

5~10分実施することで管を洗浄する。

5. もし、H9812 マーカー株の最も下端のバンドがゲル下 1-1.5 cm の位置まで移動していなければ、泳動時間を検討する必要がある。

もし PFGE の結果が 24-28 時間以内に得られない場合は

1. plug の溶解時間を延長する。(3-16 時間)
2. PFGE plug の溶解 buffer を TE にて除去する時間を延長する (30-45 分)。また、温度を変えてみる (37°C 若しくは室温)。この操作は 1 日目に始め、一夜プラグを TE につけて冷蔵保存し 2 日目に終わらせることができる。
3. 制限酵素による切断時間の延長 (3-16 時間)
4. もし、H9812 マーカー株の最も下端のバンドがゲル下 1-1.5 cm の位置まで移動していなければ、泳動時間を検討する必要がある。

流通名及び商業的供給源の使用は識別目的のみであり、その性能の保証をするものではない。

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）
「国内侵入のおそれがある生物学的ハザードのリスクに関する研究」
分担研究報告書

微生物・ウイルス関係の食品安全情報の収集解析に関する研究

研究分担者 豊福 肇 国立保健医療科学院国際協力研究部 上席主任研究官

研究要旨

国内侵入のおそれがある生物学的ハザードのリスクの事例研究として、2012年から2013年2月にINFOSAN Emergencyから緊急情報が提供された4事例（表1）について、疫学、微生物学的情報を調査し、我が国への侵入を水際で阻止できるか、また国内侵入後の対策の課題等について、事例研究を行ったが、4事例とも水際での侵入防止は、事前情報なしでは困難と考えられ、また侵入後のリスクを最小にとどめるための課題が明らかになった。

また、既存のリスク評価モデルである「Risk Ranger」を用い、国内に侵入する可能性のあるハザードと食品の組み合わせについて、相対リスクを推定することによるリスクランキングを行い、水際対策の優先順位決定に役立てることができると考えられた。

A. 研究目的

国内に侵入する恐れのある致死性の高い細菌・ウイルスの検査。監視対策、リスク管理に役立つ情報に役立てるため情報収集及び分析法開発を行うことを目的とした。

特に、世界保健機関（WHO）と世界農業機構（FAO）が行っているINFOSAN：国際食品安全当局ネットワーク（The International Food Safety Authorities Network）において、国際的な緊急（alert）情報が関係国に送信された事例を基に、我が国における国内侵入の可能性、侵入後の対応の課題等について検討した。

B. 研究方法

2012年から2013年2月にINFOSAN Emergencyから緊急情報が提供された4事例（表1）について、疫学、微生物学的情報を調べるとともに、我が国への侵入を水際で阻止できるか、国内でこれらの食品による食中毒を検出できるか、また国内侵入後の対策の課題等について、事例研究を行った。

また、既存のリスク評価モデルである「Risk Ranger」を用い、国内に侵入する可能性のあるハザードと食品の組み合わせについて、相対リスクを推定することによるリスクランキングを行った。

C. 研究結果と考察

1. INFOSAN

2012年から2013年2月に緊急情報が提供された、病原微生物による4事例はサルモネラ3件、ノロウイルス1件であった（表1）。これらの食品は我が国には輸入されていなかった。仮に我が国に輸入されていた場合、事前情報無しでは、これらの食品と微生物の組み合わせに関する微生物規格はないため、輸入時の検査を実施していないこと等から、輸入時に国内侵入を阻むことはいずれの事例でも困難と考えられた（表2）。また、国内でのこれら食品によるリスクの上昇を検出するためには、WHOや関係国からの早期情報の入手、*Salmonella*分離菌の血清型別、PFGE解析情報の集約・解析、食品及びヒトから分離され

た **Norovirus** のシーケンス解析の実施とその情報集約・解析が重要と考えられた。

2. Risk Ranger

結果については別紙1のとおりであった。

3. 考察

今回、評価対象にした9つの食品—ハザードの組み合わせ中、相対リスクが一番高かったのは輸入二枚貝の **Norovirus** であり、逆に一番低かったのは輸入ナチュラルチーズのリステリアであった。同じ RTE で喫食直前に加熱工程が無いにもかかわらず、この差が生じたのは、食品中で少ないウイルスコピーでも感染する可能性があるノロウイルス感染症の特徴によるものと考えられた。リステリアは対象にした4つの RTE 食品とも相対リスクは22から28と低かった。これは問10で、発症に要する菌数を 10^{10} と想定していることが原因と考えられ、この数値を 10^{10} から 10^9 、 10^8 と変化させることにより、相対リスクは24から30、35とそれぞれ増加した。一方、質問6の汚染率を元の4.1%から、10%、20%と上昇させてもリスクは元の24から26、28に変化したに留まった。

輸入鶏肉のサルモネラとカンピロバクターは加工工程で加熱し、さらに喫食直前の加熱を想定した場合にはともに相対リスクは52であったが、これを喫食直前に加熱しないと想定した場合には相対リスクはサルモネラとカンピロバクター、それぞれ63、69と増加し、輸入二枚貝の **Norovirus** の相対リスクを上回った。同じサルモネラでもエビと鶏肉で相対リスクにわずかな差(それぞれ49、52)であったが、これは原材料の汚染率の差によるものと考えられた。

今年度は、1つのリスク評価ツールを用いてリスクランキングを行ったが、米国FDAが公開した **i-risk** 等他のモデルも公開されているが、入力しなければならぬ **parameter** が増えると、より詳細な解析は可能になるが、逆に、

データがない場合には、仮定値を入力せざるを得なくなり、不確実性が増す要因になると考えられた。

INFOSAN Emergency で **Norovirus** 汚染食品の健康被害に伴う緊急情報があつたこと、また Risk Ranger での推定により、対象食品は異なるものの、**Norovirus** が最もハイリスクとランキングされたこと、並びに欧州において、食品中の **Norovirus** 検査法が確立した場合には食品の **Norovirus** 規格設定を目指す方針があるなかで、2013年食品中の **Norovirus** の検査法が ISO 法として ISO/TS 15216-1:2013 (定量)、ISO/TS 15216-2:2013 (定性) として承認されたことから (David Lee, Personal Communication, 2013)、今後、我が国においても、食品中の同ウイルス検査及び基準値設定の必要性、その公衆衛生上の効果、費用対効果等を検討する必要があると考えられた。

D. 結論

2012年から2013年2月に INFOSAN を通じて国際的に緊急情報が提供された、病原微生物による4事例(サルモネラ3件、ノロウイルス1件)は、幸いにも、我が国には健康被害をもたらすような影響はなかったが、現在の我が国の輸入時の食品の監視・輸入体制では、事前の情報なしで、これらの汚染した食品を水際で留めることは困難であると考えられた。従って、このような食品によるリスクを最小限にするためには、2国間及び IOFOSAN EMERGENCY 等の国際的な枠組みを通じての迅速な情報の入手並びに平常時から *Salmonella* 分離菌の血清型別、PFGE 解析情報の解析能力の向上、食品及びヒトから分離された **Norovirus** のシーケンス解析の迅速な実施とその情報集約・解析能力の向上が重要であると考えられた。

既存の **risk** 評価ツールである Risk Ranger から算出される相対リスク値により、輸入食品と病原体の組み合わせにより、リスクランキングを行うことができた。二枚貝中の **Norovirus**

が最もハイリスクとなった一方、RTE 食品で、喫食直前に加熱工程が無いにもかかわらず、リステリアと各種 RTE 食品の組み合わせが低い相対リスクを示した。この手法により、国内に侵入するおそれのある食品—微生物の組み合わせについて、リスクランキングを行い、水際対策の優先順位決定に役立てることができると考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 豊福肇、第 44 回コーデックス食品衛生部会参加報告、食品衛生研究 2013 年 3 月号
- 2) 高橋正弘 (神奈川県立保健福祉大学)、池田恵、中村丁次、日佐和夫、豊福肇、*Campylobacter* 食中毒における原因施設および原因食品のリスクランキング設定への疫学的アプローチ。獣医疫学雑誌。2012. 16(1). p52-60
- 3) Ikuko Shimada, Hajime Toyofuku, Kazuo Hisa, Satoshi Numata, Mieko Kawamura. Analysis of Risk Management Reports in Food Service Practical Training Course. Proceeding of the 1st International Conference on Asian Food Safety and Food Security. Osaka, Japan. September 2012

2. 学会発表

- 1) Toyofuku, H., Microbiological risk management of seafood products in the supply chain of Japan. The FFTC-KU Joint International Seminar on “An appropriate System for High Quality and Safe Seafood Production in Asia and Pacific Region”, Bangkok, Thailand 2012. Abstract book. P19-24.
- 2) Ikuko Shimada, Hajime Toyofuku, Kazuo Hisa, Satoshi Numata, Mieko Kawamura. Analysis of Risk Management Reports in Food Service

Practical Training Course. Abstract book of the 1st International Conference on Asian Food Safety and Food Security. Osaka, Japan. September 2012

- 3) 豊福肇、新武司、田中千可子、川瀬健太郎、清水俊一、高橋正弘、日佐和夫. 食中毒等予防の観点からみた工場監査手法の問題点. 第 33 回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集. p123
- 4) 田中千可子、豊福肇、赤堀正光、高橋正弘、濱田奈保子、日佐和夫. 微生物に起因する食中毒の発生要因 (リスク因子) 並びに発症時間及び症状に関する研究 平成 18~20 年度食中毒事件調査結果詳報. 第 104 回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集 2012. 09. Page110.
- 5) 豊福肇. 食品中のリステリア規格策定～Codex 等海外動向と国内進捗状況～. ifia JAPAN 2012・食の安全・科学フォーラム 第 11 回セミナー. 抄録集 p12
- 6) 豊福肇, コーデックスの数的指標の考え方を採用した、初めての生食用食肉の微生物規格基準 食品安全委員会におけるリスク評価. 第 103 回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集. 2012. p28
- 7) 豊福肇, 柿沼美智留, 長谷川専. 改良版 Risk Ranger による食品衛生監視指導の効果の半定量的分析. 第 103 回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集. 2012. P79
- 8) 豊福肇, 柿沼美智留, 長谷川専. 食品衛生監視員による監視の高度化に関する研究—Risk Ranger による我が国における食品衛生監視の効果の半定量的分析. 平成 24 年日本獣医公衆衛生学会. 2012. P79
- 9) 池田恵、高橋正弘、中村丁次、豊福肇. ノロウイルス食中毒にける発生頻度の時間的検討. 第 39 回防菌防黴学会; 2012 年 9 月; 東京. 第 39 回防菌防黴学会学術講演会要旨集. p.118

- 10) 高橋正弘、池田恵、中村丁次、豊福肇. 食中毒原因食品と病因物質の組み合わせ別のリスクランキング設定への疫学的アプローチ. 第39回防菌防黴学会; 2012年9月; 東京. 第39回防菌防黴学会学術講演会要旨集. p.128
- 11) Toyofuku, H. Data collection for establishing a risk mitigation strategy for Campylobacter and Salmonella in a broiler slaughterhouse in Okinawa Prefecture, Japan. FoodMicro 2012. Istanbul, Turkey. Abstract book. p233.

F. 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

【資料】

表 1. INFOSAN 緊急アラート事例の概要

食品	ハザード	原産国	影響を受けた国数	患者数	備考
ピーナッツバター	<i>Salmonella</i> Bredeney	米国	10 カ国	米国 41 人	
冷凍いちご	Norovirus	中国	8 カ国	ドイツで 11,000 人以上	
Galactooligosaccharide (GOS) (Purimune)	<i>Salmonella</i> Oranienburg	韓国	16 カ国	ロシア 16 人, 米国で 6 人	色々な食品 (乳児用調 製粉乳を含 む)の原料
冷凍キハダマグロ, ナカ オチ	<i>Salmonella</i> Bareilly and Nchanga	インド	2 カ国	米国 200 人	

表 2. 侵入阻止、国内検出に関する検討結果

仮に日本に侵入した場合、事例からの検証				
食品	ハザード	侵入阻止 できたか	国内で検出 できたか	国内対応の鍵
ピーナッツバター	<i>Salmonella</i> Bredeney	NO	YES/ NO	WHO や関係国からの早期情報の 入手、 <i>Salmonella</i> 分離菌の血清型 別、PFGE 解析情報の集約・解析
冷凍いちご	Norovirus	NO	難しい	WHO や関係国からの早期情報の 入手、食品及びヒトから分離された Norovirus のシーケンス解析の実 施とその情報集約・解析
Galactooligosaccha ride (GOS) (Purimune)	<i>Salmonella</i> Oranienburg	NO	難しい (過去に事例 なしので予測 不能)	WHO や関係国からの早期情報の 入手、 <i>Salmonella</i> 分離菌の血清型 別、PFGE 解析情報の集約・解析
冷凍キハダマグロ, ナカオチ	<i>Salmonella</i> Bareilly and Nchanga	NO	YES/ NO	WHO や関係国からの早期情報の 入手、 <i>Salmonella</i> 分離菌の血清型 別、PFGE 解析情報の集約・解析

別紙 1

結果

(1) Risk Ranger の構造の概要

Risk Ranger では表 1 に示す 11 の質問項目が用意されている。利用者は各々の質問項目に設定されている選択肢（定性的記述）から検討対象に最も適合するものを選択することにより¹、0 から 100 の間の整数として相対的なリスクが算出される。その算出プロセスの概略は次のとおりである。

- 予め各質問項目に定性的記述として設定されている選択肢にはそれぞれ数値が割り当てられている。
- 利用者が各質問項目について最も適合する選択肢を選択することにより、各質問項目について数値が設定される。
- これらの数値を用いて論理的なモデルに基づいて半定量的にリスクが算出される。
- 最終的なアウトプットである” Risk Ranking” は、算出されたリスクがとり得る値の範囲を 0 から 100 の範囲の値をとるよう変換し、整数化したものとして算出される。
- Risk Ranking 0 とは食中毒のリスクが人口 10 billion 人で 100 年間に 1 回以下、逆に 100 は対象集団の全員が毎食、発症させるのに十分な量のハザードを含む食事をするようになる。ランニングの数値が 6 増加すると 10 倍リスクが増加することを意味し、たとえば 36 から 48 に変化すると、100 倍リスクは増加する。

¹ 利用者が選択肢以外に任意の値を入力することができる質問項目もある。

表 1. Risk Ranger における質問項目と選択肢

		Comment
<i>1. Hazard severity</i>		
SEVERE hazard—causes death to most victims	1	arbitrary weighting factors
MODERATE hazard—requires medical intervention in most cases	0.1	
MILD hazard—sometimes requires medical attention	0.01	
MINOR hazard—patient rarely seeks medical attention	0.001	
<i>2. How susceptible is the consumer?</i>		
GENERAL—all members of the population	1	100% of population
SLIGHT—e.g., infants, aged	5	20% of population
VERY—e.g., old, very young, diabetes, alcoholic etc.	30	3% of population
EXTREME—e.g. AIDS, transplants recipients, cancer patients, etc.	200	0.1% of population
		arbitrary weightings, but based on relative susceptibility to listeriosis, population estimates based on Australian health statistics
<i>3. Frequency of consumption</i>		
daily	365	simple algebra
weekly	52	
monthly	12	
a few times per year	3	
once every few years	0.3	
<i>4. Proportion of population consuming</i>		
all (100%)	1	arbitrary weighting factors
most (75%)	0.75	
some (25%)	0.25	
very few (5%)	0.05	
<i>5. Size of population of interest</i>		
		User selected or specified
<i>6. Proportion of product contaminated?</i>		
Rare (1 in a 1000)	0.001	0.01% of samples
Infrequent (1%)	0.01	1% of samples
Sometimes (10%)	0.1	10% of samples
Common (50%)	0.5	50% of samples
All (100%)	1	all samples
OTHER	user input	
<i>7. Effect of process</i>		
The process RELIABLY ELIMINATES hazards	0	arbitrary weighting factors
The process USUALLY (99% of cases) ELIMINATES hazards	0.01	
The process SLIGHTLY (50% of cases) REDUCES hazards	0.5	
The process has NO EFFECT on the hazards	1	
The process INCREASES (10 ×) the hazards	10	
The process GREATLY INCREASES (1000 ×) the hazards	1000	
<i>8. Is there a potential for recontamination?</i>		
NO	0	arbitrary weighting factors
YES—minor (1% frequency)	0.01	
YES—major (50% frequency)	0.50	
OTHER	user input	
<i>10. How much increase from level at processing is required to reach an infectious or toxic dose for the average consumer?</i>		
none	1	arbitrary weighting factors
slight (10-fold increase)	0.1	
moderate (100-fold increase)	0.01	
significant (10,000-fold increase)	0.0001	
OTHER	user input	
<i>9. How effective is the post-processing control system?</i>		
WELL CONTROLLED—systems in place, audited, well-trained staff	1	arbitrary weighting factors
CONTROLLED—systems in place, audited, well-trained staff	3	
NOT CONTROLLED—no systems in place, untrained staff	10	
GROSS ABUSE OCCURS	1000	
NOT RELEVANT—level of risk agent does not change	1	
<i>11. Effect of preparation for meal</i>		
Meal preparation RELIABLY ELIMINATES hazards	0	arbitrary weighting factors
Meal preparation USUALLY ELIMINATES (99%) hazards	0.01	
Meal preparation SLIGHTLY REDUCES (50%) hazards	0.50	
Meal preparation has NO EFFECT on the hazards	1.00	
OTHER	user-input value	

(2) 輸入二枚貝の腸炎ビブリオのリスクランキング

ここでは輸入二枚貝の生食を例にとり、腸炎ビブリオのリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「48」と算出された。

表 2. 輸入二枚貝の腸炎ビブリオのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Mild	腸炎ビブリオを想定 FAO Fishery Technical Paper442 ² および Z. Sosa Mejia ら(2010) ³ に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Monthly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Some (25%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (17%)	食品安全委員会によるリスクプロファイル ⁴ tdh 遺伝子陽性率
7. Effect of Processing	No Effect	生食を想定し、FAO Fishery Technical Paper442 による
8. Is there potential for recontamination after processing?	Other (30%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく仮定値
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (病原体：3 倍増)	生食用鮮魚介類の保存基準が遵守されていると想定
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Significant (病原体：10,000 倍増)	腸炎ビブリオを想定 食品安全委員会によるリスクプロファイルに基づき判断
11. Effect of preparation before eating	No Effect	生食を想定

² Application of risk assessment in the fish industry(FAO FISHERIES TECHNICAL PAPER 442) <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y4722e/y4722e00.pdf>

³ Z. Sosa Mejia ら, 2010, Risk evaluation and management to reaching a suggested FSO in a steam meal, Food Microbiology, Article in press.

⁴ 食品安全委員会 食品健康影響評価のためのリスクプロファイル「食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～生鮮魚介類における腸炎ビブリオ」(改訂版) http://www.fsc.go.jp/senmon/biseibutu/risk_profile/

(3) 輸入二枚貝の Norovirus のリスクランキング

ここでは輸入二枚貝の生食を例にとり、ノロウイルスのリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「61」と算出された。

表3. 輸入二枚貝のノロウイルスのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Mild	ノロウイルスを想定 FAO Fishery Technical Paper442 および Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Monthly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Some (25%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (2.1%)	食品安全委員会によるリスクプロファイル ⁵ 中輸入生食用カキのノロウイルス陽性率
7. Effect of Processing	No Effect	生食を想定し、FAO Fishery Technical Paper442 による
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes –minor (1%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく仮定値
9. How effective is the post-processing control system?	Not Relevant	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	None	二枚貝中でノロウイルスは増殖しないため
11. Effect of preparation before eating	No effect	生食を想定

⁵ 食品安全委員会 食品健康影響評価のためのリスクプロファイル「食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～食品中のノロウイルス」

(4) 生ハムの *Listeria monocytogenes* のリスクランキング

ここでは輸入生ハムを例にとり、*Listeria monocytogenes* (*Lm*) のリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「24」と算出された。

表4. 生ハムのリステリアのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Moderate	<i>Lm</i> を想定 FAO Fishery Technical Paper442およびZ. Sosa Mejiaら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Weekly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Some (25%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (4.1%)	食品安全委員会による評価書から輸入生ハムの陽性率
7. Effect of Processing	Increase (x10)	RTE を想定し、交差汚染と冷蔵庫内での若干の増殖を想定
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes –minor (1%)	カットやスライス時の再汚染を想定
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (3%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Others (10,000,000,000)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
11. Effect of preparation before eating	No effect	RTE を想定

(5) ナチュラルチーズの *Listeria monocytogenes* のリスクランキング

ここでは輸入ナチュラルチーズを例にとり、*Listeria monocytogenes* (*Lm*) のリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「22」と算出された。

表5. ナチュラルチーズのリスティアのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Moderate	<i>Lm</i> を想定 FAO Fishery Technical Paper442 および Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Weekly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Some (25%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (2.2%)	食品安全委員会による評価書から輸入ナチュラルチーズの陽性率
7. Effect of Processing	Increase (x10)	RTE を想定し、交差汚染と冷蔵庫内での若干の増殖を想定
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes –minor (1%)	カットやスライス時の再汚染を想定
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (3%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Others (10,000,000,000)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
11. Effect of preparation before eating	No effect	RTE を想定

(6) もやしの *Listeria monocytogenes* のリスクランキング

次に輸入もやしを例にとり、*Listeria monocytogenes* (Lm) のリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「28」と算出された。

表6. もやしのリステリアのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Moderate	Lm を想定 FAO Fishery Technical Paper442 および Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Weekly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Some (25%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (25%)	村瀬ら(日食微生物学雑誌 2002) ⁶ による輸入もやしの陽性率
7. Effect of Processing	Increase (x10)	加熱調理なしと想定し、交差汚染と冷蔵庫内での若干の増殖を想定
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes -minor(1%)	カット、小分け包装時の再汚染を想定
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (3%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Others (10,000,000,000)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
11. Effect of preparation before eating	No effect	RTE を想定

⁶ 村瀬稔ら、市販の輸入生野菜および果物における病原菌汚染の実態調査、日本食品微生物学会雑誌, 19(2), 71-75, 2002

(7) 輸入スモークサーモンの *Listeria monocytogenes* のリスクランキング

次に輸入スモークサーモンを例にとり、*Listeria monocytogenes* (*Lm*) のリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「24」と算出された。

表7. 輸入スモークサーモンのリステリアのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Moderate	<i>Lm</i> を想定 FAO Fishery Technical Paper442 および Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Weekly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Some (25%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (4.3%)	食品安全委員会リスク評価書 ⁷ による輸入スモークサーモンの陽性率
7. Effect of Processing	Increase (x10)	加熱調理なしと想定し、交差汚染と冷蔵庫内での若干の増殖を想定
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes –minor (1%)	カット、小分け包装時の再汚染を想定
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (3%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Others (10,000,000,000)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
11. Effect of preparation before eating	No effect	RTE を想定

⁷ 食品安全委員会(2013)微生物・ウイルスリスク評価書 食品中のリステリア モノサイトゲネス

(8) 輸入ブラックタイガーのサルモネラのリスクランキング

次に輸入ブラックタイガーを例にとり、サルモネラのリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「49」と算出された。

表8. 輸入ブラックタイガーのサルモネラのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Mild	<i>Salmonella</i> を想定 FAO Fishery Technical Paper442 および Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Weekly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Some (25%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (4.2%)	Asai et al ⁸ (JFP 2008)の汚染率
7. Effect of Processing	Reliably eliminate hazard	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく想定
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes –minor (1%)	カット、小分け包装時の再汚染を想定
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (3%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Slight (10 fold increase)	Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
11. Effect of preparation before eating	Usually Eliminate (99%)	喫食直前に再加熱を想定

⁸ Asai Y, Kaneko M, Ohtsuka K, Morita Y, Kaneko S, Noda H, Furukawa I, Takatori K, Hara-Kudo Y.: *Salmonella* prevalence in seafood imported into Japan. *J. Food Prot.* 2008 Jul;71(7):1460-4

(9) 輸入鶏肉のサルモネラのリスクランキング

次に輸入鶏肉を例にとり、*Salmonella* のリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「52」と算出された。

表9. 輸入鶏肉のサルモネラのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Mild	<i>Salmonella</i> を想定 FAO Fishery Technical Paper442 および Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Weekly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Most (75%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Other (15.1%)	食安委のリスクプロファイルに示された輸入市販鶏肉のサルモネラ属菌汚染の汚染率合算値
7. Effect of Processing	Usually (99%) eliminate hazard	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく想定
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes –minor (1%)	カット、小分け包装時の再汚染を想定
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (3%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Slight (10 fold increase)	Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
11. Effect of preparation before eating	Usually Eliminate (99%)	喫食直前に再加熱を想定

(10) 輸入鶏肉のカンピロバクターのリスクランキング

次に輸入鶏肉を例にとり、*Campylobacter* のリスクランキングを試みた。

Risk Ranger のパラメータとして、以下の選択肢を仮定した。なお、加工工程の効果および加工後の管理システムの効果については、仮定した病原体の特性および文献等を踏まえてパラメータを設定した。

下記のパラメータを入力した結果、リスクランキングは「52」と算出された。

表10. 輸入鶏肉のカンピロバクターのリスクランキングにおけるパラメータ設定

パラメータ	選択肢	備考
1. Hazard Severity	Moderate	<i>Campy</i> を想定 FAO Fishery Technical Paper442 および Z. Sosa Mejia ら(2010)に基づき判断
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	全 population 対象
3. Frequency of Consumption	Weekly	仮定値
4. Proportion of Population Consuming the Product	Most (75%)	仮定値
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	Others (16.2%)	食品安全委員会リスクプロファイル
7. Effect of Processing	Usually (99%) eliminate hazard	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく想定
8. Is there potential for recontamination after processing?	Yes –minor (1%)	カット、小分け包装時の再汚染を想定
9. How effective is the post-processing control system?	Controlled (3%)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Slightly (x10)	FAO Fishery Technical Paper442 に基づく
11. Effect of preparation before eating	Usually Eliminate (99%)	喫食直前に再加熱を想定

パラメータ	選択肢	選択肢	選択肢	選択肢	選択肢	選択肢	選択肢	選択肢	選択肢
食品と微生物の組み合わせ	輸入二枚貝の腸炎ビブリオ	輸入二枚貝のNorovirus	輸入生ハムのリステリア	輸入ナチュラルチーズのリステリア	輸入もやしのリステリア	輸入スモークサーモンのリステリア	輸入エビのサルモネラ	輸入鶏肉のサルモネラ	輸入鶏肉のカンピロバクター
1. Hazard Severity	Mild	Mild	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	Mild	Mild	Moderate
2. How susceptible is the population of interest?	GENERAL	GENERAL	GENERAL	GENERAL	GENERAL	GENERAL	GENERAL	GENERAL	GENERAL
3. Frequency of Consumption	monthly	Monthly	Weekly	Weekly	Weekly	Weekly	Weekly	Weekly	Weekly
4. Proportion of Population Consuming the Product	some (25%)	some (25%)	some (25%)	some (25%)	some (25%)	some (25%)	some (25%)	most (25%)	most (75%)
6. Probability of Contamination of Raw Product per Serving	other (17%)	Other (2.1%)	Other (4.1%)	Other (2.2%)	Other (25%)	Other (4.3%)	Other (4.2%)	Other (15.1%)	Others (16.2%)
7. Effect of Processing	No Effect	No Effect	Increase (x10)	Increase (x10)	Increase (x10)	Increase (x10)	Reliably eliminate hazard	Usually eliminate hazard	Usually(99%) eliminate hazard
8. Is there potential for recontamination after processing?	Other (30%)	Yes --minor (1%)	Yes --minor (1%)	Yes --minor (1%)	Yes --minor (1%)	Yes --minor (1%)	Yes --minor (1%)	Yes --minor (1%)	Yes --minor(1%)
9. How effective is the post processing control system?	Controlled(病原体 : 3 倍増)	Not Relevant	Controlled (3%)	Controlled (3%)	Controlled (3%)	Controlled (3%)	Controlled (3%)	Controlled (3%)	Controlled (3%)
10. What increase in the post-processing contamination level would cause infection or intoxication to the average consumer?	Significant (病原体 : 10,000 倍増)	None	Others (10,000,000,000)	Others (10,000,000,000)	Others (10,000,000,000)	Others (10,000,000,000)	Slight (10 hold increase)	Slight (10 hold increase)	slightly(x 10)
11. Effect of preparation before eating	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect	Usually Emilinate (99%)	Usually Emilinate (99%)	Usually Emilinate (99%)
12. rank	48	61	24	22	28	24	49	52	52

厚生労働科学研究費補助金（食の安全確保推進研究事業）
「国内侵入のおそれがある生物学的ハザードのリスクに関する研究」
分担研究報告書

フグ類と巻貝類のフグ毒中毒

研究分担者 長島裕二 東京海洋大学大学院海洋科学系食品生産科学部門

研究要旨

自然毒食中毒の中で死亡事例の第一位を占め、致死率の高いフグとフグ毒テトロドトキシン（TTX）を高濃度に蓄積する巻貝類について、国内侵入に対するリスク管理に資することを目的に、海外におけるフグおよび巻貝類のフグ毒中毒事例を調査した。その結果、フグ食中毒は日本同様、世界中で発生していることが確認された。小型巻貝類によるフグ毒中毒の報告例は検索されなかったが、中国ではムシロガイ科の巻貝の毒性が夏季に上昇することが報告されていた。また、フグの TTX 蓄積能を調べるため、トラフグとハコフグの肝組織を TTX 含有緩衝液中で 8 時間 *in vitro* で培養したところ、TTX 蓄積の様子に違いがみられ、トラフグ肝組織では経時的に TTX 量は増加したのに対し、ハコフグでは TTX 量の増加はみられず、ハコフグ肝臓は TTX を蓄積しないか蓄積しにくいことが示唆された。

A. 研究目的

フグによる食中毒は毎年発生しており、最近 10 年間（2002～2011 年）を平均すると、中毒件数は 32 件、患者数は 46 名、死者数は 2 名で、多い年には 6 名が死亡した。同期間における食中毒全体の年平均死亡者数が 6 名であることを考えると、フグ中毒の致死率がいかに高いかがわかり、その危険性を改めて認識せざるを得ない。このため、わが国ではフグ食中毒防止のためのリスク管理として、厚生省（当時）通知（「フグの衛生確保について」環乳第 59 号 昭和 58 年 12 月 2 日）で、食用可能なフグの種類、部位、漁獲海域が定められ、それ以外のフグの食用は禁止されている。さらに、フグの取扱いについては、各自治体の条例等により、フグの取扱者と施設に免許を与えてフグの安全性を確保している。

輸入フグについては、国内で食用が認められている海域で漁獲されたフグ 21 種に限定され、フグの形態は種類の鑑別を容易にするため、処理を行わないものか、単に内臓のみをすべて除

去したものに限ることで、有毒フグの国内への侵入を防いでいる。しかしながら、フグが海流で移動することがあり、南方産有毒種として恐れられているドクサバフグが日本沿岸に出現し、2008 年以降九州および四国地方で 5 件のドクサバフグ食中毒が発生した。これは海外からの生物学的ハザードの国内侵入と捉えることができよう。

フグ毒テトロドトキシン（以下 TTX と略記）は、フグ以外の動物からも検出されており、節足動物剣尾類のマルオカブトガニや軟体動物腹足類のボウシュウボラやバイではフグ毒中毒が起こったことがある。そして、2007～2008 年に九州地方で腐肉食性のムシロガイ科（オリレヨフバイ科）キンシバイによるフグ毒中毒が発生した。キンシバイあるいはその近縁種によるフグ毒中毒は中国や台湾ではすでに報告されていたが、わが国では初の事例となった。キンシバイの毒性は極めて高く、筋肉部でも 1000 マウスユニット/g を越えるものもみられ

た。これはフグの毒性でいう“猛毒”レベルに相当する。

こうした状況の下、本研究は国内侵入のおそれのある生物学的ハザードのリスク管理に資することを目的に、海外におけるフグおよび巻貝類の食中毒事例を調査した。また、上述のようにわが国におけるフグのリスク管理は、「フグの衛生確保について」で定められた「処理等により人の健康を損なうおそれがないと認められるフグの種類及び部位」に基づいて行われているが、元来 TTX をもたないと言われているフグ科以外の“無毒種”フグも食用可能な部位が制限されている。もし“無毒種”フグは TTX で毒化しないのであれば、今後食用の禁止や制限を見直す必要もあるだろう。そこで、研究分担者らが構築した *in vitro* 組織培養法でトラフグとハコフグの肝組織における TTX 蓄積能を検討した。

B. 研究方法

1) 文献等調査

フグおよび巻貝類のフグ毒食中毒事例は、PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)、SCIRUS (<http://www.scirus.com/>)、Google scholar (<http://scholar.google.co.jp/>) を用いて検索した。

2) 肝組織培養法によるハコフグ肝臓の TTX 蓄積

試料には養殖トラフグとハコフグを用いた。それぞれ氷冷麻酔した試料魚から肝臓を摘出し、予め冷却した perfusion buffer で灌流後、スライサーと生検トレパンを用いて肝組織切片 ($\phi 8\text{mm} \times$ 厚さ 1mm) を調製した。肝組織切片をカルチャープレート (24 ウェル) の各ウェルに入れ、 $50\mu\text{M}$ TTX を含む transport buffer 1mL 中で混合ガス ($95\%\text{O}_2 - 5\%\text{CO}_2$) をバブリングしながら、 20°C で 8 時間培養した。経時的に肝組織切片を取り出し、氷冷した transport buffer に 1 分間浸漬して肝組織切片

表面を洗浄した後、キムタオルで水分を拭き取った。肝組織切片に 0.1% 酢酸を加えて、ホモジナイズし、一部はタンパク質定量に用い、残りは沸騰水浴中で 10 分間加熱して TTX を抽出した。TTX 定量は LC-MS 法で、タンパク質定量は Lowry 法で行った。実験に先立ち、養殖トラフグおよびハコフグ肝臓には TTX は検出されないことを LC-MS 分析で確認した。

C. 研究結果

1) 文献等調査

情報検索においてヒットした海外におけるフグ食中毒事例のうち 2000 年以降の例を表 1 に示した。検索された件数は多くないが、フグ食中毒はアジアだけでなく、オセアニア、中東 (地中海)、南北アメリカでも発生し、世界中で発生していることが分かった。中毒原因のフグ種が判明しているものは少ないが、センニンフグ *Lagocephalus scleratus* がイスラエルとオーストラリアで報告されている。この他、淡水フグの *Colomesus asellus* やヨリトフグ (*Sphoeroides*) 属でも中毒を起こしている。

最近起こった巻貝のフグ毒中毒については、ヒットした事例が少なかったが、中国連雲港で 2007 年 5~8 月に採取されたムシロガイ科 (オリレヨフバイ科) *Nassarius* 属は高濃度のフグ毒が検出され、この時期の消費はハイリスクであると指摘されていた。

2) 肝組織培養法によるハコフグ肝臓の TTX 蓄積

トラフグ肝組織切片を $50\mu\text{M}$ TTX を含む transport buffer で培養したところ、インキュベート 2 時間後に TTX が検出され、TTX 蓄積量 (平均値 \pm 標準偏差) は $0.33 \pm 0.12 \text{ nmol/mg protein}$ であった (図 1)。TTX 蓄積量はインキュベート時間に伴い増加し、8 時間後には $1.51 \pm 0.13 \text{ nmol/mg protein}$ に達した。

一方、ハコフグ肝組織切片の場合は、インキュベート 2 時間後に $0.08 \pm 0.05 \text{ nmol TTX/mg protein}$ が検出されたものの、その後 TTX