

### 3. 諸外国におけるリステリア症集団事例に関する情報収集

平成 24 年 4 月から平成 27 年 2 月までの期間での海外におけるリステリア症の集団事例について、国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部が発表している食品安全情報等を基に情報を収集した。

## C. 研究結果

### 1. PFGE による分子型別

食品及び患者等に由来する *L. monocytogenes* 合計 130 菌株について PFGE 解析を行った。*AsclI* を用いた場合の系統樹は、*ApalI* を用いた場合と全体的には同じような結果が得られたが、*AsclI* を用いた場合の方が菌株の相同性が高くなる傾向にあることが示された。同じ食品由来の 2 株の解析結果の比較においても、*ApalI* を用いた場合の方が *AsclI* を用いた場合よりも高い相同性が検出される傾向が示された(平成 26 年度報告書 表 2)。二種類の制限酵素のどちらを用いた場合でも、食品由来株は血清型によりクラスターが大別されることが示された(平成 24 年度報告書 図 1、平成 25 年度報告書 図 1、平成 26 年度報告書 図 1 及び 2)。しかしながら、患者由来株においては、必ずしも食品由来株による血清型ごとのクラスターと一致しないことが示された(平成 26 年度報告書 図 1 及び 2)。また、わずかではあるが食品由来株においても血清型ごとのクラスターの中に別の血清型の菌株が分類されるものがあった。今回の解析では、明太子由来株、鶏肉由来株、食肉製品由来株において患者由来株と高い相同性を示した株が見られ

た。これらのうち、食品由来株と患者由来株で 2 種類の PFGE パターンと血清型の全てが完全に一致しているものはなかった。また、フランス産チーズ、マグロすきみ及びいくら由来の 3 菌株が他の菌株と大きく離れたパターンを示しており、極めて独自性の高いクローンであることが明らかとなった。

### 2. 諸外国におけるリステリア症集団事例に関する情報収集

2009～2015 年に諸外国で発生した主なリステリア症集団事例は 22 例であった。原因食品は乳製品が 11 例、食肉製品が 4 例、野菜が 2 例、果物類が 2 例、その他の食品が 3 例、不明が 2 例であった(表 1)。発生国は米国、カナダ、デンマーク、オーストリア、ドイツ、チェコ、スイス、イギリス、フィンランド、オーストラリアであった。

## D. 考察

本研究において、国内患者由来株 13 株、食品由来株 115 株、環境由来株 1 株及び標準菌株の計 130 菌株について PFGE による解析を実施した結果、制限酵素 *ApalI* を用いた解析は分解能が高く、*AsclI* を用いた解析は菌株間の類似性の検出に優れていることが明らかとなった。これは、リステリアゲノム中の *ApalI* 切断部位が *AsclI* 切断部位よりも多く存在することに起因していると思われる。どちらの制限酵素を用いた解析でも、食品由来株は血清型と高い相関をもって分類されることが示された。一方、患者由来株は異なる傾向を示したため、これらの菌株につい

て PCR 法などを加えた血清型の詳細な再検討が必要であるとともに、患者由来株について更にデータを蓄積する必要があると思われた。また、牛肉、豚肉及び鶏肉において、同一検体から分離された同一血清型の複数の菌株において、PFGE パターンが異なる例が複数見られ、一つの食品が複数のクローンに汚染されている例がしばしば存在することが示された。このことから、食中毒発生時の原因食品究明時には、疑い食品から分離された本菌の複数のクローンについて血清型別及び分子疫学解析をする必要があることが示唆された。以上の結果から、米国 CDC の手法を基にした PFGE 解析法により、国内の様々な由来のリステリア菌株の分子疫学的データを蓄積し、解析していくことで、散発例を含むリステリア症事例の原因食品を推定し、検疫強化や消費者への情報提供を通じて、食品媒介リステリア症の発生を低減しうる可能性が示唆された。そのためには、より多くの食品由来株や患者由来株について、多面的な分子疫学的解析を行い、国内の多くの試験所からの情報を統合、データベース化するとともに、国際的な情報の共有が必要であると思われた。そのためには、海外で標準的に実施されている解析方法を国内でも用いる必要があり、解析手法の改定について常時情報を収集する必要があると思われた。また、国際的にリステリア症の集団事例の原因物質は従来多かった動物性食品から、野菜、果物等多様な食品に広がってきており、国内への侵入経路として様々な食品を考慮に入れる必要性が高まっていると思われた。

## E. 結論

本研究の結果、リステリアの PFGE 解析において、制限酵素 *ApaI* を用いた解析は分解能が高く、*AscI* を用いた解析は菌株間の類似性の検出に優れていることが示された。作成した系統樹から、食品由来株は血清型によりクラスターが形成される傾向が見られたが、患者由来株は必ずしも同様の結果を示さなかったため、さらなるデータの蓄積が必要と思われた。これらのデータの継続的蓄積と有効活用により、米国等で行われているのと同様に、現在原因食品が特定されていない国内のリステリア症事例の原因食品を推定することが可能になると思われる。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

原著論文

1. Yumiko Okada, Shuko Monden, Hodaka Suzuki, Akiko Nakama, Miki Ida, Shizunobu Igimi  
Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated from the imported and the domestic foods in Japan. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, (2015) Vol. 3, p70-73.
2. Sayaka Asahata, Yuji Hirai, Yusuke Ainoda, Takahiro Fujita, Yumiko Okada, Ken Kikuchi, Fournier's gangrene caused by *Listeria monocytogenes* as the primary organism. *Canadian Journal of*

Infectious Diseases & Medical  
Microbiology, (2014) In press.

ISOLATED FROM IMPORTED  
AND DOMESTIC FOODS IN  
JAPAN FAVA2013 (2013.1)

学会発表

1. Okada Y, Monden S, Suzuki H,  
Nakama A, Ida M, Yamamoto S,  
Igimi S. ANTIMICROBIAL  
SUSCEPTIBILITIES OF  
*LISTERIA MONOCYTOGENES*

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

表 1. 2009 年から 2015 年 2 月までに海外で発生した主なリステリア症集団事例

国名	発生時期	原因食品	患者数	死者数	流産
USA	2009	米国産チーズ	18	不明	
USA	2009	米国産チーズ	8	不明	
オーストリア・ドイツ・チェコ	2009～2010	サワーミルクチーズ (quargel)	34	8	
デンマーク	2009	宅配の牛肉料理	8	2	
USA	2010	豚のヘッドチーズ	8	2	
USA	2010	セロリ	10	5	
USA	2010	未定 (病院食)	4	不明	
USA	2010	米国産チーズ	6	不明	
スイス	2011	イタリア産加熱ハム	6 (+3 疑い例)	不明	
イギリス	2011	病院食のサンドイッチとサラダ	3	不明	
USA	2011	カンタロープメロン	147	33	
USA	2011	ブルーチーズ	15	不明	
フィンランド	2012	調査中	12	0	
USA	2012	イタリア産チーズ	22	2	1
オーストラリア	2013	チーズ	18	2	1
USA	2013	米国産チーズ	6	1	1
USA	2014	米国産チーズ	8	1	
デンマーク	2013～2014	デリミート	41	17	
USA	2014	もやし	5	2	
USA	2013～2014	チーズ	3	1	
USA・カナダ	2014	キャラメルアップル	34	6	
USA	2015	チーズ及びサワークリーム	3	1	

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」  
平成 24～26 年度総合分担研究報告書

微生物・ウイルス関連の食品安全情報の収集解析

研究分担者 豊福 肇 山口大学共同獣医学部

研究要旨

食品の国際貿易の拡大に伴い、微生物に汚染された食品は国境を越えて移動し、それに伴い、アウトブレイクも世界各国に瞬く間に拡散し、世界中で健康被害が生じる。本研究では、WHO の INFOSAN Emergency を通じ、国際的に警報が発生された事例、欧州の RASFF による警告が発生されている事例等を解析し、我が国の国内侵入のおそれがある生物学的ハザードによるリスクを如何にして早く発見し、リスクを低減させるかについて検討した。

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。

さらに、既存の定量的確率論的モデルを用いて、*Salmonella* 属菌及び *Listeria monocytogenes* に関する輸入食品によるリスクを推定した。

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。

情報収集を通じて海外における流行菌型の調査を行い、これを国内の状況と照らし

合わせて、新たな検査体制、サーベイランス体制の検討に用いることで、突発的な中毒事例に対応可能できるか、検討し、若干の知見が得られたので報告する。

また、既存のリスク評価ツールを用いて、食品とハザードの組合せについて、リスク推定ができるか検討した。

B. 研究方法

2012 年から 2015 年 2 月に INFOSAN Emergency から緊急情報が提供された事例（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。

さらに web 上で使用できる確率論的リスク評価ツールである *irisk* を用いて輸入食品中のハザードによるリスクを推定した。

## C. 研究結果

### 1. INFOSAN Emergency によるアラート情報

INFOSAN は食品安全担当機関の国際的なネットワークであり：

- ・ 世界規模で重要な食品安全情報を広める
- ・ 汚染食品の国際的な拡散を防ぐことをゴールとした協力の改善を目的としている。

毎月、INFOSAN のグローバル サーベイルランスには、平均 157 件の国際的に重要と考えられる食品安全上の懸念疑い事例の通報がある。そのうち、平均 10.5 事例は INFOSAN によるフォローアップ活動が必要となる。INFOSAN Emergency ネットワークは重篤で、かつ国際貿易が関与する食品汚染イベントにおいてのみ活性化されるので、月平均 1.25 件の INFOSAN Emergency アラートが発せられる。

2012年から2015年2月に病原微生物によるアラート情報が提供された事例はサルモネラ5件、ノロウイルス1件、A型肝炎(HAV)ウイルス1件、*Listeria monocytogenes* (以下LMという)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やモニタリング計画はないため、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。

### INFOSAN 活動報告書のレビュー

2011、12 及び 13 年の INFOSAN 活動報告書をレビューした。

表 2 地域別イベント数

	INFOSAN Emergency イベント		
	2011年 : 46	2012年 : 42	2013年 : 44
地域別			
Africa (AFRO)	2	2	0
Americas (AMRO)	22	19	17
Eastern Mediterranean (EMRO)	6	3	6
Europe (EURO)	21	27	30
South-East Asia (SEARO)	3	6	5
Western Pacific (WPRO)	17	19	16

地域調整事務所別では、アフリカ、ヨーロッパ及び西太平洋の事務所でのアラート発生が多かった。(表2)

緊急アラート情報が多い食品は2013年も、過去2年と同様、魚及びその他の海産

食品、野菜果実及びその製品、食肉及びその製品、乳及び乳製品などであった。(表 3)

通報原因となったハザードとしては過去

3 年間 *Salmonella* 属菌が最も多く、次いで *LM*、*HAV* であり、過去 2 年間多かった *Clostridium botulinum* 及び *Escherichia coli* は 3 件であった。(表 4)

表 3 食品カテゴリー別イベント数

食品カテゴリー	2011 年 : 46 件	2012 年 : 42 件	2013 年 : 44 件
アルコール飲料	2	1	1
動物用飼料	1	1	0
シリアル及びシリアルベースの食品	0	2	2
複合食品	4	0	0
動物由来の脂肪及びオイル	1	0	0
魚及びその他の海産食品	3	4	5
乳児用及び小児用食品	1	2	0
果実及びその製品	7	5	3
ハーブ,スパイス 及び 香辛料	3	3	2
豆類	1	0	0
食肉及びその製品	5	5	5
乳及び乳製品	3	6	7
ハーブ,スパイス 及び 香辛料	3	3	2
豆類	1	0	0
食肉及びその製品	5	5	5
乳及び乳製品	3	6	7
ナッツ及びオイルシード	5	2	2
特殊栄養用途食品	3	3	3
スナック, デザート及びその他の食品	0	1	1
砂糖及び菓子	1	2	1
不明	2	2	3
野菜およびその製品	4	3	6

表 4 食品ハザード別イベント数

ハザード	2011 年 : 46 件	2012 年 : 42 件	2013 年 : 44 件
African Swine Fever Virus	1	0	0
<i>Influenza A virus (H7N9)</i>	0	0	1
<i>Bacillus cereus</i>	0	1	0

<i>Brucella</i> spp.	2	1	0
<i>Clostridium botulinum</i>	7	4	3
<i>Clostridium sporoneges</i>	0	0	1
<i>Cronobacter sakazakii</i>	1	1	0
<i>Cryptosporidium</i> spp.	0	1	0
<i>Datura stramonium</i>	0	0	1
<i>Escherichia coli</i>	6	4	3
A 型肝炎 Virus	1	0	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	2	5
Norovirus	0	1	1
<i>Salmonella</i> spp.	10	13	7
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	1	1
Schmallenberg virus	1	0	0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	0	0
複数の Hazards	0	1	0

## 2. 欧州の RASFF の解析

2012、13 年の食中毒関連の通報事例を表 5 に示した。

ハザード別では Norovirus が 18 と最も多く、次いで *Salmonella*、Histamine が各 10、HAV7、STEC O157:H7 とボツリヌスが各 2 件であった。

表 5 RASFF で微生物による食中毒でアラートが発せされた事例(2012 及び 13 年)

年	ハザード	食品	患者	原産国
13	不明	卵	13	スペイン
13	不明	卵	13	スペイン
12	<i>Clostridium botulinum</i>	オリーブ	1	イタリア
13	不明	卵	13	スペイン
12	<i>Clostridium botulinum</i>	オリーブ	1	イタリア
13	<i>Clostridium botulinum</i>	アーモンドピュレ	1	仏
13	<i>Clostridium perfringens</i>	豚骨付き肉	2	イタリア
13	HAV	イガイ	?	スロベニア
13	HAV	チルドカキ	1	仏及び蘭
13	HAV	冷凍ベリー	4	イタリア、原材料はブルガリア、カナダ、ポーランド、セルビア



年	ハザード	食品	患者	原産国
13	HAV	冷凍いちご	90	モロッコ、エジプト (ベルギーで包装)
13	HAV	?	16	アイルランド
13	HAV	冷凍ベリーミックス	2	イタリア (原材料はチリ、ポーランド、セルビア、スウェーデン)
13	HAV	冷凍ミックスベリー	1	ブルガリア、ポーランド
13	<i>LM</i>	未殺菌羊乳チーズ	3	仏
12	Norovirus	カキ	4	アイルランド (蘭) 経由
12	Norovirus	冷凍いちご	11200	中国
12	Norovirus	カキ	15	仏
13	Norovirus	活はまぐり	5	ポルトガル
13	Norovirus	チルド活カキ	9	フランス
13	Norovirus	チルドカキ	9	仏
13	Norovirus	カキ	1	仏
13	Norovirus	はまぐり	12	ポルトガル
13	Norovirus	冷凍ラズベリー	29	ポーランド
13	Norovirus	カキ	8	スペイン
13	Norovirus (G II)	カキ	9	仏
12	Norovirus (G I& II)	カキ	18	アイルランド (仏) 経由
12	Norovirus (G I& II)	カキ	20	アイルランド (仏) 経由
13	Norovirus (GI)	冷凍ラズベリー	13	ポーランド (原材料はセルビア)
13	Norovirus (G I&G II)	チルドカキ	5	仏
13	Norovirus (G I&G II)	チルドカキ	10	蘭
13	Norovirus (G I&G II)	カキ	37	スペイン (蘭経由)
13	Norovirus (G I&II)	チルド活カキ	3	フランス
12	<i>Salmonella</i>	食肉製品	3	ルーマニア
12	<i>Salmonella Bredeney</i>	ピーナッツバター	41	米国
12	<i>Salmonella</i> Dublin	未殺菌乳を使ったチーズ	多数	仏
13	<i>Salmonella</i> Enteritidis	卵	49	スペイン
12	<i>Salmonella</i> Group D	液卵	1	仏、UK経由

年	ハザード	食品	患者	原産国
12	<i>Salmonella</i> Newport	スイカ	2	ブラジル
13	<i>Salmonella</i> Rissen	乾燥有機クロレラ	1	中国（英国経由）
13	<i>Salmonella</i> spp.	冷凍塩漬鶏肉	1	タイ（蘭経由）
13	<i>Salmonella</i> typhimurium	加熱ハム	49	英国（原材料はDK）
12	<i>Salmonella</i> Oranienburg	乾燥調製粉乳	16	ベルギー
12	STEC O157:H7	スパイシーミンチ肉	1	ベルギー
13	STEC O157:H7	冷凍ハンバーガー	2	蘭、ポーランド
13	ヒスタミン	マグロロイン	3	スペイン
13	ヒスタミン	マグロロイン	4	スペイン
13	ヒスタミン	冷凍マグロ	4	ベトナム
13	ヒスタミン	チルドマグロロイン	11	スペイン
13	ヒスタミン	生鮮マグロ	4	スペイン
13	ヒスタミン	チルドマグロステーキ	2	スペイン
13	ヒスタミン	ツナ缶（オリーブ油入り）	1	原材料コートジボアール、仏製
13	ヒスタミン	オリーブ油アンチョビ	5	スペイン
13	ヒスタミン	チルドイワシ	2	イタリア
13	ヒスタミン	アンチョビフィレ	2	モロッコ

引用文献：The Rapid Alert System for Food and Feed(RASFF), 2012&2013. Annual Report

### 3. Risk Ranger

結果については表6のとおりであった。

#### [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。これは間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。

#### 4. i-risk を用いたリスク評価

米国 FDA 等が開発した iRISK は web-based のシステムで、食品中のハザードのデータから集団レベルの健康 Burden を推定することができる。必要とされるデータは食品の喫食量、汚染率、初期汚染濃度、加工・調理法、ハザード、用量反応曲線のパラメータ、ヒトがハザードを摂取した結果もたらされると予測される健康被害等である。これらの要素の各々が、最終的なリスクの推定のベースになる。

ソフト熟成チーズ中の LM についてリスク評価を行った。日本国民が全員年 1 回、輸入のソフト熟成チーズを喫食すると仮定したところ、年間の患者数は 1.36 人、DALY は 4.89、一回の喫食機会当たりの感染リスクは  $3.83 \times 10^{-8}$  と推定された。

初期汚染濃度は食品安全委員会リスティアモノサイトゲネスのリスク評価書より、

輸入ナチュラルチーズの LM 分離率 2.2% を、初期汚染濃度は同評価書で、MPN として 10 未満であったことから、最小 0、最大  $1 \log_{10} \text{CFU/g}$  の均一分布を適用した。（その結果、初期平均濃度は  $0.592 \log_{10} \text{cfu/g}$  となった。）包装単位は製造時、市販時とも 200 g とした。消費者の保存中の LM の増殖は同評価書から、最小 0、モード 2.4、最大  $4 \log_{10} \text{cfu/g}$  の増殖という三角分布を適用し、その結果、最終濃度の平均は  $3.34 \log_{10} \text{cfu/g}$ （汚染率は 2.2%のまま）となった。

日本人を 65 歳以上、周産期、それ以外の 3 つの集団に分類し、それぞれ、平成 23 年の人口のデータを用い、また exponential dose response の  $r$  の値をそれぞれ、 $8.39\text{E-}12$ 、 $4.5\text{E-}11$ 、 $5.34\text{E-}14$  とした。平均の発症確率はそれぞれの集団で、順に  $4.08\text{E-}8$ 、 $1.09\text{E-}7$ 、 $3.08\text{E-}10$ 、年間の患者数は 1.22、0.113、0.03 人、年間の DALY は 3.16、1.58、0.15 であった。

次に同モデルを用いてスモークサーモン中の LM について評価を行った。日本国民が全員年 1 回、輸入のスモークサーモンを喫食すると仮定したところ、年間の患者数は 819 人、DALY は 3630、一回の喫食機会当たりの感染リスクは 0.0000284 と推定された。

初期汚染濃度は食品安全委員会リスティアモノサイトゲネスのリスク評価書よりスモークサーモンの LM 分離率 4.3% を、初期汚染濃度は同評価書で、MPN として 100 未満と 10 未満が 2 検体ずつであったことから、最小 0、最大  $2 \log_{10} \text{CFU/g}$  の均一分布を適用した。（その結果、初期平均濃度は  $1.33 \log_{10} \text{cfu/g}$  となった。）包装単位は製造時、市販時とも 500 g とした。消費者

の保存中の LM の増殖は同評価書から、最小 2、モード 4、最大 6 log 10cfu/g の増殖という三角分布を適用し、その結果、最終濃度の平均は 6.02 log 10 cfu/g（汚染率は 4.3%のまま）となった。

チーズと同じ 65 歳以上、周産期、それ以外の 3 つの集団に分類し、同じ exponential dose response の  $r$  の値を用いた。平均の発症確率はそれぞれの集団で、順に 0.0000227、0.000125、1.50E-7、年間の患者数は 676、128、14.6 人、年間の DALY は 1760、1600、72.9 であった。

この推定は我が国の LM 患者数 200 人という推定値と比べると過剰と考えられることから消費者の保存中の増殖を最小 1、モード 2、最大 3 log 10cfu/g の増殖という三角分布を適用してみたところ、年間の患者数は 2.66 人、DALY は 11.7、一回の喫食機会当たりの感染リスクは 9.13E-8 と著しく減少した。65 歳以上、周産期、それ以外の 3 つの集団ごとの値も減少し、平均の発症確率はそれぞれの集団で、順に 7.41E-8、3.95E-7、4.71E-10、年間の患者数は 676、128、14.6 人だったのがそれぞれ 2.21、0.41、0.0456、年間の DALY は 1760、1600、72.9 から 5.74、5.70、0.228 に激減した。現在の日本の患者数から推察すると、この増殖率を用いた後者の推計のほうが近いと考えられた。

次に同モデルを用いて生ハム中の LM について評価を行った。日本国民が全員年 1 回、輸入の生ハムを喫食すると仮定したところ、年間の患者数は 0.097 人、DALY は 0.939、一回の喫食機会当たりの感染リスクは 9.30E-9 と推定された。

初期汚染濃度は食品安全委員会リスティアモノサイトゲネスのリスク評価書より生ハムの LM 分離率 4.1%を、初期汚染濃度は 3 検体中 2 検体が 10 未満、1 検体が 40 であったことから、最小 0、モード 1、最大 1.5 log 10 CFU/g のトライアングル分布を適用した。（その結果、初期平均濃度は 0.935 log10 cfu/g となった。）包装単位は製造時、市販時とも 100 g とした。消費者の保存中の LM の増殖は文献情報によると、生ハムでも水分活性、添加物の組成等により増殖する報告としないとの報告があったことから最小 0、最大 2 log 10cfu/g の増殖という均一分布を適用し、その結果、最終濃度の平均は 2.26 log 10 cfu/g（汚染率は 4.1%のまま）となった。

チーズと同じ 65 歳以上、周産期、それ以外の 3 つの集団に分類し、同じ exponential dose response の  $r$  の値を用いた。平均の発症確率はそれぞれの集団で、順に 1.06E-8、5.70E-8、6.79E-11、年間の患者数は 0.0316、0.0588、0.000658 人、年間の DALY は 0.0822、0.823、0.0329 であった。

一方、同モデルを用いて鶏肉中の *Salmonella* 属菌について評価を行った。日本国民が全員一日 1 回、輸入の鶏肉を喫食すると仮定したところ、年間の患者数は 2.0E+5 人、DALY は 0.0192、一回の喫食機会当たりの感染リスクは 1.50E-10 と推定された。

初期汚染濃度は食品安全委員会のリスクプロファイルより分離率 15.1%を、初期汚染濃度は最小 1、最大 4 log 10 CFU/g の均一分布を適用した。（その結果、初期平均濃度は 3.16 log10 cfu/g となった。）包装単位は製造時、市販時とも 2.5 Kg とした。チ

ラーでの減少（均一分布で最小 1、最大 2 log<sub>10</sub> cfu/g）、喫食前の加熱の効果は JEMRA の評価書に基づき Triangular 分布（最小 1、モード 5、最大 7 log<sub>10</sub>cfu/g）の減少とし、その結果、最終濃度の平均は -1.000 log<sub>10</sub> cfu/g（汚染率は 0.0844%）となった。

Reference: Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition (FDA/CFSAN), Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition (JIFSAN) and Risk Sciences International (RSI). 2012. FDA-iRISK version 1.0. FDA CFSAN. College Park, Maryland. Available at <http://irisk.foodrisk.org/>.

#### D. 考察

食品の国際貿易の拡大により、微生物ハザードも国境を越え、世界中に移動する。それに伴い、患者発生も世界中に拡散しうる。

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。

RASFF では HAV について、従前多かった二枚貝に加え、汚染された野菜果実の通報が増えており、HAV は潜伏期間が長く原因食品を追及するのが難しいことに加え、輸入ベリー類はケーキ等の原材料として幅

広い食品に使用されることも多く、追跡調査を行うことは難しい。

ノロウイルスについては従来二枚貝を原因食品とするものが多かったが、2013 年には果実等による事例が増えた。果実のノロウイルスに対策については、ベリー類のノロウイルス汚染を対象に微生物学的基準を設定することは、HACCP ベースの食品安全管理システムの妥当性確認および検証に役立ち、食品事業者やその他の関係者に対し、何が許容可能または不可能かを伝えることに利用できるが、現時点では、ベリー類のノロウイルス汚染について工程衛生基準 (Process Hygiene Criteria) や食品安全基準 (Food Safety Criteria) を設定することは、必要なリスクベースのデータの蓄積が不十分なため、難しい。冷凍ラズベリーやイチゴのノロウイルス汚染に対する管理対策の改善を支援するため、適切なデータの収集とそれに続くリスクベースでの微生物学的基準の作成が優先事項として検討されるべきである。

微生物による食品由来健康被害を防ぎ、または侵入後に速やかに汚染食品を排除するためには、患者や原因食品からの病原体の検出だけではなく、PFGE 等の病原体の遺伝子学的な検索とそのデータベース化、さらにそれらの情報の迅速な共有、及びそれらの情報を検査担当機関がいつでも見えるようになっていることが重要である。

また、デンマーク技術大学や UCLA 等が中心に活動が盛んになっている次世代シーケンスプロジェクト (ゲノムそのものを読んでタイピングを行う手法) もホールゲノムを読む価格が低下してきたことにより拡大しつつあるので、そういったネットワ

ークとの連携も重要であると考えられる。昨年度本研究報告で報告したインド産の魚介類によるアメリカ等で発生したサルモネラ属菌によるアウトブレイクにおいては PFGE では区別できなかったが、ホールゲノムのシーケンスにより、原因株とインド由来のサルモネラの間に関連性が認められ、PFGE での分類の限界をホールゲノムシーケンスは補える可能性が示唆された。

## E. 結論

輸入時の検査だけで侵入を食い止めるのは難しく、患者発生を未然に防ぐまたは患者の発生を最小限に抑えるためには、INFOSAN や IHR からの早期情報の入手、必要な組織への入手した情報の迅速な伝達、サルモネラや HAV ウイルス、さらには *C.botulinum* の遺伝子レベルでの解析能力の向上、汚染食品を特定し、速やかに回収する能力を平常時から維持管理することが重要であると考えられた。

輸入時、微生物モニタリングを行う場合には、喫食前に微生物を死滅させる工程がない食品をターゲットにし、サルモネラ、STEC、Norovirus、*L. monocytogenes* などの病原微生物を対象に、また諸外国の汚染率等から少なくとも 1 検体からは病原菌が検出できる検体数のモニタリング検査を実施することが望ましい。また、欧州の RASFF 等との情報交換を緊密にすることで、汚染食品の傾向を事前に予測することが可能になると考えられた。

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。

また、i-risk を用いることにより、絶対的な患者発生リスクと DALYs を推定することができた。このモデルを使って、国内に侵入する恐れのある食品と微生物の組み合わせについて、データがあるものについては、リスクランキングを行い、水際対策や平常時のモニタリングの優先順位決定に役立てることができると考えられた。

## F. 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) 登田美桜, 畝山智香子, 豊福肇, 森川馨: わが国における自然毒による食中毒事例の傾向 (平成元年~22 年) 食品衛生学雑誌. 2012. 53(2) p. 105-20.
- 3) 高橋 正弘, 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
- 4) I. Shimada, H. Toyofuku, K. Hisa, S. Numata, M. 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
- 5) 豊福肇、小林光士、下出俊樹、牛丸藤彦、小野寺仁、小池史晃、村瀬繁樹：JA 飛騨ミートにおける SSOP 及び HACCP に基づく食品安全管理システムによる微生物制御とその微生物学的検証、日本獣医師会雑誌, 2013 66(10), p718-24.
  - 6) 豊福肇、長谷川専、柿沼美智留：既存リスク評価ツールを用いた食品衛生監視指導効果の評価、日本獣医師会雑誌, 2013 66(11), 816-9
  - 7) Hajime TOYOFUKU : Regulatory Perspective in Translating Science into policy: Challenges in Utilizing Risk Assessment for the elaboration of Codex standards of Shellfish Safety, Molluscan Shellfish Safety, Springer, 2013,p73-88
  - 8) Hajime TOYOFUKU : *Vibrio parahaemolyticus* Risk Management in Japan. , Molluscan Shellfish Safety, Springer, 2013,p129-136.
  - 9) 豊福肇：新しい食中毒、リスクの複雑化とアウトブレイクについて、生食のおいしさとリスク. 一色賢司監修、NTS, 2013 , p395—410
  - 10) 藤井建夫、豊福肇：魚醤油の品質管理と Codex 規格. 月刊フードケミカル 2014 年 2 月、 p 52—58
  - 11) 豊福肇：世界に通用する衛生管理手法とは. 月刊フードケミカル 2013 年 11 月、 p 24—29.
  - 12) 豊福肇、小坂健：微生物リスク評価の経緯. 食品衛生研究. 63(8), 2013. P13-22.
  - 13) 小川麻子、加地祥文、豊福肇：Codex Information. 第 21 回食品残留動物用医薬品部会. 食品衛生研究. 64(2), 2014. P29-44.
  - 14) Toyofuku, H: Prevalence of Foodborne Diseases in Western Pacific Area. Encyclopedia of Food Safety. Elsevier. Volume 1, 2014, Pages 312-322
  - 15) A. Depaola and H. Toyofuku: Safety of Food and Beverages: Seafood. Encyclopedia of Food Safety, Volume 3, 2014, Pages 260-267
  - 16) Y. Sasaki, M. Haruna, T.Mori,M. Kusukawa, M.Murakami, Y.Tsujiyama, K. Ito, H.Toyofuku, Y.Yamada: Quantitative estimation of *Campylobacter* cross-contamination in carcasses and chicken products at an abattoir. Food Control. 43.10-17. 2014
  - 17) 豊福肇：コーデックスの食品中の微生物規準の設定と適用に関する原則の攻訂. Milk Science. (2014). 63(3), 157-8
  - 18) 豊福肇：義務化を見据えて動き出した日本の HACCP 普及動向～柔軟性を持たせた HACCP 導入とは～月刊 HACCP2015 年 1 月号
  - 19) 豊福肇:HACCP を中心とする国際規格の海外の状況と国内における HACCP

導入の課題. 獣医公衆衛生研究 (全国公衆衛生獣医師協議会) 2015. vol.17-2 (印刷中)

## 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) I. Shimada, H. Toyofuku, K. Hisa, S. Numata, M. 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) H. Toyofuku: 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.
- 12) H.Toyofuku: International approach toward risk management of pathogenic microorganisms related to food. IS3 Global Food Supply and Safety Ensure. 第 88 回日本細菌学会総会. 2015 年 3 月. 岐阜
- 13) 豊福肇、蒔田浩平、大橋毅夫、柿沼美智留、長田郁子、黄色大悲: ブロイラーのフルオロキノロン耐性 *Campylobacter* 定量的リスク評価の試み. 第 7 回 日本カンピロバクター研究会. 2014.12 月
- 14) 豊福肇: iRISK による輸入食品の微生物リスク評価. 第 108 回日本食品衛生学会学術講演会, 2014. 12 月, 金沢
- 15) H.Toyofuku: Overview of Microbial Criteria in Foods, with reference to Codex and Japan. The 6th ILSI BeSeTo Meeting & Satellite Symposium on “Microbial Criteria in Foods”. 2014.11 月.東京
- 16) 豊福肇:シンポジウム I 「グローバル化を迎えた食品微生物学の課題」グローバル化と食品微生物規格の考え方. 第 35 回日本食品微生物学会学術総会。2014 年 9 月、堺
- 17) 豊福 肇, 小林光士, 下出敏樹, 牛丸藤彦, 小野寺 仁, 小池史晃, 住奥寿久, 石橋俊之, 小嶋高則, 鷺見隆治, 村瀬繁樹, 大田哲也, 坂下幸久, 小林幹子, 島村真弓:JA 飛驒ミートにおける HACCP に基づく食品安全管理システムによる微生物制御とその微生物学的検証 2. 第 107 回日本食品衛生学会学術講演会, 2014. 5 月, 沖縄
- E. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

表1 INFOSAN 緊急アラート事例の概要(2012-14年)

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	
タヒニセサミペースト	<i>Salmonella</i> Montevideo 及び <i>Salmonella</i> Mbandaka	トルコ	関係国: アルバニア、デンマーク、旧ユーゴスラビアマセドニア共和国、ドイツ、ギリシャ、イラク、リビア、ニュージーランド、ルーマニア、サウジアラビア、スウェーデン、アラブ首長国連邦、イギリス、米国、イエメン、トルコ	米国 8 人、 ニュージーランド: 17 人	6 月 12 日, 2013
冷凍ベリー	A 型肝炎 (HAV) (サブジェノタイプ IB)		デンマーク、フィンランド、ノルウェー及びスウェーデン	報告された患者数 16 人	2012 年 10 月 1 日から 2013 年 4 月 8 日までにい ずれの患者 も、暴露され たと考えら

					れる期間に、EU 外への渡航歴はなかった。アウトブレイク調査の結果、冷凍ベリーが原因食品と推定された。
カナダ産の有機発芽チャイ(chia)の種子の粉末を含む種々の製品	<i>Salmonella Newport</i> 及び <i>Hartford</i>	カナダ	カナダ、米国、バレーン、アイスランド、インド、シンガポール、スロベニア	米国で 27 人	
Bidart Bros.社 (ブランド名: Happy Apple, Carnival, 及び Merb's Candies) のリンゴを使用して市販用に製造・包装されたキャラメルリンゴ	<i>Listeria monocytogenes</i>	アメリカ	アメリカ、カナダ	米国 32 人、カナダ 2 人	2014年10月17日～2015年1月6日

表 6 Risk Ranger のインプットと結果の概要

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