

「広域・複雑化する食中毒に対応する調査手法の開発に関する研究」

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
研究分担者	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
研究分担者	齊藤 剛仁	国立感染症研究所感染症疫学センター主任研究官
研究分担者	高橋 琢理	国立感染症研究所感染症疫学センター研究員
研究分担者	窪田 邦宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部室長
研究分担者	野田 衛	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部室長
研究分担者	大西 貴弘	国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部室長
研究分担者	杉山 広	国立感染症研究所寄生動物部室長

研究要旨

本研究班全体の目的は、広域および原因不明食中毒事例に対する科学的根拠に基づく疫学的・微生物学的調査手法の精度向上を図り実践する過程で広域食中毒疫学調査ガイドラインについて改善点を示し、より実用的なものへ深化させることである。我が国における食中毒や合併症に関する疫学の一端を調査し下痢症患者の被害実態解明や国内の食品への異物混入事例の概要把握、魚生食に関連する有症苦情事例の原因究明や流通品を検体としたアニサキスの汚染実態等の調査を実施する。項目ごとに述べる。

腸管出血性大腸菌（EHEC）O157 の広域散発例や腸チフス事例について行われた検討では、感染症発生動向調査の情報と Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis（MLVA）の結果を利用して広域散発的に発生するこれらアウトブレイクの探知は可能であると考えられた。今後の課題は情報収集の適時性である。インターネットを利用した症例対照研究の有効性に関する研究については、同調査はオーバーマッチングやサンプリングバイアスが回避可能と考えられ、症例対照研究は有効であることが考えられた。旅行に関連した EHEC 事例の探知及び疫学調査手法について検討した。散発例が発生した時点で広域散発的 EHEC の調査票の活用及び情報収集を行うことができるような仕組みづくりが必要であると考えられた。詳細は必要な事項が不足している事例が散見されたことから報告様式を改訂する必要があると考えられた。調理従事者等によるノロウイルス食中毒が大きな割合を占めている現状に合わせ、その多様な感染源・感染経路に対応できるように詳細の様式を改定する必要がある。

EHEC 感染症で HUS 発症者を対象とする追跡研究を実施し、HUS 発症後 1 年以上の経過観察がされている症例のうち、11.8%に腎臓または神経系の後遺症が認められた。しかし、対象者の過半数（51%）は経過観察が 1 年に満たないという実態が明らかとなった。

広域食中毒疫学調査ガイドライン改訂の検討に関する研究を行った。

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行っている（アクティブサーベイランスは 2005 年から）。本年度は全国を対象とした電話住民調査も実施した。厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）への菌検出報告数からの胃腸炎疾患患者数の推定も行い、異なるデータソースからの推定による推定結果や傾向の検討を行った。全国の食品への異物混入被害実態の把握については、全 142 自治体を対象に依頼を行った。事業所での混入により健康被害が発生した事例の 9 割が硬質異物の混入によるものであった。各食品および異物の種類の組み合わせを解析することで、起きやすい異物混入の概要が得られた。これらの情報は事業所への HACCP 指導時に参照可能な異物混入実

態データとして活用することが可能と考えられる。

群馬県においては、広域・複雑化する食中毒に対応する調査手法の開発に関する研究において、流通食材における食中毒原因菌の汚染状況及び感染症・食中毒業務担当者を対象とした疫学研修とその効果を検証した。今後、担当者のニーズをより反映した研修を継続的に実施していくことが、疫学調査の向上に寄与するものと考えられた。

ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討については、患者、食品あるいは調理従事者から検出されたウイルスの遺伝子型や検出株間の相同性を調べるのが重要であることから、開発したプログラムについて改良した。最終バージョンは今後配布予定である。

クドア食中毒様の症状を示す原因不明食中毒に関する研究としては、クドアのヒト腸管内における生存性を検討し、遺伝子型別の実施（韓国型 ST3 株によって食中毒が引き起こされていることの確認）、凍結保存法の開発、カンパチ有症事例からユニカプスラの計数法およびリアルタイム PCR 法を確立、シイラに関連する調査、タイにおける粘液胞子虫の汚染実態調査を行った。

アニサキス食中毒の原因物質の同定については、市場に流通するシメサバ製品および回転寿司店のシメサバ寿司を対象に、アニサキスの寄生状況調査を実施した。自家製のシメサバを使用して製造されたシメサバ寿司は、40 検体の内、7 検体が陽性で、合計 14 隻のアニサキス幼虫が検出された（3 隻は生存）。魚の冷凍や養殖魚の利用に加え、販売者による消費者への啓発が、感染予防の鍵を握る実効的な方法と考えられた。

以上、本研究班はウイルスからアニサキスまで実に多様な食中毒研究のプラットフォームとして最終年度も機能した。

A. 研究目的

A-1.1. 腸管出血性大腸菌 O157 の広域散発例の探知と疫学調査に関する研究

我が国では広域散発的に発生する EHEC 感染症のアウトブレイク探知及びアウトブレイク調査に関する疫学調査手法は複数保健所あるいは自治体にまたがるため情報収集が難しく、広域散発的に発生する EHEC 感染症の疫学調査方法が確立されていない。本研究は我が国における EHEC 感染症の広域散発例のアウトブレイク探知及び調査方法についての検討を目的とする。

A-1.2. 腸チフスの広域散発事例の調査方法構築に関する研究

我が国の腸チフスの発生は年間数十例報告され、海外での感染例が国内感染例よりも多く報告されている。一方で、国内感染例で保健所あるいは自治体レベルでは散発的な報告であるものの、国内で同時期に患者の発生報告が断続的

に認められる広域散発アウトブレイクが毎年発生している。本研究は腸チフス広域散発的アウトブレイクの疫学調査方法の開発を目的に検討した。

A-1.3. インターネットを利用した症例対照研究の有効性に関する研究

感染症や食中毒のアウトブレイク調査時に症例対照研究を実施するにあたり、本研究は保健所で実施した症例の家族及び同行者を対照群とした症例対照研究と対照群をインターネット調査によりマッチングをした症例対照研究の比較を行ない、インターネットを利用した症例対照研究の実施可能性について検討を行った。

A-1.4. 広域事例（旅行歴）に関する腸管出血性大腸菌アウトブレイクの検出及び原因検索方法の確立に関する研究

EHEC 感染症は HUS 及び急性脳炎などの重症合併症を引き起こす場合、致命率が高いこと

が報告されている。EHEC 感染症が旅行に関連した事例は複数の自治体にまたがって発生報告が届け出されることが多いため、アウトブレイク探知が難しい状況である。本研究は広域散発的発生で、旅行に関連したアウトブレイクの探知及び疫学調査についての検討を目的とした。

A-1.5. 詳報、事件票を活用した食中毒発生要因分析と食中毒調査手法の課題抽出

保健所は全ての食中毒調査の結果について、食中毒事件票および調査結果報告書として都道府県知事と厚生労働大臣へ提出し、このうち法第 58 条第 3 項を満たす事件については食中毒事件詳報を都道府県知事、食中毒事件調査結果詳報（以下、詳報）を厚生労働大臣へ速やかに提出することになっている。本研究は食中毒統計、詳報の記述内容に基づき、食中毒発生要因の分析、自治体による食中毒調査手法の課題抽出、報告様式や報告システムの課題抽出を試み、より効果的に食中毒事件の原因究明、被害拡大防止、再発防止が行えるよう、自治体の調査方法を改善することを目的とした。

A-2. 腸管出血性大腸菌感染症で溶血性尿毒症候群を発症した患者を対象とする追跡研究

EHEC 感染に伴う HUS を発症した症例に対し、発症から数年経過した後の中・長期的な予後について、後遺症の有無を追跡調査により明らかにすることを目的とする。

A-3. 広域食中毒疫学調査ガイドライン改訂の検討に関する研究

近年、広域に流通する原材料や加工製品の汚染により、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いる。しかし、個々の事例は各保健所管内では散発例として捉えられ、広域事例として認識されない可能性が高い。2014 年 3 月 31 日に策定した「広域食中毒疫学調査ガイドライン」（以下ガイドライン）について、現場でどのように活用するか、その具体的

方法について検討を行った。本研究では、検討の結果をガイドラインに反映して現場での活用に繋げ、科学的な広域散発食中毒事例の疫学調査の向上に資することを目的とした。

A-4.1. 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（食品媒介感染症被害実態の推定）

食品衛生行政における対策等の検討のためには被害実態の全容を把握することが重要である。本研究等においては 2005 年より継続して宮城県においてアクティブサーベイランスを行い、これにより実患者数推定を行い、その有効性を実証し、日本における FoodNet 様システム構築の基礎としてきた。本年度は、宮城県及び全国に関する検討を継続し、手法の妥当性の検討を行った。また厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）の検査部門データを活用し、食品由来感染症被害実態の推定を試みた。

A-4.2. 全国における食品への異物混入被害実態の把握

各事業者が HACCP による衛生管理の取組みを進める際に、食品に混入する異物の全体像の把握、健康被害の実態、健康被害が発生した異物の材質、形状等を把握することがまず必要であり、それらは危害要因分析の支援につながると考えられる。これらの状況を鑑み、本研究では全国の自治体、保健所等で異物混入の苦情処理を行った事例の分析及び低減対策指導に役立つ基礎データ収集を目的とした。

A-5. 群馬県における流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査及び感染症・食中毒業務担当者を対象とした疫学研修とその効果（代表者の研究協力者としての活動）

本研究では群馬県で流通する鶏肉、生野菜及び魚加工品の食中毒原因菌による汚染状況を調査した。また、「広域食中毒疫学調査ガイドライン」

の活用に関連して、広域食中毒における調査手法等の習得を目的とした研修会を開催し、それによって得られる効果や今後の研修会について評価検討する。

A-6. ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討

ウイルスによる散在型集団食中毒事例の早期探知や迅速な遺伝子型別を行うために、ローカルデータベースを対象にした BLAST 検索システムおよび遺伝子のアライメントや近隣結合法による ClustalW を基本プログラムとした自動遺伝子型別システムを開発した。本年度は、それらのプログラムにおける問題点を抽出して、それらを改良し、より利用しやすいものを構築することを目的とした。

A-7. クドア食中毒様の症状を示す原因不明食中毒に関する研究

これまでの研究からヒラメを原因食とする有症苦情事例は粘液胞子虫の1種であるクドアによって引き起こされることが明らかになった。ヒト腸管環境におけるクドアの生存性を検討し、国内におけるクドア食中毒分離株の遺伝子型別を行った。また、クドアの凍結保存法を検討した。さらに、カンパチの喫食に関連があると考えられるユニカプスラの定性的な検出法を確立した。ユニカプスラの計数法および定量リアルタイム PCR 法を検討した。タイ類等のクドア属の粘液胞子虫の汚染実態調査を行った。

A-8. アニサキス食中毒の原因物質の同定

2015年のアニサキス食中毒の届出数は126件に達したが、実際のアニサキス感染者数は更に多く、毎年約7,000人が感染していると推計される。アニサキス食中毒の4割はサバを原因としているがシメサバやその寿司が原因食品として喫食されていた。シメサバ製品や回転寿司におけるシメサバ寿司におけるアニサキスの寄生状況を調べた。アニサキスの感染リスクに対す

るサバの加工品製造者や鮮魚販売者の実際の対応についても調査した。

B. 研究方法

B-1.1. 腸管出血性大腸菌 O157 の広域散発例の探知と疫学調査に関する研究

10月1日から11月31日までに感染症発生動向調査に腸管出血性大腸菌感染症の届出のあった者のうち、協力自治体より少なくとも1つ以上の消化器症状（下痢、血便、腹痛）を呈し、MLVA（Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis）complexが16C008であった者を症例と、MLVA complexが16C008以外の者を対照とした。仮説の検証はロジスティック回帰分析を用いた。

B-1.2. 腸チフスの広域散発事例の調査方法構築に関する研究

NESIDで腸チフス国内例を報告した自治体に対して情報提供依頼を行った。

病原体解析は依頼にもとづき国立感染症研究所細菌第一部がMLVA解析を実施した。

B-1.3. インターネットを利用した症例対照研究の有効性に関する研究

研究デザインは症例対照研究（保健所における症例の家族及び症例の同行者調査）およびマッチングした症例対照研究（インターネット調査）とした。

解析方法は保健所調査（症例対照研究）をロジスティック回帰分析とし、インターネット調査（マッチングした症例対照研究）を条件付きロジスティック回帰とした。

（倫理面への配慮）

保健所の調査は食品衛生法に基づき実施され、インターネット調査は国立感染症研究所の倫理審査で承認を得た。

B-1.4. 広域事例（旅行歴）に関する腸管出血性大

腸菌アウトブレイクの検出及び原因検索方法の確立に関する研究

積極的症例探索は NESID に EHEC O157VT2 の届出の自由記載欄等に B 県内 (A 保健所管内を含む) への旅行歴の有無を確認した。旅行歴が確認できた場合には、NESID の問合せを通して広域散发例の質問票に対する情報提供依頼を行った。調査デザインは症例対照研究で症例定義は 2016 年 7 月 20 日～8 月 23 日に、B 県内在住者または B 県外在住で B 県への旅行歴がある者で、症例定義を満たした者とした。

B-1.5. 詳細、事件票を活用した食中毒発生要因分析と食中毒調査手法の課題抽出

2016 年 1 月～5 月上旬期間に報告された食中毒事件詳細 (詳細) において自治体より報告された食中毒発生時の疫学調査の手法及び内容について課題を抽出した。2016 年 8 月 1 日厚生労働省にて、詳細を提出した 5 つの自治体からヒアリングを実施した。

最後に、報告様式や報告システムの課題抽出を試み、詳細の改正案を提言した。

B-2. 腸管出血性大腸菌感染症で溶血性尿毒症症候群を発症した患者を対象とする追跡研究

2008～2014 年に感染症発生動向調査 EHEC 感染症の届出がされた症例のうち、HUS の発症歴があり、かつ診断時年齢が 30 歳未満の 550 例を対象とした。対象となる 550 例を保健所へ届出た医師の所属する医療施設 336 施設を対象として調査票への記入および返送を依頼した。メッ切までに回答がなかった一部の医療施設に対しては、電話によるリマインドを行い、調査への協力を依頼した。

(倫理面への配慮)

本研究は国立感染症研究所の倫理審査 [受付番号 509「腸管出血性大腸菌感染症で溶血性尿毒症症候群を発症した患者を対象とする追跡研究」] にて承認済である (2014 年 8 月 4 日)。

B-3. 広域食中毒疫学調査ガイドライン改訂の検討に関する研究

ガイドラインにおいて指摘された改善点に基づき、内容の充実を図った。

B-4.1. 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 (食品媒介感染症被害実態の推定)

宮城県の臨床検査機関からの同県のデータの収集、民間検査機関からの全国のデータの収集を行った。また、全国および宮城県を対象とした急性下痢症に関する電話住民調査 (例: 2016 年 7 月 22 日～8 月 23 日、全国約 2 万 3 千人を対象) を行った。統計法 32 条に基づく目的外利用申請により、JANIS の一部データを入手した。Campylobacter、Salmonella、Vibrio parahaemolyticus、腸管出血性大腸菌による下痢症患者の症例定義に合致する症例を抽出した。菌種ごとの食品由来下痢症疾患被害推定のために、検査機関のデータからの 3 菌の検出数に対し、検査機関の住民カバー率による補正を行い、宮城県における各菌の食品由来下痢症患者数を推定した。全国での菌種ごとの食品由来下痢症疾患被害推定のために、民間検査機関 3 社の検査データから、3 菌の検出数を抽出し、菌ごとに年間の検出数を求め、検査機関の住民カバー率による補正を行い、その結果を医療機関における受診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とともに推定モデルに導入することで各菌による推定患者数を算出した。さらに JANIS データから抽出した症例数に対し住民カバー率による補正を行い、推定モデルに導入、各菌による推定患者数を算出した。

B-4.2. 全国における食品への異物混入被害実態の把握

各都道府県、保健所設置市、特別区など、全 142 自治体へ協力を依頼し、2016 年 12 月 1 日

～28日の期間に全国における食品への異物混入に関する苦情事例の調査を行った。送付されたデータについて、異物分類毎、食品分類毎の件数や割合を集計した。有症事例に関しては具体的な名称も含めた混入異物の詳細集計を行った。

B-5. 群馬県における流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査及び感染症・食中毒業務担当者を対象とした疫学研修とその効果（代表者の研究協力者としての活動）

流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査については、2016年9月～12月に県内の小売店10店舗で購入した鶏肉42点、生野菜28点及びカット野菜（千切りキャベツ、ミックスサラダ等）19点、魚加工品（切り身、粕漬け等）29点の計118点を検体とした。感染症・食中毒業務担当者を対象とした疫学研修とその効果については、当研究所が毎年開催している「群馬県感染症・食中毒担当者疫学研修会」に関して、質問票による調査を実施した。

B-6. ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討：特記事項無し（倫理面含む）。

B-7. クドア食中毒様の症状を示す原因不明食中毒に関する研究

ヒト腸管環境におけるクドアの生存性の検討について、消化液の影響を調べる場合は0.5%胆汁、0.01%トリプシン、0.01%パンクレアチン、0.1%ムチンを含むPBSを人工腸管液として、この中でスポロプラズムの生存性を検討した。食中毒由来クドア株の遺伝子型別については、2013年から2016年に発生した32検体を用いた。ユニカプスラの計数法については、有症苦情事例の残品のカンパチ中から定性的にユニカプスラの検出を行い、陽性となったものを検体として用いた。ユニカプスラの18SrDNAを標的にし、Primer3Plusを使用してプライマー及びプローブを設計した。島根県内で発生したシイラの生食の関与が疑われている有症事例の情報収集を行い、同県内に流通するシイラ・カンパチ

の細菌・粘液胞子虫による汚染状況調査を行った。また、タイ類における粘液胞子虫汚染実態調査について、粘液胞子虫の胞子の確認を行うとともに、遺伝子検査を行った。

B-8. アニサキス食中毒の原因物質の同定

日本、ノルウェーおよびアイルランドの各国産のサバを使用して製造されたシメサバ90検体（3枚におろしたサバの身を酢や調味料で処理したもの）を検査の対象とした。見付かった場合はピンセットにて1隻ずつ摘出して、実体顕微鏡下に観察、頭部、胃部および尾部の形態的特徴に基づき、アニサキスI型幼虫を選別した。リボソームDNAのITS領域（ITS1から5.8SリボソームDNAを経てITS2に至る領域）を標的としたPCR増幅を行った。さらに回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキス寄生状況の調査、マアジにおけるアニサキスの寄生状況の調査、アニサキス感染リスクに対するサバ加工品製造者や鮮魚販売者の対応に関する調査（聞き取り、インターネット調査を含む）を行った。

C. 研究結果

C-1.1. 腸管出血性大腸菌 O157 の広域散発例の探知と疫学調査に関する研究

症例は13例で対照は50例であった。年齢階級は症例で0-9歳及び20-29歳がともに3例（23%）で最多、対照で20-29歳が17例（34%）で最も多かった。ロジスティック回帰分析の結果鶏ミンチ（十分に加熱）のみがオッズ比28.50（95%信頼区間：1.93-420.53）で有意な強い関連があった。

C-1.2. 腸チフスの広域散発事例の調査方法構築に関する研究

症例は12例で、確定例が9例、保菌例が2例、疑い例が1例であった。症例の初発例は9月10日で、以後断続的に9月28日まで症例が報告された。確定例のうち、飲食店Fの利用者で9月

1 日及び 2 に日のランチ喫食者と 9 月 2 日夜の宴会参加者の共通性が考えられ、また、飲食店 F 以外の利用者が共通して喫食していた食材はまぐろであった。まぐろの流通経路は共通の中央卸売市場であった。まぐろのチフス菌汚染原因については情報が得られなかった。疑い例を除いた症例から分離された株は MLVA 解析の結果から症例から分離された株は密接に関連していた。

C-1.3. インターネットを利用した症例対照研究の有効性に関する研究

症例は 21 例で、2009 年 11 月 14 日が初発で、2010 年 1 月 2 日が最終症例であった。すべてチェーンレストラン A (2009 年 12 月時点、100 店舗) の利用者で、散發的な発生であった。ロジスティック回帰分析で、症例対照研究は有意な関連のあるメニューはなかったが、マッチングした症例対照研究は牛サガリのオッズ比が 15.77 (95%信頼区間: 2.00-124.11) で有意な関連があった。さかのぼり調査から、すべての店舗に同一の食肉加工施設で加工された肉が利用されていた(輸入肉)。肉から O157 が検出され、患者と同一の PFGE パターンが示された。

C-1.4. 広域事例(旅行歴)に関する腸管出血性大腸菌アウトブレイクの検出及び原因検索方法の確立に関する研究

症例は 25 人報告され、年齢が中央値 8 歳(範囲: 1-6 歳)で、HUS が 4 人(20%)、腸重積が 1 人(5%)、入院が 11 人(55%)であった。曝露源調査が行えた 15 人について最も共通性の高かった曝露源はアミューズメントパーク D 訪問が 14 人(93%)で、次いでさとうきびジュースの摂取が 12 人(80%)であった。さとうきびジュースの摂取はオッズが 25.15 (95%信頼区間: 4.68-∞)で、さとうきびの摂取が O157 による発症と有意な関連があった。同ジュースの原料のさかのぼり調査は行っていない。

C-1.5. 詳細、事件票を活用した食中毒発生要因分析と食中毒調査手法の課題抽出

食中毒統計について、2016 年 1 月～5 月の間に報告された詳細は 28 件であった。ノロウイルス(調理従事者に起因する可能性)が非常に多い傾向が認められた。自治体より報告された食中毒事件詳細から食中毒発生時における疫学調査内容手法を検証した。検査結果については、症例との関連性が曖昧で、PFGE や MLVA 等の微生物の遺伝子検査の記述が少なかった。詳細事件数の過半数を占めるノロウイルス事件において、調理従事者の健康状態の調査結果についての記述は不足していた。考察において、制限についての記述は皆無であり、調査法の問題点が簡単には見えてこない状況であった。さらにノロウイルス事例発生自治体へのヒアリングを 5 自治体対象に実施した。ヒアリングから抽出された改善事項等が複数挙げられた。流行曲線において、発症日での作成ができていない事例があった。

C-2. 腸管出血性大腸菌感染症で溶血性尿毒症症候群を発症した患者を対象とする追跡研究

200 施設(59.5%) 333 例(60.5%)について回答が得られた(2017 年 2 月 10 日現在)。対象者の 5 歳区切りの年齢群別では、0-4 歳が 274 例(42%)で最も多かった。「EHEC 感染症の溶血性尿毒症症候群(HUS)後遺症に関する調査票」の結果の主なものについては、最終診察時における予後についての質問では、「生存」が 294 例(88.3%)、「死亡」が 3 例(1.0%)、「不明・記載なし」が 36 例(10.8%)であった。本調査で回答の得られた患者のうち、死亡が確認されたのは計 5 例であるが、これらはすべて NESID 報告時点で既に死亡と報告されていた症例であった。後遺症として、経過観察期間が 1 年以上ある 144 例を対象とした発症例では、17 例(11.8%)に HUS に関係する腎後遺症等の後遺症が認められた(複数回答を含む)。

C-3. 広域食中毒疫学調査ガイドライン改訂の検討に関する研究

ガイドラインの現場での活用方法について検討した。その結果、PDFとして作成したガイドラインを印刷媒体として各自治体の担当部局、および、広域事例の調査に携わる保健所へ送付し、周知とともに活用を呼びかけることとした。また、神奈川県厚木保健福祉事務所大和センター赤堀氏、かながわ疫学勉強会（撮影当時代表小池氏）の協力のもとに作成した食中毒調査の動画教材についてはDVDとして自治体担当部局へ送付することとした。

C-4.1. 宮城県および全国における積極的食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）

概要としては、2015年に宮城県医師会健康センターおよび宮城県塩釜医師会臨床検査センターで実施した便検査件数は5,432件であり、*Escherichia coli*が2,256件（下痢原性細菌の86.8%）、*Campylobacter*が271件（10.4%）、*Salmonella*が41件（1.6%）、*Aeromonas*が19件（0.7%）、*Yersinia*が6件（0.2%）、*Vibrio parahaemolyticus*が4件（0.1%）検出された。次に、*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus*の3菌に関して、食由来下痢症疾患の実患者数推定の試みを、協力検査機関をあわせて宮城県の人口の約52%をカバーしているとの情報により実施した（省略）。有症者の医療機関受診率の推定については、電話住民調査をもとに行い、宮城県の人口年齢分布で補正した後に統合した。さらに宮城県における下痢症疾患による実患者数の推定、食中毒患者報告数との比較を行った。全国を対象とした電話住民調査の結果を踏まえ、宮城県の推定値から人口比で全国の推定値を算出した。全国についてのアクティブサーベイランスデータからの全国の食由来下痢症疾患実患者数の推定、全国における年間菌検出数の推定まで行った。また、

JANISへの2008～2015年のEHEC報告数と感染症法によるそれぞれの年のEHEC全国届け出数（全数報告、有症事例）との比較を行うことによりカバー率の推定を行った。JANISデータからの食品由来下痢症疾患の実患者数の推定を行った。

C-4.2. 全国における食品への異物混入被害実態の把握

依頼した各都道府県、保健所設置市、特別区、全142自治体のうち127自治体（89%）から回答があった。食品への混入異物事例の苦情は約3年間で合計14,379件報告されており、異物としては「虫」が最も多く、全体の23.7%を占めていた。「動物性異物-人毛」（10.9%）、「鉱物性異物-金属」（10.8%）、「合成樹脂類-その他樹脂」（8.5%）も多く報告されていた。食品分類別の件数で一番多いのは「調理済み食品」（47.0%）であり、ついで「菓子類」（15.0%）、「農産加工品」（8.6%）であった。食品分類別に混入異物について、「水産食品」で多かったのは「寄生虫-その他」（23.7%）、「寄生虫-アニサキス」（14.8%）、「鉱物性異物-金属」（10.4%）、「動物性異物-その他」（5.9%）であった。全14,379件のうち、事業所での3年分の事例の混入異物としては「鉱物性異物-金属」（12.0%）、「食品の一部」（10.0%）、「合成樹脂類-ビニール」（9.8%）、「合成樹脂類-その他樹脂」（9.5%）、「動物性異物-人毛」（8.7%）、「虫-その他の虫」（7.6%）、「虫-ゴキブリ」（5.4%）の順に多かった。

硬質と判断される異物が事業所で混入した事例件数は1,524件であり、事業所での全異物混入事例（4,519件）の33.7%に相当した。事業所で硬質異物が混入した製造工程については、「製造工程不明」を除いた1,036件では「原材料」（28.2%）、「加熱工程」（19.5%）、「盛り付け」（17.6%）、「その他」（11.9%）等が多かった。特に健康被害が多かった硬質異物として、「プラスチック片」、「ガラス片」、「金たわし・ブラシ」、「鳥の骨」、「魚の骨」等が見られた。

C-5. 群馬県における流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査の検証、感染症・食中毒業務担当者を対象とした疫学研修とその効果

鶏肉は 42 検体中 27 検体からカンピロバクター、13 検体からサルモネラ属菌が検出された。生野菜については 28 検体中 17 検体が糞便系大腸菌群陽性で、7 検体からエンテロトキシン産生性のセレウス菌が検出された。魚は 29 検体中 22 検体からヒスタミン産生菌が分離された。研修の検証としては（75 名に質問票を送付）、38 名（50.7%）から回答が得られ、多くが研修会はプラスになったと回答したが、研修内容の活用状況では、「活用する機会がなかった」が大半であった。今後の研修会テーマの希望については「積極的疫学調査」が最も多く、次いで「データ解析手法」、「疫学・統計学一般」が続いた。

C-6. ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討

昨年まで開発したプログラムの問題点が認識されたローカル Blast 検索において、ミスマッチが 0（ギャップは無視される）のものは、条件設定した件数内において、すべての株名を表示する機能とその件数を表示する機能を追加することにした。また、分析に用いた株の中に塩基配列データが短いものが含まれている場合、データの解析精度が低下することになり、参照株との距離計算が不正確なものになることが指摘されていた。システムの実行に時間がかかるものの、問い合わせ株(=Query)に指定された株ごとに参照株(=Reference)に指定された株に対して ClustalW を実行し、遺伝子型別と遺伝子距離計算を行うシステムを追加することとした。

C-7. クドア食中毒様の症状を示す原因不明食中毒に関する研究

ヒト腸管環境におけるクドアの生存性の検討として、ヒトの浸透圧に近い 0.9%食塩水中でスポロプラズムを培養すると、急速に死滅し 72 時

間後には約 20%に減少した。腸管液に対する感受性を調べるためにスポロプラズムを人工腸管液中で培養したところ 4 時間ですべてのスポロプラズムが死滅した。食中毒由来クドア株の遺伝子型別については、韓国産ヒラメから分離されたのは 23 株で、ST2 が 1 株（4%）、ST3 が 22 株（96%）、ST1 は分離されなかった。また、クドアの凍結保存法の確立を行った。ユニカプスラの計数法はヒラメの筋肉中のクドア胞子を計数する際の通知法をもとに作成した。ユニカプスラのリアルタイム PCR 法については、リアルタイム PCR のプロトコルを確立した。シイラが原因食と想定される有症事例及び流通するシイラ、カンパチの細菌、粘液胞子虫による汚染状況に関する調査を行った。粘液胞子虫汚染実態調査を川崎市内で無作為に購入シイラ類 50 検体について行った。

C-8. アニサキス食中毒の原因物質の同定

シメサバ加工品 90 検体を検査したところ、計 98 隻のアニサキス幼虫が検出された。回転寿司店でのアニサキスの寄生状況は、自家製のシメサバを使用して寿司を製造する店舗では、40 検体の内、7 検体から合計 14 隻のアニサキス幼虫が検出された（うち 3 隻は生存）。一方で加工品のシメサバを用いた寿司を販売する店舗ではすべてアニサキス陰性であった。マアジについても寄生状況を調べたところ、陽性個体は 65 尾（54.2%）と多かった。魚介類の加工・調理の現場では、アニサキスによる感染の予防や異物としてのアニサキス混入の苦情防止を目的とした情報の収集を試みたところ、魚のフィレや切り身を肉眼で観察する「直接観察法」がしばしば適用されていた。一方で、スーパーマーケットや居酒屋の中には、白色光に替えて紫外線をキャンドリング照射するアニサキス検査装置（i-Spector, 株式会社インダ）を導入する店舗もあった（企業グループで一斉に購入して配備）。この装置は、魚のフィレや切り身の表面に存在するアニサキス幼虫の目視確認を容易にする上で、

有用と考えられた。調理上の工夫として、調理の現場においては、新鮮なうちに魚介類の内臓を摘出し、アニサキスの幼虫が魚の内臓から筋肉に移行することを防ぐという方法がしばしば採用されていた。またサバの刺身・寿司には切り目を入れて客に提供するとの工夫もなされていた。これらの方法はいずれも科学的根拠を持つものである（学術論文に成績が記載されている）。保健所の食品監視員がこれらの方法を採用し、指導時に積極的に活用している行政機関も認められた。

D. 考察

D-1.1. 腸管出血性大腸菌 O157 の広域散発例の探知と疫学調査に関する研究

本研究は NESID で散発例を基に MLVA の情報を収集し、広域散発的に発生する EHEC のアウトブレイク探知を行うとともに、広域散発的に発生する EHEC の原因の検討を行った。広域散発的に発生する EHEC のアウトブレイク探知は可能であると考えられた一方で、迅速性については今後検討する必要があると考えられた。

D-1.2. 腸チフスの広域散発事例の調査方法構築に関する研究

本調査で使用した広域散発的に発生する腸チフスの疫学調査票は汚染源の検討に利用可能であることが考えられた。

D-1.3. インターネットを利用した症例対照研究の有効性に関する研究

インターネット調査による対照の調査は方法の違いによるバイアスの発生回避の可能性（Friendly control bias など）、聞き取り調査よりも高回答率・正確な回答得られる可能性あり、対照群のサイズが確保できる可能性が考えられた。また、海外では電話調査などを行っているが、我が国では電話調査はあまり普及していない点を考慮すると、インターネット調査の利用

が有効なツールとして考えられた。

D-1.4. 広域事例（旅行歴）に関する腸管出血性大腸菌アウトブレイクの検出及び原因検索方法の確立に関する研究

広域散発的 EHEC 発生時の調査票では旅行歴や外食での喫食状況等の情報収集が含まれている。旅行歴や外食の喫食情報等の項目の収集する項目がある。NESID の問合せ時点でこれらの項目にさとうきびジュースの摂取等の情報が記載された情報提供があった。散発例が発生した時点で広域散発的 EHEC の調査票の活用及び情報収集を行うことができるような仕組みづくりが必要であると考えられた。

D-1.5. 詳細、事件票を活用した食中毒発生要因分析と食中毒調査手法の課題抽出

症例定義の設定が緻密な記述疫学へ向けての重要な要素として求められる。現時点では、ノロウイルスを病因物質とした食中毒では全症例に対して遺伝子検査の実施は現実的ではない。一方で、食中毒を発生させた病因物質が同一起源か否かについての検討のためには最低限必要な症例から検出された病原体の遺伝子検査結果が重要な情報となる。一方で、疫学調査の設計を十分に検討しながら疫学調査を実施し、Kaplan Criteria という基準を利用している米国の例もある。

D-2. 腸管出血性大腸菌感染症で溶血性尿毒症症候群を発症した患者を対象とする追跡研究

実際に調査票の回答返信があったのは 200 施設（59.5%）、333 例（60.5%）と予想より多い回答が得られた。調査票の回答内容については、通院中（経過観察中）が 66 例（19.8%）であった。本調査で回答の得られた症例において、新たに死亡例の報告はなかった。経過観察が 1 年以上されている患者において、11.8%に何らかの HUS に関連した後遺症があることが確認された。

D-3. 広域食中毒疫学調査ガイドライン改訂の検討に関する研究

本研究におけるガイドラインの内容については「難しい」という感想も寄せられたことから、講義形式による動画教材も含めることとした。なお、講義内容には長年食中毒事例の調査に当たった講師の私的見解を含めている。これは、ガイドラインにおける前述のような性質によるものと同じであり、一律に動画内容を実施すべきということではない。各自治体、調査実施者がそれぞれの立場で自らが行うべき調査について教材を基に考え、その質を高める契機となることを期待している。また、各自治体において、ガイドラインおよびガイドライン掲載のケーススタディの活用については実施と検討が限定的であった。今後の課題として、広域食中毒疫学調査の自治体における研修強化が挙げられる。

D-4.1. 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（食品媒介感染症被害実態の推定）

現行の食中毒および病原微生物に関する報告システムによって食品由来下痢症の実患者数を正確に把握し、経年変動等を評価することは困難であり、補完システムとしてアクティブサーベイランスの構築およびその継続が重要であると考えられた。

全国データからの全国食品由来下痢症推定患者数は、宮城県データからの人口比による全国推定結果と比較して、*Campylobacter* では 7.5～10.5 倍、*Salmonella* では 9.3～23.0 倍、*Vibrio parahaemolyticus* では 5.4～15.7 倍の違いがあった。特定地域において EHEC O157（または EHEC）による大規模アウトブレイクが発生した場合はカバー率の推定に影響が出ることが予想される。今後も継続したアクティブサーベイランスが必要である。本年度は既存サーベイランスデータの活用という見地から JANIS のデ

ータを利用した推定も行った。JANIS データからの推定結果は宮城県および全国の菌検出データからの推定結果と比較して変動幅が大きく、また必ずしも他の二つのデータと呼応しているわけではなかった。これは JANIS の報告システムに起因する可能性や、この数年で登録医療機関数、ひいては菌検出報告病院数が急激に増加していることに起因している可能性がある。

D-4.2. 全国における食品への異物混入被害実態の把握

解析の結果、事業所混入事例の約 34%が硬質異物の混入であった。3年にわたる各年度のデータの間で異物混入がおきた食品分類や混入した異物の種類の傾向に大きな差異がみられなかったことは、同様の異物混入が一定の割合でおき続けていることを示しており、適した対策を適用することが効果的であると考えられる。

D-5. 群馬県における流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査及び感染症・食中毒業務担当者を対象とした疫学研修とその効果

鶏肉がカンピロバクター及びサルモネラ属菌に高率に汚染されていることが明らかになった。現在、鶏刺しやタタキ等、生食については法的規制を受けていないので、食材の適切な取り扱いや加熱調理の徹底について、啓発指導することが重要であると思われる。生野菜から検出されたセレウス菌は土壌由来の汚染と考えられたが、喫食時の洗浄が不十分な場合は食中毒の原因となり得ることが推測された。また、魚については 76%（22/29 検体）からヒスタミン産生菌が検出され、魚は低温で保存していても、菌が増殖する可能性が高く、食中毒の原因となることが示唆された。研修については、ニーズが高い一方、実際に活用する場がないという現状も明らかになった。

D-6. ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討

今回、改良した Blast 検索では、ミスマッチ = 0 の株をすべて還元するメニューを新たに追加した。このことにより、Reference に指定した株の中に塩基配列が一致した株が何株含まれているのか、また、その株名はなになのかを速やかに把握することが可能となった。また、これまで地方衛生研究所の協力のもと、試行的にデータの共有と還元を実施してきたが、シーケンス検査の一般化や広域事例の早期探知等の食中毒調査におけるシーケンスデータの利用を行政レベルで実施可能とするためには、食中毒事例あるいは食中毒疑い事例のシーケンスデータの共有を行政レベルで実施できるシステムの構築が必要である。

D-7. クドア食中毒様の症状を示す原因不明食中毒に関する研究

今回の結果をまとめると、クドア孢子を含むヒラメを喫食後、腸管内でクドア孢子からスポロプラズムの放出が起こる。多くのスポロプラズムは胆汁の働きによって死滅すると考えられるが、残ったクドアは腸管上皮細胞層に侵入する。しかし、腸管上皮細胞層に逃げ込めたスポロプラズムも浸透圧や温度がクドアの生存に適していないため、死滅していくと考えられる。現在、クドア食中毒患者に対しては駆虫などの特別な処置は行われていないが、今回の結果から、この治療方針を今後も変更する必要はないと思われた。また、食中毒由来クドア株の遺伝子型別について検討したクドア食中毒事例の内、ST3 株が分離された事例は 22 件に上り、下痢毒性はないとの報告（韓国）と矛盾した。今後もスクリーニングを行い、監視を継続していく必要が認められた。さらにクドアの凍結保存法が確立された。シイラやカンパチに寄生する粘液胞子虫については以前から存在が知られているが、今回確認された粘液胞子虫がそれらから確認されたとする報告はない。さらに、タイ類における粘液胞子虫汚染実態調査も行ったが、検出される *K. iwatai* が原因微生物なのか、無害な

寄生虫なのか不明な点が多い。今後さらに検体数を増やし、*K. iwatai* の起病性について検討を行いたい。

D-8. アニサキス食中毒の原因物質の同定

加工場ではなく、スーパーマーケットのバックヤード等において、短時間の加工（酢ジメ）だけで製造されるシメサバ製品を対象に、改めてアニサキスの検出に取り組み、シメサバ検体に生存虫体が検出されるかを確認したい。アニサキスによる感染の予防に関しては、-20℃以下・24 時間以上の冷凍によりアニサキスの幼虫は感染性を失う。刺身用の魚を冷凍後に提供する試みは、アニサキスの感染予防に極めて有用な方法である。一方で、冷凍の徹底や養殖サバの普及を一般化できない現状では、消費者への啓発が感染予防の鍵を握り、食の安全・安心を担保する上でも、重要な要件となる。

E. 結論

- ・広域散発 EHEC のアウトブレイク探知は NESID の情報と MLVA の解析結果を利用することで探知が可能であると考えられた。今後、情報収集の適時性が課題である。

- ・腸チフスの広域散発事例の調査方法構築に関する研究については、調査票は食材の絞り込みに有効であることが考えられた。

- ・広域散発例のアウトブレイク時によくデザインをしたインターネット調査を利用した対照の情報収集は有効である。

- ・旅行により発生した広域散発例は NESID の散発例発生時に問合せて広域散発的に発生する EHEC の調査票を活用した情報収集が可能な仕組みづくりが必要である。

- ・詳細、事件票を活用した食中毒発生要因分析と食中毒調査手法の課題抽出については、調理従事者等によるノロウイルス食中毒が大きな割合を占めている現状に合わせ、詳細様式を改訂する必要性が認められた。

・ EHEC 感染症で HUS を発症した患者を対象とする追跡研究では新たな死亡例は認められず、HUS 発症後 1 年以上の経過観察が出来た症例のうち、11.8%において後遺症が確認された。

・ 広域食中毒疫学調査ガイドラインの現場での活用方法について検討し、改訂の上、印刷媒体として各自自治体の担当部局、及び、広域事例調査に携わる保健所に送付した。

・ 宮城県および全国におけるアクティブサーベイランスを複数年について行うことで、下痢症患者の菌検出データを継続して収集し、下痢症発生実態の概略およびその動向の把握が可能となった。

・ 苦情処理事例集計から食品異物混入の被害実態の全体像の把握や HACCP 指導時に参照可能な異物混入実態データとして活用することが可能と考えられた。

・ 群馬県において流通食材汚染の把握や合同の研修会の開催は有用と捉えられた。

・ ウイルスによる広域食中毒事例の早期探知のためのシステムの改良を行った。

・ クドア食中毒において未解決であったヒト腸管内での生存性について結論を出せた。

・ 自家製のシメサバを使用したシメサバ寿司にアニサキス幼虫の寄生を認めた。予防に向けた注意啓発や販売店の指導など、この点の支援や啓発を継続する必要がある。

・ 本研究グループは多様な食中毒研究のプラットフォームとしての役割を果たした。

F. 健康危険情報

(総括研究報告書に掲載)

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tokuda K, Yahata Y, Sunagawa T. Prevention of secondary household transmission during Shiga toxin-producing *Escherichia coli* outbreaks. *Epidemiol Infect.* 2016

Oct;144(14):2931-2939.

- 2) Ohnishi, T., Fujiwara, M., Tomaru, A., Yoshinari, T. and Sugita-Konishi, Y.; Survivability of *Kudoa septempunctata* in human intestinal conditions. *Parasitol Res* 115: 2519-2522 (2016)
- 3) Ohnishi, T., Fujiwara, M., Tomaru, A., Yoshinari, T. and Sugita-Konishi, Y.; Cryopreservation of *Kudoa septempunctata* sporoplasm using commercial freezing media. *Parasitol Res* 116: 425-427 (2017)
- 4) Takeuchi, F., Ogasawara, Y., Kato, K., Sekizuka, T., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T. and Kuroda, M.; Genetic variants of *Kudoa septempunctata* (Myxozoa: Multivalvulida), a flounder parasite causing foodborne disease. *J Fish Dis* 39: 667-672 (2016)
- 5) Ohnishi, T., Lim, B., Nojima, N., Kunitoshi, O., Inagaki, S., Makitsuru, K., Sasaki, M., Nakane, K., Tsuchioka, H., Horikawa, K. et al.; Inter-Laboratory Study to Validate New Rapid Screening Methods for *Kudoa septempunctata*. *Biocontrol Sci* 21: 135-138 (2016)
- 6) Baird FJ, Morishima Y, Sugiyama H: Anisakis allergy and the globalization of food. In *Food Allergy: Molecular and Clinical Practice*, Lopata AA ed., CRC Press, Boca Raton. 2017. pp.155-175.
- 7) 杉山 広. 我が国における寄生虫性食中毒: 発生状況と原因食品の検査法. クリーンテクノロジー, 2016年8月号:24-27, 2016
- 8) 杉山 広. 過去に学ぶ食文化の誤認. 食衛誌, 57(3):J83-J85, 2016
- 9) 杉山 広. 食中毒としての食品媒介寄生虫症: 現状と検査の課題. 食微誌, 33(3):134-137, 2016
- 10) 杉山 広. アニサキスによる食中毒. 人と動

- 物の共通感染症研究会ニュースレター, 15:9-14, 2016
- 11) 大西貴弘, 都丸亜希子, 吉成知也, 鎌田洋一, 小西良子: 生鮮魚類の生食に関連した有症苦情事例残品に含まれる粘液胞子虫の検出, 食品微生物学会雑誌 2016, 33(3), 150-154
2. 学会発表
- 1) Takahiro Ohnishi, Rie Oyama, Hiroko Furusawa, Natsuki Ohba, Yoichi Kamata, Yoshiko Sugita-Konishi, : *Kudoa septempunctata* was Recognized by Toll-like Receptor 2, IAFP's European Symposium, 2016, 5, アテネ
 - 2) Masatomo Morita, Takehito Saitoh, Hidemasa Izumiya, Tomimasa Sunagawa, Kazunori Oishi, Makoto Ohnishi. : Molecular epidemiological analysis of *Salmonella enterica* serotype Typhi from patients without histories traveling abroad. 49th U.S.-Japan Conference on Cholera and Other Enteric Bacterial Infections. Jan.14-16, 2015
 - 3) K. Kubota, H. Amanuma, K. Tamai, M. Shimojima, T. Yamashita, Y. Sakurai, M. Komatsu, F. Kasuga. Comparison of the estimated burden of foodborne illness for *Campylobacter*, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan between two sets of differently sized active surveillance data for 2006-2013. 食品微生物に関する国際集会 2016 (Foodmicro2016)、ダブリン、アイルランド、2016年7月
 - 4) Kunihiro Kubota, Hiroshi Amanuma, Emiko Iwasaki, Kiyoko Tamai, Masahiro Shimojima, Tomonari Yamashita, Mayumi Komatsu, Fumiko Kasuga. Estimating the burden of foodborne illness for *Campylobacter*, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan, 2006-2013. 国際食品保全学会 2016 年次総会 (International Association for Food Protection 2016 Annual Meeting)、セントルイス、米国、2016年8月
 - 5) 窪田邦宏、天沼 宏、桜井芳明、小松真由美、玉井清子、坂上武文、滝 将太、霜島正浩、山下知成、春日文子
 - 6) カンピロバクター、サルモネラ、腸炎ビブリオに起因する食中毒被害実態の推定、2006~2013年
 - 7) 第 112 回日本食品衛生学会学術講演会 (2016年10月)、函館市
 - 8) 小林美保、永井佳恵子、高山真津香、齋藤麻理子、中野剛志、黒澤 肇、藤田雅弘、猿木信裕. 市販鶏肉及び生野菜における食中毒原因菌汚染実態調査. 平成 28 年度関東甲信静支部細菌研究部会総会・研究会、山梨県、2017年2月9-10日
 - 9) 大西貴弘, 藤原真里奈, 都丸亜希子, 吉成知也, 小西良子: ヒト腸管環境における *Kudoa septempunctata* の生存性, 第 37 回日本食品微生物学会学術総会, 2016.9, 東京
 - 10) 高原理, 八幡裕一郎, 砂川富正, 杉下由行, 濱田 (佐藤) 奈保子, 松井珠乃, 大石和徳, 岡部信彦. 小児の散発例における腸管出血性大腸菌 non-O157 感染症のリスクに関する検討. 第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会プログラム・抄録集. 2016;43.
 - 11) 丸山絢, 八幡裕一郎, 三崎貴子, 岡部信彦. 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—続報—. 第 75 回日本公衆衛生学会総会. 日本公衆衛生学雑誌, 2016;63(10 特別付録):242.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
 - ・取得特許「寄生虫の検出方法、及び、キット」

(特許 5830771)平成 27 年 11 月 6 日 菊池裕、
小西良子、大西貴弘

2. 実用新案登録

なし

3.その他

なし