d: 健康な子供の5.01%が *C. jejuni* を保菌

f: 牛肉・水牛肉計90検体中2検体の水牛肉、5検体の牛肉から分離。遺伝子は68%(62/90)から検出

h: O111(論文中にはEHECと記載)

平成21～23年度厚生労働科学研究費補助金  
食品の安全確保推進研究事業

(総合) 分担研究報告書

5. 海外での食品汚染実態および輸入食品の汚染実態調査

分担研究者 武士甲一  
(元) 帯広畜産大学

平成 21-23 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

（総合）分担研究報告書

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(H21-食品-一般-005)

分担研究課題

海外での食品汚染実態および輸入食品の汚染実態調査

分担研究者 武士甲一

国立大学法人帯広畜産大学・畜産衛生学研究部門食品衛生学分野・教授

研究協力者；

牧野壮一（国立大学法人帯広畜産大学副学長）

川本恵子（同大動物特殊疾病研究センター・準教授）

山崎栄樹（同畜産衛生学研究部門食品衛生学分野・助教）

研究要旨：食品の国際的流通が進展する現在、わが国は諸外国から多種・多様の食品や食材を輸入している。そのため、輸入食品の汚染実態を詳細に検討し、輸入食品を介した食中毒の発生を未然に防止することは、急務の課題であると考えられる。特に近年では、輸入食品の摂食による細菌性赤痢やコレラが報告されており、食中毒菌のみならず新たな食品媒介感染症原因菌に対するモニタリングシステムの構築が必要であると考えられる。これまでに我々は、食品の安心安全確保推進研究事業の一環として、平成 18～20 年度の 3 年間に「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」に参画してきた。しかし、輸入食品のすべての食品媒介感染症病原体に対する汚染実態を総合的にモニタリングするシステムは未だ確立されていない。輸入食品を介した食中毒を未然に防止するためには、輸出国での汚染実態と輸入後のわが国での汚染実態をモニタリングすることが必要で、本課題では、①輸入畜水産食品のわが国における汚染実態の調査、②海外で生産される食品の微生物学的成分規格及び食中毒菌並びに残留抗菌性物質による汚染実態を現地で調査し、これらの調査研究を通じて輸入食品のモニタリングシステムを確立することを目的とした。

21 年度においては、輸入冷凍水産物の赤痢菌及び残留抗菌性物質による汚染実態を調査するとともに、ベトナムで生産される冷凍水産食品の赤痢菌、サルモネラ属菌及び残留抗菌性物質による汚染実態を現地で調査を行った。その結果、ベトナム現地での調査において、ハマグリむき身 1 検体からサルモネラ属菌が検出され、輸入冷凍水産食品からは赤痢菌及び残留抗菌性物質はいずれも検出されなかった。

22 年度においては、主として東南アジアからの輸入冷凍水産食品の赤痢菌及び残留抗菌性物質による汚染実態を調査するとともに、ベトナムで生産される冷凍水産食品の赤痢菌、腸炎ビブリオ及び残留抗菌性物質による汚染実態を現地で調査した。その結果、ベトナム現地での調査において、腸炎ビブリオが 9 検体から（18.0%）検出され、また、残留抗菌性物質は 4 検体から検出（8.0%）された。ベトナム国内の検査で赤痢菌は検出されず、また、日本国内に輸入された冷凍水産食品からは赤痢菌及び残留抗菌性物質はいずれも検出されなかったが、当該食品の輸入、流通及び販売においては、衛生管理体制の構築とその監視を継続する必要がある。

## A. 研究目的

現在、わが国は諸外国から多種・多様の食品や食材を輸入している。原産国、特に発展途上国においては食中毒菌及びトリインフルエンザなどの新興再興感染症の原因となる病原体や抗菌性物質並びに農薬の残留など、種々の病因物質によって食品が汚染されることが多く、特に近年では輸入食品の増加に伴ってこれらの病因物質がわが国に持ち込まれる可能性がより高まっている。また、海外渡航歴のない人に細菌性赤痢やコレラの患者が報告されており、これらは輸入食品を介して感染した可能性が示唆されており、実際、韓国からの輸入カキ及びベトナムからの冷凍アオリイカ刺身の摂食による細菌性赤痢が報告されている。これら以外にも、コレラ菌汚染の輸入エビによる事例、腸管出血性大腸菌 O157 汚染の輸入牛肉による事例、輸入水産食品が原因の腸炎ビブリオ食中毒など、輸入畜水産食品を介した食中毒が報告されている。さらに、海外渡航者の増加に伴って、いわゆる輸入感染症の国内への持ち込みも増加傾向にあるため、食品汚染の実態や輸入感染症の発生状況を詳細に検討し、輸入食品を介した感染症や食中毒の発生を未然に防止することは急務の課題であるといえる。

しかし現状では、輸入食品の国内流通における食中毒菌による汚染を総合的に把握するためのモニタリングシステムは未だ確立されていないため、その汚染実態については正確に把握されておらず、また、原産国での当該食品製造施設への立ち入り調査や共同研究の構築は不可能であるのが実情である。輸入食品の安全性を確保するためには、輸出国での食品の汚染実態把握とわが国へ輸入された後の食品の汚染実態をモニタリングすることが必要であると考え。本研究においては、輸入冷凍水産物の赤痢菌及び残留抗菌性物質による汚染実態を調査するとともに、ベトナム・ハノイ市内で流通す

る冷凍水産食品の赤痢菌、サルモネラ属菌及び残留抗菌性物質による汚染実態調査を現地で行った。その結果に基づいて、輸入食品の食中毒菌及び食品媒介感染症病原体に対するモニタリングシステムを構築し、このシステムを用いてデータ解析を行うことを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 調査試料の採取及び試料数

#### (1) わが国における汚染実態調査

日本国内のスーパーマーケットで主として東南アジアからの輸入冷凍水産食品 50 検体を購入して調査試料とした。調査期間は、2009 年 7 月より 2009 年 12 月までの 6 ヶ月間とした。

#### (2) ベトナムにおける汚染実態調査

平成 21 年 8 月 10 日から 22 日までの間ベトナムに出張し、現地研究者と共にベトナム国内で流通する冷凍水産食品の汚染実態調査を行い、分担研究者が帰国後、現地研究者が調査を継続した。試料採取場所を比較的衛生管理が行き届いているスーパーマーケットと衛生管理が行き届かないオープンマーケットとし、種々のタイプの冷凍水産食品 100 検体を採取した。試料は買い上げとし、試料は専用の輸送容器にて冷蔵状態で国立獣医学研究所 (Ministry of Agriculture and Rural Development, National Institute of Veterinary Research, 88 Truong Chinh, Dongda, Hanoi, Vietnam) に搬送して検査を実施した。

### 2. 検査項目及び検査方法

わが国における調査においては赤痢菌及び残留抗生物質について、また、ベトナムでの調査においては赤痢菌、サルモネラ属菌、残留抗生物質を検出対象として試験を行った。

#### ① サルモネラ属菌

厚生労働省の通知 (衛乳第 54 号) にしたがって試料量 25g をストマッカー用袋に秤量し、これに緩衝ペプトン水 (オクソイド) を加えて一次増菌を行った後、

増菌液 0.1ml をラパポートバシリアディスク（オクソイド）に接種して二次増菌培養を行った。培養後、増菌液を 1 白金耳宛、DHL 寒天培地（栄研化学）及びクロモアガーサルモネラ（クロモアガー社）に画線培養して菌分離を試みた。これらの分離培地上でサルモネラ属菌を疑う集落については TSI 培地（栄研化学）、LIM 培地（栄研化学）、マロン酸塩培地（栄研化学）を用いた確認培養によりスクリーニング試験を行った。サルモネラ属菌と推定された分離株については、サルモネラ診断用免疫血清（デンカ生研）を用い、スライド凝集反応による O 群の推定及び試験管内凝集反応によって H 抗原（相誘導操作を含む）を同定した。また、二次増菌液については、エンテロトキシン遺伝子を標的とする PCR 法（遺伝子増幅法）により、サルモネラ属菌遺伝子の有無をスクリーニングした（資料 1）。

## ②赤痢菌

厚生労働省からの事務連絡（赤痢菌の検査法について、厚生労働省医薬局食品保健部安全課、平成 14 年 1 月 9 日付）に記載されている方法に準じ、試料量を 25g として緩衝ペプトン水による一次増菌及びノボピオシン加シゲラブロスを用いた二次増菌培養（嫌気培養）を行った。培養後、二次増菌液を 1 白金耳宛、DHL 寒天培地及び Modified SS Agar（オクソイド）に画線培養して菌分離を試み、赤痢菌を疑う集落については、TSI 培地（栄研化学）、LIM 培地（栄研化学）、シモンズのクエン酸塩培地（栄研化学）、クリステンセンのクエン酸塩培地（自家調製）並びに酢酸ソーダ寒天培地（ベクトン）を用いた確認培養によりスクリーニングした。赤痢菌と推定された分離株については、赤痢菌診断用免疫血清（デンカ生研）を用い、スライド凝集反応により血清型を推定した。なお、二次増菌液については、*invE*、*invG*、*invH*、*ial* 及び 16S-rRNA をコードする DNA を各々特異的に増幅するプライマーを用いた PCR

法により、赤痢菌遺伝子の存在の有無をスクリーニングした（資料 2）。

## ③残留抗生物質

通知法「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法（改定）」に従い、冷凍水産食品中の残留抗生物質をスクリーニングした。冷凍水産食品を細切して 5g をストマッカー用ビニール袋に秤量し、これにクエン酸アセトン緩衝液を 20ml 加えてストマッキングした後、ろ紙でろ過し、そのろ液を試験溶液とした。試験溶液中にペーパーディスクを浸漬した後、ディスク検査用平板に貼付し、これを 30 分以上静置した。*M. luteus*、*B. mycoides*、*B. subtilis* を各々シードした AM5 及び AM8 寒天培地（ベクトン）上で 14mm の発育阻止帯を形成するように調製した標準抗生物質（ベンジルペニシリン、オキシテトラサイクリン、硫酸カナマイシン）を浸漬させたペーパーディスクを陽性対照とし、また、クエン酸アセトン緩衝液を陰性対照としてペーパーディスクに浸漬後、各平板上に貼付した。30℃で 18 時間培養後、各平板上で径 12mm 以上の発育阻止帯を示す試料を陽性とした。

## C. 研究結果

### (1) わが国における汚染実態調査

主として東南アジアからの輸入冷凍水産物のわが国での汚染実態調査の結果を表 1 に示す。原材料の原産国は、インド、インド及び中国、インド及びインドネシア、インドネシア、タイ、ベトナム、中国、日本・中国・インドネシアからの複合、日本・中国・ミャンマーからの複合など多岐にわたっていた。インドからの原材料は鮮エビ、養殖ブラックタイガー、ヤリイカの 3 種、インド及び中国からの複合原材料はエビ（インド）及びイカ（中国）の 2 種、インド及びインドネシアからの複合原材料は鮮エビ及びバナエエビの 2 種、インドネシアからはブラックタイガー、鮮エビの 2 種、タイからは鮮エビ、イカ、アケガイ、ヤリイカ、甲イカの 5 種、ベトナムからは鮮エビ、ブラ

ックタイガーの2種、中国からはイカ、アサリ、ブルーホワイティング（原産国オランダ）、バナメイエビ、ムラサキイカの5種、日本・中国・インドネシアからの複合原材料はアカイカ（日本三陸沖）、むきえび（インドネシア）、イタヤガイ（中国）の3種、ペルー・中国・ミャンマーからの複合原材料はイカ（ペルー）、むきえび（ミャンマー）、イタヤガイ（中国）の3種であった。このうちエビ類が最も多く、総数50検体中の44検体で、次に多かったのはイカ類で9検体、次いで貝類の5検体、ブルーホワイティング（白身魚）の1検体の順であった。これら50検体を食品衛生法に基づいて分類すると、冷凍鮮魚介類39検体、加熱後摂取冷凍食品／凍結直前加熱食品2検体、加熱後摂取冷凍食品／凍結直前未加熱の食品9検体であった。これら50検体のすべてから赤痢菌及び残留抗生物質は検出されなかった。

#### （2）ベトナムにおける実態調査

ベトナムにおいて調査した冷凍水産食品の検査結果を表2及び表3に示す。原材料の魚種の区分は、エビ類51検体、イカ類37検体、ボイルハマグリむき身3検体、にがに4検体、ホタテ貝柱4検体及びアワビ1検体であった。これらの100検体を食品衛生法及び衛生規範に基づいて分類すると、冷凍鮮魚介類38検体、生食用冷凍鮮魚介類5検体、非加熱摂取冷凍食品0検体、加熱後摂取冷凍食品／凍結直前加熱食品24検体、加熱後摂取冷凍食品／凍結直前未加熱食品29検体、煮がに4検体であった。これら100検体のうち、冷凍ハマグリむき身からサルモネラ属菌が検出され、他の99検体からはサルモネラ属菌、赤痢菌、残留抗生物質はいずれも検出されなかった。

#### D. 考察

わが国に輸入される食品は、消費者ニーズの多様化、国際流通の進展を背景に年々増加の傾向にあり、厚生労働省の調査によると、平成20年度の届け出件数は

1,759,123件で、その重量は31,551,097トンであった。検査は届け出件数の11%に相当する193,917件で実施され、その内訳は食品衛生検査施設での行政検査が58,706件（3.3%）、登録衛生検査所での検査140,878件（8.0%）、外国公的機関での検査6,208件（0.4%）であった。このうち、1,150件（0.1%）が違反食品として積み戻し、廃棄又は食用外転用などの措置が取られた。アジア州からの輸入食品届け出件数は886,547件、違反件数は659件と世界中で最も多かった。また、平成20年7月中旬に福岡市において、海外渡航歴のない者から細菌性赤痢が発生した。その原因食品と推定されたベトナムのイースタンシー社が製造加工した冷凍アオリイカ刺身から赤痢菌は検出されなかったが、国立感染症研究所を中心とする調査チームによる解析疫学の結果から、当該アオリイカを食中毒の原因食品として断定した。その後、福岡市及び解析疫学チームが本食中毒に関連した当該食品の流通実態を調査し、4自治体において細菌性赤痢が確認されたが、関係自治体では食中毒と断定されておらず、いずれにおいても本事例との直接の関連は認められなかったと報告された。

我々は、ベトナムからの水産食品の増加及びわが国でベトナム産アオリイカ刺身の喫食による広域細菌性赤痢の発生に興味を持ち、主として東南アジア（ベトナムを含む）からわが国に輸入される冷凍水産食品及びベトナム・ハノイ市内で流通する冷凍水産食品の安全性の確保を目的として、本調査研究を実施するに至った。本研究において、主として東南アジアから輸入された冷凍水産食品50検体から赤痢菌及び残留抗生物質は検出されなかった。また、ベトナム・ハノイ市内で流通する冷凍水産食品100検体のうち、1検体の冷凍ハマグリむき身からサルモネラ属菌が検出され、他の99検体からサルモネラ属菌、赤痢菌、残留抗生物質は検出されなかった。平成19年度上半期における厚生労働省の調査（上半期

速報値)では、食品衛生法第6条、9条、10条、11条及び18条に各々違反する輸入食品は619件(違反届け出件数、表4参照)にのぼり、また、その主な検査命令対象品目と検査項目については、検査件数が52,737件で違反件数は292件であった(表5)。平成20年度におけるベトナムからの輸入食品の違反内容については、生物学的危害による成分規格不適合は15件で、化学的有害による成分規格不適合件数は46件であった(表6、<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/>)。これらの成分規格不適合のうち、生物学的危害については細菌数、大腸菌群、大腸菌の汚染による違反であり、また、化学的有害についてはクロラムフェニコールによる汚染が大部分を占めた。これらの結果から、わが国で流通する輸入食品については、検疫所の検査が功を奏して安全であるが、ベトナム・ハノイ市内で流通する冷凍水産食品については、1検体(冷凍ハマグリむき身)からサルモネラ属菌が検出され、他の99検体からはサルモネラ属菌、赤痢菌、残留抗生物質はいずれも検出されず、これらの有害物質による当該食品の汚染は低いと考えられた。今回の調査結果から、わが国で流通する輸入冷凍水産食品及びハノイ市内で流通する冷凍水産食品については、その安全性は確保されていると考えられる一方、冷凍ハマグリむき身1検体からサルモネラ属菌が検出されたので、当該食品の輸入、流通及び販売においては、一層の衛生管理体制の構築とその監視が必要であると考えられた。

#### E. 結論

主として東南アジアからの輸入冷凍水産物のわが国での汚染実態調査及びベトナム・ハノイ市内で流通する冷凍水産加工品の汚染実態調査を行い、検査総数150検体から、サルモネラ属菌、赤痢菌及び残留抗生物質はいずれも検出されなかった。その結果、これらの冷凍水産食

品の安全性は、現時点では確保されていると結論付けられた。

#### F. 健康危険情報 特に無い。

#### G. 研究発表

- 1) K. Takeshi, M. Kitagawa, M. Kadohira, S. Igimi, S. Makino. 2009. Hazard Analysis of *Listeria monocytogenes* Contaminations in Processing of Salted Roe from Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) in Hokkaido, Japan. J. Vet. Med. Sci. 71(1):1-3.
- 2) K. Takeshi, S. Itoh, H. Hosono, H. Kono, V. T. Tin, N. Q. Vinh, N. T. B. Thuy, K. Kawamoto, S. Makino. 2009. Detection of *Salmonella* spp. Isolates from Specimens due to Pork Production Chains in Hue City, Viet. J. Vet. Med. Sci., 71(4):485-487.
- 3) 小熊恵二, 武士甲一, 門間千枝, 2009. ボツリヌス中毒. 梶 龍兒総監修, 坂本崇編集, ボツリヌス治療総論, (株)診断と治療社, 東京, pp. 24-36.
- 4) Do Ngoc Thuy, Cu Huu Phu, Koichi Takeshi, Van Thi Huong, Le Thi Minh Hang, Nguyen Xuan Huyen, Au Xuan Tuan, Eiki Yamasaki, Sou-ichi Makino. 2009. Detection and Some Characteristics of *Salmonella* spp. Isolates from Raw Meat Retailed in Marketplaces in Hanoi, Vietnam. VNese Veterinary Sciences and Techniques, XVI(6): 25-32.
- 5) Nguyen Thi Bich Thuy, K. Takeshi, A. Kusumoto, S. Makino and K. Kawamoto. 2009. *Salmonella* Typhimurium Isolated from Healthy Pigs and Their Ability of Horizontal Transfer of Multidrug Resistance and Virulence Gene. Bioscience Microflora, 28 (4): 135-143.
- 6) A. Minami, W. Chaicumpa, M. Chongsa-Nguan, S. Samosornsuk, S.

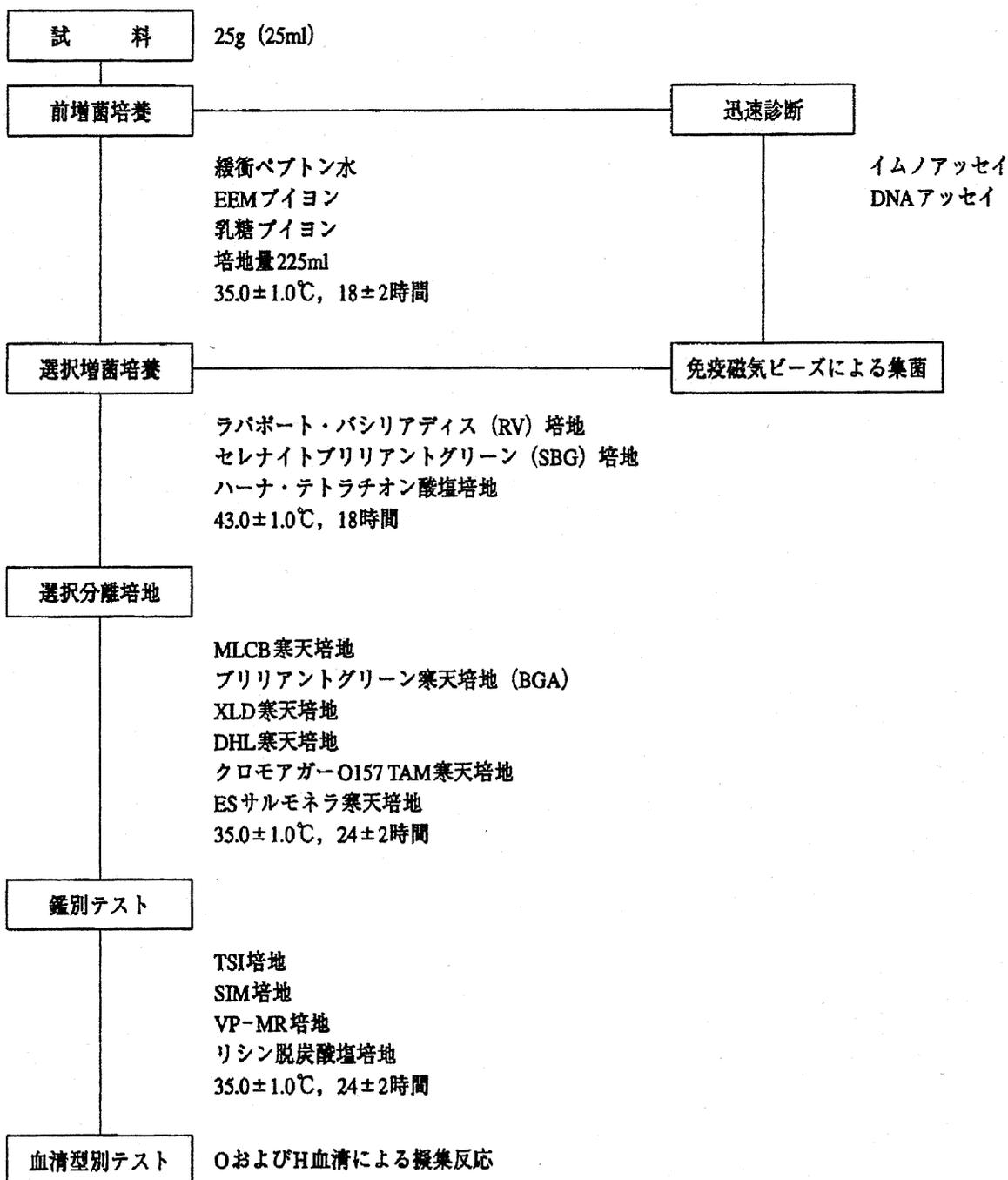
- Monden, K. Takeshi, S. Makino, K. Kawamoto. 2009. Prevalence of foodborne pathogens in open market and supermarkets in Thailand. *Food Control*, 21(2010): 221-226.
- 7) 武士甲一, 小熊恵二, 2010. ボツリヌス食中毒. 渡邊治雄監修, 六訂版 家庭医学大全科, 東京, in press
- 8) 武士甲一, 2009. IV-B-3. ボツリヌス症, 青木洋介, 岩田 敏, 大西健児, 清田 浩, 草地信也, 古西 満, 舘田一博, 満田年宏監修, IV新興・再興感染症とバイオテロ, 感染症専門医テキスト (日本感染症学会編集), (株)南江堂, 東京, pp. 101-102. (in press)
- 9) 武士甲一, 2010. 21. ボツリヌス症. 内閣府食品安全委員会事務局編, 平成21年度食品安全確保総合調査, 食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書, 社団法人畜産技術協会, 東京, pp. 350-356.
- 10) 武士甲一, 2010. IV-B-3. ボツリヌス症, 青木洋介, 岩田 敏, 大西健児, 清田 浩, 草地信也, 古西 満, 舘田一博, 満田年宏監修, IV新興・再興感染症とバイオテロ, 感染症専門医テキスト (日本感染症学会編集), (株)南江堂, 東京, pp. 101-102.
- 11) 武士甲一, 山崎栄樹, 牧野壮一, 2010. ボツリヌス菌. 丸山総一, 重茂克彦, 上野俊治, 上田富貴子, 伊東直人, 加藤行男, 三澤尚明監修, 獣医公衆衛生学実習, 獣医公衆衛生教育研修協議会編, (株)学窓社, 東京, pp. 42-45.
- 12) 武士甲一, 山崎栄樹, 牧野壮一, 2010. ウエルシュ菌. 丸山総一, 重茂克彦, 上野俊治, 上田富貴子, 伊東直人, 加藤行男, 三澤尚明監修, 獣医公衆衛生学実習, 獣医公衆衛生教育研修協議会編, (株)学窓社, 東京, pp. 46-49.
- 13) Khuanwalai Maklon, Atsuka Minami, Akiko Kusumoto, Koichi Takeshi, guyen Thi Bich Thuy, Sou-ichi Makino, Keiko Kawamoto. 2010. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from commercial asazuke (Japanese light pickles). *Int. J. Food Microbiol.*, 139: 134-139.
- 14) 武士甲一, 小熊恵二, 2010. ボツリヌス食中毒. 渡邊治雄監修, 六訂版 家庭医学大全科, 東京, PP. 2555-2556.

#### H. 特許出願状況

特にない

資料1 食品中のサルモネラ属菌の検査法フロー図（衛乳第54号）

(食肉製品, 一般食品)



資料2 食品中の赤痢菌の検査法について

事務連絡

平成14年1月9日

各 { 都道府県  
政令市  
特別区 } 衛生主管部(局)  
食品衛生担当課 御中

厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課  
送信枚数17枚(本紙を含む)

### 赤痢菌の試験法について

平成13年11月下旬から西日本を中心に、30都道府県、159名(同年12月27日午後6時現在)の赤痢菌患者の発生が報告され、当課から同月28日に患者が喫食したと考えられる韓国産かき及び患者から分離された赤痢菌と同一のPFGEパターンを有する赤痢菌が検出されたこととお知らせしたところです。

食品からの赤痢菌の検出については、従来から困難とされているところですが、本事件において国立医薬品食品衛生研究所が実施した検査方法を参考までに送付しますので、同様の事件が発生した際には活用されるようお願いいたします。

なお、食品中の赤痢菌の検出方法については、今年度の厚生科学研究でさらなる検討を行っているところであり、最終的な結論が提出された段階で、改めて各都道府県等に対して通知する予定です。

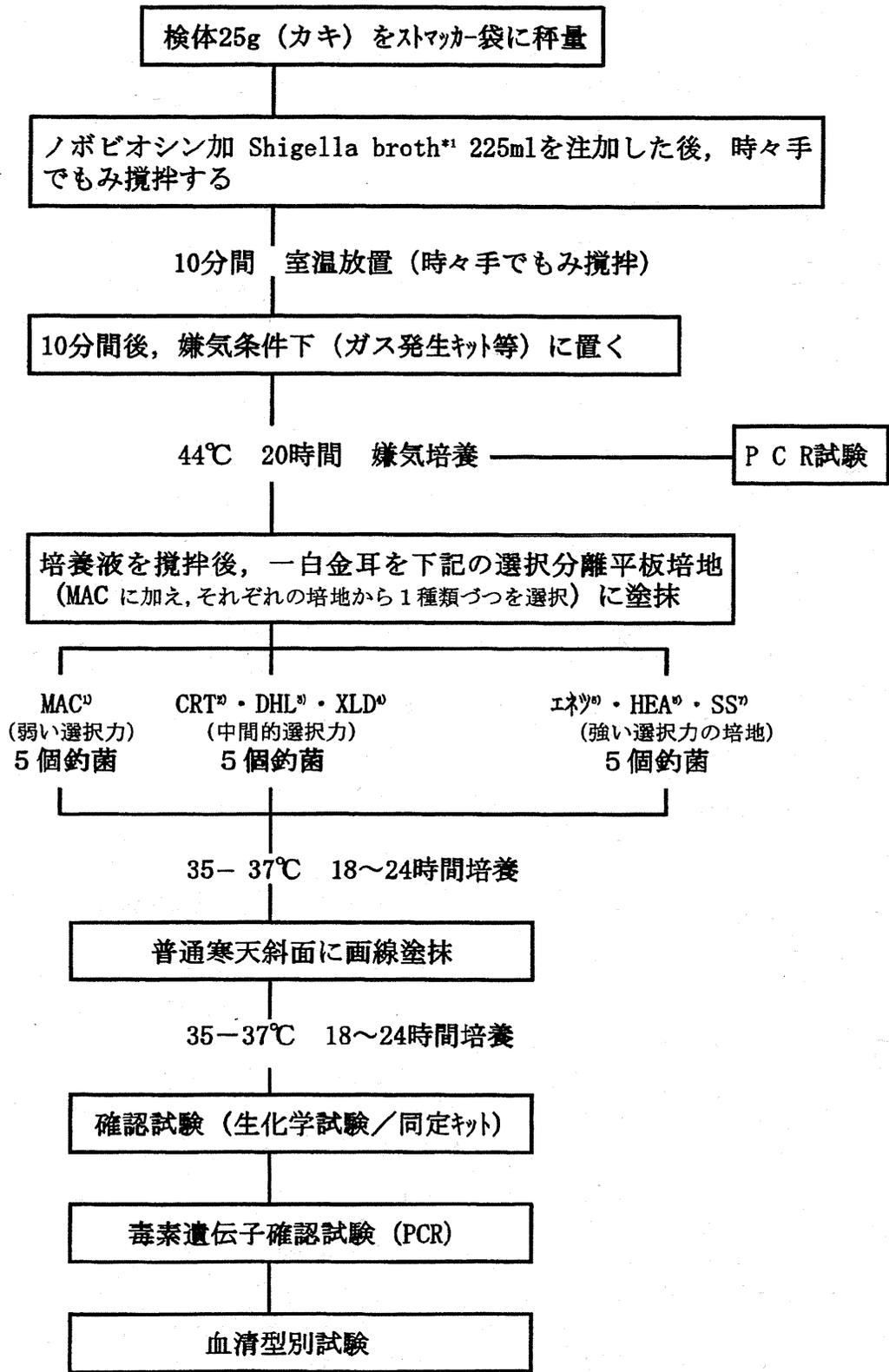
監視安全課食品安全係

TEL:03-5253-1111(内2478)

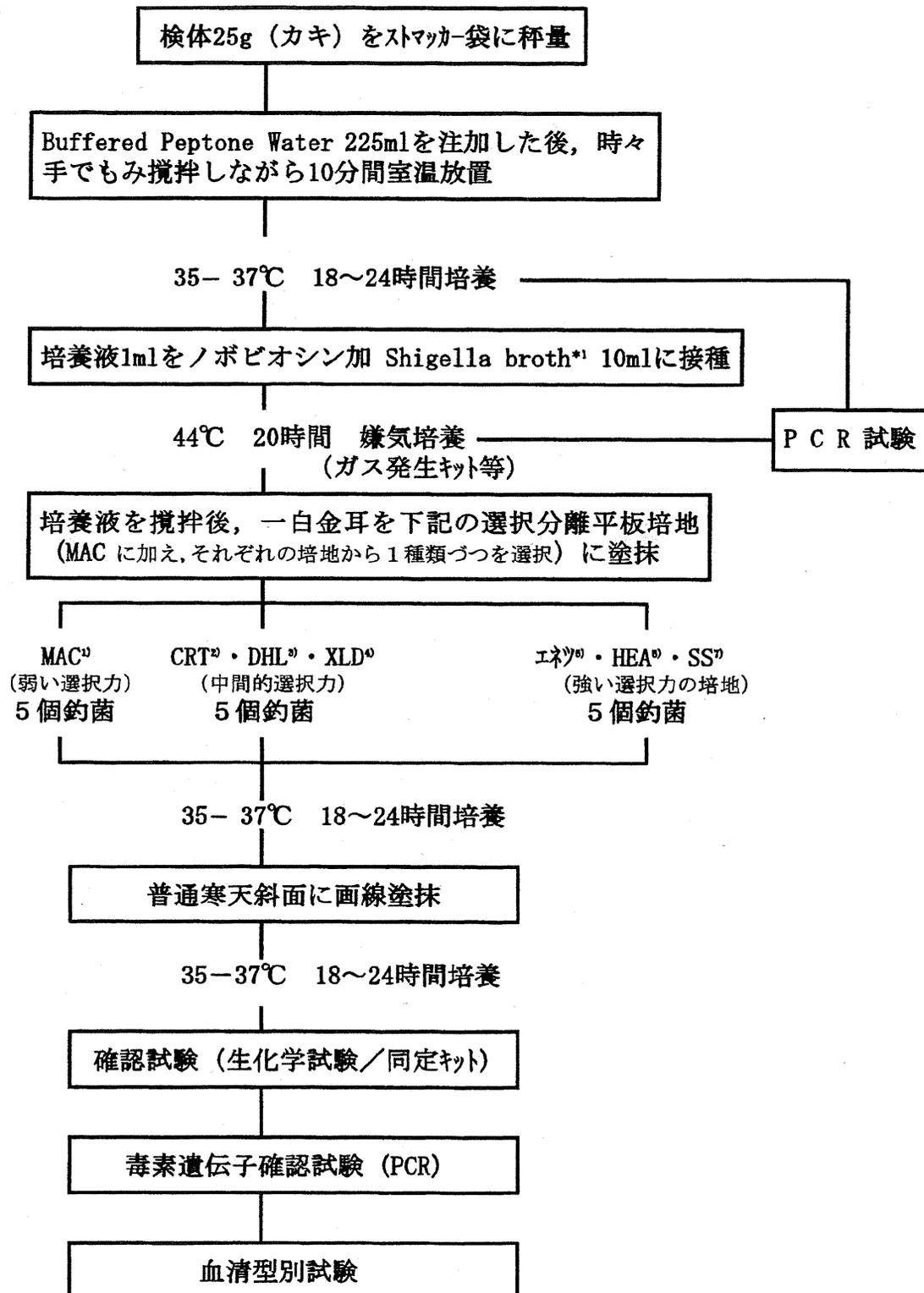
直通 TEL:03-3595-2337

FAX:03-3503-7964

# Shigella sonneiの試験法 (1)



## 冷凍カキの *Shigella sonnei* 試験法 (2)



## 資料3 畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法（改定）

### 1. 定義

人と同様に牛、豚、鶏などの畜産動物や養殖魚などに対して、病気の予防や治療を目的として、抗生物質が使われるようになりました。このような目的で使用され、最終的な食品に残留した抗生物質のことを呼ぶ。

### 2. 臨床的意義

食品に残留した抗生物質が人に与えるもっとも大きな影響は、人の体内に生息している微生物に重大な影響を与える点です。人の体内、特に腸内には大量の微生物が生息し、それぞれに勢力を争いながらも、バランスを保っています。抗生物質は、微生物の生育を阻止する働きをしますので、一部の腸内細菌を一掃してしまうことがあります。すると、腸内細菌のバランスが崩れ、それまでおとなしくしていたある種の腸内細菌が突然暴れだしてしまうことがある。

### 3. 測定（検査）方法

ディスク拡散法

畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改定)に準ずる。

### 4. 測定（検査）原理

培地上に菌液を塗布し、抗菌薬を染み込ませたディスクを置き、培養後阻止円を計測する。

### 5. 検査室の温度及び湿度条件

温度： 25 ± 5℃

湿度： 20～80%

### 6. 検査室において検体を受領するときの取り扱いに関する事項

検体受付部門からの検体受領に関する手順は別 SOP (SOP/TES/011/011) に記載されている。

### 7. 測定（検査）の実施方法

#### 7.1 検査材料

##### 7.1.1 材料名

食肉、養殖魚類、卵、はちみつ

##### 7.1.2 採取条件

- ①検体を開封して検体を採取する場合、異物の混入及び微生物の汚染がないように採取すること。
- ②検体を採取する際には必ず滅菌した器具・容器包装を用い、できるだけ無菌的に採取すること。
- ③検体をいれる容器は、検体の種類、形状、検査項目等に適したものであって、運搬洗浄、滅菌に便利なものを用いる。

##### 7.1.3 保存条件

腐敗・変敗しやすいものは、5℃以下に保持し運搬すること。腐敗・変敗し難いものは通常の保存温度で運搬すること。

## 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $12\text{mm}$  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対処方法

### 1) 再検の実施基準

阻止円の直径が  $12\text{mm}$  以上のものは陽性とする。

### 2) 異常値を示した検体の取扱い

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	赤痢菌	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	バナエイエビ	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 ブルーホワイトリング(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