

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 年度総合総括研究報告書

研究代表者 近藤 一成 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部

研究要旨

細菌類に関しては、海外より食品あるいは海外渡航者を通じて侵入し、国内で突発的な食中毒の発生を予防する、あるいは適切な対応をとるための施策について研究するために研究を行った。公衆衛生上重要な感染症であるサルモネラ症、赤痢、コレラや海外での集団発生事例も多く致死率が高いものの潜伏期間の長さから原因食品を特定しにくくいリステリア症について、国内侵入に対する対応のために海外での流行情報収集と分離菌株の解析手法（PFGE、MLVA など）、解析データの収集とデータベース化を行った。また、食中毒アラート情報等を INFOSAN Emergency や RASFF より収集解析した。リスク評価モデルとして RiskRanger や iRisk の統計的手法を用いて、国内に侵入可能性のあるハザードと食品の組み合わせを相対リスクとして推定した。

自然毒に関しては、毎年発生する食中毒被害の低減のための検査法開発を行うとともに中毒事例を解析した。きのこ毒に関しては、中毒事例が特に多い 2 つのきのこ（クサウラベニタケとツキヨタケ）の分子系統樹解析を行い、迅速検査法 PCR-RFLP 法および確定検査補定性リアルタイム PCR 法を開発した。高等植物に対しても同様に、中毒が多い植物（チョウセンアサガオ、バイケイソウ、トリカブト、スイセン）に対して迅速検査法 PCR-RFLP 法およびバーコード法による判別法を開発した。

研究分担者

泉谷 秀昌 （国立感染症研究所 細菌第一部）
岡田由美子 （国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部）
豊 福 肇 （山口大学共同獣医学部 教授）
紺野 勝弘 （富山大学和漢医薬学総合研究所 客員教授）
登田 美桜 （国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部）

A. 研究目的

細菌関係では、グローバル化に伴う人および食品の移動は、感染症アウトブレイクの発生時に大きな影響を与える。途上国ではインフラ整備が不十分なことから、飲料水・食品を介して主として渡航者経由でわ

が国にも侵入している。今後、このほかに輸入食品による国内発生も十分考慮すべき問題である。こうした海外での事例の情報収集を行い、国内侵入時の対応に備えることを目的し、特に、国内外の流行菌型の情報収集に力点を置き、それらの特徴を比

較・照合するなど、菌側の情報を活用することで、国内侵入を阻止する、または侵入時に速やかに検査等で対応できるようにすることは重要である。

自然毒関係では、自然毒においては、誤食の原因となる誤った鑑別や食中毒発生後の検査での原因食品の品種確定ができないことをなくすため、遺伝子の特異的な塩基配列に基づいた鑑別法を開発し整備することで、国内で発生する食中毒リスクを低減することができる。これらの研究を行うことができる。そのために必要を行う。

B. 研究方法

細菌・ウイルスによる食中毒リスクに関する海外情報収集や統計的手法によるリスク評価解析を豊福班員が担当した。細菌について、主にサルモネラ、赤痢菌、ナグビブリオなどを中心に情報収集並びに収集した分離菌株の解析を泉谷班員が、リステリアについて、情報収集と食品および患者分離株の解析と結果のデータベース化を岡田班員が担当した。

自然毒について、海外でリスクが懸念されている食品中の自然毒に関する情報収集と解析、および、食中毒の発生を低減するためには消費者への注意喚起及び自然毒の危険性の周知が有効であるとされていることからアンケート調査を登田班員が担当した。きのこおよび高等植物の鑑定のための新たな遺伝子判別法の開発およ

び中毒事例の解析を近藤班員、紺野班員が担当した。研究代表者は、全体のとりまとめを行った。

C. 研究結果と考察

1. 微生物・ウイルス関連の食品安全情報の収集解析

INFOSAN Emergency、INFOSAN 報告書から事例研究を行った。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* (以下リステリアという)1件であった。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、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。また、RASFFによる通報事例を調査研究したところ、ハザード別ではノロウイルスが18と最も多く、次いでサルモネラ、ヒスタミンが各10、HAV7、STEC O157:H7 とボツリヌスが各2件であった。

統計的手法を用いたリスク評価を行った。web-based のシステムである iRISK では、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ことを示した。

2. サルモネラ、赤痢菌、コレラ菌等の細菌学的分析

過去 2-3 年の間に海外で発生した食中毒もしくは集団事例の中から、輸入食品もしくは複数国が関連した事例をまとめた。20 事例のうち 18 事例がサルモネラによるものであった。鶏肉、七面鳥など比較的良好とみられる原因食品よりも、果物、魚介類、ナッツ類などの食品が原因となることの方が多かった。赤痢菌分離株の解析について、わが国での細菌性赤痢の多くは海外渡航による輸入例であるが、国内例も少なからず発生している。解析には、*S. sonnei* については PFGE よりも MLVA の方が解像度が高いことが示された。ナグビブリオ食中毒事例株の解析について、2013 年 9 月から 10 月にかけてナグビブリオ O144 による食中毒事例について調査解析した。原因食としてニシ貝スライスが疑われ、その原材料は中米産であった。本事例では患者および食品からナグビブリオが検出され、患者株の大半と食品由来株の一部の PFGE パターンが一致した。

3. 各国におけるリステリア症発生状況及び *Listeria monocytogenes* 菌株の分子疫学的解析

食品や患者に由来する *Listeria monocytogenes* 合計 130 菌株について PFGE 解析を行った。AscI を用いた場合の系統樹は、ApaI 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、AscI 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。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。

4. 自然毒関連の食品安全情報の収集解析

海外でリスクが懸念されている食品中の植物性自然毒について、欧州各国及び豪州・ニュージーランドにおいて、食品及びフードサプリメントに使用又は混入する可能性があり、健康への有害影響が懸念されている高等植物及びきのこのリスト、我が国で自生又は栽培されている可能性がある有毒な高等植物のリストを解析することで、食品への混入を懸念すべき高等植物が特定できただけでなく、優先順位をつけることもできた。中でも、幻覚性キノコは注意が必要である。RASFF データベースの調査解析から、1982～2014 年 12 月 25 日の通知として 157 件が確認できた。

消費者の「食品に関する問題の不安」についての情報として、食品に関する代表的な問題(残留農薬、食品添加物、輸入食品、遺伝子組換え食品、微生物による食中毒、BSE)と自然毒に関して、消費者がどの程度の不安を感じているかを 4 段階で調査した結果、自然毒については 56%のみで、行政的に管理され推定されるリスクも低い輸入食品や残留農薬よりも、毎年食中毒が発

生し死者も出ている自然毒の方が不安に感じる人の割合が低く、問題であると考えられた。「行政による情報提供の仕方」について、消費者の視点から、行政機関がどのような方法で消費者に向けて情報提供すれば効果的であるのかを調査した。小中学校での教育が効果的であるとの回答が多かった。

5. 食中毒事例が多いきのこの分子系統樹解析と検査法確立

毒のクサウラベニタケ (*E. rhodopolium*) は、形態的には多様性が報告されているものの、これまで遺伝子配列に基づいた分類解析は行われていなかった。今回、全国から集めた試料の ITS 領域解析結果から、日本におけるクサウラベニタケは3系統に分けられいずれも食用のウラベニホテイシメジとも異なることが判明した。系統樹解析の結果をもとに、迅速で簡便な判別法として、電気泳動の泳動パターンで判別する PCR-RFLP 法を、中毒事例の多いクサウラベニタケおよびツキヨタケについて開発した。DNA が断片化されている調理加工食品残渣にも適応できるように改良した。さらに、確定検査のためにリアルタイム PCR 法を開発し、食毒判別と系統分類が可能な方法を構築した。

6. 植物毒の毒性評価と毒成分分析

植物毒による食中毒を未然に防ぐ事を目的に、「自然毒のリスクプロファイル」の改

定を行った。中毒事例の現地調査を行った。トリカブトとニリンソウとの誤った判定で、機器分析からアルカロイドを定量し、アコチニンなどのアルカロイドを検出した。また、青森県でのチョウセンアサガオによる食中毒事例を調査した。簡便な遺伝子判別法として、バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブト、スイセン、ギョウジャニンニク、ゴボウ、ニリンソウ、ニラを判別するための PCR-RFLP 法を構築した。本方法は、青森県の中毒事例でも活用され、判別に用いることができた。

D. 結論

細菌類について、事例研究から、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が必要である。赤痢菌の解析のほか、ナグビブリオの事例など、これまで国内ではあまり発生しなかった菌種による食中毒事例について PFGE および MLVA の有効性を検討し、一定の成果は得られた。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。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。

自然毒について、欧州及び FSANZ の公表資料・規制の情報をもとに、食品への混入・使用を懸念すべき高等植物・きのこをリスト化して特に注意を向けるべきものを特定した。消費者意識のアンケートから、食中毒の原因となる自然毒に関して消費者が正しく認識していないことが示唆された。きのこについて、クサウラベニタケは、日本国内では近縁種が 3 種存在することが明らかになった。ツキヨタケとともに、これら毒性を持つ簡便迅速な検査法として

PCR-RFLP 法を加熱調理サンプルまで適用可能な方法として確立した。また、定性リアルタイム PCR 法を開発した。高等植物についても、PCR-RFLP 法を利用した遺伝子鑑別法により、迅速・簡便な有毒植物鑑定法を確立した。実際の中毒事例にも適応できることを示した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

個別の報告書に記載