

201327007B

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

食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究

平成 23 年度～25 年度 総合研究報告書

研究代表者 砂川 富正

平成 26 (2014) 年 3 月

食中毒調査の精度向上のための手法等に関する
調査研究

研究代表者 砂川 富正

平成 26 (2014)年 3 月

目次

I. 総合研究報告

食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究

砂川 富正

..... 3

総合分担研究報告

1) 腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発事例における人口寄与危険率の算出の試み

八幡 裕一郎

..... 35

2) 自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例のリスク推定の試行

岡部 信彦

..... 47

3) 宮城県及び全国における積極的食中毒由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握（食品媒介感染症被害実態の推定）

窪田 邦宏、春日 文子

..... 85

4) ウイルス性食中毒調査の精度向上のための塩基配列データと疫学情報の共有化

野田 衛

..... 119

5) 食品に起因するウイルス感染症の流行調査と解析

脇田 隆字

..... 129

6) 医療機関から保健所への食中毒報告促進のための課題に関する研究

徳田 浩一

..... 137

7) 地域における原因食品推定法の検討 小澤 邦壽	147
8) 広域食中毒疫学調査ガイドラインの作成 杉下 由行	161
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	167

I. 総合研究報告

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）
総合研究報告書

食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究

研究代表者	砂川 富正	国立感染症研究所感染症疫学センター	室長
分担研究者	春日 文子	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部	部長
分担研究者	小澤 邦壽	群馬県衛生環境研究所	所長
分担研究者	野田 衛	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部	室長
分担研究者	徳田 浩一	東北大学病院 感染管理室	講師
分担研究者	杉下 由行	東京都健康安全研究センター	疫学情報担当課長
分担研究者	窪田 邦宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部	室長
分担研究者	八幡 裕一郎	国立感染症研究所感染症疫学センター	主任研究官
分担研究者	脇田 隆字	国立感染症研究所	ウイルス第2部 部長
分担研究者	岡部 信彦	川崎市衛生研究所	所長

研究要旨

広域食中毒事例において原因食品のより精度の高い究明を行うために、本研究班は広域食中毒に関連する様々なエビデンスの収集を行う一方{(1)~(8)}、方法論の整理・開発{(9)}に取り組んできた。前者については、食品媒介感染経路の占める比率と原因食品の推定、および様々な国内食品媒介感染症被害実態の推定を行った。後者については、広域散发食中毒事例の効率的な調査方法の開発・実施に取り組んできた。これら、エビデンスと方法論のそれぞれの研究を有機的に連携させることで、最終的には広域食中毒調査の精度向上のためのガイドライン策定へとつながり、最終的に自治体、国における食品安全課題の優先順位付け、広域食中毒事例探知の方法論開発へとつながっていくことが目標であった。まず、広域食中毒に関連する様々なエビデンスに関連して、食品媒介感染経路の占める比率と原因食品の推定として、(1)食中毒の原因となる食品の寄与率（アトリビューション）の推定方法の検討、および(2)自治体レベルでの食品の寄与率の検討を行った。(1)については腸管出血性大腸菌感染症（EHEC）感染症発生に寄与する食品、動物、環境等について寄与率の検討を、O157 症例を中心に実施してきた。研究デザインはマッチングをした症例対照研究を行った。生から半生の牛ユッケの喫食（平成 25 年度）、十分に加熱した牛肉の喫食（平成 24 年度、25 年度）、生から半生の牛レバー（平成 25 年度）、十分に加熱牛ホルモン（平成 25 年度）が腸管出血性大腸菌

O157 による発病と有意な関連があった。「十分に加熱した牛肉」と「野菜類」は喫食前に「交差汚染」の可能性が考えられたが、十分な検討が今後必要である。PAR%の算出は本研究で実施した方法は対策の効果のモニタリングツールとして利用可能性があると考えられた。(2) 自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例のリスク推定の試行、すなわちここでは症例対照研究が腸管出血性大腸菌感染症対策の評価等へ利用できることが示唆されたことから、今後症例数を増やして更なる検証を行いながら、自治体における対照調査データの確保や解析技術の習得等を検討していくべきであるとした。(3) 宮城県および全国における積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握、を *Campylobacter*, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* に対して行った。平常時から散発事例等を含めたデータ収集を継続して行うアクティブサーベイランスの有効性およびその必要性が強調された。このようなサーベイランスシステムでは、菌の検出のみならず、下痢症発生率（有病率）、医療機関受診率および検便実施率等の情報も継続して調査を行なうことが有用であり、緊急事例の早期発見につながる可能性がある。(4) 地方衛生研究所や国の機関における塩基配列や疫学情報の共有化は、① 全国的な食品媒介事例の実態把握、② 流行ウイルスの型の全国的な発生動向の早期探知、③ 集積されたデータを分析することによる被害実態の推定、④ 情報交換を密に行うことにより、食中毒調査における連携や支援の強化等に寄与することができた。今後も継続して実施するとともに情報共有に関する具体的な取決め等が必要である。(5) 食品に起因するウイルス感染症の流行調査と解析については、アジア諸国との情報交換ネットワークの構築を主眼において、例えば台湾 CDC, 韓国 CDC, Seoul University に共同研究を打診し、台湾 CDC にて 2010 年から 2011 年にかけて発生したノーウォークウイルス、サッポロウイルス感染患者糞便を用い、genotyping の解析を実施してきた。我が国における食材に起因するウイルス性感染症の流行を把握し、適切な予防衛生対策を講じるため、国内だけでなくグローバルな観点で流行の動向を捉えることを目的として研究を行うことが有用である。食品に起因するウイルス感染症としては、ノロウイルス、A 型肝炎ウイルス、E 型肝炎ウイルスを調査対象とする。(6) 平成 23 年度及び平成 24 年度は、東日本大震災の食中毒発生への影響について評価することを目的に、宮城県と岩手県を対象として、2011 年に両県で発生した食中毒事件を過去 4 年間（2007~2010 年）のものと比較し、その発生に関わる疫学的要因の変化を検討した。両県とも、患者年齢分布や主要な原因病原体に変化は認めなかった。東日本大震災の影響といえる食中毒事件の明らかな増加は無かったが、ノロウイルス食中毒には増加がみられ、下水道施設への被害等が関連する可能性が推察された。平成 25 年度は、高齢者におけるノロウイルス食中毒の臨床的特徴を明らかにするため、高齢者施設で発生した集団食中毒事例について疫学的研究を行った。高齢者施設におけるノロウイルスによる食中毒の臨床的特徴、については、高齢者施設で発生した集団食中毒事例について疫学的研究を行った。高齢になるほど嘔吐の割合は高くなり（46.2%-84.7%；

p=0.0031)、一方で、高齢になるほど下痢や発熱が減少傾向を示した(各々22.4%-61.5%; p=0.0014、16.5-53.8%; p=0.0068)。嘔吐の割合が高かったことから、吐物処理時の感染拡大防止策の徹底に加え、特に体力の低下や、嚥下や喀出に問題のある利用者に対して、脱水や誤嚥に注意が必要と考えられた。(7)川崎市における新規分類 EPEC の潜在的保菌率から推定される全国的保菌者数とその病原性の検討については、本研究においても3.05%の研究対象者から EPEC が分離された。分離された EPEC 株のうち、細胞付着性試験において LA(局在性付着)を示した株は22株中1株(4.55%)であったことから、病原性を有すると推測される EPEC の保菌率は0.14%と非常に低いものであった。EPEC の病原性は *eae* 遺伝子の有無のみでの判断することは難しいものと考えられた。下痢症患者由来の EPEC 株では、本研究より高い割合で細胞への付着を認める報告があり、細胞付着性と病原性には相関性が示唆された。(8)地域における原因食品推定法の検討、を食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究として平成23~25年度に実施した。平成23年度から、牛肉における腸管出血性大腸菌(EHEC)検査スクリーニングの検討、市販食肉の細菌汚染状況および各分離培地を使用した比較検討およびアルコバクターの汚染調査における *Arcobacter Selective Broth* など選択分離培地を使用した検討を行った。さらに食鳥処理場に搬入された鶏から分離される大腸菌の血清型別と薬剤耐性に関与するβラクタマーゼ産生株の調査、食肉処理場に搬入された牛の肝臓等から分離される EHEC とカンピロバクター属菌の検索とその臓器内の分布を調査した。これらの菌の汚染調査は、継続して実施することにより、食中毒事件発生時の疫学調査において、発生地域における食材等の原因食品の推定に寄与できることが示唆された。

もう一つの大きな柱である、広域散発食中毒事例の効率的な調査方法の開発・実施について、(9)広域食中毒疫学調査ガイドラインの作成を行った。作成に至る流れとして、平成23年度、広域食中毒調査票を作成し、平成24年度に、「広域食中毒調査票に関する利用マニュアル(案)」を作成した。平成25年度には、「広域食中毒疫学調査ガイドライン」の作成とともに今後のわが国における広域食中毒事例対応の姿について提言としてまとめた。一方で、ガイドラインを踏まえた対応が各自治体で可能であるかどうか、今後、検証が必要である。さらに、解析に当たっての対照群確保などいくつかの課題が残されており、それらについて解決を目指す必要がある。

A. 研究目的

食中毒統計では原因食品不明の事例が少なくなく、食中毒として報告されない食品媒介感染症の散発事例においても、特に原因食材（感染源）や感染経路の多くが不明である。食中毒の被害拡大・再発防止を目標に、精度の高い原因食品究明を行うための疫学的手法の開発が求められている。特に昨今、複数の自治体にまたがった広域食中毒事例が報告されており、共通原因による広域事例と認識されるまでに時間を要する事例もあり、迅速探知と効率的な原因究明による被害拡大防止のために、自治体・国それぞれの関与段階と役割に関する具体的な対応指針の作成が望まれている。

当研究班では、平成 23-25 年度の 3 年間の研究班活動において、広域食中毒事例において原因食品のより精度の高い究明を行うために、広域食中毒に関連する様々なエビデンスの収集を各分担研究者が行う一方 {方法(1)~(8)}、ガイドラインの作成を中心として方法論の整理・開発 {同(9)} に取り組んできた。前者については、1. 食品媒介感染経路の占める比率と原因食品の推定、および様々な 2. 国内食品媒介感染症被害実態の推定を行った。後者については、3. 広域散発食中毒事例の効率的な調査方法の開発・実施に取り組んできた。いずれも諸外国では IT などツールの開発を含む研究と行政対応の体制が整備されつつある。これら、エビデンスと方法論のそれぞれの研究を有機的に連携させることで、最終的には広

域食中毒調査の精度向上のための実効性の高いガイドライン策定へとつながり、最終的に自治体、国における食品安全課題の優先順位付け、広域食中毒事例探知の方法論開発へとつながっていくことが目標であり、特にガイドラインの作成を最終的な班全体の目的としてきた。

以下に、各分担研究者の研究目的について列挙する。

1. 食品媒介感染経路の占める比率と原因食品の推定

(1)腸管出血性大腸菌感染症 O157 感染症の散発事例における人口寄与危険率算出の試み

我が国の腸管出血性大腸菌感染症の報告数は年間 3500 例から 4500 例で推移している。我が国では、腸管出血性大腸菌感染症の対策が 2011 年 4 月に発生した焼肉チェーン店におけるユッケ喫食による腸管出血性大腸菌 O111 感染症のアウトブレイク発生後に生肉の規格基準が策定され (2011 年 10 月)、牛生レバーの提供禁止 (2012 年 7 月) がなされた。また、2012 年 8 月に札幌市を中心に白菜の浅漬による腸管出血性大腸菌 O157 のアウトブレイクが発生し、漬物の衛生規範が 2012 年 10 月に改定され、対策の強化がなされた。

一方、腸管出血性大腸菌感染症の散発例は原因の特定を保健所単位や自治体単位での実施および検討は難しいのが現状である。欧米では腸管出血性大腸菌感染症対策の優先順位を検討するための資料として人口寄与危険率 (Population

Attributable Risk %: PAR%) を算出している。しかしながら、我が国ではこのような方法での検討はあまり行われていない。

本研究は PAR% の算出により、今後我が国での腸管出血性大腸菌 O157 感染症対策における優先事項の検討実施のための試行を行った。また、実際された食品行政施策の効果も判定することも目的となった。

(2) 自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例のリスク推定の試行

(1) の目的で述べた全国的なアトリビューションの算出に対して、自治体における腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症散発事例のリスク推定を試行し、自治体における実施の可能性を検討する。

2. 国内食品媒介感染症被害実態の推定

(3) 宮城県および全国における積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

現在の日本では食品流通システムが広域かつ複雑になっていることから、食品由来感染症も集団で発生する食中毒などの形態をとるとは限らず、広範囲にわたる散発事例なども含めた全体像の把握の必要性が高まっている。また食品の輸入量の増加により、海外から輸入された食品に起因する被害も今後発生が考えられる。日本においても食品安全対策を検討・評価する上で、アクティブサーベイランスによる食品由来感染病原体の検出数の把握と、それにもとづく被害実態の正確な推定を行うことが必須である。

そこで本研究では、宮城県および全国における下痢症患者からの食品由来感染症原因病原体検出の実態を把握し、下痢症の実被害者数の推定を行うことで日本におけるアクティブサーベイランスシステム構築の基礎とするとともに、そのようなシステムを導入する際に検討すべき特徴の把握を目的とした。2005 年から当研究分担者らが継続している宮城県におけるアクティブサーベイランス、およびそれによる宮城県の被害実態の推定を引き続き行った。また、平成 23 年度からは民間検査機関の協力で全国について食品由来感染症病原体の検出データを収集し、それらをもとに全国における下痢症被害実態の推定も行った。これらの全国データからの推定結果と上記宮城県データからの全国推定結果とを比較することで本研究における推定手法の妥当性を検討した。

(4) ウイルス性食中毒調査の精度向上のための塩基配列データと疫学情報の共有化

2009 年以降広域事例の早期探知など、ノロウイルス食中毒の精度向上やノロウイルスによる被害拡大防止等に資することを目的として、51 地方衛生研究所(地研)等の協力の下、ノロウイルス等の塩基配列情報やノロウイルス食中毒事例等の疫学情報の共有化を、研究班専用のメーリンググループおよびホームページ (CaliciWeb) を利用して実施した。

(5) 食品に起因するウイルス感染症の流行調査と解析

食材に起因するウイルス性感染症には、ノロウイルス (NoV) , A型肝炎ウイルス (HAV) , E型肝炎ウイルス (HEV) が知られている。NoVは、非細菌性胃腸炎の原因ウイルスであり、毎年、我が国だけでも一万人程度の感染患者が報告され問題となっている。HAVの場合は国内における抗体保有者の割合の低下とともに感受性者が増大し、海外からの流入に伴い流行の発生が懸念されている。HEVは日本で飼育されているブタでのウイルス保有率が高く、人獣共通感染症としての対策も望まれる。

我が国は、食材をアジアに限らず、世界中の国々から輸入しており、国内における食材に起因するウイルス性感染症の流行は、海外における流行の影響を受けている可能性が高い。海外と我が国のNoV, HAV, HEVに関する情報ネットワークを構築し、これらのウイルスの流行株の時系列に従った変遷を比較し、流行のメカニズムをグローバルな視点で解析する。

(6) 医療機関から保健所への食中毒報告促進のための課題に関する研究

平成 23 年及び平成 24 年の研究では、東日本大震災の食中毒発生への影響について評価することを目的に、宮城県及び岩手県を対象として、2011 年に発生した食中毒事件を過去 4 年間 (2007~2010 年) のものと比較し、事件発生に関わる疫学的要因の変化を検討した。

平成 25 年度は、ノロウイルス食中毒の感染力の強さと大きな疾病負荷 (Disease burden) に着目し、ハイリスク者である

高齢者におけるノロウイルス食中毒の臨床的特徴について疫学的研究を行った。

(7) 川崎市における新規分類 EPEC の潜在的保菌率から推定される全国的保菌者数とその病原性の検討

eae 遺伝子を有する EPEC は健康者からも分離されることが有り、また分離された EPEC についても病原性等について不明瞭な部分が多い事を鑑み、*eae* 遺伝子を指標として分離される EPEC について、新たな知見を得るべく、本研究を実施することとなった。

本研究の主たる目的は、*eae* 遺伝子を有する EPEC の全国的保菌者数の推測及び、分離される EPEC の病原性について検討することとした。

(8) 地域における原因食品推定法の検討

食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究の一環として、地域における原因食品推定法に関する検討を行ってきた。今年度は、食鶏から高率に分離される大腸菌について、ESBL 産生等の多剤耐性に関与する薬剤耐性遺伝子の保有を検索し、地域における検出状況を確認する。そして、食中毒調査における原因食品推定に寄与する可能性について検討する。

さらに牛肝臓等における食中毒原因物質 (EHEC およびカンピロバクター属菌) の検索を行い、保菌状況および肝臓内部の分布状況を把握して、食中毒調査における EHEC およびカンピロバクター属菌の原因食品推定に寄与する可能性について検討する。

また、近年、海外では食肉の汚染細菌として注目されているアルコバクター属菌について、市販ひき肉を対象に汚染実態を調査する。

3. 広域散発食中毒事例の効率的な調査方法の開発・実施

(9) 広域食中毒疫学調査ガイドライン作成

国内で自治体を越え広域散発的に発生する食中毒事例について早期の探知と介入が求められる。広域食中毒事例（疑いを含む）においては、統一した手法で効率的な調査が行われる必要がある。調査票の共通化を含め、広域食中毒疫学調査に関するガイドラインを作成することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

1. 食品媒介感染経路の占める比率と原因食品の推定

(1) 腸管出血性大腸菌感染症 O157 のアトリビューション算出の検討

対象は協力の得られた 8 自治体（岩手県、東京都多摩地区、川崎市、横浜市、静岡県、静岡市、岡山市、熊本県）とした。研究デザインはマッチングした症例対照研究を実施した。症例は消化器症状（腹痛、水様性下痢及び血便、嘔吐症状）を少なくとも何れか 1 つを呈し、腸管出血性大腸菌 O157 が分離・同定された者で、集団発生例および二次感染例を除いた患者で、かつ調査への参加の同意が得られた者とした。

対照はインターネットで予め調査に参加の同意が得られた者を登録し、症例と郵便番号（上 3 桁）が同一でかつ同一年齢階級から 10 人ずつ無作為に抽出した。対照が 10 人に満たない場合は全数を抽出した。なお、年齢階級は 0-1 歳、2-5 歳、6-11 歳、12-17 歳、18-39 歳、40-59 歳、60 歳以上の区分とした。

調査は別添 1 の調査票を利用した。調査項目は症例のみの項目として発病日、性別、年齢、合併症などとした。症例と対照の共通の調査票は消化器症状の有無及び曝露因子として食品の喫食、環境曝露、渡航、動物との接触などとした。症例は保健所の担当者が調査を行い、対照はインターネットで調査を行った。

曝露と腸管出血性大腸菌 O157 感染症の発病との関連は条件付きロジスティック回帰分析を行った。腸管出血性大腸菌 O157 感染症の発病と有意な関連を示した喫食等の曝露変数は条件付き多重ロジスティック回帰分析を行い有意水準が 0.10 を上回る変数は除外した。最終的に残った変数で調整オッズ比を求め、人口寄与危険割合（PAR%：Population attributable risk%）を算出した。PAR% は下記の式に従い算出した。

$$PAR_i = \frac{p_i(aOR_i - 1)}{aOR_i} \times 100\%$$

p_i ：曝露因子 i に曝露された症例の割合

aOR ：曝露因子 i の調整オッズ比

(2) 自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例のリスク推定の試行

研究デザインはマッチングした症例対照研究を用いた。平成 24 年度において

は2012年8月8日から11月30日までに、平成25年度においては2013年7月1日から11月30日までに川崎市内で散発例として報告された腸管出血性大腸菌（EHEC O157,O26,O111）感染症患者（腹痛、下痢（1回以上）、血便のうちいずれか1つ以上の症状を認めた者）を症例とした。症例（本人又は保護者）からの情報収集は、研究班がEHECの代表的なリスク因子を考慮して作成した標準調査票を使用した。調査は、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき保健所が実施する積極的疫学調査の際に調査の同意を得て実施した。

対照は、インターネット調査会社に登録し、本研究班の調査への参加に同意した者とした。解析の際、下痢、血便、EHECの診断がある者、同期間に同居家族がEHEC感染症と診断された者は除外した。生の野菜及び果物等の喫食の有無、焼肉及び生肉の嗜好等についても調査項目とした。さらに、18歳未満の者については環境に関する調査項目を追加した。ORはConditional logistic regression analysisで算出した。

2. 国内食品媒介感染症被害実態の推定

(3) 宮城県および全国における積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

下痢症患者の原因病原体のアクティブサーベイランスを行うために、宮城県内で医療機関の医師が便検査を依頼している検査機関からのデータ収集を継続している。2011年からは民間検査機関3社よ

り全国の菌検出数データを収集している。有症者の医療機関受診率および患者の検便実施率は、宮城県において以前に行った電話住民調査のデータを用いた。全国および宮城県内の一般家庭をランダムに選択し、バイアスを減少させるため家庭内で次に誕生日が来る予定の人に対して調査を行った。

宮城県における菌種ごとの下痢症疾患被害推定のために、上記検査機関データから*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus*の3菌の検出数を抽出した。検出数に対し、検査機関の住民カバー率、医療機関における患者の検便実施率、および下痢症患者の医療機関受診率の推定値のそれぞれの逆数を乗ずることで宮城県での各菌による推定患者数を算出した。検査機関の住民カバー率は検査機関からの情報により52%と推定した。

全国での菌種ごとの下痢症疾患被害推定のために、全国を対象としている民間検査機関3社の検査データから、上記3菌の検出数を抽出し、推定患者数を算出した。

各検査機関における陽性検体からの菌検出率は100%と仮定した。さらに宮城県の場合と同様、Meadらの推定値を用いて全国における各菌の食品由来下痢症患者数を推定した。

詳細は分担研究者の総合報告書を参照されたい。

(4) ノロウイルス食中毒事例調査の精度向上のための塩基配列データと疫学情報の共有化-GII/4 2012 変異株の検出の探知とその後の対応を中心として-

研究協力の承諾を得た 51 地研から、食品媒介事例を中心に散発事例、集団感染事例から検出されたノロウイルスおよびサポウイルスのシークエンスデータを CaliciWeb に登録することにより収集した。系統樹を作成し、一般公開されている同ウェブのダウンロードのページに PDF ファイルとして還元したまた、得られた系統樹は NESFD にも掲載した。ノロウイルス等が検出された事例の疫学情報などに関する情報交換を専用のメーリンググループ内で行った。

2011 年は、5 月以降岩カキが原因と推定される食中毒の発生報告が東北地方(南部)や関東地方を中心に各自治体から相次いでいたことから、各事例の疫学的関連性、検出遺伝子型の特徴および食中毒事例としては報告されていない岩カキ関連事例の発生状況などをメーリンググループをとおして把握し、解析した。

2012 年 11 月新潟県から、管内の福祉施設で発生したノロウイルスは、これまで検出されたノロウイルス GII/4 とは別のクラスターを形成するとの報告を受けたことから、他の自治体での同ウイルスの検出状況を速やかに把握し、国立感染症研究所 IASR 等により速報として対応した。

2012 年 9 月から 2013 年 8 月に発生したノロウイルス食中毒事件 390 事件について、研究協力地方衛生研究所に当該事件から検出されたノロウイルスの遺伝子型等についてアンケート調査を実施した。

(5) 食品に起因するウイルス感染症の流行調査と解析

1. 我が国における食材に起因するウイルス性感染症に関するデータ蓄積

NoV、SaVの国内流行株の把握：

CaliciWebに登録された国内分離株の発生動向と、NESIDデータ、感染症疫学センターの発生動向調査のデータを用いて解析した。HAV, HEVについても同様に行った。

2. アジア近隣地域(韓国、台湾、中国)における食材に起因するウイルス感染症流行状況

本研究では、グローバルネットを構築し、世界的な食材に起因するウイルス感染症流行状況を時系列に把握して流行のメカニズム解析に役立てることを目標の一つにしている。これに先行して、アジア近隣諸国における分子疫学データ共有、ネットワークの構築を行うことを、研究活動の目的として、韓国、台湾との関係を維持しつつ、タイ、ベトナムとの、疫学情報の交換を含めた共同研究の申し入れを行った。

(6) 医療機関から保健所への食中毒報告促進のための課題に関する研究

東日本大震災の食中毒発生への影響に関する検討として、2007 年 1 月～2011 年 12 月までの 5 年間に、宮城県(仙台市を除く)で発生した食中毒事件を対象として、①発生日 ②患者数 ③患者年齢 ④患者住所 ⑤原因病原体・物質 ⑥発生地域 ⑦原因施設 ⑧発生施設について、宮城県環境生活部 食と暮らしの安全推進課の協力を得て、管轄保健所が作成した調査報告書から情報を収集した。次に、2007 年～2012 年に東京都の高齢者

施設で発生したノロウイルス食中毒事件について、2007年~2012年に東京都の高齢者施設で発生したノロウイルスによる食中毒事件を厚生労働省の作成した食中毒統計資料「過去の食中毒事例の一覧」により抜粋し、各事例の管轄保健所へ食中毒事件調査報告書の閲覧依頼、開示請求を行った。承諾を得られた保健所より郵送された報告書を用いて情報収集を行った。訪問可能であった保健所、また情報について不明点があった保健所を訪問し、詳細な情報を収集した。

(7) 川崎市における新規分類 EPEC の潜在的保菌率から推定される全国的保菌者数とその病原性の検討

1. EPEC 保菌者数の推測

- 1) 供試検体
- 2) 検査方法

EPEC の分離については、培地から釣菌した大腸菌様コロニーを3コロニーと、濃厚発育部分について、PCR 法を用い *eae* 遺伝子のスクリーニングを実施した。

スクリーニングにて *eae* 遺伝子陽性であり、VT、STp、STh、LT、*invE*、*ipaH*、*aggR* の各遺伝子が陰性であった株を EPEC とし、分離された EPEC の株数と供試検体数から求められる分離率をもとに全国的保菌者数を推測した。その後、EPEC の病原性の検討として、*bfp* 遺伝子の有無、分離された EPEC 全株を供試株として、当該株が typical-EPEC (t-EPEC) 又は atypical-EPEC により、EPEC であるかの鑑別を行った。さらに、HEp-2 細胞による付着性試験として、ギムザ染色を行い鏡検により、各供試菌株について

細胞への付着の有無や、細胞付着形態について確認することで病原性の検討を行った。

(8) 地域における原因食品推定法の検討

食鶏由来大腸菌の薬剤耐性遺伝子の検索および地域における検出状況については、平成 24 年 5 月~6 月に食鳥処理場に搬入された鶏を対象として、肝臓を採取し検体とした。サンプルの肝臓表面を火炎滅菌後に割面を入れ、DHL 寒天培地に直接スタンプをして塗抹を行った。培養は 37°C で 24 時間実施し、大腸菌が疑われるコロニーを釣菌して TSI や LIM 寒天培地などで確認し、生化学的性状試験の結果から大腸菌を同定した。大腸菌と同定された菌株について、市販血清を用いて血清型別 (O 群) 試験を実施した。薬剤感受性 (耐性) 菌の検索については、薬剤ディスク 12 剤を用いてスクリーニングを行った。ESBL 産生菌の検出は、薬剤耐性菌検査用ディスクを用いて、β-ラクタマーゼ阻害を確認した。PCR 法による ESBL 産生遺伝子 (TEM 型、SHV 型、CTX-M 型) の検出を行った。

牛肝臓から分離される食中毒原因菌および肝臓内部における分布状況については、平成 25 年 8 月~11 月の期間に食肉処処理場へと畜解体のため普通搬入された牛 11 頭を対象として、牛肝臓および同一個体の胆汁、盲腸便を採取し検体とした。肝臓実質は部位により 18 ブロックに分割し、肝臓実質および盲腸便を培養した。菌株間の相同性を確認するために制限酵素 *Sma* I、*Kpn* I で処理した後、PFGE 法による遺伝子多型解析を実施し

た。カンピロバクター属菌については、EHECと同様に採取した検体について、検索を実施した。

関東地方の5県内にある小売店から、牛ひき肉50検体、鶏ひき肉27検体および豚ひき肉17検体を購入し、それぞれの寒天培地上に発育したアルコバクター属菌を疑うコロニーをブルセラ寒天培地で純培養後、生化学性状試験およびPCR法により属種を決定した。

3. 広域散発食中毒事例の効率的な調査方法の開発・実施

(9) 広域食中毒疫学調査ガイドライン作成

行政関係者や専門家へのインタビューに加え、国内外の資料文献、各種食中毒対応マニュアル、関連法規について情報収集し、定期的な作業部会を開催した。

(倫理面への配慮)

研究(1)～(9)の全てで、個人が特定される情報を用いていないため、倫理面での配慮は行われている。研究(1)(2)については、倫理面の配慮とともに、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査(受付番号369「腸管感染症における食品媒介感染経路の占める比率や原因食品を推定する疫学的手法の開発：腸管出血性大腸菌感染症を対象とした症例対照研究」で承認されている。

C. 結果

1. 食品媒介感染経路の占める比率と原因食品の推定

(1) 腸管出血性大腸菌感染症O157のアウトリビューション算出の検討

症例は平成23年度が44人(女性22人;50%)、平成24年度が65人(女性29人;45%)、平成25年度が118人(女性51人;44%)であった。対照は平成23年度が197人、平成24年が269人、平成25年度が998人であった。

平成23年度は大根(オッズ比[OR]=3.5, 95%信頼区間[95%CI]: 1.0-11.7)、漬物(OR=3.9, 95%CI: 1.4-10.5)が腸管出血性大腸菌O157感染症の発病と有意な関連があった。平成24年度は十分に加熱した牛肉(OR=2.1, 95%CI: 1.1-3.9)、十分に加熱した豚肉(OR=4.0, 95%CI: 1.9-8.1)、十分に加熱した鶏肉(OR=2.4, 95%CI: 1.3-4.6)十分に加熱した牛レバー(OR=4.4, 95%CI: 1.4-14.1)、トマト(OR=2.1, 95%CI: 1.0-4.1)、きゅうり(OR=2.1, 95%CI: 1.0-4.3)、ネギ(OR=1.9, 95%CI: 1.0-3.7)、玉ネギ(OR=2.3, 95%CI: 1.3-4.2)、ニンジン(OR=2.1, 95%CI: 1.1-3.8)、パセリ(OR=3.2, 95%CI: 1.2-4.8)が腸管出血性大腸菌O157感染症の発病と有意な関連があった。平成25年度は生または半生の牛肉(OR=4.8, 95%CI: 2.2-10.3)、生または半生の豚肉(OR=9.6, 95%CI: 1.5-63.1)、生または半生の鶏肉(OR=5.5, 95%CI: 1.2-26.1)、生または半生の牛ユッケ(OR=33.3, 95%CI: 3.6-∞)、十分に加熱した牛肉(OR=1.8, 95%CI: 1.2-2.8)、十分に加熱した豚肉(OR=3.2, 95%CI: 1.9-5.6)、十分に加熱した鶏肉(OR=2.4,

95%CI: 1.5-3.9)、生から半生の牛レバー (OR=18.6, 95%CI: 1.8-195.6)、十分に加熱した牛ホルモン (OR=4.5, 95%CI: 2.3-8.7)、大根喫食 (OR=1.9, 95%CI: 1.2-3.0)、玉ネギ喫食 (OR=1.9, 95%CI: 1.2-2.9)、もやし喫食 (OR=2.1, 95%CI: 1.2-3.7) が腸管出血性大腸菌 O157 感染症の発病と有意な関連があった。

PAR%は平成 23 年度が十分に加熱した牛肉ともやしが 1%であった。平成 24 年度の PAR%は十分に加熱した牛肉が 26%、十分に加熱した牛ホルモンは 9%であった。平成 25 年度の PAR%は十分に加熱した牛ホルモンが 8%、大根が 17%であった。

2010 年(牛肉生食規制前)と 2012 年(牛肉規制後)の AR の比較を行った。2010 年ユッケ規格基準後、および 2012 年生レバー禁止前後で、生か半生の牛肉 OR=13.25, 95%CI:4.41-39.83 (2010 年調査) ⇒ 計算不能(2012 年)、牛生レバー OR=28.20, 95%CI: 3.03-∞(2010 年) ⇒ OR=3.60, 95%CI: 0.00-47.23(2012 年) と大きく変化し、介入策の有効性を示唆する結果を得た。

その他の詳細については分担研究者による総合報告書を参照されたい。

(2) 自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例のリスク推定の試行

平成 24 年度では、調査期間内の調査内容は、環境との接触及び食品の摂取とした。解析については Conditional logistic regression analysis を実施したところ、同居家族に下痢 (aOR = 8.43, 95% CI:1.14-62.40, p=0.0369)、同居家族に

血便 (aOR=40.33, 95%CI:2.99-∞, p=0.0071)、生の野菜の喫食のうちピーマン (aOR=5.01, 95%CI:1.12-22.47, p=0.0351)、大根 (aOR = 8.13, 95% CI:1.36-48.45, p=0.0215)、ニンジン (aOR=10.50, 95%CI:1.77-62.37, p=0.0097) 及びパセリ (aOR=7.68, 95% CI:1.46-40.49, p=0.0162) と発症が有意に関連していた。平成 25 年度では、発症前 4 週間における同居家族の健康・仕事の有無と発症では、食品を取り扱う仕事 (aOR = 3.63, 95% CI (95% 信頼区間) :1.08-12.28, p=0.0379) において、有意な関連があった。発症前 1 週間の動物との接触、プール等の利用、砂場、飲料水、旅行、他の子どもとの接触と発症には有意な関連はみられなかった。発症前 1 週間の赤身肉等の喫食と発症では、肉類の喫食 (aOR=13.95, 95%CI:2.11-∞, p=0.0028) において、有意な関連があった。また、十分に加熱された肉の喫食のうち、牛肉 (aOR = 4.70, 95% CI:1.40-15.73, p=0.0120)、豚肉 (aOR = 5.45, 95%CI:1.16-25.55, p=0.0315)、鶏肉 (aOR=5.07, 95%CI:1.07-24.09, p=0.0411) においても有意な関連があった。発症前 1 週間の内臓肉の喫食と発症には有意な関連はみられなかった。発症前 1 週間の生の野菜の喫食と発症では、もやし (aOR=3.28, 95%CI:1.10-9.75, p=0.0326) において有意な関連があった。

2. 国内食品媒介感染症被害実態の推定

(3) 宮城県および全国における積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

アクティブサーベイランスのデータを用い、宮城県で以前に行った夏期および冬期の 2 回の電話住民調査から得られた検便実施率および医療機関受診率等の因子を推定モデルに導入することで、*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の 3 菌について、モンテカルロシミュレーション法により宮城県における当該菌による食品由来急性下痢症患者数を推定した。またこれより、全国での当該菌による食品由来急性下痢症患者の発生率が宮城県での発生率と同じであると仮定した時の全国の当該菌による食品由来急性下痢症患者の数を推定した。以上とは別に全国をカバーする民間検査会社 3 社より 2006～2012 年の 7 年分の日本全国についての菌検出データを収集した。これらのデータ、および以前に行った日本全国に対する電話住民調査で得られた検便実施率および医療機関受診率等を用いて日本全国における食品由来急性下痢症患者数の推定を行い、上述の宮城県データからの全国推定の結果と比較した。両推定結果とも既存のパッシブサーベイランスシステムによる食中毒報告数より 50～2,200 倍多い患者の存在を示唆していた。また複数年度にわたるアクティブサーベイランスにより、推定患者数の年度ごとの変化は食中毒患者報告数の変化と必ずしも連動していないことが確認された。

(4) ウイルス性食中毒調査の精度向上のための塩基配列データと疫学情報の共有化

1. 2011 年 5 月以降の岩カキ関連食中毒

の継続発生を受け、メーリングリストをとおり情報提供を依頼したところ、食中毒事例として厚生労働省に報告されている事例以外に、各地で岩カキ関連事例が発生していることが明らかになった。塩基配列データとともに疫学情報を全国的に共有できる環境が、食中毒調査の精度向上のみならず、食品媒介事例の被害実態の把握等にも寄与できた。

2. 2012/13 シーズンのノロウイルスの流行において、流行のピーク前に GII/4 の 2012 変異株の全国的流行拡大の可能性を情報提供した。その結果、マスコミ等をとおり、流行への注意喚起が行えた。また、食品衛生監視員の食中毒調査時の判断材料として有用な科学的根拠を提供することができた。
3. 収集した塩基配列情報および食中毒速報データを利用して、原因食品不明とされた事例におけるカキの関与を分析した。その結果、メニューにカキが含まれている場合、カキが原因であった可能性が高いことを、ウイルス疫学的に示した。
4. 2012/13 シーズンに発生したノロウイルス食中毒事件における GII/4 2012 変異株の寄与率をアンケート調査により調査した結果、同シーズンのノロウイルス食中毒事件の約 80% は GII/4 2012 変異株が関与しているものと推定された。
5. 研究班でのメーリングリスト等での日常的な情報交換の積み重ねは、より密接な情報交換ができる環境の構

築に寄与した。その結果、迅速かつ精度高い検査の実施をサポートし、実際の 2013/14 シーズンに発生した食中毒事件における原因究明に役立った。

6. 広域食中毒事例対応等の行政対応において各自治体間で情報共有を速やかに行うためには、情報の取り扱い等について国および自治体間で具体的な取決め等が必要と思われた。

(5) 食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究

1. 我が国における食材に起因するウイルス性感染症に関するデータ蓄積

2014年1月初旬より急激な上昇を認め2010年並の状況を呈することが予測されたノロウイルス流行について、今年度の主要流行株は、昨年度に引き続き GII.4 2012 変異株であり、CaliciWeb 上に登録された塩基配列の約 80%を占めていた。年明けになぜ大規模食中毒が多発したのかは、明らかにされていない。

HAV 患者数は、2010年に約 350人に及ぶ流行のピークが認められた。2010年以降、日本では流行がほとんど認められなかった IIIA（韓国で 2009年に大流行を起こした遺伝子型）であった。発生した都道府県は全国に分散しており、平年と同様であった。

HEV については、2011年から明らかな上昇傾向を示し、2013年には、126名に達した。背景は明らかでは無い。

2. アジア近隣地域（韓国、台湾、中国）における食材に起因するウイルス感染症流行状況

ノロウイルスについては、韓国・日本との共同研究体制を構築中である。韓国国内では、2013/14シーズンに、GII.4 2012年変異株が大流行したことが明らかになった。台湾・日本：下痢症ウイルス感染症データベースを作成中であり、共同研究が進行している。この研究は、検出手法の新規開発などを中心としており、分子疫学データベースには関与しない。台湾は、韓国と同様、2013/14シーズンに、GII.4 2012年変異株が大流行したことが明らかになった。タイ王国・日本については、ノロウイルス流行事例の塩基配列解析が進行中である。ベトナム共和国・日本については、ベトナム国内のノロウイルス感染事例の塩基配列解析を進行させ、データ共有を行うこととなった。HAV、HEVのアジア諸国とのデータ共有の進行状況については、分担報告書を参照されたい。

(6) 医療機関から保健所への食中毒報告促進のための課題に関する研究

平成 23 年度及び平成 24 年度は、東日本大震災の食中毒発生への影響について評価することを目的に、宮城県と岩手県を対象として、2011年に両県で発生した食中毒事件を過去 4 年間(2007~2010年)のものと比較し、その発生に関わる疫学的要因の変化を検討した。調査研究の結果、宮城県では事件数や患者数、事件当たりの患者数に震災前後で変化は認めなかった一方で、岩手県では 2011年は事件数や患者総数、事件当たりの患者数が過去 4 年間よりも多い傾向にあったが、事件の発生状況からは震災との明らかな関

連は認めなかった。月別の発生状況については、両県とも震災後早期の3月と4月には食中毒事件の発生報告は無かったものの、宮城県では6月、岩手県では6月、9月、12月に事件数や患者数の増加がみられた。両県とも、患者年齢分布や主要な原因病原体に変化は認めなかった。地域別発生状況として、特に沿岸部において震災後の発生件数が前年を超えていたのは、岩手県久慈地区(1件)と宮城県の塩釜地区(5件)であり、他地域での増加は認めなかった。東日本大震災の影響といえる食中毒事件の明らかな増加は無かったが、ノロウイルス食中毒には増加がみられ、下水道施設への被害等が関連する可能性が推察された。

平成25年度は、高齢者におけるノロウイルス食中毒の臨床的特徴を明らかにするため、高齢者施設で発生した集団食中毒事例について疫学的研究を行った。ノロウイルス食中毒では、患者が高齢になるほど嘔吐の割合は有意に高くなり、一方で、高齢になるほど下痢や発熱が有意に減少した。特に高齢者では、下痢、発熱の症状がなく嘔吐が唯一の症状であった患者が多かった。

(7) 川崎市における新規分類 EPEC の潜在的保菌率から推定される全国的保菌者数とその病原性の検討

搬入された検便検体のうち、722 検体で大腸菌様コロニーを分離し、22 検体(22 株)が EPEC と同定され、その分離率は 3.05%であった。厚生労働省の人口動態調査(平成 25 年 1 月)の報告により日本の人口を 125,961,000 とすると分離率より、

3,841,811 名が本菌を保有している可能性が示唆される結果となった。また、本研究において分離された EPEC は、全ての株で *bfp* 遺伝子が陰性となり、atypical-EPEC(a-EPEC)であった。細胞付着性試験においては、1 株で局在性付着(LA)、1 株で拡散性付着(DA)が認められた。

(8) 地域における原因食品推定法の検討

県および近県から食鳥処理場へ搬入された鶏では、大腸菌症等を呈する鶏肝臓の炎症部位から大腸菌が合計 159 株分離された。分離株の血清型別は、O25 が 41 株(25.8%)と全体の約四分の一を占め、次いで O78 が 31 株(19.5%)などであった。薬剤感受性(耐性)試験では、10 剤耐性が 10 株(6.3%)、9 剤耐性が 19 株(11.9%)、8 剤耐性が 5 株(3.1%)、7 剤耐性が 22 株(13.8%)などで、農場や地域間差は少ないが、その大部分は多剤耐性株であった。基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ(ESBL)産生は、159 株中 32 株(20.1%)にみられ、また、同遺伝子(CTX-M 型)の保有も確認された。ESBL 産生株は、地域別および同じ県内の農場別においても分離差が認められた。

食肉処理場で解体処理されたと体(牛 11 頭)から採材した肝臓等の計 220 検体では、O-157(ベロ毒素遺伝子) Screening PCR において、盲腸便 2 検体からの分離株が陽性を示した。1 検体は病原大腸菌(血清型) O6 であったが、O-157&ベロ毒素遺伝子同時検出キットでベロ毒素(VT) 遺伝子の保有はなかった。他 1 検体は、血清型別不能で、同検出キットで