

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	Vertutec	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	Shigella spp.	Salmonella 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	S. Weltevreden	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(一般生菌数、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、チリペッパー、ナッツ類、ハトムギ、乾燥いちじく等	アフラトキシシン	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、フェンプロパトリン等	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	オキシソリニック酸	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
	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
米国 (12品目)	とうもろこし、アーモンド、りんごジュース	アフラトキシシン、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	その他の魚肉ねり製品(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	エビ殻粉末	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	魚肉ねり製品:ミニ単天(ネギ生 差)	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物	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:小えび天ぷら	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:エビの開き	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 0.0006 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 0.0016 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 $2.6 \times 10^6/g$ , 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ろ	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 ROYALKING)	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(VANNAMEI 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	加熱後採取冷凍食品(未加熱)えび類(VANNAMEI 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	コーヒー製品	指定外添加物(サイクラミン 酸 33μg/g 検出)	福岡
21	無加熱採取冷凍食品 えび類(VANNAMEI 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 0.0006 ppm 検出)	東京
22	無調味乾製品:いか類(ROASTED SQUID)	成分規格不適合(クロラム フェニコール 0.0006ppm 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 0.0006 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(AOZ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	アフラトキシン陽性(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21～23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

6. 食品由来 *Listeria monocytogenes* 菌株のリボタイピングによる分子疫学的解析

分担研究者 岡田由美子  
国立医薬品食品衛生研究所

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

食品由来 *Listeria monocytogenes* 菌株のリボタイピングによる分子疫学的解析

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 泉谷秀昌  
国立感染症研究所 細菌第一部 第二室長  
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%にも及ぶ重篤な人獣共通感染症 リステリア症の原因菌であるグラム陽性の短桿菌である *Listeria monocytogenes* (リステリア) は、自然界に広く分布しており、人への主な感染源は本菌による汚染食品である。欧米諸国では数年一度の頻度で非加熱食肉製品、乳製品、サラダ類などを原因食品とする大規模な集団事例が発生しているが、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、集団事例は 1 例のみが報告されている。食品媒介感染症の原因究明には原因食品の同定が大変重要であるが、1 ヶ月にも及ぶ長い潜伏期間を示すリステリア症の散发事例について、その原因食品を同定するのは困難であり、ほとんどの症例が原因不明のままである。一方、さまざまな食中毒菌において、症例発生時の原因食品同定のために、菌株の DNA を用いた分子疫学的解析が実施されており、リステリアでも国内のいくつかの研究機関において)法による解析が実施されている。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、近年注目されている分子型別法である Multi Locus Variable-Number of Tandem Repeat Analysis (MLVA) 及び簡便で迅速な分子型別法として知られているリボタイピングの手法を用いて解析した。その結果、それぞれの分子疫学的解析法に一長一短があり、食品及び患者由来リステリア菌株の有益なデータベース作成には、様々な型別法による解析が必要であると思われた。

#### A. 研究目的

動物の腸管内、土壌、河川水や食品工場、冷蔵庫内など様々な環境に存在している *Listeria monocytogenes* (以下リステリア) は、人及び動物に脳脊髄膜炎、流死産を引き起こし、発症時の致命率が 20-30%にも及ぶリステリア症の原因菌である。本菌は高度な環境抵抗性をもち、-1℃もの低温下での増殖、20%もの食塩濃度下での生存が可能であり、加工・保存過程での増殖制御が困難である。欧米諸国では数年一度の頻度でリステリア症の集団事例が見られている。平成 23 年 9 月にも米国でカンタロープを原因食品とした複数の州にまたがる集団事例が発生しており、146 名の患者数(うち 30 名が死亡)となった。その他の原因食品としては乳製品、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が知られ

ている。我が国においては、年間約 80 例の散发事例があると推定されているが、集団事例は 2001 年に国内産ナチュラルチーズを原因食品とする 1 例が確認されているのみである。食中毒の原因究明には、原因食品の同定が不可欠であるが、髄膜炎、敗血症等の侵襲性リステリア症の潜伏期間は長い場合には 1 ヶ月を超えるため、その原因食品が特定されることはほとんどない。一方、国内流通食品がある程度本菌に汚染されていることは以前から知られており、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」においても、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、平成



21 年度の食品等検査費で実施された「一般流通食品におけるリステリア汚染実態調査」においては市販非加熱喫食食品 1500 検体中 21 検体 (1.4%) から本菌が分離されていた。これら食品からの分離菌株と患者由来株の分子疫学的情報をデータベースとして集積することにより、散发事例においてもある程度の原因食品の究明が可能になると思われる。本研究では、食品媒介リステリア症の発生を予防するための効率的なリステリア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法 (PFGE)、Multi Locus Variable-Number of Tandem Repeat Analysis (MLVA) 及びリボタイピングによる解析を実施し、データベース構築時の有用性について比較検討した。

## B. 研究方法

### 1. PFGE 法

検体は、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 (平成 21 年度報告書表 1)。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。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 5 ml 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%

SeakemGold Agarose により、Gradient : 6.0V/cm、Angle: 120°、Rampling 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 printing II 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。

### 2. MLVA 法

検体は、国内産食品由来株 21 株及び輸入食品由来株 7 株の計 28 株の *L. monocytogenes* 菌株に標準菌株として ATCC19115 株を加え、合計 29 株を用いた (平成 22 年度報告書表 1)。血清型の内訳は、1/2a が 19 株、1/2b が 3 株、1/2c が 2 株、3b が 1 株、4b が 3 株、4d が 1 株であった。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 白金耳を 100  $\mu$  l の滅菌精製水に懸濁し、95°C で 10 分間加熱した菌液を直ちに氷冷し、4°C 8000g にて 10 分間遠心分離してその上清を回収した。上清は -20°C に保存し、PCR の鋳型として用いた。

Multiplex PCR の組成は、DNA 2  $\mu$  l、10×バッファー 2.5  $\mu$  l、dNTP 2  $\mu$  l、0.3  $\mu$  M プライマー各 0.75  $\mu$  l、Ex Taq 0.125  $\mu$  l で反応液量を 25  $\mu$  l とした。プライマーは、Sperry らの論文 (Journal of Clinical Microbiology, 2008, vol. 46, No.4, p1435-1450) に基づき、表 2 に示したものをを用いた。ただし、論文で使用されたオートシークエンサーが Roche 社製であるのに対し、本研究では国内で普及している Applied Biosystems 社製オートシークエンサーである ABIPRISM310 ジェネティックアナライザを用いたため、適合した種類の蛍光プライマーに条件を改変して使用した。即ち、論文で使用された Beckman Dye 2、3 及び 4 に替わり、HEX、NED 及び 5、6-FAM を用いた。Multiplex PCR の反応条件は、加熱変性を 95°C 5 分で行い、94°C 20 秒・50°C 20 秒・72°C 20 秒を 35 サイクル、extension を 72°C 5 分実施した。PCR 産物は MinElute PCR purification kit (Qiagen) を用いて精製し、得られた 20  $\mu$  l の抽出液を滅菌精製水で 1000 倍希釈したもの 1  $\mu$  l を 0.5  $\mu$  l の ROX500 size standard (Applied Biosystems) と 18.5  $\mu$  l の Hi-Di formamide と混和して、ABIPRISM310 を用いてピークを検出した。得られた波形データは GeneMapper ソフトウェア (Applied Biosystems) を用いてピー

クサイズを検出し、リピート数を算出した。各菌株における合計 8 領域のリピート数から、BioNumerics ソフトウェア (Applied Maths) を用いて系統樹を作成した。

### 3. リボタイピング

検体は、国内産食品由来株 20 株及び輸入食品由来株 7 株の計 27 株の *L. monocytogenes* 菌株に標準菌株として EGD 株を加えた合計 28 株を用いた (平成 23 年度報告書表 1)。血清型の内訳は、1/2a が 20 株、1/2b が 3 株、1/2c が 2 株、3b が 1 株、4b が 1 株、4d が 1 株であった。リボタイピングには Roche 社の Riboprinter System *EcoRI* Batch Kit を用いた。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。数個の集落を 40  $\mu$  l のサンプルバッファに懸濁し、そのうち 30  $\mu$  l をキット付属の 8 連チューブに分注して、所定の機器を用いて加熱工程 (95°C 10 分間) を実施した。その後、Lysing reagent A 液及び B 液各 5  $\mu$  l を加え、リボプリンター (Roche) による解析を実施した。

### 4. PFGE、MLVA 及びリボタイピングによる解析結果の比較検討

PFGE、MLVA 及びリボタイピングの結果について、デンカ生研の血清を用いた血清型別結果も交えて比較検討した。

## C. 研究結果

### 1. PFGE による解析結果

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平成 21 年度報告書図 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 (平成 21 年度報告書図 2)。

### 2. MLVA による分子型別

輸入食品及び国内産食品由来の *L.*

*monocytogenes* の MLVA 解析の結果を UPGMA 法により作成した系統樹として平成 22 年度報告書図 1 に示した。その結果、使用菌株は 3 つのクラスターに大別された。第 1 のクラスターには、血清型 4b のイクラ由来株 1 株のみが分類された。第 2 クラスターには、血清型 4b に属する標準株、ホタテ由来株、血清型 1/2b に属する鮭刺身及び輸入サラミ由来株、血清型 3b に属する輸入生ハム由来株及び血清型 4d に属する国内産生ハム由来株が分類された。第 3 クラスターには血清型 1/2a 及び 1/2c に属する全ての菌株と、白菜漬け由来の血清型 1/2b に属する 1 株が分類された。第 3 クラスターは更に 3 つのサブクラスターに分類され、第 1 サブクラスターにはローストビーフ由来の 2 株が分類された。第 2 及び第 3 サブクラスターには、それぞれに食肉製品や水産食品由来株が分類され、第 2 サブクラスターは血清型 1/2a に属する株のみで、第 3 サブクラスターは血清型 1/2a、1/2b 及び 1/2c に属する菌株が混在していた。それらのうち、近縁度 (similarity) が 100% とされた株について、昨年度実施した PFGE 解析の結果 (制限酵素 *AscI*) と比較したところ、PFGE においては輸入サラミ及び輸入生ハム由来株では 62%、ローストビーフ由来株では 58%、串カツ及び輸入生ハム由来株では 40%、スモークサーモン由来株では 85%、漬物及びマグロ由来株では 90% 等の数値を示した。このうち、スモークサーモン由来株及びローストビーフ由来株各 2 株は同一の製造所において同日に加工された後販売店に出荷された製品であり、ほぼ同一の株と考えられた。

### 3. リボタイピングによる分子型別

輸入食品及び国内産食品由来の *L. monocytogenes* のリボタイピング解析の結果を平成 23 年度報告書表 1 及び図 1 に示した。その結果、水産食品由来の 16 株のうち 11 株は、その血清型に関わらず同一パターン (A) に分類された。一方、食肉加工品由来株 9 株のうち 3 株がパターン A 及びその類似パターンの A' に分類され、残り 6 株はそれぞれ D, H 及び I に 2 株ずつ分類された。また、チーズ、スモークサーモン、鮭刺身、漬物等の由来株はそれぞれ異なるパターンを示していた。また、ローストビーフ由来株 2 株は同一の製造所において同日に加工された後販売店に出荷された製品であり、ほぼ同一の株と考えられたが、リボタイピングでも同一のパターンを示した。

### 4. PFGE、MLVA 及びリボタイピングによる解



## 析結果の比較検討

PFGE、MLVA 及びリボタイピングによる解析結果の特徴及び同一菌株の解析で得られた結果を平成 23 年度報告書表 2 に示した。

### D. 考察

本研究において、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、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。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、研究室内外及び研究室間での再現性が問題となりうると思われた。また、MLVA 解析を実施した結果、PFGE 法に比べ株の同一性を検出しやすいことが示された。また、電気泳動を主体とし画像データを用いる PFGE 法よりもデータの再現性が高く、他の研究者とのデータの比較・交換が容易であると思われたが、その解析にはオートシーケンサーが必要であり、今後の普及に当たっては、特殊な電気泳動装置が必要な PFGE 法と共に解析に要する費用が高価であることが懸念された。一方で PFGE はゲノム全体の相違を観察できるため、特定の遺伝子座のリピート数を検出する MLVA とは全く異なる点から株を型別するため、多くの菌株情報を含むデータベースを構築するには、可能な限り両型別法の情報を得ることが望ましいと思われた。更に、リボタイピングによる解析を実施した結果、PFGE 法及び MLVA 法に比べ、水産食品由来株で同一のパターンを示す株が多い傾向にあったが、それ以外の株は由来によりパターンが大きく異なっており、由来食品をより反映しやすい可能性が示された。そのため、今後様々な食品由来の菌株のリボタイピング結果を収集、データベース化することにより、原因食品が不明の患者由来株を同様に解析することで、原因食品を推定しうる可能性が考えられた。ただし、リボプリンターによる自動解析結果である Dupont ID Number は、コントロール株として用いた EGD 株の番号の再現性が低かったため、この番号の実用性はあまりなく、泳動パターンの画像解析による結果のみを利用するのが有効であると思われた（平成 23 年度表 1）。また、検体調整に多くの時間と労力を要する PFGE 法に比べ、寒天平板上の集落を懸濁した後はほぼ全行程を全自動で実施できるリボタイピングは、実施者の手技レベルに関係なく一定の結果が得られ、データの再現性が高く、他の研究者とのデータの比較・交換が容易であると思われた。一

方で、本解析装置及び解析用試薬キットが高価であることが、本解析法の普及に当たっては難点となりうると懸念された。また、現時点ではリステリアの MLVA 解析用プライマーが血清型 4b の型別には不十分であり、国際的研究班により検討がなされている途中であるため（米国 CDC、E. K. Hyytia-Trees 博士、personal communication）、今後の解析は新規プライマーの提案後になされるべきであると思われた。

これらの結果から、様々な由来のリステリア菌株を有効に分類し、散発例を含むリステリア症事例の原因食品を特定するためには、多くの食品由来株や患者由来株について、リボタイピング、PFGE、MLVA 及び薬剤感受性プロファイル等も含めた多面的な解析を行い、それらの情報をデータベース化することが必要であることが示唆された。

### E. 結論

本研究の結果、平成 23 年度に実施したリボタイピングによるリステリア菌株の分子疫学的型別は、平成 21 年度実施した PFGE 解析及び平成 22 年度実施した MLVA 解析と比較して、手技が全自動化されているため簡便であり、血清型と関連しないクラスターを形成し、いくつかの食品由来株では特徴的なリボタイプを示したことから、菌株の由来食品の推定に有用である可能性が高いと思われた。しかしながら、解析機器本体と解析用試薬キットが大変効果であることから、多くの試験機関で実施する分子疫学的手法としては普及が困難であることが予想された。また、これまでの成果を比較すると MLVA は株の同一性の判断に有効性が高く、PFGE は大きなクラスター分けがしやすいなど、それぞれの分子疫学的解析法に一長一短があり、食品及び患者由来リステリア菌株の有益なデータベース作成には、様々な型別法による解析が必要であると思われた。

### 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

Monden S, Okutani A, Suzuki H, Asakura H, Nakama A, Igimi S and Okada Y.  
Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan.  
!7<sup>th</sup> International Symposium on Problems of Listeriosis. (2010.5)

岡田由美子、大貫泉美、五十君静信  
*Listeria monocytogenes* の国内流通食品からの分離状況と低温保存食品中での消長  
第150回日本獣医学会(2010.9)

門田修子、岡田由美子、五十君静信、山本茂貴  
食品から分離されたリステリア菌株の分子疫学的解析  
第100回日本食品衛生学会(2010.9)

岡田由美子、門田修子、仲真晶子1、鈴木穂高、五十君静信、山本茂貴  
輸入食品および国内産食品由来 *Listeria monocytogenes* の薬剤感受性プロファイル第152回日本獣医学会(2011.10)

Okada Y, Monden S, Izumiya H, Nakama A, Igimi S, Yamamoto S  
Characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from the retailed foods in Japan  
IUMS 2011 (2011. 9)

## 2. 原著論文

OKADA Y, OKUTANI A, SUZUKI H, ASAKURA H, MONDEN S, NAKAMA A, MARUYAMA T, IGIMI S.  
Antimicrobial Susceptibilities of *Listeria monocytogenes* Isolated in Japan  
J Vet Med Sci. 2011. 73(12), 1681-1684.

Okada Y, Monden S, Igimi S, Yamamoto S.  
Occurrence of *Listeria monocytogenes* in imported ready-to-eat foods in Japan.  
J Vet Med Sci. 2012. 74(3), 373-375.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

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

7. 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

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

(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)

(総合) 分担研究報告書

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)

研究協力者 多田有希・齊藤剛仁・関谷紀貴・涌井拓 (感染症情報センター)、上野伸広 (鹿児島県立薩南病院)、下島浩幸 (鹿児島県始良保健所)、新川奈緒美 (鹿児島県加世田保健所)、森屋一雄 (佐賀県健康福祉本部健康増進課)、勢戸和子 (大阪府立公衆衛生研究所感染症部細菌課)、村上光一 (福岡県保健環境研究所)、松崎充宏 (海事検定協会)

### 平成 21-23 年度研究要旨

3 類感染症のうち赤痢及びコレラは我が国に常在しないと考えられているため、国内感染事例については二次感染か輸入食品が原因と推定される。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。

(1) 赤痢を中心とした 3 類感染症発生状況 (腸管出血性大腸菌は別の研究班があるため除く) を感染症発生動向調査システムから収集した。

(2) 赤痢について国内事例発生の際に使用する簡易調査票を整備し、mail による情報の収集と菌株の感染研への送付を依頼した。

(3) 集団事例について、簡易調査票で調査を行った。原因食品の特定には至らなかったが、分子疫学解析と疫学情報を合わせると冷凍食品の長期広域事例を探知する可能性がうかがえた。

#### A. 研究目的

現行の 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毎年発生している。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稀である。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) 赤痢を中心とした 3 類感染症発生状況 (腸管出血性大腸菌は別の研究班があるため除く) を感染症発生動向調査システムから収集した。

(2) 簡易調査票の作成

前回の研究班で作成した標準調査票はページ数が多いため簡易調査票 (資料) を作成し試行した。その回答内容を、地方自治体の担当者と検討し、簡易調査票

を改訂した。

### (3) 国内発生赤痢の積極的疫学調査

原因食品の解析を行うためには n 数が必要なため、感染症発生動向調査システムに報告された赤痢患者・無症状病原体保有者（探知された患者と食事や渡航を共にした者や、患者と接触した者に対する保健所の調査などによって発見される）から国内発生と確認された事例について、自治体に調査を依頼する方法をとった。上記の簡易調査票を使用した。同時に、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。

## C. 結果と考察

### (1) 3類感染症の発生状況

2006年から2011年の3類感染症発生状況（腸管出血性大腸菌を除く）を感染症発生動向調査システムから収集した。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月と新システムの2006年4月～12月は別欄にまとめた。

腸チフス患者は2006年の72例（推定国内感染者10例）から2011年の21例（同7例）に減少した。パラチフス患者は21例～27例（同1例～4例）の間で変動している。赤痢患者は2006年の488例（同105例）から2009年まで急速に減少し、厚生省伝染病統計以来最も少ない181例（同54例）となったが、翌年から増加に転じている。例年は海外感染者が多いが、2011年は国内感染者が多かった。コレラ患者は30例を超える年と20例以下の年が混

ざっている。（表1-表3）。

赤痢の菌種別では全体、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てディセンテリ菌やボイド菌は稀である（表4）。赤痢患者及び無症状病原体保有者の年齢分布は、海外例では20代が最も多いが20才以下は少なく、国内例では20才以下が最も多く、全年齢層になだらかに分布（表4）していた。

### (2) 簡易調査票の作成

前回の研究班で、九州・山口九県感染症関係機関連絡会議と連携して、赤痢・腸チフス・パラチフス・コレラの標準調査票を作成し調査をおこなった。残念ながら、最も発生が多かった赤痢においても患者数が少ないため十分な解析は行えなかったが、標準調査票を用いた情報収集体制をとることができた。

本研究班ではその経験を活かして、さらに調査システムの発展を目指した。解析を行うためには n 数が必要なため、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、自治体に調査を依頼する方法をとった。標準調査票（10ページ）はページ数が多すぎるため、簡易調査票を作成し試行した。その回答内容を、2009年は佐賀県の公衆衛生研修会の研修生と、2010年は鹿児島県の疫学情報担当者・地方衛生研究所・食品衛生監視員と検討し、簡易調査票を改訂した。さらに、九州・山口九県感染症関係機関連絡会議に参加し、自治体の担当者に対して、輸入食品の食中毒菌モニタリングの調査票改訂の連絡、および調査への御協力をお願いした。2011年は接触者に関する質問項目を追加した（資料）。

### (3) 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、簡易調査票と参考資料を添付して、e-mail で自治体担当者に依頼している。また、確認と分子疫学的調査のために菌株送付を同時にお願ひし、根拠のために厚生労働省健康局結核感染症課長及び医薬食品局食品安全部監視安全課長連名で発した 2008 年 10 月 9 日発の健感発第 1009001 号・食安監発第 1009002 号「赤痢菌等の菌株の送付について」と赤痢菌送付書（見本）を送付している。

#### (4) 赤痢集団事例

##### (ア) 2008 年

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判明した。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%）。関連の発生は、長崎県で 5 例、佐賀県・鹿児島県・埼玉県で 2 例ずつ確認された。また、当該イカの販売ルートの特定により栃木県で感染例が確認できた。

##### (イ) 2009 年

家族内感染以外は目立った集団事例はなかった。

##### (ウ) 2010 年

第 37 週から 43 週にかけて、赤痢患者報告が集積し、特に 41 週と 42 週が合計 16 例と目立った。ソネ菌がほとんどで感染地域は全国に分布していた。週報の全数コメントで広域散発の注意喚起をした。MLVA 型は宮城・首都圏・石川・愛知・福岡等で一致し、同一由来と考えられた。また、簡易調査票の推定原因食品の途中集計では「ウニ」が 7 例（10 例中）と多かった。寿司や刺身の喫食が多く、同一寿司店の集団事例も含まれていた。最終的に、(1) ウニ、マグロ、イクラなどの喫食歴が多い。(2) 第 39～43 週までのすべての菌株の MLVA 解析で 20 例中 16 例の MLVA 型が完全一致した。(3) 完全一致していない 4 例中 2 例も類似のパターンであった。ウニが最も疑われたが、(1) 輸入元が複数、(2) 患者または無症状病原体保有者の一部はウニを喫食していない、(3) 簡易調査票の内容では統計解析が不可能である、ことから最終的に原因は不明となった。

##### (エ) 2011 年

第 8 週には福岡市の幼稚園とその家族内で、第 10 週には広島市の保育園とその家族内で集団事例が起こった。原因食品は特定されていない。また、行事欄に記入された同じ「勉強会」に参加した患者が 3 名あり、寿司弁当による集団事例が疑われた。

2011 年第 34 週に国内の同系列外食チェーン店舗利用者で食中毒が発生したため、国内感染が 19 例と急増し、第 35 週 19 例、第 36 週 11 例、第 37 週 9 例、第 38 週 9 例と通常よりも多い状態が続いた。このうち、第 34～36 週にかけて福島県、山形県、宮城県、神奈川県、青森県から報告された 20 例以上が、同系列の外食チェーン店を利用していたことから、ソネ



ネ菌による東北地方を中心とした広域事例が感知された。続いて起きた、第 37～39 週の福島県の関連の飲食店での事例は、分子疫学解析 (MLVA 法) により上述の店舗に関連した症例に共通してみられる MLVA 型と一致または類似したことから同一の原因病原体によることが明らかとなった。塩釜保健所の調査により発症者の喫食メニューは異なるが添えられていた大根の浅漬け共通する食品であることが判明したが、菌が検出されず特定には至らなかった。

チェーン店では同様の事例を防ぐため原因の解明を第三者委員会に依頼した。

#### その報告書

(<http://www.skylark.co.jp/company/committee/111111.pdf>) によると、東北 4 県のレストラン G18 店における患者 52 例全てに対する喫食状況の調査から、浅漬けが共通食材であると判断し、浅漬けの原料食材または交差汚染が考慮し、殺菌工程のない「大根、キュウリ、大葉及びタマネギ」である可能性が高いが、やはり赤痢菌が検出されなかったため、これ以上の特定はできなかった。

しかし、まったく同じ MLVA 型のクラスターは、第 49 週現在までに 8 自治体からの計 35 例であった。また 1 例目は第 18 週に遡ることがわかった。男性 34 例、女性 1 例で、年齢中央値は 35.0 歳 (範囲: 16～71 歳、第 1 四分位数 (Q1) ～第 3 四分位数 (Q3) : 29～41 歳) であった。つまり、同一の菌株による感染が、チェーン店以外にも広域に流通していた状態であったことが判明した。第 34 週以降の報告例が大半を占めているが、これは上述の食中毒事例の影響によって、より積極的に患者調査や菌株収集が行われたことによる可能性もある。推定される感染経

路としては、経口感染 13 例、接触感染 5 例、感染経路不明 17 例であった。また、接触感染と報告された中には、他の性感染症を合併した症例が複数認められ、細菌性赤痢が性感染症でもあることが確認された。

(オ) 2012 年

第 8 週に山梨県で、第 9 週に和歌山県及び千葉県でフレキシネル 2b の感染例が報告され、簡易調査票や情報収集により同一チェーン店の回転寿司で喫食したことが明らかになった。大阪府の保育園内で複数の患者及び無症状病原体保有者が報告されている。

#### D. 結論

簡易調査票と mail による調査は標準調査票による調査と比較して、負担が軽い割には、情報量がかなり多く、事例数を多く得るのに効率がよい。原因食品を推定するためには 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がその目的に適している。さらに、菌株の収集と分子疫学的解析を組み合わせると時間は若干かかるが、相当の絞り込みが可能となる。

2008 福岡県の 3 飲食店における集団事例や 2011 年のレストラン G の集団事例のように、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、また調査も容易と思われる。しかし、福岡県集団事例の原因と特定された「ベトナム産の冷凍イカ」は廃棄された時点ではまだ相当の残量が存在していたことやスーパーマーケットで販売されていたことなどから、長期にわたり感染源となりえた。このようなケースでは簡易調査法と分子疫学の組み合わせが威力を発揮すると期待される。MLVA 型が一致していることが

確認できた時点で、詳細な再調査を行えば原因食品の特定も可能と思われる。その際は、輸入食品・冷凍食品に重点を置き、家庭に残されているレシートの活用や家計簿の利用など、効果的な方法を検討する必要がある。

国立感染症研究所の疫学部門と研究部門及び厚生労働省のコラボレーションは今後の食中毒防止対策に有効と思われる。

#### 参考資料

感染症発生動向調査感染症週報 (IDWR)、12 巻、13 巻。

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

#### E. 発表業績

##### 1. 発表論文

Narimatsu, H., K. Ogata, Y. Makino, and K. Ito. 2010. Distribution of non-locus

of enterocyte effacement pathogenic island-related genes in *Escherichia coli* carrying eae from patients with diarrhea and healthy individuals in Japan. J. Clin. Microbiol. 48(11):4107-4114.

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.

病原微生物検出情報月報 (IASR) Vol. 31 No. 10 (No. 368) : 301-302.

##### 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、東京都

伊藤健一郎、山崎貢、成松浩志他. EAggEC (*aggR* 陽性) 株の線毛遺伝子保有状況. 第 84 回日本感染症学会総会、2011 年 4 月、東京都。

表 1a. 腸チフスの年次別・推定感染地域別報告数 (2006 年までは疑似症を含む)

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	1-12	11	15	26	4	1	5	1	32
2011	1-12	9	5	14	3	4	7	0	21

感染症発生動向調査 2012. 3. 7 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 (2006 年までは疑似症を含む)

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	1-12	11	8	19	1	1	2	0	21
2011	1-12	17	4	21	2	0	2	0	23

感染症発生動向調査 2012. 3. 7 現在 (診断月)

表 2. 赤痢の年次別・推定感染地域別報告数 (2006 年までは疑似症を含む)

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	63	63	126	24	30	54	1	181
2010	1-12	89	74	163	30	41	71	1	235
2011	1-12	74	67	141	86	70	156	2	299

感染症発生動向調査 2012. 3. 7 現在 (診断月)

表 3. コレラの年次別・推定感染地域別報告数 (2006 年までは疑似症を含む)

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	5	1	6	0	2	2	0	8
2006	4-12	18	7	25	5	1	6	0	31
2007	1-12	5	4	9	3	1	4	0	13
2008	1-12	12	10	22	9	14	23	0	45
2009	1-12	13	3	16	0	0	0	0	16
2010	1-12	4	5	9	1	1	2	0	11
2011	1-12	6	5	11	1	0	1	0	12

感染症発生動向調査 2012. 3. 7 現在 (診断月)

表 4. 赤痢の型別(疑似症を除く)

年	月	ボイド	ディセンテリ	フレキシネル	ソンネ	型別不能	合計
2006	1-3	1(0)	0(0)	16(2)	36(6)	0(0)	53(8)
2006	4-12	4(1)	2(0)	72(21)	281(64)	0(0)	359(86)
2007	1-12	7(2)	3(0)	56(23)	381(135)	3(1)	450(161)
2008	1-12	16(0)	4(0)	72(32)	224(92)	4(0)	320(124)
2009	1-12	0(0)	1(1)	44(20)	132(31)	4(2)	181(54)
2010	1-12	5(2)	2(1)	54(19)	174(49)	0(0)	235(71)
2011	1-12	11(1)	0(0)	52(21)	233(134)	3(0)	299(156)

感染症発生動向調査 2012. 3. 7 現在 (診断月)、( ) 内は国内発生例再掲

資料. 細菌性赤痢簡易調査票と参考資料

患者ID: \_\_\_\_\_ 菌種: \_\_\_\_\_ 都道府県: \_\_\_\_\_

発症前の1週間における以下の1~4の行動、及び5について、ご回答ください。

無し、不明、有りのいずれかに○をつけてください。

1. 旅行/出張（国内・国外）・行事参加                      無し ・ 不明

有り→場所、月日（期間）、以下は該当する場合に記入：宿泊先、行事名

2. 外食                      無し ・ 不明

有り→店名、料理種（寿司屋、中華料理店、焼肉店など）、食べたもの、食べた月日

3. 外食以外の喫食についてお尋ねします。〔購入したり、戴いたもので上記1. と2. は除く〕

1) 輸入食品・食材（輸入キムチ、輸入エビなど）                      無し ・ 不明

有り→食品・食材名、購入店、購入した月日

2) 冷凍食品・食材（冷凍むきエビ、シーフードミックスなど）〔上記1)は除く〕

無し ・ 不明

有り→食品・食材名、購入店、購入した月日

3) 参考資料（別添）に掲載されたもので該当するもの〔上記1). 2)は除く〕

無し ・ 不明

有り→該当する食品・食材名（下記に○をつけ、その他は記入してください）、購入店、購入した月日

赤貝、イカ、牡蠣、ウニ、マグロ、ニンジン、キムチ、その他  
( \_\_\_\_\_ )

4) その他の魚介類                      無し ・ 不明

有り→食品・食材名、購入店、購入した月日

4. 同様の症状（下痢・腹痛等）を有する者・菌陽性者との接触歴                      無し ・ 不明

有り→

5. 本人及び家族等接触者の渡航歴

1) 本人                      無し ・ 不明

有り→今回の報告の感染地域を国内とした理由

2) 家族等接触者                      無し ・ 不明

有り→接触者、渡航先、渡航期間、症状の有無、検査結果など

6. 保健所の感染源調査の結果で推定または特定された感染原因（感染源・感染経路）

無し ・ 不明

有り→経口感染：原因食品・食材

接触感染：感染源と推定されたヒト

その他

上記と推定または特定した理由

参考資料：原因食品・食材一覧 ※雑誌・ウェブ上で推定または確定されたと報告された食品・食材

細菌性赤痢		国内	海外
海産物	赤貝 イカ 牡蠣 生うに マグロ 輸入冷凍魚貝類		牡蠣 小エビ スモークサーモン ホタテ貝 魚貝類
農産物	小カブ ニンジン サラダ		スナッフエンドウ      レタス トマト                      メロン ネギ パセリ バジル
卵			生鶏卵 サワークリーム チーズ ミルクセーキ
肉類			鶏肉 牛肉
その他	キムチ サンドイッチ		イチゴパイ エンチラーダ(トルティーヤにチーズや好みの具を入れ、ホットソースをかけ、オーブンで焼いた料理) オニオンディップ ガツカモーレ(つぶしたアボカドをオニオン・トマト・ハーブ・スパイス・レモンジュースと混ぜたもの) コーヒー+シュークリーム サルサ ハンバーガー パンプキンパイ ピコ デ ガイヨ(ダイスカットしたオニオン・トマト・チリソースなどを混ぜたもの) フィヒータ(細切りの牛肉を焼いてマリネにしたもの) ブリトー ヘラジカのスープ ポテトチップス タコス マッシュドポテト マフィン ミートピザ
コレラ			
		国内	海外
海産物	刺身		牡蠣 カニ
農産物			果物 チーズ
その他			生凍結ココナッツミルク
腸チフス・パラチフス			
海産物	牡蠣		
農産物	果物		
乳製品	チーズソース		