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

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

平成26年度～平成28年度　総合研究報告書

研究代表者　　砂川　富正

平成29（2017）年３月

目　次

平成 26-28 年度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

「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	岡部　信彦	川崎市健康安全研究所長
研究分担者	小澤　邦寿	群馬県衛生研究所長（前）
研究分担者	猿木　信裕	群馬県衛生研究所
研究分担者	山口　亮	北海道釧路保健所（現札幌市豊平区保健福祉部）
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 3 年間に渡る目的は、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った。各研究項目について列挙する。まず広域で散発的に発生する腸管出血性大腸菌に対して、分子サブタイピングを利用した症例対照研究の調査方法についての実施可能性の検討を行った。感染症サーベイランスシステムのサブシステムである感染症発生動向調査(NESID)と Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis (MLVA) を利用した広域散発的に発生するアウトブレイクの探知は利用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が考えられた。次に、我が国では散見される細菌性赤痢、腸チフス及び A 型肝炎の散発例の原因究明について調査票を作成し、分子サブタイピングの情報提供と合わせ原因の検討を試みた。さらに、腸管出血性大腸菌感染症散発例のリスクの推定及び散発例に対する優先すべきリスクの検討を行った。また、広域散発例の対照群調査としての利用可能性について検討を行った。海外で行われている分子疫学的に同一の遺伝子型を症例とし、同一遺伝子型ではない者を対照とした症例対照研究の実施の検討が早期対策へ向けての今後の課題である。広域散発例のアウトブレイク調査でインターネットを利用した対照群調査は症例の家族や同行者を対照とした場合よりも利用が可能であると考えられた。旅行に関連した広域散発例は探知が難しい事が考えられた。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。次に、我が国では年間千件程度の食中毒事件が報告され、食品衛生法に基づき食中毒事件詳報（詳報）として報告がなされている。詳報は事例報告のみならず、同様の事例を予防するための資料としても重要である。2016 年 7 月までに国内で発生したノロウイルス事例に関して 5 つの自治体担当者へのヒアリングを行ない、食中毒事例の疫学調査で必要な事項を抽出した。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報の様式を改定する必要がある。NESID 登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究としては、感染症発生動向調査で報告された疾患のうち、食品媒介感染症であるコレラ、細菌性赤痢、EHEC 感染症、腸チフス、パラ

チフス、E 型肝炎、A 型肝炎を対象として、それらの発生状況とその詳細を解析した。関連して、EHEC 感染症で(HUS)を発症した患者の発症から数年経過した後の中・長期的な予後を明らかにするための追跡研究を、全国 550 例（2008～2014 年に発症、診断時年齢 30 歳未満）を対象に実施した。調査票を用いた郵送による追跡調査をおこなった。HUS 発症後 1 年以上の経過観察がされている HUS 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。本研究班の中心的な活動である、広域食中毒疫学調査ガイドラインの現場での活用については、海外を含む最新の知見を反映し改訂を行っている。改訂が必要な箇所を明らかにし、ケーススタディの実施による意見の収集、研修での事前アンケート、を行った。最終的に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ている。食品由来感染症患者数の推定については、散発発症患者を含めた胃腸炎疾患の患者数を推定するため、宮城県の臨床検査機関の協力により、医療機関から検査依頼された下痢症検便検体からの病原菌検出数に関するアクティブ（積極的）サーベイランスを 2005 年から継続して行っている。全国を対象とした電話住民調査を 2014 年夏と 2016 年夏に実施し、最新の下痢症発生率、医療機関受診率および検便検査実施率を把握した。2016 年度は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った。なお、食品中の異物混入事例の国内状況を明確に把握できるような情報は少ないことから、2016 年度は全 142 自治体における異物混入の苦情処理を行った事例を集め、異物混入事例の全容、食品への異物混入においてリスクの高い組み合わせや混入工程等を把握し、それらの HACCP 指導に役立つ基礎データとすることを目的とした研究が行なわれた。

自治体における研究としては、2014 年度及び 2015 年度は研究分担者として川崎市においてアトリビューションにかかる推定を試行し、自治体における実施の可能性を検討した。2016 年度は研究協力者として川崎市内における症例調査を実施し、研究分担者へデータ提供を行った。具体的には、調査期間内において、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 O157,026,O111）感染症患者の症例調査及びインターネットによる対照群調査を実施した。本研究のような症例対照研究では、対照データの収集に時間を要することから、アウトブレイク発生時における対策へいかに応用し、原因食品の遡り調査を実施するかは、今後の課題であるが、自治体における症例対照研究は、長期的な食中毒対策に利用できると考えられた。また、川崎市においては、2014 年度は、腸管出血性大腸菌 O157 の分子疫学解析に用いられる IS-printing 法（IS 法）について、PCR 法による遺伝子増幅後に通常行っているアガロースゲル電気泳動の代替として、迅速性の高い遺伝子解析装置であるマイクロチップ電気泳動装置（MultiNA）を用いてより的確に解析を行うための検討を行った。平成 2015-2016 年度は、腸管凝集性大腸菌（EAEC）について表現型及び遺伝子学的特徴に基づく流行状況について調査を行った。群馬県における広域食中毒対策の導入と改善策の研究として、2014 年度及び 2015 年度に EHEC 感染症の早期探知・早期診断システムの構築、流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査、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の 3 項目に関して調査研究が実施された。

ウイルスによる食中毒か否かの判断や調理従事者からの二次汚染の有無の判断などを行うためには，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ことが重要である。研究班においては迅速な相同性解析や遺伝子型別を行うために，ローカル Blast 検索システムおよび ClustalW を基本プログラムとした自動遺伝子型別システムの開発がなされた。3 年間にわたり本システムを利用し，研究協力地方衛生研究所と塩基配列データの共有を試行的に実施した。

また、分担研究者によりヒラメの生食による原因物質不明の有症事例はクドアが原因であることをこれまでの研究で明らかにしてきたが、ヒラメ以外の魚の生食による有症事例も多発しており、本研究ではヒラメ以外の魚による有症事例およびヒラメのクドア食中毒についても実態調査や未解決の課題に取り組んだ。

2015 年度の保健所を代表しての参画としては、2-3 自治体にわたって患者発生があった食中毒事例の保健所間の連携について検討がなされた。具体的には 2012 年に札幌市で発生した白菜きりづけを原因とする腸管出血性大腸菌による食中毒事例対応について検証を行った。2016 年度の活動については、海産魚介類を感染源とするアニサキス食中毒が、自家製のシメサバ寿司より複数の生存個体が発見され、魚の冷凍や養殖魚の利用などはアニサキスの感染防御に極めて有効な方法ではあるが、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。

以上のように、3 年間に渡り広域対応への視点を中心に、多様な種類の病原体、かつ保健所間の連携からトレーニング、ガイドラインの策定まで、現場の問題に即したプラットフォーム的な食中毒研究の場として活動が行われたことが、本研究班の大きな特色であった。

A.研究目的

A-1.1. 腸管出血性大腸菌感染症国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

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検討を目的とする。

A-1.2. 細菌性赤痢・腸チフス・A 型肝炎の国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

本研究は細菌性赤痢、腸チフス及び A 型肝炎の広域散発例の調査方法の実施可能性の検討を行うことを目的とした。

A-1.3. 腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発事例における症例対照研究の実施可能性の検討、リスクの推定及び人口寄与危険率の算出試みの検討

広域散発例のアウトブレイク調査については、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。アトリビューション調査については、腸管出血性大腸菌 O157 の散発例における人、環境、動物、水などの曝露及び食品（牛肉、牛内臓肉、牛ミンチ肉、その他肉類、野菜、果物など）の曝露（喫食）による発症リスクを検討した。

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

本研究は EHEC の広域散発的発生で、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

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. NESID 登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究および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

NESID 登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究については、感染症発生動向調査で報告される食品媒介感染症について、国内感染例の推定感染原因・感染経路を含めた記述疫学をまとめるとともに、2014～2015 年の発生状況と主なアウトブレイク事例の詳細を解析し、現在の食中毒事例の問題点を探り、今後の食中毒予防に必要な対策を明らかにすることを目的とした。対象は、全数把握疾患（1－5 類）のうち、主に 3 類感染症（コレラ、細菌性赤痢、EHEC 感

染症、腸チフス、パラチフス）と4類感染症のE型、A型肝炎である。EHEC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ついては、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

2014年3月31日に策定された「広域食中毒疫学調査ガイドライン」（以下ガイドライン）は広域事例の検出・調査手法に関する整理を行い、より実効性の高い広域事例の検出・調査のあり方について提言するものであった。本研究分担では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し、この結果をガイドラインへの反映を目的とした。

A-4.1. 食品媒介感染症被害実態の推定

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、これにより各種下痢症患者数推定を行い、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すると同時に、そのようなシステムを日本に導入する際に検討すべき特徴の把握を行ってきた。

A-4.2. 異物混入被害実態の把握

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を集めることで、異物混入事例の全容、食品や混入異物の種類、食品への異物混入においてリスクの高い組み合わせや混入工程等を把握し、それらの低減対策指導に役立つ基礎データとすることを目的とした。

A-5.1. 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

国内の自治体においては症例数が少なく、リスク評価が困難であることから、対策が検討されていない。本市では、2012年度からEHEC感染症散発事例のリスク推定の試行を開始し、2014年度及び2015年度は分担研究者として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した。2016年度は研究協力者として本市における症例調査を実施し、八幡研究分担者へデータ提供を行う。

A-5.2. 川崎市における下痢原性大腸菌の分子疫学解析法の検討及び流行状況等に関する調査

2014年度における研究としてはIS-printing System（IS法）の測定のうち、ゲル電気泳動および染色・洗浄部分の代替として、MultiNAを用いた測定を行い、そこから得られるゲルイメージにおいてIS法の解析が的確に行えるよう検討を行った。2015-2016年度における研究としては、EAECの表現型及び遺伝子学的特徴について調査を行うことで流行状況の検討を行った。

A-6. 地域レベルにおける広域食中毒対策方法の導入と改善策の研究

腸管出血性大腸菌感染症の早期探知・早期診断システムの構築については、広域に及ぶEHEC事例では、その感染を早期に探知し、速やかに二次感染防止を図ることが必要である。そこで、地域の保健所と医療機関、当研究所で連携し、EHEC感染症の早期探知システムの構築及びその運営について検討する。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、一般に流通する食材を対象として食中毒原因菌による汚染状況を調査し、事前にリスクを把握するとともに、食中毒対策に係る資料として監視や指導に活用する。また、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を検証した。すなわ、事例においての情報収集や動向監視、情報共有体制は、担当者の経験や技術に依存する部分が大きく、人材育成によるスキルの向上及び認識の標準化は急務であると考えられる。そこで、地域レベルにおける広域食中毒の調査手法等を習得するための研修会を開催し、研修によって得られる効果やその開催方法を検討する。

A-7. ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討

本研究では迅速な相同性解析や遺伝子型別を行うために，エクセルファイルをデータソースとするローカル Blast 検索システムおよび 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することを目的とした。

A-8. 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

近年、魚の生食による有症事例が多発している。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ている。ヒラメ以外の魚の生食に伴う有症事例についても、原因物質の候補に対しては定量及び定性的な検査法を作成し、さらに詳細な検討を行う必要がある。また、ヒラメにおけるクドア食中毒に関してもヒト腸管内における生存性や病態のメカニズムを明らかにする。

A-9. 広域食中毒事例調査における保健所間の連携に関する研究

地域においても２自治体、３自治体以上にわたって患者発生があった事例は広域食中毒事例としての対応となる。保健所間における広域事例への連携について報道資料の内容から検討してみたい。

A-10. アニサキス食中毒の原因物質の同定

本研究では、従来余り検査がなされてこなかったシメサバ製品やマアジ等におけるアニサキスの寄生状況を調べた。

B.研究方法

B-1.1. 腸管出血性大腸菌感染症国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

2015 年度は、感染症発生動向調査に報告された EHEC 感染症の患者のうち、散発例で自治体から疫学情報及び Multi-Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA)法の情報提供があった患者を対象として 2 つで検討を行った。疫学情報は研究班で開発した調査票を利用し症例対照研究を行った（症例定義は分担報告書を参照のこと)。2016 年度は感染症発生動向調査に EHEC の届け出があり、クラスタ（施設あるいは家庭等における複数例の発生）以外で自治体から協力の得られた患者のうち、10 月 1 日から 11 月 31 日までに国内で協力の得られた自治体で少なくとも 1 つ以上の消化器症状（下痢、血便、腹痛）を呈した者のうち MLVA complex が 16C008 であった者を症例はとし、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. 細菌性赤痢・腸チフス・A 型肝炎の国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

2014 年度は過去に報告されたリスク因子、リスク評価、調査マニュアルを収集し、これらの情報をもとに、細菌性赤痢、腸チフス、A 型肝炎、E 型肝炎の広域散発例の調査票を作成した。2015 年度は NESID に報告された細菌性赤痢患者、腸チフス患者及び A 型肝炎患者のうち、散発例として報告された患者に対して調査票を依頼ベースで送付した。また、分子サブタイピングの情報を MLVA 法あるいはシークエンスによる解析の情報提供があった患者を対照とした。疫学情報は研究班で開発した調査票を利用するものとした。症例定義は以下とした（分担研究報告書を参照のこと)。2016 年度は感染症発生動向調査における腸チフスの国内例を対象とした。患者の発生届出が報告された自治体に対して調査票を送付し、情報提供依頼を行った。

また、患者が集積した A 保健所は、積極的症例探索、保健所における患者への聞き取り調査、立ち入り調査、さかのぼり調査、検便を行った。さかのぼり調査は A 保健所が実施し、流通元を所管する自治体が別に存在する場合は A 保健所より所管する自治体に対して調査協力依頼を行った。病原体解析は国立感染症研究所細菌第一

部がMLVA法にて解析し、A保健所が解析情報を収集した（症例定義は分担研究報告書を参照のこと）。

B-1.3.　腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発事例における症例対照研究の実施可能性の検討、リスクの推定及び人口寄与危険率の算出試みの検討

広域散発例のアウトブレイク調査について、症例定義は2009年11月1日-2010年月1月14日にレストランチェーンAの利用者で利用後14日以内に消化器症状（下痢、血便、腹痛）を呈し、腸管出血性大腸菌O157VT2またはVT1VT2産生が分離同定された者とした。症例対照研究は対照を保健所による症例の家族及び症例の調査とし、マッチングをした症例対照研究の対照を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。

アトリビューション調査については、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用いた。症例は消化器症状（腹痛、水様性下痢及び血便、嘔吐症状）の何れか1つを呈し、腸管出血性大腸菌O157が分離・同定された者でかつ集団発生例を除いた患者で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の者を抽出した。対照の抽出は男女とも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歳-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。オッズ比の算出は条件付きロジスティック回帰分析を用いた。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。

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

症例対照研究とし、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、以下を満たした者を症例とした（症例定義は分担研究報告書を参照のこと）。対照は症例の同行者とした。

B-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

2016年1月～5月上記期間に報告された食中毒事件詳報（詳報）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。ノロウイルス食中毒事件に関してより詳細に調査の状況を把握するため、2016年8月1日、厚生労働省にて、詳報を提出した複数の自治体（A, B, C, D,E）からヒアリングを実施した。報告様式や報告システムの課題抽出を試み、分担研究者により詳報の改正案を提言した。

B-2. NESID登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究および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

NESID登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究については、感染症発生動向調査において、2014年診断第1週～2015年第53週（疫学週）までの二年間で、患者の性、年齢、診断日、推定感染地、推定感染原因、感染原因である病原体とその血清型や毒素型、遺伝子型等の情報を対象項目とした。EHEC感染症でHUSを発症した患者を対象とする追跡研究については、2008～2014年に感染症発生動向調査で3類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。「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」の作成を行い、臨床医からも意見を聴取し、質問の明確さや回答のしやすさ等細かい部分も含めて調査票に反映させた〔Ⅰ．医療施設への通院状況、Ⅱ．急性期における情報、Ⅲ．予後（調査票記入時または最終診察時）、Ⅳ．後遺症〕。調査票は 2016 年 8 月 19 日～10 月 31 日の間の記入と返送を依頼した。一部直接訪問して説明と依頼を行った。

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

ガイドラインの活用としては、自治体での活用を図るために、インターネット上で公開し、自治体の担当者から活用における意見の収集を行った。海外知見の情報収集と検討を行った【2014 年度】。ケーススタディの実施による意見の収集、ベテラン監視員の経験を動画資料としてまとめることで、現場における調査の基礎を学ぶための教材を作成することとした。自治体での活用を図るために、感染症疫学調査研修で事前アンケートを行い、結果を勘案しガイドラインの改訂を行った【2015 年度】。指摘された改善点に基づき、内容の充実を図った。ガイドラインの印刷、動画教材の DVD プレスと自治体への配布を行った【2016 年度】。

B-4.1. 食品媒介感染症被害実態の推定

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、宮城県の臨床検査機関からの同県のデータの収集を行い、さらに民間検査機関からの全国の検便の結果を集計した。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では全国および宮城県内の一般家庭をランダムな調査を行った。さらに厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）のデータについては、統計法 32 条に基づく目的外利用申請により一部を入手した。宮城県における食品由来下痢症患者数の推定、宮城県についての推定結果から全国における食品由来下痢症患者数を推定した。JANIS データについては、JANIS へのデータ提出医療機関の住民カバー率による補正を行い、その結果を下痢症患者の医療機関受診率および医療機関における受診者の検便実施率の推定値とともに推定モデルに導入することにより各菌による推定患者数を算出した。

B-4.2. 異物混入被害実態の把握

全 142 自治体へ 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 2014 年度、2015 年度、2016 年度（4～11 月）の報告数について依頼した。製造、加工、調理現場における混入が判明している事案について、詳細を記入してもらった。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も行った。

B-5.1. 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

マッチングした症例対照研究を川崎市内で散発例として報告された EHEC 0157,026,0111 感染症患者を症例として行った。対照は、インターネット調査会社に登録し調査参加に同意した者とした。対照の抽出は、1 症例毎に、年齢階級及び居住地（郵便番号上 3 桁）が一致した者を男女ともに 10 人ずつ無作為に抽出することとした。10 人に満たない場合は全員を抽出することとした。標準調査票をもとにオッズ比を算出した。なお、（倫理面への配慮）として「国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査」を受け、承認されている（受付番号 521）。

B-5.2. 川崎市における下痢原性大腸菌の分子疫学解析法の検討及び流行状況等に関する調査

実験に関する詳細は分担研究報告書を参照のこと。2014 年度は MultiNA による IS 法測定に用いる試薬の調整と機器の設定、1st 及び 2nd set primer sample の測定結果の解析法の検討、1st set primer sample の解析に適した ladder の検討、2nd set primer sample 及び positive control

との比較のためのチップ間の検出サイズ誤差の検討、ゲルイメージによる結果解析に適したサンプル濃度の検討、事前検討（定法に準拠した方法による検討)、高濃度の遺伝子増幅産物を得るための検討､PCR 反応液全体量の違いによる比較検討、template 添加量及び調整法の違いによる比較検討、測定サンプルの希釈倍率の検討を行った。2015-2016 年度については、PCR 法による aggR 遺伝子の検出により分離された EAEC40 株を供試菌株とし､O:H 型別､薬剤感受性試験、凝集性付着線毛遺伝子を PCR 法にて検出を行った。

B-6. 地域レベルにおける広域食中毒対策方法の導入と改善策の研究

腸管出血性大腸菌感染症の早期探知・早期診断システムの構築として、当該医療機関において、腹痛やおう吐、下痢等の消化器症状を呈した患者を診察した医師が EHEC 感染を疑った際には、管轄の保健所へ連絡するとともに、患者の同意を得て当研究用の検体（糞便等）を採取した。採取された検体は保健所の担当者により当研究所へ搬入され、検査を実施した。広域事例が疑われる場合には、菌株の相同性を MLVA 法で解析した。検体搬入からおおむね 2 日で VT 産生性及び VT 遺伝子の有無が判明､EHEC であるかが判定でき、検査結果は保健所を通して速やかに医療機関へ報告した。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、2014 年度から 2015 年度にかけて県内で購入した肉類（牛、豚、鶏)、野菜類、魚介類、鶏卵等計 101 点を検査材料とした。感染症・食中毒業務担当者を対象とした疫学研修を実施し、質問票調査も実施した。

B-7. ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討

3 年間にわたり，塩基配列データを FASTA 形式とエクセル形式の相互に変換するプログラムの開発、Blast 検索を実行し，問い合わせ株に対し類似性が最も高い株の類似度や遺伝子型等の情報を還元するプログラムの開発、塩基配列データをもつ 2 つのエクセルファイルを統合するプログラムの開発、及びそれぞれの改良を行った（Query 指定株ごとに Reference に指定した株に対して ClustaW を実行するプログラムの追加など)。システムの有用性や課題の検証を行った。

B-8. 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

ヒラメ以外の魚の生食に関わる有症事例の調査について、監視安全課より事務連絡が発出され地方自治体から有症苦情事例の残品および情報の取集、検体の検査（遺伝子検査を含む）を行った。ユニカプスラの検査法としての定性 PCR 法および定量リアルタイム PCR を確立した。タイ類における粘液胞子虫の汚染実態調査を行った。ヒト腸管環境におけるクドアの生存性の検討、クドア食中毒発症におけるアレルギーの関与の検討、国内食中毒分離クドア株の遺伝子型別、ウマヅラハギにおけるクドアの汚染実態調査、クドア迅速検査法の検討、ヒラメ組織中におけるクドア栄養体の検索、クドアの凍結保存法の確立を行った。

B-9. 広域食中毒事例調査における保健所間の連携に関する研究

資料は 2011 年、2012 年、2013 年の全国食中毒事件録（厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）及びニフティ新聞雑誌横断検索における報道資料を用いた。

B-10. 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市販のシメサバ 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。2016 年 4～12 月に都内の回転寿司店 3 箇所で購入したシメサバ寿司 72 検体を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。日本海・東シナ海で漁獲

され長崎港に陸揚げされたマアジを 2016 年 1～12 月に東京の鮮魚店で各月 10 尾ずつ購入し，検査の対象とした。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を聞き取りやウェブサイトからの情報収集として行った。

C.研究結果

C-1.1. 腸管出血性大腸菌感染症国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

2015 年度に定義１（省略）に基づいた解析結果、キムチの喫食はオッズ比（OR）が 5.21（95%信頼区間［95%CI］: 1.06‐25.50）で EHEC O157VT1,2 による発症と有意な関連があった。定義２に基づいた解析で、牛ホルモン（OR=16.80, 95%CI: 1.53‐184.91）及びキムチ（OR=7.50, 95%CI: 1.25-45.15）が EHEC O157VT1,2 による発症と有意な関連があった。自治体からの情報で、さかのぼり調査で牛ホルモンは一部同一の症例に対して同一の流通元からの喫食した患者がいた事が報告された。また、キムチについては店舗での手作りであった。2016 年度は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. 細菌性赤痢・腸チフス・A 型肝炎の国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

2014 年度は各種調査票を作成した（E 型肝炎を含む）。2015 年度は細菌性赤痢として 19 例のうち、3 例の MLVA type が一致しており、魚介類の喫食が共通であったが、さかのぼり調査は行なわれていない。2016 年度については腸チフスについてまぐろの喫食が共通であったが、汚染原因については情報が得られなかった。

C-1.3. 腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発事例における症例対照研究の実施可能性の検討、リスクの推定及び人口寄与危険率の算出試みの検討

広域散発事例に含まれる症例は 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）の利用者であった。症例は 18 店舗の利用者から報告があった。店舗が所在する都道府県数は 5 つであった。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 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（輸入肉）、患者と同一の PFGE パターンを有する O157 が検出された。人口寄与危険割合（PAR%）の算出については、PAR%は「十分に加熱した牛ホルモン喫食」のみが算出された（PAR% 47.2%）。

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、HUS が 4 人（20%）、腸重積が 1 人（5%）、入院が 11 人（55%）であった。さとうきびジュースの曝露と発症との関連の解析はオッズが 25.15（95%信頼区間: 4.68-∞）で有意な関連があった。PFGE 解析で症例の遺伝子が一致した。さとうきび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

自治体より報告された詳報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。流行曲線など記述疫学の方法の説明は不十分で、解析疫学の方法や結果が十分に記載されていなかった。詳報事件数の過半数を占めるノロウイルス事件において、調理従事者を原因とするものが目立ったが、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、調査法の問題点が見えにくい状況であった。ノロウイルス事例発生自治体５自治体を対象にヒアリングが

行われた。

C-2. NESID 登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究および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

NESID 登録の食品媒介感染症の把握と解析については、分担研究報告書を参照のこと。EHEC 感染症で HUS を発症した患者を対象とする追跡研究においては、回収率は約 60%で、HUS に関係する後遺症に関しては経過観察期間が 1 年以上ある 144 例中 17 例（11.8%）に認められた。

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

ガイドラインに記載されたケーススタディを試行したところ、複数の改訂が有効と示唆された。また、インターネット上（NESFD および地方衛生研究所ネットワークホームページ）にガイドライン（2013 年度版）を掲載し、自治体の担当者から活用における意見を収集し、さらに海外知見の情報収集やアンケート調査を実施し、ガイドラインを改訂した。食中毒調査の動画教材について、DVD として自治体担当部局へ送付することとした。

C-4.1. 食品媒介感染症被害実態の推定

食品由来感染症患者数の推定については宮城県でのアクティブサーベイランス、及び全国のデータから、10 年間（2006～2015 年）の全国の食品由来下痢症実患者数を推定し全国の食中毒患者報告数と比較したところ、Campylobacter では約 3,000～5,600 倍、Salmonella では約 580～3,000 倍、Vibrio parahaemolyticus では約 220～1,800 倍の患者が存在している可能性が示された。

C-4.2. 異物混入被害実態の把握

調査を依頼した全 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、硬質と判断される異物が事業所で混入した事例の件数は 1,524 件であった（事業所での全異物混入事例約 3 割）。健康被害があった事例として報告された 236 件のうち、硬質異物 214 件およびそれ以外の異物によるもの 22 件について、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」が見られ、硬質ではない異物による健康被害は「ビニール片」、「輪ゴム」、「合成樹脂片（柔らかいもの）」によるものであった。

C-5.1. 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

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、2014 年度には食品を取り扱う仕事（aOR＝5.49, 95％CI:1.47-20.51, p＝0.011）及び保育関係の仕事（aOR＝25.74, 95％CI:1.98-∞, p＝0.015）において有意な関連があり、2015 年度には同居家族に血便（aOR＝23.62, 95％CI:2.91-∞, p＝0.016）、同居家族に腸管出血性大腸菌感染症患者等（aOR＝23.67, 95％CI:2.90-∞, p＝0.016）において、有意な関連があるなどの結果が得られていた。

C-5.2. 川崎市における下痢原性大腸菌の分子疫学解析法の検討及び流行状況等に関する調査

2014 年度は 1st 及び 2nd set primer sample の測定結果の解析法、1st set primer sample 解析に適した ladder の検討、2nd set primer sample 及び positive control との比較のためのチップ間の検出サイズ誤差の検討、ゲルイメージによる結果解析に適したサンプル調整及び濃度の検討、PCR 反応液全体量の違いによる比較検討、template 添加量及び調整法の違いによる比較検討、測定サンプルの希釈倍率の検討が行われ、2015-2016 年度は O：H 型別、薬剤感受性試験、凝集性付着線毛遺伝子の検出が行われた（最も多く検出されたのは aggA で 11 株）。

C-6. 地域レベルにおける広域食中毒対策方法の導入と改善策の研究

腸管出血性大腸菌感染症の早期探知・早期診断システムが2014年11月から2016年3月まで稼働した。群馬県内8医療機関から各保健所を通じ15症例の検体が搬入された。うち4歳男児及びその弟（2歳）の便から0157（VT2産生）が分離された。少数ではあったが、早期探知・早期診断システムにおける連絡体制や検査体制に問題はなく、円滑に進んだことが確認された。流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査としては、2015年度には鶏肉からカンピロバクタージェジュニやサルモネラ04群が検出された例があった。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、約9割が有用と回答したが、「広域食中毒疫学調査ガイドライン」についての設問では、「研修に参加して知った」が61%（11/18）であった。

C-7. ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討

システムの開発はほぼ計画どおりであり、3年間にわたりシステムを利用し，研究協力地方衛生研究所と塩基配列データの共有を試行的に実施した。ノロウイルス等の塩基配列データベースに対する相同性(Blast)検索および系統樹解析の作成作業は概ね10分以内で終了することができた。また、次世代シークエンサーで解読された塩基配列データについて本システムのBLAST システムを利用し遺伝子型別を実施出来た。

C-8. 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

ヒラメ以外の魚の生食に関わる有症事例の調査が行われた。ユニカプスラについては顕微鏡検査法及び定量リアルタイムPCR法を確立した。ヒト腸管環境におけるクドアの生存性、クドア食中毒発症におけるアレルギーの関与を検討した。国産ヒラメによる事例から分離された9株の遺伝子型別を調べたところ、ST1が2株(22%)、ST2が7株（78%)、ST3は分離されなかった。クドア迅速検査法の検討や、クドアの凍結保存法の確立を行った。

C-9. 広域食中毒事例調査における保健所間の連携に関する研究

平成24年8月札幌市で発生した白菜のきりづけを原因食品とする腸管出血性大腸菌による食中毒は死者の最も多かった札幌市で発生し、患者は札幌市内のみならず、北海道、そして道外へも広がりをみせた。札幌市と北海道の連携について、報道から以下の大きな指摘を２つ受けた。

１）流通先の公表が札幌市が8月14日夜であったのに対し北海道は8月15日午前であった。

２）8月22日に北海道が主催して開催された合同会議に札幌市が欠席したこと。

C-10. アニサキス食中毒の原因物質の同定

自家製シメサバを使用する回転寿司店舗より購入し検査した40中7検体から計14隻のアニサキス幼虫が検出された。うち3隻は生存していた。加工品のシメサバを用いた寿司を販売する店舗では、32検体全て陰性であった。マアジについても120尾中65尾(54.2%)と多かった。アニサキス感染リスクに対するサバ加工品製造者および鮮魚販売者の対応（アニサキス幼虫の除去）について情報収集を試みたたところ、直接観察法や紫外線照射、サバの刺身・寿司には切り目を入れるなどの工夫がなされていた。

D.考察及びE.結論

1.1. 腸管出血性大腸菌感染症国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

我が国において分子サブタイピングを利用した症例対照研究の実現性があると考えられ、2016年度にはより具体的に広域散発EHECアウトブレイク探知がNESIDの情報とMLVAの解析結果を利用することで可能と考えられた。また、

広域散発的に発生するEHECの疫学調査票は原因の検討に利用可能であると考えられた。今後、MLVA解析結果の適時性のある情報収集の仕組みづくりが必要であると考えられた。

1.2. 細菌性赤痢・腸チフス・A型肝炎の国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

過去に報告があったリスクとなる食品をチェックリストに追加をし、調査期間を潜伏期の2倍に変更した。改訂後に発生した広域散発的腸チフスのアウトブレイクは汚染されたまぐろの喫食による感染の可能性が否定できなかった。広域散発的に発生する腸チフスの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。

1.3. 腸管出血性大腸菌O157感染症の散発事例における症例対照研究の実施可能性の検討、リスク推定及び人口寄与危険率の算出試みの検討

2014年度のデータから生、半生及び十分加熱した牛肉は、EHEC O157感染症発症のリスクであるとともに優先順位の高い人口寄与危険割合であった。また、プールなどの利用も腸管出血性大腸菌O157感染症の発症リスクでかつ優先順位の高い人口寄与危険割合であったことから、今後は早期対策に寄与するための方法について検討が重要であると考えられた。2015年度のデータからPAR%より十分に加熱したホルモンの喫食が最も優先するO157対策であると考えられた。

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

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で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と考えられた。

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

3つの調査を実施した結論として、詳報様式を改訂する必要性が認められた。そのためには、標準的な調査手法に基づき調査を行い、記述疫学（および解析疫学）を詳報で報告することが重要である。また、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報の様式を改定する必要がある。

2. NESID登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究およびEHEC感染症でHUSを発症した患者を対象とする追跡研究

2014～2015年にNESIDへ報告された3,4類感染症の食品媒介感染症に該当する7疾患について、動向・推定された感染原因・経路についての詳細な解析を行った。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、対象HUS発症例で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17例（11.8%）において後遺症が確認された。これらの症例の中長期的な予後の評価は出来なかった。

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改訂の上、印刷媒体として各自治体の担当部局、および、広域事例調査に携わる保健所にDVDと共に発送した。今後の速やかな広域散発事例がの探知につながることが期待される。

4.1. 食品媒介感染症被害実態の推定

食品媒介感染症被害実態の概要を図4に示した。宮城県および全国におけるアクティブサーベイランスおよびJANISデータの活用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。

4.2. 異物混入被害実態の把握

苦情処理事例の集計から、食品における異物混入の被害実態の全体像が把握された。特に事

業所における混入事例について、食品分類および異物の種類の組み合わせを検討することで、各食品分類において起きやすい異物混入の概要が得られた。本調査により硬質異物の危険性が確認され、混入が起こる作業工程の基礎データが得られ、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。

5.1. 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

自治体における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。本結果を踏まえ、今後自治体と国立感染症研究所が連携して散発事例の原因究明に取り組むべきと考える。

5.2. 川崎市における下痢原性大腸菌の分子疫学解析法の検討及び流行状況等に関する調査

ladder の LM を手動により設定を行う際に人為的ミスが起こる可能性やエキストラバンドの発生により機器が UM や LM の誤判定を起こすことや、本来のバンドの波形に影響を与える可能性があるなど、今後も株数を増やし検討を続ける必要があると考えられる。

6. 地域レベルにおける広域食中毒対策方法の導入と改善策の研究

食品・食材流通網のグローバル化や提供する市販食材の食中毒原因菌による汚染状況を事前に把握しておくことは、広域食中毒事件における疫学調査で、原因究明に向けた有用な情報となるだけでなく、消費者に対する食中毒防止や二次感染対策の啓発に活用できる資料となる。食中毒事例で疫学調査を行う担当者については、初期探知における適切な判断に基づいた疫学調査が必要である。それらを処理する手法を習得している必要があり、そのためには研修会等のスキルアップを図る機会を定期的に設けることが大切である。その内容に関しては、担当者のニーズを把握し、実践的な研修を展開することが、効果的な人材育成となり、広域的な食中毒事例の原因究明に寄与する取組となる。

7. ウイルスを主とした広域事例調査手法検討

ウイルスによる散在型集団食中毒事例の早期探知のための株間の相同性解析や食中毒検査における迅速な遺伝子型別検査を実施可能とするために，エクセルファイルをデータソースとするローカルデータを対象とした BLAST 検索システムおよび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。

8. 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

3 年間の研究でヒラメ以外の魚が原因食と思われる有症事例の実態が明らかになり、多くから粘液胞子虫が検出された。カンパチ喫食に伴う有症事例ではユニカプスラが疑われることが明らかになった。魚生食に伴う有症苦情事例の多くから粘液胞子虫が検出されている。

9. 広域食中毒事例調査における保健所間の連携に関する研究

報道から受けた厳しい指摘が行政不信等につながる恐れもある。本事例の後、札幌市は北海道と共同で「合同対策会議」を常設し、独自の保健所を持つ旭川、函館、小樽市にも参加を求めてゆく方針を明らかにした。この会議は、将来的に北海道内での大規模食中毒等の食の安全に関わる問題が発生することを想定し、広域連携で感染拡大防止や再発防止策を進めるための会議を目指すとされる。

10. アニサキス食中毒の原因物質の同定

流通品中のアニサキスの汚染実態に関する調査の結果、シメサバ製品の内、特に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、一部は生存・運動していた。分子同定の結果、人体寄生の主要病原種である

A. simplex sensu stricto であることが分かったので、人体感染の予防に向けた注意啓発が必要である。行政も販売店の指導などを通じ、この点の支援や啓発を継続する必要がある。

F.健康危険情報

・腸チフス広域散発事例の調査方法に関する研究. NESID 集積探知時点で厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部監視安全課及び健康局結核感染症課へ情報を共有した(2018 年度)。

・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. 自治体からの情報提供及び NESID 集積探知時点で厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部監視安全課及び健康局結核感染症課へ情報共有を実施した(2018 年度)。

・その他、各年度において、広域食中毒疑い事例発生時より厚生労働省等と情報を共有した。

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) Tabuchi A, Wakui T, Yahata Y, Yano K, Azuma K, Yamagishi T, Nakashima K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. A large outbreak of enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157, caused by low-salt pickled napa cabbage in nursing homes, Japan, 2012. Western Pac Surveill Response J. 16;6(2):7-11.

3) Shimada T, Sunagawa T, Taniguchi K, Yahata Y, Kamiya H, Yamamoto KU, Yasui Y, Okabe N. Description of Hospitalized Cases of Influenza A(H1N1)pdm09 Infection on the Basis of the National Hospitalized-Case Surveillance, 2009-2010, Japan. Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):151-8.

4) Yahata Y, Misaki T, Ishida Y, Nagira M, Watahiki M, Isobe J, Terajima J, Iyoda S, Mitobe J, Ohnishi M, Sata T, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N, the *E. coli* 0111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohaemorrhagic *Escherichia coli* 0111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy. Epidemiol Infect. 2015:1-12.

5) Yahata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T, Toyokawa T, Nakamura N, Taniguchi K, Okabe N. *Kudoa septempunctata*-Induced Gastroenteritis in Humans after Flounder Consumption in Japan: a Case-Controlled Study. Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):119-23.

6) Kanayama A, Arima Y, Yamagishi T, Kinoshita H, Sunagawa T, Yahata Y, Matsui T, Ishii K, Wakita T, Oishi K. Epidemiology of domestically-acquired hepatitis E virus infection in Japan: assessment of the nationally reported surveillance data, 2007-2013. J Med Microbiol. 2015; 64(7):752-8.

7) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. Vaccine. 2015; 33(45):6029-36.

8) Kamata Y, Saito M, Irikura D, Yahata Y, Ohnishi T, Bessho T, Inui T, Watanabe M, Sugita-Konishi Y. A toxin isolated from Sarcocystis fayeri in raw horsemeat may be responsible for food poisoning. J Food Prot. 2014 May;77(5):814-9.

9) Takehito Saitoh, Masatomo Morita, Tomoe Shimada, Hidemasa Izumiya, Atsuhiro Kanayama, Kazunori Oishi, Makoto Ohnishi,

Tomimasa Sunagawa. Increase in paratyphoid fever cases in Japanese travellers returning from Cambodia in 2013. Epidemiol Infect. 2016 Feb;144(3):602-6

10) Akiko Kubomura, Takako Misaki, Sachiko Homma, Chiaki Matsuo, Nobuhiko Okabe: Phenotypic and molecular characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated in Kawasaki, Japan, Jpn J Infect Dis. Accepted (13-Feb-2017)

11) Ohnishi, T., Akuzawa, S., Frusawa, H., Yoshinari, T., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y.：Inactivation of *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder, Biocontrol Science. 19, 135-138 (2014)

12) Sugita-konishi, Y., Sato, H., Ohnishi, T.：Novel Foodborne Disease Associated with Consumption of Raw Fish, Olive Flounder (Paralichthys olivaceus), Food safety , 2(4), 141-150, 2014

13) Konishi, Y., Fukuda, Y., Mori, M., Mekata, M., Namba, T., Kuroda, M., Yamazaki, A., Ohnishi, T.：New Validated Rapid Screening Methods for Identifying *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder (Paralichthys olivaceus),JJID, Vol.68, 145-147, 2015

14) 6. Yahata,Y., Konishi, Y., Ohnishi,T., Toyokawa, T., Nakamura, N., Taniguchi, K., Okabe, N.,: *Kudoa septempunctata* induced gastroenteritis in humans after flounder consumption in Japan: A case-control study, JJID, Vol. 68, 119-123, 2015

15) 7. Ohnishi, T., Furusawa, H., Oyama, R., Koike, S., Yoshinari, T., Kamata, Y., Konishi, Y. : Molecular epidemiological analysis of *Kudoa septempunctata* by random amplified polymorphic DNA analysis, JJID 2015;68(3):235-8.2015

16) 8. Takeuchi, F., Ogasawara, Y., Kato, K., Sekizuka, T., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., Kuroda, M., Nucleotide sequence typing for *Kudoa septempunctata* (*Myxozoa: Multivalvulida*), a flounder parasite causing foodborne disease, PLOS ONE, 2015 Jul 6;10(7):e0132030. doi: 10.1371/journal.pone.0132030. eCollection

17) 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)

18) 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)

19) 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)

20) 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)

21) 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.

22) 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

23) 杉山 広. 過去に学ぶ食文化の誤認. 食衛誌,

57(3):J83-J85, 2016
24) 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
25) 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
26) 8) 丸山絢, 八幡裕一郎, 三﨑貴子, 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.
27) 入谷展弘, 山元誠司, 改田　厚, 阿部仁一郎, 久保英幸, 西尾孝之, 伯井紀隆, 大平真由, 安井典子, 桝田晴美, 細井舞子, 松本珠実, 坂本徳裕, 廣川秀徹, 半羽宏之, 野田　衛：2014年9～11月に発生したノロウイルスによる胃腸炎集団事例について―大阪市, 病原微生物検出情報, 36, 26-27 (2015)
28) 楠原　一, 赤地重宏, 小林隆司, 西中隆道, 小林真美, 山口江里, 岩出義人, 田沼正路, 野田　衛:ノロウイルス GII.17 型の流行とその特徴について－三重県, 病原微生物検出情報, 36,91-92 (2015)
29) 入谷展弘, 山元誠司, 改田　厚, 阿部仁一郎, 上林大起, 久保英幸, 野田衛:2014-2015シーズンに流行したノロウイルス GII.17 について, 食品衛生研究, 65(10),7-15 (2015)
30) 三好龍也, 内野清子, 岡山文香, 芝田有理, 吉田永祥, 小林和夫, 左近直美, 土生川洋, 田中智之, 野田　衛:臨床検体および下水検体を用いた堺市内の A 型肝炎の流行解析, 病原微生物検出情報, 36, 6-7 (2015)
31) 入谷展弘, 山元誠司, 改田厚, 阿部仁一郎, 久保英幸, 平井有紀, 上林大起, 野田　衛, 西尾孝之:2014－2015 シーズンに大阪市で認められたノロウイルス流行, 大阪市立環境科学研究所報告　調査・研究年報, 77, 13-16 (2015)
32) 窪村亜希子、小嶋由香、岡部信彦：川崎市における腸管病原性大腸菌及び腸管凝集性大腸菌の分離状況と細胞付着性試験等による病原性の検討, 感染症学雑誌, 89, 37-45, 2015.
33) 大西貴弘：新しい寄生虫食中毒とその制御にかかわる最新の話題, 日本防菌防黴学会誌, 2014 vol.42 p625-630
34) 大西貴弘, 都丸亜希子, 吉成知也, 鎌田洋一, 小西良子：生鮮魚介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) Yuichiro Yahata, Takako Misaki, Yoichi Ishida, Masami Nagira, Masanori Watahiki, Junko Isobe, Jun Terajima, Sunao Iyoda, Jiro Mitobe, Makoto Ohnishi, Tetsutaro Sata, Kikyosu Taniguchi, Yuki Tada, Nobuhiko Okabe, *E. coli* O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 outbreak in Japan associated with hemolytic uremic syndrome and acute encephalopathy. InFORM 2015, Integrated Foodborne Outbreak Response and Management Conference (Phoenix, USA, November 17-20, 2015).
2) Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Yoshiyuki Sugishita, Fumiko Kasuga, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic *E. coli* Investigation Team. Evaluation of population-attributable risk for sporadic case of enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157 before and after the control measure in Japan. (Boston, USA, 13-16, 2015).
3) Kunio Kawabata, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Fumiko Kasuga, Tamano

Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic *E. coli* Investigation Team. Effectiveness of prevention for enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157 by the revised regulation for raw beef processing and prohibition of raw beef liver serving (Boston, USA, 13-16, 2015).

4) Atsuhiro Kanayama, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yoshiyuki Sugishita, Yuki Kono, Paul Weiss, Tamano Matsui, Fumiko Kasuga, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe. Risk factors for sporadic infection with enterohemorrhagic *Escherichia coli* 026 in Japan: a case-control study based on national surveillance data. VTEC 2015, 9th International symposium (Boston, USA, 13-16, 2015).

5) Takehito Saitoh: Epidemiology of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections and associated hemolytic uremic syndrome in Japan. The 11th Japan-Taiwan Symposium on New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance. Taipei, Taiwan, Sep 11-12, 2014

6) 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

7) Kunihiro Kubota, Hiroshi Amanuma, Emiko Iwasaki, Hideji Yanagisawa, Masahiro Shimojima, Syunsuke Shibuya, Mayumi Komatsu, Tadahiro Kobayashi, Miyako Oguro, Noburiro Matsuki, Fumiko Kasuga. Estimating the burden of foodborne illness in Japan using clinical laboratory data for whole of Japan, 2006-2011. 国際食品保全学会 2014 年次総会 (International Association for Food Protection 2014 Annual Meeting)、インディアナポリス、米国、2014 年

8) Kunihiro Kubota, Hiroshi Amanuma, Emiko Iwasaki, Hideji Yanagisawa, Masahiro Shimojima, Syunsuke Shibuya, Mayumi Komatsu, Tadahiro Kobayashi, Miyako Oguro, Noburiro Matsuki, Fumiko Kasuga. Estimating the burden of foodborne illness for Campylobacter, Salmonella and Vibrio parahaemolyticus in Japan, 2006-2012. 国際食品保全学会 2015 年次総会(International Association for Food Protection 2015 Annual Meeting)、ポートランド、米国、2015 年 7 月

9) K. Kubota, H. Amanuma, H. Yanagisawa, M. Shimojima, T. Yamashita, Y. Sakurai, M. Komatsu, F. Kasuga. Estimating the Burden of Foodborne Illness for Campylobacter, Salmonella and Vibrio parahaemolyticus in Japan from Laboratory Confirmed Numbers of Infections and Data from Telephone Surveys. 国際新興感染症学会 2015 年次総会 (International Conference on Emerging Infectious Diseases 2015)、アトランタ、米国、2015 年 8 月

10) 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

11) 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

12) 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

13) Ohnishi, T., Akuzawa, S., Furusawa, H., Yoshinari, T., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y. : Application of Liquid Freezing Method to Inactivation of *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder Meat , IAFP European Symposium (2014.5) (Hungary・Budapest)

14) Ohnishi, T., Kikuchi, Y., Furusawa, H., Yoshinari, T., Yamazaki, A., Kamata, Y., Sugita Konishi, Y.: Electron Microscopic Study on Kudoa septempunctata Infecting Olive Flounder, IAFP European Symposium on Food Safety, (2015.4) イギリス

15) Takeuchi, F., Sekizuka, T., Ogasawara, Y., Yokoyama, H., Kamikawa, R., Inagaki, Y., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., Kuroda, M.: Phylogenetic analysis of a Myxozoan Genus Kudoa Mitochondrial Genomes, and the modulation of host innate immunity by Kudoa infection., 2nd International Symposium Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells (2015.9), Tsukuba, Japan

16) Ohnishi, T., Oyama, R., Furusawa, H., Ohba, N., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y. : Kudoa septempunctata was Recognized by Toll-like Receptor 2, IAFP's European Symposium, (2016, 5), アテネ

17) Takehito Saitoh, Hiroshi Hataya, Riku Hamada, Kazunori Oishi, Tomimasa, Sunagawa. Long-term outcomes in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* associated hemolytic uremic syndrome in Japan. 第52回日本小児腎臓病学会学術総会. 東京都.2017 年 6 月 1-3 日（予定）

18) 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

19) 加納和彦，八幡裕一郎，金山敦宏，高橋琢理，砂川富正，大石和徳．感染症発生動向調査における E 型肝炎の推移と感染リスクの推定．（第 89 回日本感染症学会，2015 年 4 月）

20) 金山敦宏，八幡裕一郎，高橋琢理，加納和彦，河端邦夫，砂川富正，松井珠乃，大石和徳．わが国の乳幼児施設に関連した腸管出血性大腸菌感染症集団発生事例の増加感染症発生動向調査に基づく記述疫学．（第89回日本感染症学会，2015年4月）

21) 河端邦夫、清原知子、石井孝司、脇田隆字、金山敦宏、八幡裕一郎、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、松井珠乃、砂川富正、大石和徳：A 型肝炎の家族内感染についての疫学的分析（2014 年上半期を中心に）．第 18 回日本ワクチン学会学術集会（福岡市）.2014 年 12 月 6-7 日

22) 石井孝司、清原知子、脇田隆字、河端邦夫、金山敦宏、八幡裕一郎、山岸拓也、松井珠乃、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、大石和徳、砂川富正：2014 年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析．第 62 回日本ウイルス学会学術集会．横浜市．2014 年 11 月 10-12 日

23) 加納和彦、八幡裕一郎、捧建蔵、柳楽真佐実、齊藤剛仁、金山敦宏、高橋琢理、有馬雄三、河端邦夫、砂川富正、大石和徳：牛生肉・生レバーの規制強化の効果を検証する．第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会．京都市．2014 年 7 月 15-16 日

24) 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. 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. 第 112 回日本食品衛生学会学術講演会 (2016 年 10 月)、函館市

25) 丸山 絢、八幡裕一郎、三﨑貴子、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. 第 73 回日本公衆衛生学会総会, 栃木, 2014 年 11 月

26) 丸山 絢、八幡裕一郎、三﨑貴子、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. 第 74 回日本公衆衛生学会総会, 長崎, 2015 年 11 月

27) 丸山 絢、八幡裕一郎、三﨑貴子、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, 大阪, 2016 年 10 月

28) 窪村亜希子、佐藤弘康、湯澤栄子、小嶋由香、岩瀬耕一、岡部信彦. 遺伝子を指標として分離される EPEC 及び EAggEC の病原性等についての検討. 第 88 回日本感染症学会学術講演会、平成 26 年 6 月 18 日－20 日、福岡

29) 入谷展弘, 山元誠司, 改田厚, 阿部仁一郎, 久保英幸, 野田衛: 2013/14 シーズンに大阪市において集団胃腸炎事例から検出されたノロウイルス GII.6 株の分子疫学的解析, 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜市, 11/10 (2014)

30) 山本美和子, 伊藤文明, 野田衛: 広島市で検出された A 型肝炎ウイルスの分子疫学的解析, 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜市, 11/10 (2014)

31) 入谷展弘, 山元誠司, 改田 厚, 阿部仁一郎, 久保英幸, 上林大起, 野田 衛: 大阪市におけるノロウイルス GII.17 の流行状況, 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 11/22 (2015)

32) 大西貴弘, 阿久澤さゆり, 古沢博子, 吉成知也, 鎌田洋一, 小西良子：リキッドフリーザーを用いたヒラメ筋肉中の Kudoa septempunctata 不活化の試み, 第 35 回日本食品微生物学会学術総会 (2014.9)

33) 大西貴弘, クドア属粘液胞子虫による食中毒, 第 84 回日本寄生虫学会 (2015.3) 東京

34) 大西貴弘, 都丸亜希子, 吉成知也, 鎌田洋一, 小西良子: 原因不明有症苦情事例検体からの粘液胞子虫の検出, 日本食品微生物学会, 2015.11, 川崎

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

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

平成 26－28 年度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）
総合分担研究報告書

腸管出血性大腸菌感染症国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

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
研究協力者　岡部　信彦　川崎市健康安全研究所
三﨑　貴子　川崎市健康安全研究所
丸山　絢　川崎市健康安全研究所
高橋　智恵子　神奈川県衛生研究所
岩渕　香織　岩手県環境保健研究センター
村上　邦子　東京都健康安全研究センター
中川　澄太　横浜市健保健所
落合　公信　静岡県健康福祉部
後藤　正　静岡市保健所
溝口　嘉範　岡山市保健福祉局
原山　眞由美　熊本県健康福祉部
岸本　剛　埼玉県衛生研究所
尾関　由姫恵　埼玉県衛生研究所
猪野　翔一郎　埼玉県衛生研究所
砂川　富正　国立感染症研究所感染症疫学センター
河端　邦夫　国立感染症研究所感染症疫学センター
安藤　美恵　国立感染症研究所感染症疫学センター
金井　瑞恵　国立感染症研究所感染症疫学センター
新橋　玲子　国立感染症研究所感染症疫学センター
高原　理　国立感染症研究所感染症疫学センター
金山　敦宏　防衛医科大学校・国立感染症研究所感染症疫学センター

研究要旨
腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は重篤な合併症を引き起こすと致命率が高い感染症である。国内外で広域散発的に発生する EHEC アウトブレイクが報告されているが、探知が難しく、複数の保健所あるいは自治体にまたがるため情報収集が困難である。本研究は広域で散発的に発生する腸管出血性大腸菌に対して分子サブタイピングを利用した症例対照研究の調査方法についての実施可能性の検討を行った。2015 年度の症例は Multi-Locus Variable number tandem repeat Analysis （MLVA）の 15c011 とした。2016 年度の症例は MLVA complex が 16C008 であった者を症例とした。対照は異なる分子サブタイピングの患者とした。2015 年度は牛ホルモン及びキムチの喫食が有意な関連があった。さかのぼり調査で一部ではあるが牛ホルモンが同一施設からの流通であった。キムチは同一の流通である可能性は低かった。本研究で、分子サブタイピングを利用した症例対照研究が国内で実施可能であると考えられた。NESID と MLVA を利用した広域散発的に発生するアウトブレイクの探知は利用可能であると考えられた。疫学調査は鶏ミンチ（十分に加熱）のオッズ比が 28.50（95%信頼区間：1.93-420.53）で有意な関連があった。疫学調査手法は利用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が考えられた。

A．研究目的

腸管出血性大腸菌（enterohemorrhagic *Escherichia Coli*:EHEC）感染症は下痢、血便、腹痛を主な症状とする疾患で、溶血性尿毒症症候群（hemolytic uremic syndrome: HUS）及び急性脳炎などの重症な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。また、国内外で広域散発的に発生する EHEC 感染症が問題となっている。米国では食中毒の患者のうち、広域散発例が占める

重症例の割合が高いことが報告されている。米国での広域散発例は農場で生産時における汚染や加工施設での汚染による農産物あるいは食品の流通により、発生することが報告されている。
我が国のEHEC感染症は年間3500例から4500例程度で報告されている。2015年以降、EHEC感染症は年間 3600 例程度で報告されている。これらの多くは感染源が不明の散発例である。

我が国では、広域散発的に発生する EHEC 感染症は米国同様にチェーンレストランや広域流通食品が原因による事例が報告されている。しかしながら、多くの広域散発的に発生する EHEC 感染症の原因は十分に判明していないのが現状である。我が国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の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検討を目的とする。

B．研究方法

B-1. 2015 年度

研究デザインは症例対照研究を行った。NESID に報告された腸管出血性大腸菌感染症の患者のうち、散発例で自治体から疫学情報及び Multi-Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA)法の情報提供があった患者を対象とした。疫学情報は研究班で開発した調査票を利用するものとした。症例定義は以下の 2 つで検討を行った。

１）症例定義１

- 症例： 2015 年 6 月 1 日から 9 月 30 日までの期間に、国内で腸管出血性大腸菌感染症 O157 VT1,2 の患者として報告された者のうち、散発例でかつ、腸管出血性大腸菌感染症の MLVA コンプレックスが 15c011 である者
- 対照： 2015 年 6 月 1 日から 9 月 30 日までの期間に、国内で腸管出血性大腸菌感染症の患者として報告された者のうち、散発例で腸管出血性大腸菌感染症 O157 VT1,2 の腸管出血性大腸菌感染症患者として報告された者のうち、腸管出血性大腸菌感染症の MLVA コンプレックスが 15c011 以外である者（但し、MLVA 解析未実施は含まない）
  または
  2015 年 6 月 1 日から 9 月 30 日までの期間に、腸管出血性大腸菌感染症 O157 VT1,2 以外の腸管出血性大腸菌感染症患者として報告された者

２）症例定義２

- 症例： 2015 年 6 月 1 日から 9 月 30 日までの期間に、自治体 A 及び D で腸管出血性大腸菌感染症 O157 VT1,2 の患者として報告された者のうち、散発例でかつ、腸管出血性大腸菌感染症の MLVA コンプレックスが 15c011 である者
- 対照： 2015 年 6 月 1 日から 9 月 30 日までの期間に、自治体 A 及び D で腸管出血性大腸菌感染症の患者として報告された者のうち、散発例で腸管出血性大腸菌感染症 O157 VT1,2 の腸管出血性大腸菌感染症患者として報告された者のうち、腸管出血性大腸菌感染症の MLVA コンプレックスが 15c011 以外である者（但し、MLVA 解析未実施は含まない）
  または
  2015 年 6 月 1 日から 9 月 30 日までの期間に腸管出血性大腸菌感染症 O157 VT1,2 以外の腸管出血性大腸菌感染症患者として報告された者

解析方法は SAS 9.4 でロジスティック回帰分析を行った。

（倫理面への配慮）

倫理面の配慮は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（平成 26 年受付番号 590）で承認されている。

B-2. 2016 年度

対象は2016年4月から2017年2月までに感染症発生動向調査（National Epidemiological Surveillance of Infectious Disease NESID）に届け出があり、クラスタ（施設あるいは家庭等における複数例の発生）以外で自治体から協力の得られた患者とした。

対象のうち、症例は 10 月 1 日から 11 月 31 日までに国内で協力の得られた自治体で少なくとも 1 つ以上の消化器症状（下痢、血便、腹痛）を呈し、腸管出血性大腸菌感染症の届出のあった者のうち MLVA（Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis） complex が 16C008 であった者とした。

対照は 10 月 1 日から 11 月 31 日までに国内で協力の得られた自治体で少なくとも 1

つ以上の消化器症状（下痢、血便、腹痛）を呈し、腸管出血性大腸菌で届出のあった者のうちMLVA complexが16C008以外の者とした。ただし、O157VT1,2でMLVAを実施していないあるいはMLVAの解析結果が届いていない症例は除外した。

仮説の生成は記述疫学の結果に基づき症例が対照よりも割合が高いものをEHEC O157の感染源とした。

仮説の検証はロジスティック回帰分析を用いた。

解析はSAS ver9.4を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会に於いて非該当であった。

C．研究結果

C-1. 2015年度

記述疫学

症例定義1を満たした症例は6月11日が初発例で自治体Cからの報告であった。ピークは8月10日で5人であった。最後の症例は9月9日で、自治体Bからであった。症例は自治体Aから6人(15%)、自治体Dから33人(85%)であった。対照は自治体Aが16人(42%)、で最も多く、次いで自治体Cが13人(25%)であった。性別は症例の女性が26人(67%)で、対照の女性が26人(53%)であった。年齢階級は症例の5–9歳が6人(15%)で最も多く次いで30–39歳が5人(13%)で、対照の1–4歳が9人(18%)で最も多く、次いで5–9歳及び20–29歳が8人(16%)であた。

曝露は症例が対照よりも20%以上多かった喫食は牛肉の喫食(症例:92%;対照:71%)、牛ホルモン(症例:44%;対照:21%)、ネギ(症例:67%;対照38%)、キムチ(症例:56%;対照:19%)であった。

解析疫学

症例定義1に基づいた解析の結果、記述疫学で症例が対照よりも喫食割合が高かった牛肉、牛ホルモン、ネギ、キムチに加え、肉に関連する豚レバー、豚ホルモン、鶏レバー、鶏ホルモンに対して症例対照研究を行った。症例定義1)に基づいた解析結果、キムチの喫食はオッズ比(OR)が5.21(95%信頼区間[95%CI]:1.06-25.50)で腸管出血性大腸菌 O157VT1,2による発症と有意な関連があった。

症例定義2に基づいた解析の結果、牛ホルモン(OR=16.80, 95%CI: 1.53–184.91)及びキムチ(OR=7.50, 95%CI: 1.25–45.15)が腸管出血性大腸菌O157VT1,2による発症と有意な関連があった。

自治体Dからの情報で、さかのぼり調査で牛ホルモンは一部同一の症例に対して同一の流通元からの喫食した患者がいた事が報告された。また、キムチについては店舗での手作りであった。

C-2. 2016年度

症例は5月28日から7月2日まで発生が散発的に報告された(図１)。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%）で最も多く、対照で20-29歳が17例（34%）で最も多かった。性別は症例で女性が8人(62%)で、対照で女性が28例（56%）であった。

調査票（資料1）の質問項目から症例が対照よりも割合の高い項目を抽出したところ、国内旅行（症例17%、対照9%)、馬ユッケ・馬刺し（生）（症例8%、対照0%)、鶏肉（半生）(症例20%、対照5%)、牛肉（十分に加熱）（症例67%、対照58%)、豚肉（十分に加熱）（症例%75%、対照 68%)、鶏レバー（十分に加熱）(症例%14%、対照3%)、鶏ホルモン（十分に加熱）（症例%14%、対照 3%)、豚ミンチ（十分に加熱）（症例50%、対照29%)、鶏ミンチ（十分に加熱）（症例75%、対照10%)、キュウリ（症例100%、対照85%)、ネギ（症例50%、対照5%)、サクランボ（症例50%、対照32%)及びマンゴー(症例20%、対照0%)であった（表7-10)。

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（表11)。

D．考察

D-1. 2015年度

国内外を問わず、腸管出血性大腸菌をはじめ腸管系の感染症は広域で散発的に発生している。広域で散発的に発生する腸管系の感染症は食品媒介感染症である可能性が高く、重症例の発生や死亡例の発生割合が高いことが報告されており、インパクトが高い。一方で、発生状況が広域で散発的であることから発生原因を検討することが困難な場合がある。海外では、同一分子サブタイピングの患者を症例とし、対照を同時期に発生した別の腸管系の感染症あるいは異なる分子サブタイピングの患者を対照として症例対照研究を行っている。本研究も、国外で行われている分子サブタイピングが同一である患者

を症例とした症例対照研究を試行したところ、特定の食材（キムチ、牛ホルモン）に有意な関連が見られた。食材のさかのぼり調査で、キムチは共通性が確認できなかったが、牛ホルモンは一部の症例から同一の施設からの流通を示唆する可能性の有所見が得られたことから牛ホルモン喫食による感染の可能性があると考えられた。

本研究は散発例の調査であるため、さかのぼり調査の適時性が集団発生事例と比べて劣る可能性が考えられたが、得られた情報から一部ではあるが流通元の共通性がみられたことから、情報の収集及び還元のタイミングが適時性のあるような状況にするような検討が必要であると考えられた。

D-2. 2016 年度

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。MLVA を利用した広域散発的に発生する EHEC のアウトブレイク探知が可能であると考えられた。また、得られた情報に基づいた記述疫学から仮説を生成した項目について解析を行った。その結果、鶏ミンチ(十分に加熱)が有意な関連が得られた。

広域散発的に発生するアウトブレイクは米国では PulseNet の分子サブタイピングデータから累積和管理図（CUSUM）を利用した広域散発的発生する EHEC、リステリア、サルモネラ等のアウトブレイク探知が行われている。我が国では NESID のサーベイランスデータから広域散発的に発生するアウトブレイクの探知を行った。本研究により、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、米国のような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。

本研究で鶏ミンチ（十分に加熱）が広域散発的に発生するアウトブレイクと有意な関連があったが、本研究ではさかのぼり調査及び同一ロットの細菌学検査(分子疫学的な解析含む）は行っていない。従って、鶏ミンチ（十分に加熱）が原因で広域散発的に発生するアウトブレイクを発生させたことへの十分な根拠を収集するには至っていない。その原因として、疫学調査結果と MLVA の結果の収集時期が適時性のある状況で行われていないことがあげられる。今後は疫学調査と MLVA の結果収集方法が適時性のある時点で行われるような仕組みづくりが必要であると考えられた。この仕組みづくりにより情報収集が適時に行われ、迅速な対応につながることが考えられた。

本研究の限界は１）さかのぼり調査による食材汚染の検討ができていない点、２）汚染された食材の細菌学的検査が行われていない、３）症例対照研究であるため思い出しバイアスが発生した可能性が考えられた。

Ｅ．結論

E-1. 2015 年度

本研究は広域で散発的に発生した腸管出血性大腸菌 O157VT1,2 の散発例でかつ分子サブタイピングが同一の患者を症例とし、別の分子サブタイピング、同一の血清群で別の VT 型あるいは別の血清群を対照として症例対照研究を国内での実施可能性について検討を試みた。我が国において分子サブタイピングを利用した症例対照研究の実現性があると考えられた。

E-2. 2016 年度

本研究は広域散発的に発生する EHEC のアウトブレイクの探知及び疫学調査方法を検討した。広域散発的に発生する 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。また、広域散発的に発生する EHEC の疫学調査票は原因の検討に利用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り、広域散発的に発生する EHEC 感染症に対する疫学調査及び MLVA 解析結果の適時性のある情報収集の仕組みづくりが必要であると考えられた。

Ｆ．健康危険情報

該当なし

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) Kanayama A, Arima Y, Yamagishi T, Kinoshita H, Sunagawa T, Yahata Y, Matsui T, Ishii K, Wakita T, Oishi K. Epidemiology of domestically-acquired hepatitis E virus infection in Japan: assessment of the nationally reported surveillance data, 2007-2013. J Med Microbiol. 2015; 64(7):752-8

3) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi

K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. Vaccine. 2015; 33(45):6029-36.

4) Tabuchi A, Wakui T, Yahata Y, Yano K, Azuma K, Yamagishi T, Nakashima K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. A large outbreak of enterohemorrhagic Escherichia coli O157, caused by low-salt pickled napa cabbage in nursing homes, Japan, 2012. Western Pac Surveill Response J. 16;6(2):7-11.

5) Shimada T, Sunagawa T, Taniguchi K, Yahata Y, Kamiya H, Yamamoto KU, Yasui Y, Okabe N. Description of Hospitalized Cases of Influenza A(H1N1)pdm09 Infection on the Basis of the National Hospitalized-Case Surveillance, 2009-2010, Japan. Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):151-8.

6) Yahata Y, Misaki T, Ishida Y, Nagira M, Watahiki M, Isobe J, Terajima J, Iyoda S, Mitobe J, Ohnishi M, Sata T, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N, the E. coli O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohaemorrhagic Escherichia coli O111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy. Epidemiol Infect. 2015:1-12.

7) Yahata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T, Toyokawa T, Nakamura N, Taniguchi K, Okabe N. Kudoa septempunctata-Induced Gastroenteritis in Humans after Flounder Consumption in Japan: a Case-Controlled Study. Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):119-23.

2. 学会発表

1) 丸山絢，八幡裕一郎，三﨑貴子，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.

2) Yuichiro Yahata, Takako Misaki, Yoichi Ishida, Masami Nagira, Masanori Watahiki, Junko Isobe, Jun Terajima, Sunao Iyoda, Jiro Mitobe, Makoto Ohnishi, Tetsutaro Sata, Kikyosu Taniguchi, Yuki Tada, Nobuhiko Okabe, E. coli O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohemorrhagic Escherichia coli O111 outbreak in Japan associated with hemolytic uremic syndrome and acute encephalopathy. InFORM 2015, Integrated Foodborne Outbreak Response and Management Conference (Phoenix, USA, November 17-20, 2015).

3) Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Yoshiyuki Sugishita, Fumiko Kasuga, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic E. coli Investigation Team. Evaluation of population-attributable risk for sporadic case of enterohemorrhagic Escherichia Coli O157 before and after the control measure in Japan. (Boston, USA, 13-16, 2015).

4) Atsuhiro Kanayama, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yoshiyuki Sugishita, Yuki Kono, Paul Weiss, Tamano Matsui, Fumiko Kasuga, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe. Risk factors for sporadic infection with enterohemorrhagic Escherichia coli O26 in Japan: a case-control study based on national surveillance data. VTEC 2015, 9th International symposium (Boston, USA, 13-16, 2015).

5) Kunio Kawabata, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Fumiko Kasuga, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic E. coli Investigation Team. Effectiveness of prevention for enterohemorrhagic Escherichia coli O157 by the revised regulation for raw beef processing and prohibition of raw beef liver serving (Boston, USA, 13-16, 2015).

6) 加納和彦，八幡裕一郎，金山敦宏，高橋琢理，砂川富正，大石和徳．感染症発生動向調査におけるE型肝炎の推移と感染リスクの推定．(第 89 回日本感染症学会，2015 年 4 月)

7) 金山敦宏，八幡裕一郎，高橋琢理，加納和彦，河端邦夫，砂川富正，松井珠乃，大石和徳．わが国の乳幼児施設に関連した腸管出血性大腸菌感染症集団発生事例の増加 感染症発生動向調査に基づく記述疫学．(第 89 回日本感染症学会，2015 年 4 月)

8) 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．(第 74 回日本公衆衛生学会，2015 年 10 月，長崎)

2. 学会発表
該当なし

H．知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

表 1.　症例と対照の喫食割合

		症例		対照	
		人	%	人	%
牛肉	喫食あり	12/13	92%	24/34	71%
豚肉	喫食あり	7/9	78%	32/33	97%
鶏肉	喫食あり	7/9	78%	27/31	87%
牛レバー	喫食あり	1/8	13%	0/34	0%
牛ホルモン	喫食あり	4/9	44%	7/34	21%
豚レバー	喫食あり	0/8	0%	1/34	3%
豚ホルモン	喫食あり	1/8	13%	4/34	12%
鶏レバー	喫食あり	0/8	0%	3/34	9%
鶏ホルモン	喫食あり	1/8	13%	0/34	0%
レタス	喫食あり	5/7	71%	25/30	83%
キャベツ	喫食あり	5/7	71%	19/24	79%
トマト	喫食あり	4/6	67%	26/32	81%
ピーマン	喫食あり	1/6	17%	3/28	11%
大根	喫食あり	2/6	33%	7/28	25%
キュウリ	喫食あり	5/6	83%	28/32	85%
ネギ	喫食あり	4/6	67%	11/29	38%
玉ねぎ	喫食あり	3/6	50%	8/29	28%
セロリ	喫食あり	0/6	0%	2/30	7%
ニンジン	喫食あり	2/6	33%	10/29	34%
カイワレダイコン	喫食あり	1/6	17%	3/30	10%
アルファルファ	喫食あり	0/6	0%	3/31	10%
パセリ	喫食あり	0/6	0%	0/30	0%
大葉	喫食あり	1/6	17%	6/30	20%
クレソン	喫食あり	0/6	0%	0/30	0%
もやし	喫食あり	1/6	17%	9/33	27%
キムチ	喫食あり	5/9	56%	6/31	19%

表 2.　症例定義１に基づいた解析 [a)]

	症例		対照		OR[b)]	95%CI[c)]
	人	%	人	%		
牛肉	12/13	92%	24/34	71%	5.00	0.57-43.76
牛ホルモン	4/9	44%	7/34	21%	3.09	0.65-14.62
ネギ	4/6	67%	11/29	38%	3.27	0.51-20.93
キムチ	5/9	56%	6/31	19%	5.21	1.06-25.50
豚レバー[d)]	0/8	0%	1/34	3%	4.25	0.00-80.75
豚ホルモン	1/8	13%	4/34	12%	1.07	0.10-11.13
鶏レバー[d)]	0/8	0%	3/34	9%	1.07	0.00-7.60
鶏ホルモン [d)]	1/8	13%	0/34	0%	4.25	0.22-∞

a)　有効回答のみ
b)　OR：　オッズ比
c)　95%CI: 95%信頼区間
d)　Exact logistic regression analysis

表 3.　症例定義２に基づいた解析 [a)]

	症例		対照		OR[b)]	95%CI[c)]
	人	%	人	%		
牛肉	12/13	92%	24/34	71%	5.60	0.60-52.00
牛ホルモン	4/9	44%	7/34	21%	16.80	1.53-184.91
ネギ	4/6	67%	11/29	38%	3.43	0.49-20.78
キムチ	5/9	56%	6/31	19%	7.50	1.25-45.15

a)　有効回答のみ
b)　OR：　オッズ比

表 4.　症例と対照の喫食割合

		症例		対照	
		人	%	人	%
牛肉	喫食あり	12/13	92%	24/34	71%
豚肉	喫食あり	7/9	78%	32/33	97%
鶏肉	喫食あり	7/9	78%	27/31	87%
牛レバー	喫食あり	1/8	13%	0/34	0%
牛ホルモン	喫食あり	4/9	44%	7/34	21%
豚レバー	喫食あり	0/8	0%	1/34	3%
豚ホルモン	喫食あり	1/8	13%	4/34	12%
鶏レバー	喫食あり	0/8	0%	3/34	9%
鶏ホルモン	喫食あり	1/8	13%	0/34	0%
レタス	喫食あり	5/7	71%	25/30	83%
キャベツ	喫食あり	5/7	71%	19/24	79%
トマト	喫食あり	4/6	67%	26/32	81%
ピーマン	喫食あり	1/6	17%	3/28	11%
大根	喫食あり	2/6	33%	7/28	25%
キュウリ	喫食あり	5/6	83%	28/32	85%
ネギ	喫食あり	4/6	67%	11/29	38%
玉ねぎ	喫食あり	3/6	50%	8/29	28%
セロリ	喫食あり	0/6	0%	2/30	7%
ニンジン	喫食あり	2/6	33%	10/29	34%
カイワレダイコン	喫食あり	1/6	17%	3/30	10%
アルファルファ	喫食あり	0/6	0%	3/31	10%
パセリ	喫食あり	0/6	0%	0/30	0%
大葉	喫食あり	1/6	17%	6/30	20%
クレソン	喫食あり	0/6	0%	0/30	0%
もやし	喫食あり	1/6	17%	9/33	27%
キムチ	喫食あり	5/9	56%	6/31	19%

表 5.　症例定義１に基づいた解析 [a)]

	症例		対照		OR[b)]	95%CI[c)]
	人	%	人	%		
牛肉	12/13	92%	24/34	71%	5.00	0.57-43.76
牛ホルモン	4/9	44%	7/34	21%	3.09	0.65-14.62
ネギ	4/6	67%	11/29	38%	3.27	0.51-20.93
キムチ	5/9	56%	6/31	19%	5.21	1.06-25.50
豚レバー[d)]	0/8	0%	1/34	3%	4.25	0.00-80.75
豚ホルモン	1/8	13%	4/34	12%	1.07	0.10-11.13
鶏レバー[d)]	0/8	0%	3/34	9%	1.07	0.00-7.60
鶏ホルモン [d)]	1/8	13%	0/34	0%	4.25	0.22-∞

e)　有効回答のみ
f)　OR：　オッズ比
g)　95%CI: 95%信頼区間
h)　Exact logistic regression analysis

表 6.　症例定義２に基づいた解析 [a)]

	症例		対照		OR[b)]	95%CI[c)]
	人	%	人	%		
牛肉	12/13	92%	24/34	71%	5.60	0.60-52.00
牛ホルモン	4/9	44%	7/34	21%	16.80	1.53-184.91
ネギ	4/6	67%	11/29	38%	3.43	0.49-20.78
キムチ	5/9	56%	6/31	19%	7.50	1.25-45.15

c)　有効回答のみ
d)　OR：　オッズ比

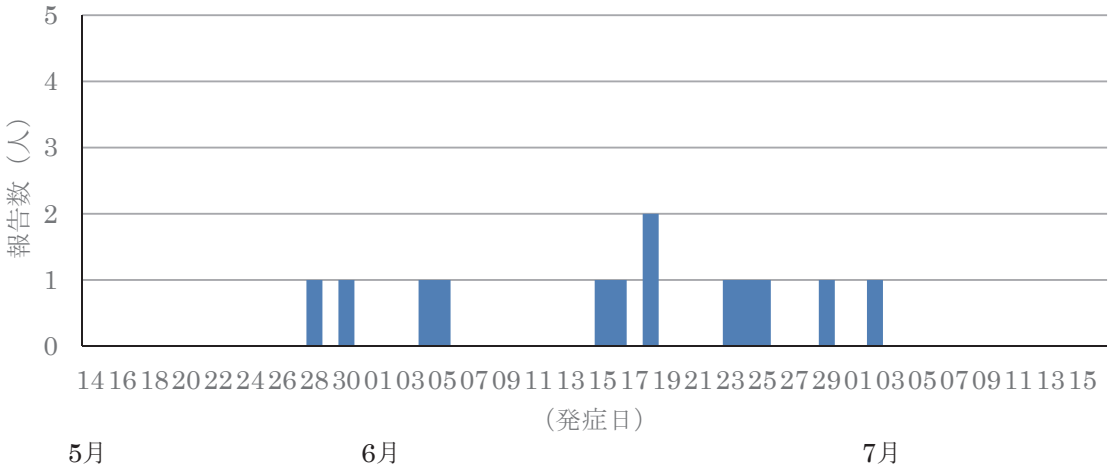


図１　症例の流行曲線（n=13）

表７　症例の属性

	Case（n=13）		Control（n=50）		Total（n=63）	
	N	%	N	%	N	%
年齢階級						
0-9 歳	3 / 13	23	7 / 50	14	10 / 63	16
10-19 歳	1 / 13	8	8 / 50	16	9 / 63	14
20-29 歳	3 / 13	23	17 / 50	34	20 / 63	32
30-39 歳	0 / 13	0	4 / 50	8	4 / 63	6
40-49 歳	2 / 13	15	1 / 50	2	3 / 63	5
50-59 歳	2 / 13	15	3 / 50	6	5 / 63	8
60-69 歳	1 / 13	8	7 / 50	14	8 / 63	13
70-79 歳	0 / 13	0	1 / 50	2	1 / 63	2
80-89 歳	1 / 13	8	2 / 50	4	3 / 63	5
性別						
男性	5 / 13	38	22 / 50	44	27 / 63	43
女性	8 / 13	62	28 / 50	56	36 / 63	57

表８　仮説の生成（動物との接触、環境との接触、外食、旅行）

	Case（n=13）		Control（n=50）		Total（n=63）	
	N	%	N	%	N	%
動物との接触	3 / 13	23	15 / 46	33	18 / 59	31
プールなどの利用	0 / 9	0	4 / 35	11	4 / 44	9
砂場の利用（一八歳以下）	1 / 4	25	0 / 9	0	1 / 13	8
公設水道	9 / 12	75	40 / 48	83	49 / 60	82
市販ミネラルウォーター	4 / 12	33	11 / 48	23	15 / 60	25
川や湖などの浄化されていない水	4 / 13	31	9 / 49	18	13 / 62	21
外食の有無	11 / 13	85	42 / 49	86	53 / 62	85
海外旅行	0 / 13	0	2 / 48	4	2 / 61	3
国内旅行	2 / 12	17	4 / 46	9	6 / 58	10

表９　仮説の生成（肉類の喫食）

	Case (n=13)			Control (n=50)			Total (n=63)		
	N		%	N		%	N		%
牛肉（生）	0	/ 13	0	0	/ 45	0	0	/ 58	0
豚肉（生）	0	/ 13	0	0	/ 44	0	0	/ 57	0
鶏肉（生）	0	/ 13	0	0	/ 44	0	0	/ 57	0
牛ユッケ（生）	0	/ 13	0	0	/ 45	0	0	/ 58	0
馬ユッケ、馬さし（生）	1	/ 13	8	0	/ 45	0	1	/ 58	2
牛肉（半生）	1	/ 10	10	5	/ 40	13	6	/ 50	12
豚肉（半生）	1	/ 9	11	2	/ 38	5	3	/ 47	6
鶏肉（半生）	2	/ 10	20	2	/ 39	5	4	/ 49	8
牛肉（十分に加熱）	4	/ 6	67	21	/ 36	58	25	/ 42	60
豚肉（十分に加熱）	6	/ 8	75	25	/ 37	68	31	/ 45	69
鶏肉（十分に加熱）	4	/ 6	67	22	/ 35	63	26	/ 41	63
牛レバー（生）	0	/ 13	0	0	/ 45	0	0	/ 58	0
牛ホルモン（生）	0	/ 13	0	1	/ 45	2	1	/ 58	2
豚レバー（生）	0	/ 13	0	0	/ 45	0	0	/ 58	0
豚ホルモン（生）	0	/ 13	0	0	/ 45	0	0	/ 58	0
鶏レバー（生）	0	/ 13	0	0	/ 45	0	0	/ 58	0
鶏ホルモン（生）	0	/ 13	0	0	/ 45	0	0	/ 58	0
牛レバー（半生）	0	/ 11	0	0	/ 40	0	0	/ 51	0
牛ホルモン（半生）	0	/ 11	0	0	/ 38	0	0	/ 49	0
豚レバー（半生）	0	/ 11	0	0	/ 40	0	0	/ 51	0
豚ホルモン（半生）	0	/ 11	0	0	/ 40	0	0	/ 51	0
鶏レバー（半生）	0	/ 11	0	0	/ 40	0	0	/ 51	0
鶏ホルモン（半生）	0	/ 11	0	0	/ 40	0	0	/ 51	0
牛レバー（十分に加熱）	0	/ 7	0	0	/ 34	0	0	/ 41	0
牛ホルモン（十分に加熱）	0	/ 7	0	1	/ 33	3	1	/ 40	3
豚レバー（十分に加熱）	0	/ 7	0	1	/ 33	3	1	/ 40	3
豚ホルモン（十分に加熱）	0	/ 7	0	0	/ 32	0	0	/ 39	0
鶏レバー（十分に加熱）	1	/ 7	14	1	/ 34	3	2	/ 41	5
鶏ホルモン（十分に加熱）	1	/ 7	14	1	/ 34	3	2	/ 41	5
牛ミンチ（生）	0	/ 13	0	0	/ 39	0	0	/ 52	0
豚ミンチ（生）	0	/ 13	0	0	/ 39	0	0	/ 52	0
鶏ミンチ（生）	0	/ 13	0	0	/ 39	0	0	/ 52	0
合びき（生）	0	/ 13	0	0	/ 39	0	0	/ 52	0
牛ミンチ（半生）	0	/ 11	0	0	/ 37	0	0	/ 48	0
豚ミンチ（半生）	0	/ 11	0	0	/ 36	0	0	/ 47	0
鶏ミンチ（半生）	1	/ 11	9	0	/ 37	0	1	/ 48	2
合びき（半生）	0	/ 11	0	1	/ 36	3	1	/ 47	2
牛ミンチ（十分に加熱）	1	/ 4	25	6	/ 24	25	7	/ 28	25
豚ミンチ（十分に加熱）	2	/ 4	50	6	/ 21	29	8	/ 25	32
鶏ミンチ（十分に加熱）	3	/ 4	75	2	/ 21	10	5	/ 25	20
合びき（十分に加熱）	1	/ 4	25	6	/ 22	27	7	/ 26	27

表 10　仮説の生成（野菜類の喫食）

	Case (n=13)				Control (n=50)				Total (n=63)			
	N			%	N			%	N			%
レタス	7	/	7	100	26	/	28	93	33	/	35	94
キャベツ	3	/	4	75	22	/	25	88	25	/	29	86
トマト	6	/	7	86	25	/	28	89	31	/	35	89
ピーマン	1	/	4	25	5	/	16	31	6	/	20	30
大根	0	/	11	0	11	/	17	65	11	/	28	39
キュウリ	8	/	8	100	23	/	27	85	31	/	35	89
ネギ	2	/	4	50	1	/	19	5	3	/	23	13
玉ねぎ	1	/	4	25	13	/	19	68	14	/	23	61
セロリ	0	/	4	0	0	/	14	0	0	/	18	0
ニンジン	1	/	3	33	15	/	22	68	16	/	25	64
カイワレ大根	0	/	4	0	1	/	15	7	1	/	19	5
アルファルファ	0	/	4	0	0	/	14	0	0	/	18	0
パセリ	0	/	4	0	1	/	13	8	1	/	17	6
大葉（青じそ）	1	/	4	25	8	/	16	50	9	/	20	45
クレソン	0	/	4	0	4	/	14	29	4	/	18	22
もやし	0	/	4	0	9	/	16	56	9	/	20	45
キムチ	0	/	5	0	9	/	22	41	9	/	27	33
漬物	3	/	7	43	9	/	22	41	12	/	29	41
浅漬け	1	/	5	20	12	/	23	52	13	/	28	46
イチゴ	0	/	5	0	3	/	21	14	3	/	26	12
イチゴ以外のベリー種	0	/	5	0	1	/	20	5	1	/	25	4
メロン	1	/	5	20	3	/	20	15	4	/	25	16
ブドウ	0	/	5	0	3	/	21	14	3	/	26	12
さくらんぼ	3	/	6	50	6	/	19	32	9	/	25	36
マンゴー	1	/	5	20	0	/	20	0	1	/	25	4
未殺菌りんごジュース	0	/	5	0	0	/	18	0	0	/	23	0
未殺菌オレンジジュース	0	/	5	0	0	/	18	0	0	/	23	0
マンゴー	0	/	4	0	1	/	19	5	1	/	23	4
パパイヤ	0	/	4	0	1	/	18	6	1	/	22	5

表 11　曝露源と 0157 発症との関連

	OR [a)]	95% CI [b)]
国内旅行	2.10	0.34-13.12
馬ユッケ、馬さし（生）	3.46	0.18-∞
鶏肉（半生）	4.63	0.56-37.91
牛肉（十分に加熱）	1.43	0.23-8.83
豚肉（十分に加熱）	1.44	0.25-8.22
鶏レバー（十分に加熱）	5.50	0.30-100.47
鶏ホルモン（十分に加熱）	5.50	0.30-100.47
鶏ミンチ（半生）	3.36	0.18-∞
豚ミンチ（十分に加熱）	2.50	0.28-22.04
鶏ミンチ（十分に加熱）	28.50	1.93-420.53
レタス	0.61	0.07-∞
キュウリ	1.70	0.26-∞
ネギ	0.36	0.04-3.26
メロン	1.42	0.12-17.46
さくらんぼ	2.17	0.33-14.06
マンゴー	4.00	0.21-∞

a) OR: Odds Ratio（オッズ比）
b) 95%CI: 95% Confidence Interval(95%信頼区間)

EHEC（腸管出血性大腸菌）曝露状況調査（症例調査用）

自治体記入欄

- 症例個人に関する事項　　　　　　　　　　　　　　　　症例認識 ID＿＿＿＿＿＿

感染症発生動向調査 ID＿＿＿＿＿＿＿＿　年齢（＿＿歳＿＿か月）、性別（男・女）、職業（　　　　）

ご自宅の郵便番号上三ケタ＿＿＿＿＿＿　クラスター名＿＿＿＿　PFGE/MLVA 解析等＿＿＿＿＿＿＿

血清群：　O157・O26・O111・O その他(　　　)　　VT：　VT1・VT2・VT1VT2・VT 不明

- 症状に関する事項

発症日＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日（**腹痛、下痢、血便のいずれかの症状が認められた最初の日**）

各症状の有無（届出票からの転記、症状がみられたものに丸をつけてください）：

腹痛　・水様性下痢　・血便

嘔吐　・発熱　・溶血性貧血

急性腎不全　・溶血性尿毒症症候群(HUS)

痙攣　・昏睡　・脳症・その他（　　　　　　　　　　　　　　　　）

入院加療の有無（あり・なし）

- その他

初回陽性検体採取日＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

調査日＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

情報収集方法（対面調査・自己記入）

回答者の続柄（本人・父・母・祖父・祖母・おじ・おば・兄・姉・その他＿＿＿）

＃＃

「自治体記入欄」についての注意事項

- 「症例認識 ID」とは、たとえば「自治体名＃１」など、各自治体でナンバリングしていただく固有の症例番号になります。自治体の連絡用に使う基本の ID 番号となります。
- 「クラスター名」とは、クラスターを形成している症例群について、研究班と自治体側で認識をするための目印となるものです。たとえば、「A保育園関連」など、わかりやすい名称をつけていただくようにお願いします。
- 「PFGE 解析等」は、PFGE 等の解析番号等が振られている場合はご記入をお願いいたします。調査票提出後にご連絡いただくことも可能です。
- 「調査日」とは、本調査を実施した日となります。自己記入式の場合は、記入日をご記入ください。

情報収集における注意事項（対面調査、自己記入ともに）

- 研究班への情報提供の際は表紙の個人情報が記載されたページはかならず取り外してからご送付いただくようにお願いします。
- 「発症前 4 週間」「発症前 1 週間」については、それぞれ当該患者さんの発症日に合わせた期間を別紙に明示していただくようにお願いいたします。なお、発症日は、腹痛、下痢、血便のいずれかの症状が認められた最初の日とします。なお、たとえば、発症日が 4 月 29 日（火）であった患者さんの場合、発症前 1 週間とは、4 月 22 日（火）～4 月 28 日（月）となります。発症時間については考慮する必要はありません。

EHEC（腸管出血性大腸菌）曝露状況調査（接触編）

1	年齢：（　　）歳（　　）か月　性別：（男・女）　記入日：平成　　年　月　日													
2	同居家族の健康状態（発症前4週間）											はい	いいえ	不明
	1	同居されている家族で下痢												
	2	同居されている家族で血便												
	3	同居されている家族で腸管出血性大腸菌感染症と診断												
3	患者の職業（発症前4週間）											はい	いいえ	
	1	仕事を持っていた												
	2	食品を取り扱う仕事												
	3	医療・福祉関係の仕事												
	4	保育関係の仕事												
4	動物との接触（発症前1週間）											触った	触らない	不明
	1	動物との接触（ペット、動物園、農場、野生）												
	2	接触動物	牛	羊	馬	鹿	ヤギ	豚	犬	鶏	アヒル	その他（　　）		
	3	接触場所												
5	プール等の利用（発症前1週間）											はい	いいえ	不明
	1	以下の場所で利用												
	2	場所	屋内プール	屋外プール	子供用ビニールプール	公衆浴場	池	湖	川	海	その他（　　）			
6	（患者が 18 歳未満の時）砂場の利用（発症前1週間）											はい	いいえ	不明
	1	砂場の利用												
7	飲料水関係（発症前1週間）													
	1	飲料水の種類	公設水道	簡易水道	私設井戸水	市販ミネラルウオーター	その他							
	2	川や湖などの浄化されていない水										飲んだ	飲まない	不明
8	外食で利用したレストラン等（発症前1週間）※必要に応じて日付、時間帯を記載													
	1	店舗名						メニュー						
	2	店舗名						メニュー						
	3	店舗名						メニュー						

9	利用したデパート、スーパー、お店等（発症前1週間）※必要に応じ購入日・喫食日を記入				
		種類・食材等	購入日	購入先名称（チェーン店は店舗名）	喫食日
1	肉				
2	魚				
3	野菜				
4	弁当惣菜				
5	その他				

10	旅行関係（発症前1週間）				
1	海外旅行（出発または帰国）		はい	いいえ	不明
2	訪問国、出発日、帰国日は？	訪問国	出発日	帰国日	
3	国内旅行（発症前１週間）		はい	いいえ	不明
4.1	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発日	帰宅/出発日	
4.2	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅/出発日	
4.3	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅日	

11	患者（18 歳未満の時）と他の子供との接触（発症前1週間）	はい	いいえ	不明
1	４歳未満の他の子供が家庭内に同居			
2	４歳未満の他の子供が自宅を訪問			
3	患者が４歳未満の子供がいる家庭を訪問			
4	患者が他の子のおむつを交換			
5	患者は保育園または幼稚園に通園			
6	保育園または幼稚園に下痢の子供がいたか？			

12	患者が1歳未満の場合（発症前1週間）	はい	いいえ	不明
1	哺乳瓶から飲料（ミルク、ジュース、水等）を与えたか？			
2	母乳を与えたか？			
3	固形物を与えたか？			

EHEC（腸管出血性大腸菌）曝露状況調査（喫食編）

13 発症前1週間以内に肉類の喫食はありましたか。

	喫食の有無				喫食の有無		
	食べた	食べない	不明		食べた	食べない	不明
13.1 生の肉				**13.2 半生の肉**			
(1) 牛肉				(1) 牛肉			
(2) 豚肉				(2) 豚肉			
(3) 鶏肉				(3) 鶏肉			
(4) 牛肉ユッケ							
(5) 馬肉ユッケ/馬刺し							
(6) その他肉ユッケ（　　）							
13.3 十分に加熱された肉							
(1) 牛肉							
(2) 豚肉							
(3) 鶏肉							

14 発症前1週間以内に内蔵肉の喫食はありましたか。

	喫食の有無				喫食の有無		
	食べた	食べない	不明		食べた	食べない	不明
14.1 生の内臓肉				**14.2 半生の臓肉**			
(1) 牛　レバー				(1) 牛　レバー			
(2) 牛　ホルモン				(2) 牛　ホルモン			
(3) 豚　レバー				(3) 豚　レバー			
(4) 豚　ホルモン				(4) 豚　ホルモン			
(5) 鶏　レバー				(5) 鶏　レバー			
(6) 鶏　ホルモン				(6) 鶏　ホルモン			
(7) その他（　　）				(7) その他（　　）			
14.3 十分加熱された内臓肉							
(1) 牛　レバー							
(2) 牛　ホルモン							
(3) 豚　レバー							
(4) 豚　ホルモン							
(5) 鶏　レバー							
(6) 鶏　ホルモン							
(7) その他（　　）							

15 発症前1週間以内にひき肉類の喫食はありましたか。

15.1 生のひき肉				**15.2 半生のひき肉**			
(1) 牛ミンチ				(1) 牛ミンチ			
(2) 豚ミンチ				(2) 豚ミンチ			
(3) 鶏ミンチ				(3) 鶏ミンチ			
(4) 合いびきミンチ				(4) 合いびきミンチ			

15 発症前1週間以内にひき肉類の喫食はありましたか。

	喫食の有無		
	食べた	食べない	不明
15.3 十分加熱されたひき肉			
(1) 牛ミンチ			
(2) 豚ミンチ			
(3) 鶏ミンチ			
(4) 合いびきミンチ			

16 生の野菜の喫食（発症前1週間以内）

（サンドウィッチ、サラダ含む）

17 生の果物類の喫食（発症前1週間以内）

	喫食の有無				喫食の有無		
	食べた	食べない	不明		食べた	食べない	不明
(1) レタス				(1) イチゴ			
(2) キャベツ				(2) イチゴ以外のベリー種（種類）（　　）			
(3) トマト				(3) メロン			
(4) ピーマン				(4) ブドウ			
(5) 大根				(5) サクランボ			
(6) キュウリ				(6) マンゴー			
(7) ネギ				(7) 未殺菌リンゴジュース			
(8) タマネギ				(8) 未殺菌オレンジジュース			
(9) セロリ							
(10) ニンジン							
(11)カイワレダイコン							
(12)アルファルファ							
(13)その他の発芽野菜・スプラウト（　　）							
(14) パセリ							
(15) 大葉（青ジソ）							
(16) クレソン							
(17) もやし							
(18)キムチ							
(19) 漬物(種類)（　　）							
(20) 浅漬け（種類）（　　）							

18 冷凍の野菜・果物の喫食

喫食前加熱調理する食品は除く（発症前1週間以内）

				(1) 冷凍野菜（　　）			
				(2) 冷凍野菜（　　）			
				(3) 冷凍野菜（　　）			
				(4) マンゴー			
				(5) パパイヤ			
				(6) その他冷凍果物			
				(7) その他冷凍果物			
				(8) その他冷凍果物			

以上で終了です。ご協力有難うございました。

平成 26－28 年度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）
総合分担研究報告書

細菌性赤痢・腸チフス・A 型肝炎の国内感染例散発例の調査方法の検討に関する研究

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
研究協力者	砂川　富　正	国立感染症研究所感染症疫学センター
	河端　邦　夫	国立感染症研究所感染症疫学センター
	安藤　美　恵	国立感染症研究所感染症疫学センター
	金井　瑞　恵	国立感染症研究所感染症疫学センター
	蜂巣　友　嗣	国立感染症研究所感染症疫学センター
	竹内　清　美	豊田市保健所

研究要旨

我が国では細菌性赤痢、腸チフス及び A 型肝炎の散発例が広域に報告される場合があるが、その原因は十分に把握できていない。本研究は感染症発生動向調査で報告された細菌性赤痢、腸チフス及び A 型肝炎散発例について調査票を作成し、分子サブタイピングの情報提供と合わせ原因の検討を試みた。平成 26 年は

平成 27 年度は細菌性赤痢で分子サブタイピングの一致例が報告されたが、共通の感染源としての仮説設定には至らなかった。調査票の検討や調査方法を広めることが今後の課題である。

平成28年度は国内で腸チフスA保健所意外からの腸チフスの届出は腸チフスの共通調査票を利用し、利用店舗名及び喫食したメニューの情報収取をした。飲食店 F 及び F 以外の共通喫食はまぐろであった。飲食店 F の従業員検便からはチフス菌は検出されなかった。まぐろのさかのぼり調査から Z 地方にある中央卸市場が共通していた。中央卸市場の従業員から腸チフスの有症者や腸チフス発生国への渡航者は報告されなかった。12 例の便より分離同定されたチフス菌は MLVA 解析で密接な関連があり、同一の汚染源の可能性があると考えられた。本研究で開発して腸チフスの広域散発的に発生するアウトブレイクの疫学調査表は利用可能であると考えられた。

A．研究目的

我が国では細菌性赤痢、腸チフス及び A 型肝炎の発生報告は散発的である。細菌性赤痢及び腸チフスは輸入例が比較的多い疾患でもある。一方で、細菌性赤痢、腸チフス及び A 型肝炎は広域に散発的に発生し、感染症発生動向調査で届出される際に感染源が不明である事が多い。その理由として、保健所単位での発生が 1 例から 2 例程度と少なく、集団発生としての認識にはなりづらい。一方で、これらの疾患は年間報告数から鑑みても、保健所単位で 1 週間に 1 例報告されるか否かの感染症であることから、1 例報告された場合にアウトブレイクとして考えられるが、十分な調査が行われていないのが現状である。

本研究は細菌性赤痢、腸チフス及び A 型肝炎の広域散発例の調査方法の実施可能性の検討を行うことを目的とした。

B．研究方法

平成 26 年

細菌性赤痢、腸チフス、A 型肝炎、E 型肝炎の広域散発例の調査票作成のために、過去に報告されたリスク因子、リスク評価、調査マニュアルを収集した。これらの情報をもとに、細菌性赤痢、腸チフス、A 型肝炎、E 型肝炎の広域散発例の調査票を作成した。

平成 27 年

NESID に報告された細菌性赤痢患者、腸チフス患者及び A 型肝炎患者のうち、散発例として報告された患者に対して調査票をお願いベースで送付した。また、分子サブタイピングの情報を Multi-Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA)法あるいはシークエンスによる解析の情報提供があっ

た患者を対照とした。疫学情報は研究班で開発した調査票を利用するものとした。症例定義は以下とした。

- 細菌性赤痢症例： 2015 年 6 月 1 日から 11 月 8 日までの期間に、NESID に登録された細菌性赤痢患者のうち国内が感染推定地として報告された患者
- 腸チフス症例: 2015 年 6 月 1 日から 11 月 8 日までの期間に、NESID に登録された細腸チフス患者のうち国内が感染推定地として報告された患者
- A 型肝炎症例： 2015 年 6 月 1 日から 11 月 8 日までの期間に、NESID に登録された A 型肝炎患者のうち国内が感染推定地として報告された患者

（倫理面への配慮）

倫理面の配慮は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（平成 26 年受付番号 590）で承認されている。また、平成 28 年の調査票更新の申請時に審査で非該当となった。

平成 28 年

感染症発生動向調査（NESID）で腸チフスの国内例として届出された患者を対象とした。調査方法は NESID で患者の発生届出が報告された自治体に対して調査票（資料 1）を送付し、情報提供依頼を行った。

また、患者が集積した A 保健所において、積極的症例探索、保健所における患者への聞き取り調査、立ち入り調査、さかのぼり調査、検便を行った。積極的症例探索は患者の届出があり、かつ分子サブタイピングが一致した者の届出があった自治体に対して A 保健所より情報提供依頼を行った。さかのぼり調査は A 保健所が実施し、流通元を所管する自治体が別に存在する場合は A 保健所より所管する自治体に対して調査協力依頼を行った。

病原体解析は A 保健所をカバーする地方衛生研究所からの行政依頼にもとづき国立感染症研究所細菌第一部が Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis（MLVA）解析を実施し、A 保健所が解析情報を収集した。

症例定義は 2016 年 8 月 20 日～11 月 17 日に Z 地方居住者で以下を満たす者とする。

- 疑い例：高熱が 1 週間以上継続、比較的徐脈、バラ疹、脾腫、下痢、腸出血、腸穿孔、意識障害のうち、少なくとも 1 つ以上を呈した者で、検便でチフス菌未分離あるいは検便未実施の者
- 確定例：高熱が 1 週間以上継続、比較的徐脈、バラ疹、脾腫、下痢、腸出血、腸穿孔、意識障害のうち、少なくとも 1 つ以上を呈した者で、検便でチフス菌が分離された者
- 保菌例：臨床的特徴を呈していないが、検便でチフス菌が分離された者

（倫理面への配慮）

自治体が実施した調査は食品衛生法及び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もとづき実施した。

また、広域散発例の調査方法構築のための検討は国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会において非該当であった。

C．研究結果

平成 26 年度

広域散発例の細菌性赤痢、腸チフス、A 型肝炎、E 型肝炎に対する調査票を作成した（資料）。

平成 27 年度（表）

細菌性赤痢は 19 例の情報が報告された。そのうち、3 例の MLVA type が一致していた。他の症例は MLVA 法の解析結果が得られなかった。細菌性赤痢は年齢中央値が 36 歳（範囲:5-84 歳）であった。性別は男性 10 例(53%)であった。外食したレストラン、スーパーの利用、コンビニエンスストアの利用で共通性は見られなかった。冷凍フルーツの摂取、オーガニック野菜の摂取、未殺菌乳の摂取は何れの症例もなしであった。MLVA が一致した症例 3 例は魚介類の喫食が共通であったが、さかのぼり調査は行っていない。

腸チフスは調査票が得られなかった。また、A 型肝炎は分子サブタイピングの情報が得られなかったため解析を行っていない。

平成 28 年度

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。症例報告が多かった保健所は A 保健所が 8 例で、うち確定例が 5 例、疑い例が 1 例、保菌例が 2 例であった。その他 4 保健所（B,C,D,E 保健所）は確定例がそれぞれ 1 例ずつであった。9 月 15 日発症の確定例と 9 月 17 日発症の疑い例は夫婦であった（図）。

症例の年齢中央値は 30 歳（範囲:0-66 歳）で、性別は男性 6 例（50%）であった。A 保健所管内の飲食店 F の利用者または同行者が 6 例（50%）であった。確定例のうち、飲食店 F の利用者は 9 月 1 日のランチ利用者が 2 例、9 月 2 日の昼食時に通常メニューを喫食していた。9 月 1 日に飲食店 F を利用した確定例の同行者である 0 歳児は飲食店 F での喫食がなく、症状を呈さなかったが、検便で陽性であったため保菌例であった。9 月 2 日の夜に A 保健所管内の事業所の職場の宴会があり、そのうち確定例が 1 例、保菌例が 1 例発生した。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る食材は下記の通りであった。

＜飲食店Ｆの共通性のある食材＞
- お造り：まぐろ、いか、わかめ、大根、ワサビ
- 揚げ物：えび、いか
- 調理工程：揚げた後提供
- 松葉串 or 八寸：トマトの加工品
- 煮物：冬瓜、里芋
- 調理工程：既製品を煮た後提供
- 冬瓜、里芋
- 晒しくじらの酢味噌和え
- 調理工程：冷凍くじら解凍、酢味噌とあえる、提供
- そば、万能ねぎ、とろろ
- その他：水菜

飲食店 F の従業員は腸チフス様の症状を呈した者はいなかった。従業員の検便は実施した２回ともチフス菌陰性であった。また、飲食店Ｆの従業員で９月２日からそれ以前で腸チフス様の症状を呈す者や腸チフスが発生している地域である東南アジア、アフリカ、カリブ海、中央アメリカ及び南アメリカへの渡航歴がある者はいなかった。

腸チフスの広域散発アウトブレイク用の調査票を利用したＢ保健所、Ｃ保健所、Ｄ保健所、Ｅ保健所より提供された情報提供から飲食店（飲食店Ｌ、飲食店Ｍ）の利用歴があった。Ａ保健所管内で飲食店Ｆを利用していない症例及びＢ保健所、Ｃ保健所、Ｄ保健所及びＥ保健所からの症例は刺身、まぐろの喫食が共通食であった。

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。

以上より、さかのぼり調査はまぐろ、いか、トマト加工品、くじらの晒し、水菜、わかめのさかのぼり調査を行った。まぐろ以外の食材は飲食店 F と共通する流通経路はなかった。

まぐろの流通経路は共通の中央卸売市場であった。中央卸売市場からの流通先の経路は２つあり、１つは水産会社Ｇから水産会社Ｈを経て水産会社Ｋを経由するルートである。このルートは飲食店Ｆ及び飲食店Ｌへ流通した。また、中央市場のもう１つの流通経路は水産会社Ｉより水産会社Ｊを経由し、飲食店Ｍへ流通した。

多くは中央卸売市場内の水産会社 G から仲卸を経由し、飲食店Ｆやその他の飲食店に流通した。

中央卸市場の関係者で腸チフス様の症状を呈する者、腸チフスが発生している地域への渡航歴のある者の報告はなかった。

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。

Ｄ．考察

平成 27 年度

本研究は細菌性赤痢で一部の症例から MLVA 法の解析で MLVA type が一致した。魚介類の喫食が共通していたが、共通のリスクとしての仮説までには至らなかった。その理由として、本研究ではさかのぼり調査を行っていないこと、調査票が個別の食品について十分な項目を設定していなかったこと、調査票が十分に記載されていない場合があったことなどにより、十分な結果が得られなかった可能性が考えられた。次年度は調査票に必要な食品の曝露についての項目を追加する事が必要であると考えられた。

腸チフス及び A 型肝炎の情報が十分に得られなかったため、今後は様々な機会を利用し、自治体の担当者へ調査の重要性について伝えるとともに、調査票の調査項目の充実を図ることが必要であると考えられた。従って、細菌性赤痢同様に食品の曝露についての項目を追加等の改定が必要であると考えられた。

平成 28 年度

広域散発的に発生した腸チフスはまぐろの喫食が共通し、流通元が共通していたため、感染源がまぐろの喫食の可能性が高い事が考えられた。MLVA の解析結果から症例より分離された株が密接に関連していた。一方で、同一ロットのまぐろの検体が得られなかったため、まぐろの汚染の有無についての情報は得られなかった。また、まぐろのチフスの菌汚染経路については明確な情報が得られなかった。本広域散発的に発生した腸チフスのアウトブレイクは疫学情報及び MLVA の解析結果から汚染されたまぐろの喫食による可能性が高いと考えられた。

広域散発的に発生する腸チフスの感染源に関して広域散発的に発生する腸チフスの疫学調査票（資料 1）を作成した。本調査票から、飲食店でまぐろの喫食した店舗が判明した。また、その飲食店のさかのぼり調査からまぐろの流通元が共通することが見いだせた。従って、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。

潜伏期を２週間とし、その２倍の期間である４週間とし、９月 28 日から４週間症例が発生しなかったことからアウトブレイクは終息したと考えられた。

本研究の限界は以下の３つが考えられた。１）後ろ向き調査であることから思い出しバイアスが発生している可能性が考えられた。２）検便が陽性になる割合が有熱時で最大 80%程度、有熱時以外で最大 60%程度のため、偽陰性の発生による誤分類の可能性が考えられた。３）食品の検査は陽性になる可能性が低いため、原因食品のチフス菌による汚染を過小評価の可能性が考えられた。

Ｅ．結論

本研究は広域で散発的に発生した細菌性赤痢、腸チフス及びA型肝炎の調査方法について検討した。今後、調査票の検討を行い、過去に報告があったリスクとなる食品をチェックリストに追加をし、調査期間を潜伏期の2倍に変更した。

改定後の広域散発的に発生した腸チフスのアウトブレイクは腸チフスに汚染されたまぐろの喫食による感染の可能性が否定できなかった。広域散発的に発生する腸チフスの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。

F．健康危険情報

平成28年度

NESID での集積探知時点で厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部関し安全課及び健康局結核感染症課へ情報共有を実施した。

G．研究発表

1. 論文発表

1) Kanayama A, Arima Y, Yamagishi T, Kinoshita H, Sunagawa T, Yahata Y, Matsui T, Ishii K, Wakita T, Oishi K. Epidemiology of domestically-acquired hepatitis E virus infection in Japan: assessment of the nationally reported surveillance data, 2007-2013. J Med Microbiol. 2015; 64(7):752-8.
2) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. Vaccine. 2015; 33(45):6029-36.
3) Tabuchi A, Wakui T, Yahata Y, Yano K, Azuma K, Yamagishi T, Nakashima K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. A large outbreak of enterohemorrhagic Escherichia coli O157, caused by low-salt pickled napa cabbage in nursing homes, Japan, 2012. Western Pac Surveill Response J. 16;6(2):7-11.
4) Yahata Y, Misaki T, Ishida Y, Nagira M, Watahiki M, Isobe J, Terajima J, Iyoda S, Mitobe J, Ohnishi M, Sata T, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N, the E. coli O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohaemorrhagic Escherichia coli O111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy. Epidemiol Infect. 2015:1-12.
5) Yahata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T, Toyokawa T, Nakamura N, Taniguchi K, Okabe N. Kudoa septempunctata-Induced Gastroenteritis in Humans after Flounder Consumption in Japan: a Case-Controlled Study. Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):119-23.

2. 学会発表

1) Yuichiro Yahata, Takako Misaki, Yoichi Ishida, Masami Nagira, Masanori Watahiki, Junko Isobe, Jun Terajima, Sunao Iyoda, Jiro Mitobe, Makoto Ohnishi, Tetsutaro Sata, Kikyosu Taniguchi, Yuki Tada, Nobuhiko Okabe, E. coli O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohemorrhagic Escherichia coli O111 outbreak in Japan associated with hemolytic uremic syndrome and acute encephalopathy. InFORM 2015, Integrated Foodborne Outbreak Response and Management Conference (Phoenix, USA, November 17-20, 2015).
2) Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Yoshiyuki Sugishita, Fumiko Kasuga, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic E. coli Investigation Team. Evaluation of population-attributable risk for sporadic case of enterohemorrhagic Escherichia Coli O157 before and after the control measure in Japan. (Boston, USA, 13-16, 2015).
3) Atsuhiro Kanayama, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yoshiyuki Sugishita, Yuki Kono, Paul Weiss, Tamano Matsui, Fumiko Kasuga, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe. Risk factors for sporadic infection with enterohemorrhagic Escherichia coli O26 in Japan: a case-control study based on national surveillance data. VTEC 2015, 9th International symposium (Boston, USA, 13-16, 2015).
4) Kunio Kawabata, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Fumiko Kasuga, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic E. coli Investigation Team. Effectiveness of prevention for enterohemorrhagic Escherichia coli O157 by the revised regulation for raw beef processing and prohibition of raw beef liver serving (Boston, USA, 13-16, 2015).
5) 加納和彦, 八幡裕一郎, 金山敦宏, 高橋琢理, 砂川富正, 大石和徳. 感染症発生動向調査における E 型肝炎の推移と感染リスクの推定. （第 89 回日本感染症

学会, 2015 年 4 月)

6) 金山敦宏, 八幡裕一郎, 高橋琢理, 加納和彦, 河端邦夫, 砂川富正, 松井珠乃, 大石和徳. わが国の乳幼児施設に関連した腸管出血性大腸菌感染症集団発生事例の増加　感染症発生動向調査に基づく記述疫学. （第 89 回日本感染症学会, 2015 年 4 月)

7) 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. （第 74 回日本公衆衛生学会, 2015 年 10 月, 長崎)

H．知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
該当なし

2. 実用新案登録
該当なし

3. その他
該当なし

表　細菌性赤痢の広域散発例（広域疑い例含む）調査まとめ（n=19, 2015 年 11 月 5 日現在）

調査票の回収	19 例
年齢	＊　中央値 36 歳（範囲 5-84 歳）
性別	男性 10 例、女性 9 例
外食レストラン使用	あり 13 例(68%)、なし 2 例(11%)、不明もしくは記載なし 4 例(21%)
共通したレストラン利用	なし
デパート、スーパーの利用	あり 15 例(79%)、なし 0 例(0%)、不明もしくは記載なし 4 例(21%) ライフ 4 例、イオン 3 例、ヨークベニマル・エコス・マルト 3 例（家族内感染例） よしや 2 例 東武ストア、グルメシティイトーヨーカドー、V ショップ、オークワオーシティー、A コープ、マイバスケット、ニシザワ食彩館、ツルヤ、セレクション、ハローマート、業務スーパー、マルエツ、肉の宝屋、とりせん、マイバスケット　各 1 例
コンビニの使用	あり 4 例(21%)、なし 6 例(32%)、不明もしくは記載なし 9 例(47%) ローソン 2 例、ファミリーマート 1 例、セブンイレブン 1 例
冷凍フルーツ摂取 オーガニック野菜摂取 未殺菌乳摂取	あり 0 例（0%）、なし 11 例(58%)、不明もしくは記載なし 8 例(42%) あり 0 例（0%）、なし 11 例(58%)、不明もしくは記載なし 8 例(42%) あり 0 例（0%）、なし 11 例(58%)、不明もしくは記載なし 8 例(42%)
国内旅行	あり 8 例(42%)、なし 10 例(53%)、記載なし 1 例(5%) 東京都 3 例（家族内感染例）、浅草 1 例、北海道洞爺湖 1 例、北海道ルスツ 1 例 奄美大島 1 例、栃木県 1 例
プール・川遊び・公衆浴場等の利用	あり 4 例(21%)、なし 14 例(74%)、不明 1 例(5%) スイミングスクール、グリーンステイ王弥子、お風呂の王様、幼稚園のプール 1 例
川や湖などの浄化されていない水	あり 1 例(5%)、なし 17 例(89%)、記載なし 1 例(5%)
イベント参加	あり 0 例(0%)、なし 17 例(89%)、不明もしくは記載なし 2 例(11%)
自由記載	HIV 陽性 1 例(5%)、SLE でステロイド内服中 1 例(5%) 、再感染例 1 例(5%)

a)　2015 年 7 月以降の国内感染例 28 例中 19 例　（68%）

b)　調査票は、2015 年 7 月 1 日以降に報告された国内散発例を対象に依頼した。

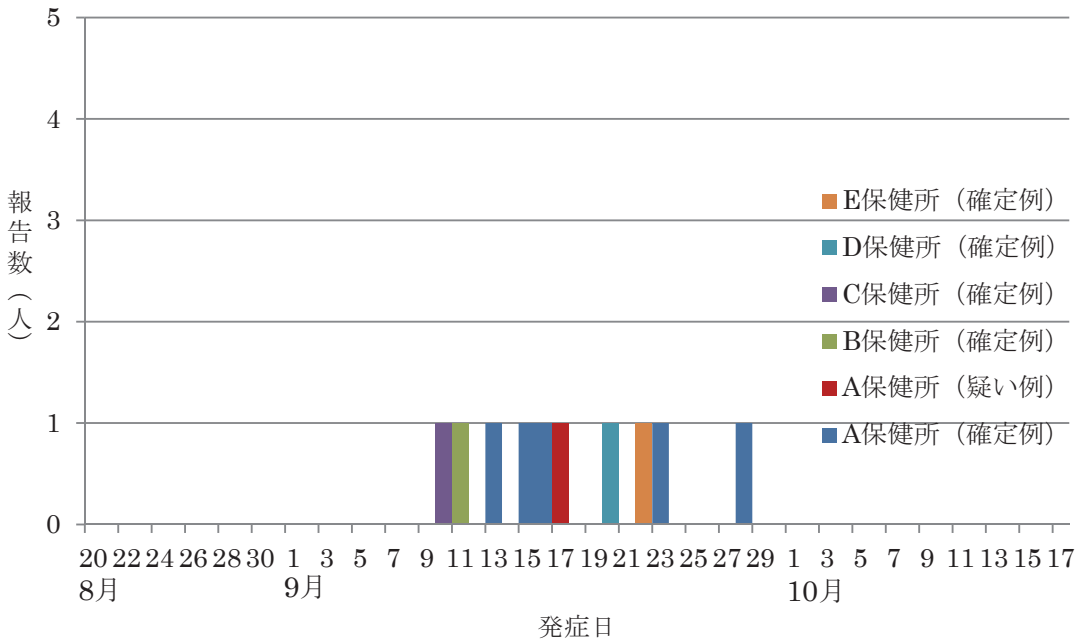


図１　広域散発的に発生した腸チフスアウトブレイク流行曲線

A 型肝炎症例調査質問票　「該当する事項を記入」または「該当する□に✔を記入」して下さい

保健所名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

調査者氏名・所属：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

調査日時：　　月　　日　　時ごろ　　調査方法：　□面接　　□電話

感染症発生動向調査 ID：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿　職場・所属（学校・会社名等）：＿＿＿＿＿＿

基礎疾患：□無、□有（＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿）

■　重症度・転帰（調査時）

肝性脳症	□無・□有（診断日：　　月　　日）	劇症肝炎	□無・□有（診断日：　　月　　日）
転帰	□回復し社会復帰・□軽快退院・□入院中・□死亡（退院または死亡日：　　月　　日）		

日常生活に関する情報

■　発症前 14～50 日間に利用したお店・スーパー・コンビニエンスストア

食品の種類	お店・スーパー・コンビニエンスストアの名称（店舗名）商品名
肉（記入例）	（例）○○ストア（△△駅前）で牛肉、□□商店で鶏刺
肉	
魚介類	
野菜・果物	
冷凍食品	
その他（ドライフルーツ等）	

■　発症前 14～50 日間に利用した飲食店

飲食店の形態	名称（店舗名または所在地）・喫食メニュー・喫食日
ファミリーレストラン（チェーン店）	
ファストフード（ハンバーガー等）	
食堂（チェーン店除く）	
その他	

■ 発症前 14～50 日間に喫食のあった該当する□に✔を記入

1. 生(刺し身等)または十分加熱されていない魚介類

アカガイ □無、□有 (　月　日)	アサリ □無、□有 (　月　日)	大アサリ (ウチムラサキ貝) □無、□有 (　月　日)
カキ □無、□有 (　月　日)	ハマグリ □無、□有 (　月　日)	ムール貝 □無、□有 (　月　日)
ホタテ □無、□有 (　月　日)	マグロ □無、□有 (　月　日)	サーモン(鮭) □無、□有 (　月　日)
ハマチ・ブリ □無、□有 (　月　日)	タイ □無、□有 (　月　日)	ヒラメ □無、□有 (　月　日)
アジ □無、□有 (　月　日)	イカ □無、□有 (　月　日)	エビ □無、□有 (　月　日)
その他(　　) □無、□有 (　月　日)	その他 □無、□有 (　　)(　月　日)	その他 □無、□有 (　　)(　月　日)

2. 野菜・果物(冷凍品・乾燥品も含む)

ラズベリー □無、□有 (　月　日)	ブルーベリー □無、□有 (　月　日)	イチゴ □無、□有 (　月　日)
メロン □無、□有 (　月　日)	ブドウ □無、□有 (　月　日)	サクランボ □無、□有 (　月　日)
マンゴー □無、□有 (　月　日)	未殺菌フルーツジュース □無、□有 (　月　日)	冷凍果物 □無、□有 (　月　日)
レタス □無、□有 (　月　日)	ネギ □無、□有 (　月　日)	セミドライトマト □無、□有 (　月　日)
キャベツ □無、□有 (　月　日)	ピーマン □無、□有 (　月　日)	トマト □無、□有 (　月　日)
カブ □無、□有 (　月　日)	きゅうり □無、□有 (　月　日)	タマネギ □無、□有 (　月　日)
セロリ □無、□有 (　月　日)	ニンジン □無、□有 (　月　日)	パセリ □無、□有 (　月　日)
有機野菜 □無、□有 (　月　日)	冷凍野菜 □無、□有 (　月　日)	瓶詰め缶詰の野菜 □無、□有 (　　)(　月　日)
その他 □無、□有 (　　)(　月　日)	その他 □無、□有 (　　)(　月　日)	その他 □無、□有 (　　)(　月　日)

3. 生(刺し身等)または十分加熱されていない肉類

牛肉 □無、□有 (　月　日)	豚肉 □無、□有 (　月　日)	鶏肉 □無、□有 (　月　日)
種類不明 □無、□有 (　月　日)	その他 □無、□有 (　　)(　月　日)	その他 □無、□有 (　　)(　月　日)

4. 井戸水の使用：□無、□有（　　月　　日）場所：□自宅　□その他（　　）

■　<u>発症前 14～50 日前までの情報</u>

①　旅行歴：□無、□有（有の場合：旅行先［国内・国外］、同行者［家族・同僚］、時期等記載）
旅行先＿＿＿＿＿＿＿＿同行者＿＿＿＿＿＿＿＿時期＿＿＿＿＿＿＿＿
旅行先＿＿＿＿＿＿＿＿同行者＿＿＿＿＿＿＿＿時期＿＿＿＿＿＿＿＿
<u>国外旅行ありの場合、ワクチン接種歴：</u>□無、□有（接種年月日：　　年　　月　　日）

②　家族、友人等の A 型肝炎の罹患：□無、□有（有の場合：罹患者、罹患時期等記載）
罹患者＿＿＿＿＿＿＿＿罹患時期＿＿＿＿＿＿＿＿

③　プール等の使用：□無、□有（有の場合：場所、時期等を記載）
場所＿＿＿＿＿＿＿＿利用時期＿＿＿＿＿＿＿＿

④　大規模イベントでの喫食：□無、□有（有の場合：名称・場所・時期等下記に記載）
イベント名称＿＿＿＿＿＿＿＿場所＿＿＿＿＿＿＿＿時期＿＿＿＿＿＿＿＿
イベント名称＿＿＿＿＿＿＿＿場所＿＿＿＿＿＿＿＿時期＿＿＿＿＿＿＿＿

⑤　その他特記事項（自由記載）

以上で終了です。

細菌性赤痢事例（疑い含む） 曝露状況調査票

<table>
<tr><td>1</td><td colspan="2">患者の属性に関する情報の記入欄: 記入者:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿
感染症発生動向調査 ID:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿
年齢:（　　）歳（　　）か月　性別:（男・女）　記入日:平成　　年　月　日</td></tr>
<tr><td>2</td><td colspan="2">患者の感染源が人である可能性に関する情報の記入欄:</td></tr>
<tr><td rowspan="2"></td><td>①</td><td>同居者・家族等<u>全員</u>について記入のこと。
同居者・家族等（　　）人　※不足する場合は余白に記載
① 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 1 週間の体調〔異常なかった、異常あった（発熱・下痢・腹痛・しぶり腹・膿粘血便・その他［　　］、いつ頃:　　）〕
細菌性赤痢と診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期:　　年）
② 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 1 週間の体調〔異常なかった、異常あった（発熱・下痢・腹痛・しぶり腹・膿粘血便・その他［　　］、いつ頃:　　）〕
細菌性赤痢と診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期:　　年）
③ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 1 週間の体調〔異常なかった、異常あった（発熱・下痢・腹痛・しぶり腹・膿粘血便・その他［　　］、いつ頃:　　）〕
細菌性赤痢と診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期:　　年）
④ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 1 週間の体調〔異常なかった、異常あった（発熱・下痢・腹痛・しぶり腹・膿粘血便・その他［　　］、いつ頃:　　）〕
細菌性赤痢と診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期:　　年）
⑤ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 1 週間の体調〔異常なかった、異常あった（発熱・下痢・腹痛・しぶり腹・膿粘血便・その他［　　］、いつ頃:　　）〕
細菌性赤痢と診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期:　　年）
⑥ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 1 週間の体調〔異常なかった、異常あった（発熱・下痢・腹痛・しぶり腹・膿粘血便・その他［　　］、いつ頃:　　）〕
細菌性赤痢と診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期:　　年）
⑦ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 1 週間の体調〔異常なかった、異常あった（発熱・下痢・腹痛・しぶり腹・膿粘血便・その他［　　］、いつ頃:　　）〕
細菌性赤痢と診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期:　　年）</td></tr>
<tr><td>②</td><td>患者の同居者・家族等以外（例、保育施設・幼稚園・学校等）で感染源の可能性のある者（「細菌性赤痢を疑わせる発熱、下痢、腹痛、しぶり腹、膿粘血便があった人」または「細菌性赤痢既往歴のある人」）との接触（介護、看護等含む）の有無について
あった・なかった・不明
（「あった」の場合、いつ、どこで、誰とどのように接触したか、２①に準拠して記載）</td></tr>
</table>

３	患者の感染源が外食や惣菜である可能性に関する情報の記入欄: ①外食で利用したレストラン等（発症前１週間以内）				
	1	店名		メニュー	
	2	店名		メニュー	
	3	店名		メニュー	
	4	店名		メニュー	
	②患者が利用したデパート、スーパー、お店等（発症前１週間以内）				
	1	肉		店名	
	2	魚		店名	
	3	野菜		店名	
	4	弁当・惣菜		店名	
	5	冷凍食品		店名	
	6	その他		店名	
	③患者が多く利用したコンビニエンスストアを複数（発症前１週間以内）				
	店名			購入した食べ物（弁当・食品等）	

4	患者の旅行（発症前１週間以内）に関する情報：					
	1	海外旅行（出発または帰国）		はい	いいえ	不明
	2	訪問国、出発日、帰国日は？	訪問国	出発日	帰国日	
	3	国内旅行		はい	いいえ	不明
	４．１	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発日	帰宅/出発日	
	４．２	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅/出発日	
	４．３	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅日	

5	患者のプール・水遊び（川・湖・池・海）・公衆浴場等の利用（発症前１週間）	はい・いいえ・不明
	場所	名称
		所在

6	患者の飲料水関係（発症前１週間）						
	1	飲料水の種類	公設水道	簡易水道	私設井戸水	市販ミネラルウオーター	その他
	2	川や湖などの浄化されていない水	飲んだ	飲まない	不明		

7	患者のイベントへの参加（発症前１週間）	はい・いいえ・不明 ↓はいの場合 イベント開催時期：　月　日 イベント開催場所： 喫食の有無　はい（食べ物：　時期：　） いいえ・不明

８．発症前１週間に喫食のあった該当する□に✔を記入

(1) 生（刺し身等）または十分加熱されていない魚介類

アカガイ　□無、□有（　月　日）	アサリ　□無、□有（　月　日）	大アサリ（ウチムラサキ貝）　□無、□有（　月　日）
カキ　□無、□有（　月　日）	ハマグリ　□無、□有（　月　日）	ムール貝 □無、□有（　月　日）
ホタテ　□無、□有（　月　日）	マグロ　□無、□有（　月　日）	サーモン（鮭）　□無、□有（　月　日）
ハマチ・ブリ　□無、□有（　月　日）	タイ　□無、□有（　月　日）	ヒラメ　□無、□有（　月　日）
アジ　□無、□有（　月　日）	イカ　□無、□有（　月　日）	エビ　□無、□有（　月　日）
ウニ　□無、□有（　月　日）	スモークサーモン　□無、□有（　）（　月　日）	冷凍魚介類　□無、□有（　）（　月　日）
冷凍魚介類　□無、□有（　）（　月　日）	その他　□無、□有（　）（　月　日）	その他　□無、□有（　）（　月　日）

(2) 野菜・果物（冷凍品・乾燥品も含む）

ラズベリー □無、□有 （　月　日）	ブルーベリー □無、□有 （　月　日）	イチゴ □無、□有 （　月　日）
メロン □無、□有 （　月　日）	ブドウ □無、□有 （　月　日）	サクランボ □無、□有 （　月　日）
マンゴー □無、□有 （　月　日）	未殺菌ﾌﾙｰﾂｼﾞｭｰｽ□無、□有 （　　）（　月　日）	冷凍果物 □無、□有 （　月　日）
レタス □無、□有 （　月　日）	ネギ □無、□有 （　月　日）	セミドライトマト □無、□有 （　月　日）
キャベツ □無、□有 （　月　日）	ピーマン □無、□有 （　月　日）	トマト □無、□有 （　月　日）
カブ □無、□有 （　月　日）	きゅうり □無、□有 （　月　日）	タマネギ □無、□有 （　月　日）
セロリ □無、□有 （　月　日）	ニンジン □無、□有 （　月　日）	パセリ □無、□有 （　月　日）
バジル □無、□有 （　月　日）	冷凍野菜 □無、□有 （　月　日）	瓶詰め缶詰の野菜 □無、□有 （　　）（　月　日）
有機野菜 □無、□有 （　　）（　月　日）	漬物 □無、□有 （　　）（　月　日）	浅漬 □無、□有 （　　）（　月　日）
キムチ □無、□有 （　　）（　月　日）	その他 □無、□有 （　　）（　月　日）	その他 □無、□有 （　　）（　月　日）

(3) 生（刺し身等）または十分加熱されていない乳肉類及び生鶏卵

牛肉 □無、□有 （　月　日）	豚肉 □無、□有 （　月　日）	鶏肉 □無、□有 （　月　日）
生鶏卵 □無、□有 （　月　日）	未殺菌乳 □無、□有 （　　）（　月　日）	その他 □無、□有 （　　）（　月　日）

(4) その他

御協力ありがとうございました。

腸チフス事例（疑い含む） 曝露状況調査票

<table>
<tr><td>1</td><td colspan="2">**患者の属性に関する情報の記入欄:** **記入者:**＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿
感染症発生動向調査 ID:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿**氏名:**＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿
年齢:（　　）歳（　　）か月　性別:（男・女）　記入日:平成　　年　月　日</td></tr>
<tr><td>2</td><td colspan="2">**患者の感染源が人である可能性に関する情報の記入欄:**</td></tr>
<tr><td rowspan="2"></td><td>①</td><td>**同居者・家族等<u>全員</u>（海外渡航の有無にかかわらず）について記入のこと。**
同居者・家族等（　　）人　※不足する場合は余白に記載
① 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 2 週間の体調〔異常なかった、異常あった（下痢・高熱・その他［　　］、いつ頃：　　）〕
腸チフスと診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期：　　年）
② 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 2 週間の体調〔異常なかった、異常あった（下痢・高熱・その他［　　］、いつ頃：　　）〕腸チフスと診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期：　　年）
③ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 2 週間の体調〔異常なかった、異常あった（下痢・高熱・その他［　　］、いつ頃：　　）〕
腸チフスと診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期：　　年）
④ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 2 週間の体調〔異常なかった、異常あった（下痢・高熱・その他［　　］、いつ頃：　　）〕
腸チフスと診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期：　　年）
⑤ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 2 週間の体調〔異常なかった、異常あった（下痢・高熱・その他［　　］、いつ頃：　　）〕
腸チフスと診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期：　　年）
⑥ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 2 週間の体調〔異常なかった、異常あった（下痢・高熱・その他［　　］、いつ頃：　　）〕
腸チフスと診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期：　　年）
⑦ 続柄（　　）年齢（　歳）性（男・女）
今回の患者発症前 2 週間の体調〔異常なかった、異常あった（下痢・高熱・その他［　　］、いつ頃：　　）〕
腸チフスと診断されたことが（ある・ない・不明）（「ある」の時期：　　年）</td></tr>
<tr><td>②</td><td>**患者の同居者・家族等以外で感染源の可能性のある者（海外渡航の有無にかかわらず「腸チフスを疑わせる下痢または高熱があった人」または「腸チフス既往歴のある人」）との接触（介護、看護等含む）の有無について**
あった・なかった・不明
（「あった」の場合、いつ、どこで、誰とどのように接触したか、２①に準拠して記載）</td></tr>
</table>

3	**患者の感染源が外食や惣菜である可能性に関する情報の記入欄:** **①外食で利用したレストラン等（発症前 2 週間以内）**				
	1	店名		メニュー	
	2	店名		メニュー	
	3	店名		メニュー	
	4	店名		メニュー	
	②患者が利用したデパート、スーパー、お店等（発症前 2 週間以内）				
	1	肉		店名	
	2	魚		店名	
	3	野菜		店名	
	4	弁当・惣菜		店名	
	5	その他		店名	
	③患者が多く利用したコンビニエンスストアを複数（発症前 2 週間以内）				
	店名		購入した食べ物（弁当・食品等）		

4　患者が発症前 2 週間に以下の食品喫食の有無。いずれかを選び、「あった」場合、該当する食品に〇印を付け、カッコ内に記入してください。

- 冷凍フルーツ（あった：種類：　　）→時期（　　月　　日）、なかった、不明
- オーガニック野菜（あった：種類：　）→時期（　　月　　日）、なかった、不明
- 未殺菌乳（あった：種類：　　）→時期（　　月　　日）、なかった、不明

5	患者の旅行（発症前 2 週間以内）に関する情報：						
	1	海外旅行（出発または帰国）			はい	いいえ	不明
	2	訪問国、出発日、帰国日は？	訪問国	出発日	帰国日		
	3	国内旅行			はい	いいえ	不明
	4．1	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発日	帰宅/出発日		
	4．2	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅/出発日		
	4．3	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅日		

6	患者のプール・水遊び（川・湖・池・海）・公衆浴場等の利用（発症前 2 週間）	はい・いいえ・不明
	場所	名称
		所在

7	患者の飲料水関係（発症前 2 週間）						
	1	飲料水の種類	公設水道	簡易水道	私設井戸水	市販ミネラルウオーター	その他
	2	川や湖などの浄化されていない水	飲んだ	飲まない	不明		

8	患者のイベントへの参加（発症前 2 週間）	はい・いいえ・不明 ↓はいの場合 イベント開催時期：　　月　　日 イベント開催場所： 喫食の有無　はい（食べ物：　　時期：　　） いいえ・不明

その他

御協力ありがとうございました。

平成 26－28 年度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）
総合分担研究報告書

腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発事例における症例対照研究の実施可能性の検討、リスクの推定及び人口寄与危険率の算出試みの検討

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
研究協力者	春日　文子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	砂川　富正	国立感染症研究所感染症疫学センター
	金山　敦弘	国立感染症研究所感染症疫学センター
	伊東　宏明	国立感染症研究所感染症疫学センター
	河端　邦夫	国立感染症研究所感染症疫学センター
	金井　瑞恵	国立感染症研究所感染症疫学センター
	安藤　美恵	国立感染症研究所感染症疫学センター
	河野　有希	国立感染症研究所感染症疫学センター
	岩渕　香織	岩手県環境保健研究センター保健科学部
	岸本　剛	埼玉県衛生研究所
	尾関　由姫恵	埼玉県衛生研究所
	関　なおみ	東京都健康安全研究センター
	寺田　千草	東京都健康安全研究センター
	岩下　裕子	東京都健康安全研究センター
	岡部　信彦	川崎市健康安全研究所
	三崎　貴子	川崎市健康安全研究所
	丸山　絢	川崎市健康安全研究所
	毛利　一也	横浜市健康福祉局健康安全課
	鈴木　敦郎	横浜市健康福祉局健康安全課
	中条　圭伺	横浜市健康福祉局健康安全課
	佐藤　弘樹	横浜市健康福祉局健康安全課
	杉本　成子	静岡県健康福祉部生活衛生局衛生課
	井手　忍	静岡市保健所食品衛生課
	槌田　浩明	岡山市保健福祉局保健管理課
	溝口　嘉範	岡山市保健福祉局保健管理課
	服部　希世子	熊本県健康福祉部健康危機管理課
	原山　眞由美	熊本県健康福祉部健康危機管理課

研究要旨

我が国の腸管出血性大腸菌感染症は年間 4000 例前後報告されている。我が国ではユッケの腸管出血性大腸菌 O111 の汚染によるアウトブレイクや浅漬けの腸管出血性大腸菌 O157 の汚染によるアウトブレイク発生後、対策として生肉の規格基準及び牛生レバーの提供禁止などによる対策が行われた。一方で、腸管出血性大腸菌感染症の散発例は保健所単位で原因の検討が難しく対策が出来ない。本研究は腸管出血性大腸菌感染症散発例のリスクの推定及び散発例に対する優先すべきリスクの検討を行った。また、広域散発例の対照群調査としての利用可能性について検討を行った。研究デザインはマッチングを行った症例対照研究とした。症例は協力の得られた 8 自治体で腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発例として届出られた症例とし、対照はインターネット調査会社に登録された調査参加希望者から年齢階級と居住地をマッチさせた者とした。2014 年度の算出された人口寄与危険割合は「牛肉（十分に加熱）」が 56.3%で最も大きく、次いで、「プールなどの利用」が 17.2%、「牛肉（生または半生）」が 12.3%の順であった。牛肉の生の喫食及び牛生レバーの喫食があり、規制のみではなく、予防行動をするための知識や Awareness の向上などの整備が今後必要であると考えられた。また、「プールなどの利用」が有意で人口寄与危険割合も 3 番目に高かったことから、2014 年における腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発的発生のリスクであった可能性が考えられた。2015 年度の人口寄与危険割合（Population Attributable Risk%: PAR%）は十分に加熱した牛ホルモンのみで 47.2%であった。牛肉の生の喫食及び牛生レバーの喫食があり、規制のみではなく、予防行動をするための知識や Awareness の向上などの整備が今後必要であると考えられた。また、「プールなどの利用」が有意で人口寄与危険割合も 3 番目に高かったことから、2014 年における腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発的発生のリスクであった可能性が考えられた。海外で行われている分子疫学的に同一の遺伝子型を症例とし、同一遺伝子型ではない者を対照とした症例対照研究の実施の検討が早期対策へ向けての今後の課題である。広域散発例のアウトブレイク調査でインターネットを利用した対照群調査は症例の家族や同行者を対照とした場合よりも利用が可能であると考えられた。

A. 研究目的

広域散発例のアウトブレイク調査

感染症のアウトブレイク調査時に症例対照研究を実施する。症例対照研究を実施するにあたり、症例の家族や同行者を対照として選択することが行われる。これらは簡易で実施の可能性が高いが、一方で、家族や同行者は症例と類似の行動する事によるオーバーマッチングやサンプリングバイアスの存在が指摘されている。特に、広域散発的に発生したアウトブレイクの場合、対照群の調査が困難になる場合が考えられた。そこで、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。

アトリビューション調査

我が国の腸管出血性大腸菌感染症の発生動向は年間 3500 例から 4500 例で推移している（文献 1 -3）。腸管出血性大腸菌感染症の症例の多くは散発例である。また、腸管出血性大腸菌感染症の多くは血清群 O157 である。O157 の散発例は発生報告を受けた保健所での疫学調査では感染源を特定することが難しい事が多い。また、我が国ではユッケ提供による腸管出血性大腸菌 O111 のアウトブレイク発生後（文献 4）に、厚生労働省は 2011 年 10 月に牛肉ユッケの規格基準改正の施行及び 2012 年 7 月に牛生レバーの禁止が施行された。これらの対策の効果について継続的なモニタリングが必要である。そこで、本研究は腸管出血性大腸菌 O157 の散発例における人、環境、動物、水などの曝露及び食品（牛肉、牛内臓肉、牛ミンチ肉、その他肉類、野菜、果物など）の曝露（喫食）による発症リスクを検討した。

B. 研究方法

B-1. 広域散発例のアウトブレイク調査

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。

症例定義は 2009 年 11 月 1 日-2010 年月 1 月 14 日にレストランチェーン A の利用者で利用後 14 日以内に消化器症状（下痢、血便、腹痛）を呈し、腸管出血性大腸菌 O157VT2 または VT1VT2 産生が分離同定された者とした。症例対照研究は対照を保健所による症例の家族及び症例の調査とし、マッチングをした症例対照研究の対照をインターネット調査とした。インターネットはインターネット会社に予め登録した者で本調査に参加希望し、2009 年 11 月 1 日-2010 年月 1 月 14 日にレストランチェーン A で症例が発生した店舗利用者とした。調査内容は疫学調査（曝露調査、行動調査、接触調査）、保健所によるレストラン・加工施設・流通施設への立ち入り調査とした。

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-2. アトリビューション調査

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用いた。症例は消化器症状（腹痛、水様性下痢及び血便、嘔吐症状）の何れか 1 つを呈し、腸管出血性大腸菌 O157 が分離・同定された者でかつ集団発生例を除いた患者で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の者を抽出した。対照の抽出は男女とも 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 歳-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。調査項目は発症日、症状、合併症などを症例のみとした。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喫食、環境の曝露、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。オッズ比の算出は条件付きロジスティック回帰分析を用いた。腸管出血性大腸菌 O157 感染症の発症と有意な関連を示した喫食など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 を上回る変数は削除した。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。

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

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

（倫理面への配慮）

倫理面の配慮は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（平成 26 年受付番号 521）で承認されている。

C. 研究結果

C-1. 広域散発例のアウトブレイク調査

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、散発的な発生であった。症例は 18 店舗の利用者から報告があった。店舗が所在する都道府県数は 5 つであった。保症例対照研究の喫食状況は症例が対照よりも高い喫食割合は牛タン、牛カルビ、ヤングカルビ、牛ロース、牛サガリであった。マッチングした症例対照研究の喫食は牛ハラミのみが症例が対照よりも高い割合で喫食していた。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 保症例対照研究）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。肉は輸入肉であった。肉から O157 が検出された。患者と同一の PFGE パターンであった。

C-2. アトリビューション調査 2014 年度結果

人、環境及び動物との曝露と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連は「同居家族で下痢」、「同郷家族で血便」、「同居家族で腸管出血性大腸菌感染症」、「食品を取り扱う仕事」、「保育関係の仕事」が粗のオッズ比及び性別で調整したオッズ比が有意であった（表 1）。

水に関連する曝露及び外食の有無と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連は「プールなどの利用」、「公設水道」が粗のオッズ比及び性別で調整したオッズ比が有意であった（表 2）。

旅行及び子供に関連する曝露と腸管出血

性大腸菌 O157 感染症発症との関連は「国内旅行」が粗のオッズ比及び性別で調整したオッズ比が有意であった（表 3）。

牛肉類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連は「肉類の喫食」、「内臓肉の喫食」、「牛肉（半生）」、「牛肉（十分に加熱）」、「ユッケ（生）」、「牛レバー（生）」、「牛レバー（十分に加熱）」、「牛ホルモン（十分に加熱）」が粗のオッズ比及び性別で調整したオッズ比が有意であった（表 4）。

豚肉類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連は「豚肉（十分に加熱）」、豚ホルモン（十分に加熱）」が粗のオッズ比及び性別で調整したオッズ比が有意であった（表 5）。

鶏肉類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症との関連は「鶏肉（生）」、「鶏肉（半生）」、［鶏肉（十分に加熱）」が粗のオッズ比及び性別で調整したオッズ比が有意であった（表 6）。

野菜類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連は有意なものはなかった（表 7）。

漬物類及びフルーツなどと腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連は有意なものはなかった（表 8）。

曝露と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症と有意な関連があった項目を元に人口寄与危険割合を算出した。人口寄与危険割合算出をするにあたり、条件付き多重ロジスティック回帰分析で、有意水準が 0.1 以下の曝露のみの基準を満たした「同居家族で血便」、「保育関係の仕事」、「プールなどの利用」、「牛肉（生または半生）」、「牛肉（十分に加熱）」が選択された。人口寄与危険割合は「牛肉（十分に加熱）」が 56.3%で最も大きく、次いで、「プールなどの利用」が 17.2%、「牛肉（生または半生）」が 12.3%の順であった。

C-3. アトリビューション調査 2014 年度結果

記述疫学

解析に利用した症例は 45 人で、対照は 348 人であった。性別は症例で女性が 23 人（52%）、対照は女性が 177 人（51%）であった（表 10）。年齢階級は症例で 18 齢階級歳が 14 人（31%）で最も多く次いで、6 で最も歳が 9 人（20%）であり、対照で 18 あり、歳が 92 人（26%）で最も多く、次いで、6 で最も歳が 77 人（22%）であった。症状は腹痛が 40 人（89%）で最も多く、次いで水様性下痢 39 人（87%）、血便 32 人（71%）であった（表 11）。重症な合併症は溶血性尿毒症症候群（Hemolytic Uremic Syndrome: HUS）を 3 例が発症し、急性脳症を発症した症例はいなかった。

家庭内あるいは職場で症例が対照よりも多く報告されていた項目は同居家族で下痢あり（18%）、同居家族で血便あり（7%）、同居家族で腸管出血性大腸菌感染あり（7%）であった(表 12)。

動物との接触は症例（22%）と対照（24%）で差はなかった。接触した動物のうち犬は症例（32%）が対照（12%）よりも多かった（表 13）。プールの利用は症例（38%）が対照（17%）よりも多く、プールの種類別では屋内プール（症例：19%；対照 9%）、屋外プール（症例 19%；対照：6%）で高かった（表 14）。

環境に関連する曝露で症例が多く曝露されていた項目は公衆浴場（症例：11%；対

照：2%)、川（症例：7%；対照：0%）及び海（症例：15%；対照：2%）であった。利用する水では、公設水道の利用者は症例（74%）が対照（64%）よりも多かった（表15)。旅行歴では、国内旅行は症例（27%）が対照（8%）よりも多かった。4 歳児未満の子供については、4 歳児未満の子供の家庭を訪問は症例（21%）が対照（9%）より多かった。

肉類の喫食は症例（96%）が対照（76%）より多く、そのうちよりも多かった項目は半生の牛肉喫食（症例：10%；対照：1%)、十分に加熱した牛肉の喫食（症例：71%；対照：39%)、十分に加熱した豚肉の喫食（症例：93%；対照：60%)、十分に加熱した鶏肉の喫食（症例：80%；対照：62%）であった（表 16)。

内臓肉の喫食は症例（38%）が対照（22%）よりも多く、そのうち症例が対照よりも多かった項目は十分に加熱した牛ホルモンの喫食（症例：24%；対照：5%)、十分に加熱した豚ホルモンの喫食（症例：13%；対照：4%)、十分に加熱した鶏レバー（症例：7%；対照：1%）であった（表 17)。

ひき肉類の喫食は症例（51%）で、対照（64%）よりも少なかったが、そのうちよりも多かった項目は十分に加熱した豚ミンチの喫食（症例：48%；対照：29%)、十分に加熱した合い挽きの喫食（症例：60%；対照：38%）であった（表 18)。

野菜の喫食で症例が対照よりも多かった項目はキャベツの喫食（症例：67%；対照：58%)、トマトの喫食（症例：78%；対照：66%)、キュウリの喫食（症例：100%；対照：59%）であった（表 19)。

果物の喫食及びジュースの摂取で症例が対照よりも摂取割合が大きく高い項目は無かった（表 20)。

肉の嗜好性（焼肉好き及び生肉好き）は対照が症例よりも多かった。

解析疫学

性別は O157 感染症の発症と有意な関連はなかった（Odds Ratio [OR]=1.11, 95% Confidence Interval [95%CI]: 0.60「牛肉（十）（表 21)。

家庭内あるいは職場で発症と有意な関連（粗解析及び性別で調整後とも）があった項目は同居家族で下痢あり（調整 OR［aOR］=6.08, 95%CI: 2.09（粗解析及び)、同居家族で血便あり（aOR=33.25, 95%CI: 5.28 及び)、同居家族で腸管出血性大腸菌あり（aOR=34.92, 95%CI: 5.24 及び)、食品を取り扱う仕事（aOR=3.72, 95%CI: 1.27–10.90）が有意に O157 感染症の発症と関連があった（表 21)。

動物との接触（表 21）は有意な関連（aOR=0.93, 95%CI: 0.42–10.9）がなかったが、動物別では接触した動物のうち、ヤギとの接触（aOR=12.46, 95%CI: 1.00、ヤギとの接触)、豚との接触（aOR=12.46, 95%CI: 1.00、ヤギとの接触)、犬との接触（aOR=3.99, 95%CI: 1.080、ヤギとの）が性別で調整後も O157 感染症の発症と有意に関連があった。

プールの利用は性別で調整後も発症と有意な関連があった（aOR=3.53, 95%CI: 1.65 連があった）（表 22)。個別の利用では、性別で調整後も公衆浴場の利用（aOR=4.37, 95%CI: 1.00 利用（った（)、川の利用（aOR=16.48, 95%CI: 1.45（った（接触（)、海の利用（aOR=5.54, 95%CI: 1.3545（った（) が O157 感染症の発症と有意な関連があった。

利用した水（公設水道、簡易水道、私設井戸水、市販ミネラルウォーター、川や湖など浄化されていない水）はO157感染症の発症と有意な関連がなかった（表22）。

旅行は国内旅行が性別で調整後も有意にO157感染症の発症と関連があった（aOR=4.10, 95%CI:1.83 ど浄化され）（表23）。

4歳未満児との接触（4歳未満の子供が同居、4歳未満の子供が訪問、4歳未満の子供の家庭を訪問、患者が子供のおむつを交換、患者が保育園/幼稚園に通園、患者が保育園/幼稚園の食事を知っている、保育園/幼稚園に下痢の子供いた）及び1歳児未満児との接触（哺乳瓶に入った飲料飲む、母乳摂取、固形物摂取）は性別で調整後もO157感染症の発症と有意な関連がなかった（表23）。

肉類の喫食（aOR=7.83, 95%CI: 1.84、母乳摂取）はO157感染症の発症と有意に関連していた。生の喫食（牛肉、豚肉、鶏肉、牛ユッケ、馬ユッケ）は発症と有意な関連がなかった（表24）。半生喫食は半生の牛肉喫食（aOR= 6.93, 95%CI: 1.69 牛肉、豚肉）、半生の豚肉喫食（aOR=10.42, 95%CI: 1.21 牛肉）、十分に加熱した牛肉の喫食（aOR=3.37, 95%CI: 1.561 牛肉、豚）、十分に加熱した豚肉の喫食（aOR=8.03, 95%CI: 2.401 牛肉、豚肉）、十分に加熱した鶏肉の喫食（aOR=2.59, 95%CI: 1.131 牛肉、豚）が発症と有意な関連があった。

内臓肉の喫食（aOR=2.15, 95%CI: 1.071 牛肉、豚）はO157の発症と有意に関連していた（表25）。内臓肉のうち、十分に加熱した牛ホルモンの喫食（aOR=7.25, 95%CI: 2.85 喫食（豚肉）、十分に加熱した豚ホルモンの喫食（aOR=4.65, 95%CI: 1.61 喫食（豚肉）がO157感染症の発症と有意に関連があった。

ひき肉類の喫食（aOR=0.54, 95%CI: 0.28 喫食（豚）は性別で調整後もO157の発症と有意な関連がなかった。ひき肉のうち、十分に加熱した豚ミンチの喫食（aOR=2.50, 95%CI: 1.08 した豚ミン）、十分に加熱した合いびきの喫食（aOR=2.58, 95%CI: 1.01 した豚ミン）がO157感染症の発症と有意に関連していた（表26）。

野菜の喫食はキュウリの喫食（aOR=2.35, 95%CI: 1.07 した豚ミン）がO157感染症の発症と有意な関連があった（表27）。

人口寄与危険割合（PAR%）の算出（表29）

PAR%の算出のために、解析疫学で有意であった同居家族で下痢あり、同居家族で血便あり、同居家族で腸管出血性大腸菌あり、食品を取り扱う仕事あり、接触した動物が犬、屋外プールの利用、公衆浴場の利用、川の利用、海の利用、国内旅行あり、牛肉（半生喫食）の喫食あり、半生の豚肉喫食あり、十分に加熱した牛肉の喫食あり、十分に加熱した豚肉の喫食あり、十分に加熱した鶏肉の喫食あり、十分に加熱した牛ホルモンの喫食あり、十分に加熱した豚ホルモンの喫食あり、十分に加熱した鶏レバーの喫食あり、十分に加熱した豚ミンチの喫食あり、十分に加熱した合いびきの喫食あり、キュウリ喫食ありを従属変数としたところ、十分に加熱した牛ホルモンの喫食のみが基準を満たし、O157発症と関連があった。これより PAR%は「十分に加熱した牛ホルモン喫食」のみが算出された。「十分に加熱した牛ホルモン喫食」の PAR% は47.2%であった。

D. 考察

D-1. 広域散発例のアウトブレイク調査

本アウトブレイクはサガリが流通や加工時に EHEC に汚染された所見は見出されず、汚染されていた牛サガリ肉の喫食が原因であると考えられた。

家族及び同行者調査は症例と同じ様な行動を取る可能性が指摘されている。従って、サンプリングバイアスやオーバーマッチングの可能性が考えられた。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。従って、保健所で得た症例対照研究に限らず、インターネットによるマッチングした症例対照研究の利用が有効であることが考えられた。

内臓肉（Martyn Brown ed. HACCP in the meat industry）は汚染度が非常に高いことが報告されている。汚染の拡大が加工時に発生し、EHEC に汚染された肉から加工時に他の肉に汚染された可能性あると考えられた。対策汚染度が高い事を認識して提供する、加工時期毎に他の肉からの汚染拡大防止のため何回かに分けて加工を推奨される。

D-2. アトリビューション調査 2014 年度結果

「牛肉（十分に加熱)」は人口寄与危険割合が最も高く、腸管出血性大腸菌 O157 感染症の発症対策のための最優先事項であると考えられた。焼き肉での交差汚染や十分に加熱したつもりが、十分に加熱されてない状態であったことなどが発症に関与していた可能性が考えられた。十分に加熱をするための知識、態度、信念等の要因を向上させることが今後の対策として必要であると考えられた。

「牛肉（生または半生)」の喫食、「牛肉のユッケ（生)」の喫食及び「牛レバー（生または半生)」の喫食は有意に腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症と有意な関連があった。これらのうち、「牛肉（生または半生)」を「生」と「半生」に分けて検討した。その結果、「牛肉（半生)」の喫食及び「牛レバー（生)」の喫食が有意に腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症と関連していた。生の牛肉は規格基準が改正されてからレストランなどの飲食店での提供が基準を満たした加工施設からの提供である。これらの加工施設が製造し、店舗で提供または販売された「牛肉ユッケ」は食中毒を発生させた報告は規格基準改正後ない。半生及び十分に加熱した牛肉の喫食が腸管出血性大腸菌 O157 感染小発症の人口寄与危険割合が約 7 割であることから、喫食時に交差汚染した可能性や汚染された肉が十分に加熱されていないために腸管出血性大腸菌 O157 感染症の発症と関連した可能性があると考えられた。

規制後も生の牛肉の喫食が症例で 3%、生の牛レバーの喫食が症例で 2%であったことから、規制後も喫食する者がいた。生の牛肉及び生の牛レバーは規制後も喫食者が存在していた。これらの者は生の牛肉や生の牛レバーが腸管出血性大腸菌感染症の

リスクであることについての知識がない可能性や腸管出血性大腸菌感染症の発症リスクよりも本人の嗜好を重視している可能性などが考えられた。従って、今後は規制以外にも、知識の普及や腸管出血性大腸菌感染症を予防するための Awareness を向上させることなどを行うことが対策として重要であると考えられた。

プールなどの利用の人口寄与危険割合が3番目に高かった。オッズ比は人口寄与危険割合算出された物のうち最も低いものの、症例で曝露された割合が3割と高いこと及び過去にも国内で、腸管出血性大腸菌感染症がプールで発生があったことが報告されていることからもからプールなどが何らかの形でリザーバーとなっていた可能性が考えられた。今後は本調査のデータを元に迅速な対応ができるようにするための方法を見当することが重要であると考えられた。海外では、PFGE などの分子疫学情報を利用し、患者の中から病原体の遺伝子情報が一致した者を症例とし、不一致の者を対照とした症例対照研究を行い原因の推定及び対策を行っている。次年度は海外で利用されている症例対照研究の実施につて可能か否かについての検討を実施し、早期対策への活用の可能性を模索することが重要である。

D-3. アトリビューション調査 2015 年度結果

肉類は有意な関連があり、生肉の喫食は O157 感染による発症と有意な関連が見られなかった。症例で生肉の喫食は豚肉の生肉の喫食のみ 1 人で、それ以外の生肉の喫食は症例には居なかった。従って、生肉の喫食が O157 感染による発症とは関連が低いと可能性があると考えられた。2011 年のユッケの規格基準改正及び 2012 年の生レバー喫食の規制の効果が得られていると考えられた。今後も、生肉の喫食の規制が遵守されているか否かについての本研究を通したモニタリングの実施が重要であると考えられた。

半生の肉の喫食及び十分加熱の肉（内臓肉、ひき肉含む）の喫食で O157 発症と有意な関連がある肉類があった。牛肉は半生牛肉の喫食及び十分に加熱した牛肉の喫食が O157 の発症と有意な関連があった。内臓肉は牛生ホルモン等の喫食やひき肉は合いびき肉の喫食が O157 の発症と有意な関連があった。更に PAR%の算出より十分に加熱した牛ホルモンが最優先での対策項目であると算出された。従って、PAR％で最優先事項であった牛ホルモンはさかのぼり調査、加工施設や店舗での取り扱いなどについての情報収集を十分に行なうとともに、十分な検討を行なう必要性があると考えられる。また、牛肉は O157 を保菌している可能性があるため、加工段階で O157 に汚染された牛から O157 非汚染の牛肉への交差汚染の可能性は否定出来ない。更に、消費者が十分に加熱をして焼肉を喫食しているとは限らない。そのため、半生の肉を食べてしまう可能性があり、O157 に汚染された牛肉等が不十分な加熱の状態で喫食されることによって発症する可能性が考えられる。牛肉を喫食する際は十分な加熱をすることや半生での喫食を避けるようなキャンペーンが必要であると考えられた。キャンペーンの媒体はメディアをとうしたキャンペーンや保健所あるいは本庁から「十分加熱した牛ホ

ルモンの摂取」や「その他の肉」について O157 の汚染の可能性があること及び O157 に汚染された肉の喫食により O157 感染による発症の可能性があることを周知等させる必要があると考えられた。

家族での下痢、血便または腸管出血性大腸菌ありの場合、O157 感染による発症と有意な関連が見られた。本研究で報告された発症のうち、これらの症状や診断があった者は十分な情報が得られていないが、家庭内での 2 次感染により発生した可能性については否定できない。家庭内で消化器症状あるいは腸管出血性大腸菌の診断がある場合には周囲への感染伝播を防ぐための予防が必要であると考えられた。

プールの利用は発症と有意な関連があるとともに、個別の利用では公衆衛生浴場の利用、川の利用及び海の利用が発症と有意な関連があった。これまでにもプールの利用については O157 の感染との関連について報告があり、プール内でのリザーバが存在していたことが報告されていることからも、プールの利用は感染源になる可能性が考えられた。今後、症例がプールでの O157 感染の可能性について十分な情報収集を行い、対策について検討を行うことが必要であると考えられた。

旅行については O157 感染による消化器症状の発症と有意な関連があったが、訪問先の共通の地域等が見られなかったことから、交絡因子である可能性があると考えられた。

4 歳児未満児及び 1 歳児未満児との接触は有意な関連がなかった。これらの年代の児については、血清群 O26 が中心に報告されていることがあり、O157 による感染伝播の可能性が低いと考えられた。

野菜はキュウリの喫食が O157 感染による消化器症状の発症と有意な関連があったが、2014 年夏に発生した花火大会で販売された冷やしキュウリを喫食した者が O157 に感染した事例が報告されている。情報収集に関するバイアスがあった可能性は否定出来ない。冷やしキュウリのさかのぼり調査の状況や情報の収集方法についてのバイアスの有無について今後検討を行なう事が必要である。

E. 結論

本研究は腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発例発生のリスクを推定し、腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発例発生対策の優先項目の検討を行った。

平成 26 年度のデータから生、半生及び十分加熱した牛肉は腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症のリスクであるとともに優先順位の高い人口寄与危険割合であった。また、プールなどの利用も腸管出血性大腸菌 O157 感染症の発症リスクでかつ優先順位の高い人口寄与危険割合であったことから、今後は早期対策に寄与するための方法について検討が重要であると考えられた。

平成 27 年度のデータから PAR%より十分に加熱したホルモンの喫食が最も優先する O157 対策であると考えられたが、十分な情報収集を行ったうえで、肉が O157 に汚染されている可能性があることや汚染された肉

の喫食時に十分な加熱がなされていない可能性がある肉を摂取することでO157感染による発症の可能性があることを周知することが重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kanayama A, Arima Y, Yamagishi T, Kinoshita H, Sunagawa T, Yahata Y, Matsui T, Ishii K, Wakita T, Oishi K. Epidemiology of domestically-acquired hepatitis E virus infection in Japan: assessment of the nationally reported surveillance data, 2007-2013. J Med Microbiol. 2015; 64(7):752-8
2) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. Vaccine. 2015; 33(45):6029-36.
3) Tabuchi A, Wakui T, Yahata Y, Yano K, Azuma K, Yamagishi T, Nakashima K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. A large outbreak of enterohemorrhagic Escherichia coli O157, caused by low-salt pickled napa cabbage in nursing homes, Japan, 2012. Western Pac Surveill Response J. 16;6(2):7-11.
4) Yahata Y, Misaki T, Ishida Y, Nagira M, Watahiki M, Isobe J, Terajima J, Iyoda S, Mitobe J, Ohnishi M, Sata T, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N and the *E. coli* O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohaemorrhagic Escherichia coli O111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy. Epidemiol Infect. 2015 Jan 20:1-12.
5) Yahata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T, Toyokawa T, Nakamura N, Taniguchi K, Okabe N. Kudoa septempunctata-induced gastroenteritis in humans after flounder consumption in Japan: A case-control study. Jpn J Infect Dis. 2014 Nov 25.
6) Kamata Y, Saito M, Irikura D, Yahata Y, Ohnishi T, Bessho T, Inui T, Watanabe M, Sugita-Konishi Y. A toxin isolated from Sarcocystis fayeri in raw horsemeat may be responsible for food poisoning. J Food Prot. 2014 May;77(5):814-9.

2. 学会発表

1) Yuichiro Yahata, Takako Misaki, Yoichi Ishida, Masami Nagira, Masanori Watahiki, Junko Isobe, Jun Terajima, Sunao Iyoda, Jiro Mitobe, Makoto Ohnishi, Tetsutaro Sata, Kikyosu Taniguchi, Yuki Tada, Nobuhiko Okabe, E. coli O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohemorrhagic Escherichia coli O111 outbreak in Japan associated with hemolytic uremic syndrome and acute encephalopathy. InFORM 2015, Integrated Foodborne Outbreak Response and Management Conference (Phoenix, USA, November

17-20, 2015).

2) Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Yoshiyuki Sugishita, Fumiko Kasuga, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic E. coli Investigation Team. Evaluation of population-attributable risk for sporadic case of enterohemorrhagic Escherichia Coli O157 before and after the control measure in Japan. (Boston, USA, 13-16, 2015).

3) Atsuhiro Kanayama, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yoshiyuki Sugishita, Yuki Kono, Paul Weiss, Tamano Matsui, Fumiko Kasuga, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe. Risk factors for sporadic infection with enterohemorrhagic Escherichia coli O26 in Japan: a case-control study based on national surveillance data. VTEC 2015, 9th International symposium (Boston, USA, 13-16, 2015).

4) Kunio Kawabata, Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Yuki Kono, Fumiko Kasuga, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic E. coli Investigation Team. Effectiveness of prevention for enterohemorrhagic Escherichia coli O157 by the revised regulation for raw beef processing and prohibition of raw beef liver serving (Boston, USA, 13-16, 2015).

5) 加納和彦, 八幡裕一郎, 金山敦宏, 高橋琢理, 砂川富正, 大石和徳. 感染症発生動向調査における E 型肝炎の推移と感染リスクの推定. （第 89 回日本感染症学会, 2015 年 4 月)

6) 金山敦宏, 八幡裕一郎, 高橋琢理, 加納和彦, 河端邦夫, 砂川富正, 松井珠乃, 大石和徳. わが国の乳幼児施設に関連した腸管出血性大腸菌感染症集団発生事例の増加　感染症発生動向調査に基づく記述疫学. （第 89 回日本感染症学会, 2015 年 4 月)

7) 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. （第 74 回日本公衆衛生学会, 2015 年 10 月, 長崎)

8) 河端邦夫、清原知子、石井孝司、脇田隆字、金山敦宏、八幡裕一郎、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、松井珠乃、砂川富正、大石和徳 : A 型肝炎の家族内感染についての疫学的分析（2014 年上半期を中心に）. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会.　福岡市.　2014 年 12 月 6-7 日

9) 石井孝司、清原知子、脇田隆字、河端邦夫、金山敦宏、八幡裕一郎、山岸拓也、松井珠乃、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、大石和徳、砂川富正 : 2014 年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会. 横浜市. 2014 年 11 月 10-12 日

10) 加納和彦、八幡裕一郎、捧建蔵、柳楽真佐実、齊藤剛仁、金山敦宏、高橋琢理、有馬雄三、河端邦夫、砂川富正、大石和徳 : 牛生肉・生レバーの規制強化の効果を検証する. 第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 京都市. 2014 年 7 月 15-16 日

H. 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

Table 1. Characteristics of Subjects

	Case (n=17		LPHC Control (n=34)		Internet Control (n=38)	
	Median	Range	Median	Range	Median	Range
Age (years old)	23	12-48	24	4-45	35.5	18-49
	n	%	n	%	n	%
Age						
18e49 years old	15		26		34	
40ears old old)	2		3		4	
Sex						
Male	10	66.7	21	67.6	25	65.8
Female	7	33.3	8	32.4	13	34.2
Symptom						
Diarrhea	19	90.5				
Bloody stool	15	71.4				
Abdominal cramps/pain	21	100.0				
Vomiting	6	28.6				
Fever	12	57.1				
Admitted to hospital	14	66.7				
Complications						
Hemolytic uremic syndrome (HUS)	0	0.0				
Acute encephalopathy	0	0.0				
Death (case fatality rate)	0	0.0				
Serogroup with *stx*						
O157 with *stx1*	8	38.1				
O157 with *stx1* and *stx2*	13	61.9				

Table 2. Association between consumption of food and O157 infection by LPHC control

	Case		Control		OR [a)]	95%CI [b)]
	N	%	N	%		
Beef tang	7/17	41.2	5/26	19.2	2.94	0.75 – 11.60
Beef ribs	15/17	88.2	22/27	81.5	1.70	0.29 – 9.97
Fatty beef ribs	3/17	17.6	10/24	41.7	0.30	0.07 – 1.33
Beef loin	5/14	35.7	9/25	36.0	0.99	0.25 – 3.87
Beef hanging tender	14/16	87.5	19/23	82.6	1.47	0.24 – 9.21
Beef diaphragm	5/16	31.3	8/27	29.6	1.08	0.28 – 4.13
Slices of beef tripe	1/17	5.9	2/26	7.7	0.75	0.06 – 8.98
Beef liver	3/17	17.6	10/25	40.0	0.32	0.07 – 1.41
Beef small intestine	3/16	18.8	7/24	29.2	0.56	0.12 – 2.60

a) OR: Odds Ratio

b) 95%CI: 95% Confidence Interval

c) Exact logistic regression analysis

Table 3. Association between consumption of food and O157 infection by Internet control

	Case		Control		OR [a)]	95%CI [b)]
	N	%	N	%		
Beef tang [c)]	7/17	41.2	32/36	88.9	0.06	0.00 – 0.33
Beef ribs	15/17	88.2	33/38	86.8	1.83	0.19 – 17.37
Fatty beef ribs [c)]	3/17	17.6	20/36	55.6	0.06	0.00 – 0.32
Beef loin	5/14	35.7	21/34	61.8	0.31	0.06 – 1.55
Beef hanging tender	14/16	87.5	8/33	24.2	14.73	1.85 – 117.03
Beef diaphragm	5/16	31.3	20/34	58.8	0.43	0.11 – 1.73
Slices of beef tripe [c)]	1/17	5.9	9/37	24.3	0.19	0.00 – 1.05
Beef liver	3/17	17.6	9/38	23.7	0.72	0.13 – 3.84
Beef small intestine	3/16	18.8	7/38	18.4	1.11	0.16 – 7.81

d) OR: Odds Ratio

e) 95%CI: 95% Confidence Interval

f) Exact logistic regression analysis

表１　人、環境及び動物との曝露と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連

	症例		対照		Crude		Adjusted	
	あり	なし	あり	なし	OR[a)]	95%CI[b)]	OR	95%CI
性	62	50	424	456	1.47	0.97-2.22		
同居家族で下痢	19	92	43	754	3.79	1.99-7.21	3.66	1.92-6.98
同居家族で血便	11	101	2	831	37.31	7.85-177.33	38.59	8.02-185.68
同居家族で腸管出血性大腸菌	10	102	0	880	91.48	13.57-∞	104.68	15.16-∞
仕事の有無	49	63	478	399	0.68	0.42-1.09	0.74	0.46-1.21
食品を取り扱う仕事	15	97	33	840	4.38	2.25-8.52	4.24	2.18-8.26
医療・福祉関係の仕事	3	109	47	830	0.58	0.18-1.88	0.53	0.16-1.75
保育関係の仕事	4	108	4	872	9.23	2.26-37.58	7.87	1.90-32.62
動物との接触	27	84	217	605	0.90	0.55-1.48	0.89	0.54-1.46
接触した動物種類　牛	0	112	0	822	NA		NA	
接触した動物種類　羊	1	111	2	820	3.42	0.29-40.82	3.17	0.26-39.33
接触した動物種類　馬	0	112	4	818	1.34	0.00-10.86	1.20	0.00-9.83
接触した動物種類　鹿	0	112	0	822	NA		NA	
接触した動物種類　ヤギ	1	111	3	819	1.78	0.18-17.23	1.73	0.18-16.96
接触した動物種類　豚	0	112	1	821	NA		NA	
接触した動物種類　犬	19	93	123	699	1.13	0.63-2.01	1.13	0.63-2.02
接触した動物種類　鶏	1	111	2	820	4.23	0.38-47.06	4.06	0.37-45.15
接触した動物種類　アヒル	0	112	0	822	NA		NA	

a)　OR: Odds Ratio（オッズ比）

b)　95%CI: 95% Confidence Interval（95%信頼区間）

表 2. 水に関連する曝露及び外食の有無と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連

	症例		対照		Crude		Adjusted	
	あり	なし	あり	なし	OR[a)]	95%CI[b)]	OR	95%CI
プールなどの利用	34	77	168	688	1.92	1.16-3.16	2.00	1.20-3.32
屋内プール	11	101	73	783	0.87	0.40-1.90	0.87	0.40-1.92
屋外プール	14	98	79	777	1.72	0.85-3.49	1.79	0.87-3.65
子ども用ビニールプール	3	109	13	843	2.26	0.54-9.56	2.13	0.50-9.16
公衆浴場	6	106	23	833	2.02	0.72-5.70	1.90	0.66-5.44
池	0	112	5	851	NA		NA	
湖	0	112	2	854	NA		NA	
川	3	109	14	842	1.72	0.46-6.39	1.87	0.50-7.03
海	2	110	17	839	1.02	0.23-4.50	1.03	0.23-4.62
その他のプール	2	110	5	851	2.41	0.40-14.42	2.15	0.34-13.56
砂場の利用（一八歳以下）	4	26	24	214	1.47	0.39-5.55	1.45	0.38-5.50
公設水道	85	27	525	348	2.13	1.32-3.43	2.14	1.32-3.45
簡易水道	1	111	36	837	0.21	0.03-1.57	0.22	0.03-1.67
私設井戸水	0	112	15	858	NA		NA	
市販ミネラルウォーター	47	64	541	332	0.45	0.29-0.69	0.45	0.29-0.71
その他の飲料水	7	105	64	809	0.84	0.35-1.98	0.82	0.35-1.96
川や湖などの浄化されていない水	2	108	3	862	5.37	0.86-33.43	4.81	0.78-29.85
外食の有無	94	15	0	0	NA		NA	

a) OR: Odds Ratio（オッズ比）

b) 95%CI: 95% Confidence Interval（95%信頼区間）

表 3. 旅行及び子供に関連する曝露と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連

	症例		対照		Crude		Adjusted	
	あり	なし	あり	なし	OR	95%CI	OR	95%CI
海外旅行	2	109	11	866	1.70	0.37 - 7.81	1.68	0.36 - 7.81
国内旅行	20	90	76	791	2.09	1.18 - 3.69	2.07	1.17 - 3.66
4 歳未満の子供が同居	3	39	43	218	0.53	0.15 - 1.90	0.53	0.15 - 1.90
4 歳未満の子供が訪問	1	41	16	244	0.54	0.07 - 4.43	0.54	0.07 - 4.37
4 歳未満の子供の家庭を訪問	4	38	19	232	1.74	0.50 - 6.06	1.75	0.50 - 6.10
患者が子供のおむつを交換	0	41	7	249	0.82	0.00 - 6.75	0.79	0.00 - 6.54
患者が保育園/幼稚園に通園	3	38	26	237	1.02	0.24 - 4.31	1.01	0.24 - 4.31
患者が保育園/幼稚園で食べた物	0	2	13	10			NA	
保育園/幼稚園に下痢の子供	0	37	1	11	1.00	0.00 - 39.00	3.00	0.00 - 117.00

a) OR: Odds Ratio（オッズ比）

b) 95%CI: 95% Confidence Interval（95%信頼区間）

表 4. 牛肉類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症発症との関連

	症例		対照		Crude				Adjusted			
	あり	なし	あり	なし	OR	95%CI			OR	95%CI		
肉類の喫食	102	7	652	213	4.79	2.06	-	11.15	4.78	2.05	-	11.12
内臓肉の喫食	28	74	166	699	1.76	1.08	-	2.88	1.81	1.11	-	2.97
ひき肉類の喫食	50	42	588	277	0.54	0.34	-	0.87	0.55	0.34	-	0.87
牛肉（生）	3	101	8	871	3.53	0.89	-	13.94	3.36	0.84	-	13.50
牛肉（半生）	12	90	17	859	5.35	2.30	-	12.46	5.35	2.27	-	12.58
牛肉（十分に加熱）	72	26	304	437	4.19	2.50	-	7.03	4.29	2.54	-	7.22
ユッケ（生）	2	103	1	878	20.65	1.87	-	227.88	19.97	1.79	-	222.21
馬ユッケ（生）	4	102	1	877	23.56	2.41	-	230.23	27.72	2.75	-	279.53
牛レバー（生）	2	102	0	880	17.51	1.27	-	∞	18.44	1.26	-	∞
牛レバー（半生）	1	102	0	880	1.00	0.03	-	∞	0.75	0.02	-	∞
牛レバー（十分に加熱）	8	95	22	827	3.39	1.43	-	8.01	3.57	1.49	-	8.55
牛ホルモン（生）	0	104	0	880	NA				NA			
牛ホルモン（半生）	0	100	0	880	NA				NA			
牛ホルモン（十分に加熱）	15	86	30	823	5.31	2.55	-	11.07	5.54	2.63	-	11.66
牛ミンチ（生）	1	97	1	876	8.94	0.56	-	143.62	9.01	0.56	-	146.20
牛ミンチ（半生）	1	99	2	874	4.11	0.37	-	45.54	3.51	0.32	-	39.02
牛ミンチ（十分に加熱）	17	69	101	595	1.78	0.97	-	3.27	1.81	0.98	-	3.35
合びき（生）	1	97	2	876	4.33	0.39	-	47.73	5.86	0.52	-	65.84
合びき（半生）	0	100	1	874	10.00	0.00	-	390.00	8.26	0.00	-	322.11
合びき（十分に加熱）	29	59	318	418	0.65	0.39	-	1.07	0.65	0.39	-	1.08

表 5.　豚肉類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症との関連

	case		control		Crude		Adjusted	
	+	-	+	-	OR	95%CI	OR	95%CI
豚ミンチ（生）	0	98	1	877	8.00	0.00 - 312.00	11.10	0.00 - 432.94
豚ミンチ（半生）	0	100	0	876	NA		NA	
豚ミンチ（十分に加熱）	20	67	215	488	0.64	0.36 - 1.13	0.63	0.36 - 1.12
豚肉（生）	2	103	2	876	3.66	0.31 - 42.87	3.32	0.27 - 40.63
豚肉（半生）	12	90	17	859	10.00	0.00 - 390.00	12.78	0.00 - 498.28
豚肉（十分に加熱）	74	27	462	310	1.68	1.03 - 2.76	1.67	1.02 - 2.73
豚レバー（生）	1	103	0	880	10.00	0.26 - ∞	8.63	0.22 - ∞
豚ホルモン（生）	0	104	0	880	NA		NA	
豚レバー（半生）	0	104	0	880	NA		NA	
豚ホルモン（半生）	0	102	0	880	NA		NA	
豚レバー（十分に加熱）	0	102	15	832	0.43	0.00 - 2.69	0.41	0.00 - 2.57
豚ホルモン（十分に加熱）	8	92	19	830	4.84	1.97 - 11.90	5.18	2.08 - 12.90

表 6.　鶏肉類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症との関連

	case		control		Crude		Adjusted	
	+	-	+	-	OR	95%CI	OR	95%CI
鶏肉（生）	3	102	2	876	7.94	1.07 - 58.63	7.82	1.03 - 59.38
鶏肉（半生）	5	96	1	876	45.19	5.21 - 391.74	51.26	5.77 - 455.16
鶏肉（十分に加熱）	75	26	452	315	1.83	1.11 - 3.02	1.81	1.10 - 2.99
鶏ミンチ（生）	0	98	0	877	NA		NA	
鶏ミンチ（半生）	0	100	0	876	NA		NA	
鶏ミンチ（十分に加熱）	6	85	98	591	0.37	0.13 - 1.05	0.37	0.13 - 1.06
鶏レバー（生）	1	103	0	880	9.00	0.23 - ∞	NA	-
鶏ホルモン（生）	0	104	0	880	NA		NA	
鶏レバー（半生）	0	104	0	880	NA		NA	
鶏ホルモン（半生）	0	103	0	880	NA		NA	
鶏レバー（十分に加熱）	2	100	19	830	1.12	0.26 - 4.88	1.11	0.26 - 4.85
鶏ホルモン（十分に加熱）	1	100	7	842	1.51	0.19 - 12.35	1.59	0.19 - 13.02

表 7.　野菜類の喫食と腸管出血性大腸菌 O157 感染症との関連

	case		control		Crude		Adjusted	
	+	-	+	-	OR	95%CI	OR	95%CI
レタス	29	59	318	418	1.34	0.80 - 2.26	1.33	0.79 - 2.24
キャベツ	65	29	515	246	1.24	0.74 - 2.09	1.25	0.74 - 2.11
トマト	65	32	585	205	0.80	0.49 - 1.31	0.78	0.48 - 1.28
ピーマン	18	76	127	594	1.25	0.70 - 2.24	1.26	0.70 - 2.26
大根	23	65	232	481	0.81	0.48 - 1.39	0.80	0.47 - 1.37
キュウリ	70	29	541	224	1.28	0.77 - 2.12	1.24	0.75 - 2.06
ネギ	36	61	331	405	0.76	0.47 - 1.22	0.78	0.48 - 1.25
玉ねぎ	30	63	219	513	1.23	0.75 - 2.03	1.23	0.75 - 2.02
セロリ	8	83	75	668	1.23	0.75 - 2.03	0.86	0.38 - 1.95
ニンジン	21	70	182	544	0.98	0.57 - 1.69	0.96	0.56 - 1.66
カイワレ大根	5	86	86	660	0.39	0.14 - 1.10	0.39	0.14 - 1.10
アルファルファ	2	87	9	740	1.75	0.37 - 8.23	1.57	0.33 - 7.50
その他発芽野菜・スプラウト	3	77	49	678	0.53	0.16 - 1.78	0.50	0.15 - 1.69
パセリ	8	80	42	708	1.85	0.82 - 4.19	1.86	0.82 - 4.22
大葉（青じそ）	13	75	193	554	0.47	0.24 - 0.93	0.45	0.23 - 0.89
クレソン	1	91	20	735	0.43	0.06 - 3.28	0.40	0.05 - 3.07
もやし	14	80	79	653	1.65	0.87 - 3.14	1.67	0.88 - 3.19

表 8.　漬物類、フルーツなどと

	case		control		Crude				Adjusted			
	+	-	+	-	OR	95%CI			OR	95%CI		
キムチ	27	65	166	576	1.22	0.72	-	2.08	1.22	0.71	-	2.07
漬物	23	64	280	468	0.47	0.27	-	0.82	0.48	0.27	-	0.84
浅漬け	16	68	222	508	0.53	0.29	-	0.98	0.54	0.29	-	1.00
イチゴ	2	98	44	771	0.41	0.10	-	1.75	0.41	0.10	-	1.74
イチゴ以外のベリー種	4	94	56	743	0.67	0.24	-	1.90	0.63	0.22	-	1.79
メロン	8	92	152	647	0.37	0.16	-	0.82	0.35	0.16	-	0.79
ブドウ	23	78	227	580	0.60	0.35	-	1.05	0.56	0.32	-	0.98
さくらんぼ	8	93	60	755	1.24	0.51	-	3.00	1.22	0.50	-	2.97
マンゴー	7	91	66	745	0.92	0.38	-	2.21	0.89	0.37	-	2.14
未殺菌りんごジュース	2	98	7	792	2.35	0.47	-	11.84	2.46	0.48	-	12.64
未殺菌オレンジジュース	0	99	5	789	1.36	0.00	-	10.02	1.55	0.00	-	11.70
冷凍マンゴー	2	93	23	827	1.04	0.23	-	4.60	0.93	0.21	-	4.16
冷凍パパイヤ	0	94	2	842	11.00	0.00	-	429.00	8.93	0.00	-	348.11

表 9 人口寄与危険割合

	症例		対照		aOR[a)]	95%CI[b)]	PAR%[c)]
	曝露	合計	曝露	合計			
同居家族で血便	10	112	0	880	44.38	5.72-344.25	8.7
保育関係の仕事	4	112	4	876	15.64	3.20-76.34	3.3
プールなどの利用	33	111	73	856	2.37	1.20-4.66	17.2
牛肉（生または半生）	14	100	19	878	8.33	2.75-25.28	12.3
牛肉（十分に加熱）	72	98	304	741	4.27	2.31-7.91	56.3

a) aOR: adjusted Odds Ratio（調整オッズ比）

b) 95%CI: 95% Confidence Interval（95%信頼区間）

c) PAR%: Population Attributable Risk %（人口寄与危険割合）

表 10. 性、年齢階級別の状況

	症例		対照	
	人	%	人	%
性別				
男	21/44	48	171/348	49
女	23/44	52	177/348	51
年齢階級				
0-1 歳	0/45	0	0/348	0
2-5 歳	7/45	16	47/348	14
6-11 歳	9/45	20	77/348	22
12-17 歳	2/45	4	12/348	3
18-39 歳	14/45	31	92/348	26
40-59 歳	6/45	13	68/348	20
60 歳以上	7/45	16	52/348	15

表 11. 症例の症状・合併症・入院の状況

	人	%
腹痛	40/45	89
水様性下痢	39/45	87
血便	32/45	71
嘔吐	8/45	18
発熱	10/45	22
溶血性貧血	2/45	4
急性腎不全	2/45	4
HUS	3/45	7
痙攣	0/45	0
昏睡	0/45	0
脳症	0/45	0
入院加療	17/45	38

表 12. 家族及び仕事の状況

	症例		対照	
	人	%	人	%
同居家族で下痢あり	8/44	18	17/317	5
同居家族で血便あり	3/44	7	0/332	0
同居家族で腸管出血性大腸菌あり	3/43	7	0/332	0
仕事の有無（有り）	18/44	41	191/347	55
食品を取り扱う仕事	6/42	14	14/345	4
医療・福祉関係の仕事	0/42	0	18/346	5
保育関係の仕事	0/42	0	5/347	1

表 13. 動物との接触状況

	症例		対照	
	人	%	人	%
動物との接触	10/45	22	79/331	24
接触した動物：牛	0/14	0	0/331	0
接触した動物：羊	0/14	0	1/331	0
接触した動物：馬	0/14	0	0/331	0
接触した動物：鹿	0/14	0	0/331	0
接触した動物：ヤギ	2/16	13	2/331	1
接触した動物：豚	2/16	13	1/331	0
接触した動物：犬	6/19	32	39/331	12
接触した動物：鶏	0/14	0	3/331	1
接触した動物：アヒル	0/14	0	1/331	0
接触した動物：その他	8/22	36	43/331	13

表 14. 環境との接触

	症例		対照	
	人	%	人	%
プールの利用	17/45	38	59/339	17
屋内プールの利用	5/45	19	29/339	9
屋外プールの利用	5/45	19	22/339	6
子供用ビニールプールの利用	1/45	4	6/339	2
公衆浴場の利用	3/45	11	6/339	2
池の利用	0/45	0	1/339	0
湖の利用	0/45	0	1/339	0
川の利用	2/45	7	1/339	0
海の利用	4/45	15	8/339	2
砂場の利用	1/16	6	26/123	21
利用する水				
公設水道	32/43	74	218/342	64
簡易水道	0/43	0	14/342	4
私設井戸水	1/43	2	4/342	1
市販ミネラルウォーター	16/43	37	209/342	61
川や湖など浄化されていない水	0/43	0	0/339	0

表 15. 旅行、4 歳未満児の子供の状況、1 歳児未満児の状況

	症例		対照	
	人	%	人	%
旅行				
海外旅行あり	0/45	0	4/346	1
国内旅行あり	12/45	27	26/339	8
4 歳未満児				
4 歳未満の子供が同居	3/19	16	27/133	20
4 歳未満の子供が訪問	0/18	0	16/129	12
4 歳未満の子供の家庭を訪問	4/19	21	11/126	9
患者が子供のおむつを交換	0/19	0	6/135	4
患者が保育園/幼稚園に通園	6/19	32	36/136	26
患者が保育園/幼稚園の食事を知っている	0/0		20/30	67
保育園/幼稚園に下痢の子供いた	0/14	0	1/19	5
1 歳未満児				
哺乳瓶に入った飲料飲む	1/1	100	6/9	67
母乳摂取	1/1	100	4/9	44
固形物摂取	1/1	100	4/8	50

表 16. 肉類の喫食

	症例		対照	
	人	%	人	%
肉類の喫食あり	43/45	96	256/339	76
牛肉：生	0/44	0	4/348	1
豚肉：生	1/44	2	0/348	0
鶏肉：生	0/44	0	0/348	0
牛ユッケ：生	0/44	0	0/348	0
馬ユッケ：生	0/43	0	0/348	0
牛肉：半生喫食	4/39	10	5/348	1
豚肉：半生喫食	2/39	5	2/348	1
鶏肉：半生喫食	1/41	2	1/348	0
牛肉：十分に加熱喫食	29/41	71	113/291	39
豚肉：十分に加熱喫食	37/40	93	182/304	60
鶏肉：十分に加熱喫食	32/40	80	192/309	62

表 17. 内臓肉の喫食

	症例		対照	
	人	%	人	%
内臓肉の喫食	17/45	38	73/339	22
牛レバー：生喫食	1/45	2	0/348	0
牛ホルモン：生喫食	0/45	0	0/348	0
豚レバー：生喫食	0/45	0	0/348	0
豚ホルモン：生喫食	0/45	0	0/348	0
鶏レバー：生喫食	0/45	0	0/348	0
鶏ホルモン：生喫食	0/45	0	0/348	0
牛レバー：半生喫食	1/45	2	0/348	0
牛ホルモン：半生喫食	0/45	0	0/348	0
豚レバー：半生喫食	0/45	0	0/348	0
豚ホルモン：半生喫食	0/45	0	0/348	0
鶏レバー：半生喫食	0/45	0	0/348	0
鶏ホルモン：半生喫食	0/45	0	0/348	0
牛レバー：十分に加熱喫食	0/45	0	9/334	3
牛ホルモン：十分に加熱喫食	11/45	24	16/331	5
豚レバー：十分に加熱喫食	1/45	2	7/330	2
豚ホルモン：十分に加熱喫食	6/45	13	13/329	4
鶏レバー：十分に加熱喫食	3/45	7	2/329	1
鶏ホルモン：十分に加熱喫食	0/45	0	0/330	0

表 18. ひき肉の喫食

	症例		対照	
	人	%	人	%
ひき肉類の喫食	21/41	51	217/339	64
牛ミンチ：生喫食	0/29	0	0/347	0
豚ミンチ：生喫食	0/30	0	0/346	0
鶏ミンチ：生喫食	0/30	0	0/347	0
合いびき：生喫食	0/30	0	0/346	0
牛ミンチ：半生喫食	0/29	0	1/346	0
豚ミンチ：半生喫食	0/29	0	0/346	0
鶏ミンチ：半生喫食	0/29	0	0/346	0
合いびき：半生喫食	0/29	0	1/346	0
牛ミンチ：十分に加熱喫食	5/25	20	44/285	15
豚ミンチ：十分に加熱喫食	13/27	48	83/291	29
鶏ミンチ：十分に加熱喫食	2/26	8	39/280	14
合いびき：十分に加熱喫食	15/25	60	111/294	38

表 19. 野菜の喫食

	症例		対照	
	人	%	人	%
野菜の喫食				
レタス喫食	26/40	65	184/311	59
キャベツ喫食	26/39	67	175/303	58
トマト喫食	32/41	78	207/316	66
ピーマン喫食	4/41	10	50/299	17
大根喫食	10/40	25	81/298	27
キュウリ喫食	32/32	100	183/310	59
ネギ喫食	14/39	36	117/300	39
玉ねぎ喫食	8/39	21	86/305	28
セロリ喫食	1/41	2	20/307	7
ニンジン喫食	11/41	27	76/305	25
カイワレ大根喫食	2/41	5	30/310	10
アルファアルファ喫食	0/42	0	6/312	2
その他発芽野菜・スプラウト	2/35	6	13/302	4
パセリ喫食	0/42	0	18/311	6
大葉（青じそ）喫食	3/40	8	76/308	25
クレソン喫食	0/41	0	6/313	2
もやし喫食	8/43	19	39/311	13
キムチ喫食	8/42	19	77/309	25
漬物喫食	7/37	19	102/308	33
浅漬喫食	8/38	21	84/305	28

表 20. 果物の喫食、肉の指向性

	症例		対照	
	人	%	人	%
果物の喫食・ジュースの摂取				
イチゴ喫食	2/43	5	24/320	8
メロン喫食	7/43	16	52/319	16
ブドウ喫食	7/41	17	79/318	25
さくらんぼ喫食	1/41	2	25/320	8
マンゴー喫食	1/42	2	20/323	6
未殺菌りんごジュース飲む	1/42	2	3/326	1
未殺菌オレンジジュース飲む	0/42	0	3/323	1
冷凍マンゴー喫食	0/38	0	6/337	2
冷凍パパイヤ喫食	0/38	0	1/339	0
肉の嗜好性				
焼き肉好き	35/39	90	302/321	94
生肉好き	4/29	14	82/295	28

表 21. 家族の状況、本人の仕事、動物との接触と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by Sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
同居家族で下痢	5.54	2.07-17.05	0.001	6.08	2.09-17.71	0.001
同居家族で血便	35.64	5.31-∞	0.002	35.25	5.28-∞	0.002
同居家族で腸管出血性大腸菌	35.64	5.31-∞	0.002	34.92	5.24-∞	0.002
仕事の有無	0.46	0.22-0.97	0.041	0.49	0.22-1.07	0.074
食品を取り扱う仕事	3.70	1.28-10.74	0.016	3.72	1.27-10.90	0.017
医療・福祉関係の仕事	0.33	0.00-1.61	0.284	0.33	0.00-1.61	0.282
保育関係の仕事	1.23	0.00-6.92	1.000	1.41	0.00-8.44	1.000
動物との接触	0.89	0.40-1.95	0.765	0.93	0.42-2.07	0.861
接触した動物：牛	NA					
接触した動物：羊	NA					
接触した動物：馬	NA					
接触した動物：鹿	NA					
接触した動物：ヤギ	10.70	0.88-130.85	0.064	12.46	1.00-155.34	0.050
接触した動物：豚	10.70	0.88-130.85	0.064	12.46	1.00-155.34	0.050
接触した動物：犬	4.07	1.10-15.07	0.359	3.99	1.08-14.73	0.038
接触した動物：鶏	10.00	0.00-190.00	1.000	12.05	0.00-228.89	1.000
接触した動物：アヒル	10.00	0.00-190.00	1.000	8.77	0.00-166.67	1.000
接触した動物：その他	3.84	1.38-10.66	0.010	3.97	1.40-11.20	0.009

表 22. 環境の曝露と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
プールの利用	3.23	1.55-6.73	0.002	3.53	1.65-7.57	0.001
屋内プールの利用	1.39	0.48-3.97	0.545	1.45	0.50-4.21	0.495
屋外プールの利用	1.95	0.66-5.79	0.230	1.95	0.66-5.77	0.230
子供用ビニールプールの利用	1.27	0.14-11.62	0.836	1.23	0.13-11.38	0.858
公衆浴場の利用	4.06	0.96-17.26	0.058	4.37	1.00-19.01	0.050
池の利用	12.00	0.00-228.00	1.000	11.26	0.00-213.85	1.000
湖の利用	7.00	0.00-133.00	1.000	7.17	0.00-136.18	1.000
川の利用	16.63	1.46-189.29	0.024	16. 48	1.45-187.198	0.024
海の利用	5.48	1.33-22.57	0.019	5.54	1.35-22.81	0.018
砂場の利用	0.43	0.05-3.76	0.445	0.28	0.03-2.76	0.276
利用する水						
公設水道	1.76	0.85-3.63	0.126	1.78	0.85-3.72	0.128
簡易水道	0.38	0.00-1.91	0.366		-	
私設井戸水	2.79	0.25-30.91	0.404	2.84	0.26-31.64	0.397
市販ミネラルウォーター	0.37	0.19-0.71	0.003	0.39	0.20-0.74	0.004
川や湖など浄化されていない水	1.59	0.00-10.89	1.000	1.63	0.00-11.30	1.000

表 23. 旅行、4 歳児未満との接触、1 歳児未満との接触と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
旅行						
海外旅行あり	1.85	0.00-11.02	1.000	2.47	0.00-16.70	1.000
国内旅行あり	3.87	1.75-8.57	0.001	4.10	1.83-9.19	0.001
4 歳未満児						
4 歳未満の子供が同居	0.72	0.19-2.72	0.627	0.68	0.18-2.59	0.567
4 歳未満の子供が訪問	0.27	0.00-1.36	0.201	0.29	0.00-1.43	0.222
4 歳未満の子供の家庭を訪問	2.47	0.67-9.20	0.177	2.18	0.55-8.66	0.267
患者が子供のおむつを交換	1.03	0.00-5.72	1.000	1.00	0.00-5.59	0.998
患者が保育園/幼稚園に通園	1.53	0.37-6.40	0.558	1.56	0.36-6.72	0.549
患者が保育園/幼稚園の食事を知っている	NA			NA		
保育園/幼稚園に下痢の子供いた	NA			NA		
1 歳未満児						
哺乳瓶に入った飲料飲む	NA			NA		
母乳摂取	NA			NA		
固形物摂取	NA			NA		

表 24. 肉類の喫食（生、半生、十分加熱）と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
肉類の喫食あり	7.92	1.86-33.71	0.005	7.83	1.84-33.35	0.005
牛肉：生	2.20	0.00-14.74	1.000	2.17	0.00-14.46	1.000
豚肉：生	11.00	0.58-∞	0.167	10.67	0.56-∞	0.171
鶏肉：生	NA			NA		
牛ユッケ：生	NA			NA		
馬ユッケ：生	NA			NA		
牛肉：半生喫食	6.95	1.70-28.44	0.007	6.93	1.69-28.47	0.007
豚肉：半生喫食	10.69	1.24-∞	0.071	10.42	1.21-∞	0.074
鶏肉：半生喫食	13.00	0.68-∞	0.143	NA		
牛肉：十分に加熱喫食	3.39	1.65-6.98	0.001	3.37	1.56-7.81	0.001
豚肉：十分に加熱喫食	8.19	2.46-27.29	0.001	8.03	2.40-26.64	<0.001
鶏肉：十分に加熱喫食	2.61	1.15-5.92	0.022	2.59	1.13-5.93	0.024

表 25. 内臓肉の喫食と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
内臓肉の喫食	2.21	1.13-4.35	0.021	2.15	1.07-4.32	0.031
牛レバー：生喫食	8.00	0.42-生	0.222	8.12	0.43-∞	0.219
牛ホルモン：生喫食	NA			NA		
豚レバー：生喫食	NA			NA		
豚ホルモン：生喫食	NA			NA		
鶏レバー：生喫食	NA			NA		
鶏ホルモン：生喫食	NA			NA		
牛レバー：半生喫食	7.00	0.37-∞	0.250	7.63	0.40-∞	0.232
牛ホルモン：半生喫食	NA			NA		
豚レバー：半生喫食	NA			NA		
豚ホルモン：半生喫食	NA			NA		
鶏レバー：半生喫食	NA			NA		
鶏ホルモン：半生喫食	NA			NA		
牛レバー：十分に加熱喫食	0.51	0.00-2.65	0.546	0.51	0.00-2.69	0.554
牛ホルモン：十分に加熱喫食	6.94	2.75-17.54	<0.001	7.25	2.85-18.44	<0.001
豚レバー：十分に加熱喫食	1.09	0.13-8.93	0.937	1.10	0.13-9.00	0.932
豚ホルモン：十分に加熱喫食	4.65	1.61-13.45	0.005	4.65	1.61-13.45	0.005
鶏レバー：十分に加熱喫食	11.83	1.32-144.96	0.025	6.77	0.94-48.85	0.058
鶏ホルモン：十分に加熱喫食	NA	-		NA	-	

表 26. ひき肉類の喫食と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
ひき肉類の喫食	0.59	0.31-1.13	0.108	0.54	0.28-1.06	0.072
牛ミンチ：生喫食	NA			NA		
豚ミンチ：生喫食	NA			NA		
鶏ミンチ：生喫食	NA			NA		
合いびき：生喫食	NA			NA		
牛ミンチ：半生喫食	NA			NA		
豚ミンチ：半生喫食	NA			NA		
鶏ミンチ：半生喫食	NA			NA		
合いびき：半生喫食	13.00	0.00-247.00	1.000	NA		
牛ミンチ：十分に加熱喫食	1.06	0.32-3.51	0.920	1.04	0.32-3.46	0.945
豚ミンチ：十分に加熱喫食	2.35	1.03-5.33	0.042	2.50	1.08-5.78	0.032
鶏ミンチ：十分に加熱喫食	0.57	0.13-2.60	0.468	0.61	0.13-2.79	0.522
合いびき：十分に加熱喫食	2.87	1.14-7.20	0.025	2.58	1.01-6.60	0.048

表 27. 野菜類の喫食と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
レタス喫食	1.30	0.63-2.67	0.475	1.25	0.60-2.60	0.546
キャベツ喫食	1.56	0.75-3.27	0.238	1.47	0.70-3.11	0.311
トマト喫食	2.17	0.99-4.76	0.054	2.08	0.94-4.61	0.070
ピーマン喫食	0.52	0.18-1.55	0.240	0.53	0.18-1.57	0.249
大根喫食	0.95	0.44-2.04	0.890	1.00	0.46-2.17	0.998
キュウリ喫食	2.42	1.11-5.29	0.026	2.35	1.07-5.16	0.034
ネギ喫食	0.98	0.47-2.04	0.948	0.98	0.47-2.04	0.955
玉ねぎ喫食	0.72	0.31-1.69	0.450	0.76	0.32-1.81	0.539
セロリ喫食	0.52	0.07-4.00	0.530	0.54	0.07-4.20	0.558
ニンジン喫食	1.18	0.55-2.52	0.669	1.23	0.57-2.65	0.594
カイワレ大根喫食	0.54	0.12-2.38	0.416	0.58	0.13-2.57	0.474
アルファアルファ喫食	1.42	0.00-8.42	1.000	1.91	0.00-12.84	1.000
その他発芽野菜・スプラウト	1.74	0.34-8.94	0.506	1.93	0.36-10.21	0.442
パセリ喫食	0.36	0.00-1.76	0.328	0.38	0.00-1.88	0.361
大葉（青じそ）喫食	0.28	0.08-0.97	0.044	0.29	0.01-1.01	0.052
クレソン喫食	0.98	0.00-5.49	0.989	1.57	0.00-13.35	1.000
もやし喫食	1.50	0.63-3.55	0.360	1.54	0.64-3.67	0.333
キムチ喫食	0.71	0.31-1.60	0.404	0.72	0.32-1.64	0.437
漬物喫食	0.42	0.17-1.00	0.051	0.42	0.17-1.02	0.057
浅漬喫食	0.61	0.26-1.39	0.235	0.61	0.26-1.40	0.241

表 28. 果物の喫食及び肉の嗜好性と O157 感染症の発症との関連

	Crude			Adjusted by sex		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
果物の喫食・ジュースの摂取						
イチゴ喫食	0.61	0.14-2.74	0.522	0.64	0.14-2.90	0.566
メロン喫食	0.97	0.40-2.37	0.951	1.00	0.41-2.44	0.991
ブドウ喫食	0.72	0.29-1.76	0.472	0.74	0.30-1.82	0.506
さくらんぼ喫食	0.31	0.04-2.47	0.269	0.31	0.04-2.49	0.273
マンゴー喫食	0.36	0.05-2.81	0.332	0.39	0.05-3.04	0.369
未殺菌りんごジュース飲む	2.52	0.26-24.58	0.425	2.66	0.27-26.25	0.403
未殺菌オレンジジュース飲む	2.25	0.00-15.13	1.000	2.33	0.00-15.84	1.000
冷凍マンゴー喫食	0.92	0.00-5.53	0.948	0.93	0.00-5.57	0.952
冷凍パパイヤ喫食	8.00	0.00-152.00	1.000	8.29	0.00-157.56	1.000
肉の嗜好性						
焼き肉好き	1.11	0.56-2.20	0.761	1.19	0.59-2.39	0.623
生肉好き	3.14	0.99-9.96	0.052	2.95	0.92-9.49	0.070

表 29. PAR%の算出

	症例		対照		aOR	PAR%
	曝露	合計	曝露	合計		
十分に加熱した牛ホルモン	11	21	52	331	10.089	47.2

平成 26－28 年度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）
総合分担研究報告書

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

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
研究協力者　安藤　美恵　　国立感染症研究所感染症疫学センター
　　新橋　玲子　　国立感染症研究所感染症疫学センター

研究要旨
腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は重篤な合併症を引き起こすと致命率が高い疾患である。広域散発的に EHEC 感染症の発生のうち、旅行に関連した事例への疫学調査方法が確立されていない。本研究は EHEC の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手法について検討した。感染症発生動向調査（NESID）の届出に B 県内への旅行歴の記載は 2 人のみであった。また、NESID の問合せで実施した広域散発例の調査票に協力が得られた自治体からはアミューズメントパーク D の利用、さとうきびの摂取の情報提供があった。保健所の聞き取り調査で、アミューズメントパーク D の訪問（93%）、D でのさとうきびジュース摂取（80%）で高かった。D でのさとうきびジュース摂取は有意に O157 感染と関連していた（オッズ比=25.15, 95%信頼区間: 4.68–∞）。旅行に関連した広域散発例は探知が難しい事が考えられた。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。

A．研究目的

腸管出血性大腸菌（enterohemorrhagic Escherichia Coli: EHEC）感染症は　感染症は下痢、血便、腹痛を主な症状とする疾患で、溶血性尿毒症症候群（hemolytic uremic syndrome: HUS）及び急性脳炎などの重症な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 感染症は感染症発生動向調査（National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: NESID）でツアー等の旅行（国内、国外）と関連した事例が報告される場合がある。旅行に関連した事例は複数の保健所あるいは自治体にまたがって EHEC の発生報告が届け出される。従って、広域散発的に EHEC が発生するため、EHEC のアウトブレイクの探知が難しい状況である。また、我が国では旅行に関連した事例への広域散発例の疫学調査方法が確立されていない。本研究は EHEC の広域散発的発生で、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。

B．研究方法

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発例の質問票に対する情報提供依頼を行った。

調査のデザインは症例対照研究とした。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、以下を満たした者とした。

- 確定例:少なくとも一つの消化器症状（下痢、血便、腹痛、嘔吐）を呈し、かつ便の培養検査で EHEC O157VT2 が陽性となった者または抗 O157 抗体陽性者
- 疑い例:確定例の旅行同行者または接触者で、少なくとも一つの消化器症状を呈した者（ただし、便の培養検査で O157VT2 が陽性となった者を除く）
- 保菌例（無症状病原体保有者）：確定例の旅行同行者または接触者で、無症状、かつ便の培養検査で O157VT2 が陽性となった者

対照は症例の同行者とした。

（倫理面への配慮）

本調査で自治体の調査は食品衛生法及び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（感染症法）にもとづき実施した。

C．研究結果

アウトブレイクの端緒は 8 月 1 日～4 日に

A 保健所に対して 5 自治体から A 保健所管内（B 県内）に旅行歴があり、O157VT2 が陽性だった者の行動歴等の調査依頼があった。この依頼には A 保健所管内の施設への立ち入り調査依頼も含まれていた。相次ぐ他自治体からの問合せであったことから、A 保健所は通常と異なる EHEC の発生状況であり、通常の食中毒調査票では把握できない曝露現がある可能性を認識した。

8 月 5 日以降も、断続的に EHEC O157VT2 陽性者の調査依頼が複数の自治体より A 保健所に対して依頼があったため、A 保健所はアウトブレイクとして対応を開始した。他自治体から調査依頼が来ると速やかに、A 保健所から 3 食の摂取食事歴以外に、間食摂取歴、ジュース類などを含む飲料水摂取歴、飲食摂取歴の無い訪問先、動物接触歴など追加の質問票を送付し速やかな情報収集にあたった。8 月 23 日の時点で 13 件、12 自治体から調査依頼または情報提供依頼があった。

症例は 29 人報告され、その内訳は確定例が 18 人、疑い例が 4 人、保菌例が 4 人であった。

確定例及び疑い例（20 人）は 20 人で、属性は性別が男性 10 人（50%）で、年齢が中央値 8 歳（範囲：1-6 歳）で、症状は血便が 17 人（85%）で最も多く、次いで水溶性下痢 14 人（70%）であった。合併症は溶血性尿毒症症候群（hemolytic uremic syndrome: HUS）が 4 人（20%）、腸重積が 1 人（5%）、入院が 11 人（55%）であった。

共通する行動は C 空港の利用、レンタカーの使用、アミューズメントパーク D 訪問、アミューズメントパーク D 内の飲食店 E でのさとうきびジュースの摂取であった。

症例 25 人のうち、アウトブレイクを探知する以前の症例が 10 人おり、これらの症例は曝露調査が十分に得られなかった。残りの 15 人は曝露源調査が行えたことから、曝露の割合を算出した。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曝露と発症との関連の解析は症例を確定例、疑い例及び保菌例を含む 27 人とした。また、症例からは二次感染例の 2 人は除いた。対照は無症状の同行者 21 人（ただし、曝露歴不明者 1 人は除いた）とした。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 0157 による発症と有意な関連があった。

アミューズメントパーク D への立ち入り調査で、曝露源になる反芻動物の飼育はなかった。レストランはバイキングを提供する施設、そばを提供する施設、ビール喫茶があった。症例の聞き取りで共通するレストランはなかった。

Pulse-field gel electrophoresis(PFGE) 解析で症例の遺伝子が一致した。

さとうきびジュースの原料のさかのぼり調査を行ない、農家の周辺には牛舎がないことを確認した。農家での細菌検査及び収去検査は行われなかった。

自治体は事例を探知後報道発表により事例発生を報告するとともに、さとうきびジュースを提供した施設を 9 月 3 日から 6 日までの 4 日間を営業停止処分とした。の提供を中止する旨業者に指導した。

D．考察

本調査は旅行先で摂取したさとうきびジュースが EHEC に汚染され、さとうきびジュースを摂取した者が感染した事例であった。

多くの症例は旅行先から自宅へ戻り発症したため、居住地の近隣医療機関等の受診であった。このような状況では、通常の EHEC のアウトブレイクは広域で散発的に患者の発生報告が届け出されるため、アウトブレイクとしての探知が難しい事例であると考えられた。

また、NESID の情報でも備考欄等に旅行歴やアミューズメントパークの利用等の情報が複数記載されている場合には仮説の設定が容易であるが、このような情報が記載されていない場合があり、NESID の情報から探知が出来ない可能性が考えられた。

一方、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。この情報を A 保健所に共有することで、

そこで、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。

E．結論

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で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と考えられた。

F．健康危険情報

自治体からの情報提供及び NESID での集積探知時点で厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部関し安全課及び健康局結核感染症課へ情報共有を実施した。

G．研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

H．知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1．特許取得

なし

2．実用新案登録

なし

3.その他

なし

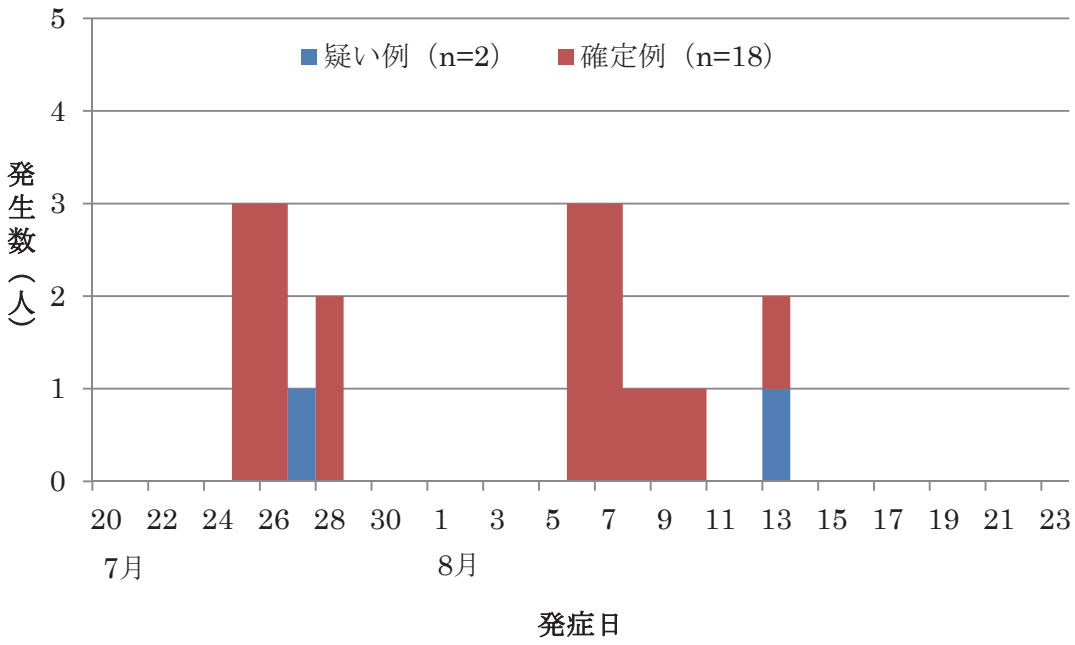


図 1．確定例及び疑い例の発生状況（2016 年 7 月 20 日～8 月 23 日，n=20[a)]）

a）発症日不明の 2 人（疑い例）除く

平成 28 年度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）
総合分担研究報告書

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

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
研究協力者　金山　敦宏　防衛医科大学校・国立感染症研究所感染症疫学センター
砂川　富正　国立感染症研究所感染症疫学センター
高橋　琢理　国立感染症研究所感染症疫学センター

研究要旨
我が国では年間千件程度の食中毒事件が報告され、食品衛生法に基づき食中毒事件詳報（詳報）として報告がなされている。詳報は事例の報告のみならず、同様の事例を予防するための資料としても重要である。また、ノロウイルスの食中毒事件は国内で最も多くその対策が急務であり、詳報の活用が重要であると考えられた。本研究はノロウイルス対策で、詳報の活用のために、自治体の食中毒調査手法の課題抽出し、今後の予防策に寄与することを目的とした。方法は 2016 年 1 月から 5 月の食中毒統計より、食中毒発生件数を病因物質別に収集し、発生件数の比較をした。食中毒事件詳報の検討は 2016 年 1 月から 5 月までに報告されたノロウイルスを病因物質とする事例をアウトブレイク調査のステップと比較し、必要な情報の有無について検討した。2016 年 7 月までに国内で発生したノロウイルス事例に関して 5 つの自治体担当者へのヒアリングを行ない、食中毒事例の疫学調査で必要な事項を抽出した。詳報は疫学調査手法に関する事項が記載されていない事例が散見されたことから、標準的な調査手法に基づいた調査を行い、記述疫学（および解析疫学）を踏まえて報告することが重要である。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上記に沿った調査が実施できるよう助言する。

A．研究目的

近年わが国では、年間千件程度の食中毒事件が報告されている。保健所は事件の探知後、食品衛生法第 58 条等に基づき食中毒調査を実施する。食中毒事件詳報（以下、詳報）の調査内容の記載事項は食品衛生法の省令を踏まえ食中毒処理要領に記載されている。

食中毒への対応は保健所の大きな役割のひとつであり多くの労力が払われ、食中毒件数は下げ止まりの傾向である。今後、さらなる減少させるためには、過去の事件における原因究明、被害拡大防止、再発防止の効果的な実施状況について確認することも重要である。

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詳報を都道府県知事及び厚生労働大臣へ速やかに提出することになっている。その記載事項は図 1 に示すとおりである。この詳報は、食中毒調査のアーカイブとして利用価値の高いもので、食中毒事件の特徴の推移を分析し、調査手法を改善し保健所の対応力を高めるために使われうるものであり、より効果的な活用の観点から内容の確認を行った。

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、詳報の記述方法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。

B．研究方法

食中毒統計は 2016 年 1 月～5 月までの報

告に基づき病因物質別の食中毒発生要因の分析を行った。

続いて、上記期間に詳報において、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。課題抽出の際、国立感染症研究所の実地疫学専門家コース（FETP）で使用している標準的な食中毒調査手法（図２）を基準に検討した。さらに、特に件数の多いノロウイルス食中毒事件に関してより詳細に調査の状況を把握するため、平成 28 年 8 月 1 日、詳報を提出した複数の自治体（A, B, C, D, E）からヒアリングを実施した。

最後に、詳報の記述方法や報告システムの課題抽出を試み、改善内容を提案した。

Ｃ．研究結果

C-1. 食中毒統計

2016年1月～5月の間に報告された詳報は 28 件であった。これを病因物質名ごとに分類すると、ノロウイルス 13 件（46.4%）、カンピロバクター8 件（28.6%）、ウェルシュ菌 2 件（7.1%）の順に多かった（表１）。ノロウイルスは他の病原体との重複感染している事例があった。重複事例感染はノロウイルスと黄色ブドウ球菌を病因物質とするものが 3 件（10.7%）、ノロウイルスとウェルシュ菌を病因物質とするものが 1 件（3.6%）であった。これらより、ノロウイルスが関与する食中毒が計 17 件（60.7%）であった。

ノロウイルスが関与する食中毒のうち、調理従事者が食中毒発生に関与すると推定された事例は 10 件（58.8%）であった。

以上から、ノロウイルスの食中毒原因は、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。

C-2. 食中毒事件詳報

自治体より報告された食中毒事件詳報から食中毒発生時における疫学調査手法の内容を検証した。全体の構成は、一読では理解しにくいものが多かった。詳報には探知の段階で、原因施設、症例数の拡大や地理的な広がりに関する情報とリスク評価、および調査目的が不足していた。ほぼ全ての詳報において、積極的症例探索の調査範囲（症例定義）・方法の記述が無く、「時」の情報として流行曲線を作成しそれをもとに曝露日や感染様式を推定する内容が見られなかった。また、発生場所に関する情報が曖昧であった。記述疫学のための情報収集の方法は明記されていなかった。また、解析疫学が行われているが、調査デザイン（コホート研究なのか症例対照研究なのか）及び比較群の収集方法の記載が認められなかった。原因食品等や汚染経路の決定において、病因物質の検出に大きく頼った結論の導き方が目立ち、記述疫学の結果全体からの推定が不足していた。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。検査結果、喫食調査、調理従事者の施設衛生管理および健康管理の状況から原因物質等と汚染経路を総合的に推定するステップが、詳報自体の構成の問題もあり読解しにくい状況であった。詳報事件数の過半数を占めるノロウイルス事件において、調理従事者を原因とするものが目立ったが、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、制限について以下の事項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。

■ 解析に関する事項
- ✓ 思い出しバイアス：過去の事象を聞き取りすることでの情報の正確性が低くなる（前向き調査と比較する）
- ✓ 選択バイアス：比較群の設定の際に発生する可能性のあるバイアス（偏り）
- ✓ サンプルサイズ（対象者数）が少ない場合
- ✓ オーバーマッチング：同行者や友人等を対象とする場合同じような行動をするために差が出にくくなってしまう

■ 調査に関する事項
- ✓ さかのぼり調査ができなかった場合
- ✓ 欠損値の発生（特に、未記入の場合が多い場合）

■ その他
- ✓ 調査がうまくいかなかった場合（例：腸チフスのアウトブレイクの場合、便培養で陰性であっても必ずしも陰性とは限らないため対照群を設定する際に、対照として妥当か否かの判断が難しい場合がある）
- ✓ 他の機関の調査の影響で、保健所の調査がうまく進まなくなる場合

C-3. ノロウイルス食中毒事例発生自治体へのヒアリング

ヒアリングは５自治体を対象に実施した。

ヒアリングから抽出された改善事項等は以下が挙げられた。

■ **記述疫学：**

✓ 症例定義の必須項目（時間、人、場所）の設定ができていない場合がある

✓ 症例定義の設定（積極的症例探索、原因究明、処分等のうち）がどの場面の設定であるか明確ではない場合がある

■ **流行曲線：**

✓ 発症日での作成ができていない事例がある

✓ 潜伏期の分布図を流行曲線としている場合がある

✓ 時間軸の設定が疾患の潜伏期の状況と比べて短い場合がある

■ **解析疫学：**

✓ 発症者のみで非発症者の情報収集を行わない場合がある（時間的制約）

✓ 喫食調査は数少なくても良いので、調査を行う必要がある

✓ 従事者の喫食調査により状況が原因の裏付けの情報となる場合がある

■ **調査の改善点：**

✓ 食中毒の情報を公表するのみであるが、感染症も含めて公表する必要がある（例：各地域の感染症発生状況を公表することにより、食品事業者の注意喚起意識が高まるのではないか、冬場健康管理等に気をつけているが、夏場の発生には気をつけていない等）；夏場にも発生することを認識してもらうことを普及させる

✓ ウイルスの汚染経路を想定して調査をすると良い

✓ 対策実施時に、対応が難しい業者がいるため苦慮する場合がある

✓ 学校での検食のマニュアルでの対応方法が大量調理施設マニュアルと異なる（学校給食衛生管理基準は表2､3参照）

✓ 手袋の使用方法が適切でなく、汚染された手袋のまま調理している

■ **ウイルス学的な所見：**

✓ 病原体解析の情報（遺伝子の相同性、遺伝子型等の情報）が十分に活用されていない。できるだけ病原体解析の情報を地方衛生研究所より情報収集取し、詳報でまとめておくことが重要である

D．考察

食中毒のうち､特にノロウイルスを病因物質とする食中毒は調理従事者が施設内でノロウイルスを交差汚染させ､環境中にも留まりやすいことから､多様な感染源と感染経路を示す可能性がある。従って、ノロウイルスを病因物質とする食中毒は事例ごとに感染源･感染経路の十分な検討の実施が今後の対策への重要な情報となりうる可能性が考えられた。そのためには、まず積極的症例探索において、症例定義を明示することである。症例定義は症例をどのように定義するかを示す以外に､調査範囲を示すことも含まれている。従って、症例定義の設定が各食中毒事例で欠かせず､その後の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困難である。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。

これまで国内で多くの自治体は食中毒と結論付けるには原因食品と推定された食品から病因物質が検出されなければ原因不明として扱われる傾向がある。しかしながら、海外（米国、欧州、台湾、シンガポール）では､食中毒発生時の対応は疫学調査に基づいて行われている（資料 1 参照）。これらの国等は病原体の検査結果が判明する以前に得られた疫学調査の結果に基づいて対策が行われている。これらの国等ではアウトブレイク発生時に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ている。米国ではノロウイルスの食中毒の際に Kaplan Criteria（カプランの基準）という基準を利用している。カプラン基準は下記 4 項目の基準を全て満たす場合､ノロウイルスによるアウトブレイクの可能性が非常に高いと考えられる指標である。

<u>カプランの基準</u>**:**

1. 疾患の持続期間の平均値（または中央値）が 12 時間から 60 時間
2. 潜伏期の平均値（または中央値）が 12 時間から 48 時間
3. 50%以上の人が嘔吐あり
4. 細菌検査陰性

従って､我が国でも食中毒発生時の疫学調査に基づいた対策の実施が今後必要であると考えられた。そのためにも、我が国における食中毒の疫学調査はよく練られた調査設計に基づいたデータを解析した記述疫学の十分な活用が必要であると考えられた。

以上のことから本研究は詳報の記述方法は資料 2 のような項目を記載することが必要であると提案する。

E．結論

2 つの調査を実施した結論として、詳報の記述方法を提案する必要性が認められた。そのためには、標準的な調査手法に基づき調査を行い、記述疫学（および解析疫学）を踏まえた報告が重要である。また、今回の提案が調理従事者等からの汚染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、今後の食中毒対策の一助となることを期待する。

F．健康危険情報

該当なし

G．研究発表

1.　論文発表

該当なし

2.　学会発表

該当なし

H．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3.その他

該当なし

図１　詳報の様式（食中毒処理要領規則別表第１７）

Ⅰ　食中毒発生の概要
Ⅱ　保健所の事件発生探知
Ⅲ　患者及び死者の状況
Ⅳ　原因食品と汚染経路
Ⅴ　原因施設及び従業員
Ⅵ　病因物質の決定
Ⅶ　行政処分
Ⅷ　考察

図２　標準的な食中毒調査方法

１　食中毒の探知と確認
　　（患者数、重症者の発生状況、推定原因、地理的広がり）
２　積極的症例探索（症例定義の設定から症例の探索へ）
３　現場観察や検査結果の収集
４　時・場所・人の分析（記述疫学）
５　仮説の設定と検証（解析疫学）
　　（症例対照研究、コホート研究）
６　遡り調査
７　現場への介入や提言（適時に）
８　報告書の作成

表１　2016 年 1 月～5 月に提出された詳報における原因物質

病因物質名	件数	%
ノロウイルス	13	46.4
（再掲：うち、重複感染）		
ノロウイルス＋黄色ブドウ球菌	3	10.7
ノロウイルス＋ウェルシュ菌	1	3.6
カンピロバクター	8	28.6
ウェルシュ菌	2	7.1
（再掲：うち、重複感染）		
ウェルシュ菌＋黄色ブドウ球菌	1	3.6
自然毒（動物性）	2	7.1
自然毒（植物性）	1	3.6
アニサキス	1	3.6
化学物質	1	3.6
計	28	100

表2 採取の仕方

① 保存食は、原材料及び調理済み食品を、食品ごとに、清潔な容器（ビニール袋等）に完全密封して、保存食用の冷凍庫に－20℃以下で2週間以上保存すること。
② 原材料は、洗浄・消毒等は行わないこと。
③ 野菜等で生産地が異なる場合には、生産地ごとに採取し、保存すること。
④ 食品の製造年月日又はロットが異なる場合は、それぞれ採取し、保存すること。
⑤ 卵は全てを割卵して、混合したものから採取し、保存すること。
⑥ 飲用牛乳及び調理用牛乳は、それぞれ別に保存食を取ること。
⑦ 調理済み食品は、使用している食品のすべてが含まれるように、釜別、ロット別に採取し、保存すること。
⑧ 共同調理場の受配校で、主食、牛乳、デザート等が業者より直接、複数の学校に配送され、業者やロットが異なる場合は、共同調理場で業者ごと、ロットごとにまとめて採取し、保存すること。
⑨ 加工食品等で規格の異なる食品は、それぞれ別に採取し、保存すること。
⑩ 続けて保存食を採取する場合は、消毒用アルコールを含ませたペーパーで、包丁を拭いてから採取すること。

（出典）文部科学省スポーツ青年局学校健康教育課. 調理場における衛生管理＆調理技術マニュアル. 平成 23 年 3 月
http://www.mext.go.jp/component/a_menu/education/detail/__icsFiles/afieldfile/2011/06/13/1306691_06.pdf

表 3 保存の仕方

食中毒及びその疑いが発生した場合、発生原因の調査のために保存食は欠かせない試料となります。病原微生物検査等を行う際には、50 g 程度可食部の試料が必要となります。また、採取時に他からの二次汚染があると、正確な検査が実施できなくなるため、必ず清潔な専用の器具を使用して採取します。採取にあたっては、次の点に注意します。

① 採取後は、常温放置せず直ちに保存食用冷凍庫に保存すること。
② 1 日分（1 食分）の保存食は、採取日を記入した専用容器やビニール袋等に取りまとめて保存し、記録簿に採取日時と廃棄した日時を記録すること。
③ 児童生徒の栄養指導や盛りつけの目安とする展示食を、保存食と兼用しないこと。
④ 使用水について日常点検で異常を認めたとき、又は残留塩素濃度が基準（0.1mg/L）に満たない場合は、再検査を行い、その上で適と判断した水を使用したときは、使用水 1L を－20℃以下、2 週間以上保存食用冷凍庫で保存すること。
⑤ 米（アルファ化米）・麦や塩・砂糖・酢・みりん・しょうゆ・酒・ソース・みそ・こしょう等の調味料は、保存食から除くこと。
⑥ わかめ・干ししいたけ・削り節・昆布・はるさめ・ごま・のり等の常温で保存できる乾物及び缶詰等は、保存食から除くこと。

（出典）文部科学省スポーツ青年局学校健康教育課. 調理場における衛生管理＆調理技術マニュアル. 平成 23 年 3 月
http://www.mext.go.jp/component/a_menu/education/detail/__icsFiles/afieldfile/2011/06/13/1306691_06.pdf

ノロウイルスアウトブレイク調査

- 台湾（FETPより直接聴取）:
  - 疫学調査で処分実施、検査の結果は処分後に判明
  - CDC、FDAとともに調査
- シンガポール（FETPより直接聴取）:
  - チェックリストにもとづき調査（チェックリストの共有をお願いしているCDC、FDAとともに調査
- 米国[1]:
  - 疫学調査で処分、対策実施
  - ノロウイルスアウトブレイクの疑い時にKaplanの基準（Kaplan Criteria）使用
- ECDC
  - 2012年にドイツでノロウイルスに汚染された中国産の冷凍イチゴの広域アウトブレイク事例[2]あり

1) CDC. Responding to Norovirus Outbreaks (https://www.cdc.gov/norovirus/php/responding.html)
2) Bernard H, et al. Large multistate outbreak of norovirus gastroenteritis associated with frozen strawberries, Germany, 2012. Euro Surveill. 2014;19(8):20719. (http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V19N08/art20719.pdf)

アウトブレイク疑い時カプラン基準（Kaplan Criteria）利用

- ノロウイルスのアウトブレイクの可能性がある場合、ノロウイルスの確定検査結果が得られていない時点で、カプラン（Kaplan Criteria）基準が利用可能
- カプランの基準:
  1. 疾患の持続期間の平均値（または中央値）が12時間から60時間
  2. 潜伏期の平均値（または中央値）が12時間から48時間
  3. 50%以上の人が嘔吐あり
  4. 細菌検査陰性
- 上記4項目の基準を全て満たす場合、ノロウイルスによるアウトブレイクの可能性が非常に高い
- 一方、ノロウイルスアウトブレイクの30%程度がカプラン基準を満たさない
- カプラン基準を満たさない場合、ノロウイルスによるアウトブレイクを否定するものではない

Responding to Norovirus Outbreaks (https://www.cdc.gov/norovirus/php/responding.html)

詳報の様式 （食中毒処理要領規則別表第17）

Ⅰ 食中毒発生の概要

Ⅱ 保健所の事件発生探知

Ⅲ 患者及び死者の状況

Ⅳ 原因食品と汚染経路

Ⅴ 原因施設及び従業員

Ⅵ 病因物質の決定

Ⅶ 行政処分

Ⅷ 考察

詳報の様式 改定案

改定案

Ⅰ 食中毒発生の概要

1 発生年月日

初発患者の発症日

2 発生場所

事例の発生した施設等の概要

3 原因食品等を摂取した者の数

4 死者数

5 患者数

6 病因物質

7 原因食品等

8 汚染経路

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅰ 食中毒発生の概要

1 発生年月日

2 発生場所

3 原因食品等を摂取した者の数

4 死者数

5 患者数

6 原因食品等

7 病因物質

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅱ 食中毒発生の探知（保健所の事件発生探知）

1　保健所が探知した日時

2　報告元の情報

3　発症日

4　事例の発生した施設等の概要（所在地、種別、規模等）

5　患者数、死亡者数

6　主な症状

7　探知時点の原因推定

8　探知時点のリスク評価（被害者数の増加、被害地域の拡大、重症者の発生が見込まれる状況か、対応は困難な状況か）

9　調査の目的

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅱ 食中毒発生の探知（保健所の事件発生探知）

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅲ積極的症例探索と記述疫学

1調査対象の範囲（症例定義：　調理従事者等を調査対象とする場合はそれを明記し、以降に結果を示す。）

2 患者並びに死者の性別及び年齢別の数

3 患者及び死者の発症日別の数（流行曲線：ヒストグラムで図示し、集積性について記述する。調理従事者等を含める場合はそれがわかるように作成する。潜伏時間の分布表示とは全く異なることに注意）

4 原因食品等を摂取した者の数のうち患者及び死者となった者の数の割合（発病率：　患者数対推定原因食品摂食者数）

5 患者並びに死者の症状及び病状別の数（食中毒調査票に記載された症状の発顕率を記入すること。死者が発生した場合には、死因と死に至るまでの経過を記入すること。）

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅲ 患者及び死者の状況

1 患者並びに死者の性別及び年齢別の数

2 患者及び死者の発生日時の別の数

3 原因食品等を摂取した者の数のうち患者及び死者となった者の数の割合（発病率：患者数対推定原因食品摂食者数）

4 患者及び死者の原因食品等の摂取から発病までに要した時間の状況（潜伏時間別患者発生数）

5 患者並びに死者の症状及び病状別の数（食中毒調査票に記載された症状に従い、それぞれの発顕率を記入すること。死者が発生した場合には、死因と死に至るまでの経過を記入すること。）

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅲ積極的症例探索と記述疫学（続き）

6 喫食調査（遡り調査は別項）

7 調理、製造、加工等の方法、摂取までの経過、手指衛生の設備や手洗いの実施状況、手袋の使用状況

8 原因施設の給排水の状況

9 便所の衛生状態

(1) 手洗い設備の使用状況

(2) 用便時の作業着の着脱状況

(3) 清掃状況

10 従業員の健康状態

(1) 検便を含む健康状態の記録内容

(2) 聞き取り調査の結果

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅳ 原因食品等及びその汚染経路

1 特定の原因食品を決定するまでの経過及び理由

2 原因食品等の汚染経路等

(1) 内容（具体的に）

(2) 入手経過

(3) 調理、製造、加工等の方法、及び摂取までの経過

(4) 汚染経路の追及

Ⅴ 原因施設及び従業員

1 原因施設の給排水の状況及びその他の衛生状況

2 原因施設の従業員の健康状態

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅳ 検査所見

検体の採取日、検体を採取した患者の概要（発症日、利用客・調理従事者等の別等）と検体の種類（便、尿等）、検体を採取した環境の概要（厨房の器具名、便所の箇所等）、及び検査方法を明記する。検査方法は次の5項目に分ける。

1 微生物学的検査

培養検査や生化学的検査等の別も記載する。

2 遺伝子学的検査

PFGE・MLVA・遺伝子配列解析等の別や相同性（%）等も記載する。

3 理化学的検査

4 動物試験、病理解剖

5 その他の検査

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅵ 病因物質の決定

1 微生物学的検査

2 理化学的検査

3 動物試験、病理解剖

4 その他の検査

5 病因物質を特定するまでの経過及び理由

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅴ 食中毒発生の原因推定
　1 病因物質（微生物等）の推定
　(1) 検査結果から推定される主たる病因物質
　(2) 症状、発症率等との整合性評価
　2 原因食品等の推定
　(1) 喫食調査から推定される主たる原因食品等
　(2) (1)に基づいた潜伏期間の算出と整合性評価
　3 汚染経路の推定
　(1) 施設内における交差汚染等の検討
　(2) 施設への持ち込みルートの検討

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅵ 病因物質の決定
　1 微生物学的検査
　2 理化学的検査
　3 動物試験、病理解剖
　4 その他の検査
　5 病因物質を特定するまでの経過及び理由

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅵ 解析疫学
　1 検証する食中毒の原因についての可能性（仮説）の設定
　2 調査デザイン（症例対照研究、コホート研究）と情報収集の方法
　3 結果
　4 考察（結果の解釈や評価）

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅶ 遡り調査

(1) 原因食品等の入手経過

(2) 原因食品等の販売経路等の追及

Ⅷ 行政処分その他都道府県知事等が講じた措置の内容（食品取扱業者、事件関係者または不良食品に対して行った食品衛生法による行政処分、告発などの措置）

(1) 介入・指導内容

(2) 行政処分

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅶ 行政処分その他都道府県知事等が講じた措置の内容（食品取扱業者、事件関係者または不良食品に対して行った食品衛生法による行政処分、告発などの措置）

詳報の様式　改定案

改定案

Ⅸ 考察

1 考察

2 発生の探知において今後改善を要すると考えられること。

3 原因究明調査において今後改善を要すると考えられること。

4 被害拡大防止のために今後改善を要すると考えられること。

5 再発防止のために参考になると考えられること。

現行（食安発0329第1号 平成25年3月29日）

Ⅷ 考察

1 考察

2 発生の探知において今後改善を要すると考えられること。

3 原因究明調査において今後改善を要すると考えられること。

4 被害拡大防止のために今後改善を要すると考えられること。

5 再発防止のために参考になると考えられること。

考察について：　これに従って記載している詳報は非常に少ない。
何らかの工夫が必要！

平成26-28年度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）
総合分担研究報告書

NESID登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究および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

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
研究協力者　砂川　富正　国立感染症研究所感染症疫学センター
研究協力者　幡谷　浩史　東京都立小児総合医療センター（追跡研究）
研究協力者　濱田　陸　　東京都立小児総合医療センター（追跡研究）
研究協力者　加納　和彦　国立感染症研究所感染症疫学センター（NESID）
研究協力者　河端　邦夫　国立感染症研究所感染症疫学センターFETP（NESID）

研究要旨

Ⅰ. NESID 登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究

1999 年 4 月に施行された感染症法に規定された疾患の監視を行う感染症発生動向調査（NESID）で報告された疾患のうち、食品媒介感染症であるコレラ、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症、腸チフス、パラチフス、E 型肝炎、A 型肝炎を対象として、それらの発生状況とその詳細を解析し、今後の食中毒予防に必要な対策を明らかにすることを目的とした。

EHEC 感染症は、2011、2012 年の行政による規制が施行されて以降は、生肉・生レバー喫食による感染リスクは低下したが、一方で「冷やしきゅうり」や「浅漬け」等の非加熱処理で喫食する野菜等の汚染による食中毒が目立ってきた。また、これまで輸入感染症という扱いで国外感染例がほとんどであった腸チフスは、ここ数年国内感染が推定される感染者の集積や食中毒が発生しており、再び国内での感染者が増加する可能性が懸念されている。E 型肝炎は、毎年報告が増加し続けており、感染源の食品としてブタ、シカ、イノシシなどの肉類喫食が一部で推定されていた。

国際化や食嗜好の多様化などの社会の変化により、食品媒介感染症は常に再興の可能性を含んでいる。継続したモニタリング活動で、各疾患の動向や詳細を把握し、現在の課題や問題点、今後増加する可能性のある疾患を予測することが可能であり、感染症サーベイランスから得られる情報は食中毒予防および対策のためには不可欠である。

Ⅱ. 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

全国で腸管出血性大腸菌（EHEC）感染に伴う溶血性尿毒症症候群（HUS）を発症した（EHEC-HUS）550 例（2008～2014 年に発症、診断時年齢 30 歳未満）を対象として、発症から数年経過した後の中・長期的な予後を明らかにするため、調査票を用いた郵送による追跡調査をおこなった。

対象者の 60.5%（333 例）から回答が得られた。調査票を送付した 2016 年時点での各 HUS 症例の通院状況は、約 2 割が経過観察のための通院を継続していたが、残りのおよそ 8 割弱は通院していなかった。通院していない主な理由は、医師による経過観察の終了が最も多く半数近くを占めた。次いで多かったのは他医療施設へ転院との理由であった。対象者のうち、5 例の死亡が確認されたが、本調査で新たに明らかになった死亡例はいなかった。HUS 発症後 1 年以上の経過観察がされている HUS 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り、これらの症例について中・長期的な予後を評価することは出来なかった。

本調査による後遺症の有無は、回答が得られたうちの半分未満における中・長期的な予後しか把握出来ておらず、より正確な実態把握のためには、転院例についての二次調査を含めたさらなる研究が必要である。

この３年間で、大きく２つに分けたテーマについての研究をおこなった。テーマごとにＡ．研究目的～Ｅ．結論について以下に分けて報告する。

Ⅰ．NESID 登録の食品媒介感染症の把握と解析に関する研究

Ａ．研究目的

感染症発生動向調査（NESID）で報告される食品媒介感染症について、国内感染例の推定感染原因・感染経路を含めた記述疫学をまとめるとともに、2014～2015 年の発生状況と主なアウトブレイク事例の詳細を解析し、現在の食中毒事例の問題点を探り、今後の食中毒予防に必要な対策を明らかにすることを目的とした。対象は、全数把握疾患（1－5 類）のうち、主に３類感染症〔コレラ、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症、腸チフス、パラチフス〕と４類感染症のＥ型、A 型肝炎である。

Ｂ．研究方法

感染症発生動向調査システム上のサブシステム「感染症発生動向調査」において、各都道府県・政令市・中核市の保健所から登録された対象疾患患者の電子データを用いた。対象期間は、2014 年診断第１週～2015 年第 53 週（疫学週）までの二年間で、患者の性、年齢、診断日、推定感染地、推定感染原因、感染原因である病原体とその血清型や毒素型、遺伝子型等の情報を対象項目とした。

また、アウトブレイク事例については、各自治体が発表したプレス資料や、厚生労働省食中毒統計で公表されている資料を用いた。

（倫理面への配慮）

感染症発生動向調査で届出された 3－4 類疾患は、患者の氏名・住所等の個人情報を含むため、取り扱いについては ID やパスワード入力等が必須で、厳正に管理されている。データの集計・解析においては、個人情報は除いており、倫理面の問題は生じなかった。

Ｃ．研究結果

１．３類感染症（表１）

１）コレラ

2012～2015 年は、一桁の患者報告数が続いており、すべて国外感染例であった。ほとんどがコレラ菌 01 であったが、2014 年の１例はコレラ菌 0139 で、推定感染地は中国であった。推定感染地域はフィリピンが多くを占めていた。感染原因として、いずれも現地渡航先での飲食による感染が推定されていた。

２）細菌性赤痢

2011 年以降、減少傾向にある。2014、2015 年に一時的に微増した（図１）。

国内での感染事例として、2014 年 10 月に福岡県北九州市の幼稚園で起きた *Shigella sonnei* を原因菌種とする集団発生で、保菌者を含め 17 例が報告された。また、2015 年 4-5 月に東京都内の小学校で *S. sonnei* を原因菌種とする集団感染により、保菌者を含め５例が報告された。さらに、2016 年には、2 月に富山市内の保育所において *S. sonnei* を原因菌種とする集団感染事例が発生し、5 例の感染者が報告されている。

集団感染事例と関連が分かっていない他の国内感染例では、経口感染が推定されかつ具体的な食品・食材の記載として、ごく一部の患者に「寿司」や「刺身」などの魚介類が報告されていた。また、少数ながら男性の同性間性的接触による感染との報告も認められた。しかし、多くは感染原因が不明であった。

３）EHEC 感染症

2011 年と 2012 年に厚生労働省の施策として行われた、生食用食肉の規格基準の改正および生牛レバー提供の禁止により、2012 年は年間報告数が一時的に減少した。しかし、2013 年、2014 年と再び 4000 例を超え、その後再び 4000 例を下回った。

2014 年の増加の要因の一つとして、7 月末に発生した大規模食中毒が挙げられた。当該事例は、静岡県の花火大会の露店で提供された冷やしキュウリが原因食品とされ、菌の血清群・毒素型は EHEC 0157VT1VT2、食中毒統計では患者数 510 人、NESID においてもこの事例に関連すると思われる感染者が 300 例以上報告されていた。また、ほぼ同時期に埼玉県の保育所内で提供された給食を原因食品とする食中毒が発生し、患者数 51 例（食中毒統計より）、NESID では患者との接触者の無症状病原体保有者が計 67 例報告されていた。

一方 2015 年は報告数が 3600 例弱に大きく減少した。その理由として、2015 年は前年のような大規模食中毒事例がなかったこと、EHEC を原因菌種とした食中毒事例そのものも多くなかったことが考えられた。

2016 年は 2015 年と比較して微増した。発生した主な食中毒の一つとして、東京都と千葉県の老人ホームにおいて、同一の給食事業者が提供した食事（きゅうりのゆかり和え）を原因とした食中毒があり、計６例が死亡（2016 年９月 14 日現在）した。また、10 月に入り神奈川県を中心として冷凍メンチカツの喫食による食中毒患者の発生が、複数自治体から広域にわたって報告され、NESID でメンチカツ関連の記載があった把握可能な症例として、50 例以上の感染者が報告されている。

2012 年以降、生肉や生レバー喫食関連の EHEC 感染者数は減少してきた。一方で、浅漬けや生野菜、サラダなど非加熱により喫食する食品を原因とした食中毒が目立つようになってきた。また、「そうざい半製品」と呼ばれる自分で加熱調理して仕上げる食品を介した食中毒も新たに

発生し、食品の製造・加工段階から消費者が喫食するまでの過程における総合的な食中毒予防の徹底の重要性があらためて浮き彫りとなった。

４）腸チフス

海外渡航者における流行地での感染、いわゆる輸入例が大半であった腸チフスは、直近 3 年間では国内感染例の増加が目立っている。3 類感染症に類型が変更された 2007 年以降、発症前に海外渡航歴のない国内感染例は 10 例未満が続いていたが、2013 年は 26 例、2014 年は 19 例が報告された（図 2）。

2013 年の国内感染例の増加は、8-10 月に関東近県で遺伝的関連性の高いチフス菌（*Salmonella* Typhi）株による感染の集積によるものであり、感染源は不明であるものの、diffuse outbreak である可能性が示唆された事例であった。

2014 年は、8 月に東京都内の飲食店において、当該店舗で調理し提供された食事及び弁当を原因食品としたチフス菌による食中毒が発生した（2000 年 12 月にチフス菌を細菌性食中毒の病因物質として取扱うことが通達されて以降初の食中毒事例）。患者の共通食として、当該店舗が提供した「カレー弁当」が挙げられ、調理従事者の糞便からチフス菌が検出された。

さらに、2016 年には 9-10 月にかけて、愛知県豊田市を中心に、国内感染の腸チフス患者の集積が認められ、無症状病原体保有者を含めて 11 例の感染者が報告されていた。各症例の感染原因・経路や症例間のつながりは不明であった。

５）パラチフス

2012 年までは年間 20 数例の報告であったが、2013 年はカンボジアへの渡航者におけるパラチフス患者が集積し、50 例と増加した。2014 年には急減したものの、2015 年はミャンマー渡航者におけるパラチフス患者報告が急増し 32 例が報告された。ミャンマー渡航者における患者は、前年（2014 年）12 月から毎月報告され始めており、2015 年は国外感染例の 58%（18/31）を占めた。2016 年は 20 例の報告で、ミャンマー渡航者における患者も 3 例に減少した。

２．4 類感染症（表２）

１）E 型肝炎（図３）

2011 年の 61 例から翌 2012 年は 121 例と倍増し、以後増加し続けており、2016 年の報告数 356 例は、2003 年の「E 型肝炎」として独立した 4 類感染症となって以降過去最多を更新した。

2014 年、2015 年の詳細な解析では、感染地域はほとんど（94-95%）が国内での感染であった。都道府県別にみると、北海道から最も多くの報告がされていた。

国内感染例の感染経路として、飲食物を介した経口感染を疑われた者が全体の 2/3 近くを占めており（2014 年 67%、2015 年 62%）、具体的な食品名の記載があった患者のほとんどは肉類の喫食が疑われていた（2015 年 71/75 例）。

肉類の動物種別では、2014 年は多い順に、ブタ 25 例、シカ 10 例、イノシシ 9 例、2015 年ブタ 31 例、イノシシが 6 例、ウマ 6 例、シカ、トリ各 4 例などが報告されていた（重複記載を含む）。また、肉類喫食が推定された患者のうち一部には、生または加熱不十分の肉を喫食したと記載されていた例もみられた。

２）A 型肝炎（図４）

2011～2013 年は年間 100 数十例台の報告が続いていたが、2014 年は 433 例と増加した。その後は減少したが、2015、2016 年ともに 200 数十例台の報告が続いている。

推定感染地域のほとんど（2014 年 86%、2015 年 77%）は国内であった。2014 年の患者は、診断月で 2-3 月に集中しており、地域では比較的九州・瀬戸内地方からの報告が多いものの、西日本にとどまらず、関東から東北まで広く患者発生がみられた。A 型肝炎ウイルスのゲノム解析によると、その多くは遺伝子型が ＩＡに分類された。このＩＡ（広域型）に汚染された食材などが短期間に全国規模で流通し、同一株による全国的な流行を発生したものと推測されたが、原因については依然不明のままであった。

2015 年は、比較的 1～3 月に患者発生が多くみられるものの、通年で患者は報告されており、季節および地域集積性に大きな特徴は認められなかった。

2015 年の国内感染例について感染原因経路を分析したところ、186 例のうち飲食物を介した経口感染が疑われた者が 138 例（74%）で、さらに推定感染原因として食品名の記載があったのは 67 例（36%）であった。そのうち、記載されていた喫食食品として、カキ 31 例（うち生カキ記載 13 例）と、魚介類（カキを除く）27 例が多数を占め、他に少数事例として飲料水（わき水や井戸水など）3 例の報告があった。魚介類（カキを除く）の具体的な食材として、アサリは複数例において記載がみられ、他にホタテ、トリ貝、ハマグリ、イカ、エビ、タコなどの記載もみられた。カキの喫食による患者は、ほとんどが 1～4 月の診断として集積していたのに対し、魚介類（カキを除く）喫食による患者は、通年で発生が認められた。

Ｄ．考察

１．3 類感染症の発生に関して

2014 年以降の発生状況で特徴的なものは、EHEC 感染症と腸チフスである。

まずEHEC感染症は、比較可能な2007年以降で2015年は最少報告数となった。EHECの感染は、主に経口感染（食品/水媒介）と接触感染（有症状者または保菌者、保菌動物）の2つに分けられる。EHECを原因とした食中毒や集団発生の規模や事例数によって、全体のEHEC感染症報告数は大きく影響を受ける。前年（2014年）は「冷やしキュウリ」を原因食品とした患者数510人の大規模食中毒事例が発生し、EHEC感染症の年間報告数は4000例を超えた。しかし2015、2016年は、一事例あたり患者100例を超える大規模な食中毒は発生しなかった。また、EHECを原因とした食中毒の事例数は、2014年が25事例、患者数766人であったのに対し、2015年は17事例、患者数156人、2016年は12事例、患者数176人（食中毒統計平成29年2月16日現在）と、事例数、患者数が減少したこともEHEC感染症報告数の減少した要因であった。一方で、EHEC感染リスクの高い肉の生食については、厚労省の規制によって、かつてよりは大きく減少したものの、依然として少数ながら推定感染原因で報告されており、引き続き消費者に向けた食中毒予防のための注意喚起が必要である。また、近年食中毒の原因食品として話題となった「冷やしきゅうり」や「浅漬け」等の非加熱処理で喫食する野菜等の汚染による食中毒のリスクは、引き続き今後の課題として残されている。

次に腸チフスは、これまで海外感染例が多数を占めていたが、2013年に関東近県で遺伝学的に関連性の高いチフス菌株の広域散発事例の発生、2014年に東京都内の飲食店でチフス菌による食中毒事例が発生、したことで、本研究班の報告書において、再度国内での流行または集団発生が起こる可能性を指摘していたところ、2016年に愛知県で発症前の海外渡航歴のない腸チフス患者の集積が認められた。疫学調査や分離された菌の分子疫学的解析結果は明らかとなっていないものの、発生時期や地域の集積性から、同一感染源による集団発生が示唆されている。近年は、腸チフス、パラチフスの患者として、留学や就労で日本に長期滞在する在留外国人も増えてきている。腸チフス、パラチフスの流行地域出身者が、友人や親類を訪ねるために母国へ渡航（VFR）した際に感染したものと推測された例もあった。輸入感染症として捉えられていた腸チフス、パラチフスであるが、国際化の進展にともない、日本の海外渡航者の増加だけでなく、流行地域から日本への人の流入を契機に、国内で両疾患の患者が頻発し、再び国内で集団感染、食中毒事例が発生することが懸念される。

細菌性赤痢は、2013年が143例で当時の最少報告数となって以降、一時報告数は下げ止まり感があったが、2016年は121例（2017年2月16日現在）で過去最少の報告数を更新した。国外、国内ともに感染者は減少傾向にあるが、国内においては、小規模ながら保育施設や学校において毎年集団感染事例の発生が報告されている。また、国内感染の多くは散発例であるが、感染原因は不明のままである。経口感染が推定された場合でも、具体的な食品や食材はほとんど記載されておらず、NESIDにおける報告で感染原因を把握するには限界があると感じられた。EHEC感染と同様に、細菌性赤痢は感染源調査の難しさが浮き彫りになっているが、食品媒介以外の性的接触感染（男性同性間）についても看過できなくなってきており、今後は菌株の解析結果も含め、感染経路別の動向把握が必要であると思われた。

２．4類感染症の発生に関して

2014年以降もE型肝炎の増加が目立っている。感染原因として多いブタ肉について、厚生労働省は、ブタの生肉（レバーを含む）の喫食により、E型肝炎のみならずサルモネラ、カンピロバクターによる食中毒のリスクがある等、公衆衛生上のリスクが高いと判断し、平成27年6月12日から、ブタの生肉やレバー等の内臓肉を生食用として販売・提供することを禁止した。しかし、行政による規制があったものの、2015年の年間報告数は前年（2014年）の154例を大きく上回り、2016年にはさらに356例と増加し続けている。NESIDにおける報告内容の記載は、診断した医師や自治体の調査報告に依存するため、必ずしも実態をすべて把握できるわけではない。また、報告数の増加には様々な要因が複合的に関係していると推測され、規制による報告数への影響や、増加の理由はNESIDの詳細な解析だけで評価出来ないと思われた。

一方、A型肝炎報告数は2014年をピークとして2015年以降は200数十例台に減少した。しかし、2011年以降での比較では、2016年と2015年はそれぞれ2番目、3番目に多い報告数であり、患者報告の中には、ウイルスの分子疫学的解析でないと判断できない潜在的な流行があるのかもしれない。NESIDで把握できる推定感染原因は、経口感染が疑われた患者の4割弱における報告で限られてはいるが、通年ではカキ以外の魚介類の喫食が感染源として推定され、1～4月にカキの喫食を原因とする感染が上乗せされるというおよその傾向が示唆された。A型肝炎ウイルスの潜伏期間が平均4週間と長いため、感染源・感染経路の特定は難しく、ウイルスの分子疫学的解析と合わせた総合的な調査が今後の課題である。

Ｅ．結論

１．2014～2015年にNESIDへ報告された3,4類感染症の中から、食品媒介感染症に該当する7疾患の報告患者について、発生状況の動向を把握するとともに、推定された感染原因・経路についての詳細な解析を行った。

２．EHEC感染症では、生肉喫食による感染リスクは低下したが、非加熱処理で喫食する野菜等の汚染による食中毒のリスクが目立ってきた。

３．近年、腸チフスの国内における流行や食中毒発生の可能性が高まりつつある。

４．E 型肝炎の報告が増加し続けており、経口感染による原因食品の一部として、ブタ、シカ、イノシシなどの肉類喫食が報告されていた。

５．細菌性赤痢やA型肝炎の患者は、NESIDで得られる感染原因の情報は限られており、感染源等の究明には、疫学情報のみならず分離菌やウイルス株の分子疫学的解析を合わせた総合的な判断が必須である。

６．NESIDで得られる情報は、感染原因・経路の内容については制約があるものの、各疾患の現状や問題点を明らかにし、食中毒予防および対策の上で不可欠な情報である。

表１．3類感染症の年別報告数　2011－2016年

西暦	コレラ	細菌性赤痢	EHEC感染症	腸チフス	パラチフス
11	12	300	3,940	21	23
12	3	214	3,768	36	24
13	4	143	4,044	65	50
14	5	158	4,152	53	16
15	7	156	3,573	37	32
16	**10**	**121**	**3,646**	**52**	**20**

赤字（2016 年）は暫定数　2017 年 2 月 10 日現在

表２．4類感染症(E，A型肝炎)の年別報告数　2011－2016年

西暦	E 型肝炎	A 型肝炎
11	61	176
12	121	157
13	127	128
14	154	433
15	213	243
16	**356**	**271**

赤字（2016 年）は暫定数　2017 年 2 月 10 日現在

図 1.　細菌性赤痢の年別・感染地域別報告数（2011～2015 年）

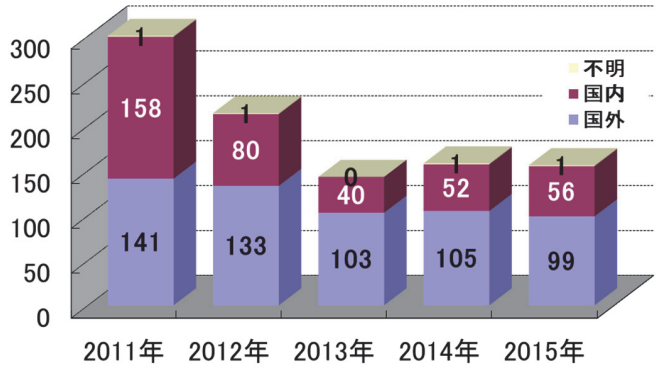


図 2.　腸チフスの年別・感染地域別報告数（2011～2015 年）

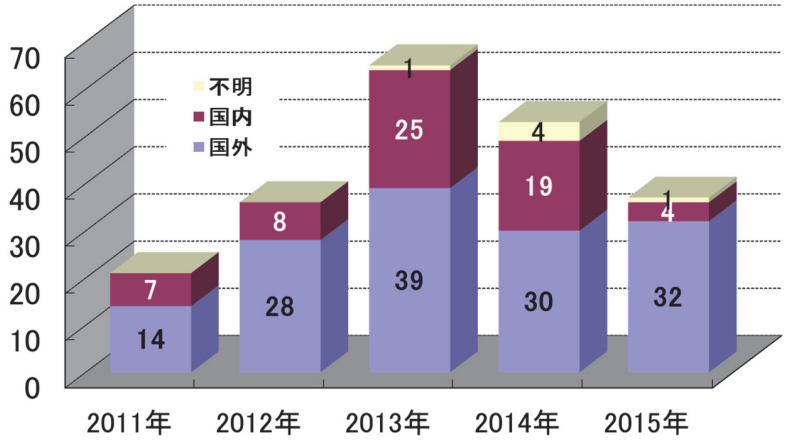


図３．診断月別・感染地域別　E 型肝炎感染者　2015 年

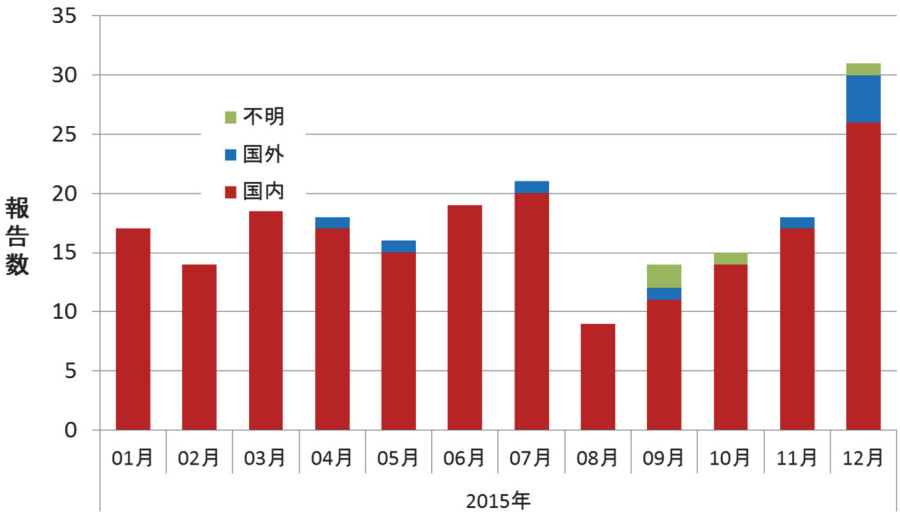
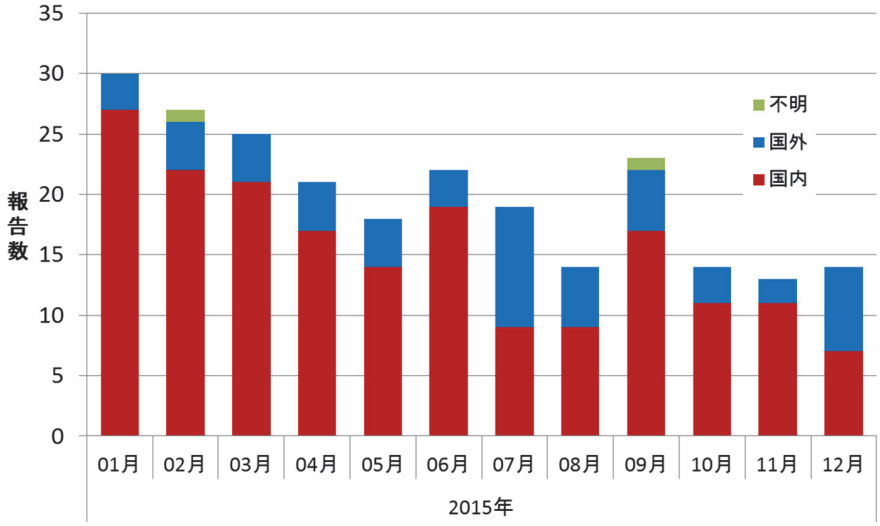


図４．診断月別・感染地域別　A 型肝炎感染者　2015 年



Ⅱ．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

Ａ．研究目的

溶血性尿毒症症候群（HUS）は、溶血性貧血、血小板減少、急性腎障害を３主徴とする症候群で、志賀毒素産生性大腸菌（STEC）に由来する腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症の重篤な合併症の一つである。EHEC（STEC）感染に伴う HUS 発症（EHEC-HUS）は、小児を中心として年間約 80-100 例程度報告されている。これまで EHEC-HUS は、一般に予後良好とされていた。しかし近年、国内および国外でも EHEC の集団感染で多数の HUS 発症が報告された事例が起こり、死亡例も報告されている。また国外の文献では、HUS が一旦治癒し数年経過した後に、再び後遺症が発生する可能性も指摘されている。

本研究は、EHEC-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。

Ｂ．研究方法

2008 年（平成 20 年）～2014 年（平成 26 年）に感染症発生動向調査（NESID）で 3 類 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。対象者の症例リストの作成のために、NESID システム上のサブシステム「感染症発生動向調査」において、各都道府県・政令市・中核市の保健所から登録された 3 類 EHEC 感染症の電子データを用いた。

追跡調査を行うため、「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」の作成を行った。質問項目を検討する上で、過去国内・外で報告されている HUS の後遺症に関する論文や、「溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン」（2014 五十嵐隆編、東京医学社）を参考とした。また、実際に現場で診療に携わっている臨床医からも意見を聴取し、質問の明確さや回答のしやすさ等細かい部分も含めて調査票に反映させた。最終的に調査票に含めた質問項目は以下の 4 項目：Ⅰ．医療施設への通院状況、Ⅱ．急性期における情報、Ⅲ．予後（調査票記入時または最終診察時）、Ⅳ．後遺症。

方法は、対象となる 550 例の EHEC-HUS 発症例を診断後に保健所へ届出た医師の所属する医療施設計 336 施設（図５）を対象として調査票を郵送し、各症例について記入および返送を依頼した。調査票は 2016 年 8 月 19 日（金）に一斉発送し、回答の〆切を同年 10 月 31 日（月）とした。なお、一医療施設当たり 5 例以上の対象者がいる 10 の医療施設に対しては、郵送ではなく 8～10 月にかけて直接訪問して担当者に研究目的の説明をおこない、調査票への記入を依頼した。また、〆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おこない、調査への協力を依頼した。

（倫理面への配慮）

本研究は、「国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査」を受け、承認済である（平成 26 年 8 月 4 日）。〔受付番号 509 研究課題名「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」〕HUS 発症例のデータソースは、NESID への 3 類 EHEC 感染症としての届出であるが、氏名・住所等の個人情報を含むため、取り扱いについては ID やパスワード入力等が必須で、厳正に管理されている。一度 NESID へ報告された症例の追跡調査であるため、症例は連結可能匿名化された情報を提供される。公表される結果は年齢、性別、予後等の情報のみで、氏名、生年月日、治療を受けた医療機関名など個人を識別（あるいは推測）できるような情報は含まれない。

Ｃ．研究結果

１．回収率

336 施設 550 例（男性 221、女性 329）の対象者に対し、200 施設（59.5%）333 例（60.5%）から回答が得られた（2017 年 2 月 10 日現在）。性別では男性 131 例（59.3%）、女性 202 例（61.4%）であった。

１）診断年別

2008～2014 年の各年の有効回答数はそれぞれ 46、40、42、55、43、51、56 例であった。回収率がもっとも高かったのは 2014 年の 67.5%、次いで 2011 年の 65.5%、2013 年の 65.4%であり、最も低かったのは 2009 年の 52.6%であった。なお、2011 年の回収率については、当該年に起きた富山県の焼肉チェーン店におけるユッケ喫食を原因とした食中毒事例に関連する HUS 発症例について、こちらから医療施設へ電話によるリマインドをかけたことが影響している。

２）年齢別（図 6）

対象者の 5 歳区切りの年齢群別では、0-4 歳が 274 例（42%）で最も多く、年齢が上がるに連れて対象者数は減少している。性別では、全ての年齢群で女性が男性の対象者よりも多い。回収率は、対象者数の少ない 10 歳以上の年齢群では男女別でばらつきがみられるものの、10 歳未満においては、男女いずれも 6 割程度の回収率であった。

２．「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」の回答

１）医療施設への通院状況（調査時点）

調査票記入日時点における当該施設への HUS 症例の通院状況についての質問では、有効回答数 333 例のうち、最も多かったのが「通院していない」261 例（78.4%）、次いで「通院中（経過観察継続中）」66 例（19.8%）、「その他」6 例（1.8%）、で「入

院中（HUS に関連する症状または後遺症の治療を目的として）」の回答はなかった（表3）。

「通院していない」場合の理由として、最も多かったのが『経過観察終了』123 例（47.1%）、次いで『他医療施設へ転院』91 例（34.9%）、『患者自身の都合』36 例（13.8%）、『その他』9 例（3.4%）、『不明・記載なし』2 例であった（表 4）。

２）急性期における情報

(1)臨床症状・所見

急性期における２つの症状（血便、痙攣重積）の有無についての質問では、「血便」有りが 79.9%（255 例/319）、「痙攣重積」有りが 6.9%（22 例/317）であった。

(2)治療（複数選択可）

急性期に施行された治療についての質問では、最も回答が多かった治療は、「抗生剤の使用」214 例（64.3%）、次いで「RBC 輸血」159 例（47.7%）、「透析療法（血液透析、腹膜透析、持続的血液濾過透析のいずれか）」87 例（26.1%）、「人口呼吸管理」48 例（14.4%）、「血漿交換療法」23 例（6.9%）であった（表 5）。

抗生剤を使用された 214 例のうち、単剤または複数薬剤の併用により、ホスホマイシン(FOM)が 148 例（69.2%）で最も多く使用されており、次いで多かったものはセフトリアキソン(CTRX)が 21 例（9.8%）であった。

透析療法を施された 87 例の内訳は、血液透析 32 例（36.8%）、持続的血液濾過透析 31 例（35.6%）、腹膜透析 7 例で、残りの 17 例は前述の 2 つないし 3 つの併用であった。

人工呼吸管理 48 例の主たる適応理由の内訳は、「持続透析」が 29 例（60.4%）で最も多く、他に「けいれん重積」7 例、「呼吸」5 例などの回答であった。

また、その他に施された治療として、ステロイドパルス療法、フロモックス（ラシックス；利尿剤）、γグロブリン、トロンボモデュリンアルファ(リコモジュリン)、などの記載が散見された。

３）予後

調査票記入時また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。

「生存」の 294 例について、後遺症の有無に対する質問では、「有り」が 24 例（8.2%）、「無し」が 243 例（82.7%）、「詳細不明」27 例（9.2%）であった。なお、「有り」の回答のうち、2 例は『転院先の医療施設で死亡』との記載があり、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。

４）経過観察期間の算出（表 6）

調査対象者の HUS 発症年月は、NESID 報告によるデータベースですべて把握済である。HUS 発症年月を始点として、HUS 発症例の経過観察期間を算出するために、１）医療施設への通院状況の質問で、「通院中（経過観察継続中）」との回答の場合は『調査票記入年月』を、通院中以外の回答の場合は『最終診察年月』を、それぞれ経過観察の終点とした。

有効回答 333 例中、終点の記載があり経過観察期間の算出が出来たのは 294 例(88.3%）であった。このうち、経過観察が 3 カ月未満だったのは 95 例（32.3%）、1 年未満が 150 例（51.0%）、1 年以上 4 年未満が 102 例（34.7%）、4 年以上は 42 例（14.3%）であった（図 7）。

５）後遺症

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 に関係する後遺症が認められた（複数回答を含む）。

腎後遺症が 13 例、腎臓以外の後遺症が 6 例報告され、腎後遺症の詳細は、腎機能低下 8 例、蛋白尿 6 例、血尿 5 例、高血圧 3 例、尿細管機能障害 3 例、維持透析 1 例であった（表 7）。また、腎外後遺症の 6 例は、いずれも神経系の後遺症であり、詳細な内訳として、歩行異常・障害 3 例、難聴・聴覚障害 2 例、症候群てんかん 1 例などが記載されていた（表 8）。なお、腎外後遺症として、これまで文献等で報告されている慢性膵炎や糖尿病、循環器系の後遺症はなかった。

Ｄ．考察

１．対象医療施設と回収率

調査対象施設は、山梨県を除く 46 都道府県の 336 施設であり、対象期間中に HUS 発症例の届出があった数は一医療施設あたり最少で 1 例～最多で 11 例に分布していた。本調査は基本的に郵送による調査でおこなう計画とした。しかし、調査票回収率は低いと事前に予想していたため、少しでも回収率を上げるためにも、一医療施設あたり 5 例以上の HUS 症例のいた 10 施設に対しては、直接担当者と面会の約束をとり、当該施設へ直接訪問し、研究の主旨を説明して調査協力を依頼した。また、2011 年に発生したユッケ喫食を原因とした食中毒事例の HUS 症例に対しては、本研究の対象者で最も多い HUS の集団発生事例ということもあり、〆切期限までに回答の得られなかった医療施設には電話でリマインドをかけ、調査協力をお願いした。

実際には、200 施設（59.5%）、333 例（60.5%）と予想を大きく上回る回答が得られた。回収率向上のために準備した事前の研究計画および方法がかなり効果的であったものと思われる。また、それ以上に現場で実際に診療にあたっている臨床医の方々のご協力によるところが非常に大きかった。

調査対象施設から回答返信が得られなかった理由の一つに、調査票がきちんと適切な回

答者の手元に届いていない可能性が考えられた。NESID 報告によるデータベースでは、届出医の氏名と医療施設名しかなく、診療科や医師名等、郵送の宛先に具体性を示せなかったことは本研究の制約の一つであった。また、今回直接訪問による依頼を出来なかった複数の HUS 発症例（3～4 例）があった医療施設からの回収率が低かったことが特徴的であり、これらの施設は、地域における高次医療機関であると予想され、複数例の HUS 対象者が複数の診療科にまたがっていて、調査票のとりまとめと返信が困難であったのかもしれない。さらに、調査票を郵送した時点で、既に宛先不明で届かなかった医療施設が 2 施設あり、対象者の発症・診断が古くは 2008 年の情報でもあることから、対象医療施設の廃業や統合、経営母体の変更などの影響も未回収に一部影響していた。

２．調査票の回答内容

2016 年の調査時における医療施設への通院状況では、通院中（経過観察中）が 66 例（19.8%）であった。その過半数（65%）は HUS の発症が 2012～2014 年と直近 3～4 年の発症例であったが、5 年以上が経過した 2008～2010 年発症例の 16 例（24%）も経過観察が継続されていた。一方、通院していない 261 例の理由で、その半数近く（47%）が経過観察終了との理由であり、HUS 発症例の重症度を考慮した上で、その後の経過観察は医療施設または担当医の判断に任されているものと想像された。通院していない理由の 2 番目に多かった「他医療施設へ転院」の 91 例については、調査対象施設との兼ね合い上、事前に一定数いるであろうとは予想されており、本調査でどの程度の割合が該当するのか明らかにすることが出来た。

HUS 発症例の急性期の情報として、症状は「血便あり」が約 8 割の回答で、従来の NESID で報告されていた HUS 発症例における血便の割合 8～9 割弱という結果と一致しており、必ずしも HUS 発症例全てが血便を呈するわけではないということを支持する結果となった。また、施行された治療で最も多かった「抗生剤の使用」は約 64%の回答であり、NESID のサーベイランスに関係する問い合わせで従来から得られていた約 8 割よりは低い数字であった。EHEC 感染に対する抗生剤の使用と HUS 発症に関しては一定の結論が得られていないが、施設によって対応は異なるものと思われた。なお、使用された抗生剤は、約 7 割が単剤または併剤でホスホマイシン（FOM）が最も多く使用されており、NESID 問い合わせで得られた報告と同様であった。

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。回答のあった死亡 5 例中、4 例は HUS 発症後まもなくの死亡であり、1 例は発症からおよそ 6 ヵ月後に死亡していたが、いずれも NESID で死亡が記録されていた。

HUS 発症後の経過観察期間の算出できた症例の分析では、観察期間 1 年未満が過半数（51.0%）を占めており、実際の臨床現場においては HUS 発症例に対して長期のフォローアップがされていない実態が明らかとなった。本調査の対象者は、「溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン」が公表された 2014 年よりも前に発症した患者がほとんどであり、ガイドライン作成以前の実情を反映したものと考えられる。HUS 発症後最低 5 年間定期的な経過観察を推奨（急性期の重症度に応じて、～15 年間）している当該ガイドライン公表以後に発症した HUS のフォローアップ状況は、本調査の結果と比較して変化しているものと予想される。

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。過去 2001～2002 年の HUS 発症例を対象として国内で行われた全国調査では後遺症ありが 13%と報告されており、本研究の結果も同等の割合であった。しかし、過去の調査は、EHEC による感染以外を原因とした HUS 発症例も対象とされており、本研究の対象者と単純に比較出来ないため、解釈には注意が必要である。後遺症の多くは腎後遺症であり、内訳として尿異常（蛋白尿、血尿）が 11 例、腎機能低下が 8 例、などが多くを占めた。一方、腎外後遺症としては、歩行異常・障害や聴覚障害など神経系後遺症のみが報告されており、従来から指摘されているとおり、少数ながらも神経学的後遺症が引き起こされていることが示された。なお、経過観察期間が 1 年以上の HUS 症例は、有効回答の得られた症例の 43%でしかなく、半数以上は長期のフォローが出来ていない。特に、通院状況の質問で、『他医療施設へ転院』とされた患者については、重症のためより高度医療の提供可能な他施設へ転院したものが多いと推測され、本調査におけるフォローが不完全でもあり、有後遺症の患者が潜在している可能性が高いと想像された。転院例については、調査票の質問により転院先の医療施設名も得られているため、これらの転院先に対しての後遺症調査（二次調査）を行うことで、より詳細な後遺症の実態を把握できるものと思われる。しかし、本研究班においては、人的、時間的、予算的な制約があるため、転院例に対する二次調査は計画出来なかった。本研究によって、HUS 発症例のその後のフォローアップ状況の実態を明らかにすることができたが、中・長期的予後の評価という目的達成のためには、上述した二次調査を含めたさらなる研究が必要である。

Ｅ．結論

１．対象とした HUS 発症例の予後で、新たな死亡例は認められなかった。

２．HUS 発症後 1 年以上の経過観察が出来た症例のうち、17 例（11.8%）においてなんらかの HUS に関係する後遺症が確認された。

３．回答のあった HUS 症例の過半数は発症後の経過観察が 1 年に満たず、これらの症例の中・長期的な予後の評価は出来なかった。

図5 調査対象一医療施設当たりの
HUS届出数の割合
2008-2014年（n=336施設）

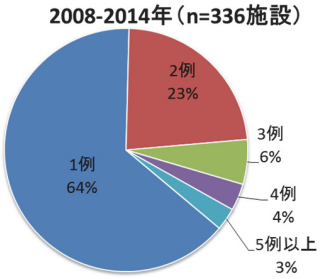


図6 年齢群別・性別調査対象者数と有効回答数

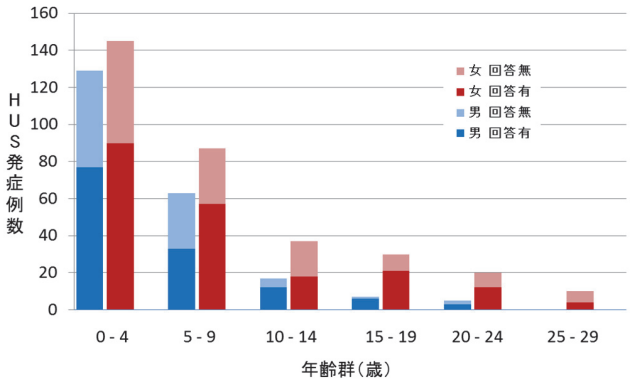


表 3 医療施設への通院状況（調査票記入日時点） 有効回答 n=333

通院状況	症例数（人）	割合 (%)
通院していない*	261	78.4
通院中（経過観察継続中）	66	19.8
その他	6	1.8
入院中	0	0

表 4 表 3 の通院していない理由 有効回答 n=261

理由	症例数（人）	割合 (%)
経過観察終了	123	47.1
他医療施設へ転院	91	34.9
患者自身の都合	36	13.8
その他	9	3.4
不明・未記載	2	0.8

表 5 急性期において施行された治療（複数回答可） 有効回答 n=333

施行した治療（複数選択）	症例数（人）	割合 (%)
抗生剤の使用	214	64.3
RBC輸血	159	47.7
透析療法	87	26.1
人工呼吸管理	48	14.4
血漿交換療法	23	6.9

表 6 調査票記入時または最終診察時の日付記載あり*内訳
観察期間（月数）の算出が可能
*通院中の場合「調査票記入年月」、それ以外の場合「最終診察年月」

通院状況		症例数（人）	観察期間算出可能	割合(%)
有効回答		333	294	88.3
通院中（経過観察中）		66	66	100.0
通院していない	＜理由＞			
	経過観察終了	123	118	95.9
	他医療施設へ転院	91	67	73.6
	患者自身の都合	36	33	91.7
	その他	9	7	77.8
	不明・未記載	2	1	50.0
その他		6	2	33.3

図 7 HUS 発症例の経過観察期間の分布と割合　有効回答 n=294

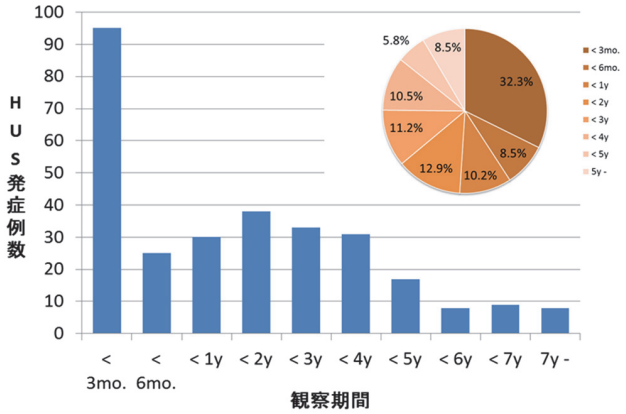


表 7 腎後遺症の詳細内訳 回答 n=13 （複数回答を含む）

腎後遺症	症例数（人）
腎機能低下	8
蛋白尿	6
血尿	5
高血圧	3
尿細管機能障害	3
維持透析	1

表 8 腎外後遺症の詳細内訳 回答 n=13 （複数回答を含む）

腎外後遺症	症例数（人）
神経系	6
（詳細）	
歩行異常・障害	3
難聴・聴覚障害	2
症候群てんかん	1

調査票の回答と返信にご協力いただいた以下の施設(n=200)に深謝いたします。
（一部調査票の回答があった患者が届出された当時の医療施設名での記載あり）

都道府県	医療施設名
北海道	手稲渓仁会病院
	愛育病院
	滝川市立病院
	北海道消化器科病院
	恵佑会第２病院
	北海道病院
	北海道子ども総合医療療育センター
	医療法人社団慶愛病院
	北海道社会事業協会帯広病院
	北見赤十字病院
	江別市立病院
	市立千歳市民病院
青森県	青森市民病院
	八戸市立市民病院
	三沢市立三沢病院
岩手県	もりおかこども病院
	岩手県立中央病院
	川原田小児科医院
宮城県	仙台医療センター
	仙台市立病院
	大崎市民病院
秋田県	秋田大学医学部附属病院
	中通総合病院
	市立横手病院
山形県	米沢市立病院
	山形県立新庄病院
	公立置賜総合病院
茨城県	日立総合病院
	土浦協同病院
	宮崎こどもクリニック
栃木県	那須赤十字病院
群馬県	館林厚生病院
	前橋赤十字病院
	高崎中央病院
	桐生厚生総合病院
	伊勢崎市民病院
	太田記念病院
	公立藤岡総合病院
埼玉県	埼玉県立小児医療センター
	西埼玉中央病院
	さいたま市立病院
	さいたま市民医療センター
	自治医科大学附属さいたま医療センター
	埼玉医科大学総合医療センター
	埼玉県熊谷保健所
	埼玉石心会病院
	草加市立病院
	獨協医科大学越谷病院
	国立病院機構　埼玉病院
	みさと健和クリニック
千葉県	千葉県こども病院
	千葉市立海浜病院
	三枝医院
	総合病院国保旭中央病院
	船橋二和病院
	成田赤十字病院
	亀田総合病院
	国立病院機構下志津病院
東京都	東京都立小児総合医療センター
	国立成育医療研究センター
	東京都立墨東病院
	聖路加国際病院
	東邦大学医療センター大橋病院
	東邦大学医療センター大森病院
	杏林大学医学部附属病院
	東京都立多摩総合医療センター
	公立昭和病院
	日本大学病院
	東京女子医科大学病院
	東京医科歯科大学医学部付属病院
	順天堂大学附属順天堂医院
	目黒区保健所
	荏原病院
	東京都立大塚病院
	舟渡病院
	練馬光が丘病院
	順天堂練馬病院
	やすだこどもクリニック
	日野市立病院
	東京都立清瀬小児病院
	稲城市立病院
神奈川県	川崎市立川崎病院
	(独)横浜医療センター
	日本医科大学武蔵小杉病院
	聖隷横浜病院
	横浜労災病院
	聖マリアンナ医科大学病院
新潟県	新潟県立新発田病院
	新潟大学医歯学総合病院
	村井こどもクリニック
富山県	市立砺波総合病院
	富山大学附属病院
	富山県立中央病院
	富山市民病院
	富山県済生会高岡病院
	高岡市民病院
	厚生連高岡病院

	富山赤十字病院
	黒部市民病院
	学校共済組合北陸中央病院
	真生会富山病院
石川県	石川県立中央病院
	ふじさわ眼科小児科クリニック
	三幸小児科医院
	金沢医科大学病院
福井県	公立丹南病院
	福井赤十字病院
	福井大学医学部附属病院
長野県	まつもと医療センター中信松本病院
	諏訪中央病院
岐阜県	岐阜大学医学部附属病院
	岐阜県総合医療センター
	岐阜市民病院
	中津川市民病院
	松波総合病院
静岡県	静岡県立こども病院
	キッズクリニックさの
	静岡済生会総合病院
	聖隷浜松病院
	磐田市立総合病院
	焼津市立総合病院
	藤枝市立総合病院
愛知県	あいち小児保健医療総合センター
	名古屋第二赤十字病院
	トヨタ記念病院
	岡崎市民病院
	春日井市民病院
	安城更生病院
	愛知医科大学病院
	総合大雄会病院
	一宮市立市民病院
三重県	伊勢赤十字病院
滋賀県	滋賀医科大学医学部附属病院
	長浜赤十字病院
	近江八幡市立総合医療センター
京都府	医療法人徳洲会　宇治徳洲会病院
	京都第一赤十字病院
大阪府	大阪市立総合医療センター
	大阪労災病院
	大阪赤十字病院
	淀川キリスト教病院
	大阪府済生会吹田病院
	住友病院
	北野病院
	聖バルナバ病院
	大阪警察病院
	大阪府立急性期・総合医療センター
	堺市保健所
	済生会吹田病院
	しもでら小児科クリニック
	大阪医科大学附属病院
	関西医科大学附属病院
	市立柏原病院
	今中小児科
	寺嶋塚田こどもクリニック
兵庫県	兵庫県立尼崎総合医療センター
	兵庫県立こども病院
	神戸平成病院
奈良県	奈良県立医科大学附属病院
和歌山県	和歌山県立医科大学附属病院
	社会保険紀南病院
	新宮市立医療センター
鳥取県	鳥取大学医学部附属病院
島根県	益田赤十字病院
	島根大学医学部附属病院
岡山県	倉敷中央病院
	水島中央病院
広島県	東広島医療センター
山口県	下関市立中央病院
	山口大学医学部附属病院
徳島県	徳島大学病院
	徳島赤十字病院
高知県	高知医療センター
	ＪＡ高知病院
福岡県	九州大学病院
	飯塚病院
	国立病院機構小倉医療センター
	国立病院機構九州医療センター
	大牟田市立病院
	久留米大学医療センター
	くきた小児科内科クリニック
	医療法人　田中医院
	山田小児科医院
佐賀県	佐賀大学医学部附属病院
	佐賀中部保健福祉事務所
	富崎小児科
	嬉野医療センター
	古賀小児科内科病院
熊本県	熊本赤十字病院
	熊本地域医療センター
	山口医院
大分県	大分県立病院
	佐藤第二病院
宮崎県	宮崎県立宮崎病院
	宮崎大学医学部附属病院
鹿児島県	鹿児島大学病院
	出水総合医療センター
	県立大島病院
	なかむら小児科
沖縄県	いけむら小児科クリニック

Ｆ．健康危険情報
特になし

Ｇ．研究発表
1.　論文発表
１）Takehito Saitoh, Masatomo Morita, Tomoe Shimada, Hidemasa Izumiya, Atsuhiro Kanayama, Kazunori Oishi, Makoto Ohnishi, Tomimasa Sunagawa. Increase in paratyphoid fever cases in Japanese travellers returning from Cambodia in 2013. Epidemiol Infect. 2016 Feb;144(3):602-6

2.　学会発表
１）Takehito Saitoh, Hiroshi Hataya, Riku Hamada, Kazunori Oishi, Tomimasa, Sunagawa. Long-term outcomes in Enterohemorrhagic Escherichia coli associated hemolytic uremic syndrome in Japan. 第52回日本小児腎臓病学会学術総会. 東京都.2017年6月1-3日（予定）
２）Takehito Saitoh：Epidemiology of Enterohemorrhagic Escherichia coli infections and associated hemolytic uremic syndrome in Japan.
The 11th Japan-Taiwan Symposium on New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance. Taipei, Taiwan, Sep 11-12, 2014
３）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
４）河端邦夫、清原知子、石井孝司、脇田隆字、金山敦宏、八幡裕一郎、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、松井珠乃、砂川富正、大石和徳：A型肝炎の家族内感染についての疫学的分析（2014年上半期を中心に）.
第18回日本ワクチン学会学術集会.　福岡市.　2014年12月6-7日
５）石井孝司、清原知子、脇田隆字、河端邦夫、金山敦宏、八幡裕一郎、山岸拓也、松井珠乃、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、大石和徳、砂川富正：2014年春季に日本で多発したA型肝炎の分子疫学的解析.
第62回日本ウイルス学会学術集会. 横浜市. 2014年11月10-12日
６）加納和彦、八幡裕一郎、捧建蔵、柳楽真佐実、齊藤剛仁、金山敦宏、高橋琢理、有馬雄三、河端邦夫、砂川富正、大石和徳：牛生肉・生レバーの規制強化の効果を検証する.第18回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 京都市. 2014年７月15-16日

Ｈ．知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3.その他
なし

平成26－28年度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）
総合分担研究報告書

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

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
研究協力者　杉下　由行　　東京都福祉保健局健康安全部感染症対策課
研究協力者　八幡　裕一郎　国立感染症研究所感染症疫学センター
研究協力者　赤堀　正光　　神奈川県厚木保健福祉事務所大和センター
研究協力者　小池　剛　　かながわ疫学勉強会
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

研究要旨　広域食中毒疫学調査ガイドラインは広域食中毒事例の検出・調査手法に関する整理を行い、より実効性の高い広域事例の検出・調査のあり方について提言するため作成された。このガイドラインを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い、また、海外情報を含む最新の知見を反映し改訂を行った。具体的には１）ケーススタディの実施による意見の収集、２）実際の広域事例とガイドラインに従った調査の比較検討による明確化すべき調査方法論（アルゴリズム）についての検討、３）自治体での活用を図るためのインターネット上での公開、４）自治体の担当者から活用における意見の収集、５）海外知見の情報収集と検討を行い、改訂が必要な箇所を明らかにした【26 年度】。これらの成果を元に、６）ケーススタディの実施による意見の収集、７）動画による疫学調査教材の作成、８）感染症疫学調査研修での事前アンケート、を行った【27 年度】。最終的に９）ガイドラインの現場での活用方法について検討し、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た【28 年度】。各自治体等および保健所に送付したことで一定の周知と活用が図れ、広域散発食中毒事例の疫学調査の向上に資することが期待される。

Ａ．研究目的

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（以下、広域事例）が報告されている。しかし、個々の事例は各保健所管区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。そのため、広域事例として認識される事例は少数に留まり、わが国においてもっと多くの広域事例が潜在的には発生している可能性が考えられる。

これを受けて、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」成果物として「広域食中毒疫学調査ガイドライン」（以下ガイドライン）を 2014 年 3 月 31 日に策定した。これは広域事例の検出・調査手法に関する整理を行い、より実効性の高い広域事例の検出・調査のあり方について提言するものであった。

本研究分担では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し、この結果をガイドラインに反映することを目的とした。

Ｂ．研究方法

ガイドラインの活用としては、１）ケーススタディを実施し、意見の収集を行うこととした。また、２）実際の広域事例とガイドラインに従った調査手法を比較検討した。その中で、自治体ロールモデル（役割）について検討するとともに、明確化すべき調査方法論（アルゴリズム）について検討した。さらに、３）自治体での活用を図るために、インターネット上で公開し、研修の必要性について検討した。また、４）自治体の担当者から活用における意見の収集を行った。ガイドラインへの最新知見導入については５）海外知見の情報収集と検討を行った【26 年度】。

さらに、６）ケーススタディの実施による意見の収集、７）これまで長期に食品監視員として業務に携わった監視員の経験を動画資料としてまとめることで、現場における調査の基礎を学ぶための教材を作成することとした。８）自治体での活用を図るために、感染症疫学調査研修で事前アンケートを行うことで、感染症疫学の意識について検討した。これらの結果を勘案しガイドラインの改訂を行った【27 年度】。

９）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。また、改訂したガイドラインを現場で活用するため

の方法について検討を行い、ガイドラインの印刷、動画教材のDVDプレスと自治体への配布を行った【28年度】。

（倫理面への配慮）

研究に当たり、既に公表されている情報のみを収集し、個人情報を含む情報は取り扱わなかった。アンケートでは個人情報を含む情報は取り扱わなかった。アンケート用紙の提出をもって集計結果が研究報告書に掲載されることの了承と見なす旨を用紙に明記し、同意の場合のみ提出するよう説明した。また、各種研究倫理指針に該当する項目はなく、倫理面への配慮は特段必要としなかった。

C．研究結果

1）ケーススタディの実施

ガイドライン第二章二に記載されたケーススタディを実施した。その結果、概ね二時間半強で全ての設問を解答することが可能であることが明らかになった。また、設問を整理することで二時間以内の講習で実施可能であることが示された。

また、広域事例ではない事例を基礎的な学習のためにガイドラインへ収録することも検討課題として提起された。

2）実際の広域事例とガイドラインに従った調査手法の比較検討

インジェクション肉を原因食材とする腸管出血性大腸菌 O26 の広域散発事例にケーススタディを適用し、調査シミュレーションを実施した。

現在のガイドラインでは、広域食中毒が疑われる事例が探知された際にどの自治体がヘッドクォーター（HQ）として機能するかの指針が示されておらず、事例が解決に進まない可能性がある。そのため、

・第一選択肢として、本社を有する自治体が HQ として情報の集約に努め、セントラルキッチンを有する自治体が集約にあたることも検討する。第二選択肢として、患者発生の多い自治体が情報の集約に努める。

・これらの自治体において情報集約が困難な場合は、早期に厚労省に対して情報集約の依頼を行うこととする。なお、厚労省が HQ として情報収集に当たる場合でも自治体の積極性を尊重する。

・HQ は関係自治体および厚生労働省に適宜集約された情報をフィードバックすることを明記する。

・探知から事件化に当たっては、疑い事例の時点で本社のある自治体に情報提供を行う。また、厚労省にも早めに情報提供を行うこととする。

・レストラン共通メニューの他に、各店舗の独自メニューの調査に注意することを明記する。

・HQ が関係各自治体からの疫学調査やNESID登録情報などを集約し、ラインリスト、エピカーブを作製することを明記する。また、HQ から関係各自治体へ情報提供を依頼し、この際、感染研疫学センターが作製のためのコンサルテーションに加わることが可能であることを記す。

・NESID情報からのエピカーブ作製などをコラムとして追加する。

・ガイドライン中の初期対応として最低限実施することを明記する。

以上のような改訂を行うことが有効であることが検討から示唆された。

3）インターネット上の公開

NESFDおよび地方衛生研究所ネットワークホームページにガイドライン(2013年度版)を掲載した。

4）自治体の担当者から活用における意見の収集

ガイドラインに基づく関係機関要員のトレーニング方法について、地方自治体の感染症発生動向調査事業担当者、検査担当者、食品監視員らと、探索的研究手法として非構造化面接による問題点の洗い出しを行った。その結果、現場経験の長い食品監視員の調査手法、現場での体験をストーリーとしてガイドラインに盛り込むことが、具体例として重要ではないかとの仮説を得た。

5）海外知見の情報収集

海外知見に関しては、台湾CDCと食中毒サーベイランスを中心に情報交換を行ったほか、台北で開催された、Symposium on Foodborne Diseaseに出席することで、台湾、米国、韓国の情報収集を行った。また、わが国の取り組みとしてガイドラインに従った広域食中毒対応について説明を行った。

6）ケーススタディに基づくアンケート調査

自治体における研修にてガイドライン収載のケーススタディを実施した。アンケートの集計結果(n=28)からは、難易度として、リスク評価は比較的難しいとする傾向（9名が「難しい」と「簡単」の中間、15 名が中間よりも「難しい」と回答）が示されたが、広域アウトブレイクの探知、症例定義（時・場所・人）の作成、記述疫学（流行曲線）と解析疫学（症例対照研究）の実施についてはおおむね適正な難易度であることが示された。実施時間については全ての学習項目において、適当な時間とする回答が多数を占め、有効性については役立つとの回答が多数を占めた。また、ガイドラインの周知については、24 名がガイドラインを知らなかったと回答しており、周知が検討課題として提起された。

7）実際の広域事例調査経験に基づいた疫学調査教材の作成

平成27年4月25日、かながわ疫学勉強会での神奈川県厚木保健福祉事務所大和センター食品衛生課の食品衛生監視員、赤堀正光氏の講演を動画として記録し、編集を行った。

8）感染症疫学調査研修での事前アンケート

自治体での活用を図るために、感染症疫学調査研修で事前アンケートを行い、回答を得た(n=15)。その結果、解析疫学、リスク評価、提言は難易度として難しいとする傾向が示された。また、症例定義、記述疫学、解析疫学、リスク評価、提言のいずれにおいてもその実施する意義は高いとする傾向が得られた。広域アウトブレイクについては 11 例で

知っているとの回答であったが、14 例でガイドラインを知らなかったとの回答であり、ガイドラインの周知が検討課題として提起された。

９）ガイドラインの改訂

以上の結果をもってガイドラインを改訂した。現場での利用を念頭に、広域散発事例として探知した場合の連携については２）の研究結果を踏まえて、

・疫学調査におけるヘッドクォーター(HQ)の第一選択肢として、本社を有する自治体がHQ として情報の集約に努め、セントラルキッチンを有する自治体が集約にあたることも検討すること。第二選択肢として、患者発生の多い自治体が情報の集約に努めること。

・これらの自治体において情報集約が困難な場合は、早期に厚労省に対して情報集約の依頼を行うこととすること。なお、厚労省がHQ として情報収集に当たる場合でも自治体の積極性を尊重すること。

・HQ は関係自治体および厚生労働省に適宜集約された情報をフィードバックすること。

・探知から事件化に当たっては、疑い事例の時点で本社のある自治体に情報提供を行うこと。また、厚労省にも早めに情報提供を行うこと。

・レストラン共通メニューの他に、各店舗の独自メニューの調査に注意すること。

・HQ が関係各自治体からの疫学調査やNESID 登録情報などを集約し、ラインリスト、エピカーブを作製すること。また、HQ から関係各自治体へ情報提供を依頼し、この際、感染研疫学センターが作製のためのコンサルテーションに加わることが可能であること。

・ガイドライン中の初期対応は最低限実施するべきであることの注意喚起。

などの改訂・追記を行った。

また、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、神奈川県大和保健福祉事務所赤堀氏、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７）について、配布方法を検討した。その結果、動画教材はDVD として自治体担当部局へ送付することとした。

これらの方針に基づき、ガイドラインの改訂及びDVD の編集を行い、印刷・プレス、発送を行った。

Ｄ．考察

広域事例は、その探知において、各保健所管区内では散発例として捉えられるに留まることがあり、結果的に食中毒として事件化されない可能性がある。そのため、広域事例を的確に探知するためには、散発例が広域事例の一端である可能性を常に念頭におくような、調査における意識改革が重要となる。また、広域事例は複数の自治体に調査がまたがるため、自治体間・自治体内部署で協力して調査を進めていくための共通認識・体制作りが重要となる。

本ガイドラインは、３年間の研究期間における検討、ケーススタディの実施、アンケートに基づく改善を経て、広域事例における疫学調査の手法、ケーススタディ、過去の広域事例、起因病原体をまとめたパッケージとして提供している。このパッケージは、基本的な科学的調査手法の確認と徹底、また、組織間連携についての基本的考え方、事例やケーススタディを通しての模擬体験を通し、広域事例を視野に、俯瞰的観点から疫学調査の実施を意識することを身につけることに読者が気付き、実践されることを期待するものである。また、広域事例の組織間連携においても共通認識が成り立ち、スムーズな連携が行えるようになることを期待している。

しかし、広域事例は様々な要素が複雑に関係している。病原体の種類により潜伏期等が異なり、探知の状況によっても、時間的・空間的集積の程度は様々であり、柔軟で綿密な調査が求められる。また、調査に当たる組織の体制の違いも、各々の事例における調査遂行における特徴となり、情報共有や検体搬送・検査などの様々な要素が調査上の困難さ、あるいは調査進展の容易さに関わる要因として影響してくる。そのため、ある一つの決まった方法や手続きに従って実施すれば必ず上手く原因究明に結び付くという性質ではない。そのため、本ガイドラインにおいては広域事例に普遍的に見られる特徴に基づいた調査項目や、散発事例を探知するために求められる調査ポイントは押さえることを目指したが、必ずしも本ガイドラインの記載事項のみで対応できる事例は稀であると考える。むしろ、本ガイドラインは広域事例に対する調査者の感度を高め、効果的な対応を事前に知り、模擬的に体験することを目指しており、画一的な方法論を示す性質のものではないことを強調したい。

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。

なお、ガイドラインの認知度がアンケートの結果低い点が明らかとなったことも課題として挙げられる。これについては、今回各自治体等および保健所に送付することで一定の周知を図れると期待される。

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収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。

Ｅ．結論

ガイドラインの現場での活用方法について検討し、ガイドラインを改訂の上、最終的に印刷媒体として各自治体の担当部局、および、広域事例調査に携わる保健所に送付した。また、食中毒調査に関する動画教材について配布方法を検討し、DVD として発送することとした。今後、動画教材によって食中毒調査の意識が高まることが期待される。また、ガイドラインで記述した科学的根拠に基づく疫学調査により共通食材の探知、遡り調査に、分子疫学的調査の結果を加味した検討がひろく一般になされるようになることで、広域散発事例が速やかに探知されることが期待される。

Ｆ．健康危険情報

該当なし

Ｇ．研究発表

1.　論文発表

該当なし

2.　学会発表

該当なし

Ｈ．知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

平成27年度厚生労働科学研究費・食品の安全確保推進研究事業「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」
2015/07/03　群馬県　　国立感染症研究所感染症疫学センター　FAX　03-5285-1191

ケーススタディについてのアンケート

ケーススタディに参加頂きありがとうございます。今後の改善のため、以下のご質問への回答にご協力をお願い致します。質問の答えに該当する数字に○をつけて下さい。

1　広域アウトブレイクの探知　（問１、問４）

Q1　難易度　（１難しい ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５簡単 ）
Q2　実施時間　（１短い ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５長い ）
Q3　有効性　（１役立つ ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５役立たない ）

2　症例定義（時・場所・人）の作成　（問３）

Q4　難易度　（１難しい ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５簡単 ）
Q5　実施時間　（１短い ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５長い ）
Q6　有効性　（１役立つ ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５役立たない ）

3　記述疫学（流行曲線）と解析疫学（症例対照研究）の実施　（問６、問７）

Q7　難易度　（１難しい ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５簡単 ）
Q8　実施時間　（１短い ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５長い ）
Q9　有効性　（１役立つ ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５役立たない ）

4　リスク評価（重篤度、アウトブレイクの状況、介入）　（問２、問５、問８、問９）

Q10　難易度　（１難しい ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５簡単 ）
Q11　実施時間　（１短い ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５長い ）
Q12　有効性　（１役立つ ―― ２ ―― ３ ―― ４ ―― ５役立たない ）

Q13 全体を通してのご意見、感想、要望など

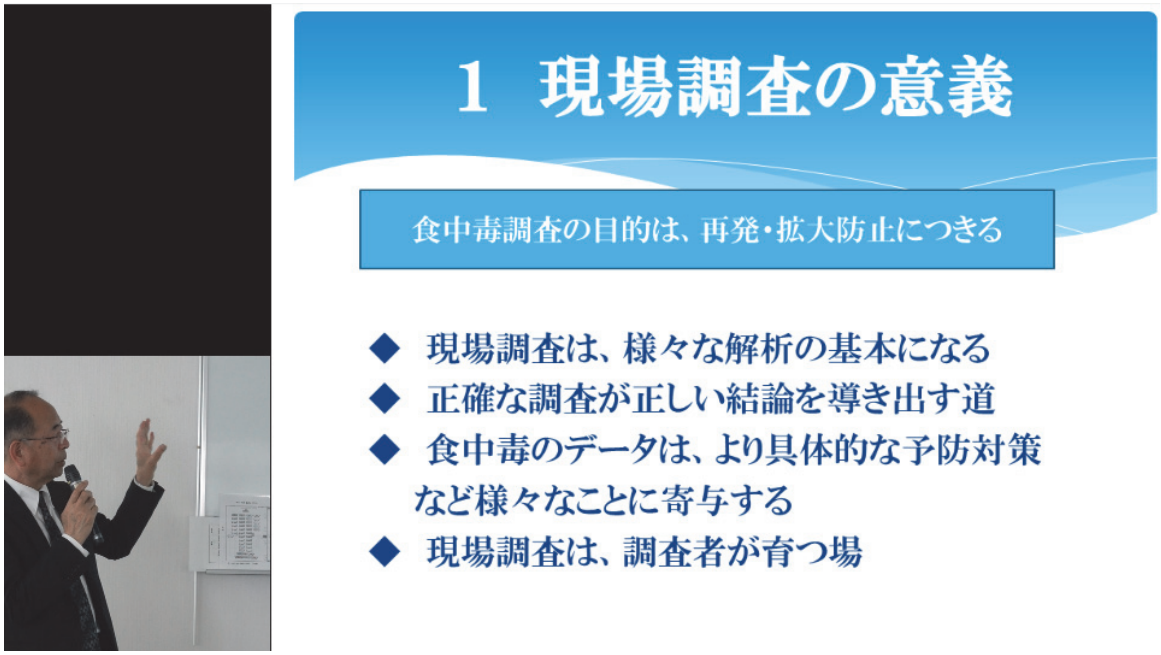
Q14 本ケーススタディは「広域食中毒疫学調査ガイドライン」に収載されています。
「広域食中毒疫学調査ガイドライン」をご存じでしたか？（ １知っていた　２知らなかった ）

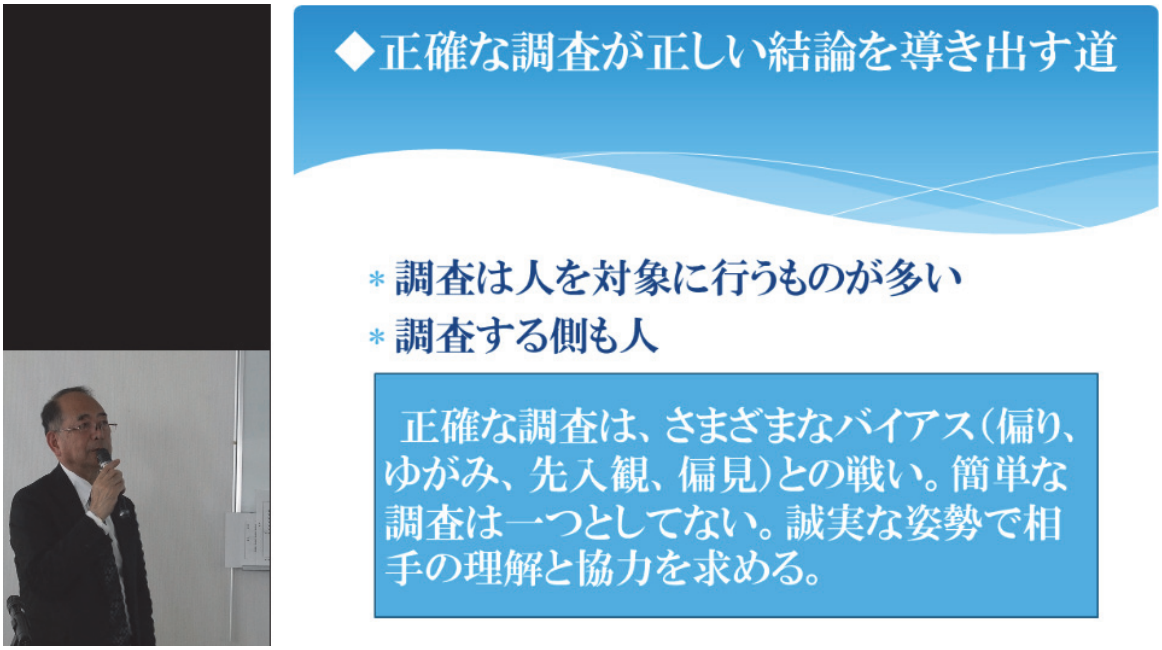
Q15　あなたの職種は？　（１　獣医師　２　薬剤師　３　保健師　４　臨床検査技師
５　放射線技師　６　その他（＿＿＿＿＿＿＿＿）　）

本アンケートの集計結果は研究班報告書に掲載されることがあります。ご了承下さい。
ご協力、どうもありがとうございました。

回答	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10	Q11	Q12	Q13	Q14	Q15
1	1	0	11	2	1	14	7	1	11	4	2	13		4	1
2	7	4	12	9	4	11	7	8	12	11	4	11		24	10
3	14	20	4	14	22	3	10	18	4	9	20	4			6
4	5	3	1	3	1	0	4	1	1	4	2	0			2
5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			9
6															0
7															0
未回答	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0
合計	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28		28	28

実際の広域事例調査経験に基づいた疫学調査教材の作成





感染症疫学調査研修での事前アンケート

平成 27 年度厚生労働科学研究費・食品の安全確保推進研究事業「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」
研究協力者 杉下由行（中央区保健所） 分担研究者 高橋琢理（国立感染症研究所）
感染症疫学調査研修会 茨城県教育研修センター 平成 28 年 2 月 1 日

感染症疫学調査についての事前アンケート

以下のご質問への回答にご協力をお願い致します。質問の答えに該当する数字に○をつけて下さい。

1 症例定義（時・場所・人）

Q1 作 成 （ 1できる ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5できない ）
Q2 難易度 （ 1難しい ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5簡単 ）
Q3 意 義 （ 1あ る ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5な い ）

2 記述疫学（流行曲線・地図上プロット・属性別グラフ）

Q4 実 施 （ 1できる ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5できない ）
Q5 難易度 （ 1難しい ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5簡単 ）
Q6 意 義 （ 1あ る ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5な い ）

3 解析疫学（症例対照研究・後ろ向きコホート研究）

Q7 実 施 （ 1できる ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5できない ）
Q8 難易度 （ 1難しい ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5簡単 ）
Q9 意 義 （ 1あ る ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5な い ）

4 リスク評価（重篤度、アウトブレイクの状況、介入後）

Q10 実 施 （ 1できる ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5できない ）
Q11 難易度 （ 1難しい ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5簡単 ）
Q12 意 義 （ 1あ る ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5な い ）

5 提言（感染拡大防止・予防）

Q13 実 施 （ 1できる ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5できない ）
Q14 難易度 （ 1難しい ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5簡単 ）
Q15 意 義 （ 1あ る ―― 2 ―― 3 ―― 4 ―― 5な い ）

Q16 広域アウトブレイク（広域散発発生）についてご存じですか？（ 1知っている 2知らない ）

Q17 「広域食中毒疫学調査ガイドライン」をご存じですか？（ 1知っている 2知らない ）
↳ 裏面参照

Q18 あなたの職種は？ （1 獣医師 2 薬剤師 3 保健師 4 臨床検査技師
5 放射線技師 6 その他（＿＿＿＿＿＿＿＿） ）

Q19 あなたの職層は？ （1 1･2 級職 2 主任 3 係長級 4 課長級
5 部長級 6 その他（＿＿＿＿＿＿＿＿） ）

本アンケートの集計結果は研究班報告書に掲載されることがあります。ご了承下さい。
ご協力、どうもありがとうございました。

回答	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10	Q11	Q12	Q13	Q14	Q15	Q16	Q17	Q18	Q19
1	4	0	10	3	0	11	0	3	9	2	3	11	3	1	11	11	1	0	4
2	6	7	3	6	6	1	3	6	4	4	2	2	6	6	2	4	14	0	1
3	4	5	2	5	7	3	11	6	2	7	8	1	6	7	2			10	7
4	1	2	0	1	2	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0			2	0
5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			0	1
6																		3	2
7																			
未回答	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
合計	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

平成 26－28 年度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）
総合分担研究報告書

食品媒介感染症被害実態の推定

（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、全国における食品への異物混入被害実態の把握）

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第二室長
研究協力者	桜井芳明	宮城県医師会健康センター所長
	小松真由美	宮城県医師会健康センター検査部検査科二科長
	柳沢英二	株式会社ミロクメディカルラボラトリー
	玉井清子	株式会社ミロクメディカルラボラトリー
	坂上武文	株式会社ミロクメディカルラボラトリー
	滝　将太	株式会社ミロクメディカルラボラトリー
	霜島正浩	株式会社ビー・エム・エル
	山下知成	株式会社 LSI メディエンス
	渋谷俊介	株式会社 LSI メディエンス
	熊谷優子	国立感染症研究所国際協力室長
	齊藤剛仁	国立感染症研究所感染症疫学センター
	今川正紀	さいたま市保健福祉局保健部食品・医薬品安全課長
	中地佐知江	さいたま市保健福祉局保健部食品・医薬品安全課
	溝口嘉範	岡山市保健福祉局保健管理課
	春日文子	国立環境研究所特任フェロー
	天沼　宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
	田村　克	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨：

１．【食品由来感染症患者数の推定】

食中毒として報告されない散発発症患者を含めた胃腸炎疾患の患者数を推定するため、宮城県の臨床検査機関の協力により、医療機関から検査依頼された下痢症検便検体からの病原菌検出数に関するアクティブ（積極的）サーベイランスを 2005 年から継続して行っている。本年度はまず宮城県における 2005～2015 年の病原菌検出状況の詳細解析および被害実態の推定を行った。臨床検査機関を対象としたアクティブサーベイランスのデータを用い、検査機関の住民カバー率、および宮城県で以前に行った夏期および冬期の 2 回の電話住民調査の結果から求めた検

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下痢症患者数の推定を行なった。これらの推定値から、全国での当該菌による食品由来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下痢症患者の数を推定した。2011 年からはさらに全国を対象とした民間検査機関 3 社から全国についての病原菌検出数データを収集している。3 年間のアクティブサーベイランスを継続するとともに、全国を対象とした電話住民調査を H26 夏と H28 夏に実施し、最新の下痢症発生率、医療機関受診率および検便検査実施率を把握するとともに、過去に実施した冬季の全国を対象とした電話住民調査結果と組み合わせることで推定精度の向上を試みた。2006～2015 年の 10 年間のアクティブサーベイランスデータから全国における食品由来下痢症患者数の推定を行い、宮城県データからの全国推定値と比較した。また H28 年度は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。

２．【異物混入被害実態の把握】

近年の食品中の異物混入事例に関する報道が数多く見られるように、消費者の異物混入に対する関心はこれまでになく高まっている。日本全国での状況を明確に把握できるような情報は少なく、特に健康被害を及ぼすと考えられる硬質異物についての状況の全容を示すデータは限られている。今後、各事業者が HACCP による衛生管理の取組みを進める際に、食品中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ことが考えられる。そこで本研究では各都道府県、保健所設置市、特別区、全 142 自治体における異物混入の苦情処理を行った事例を集め、異物混入事例の全容、食品や混入異物の種類、食品への異物混入においてリスクの高い組み合わせや混入工程等を把握し、それらの HACCP 指導に役立つ基礎データとすることを目的とした。

Ａ．研究目的

１．【食品由来感染症患者数の推定】

我が国では食品由来感染症の患者数は食品衛生法および感染症法にもとづいて報告されている。散発事例は食中毒事例として報告されない場合が多く、そのため食中毒統計等だけでは食品由来感染症・下痢症の患者数が正確に把握されていないことが示唆される。特に最近では広域散発事例による被害も報告されており、食品衛生行政における対策等の検討のためには、それらの事例も含めた被害実態の全容を把握するこ

とが重要と考えられる。

米国では1995年以降、FoodNet（フードネット）というアクティブ（積極的）サーベイランスシステムが導入され、食品衛生の各種対策及びその効果を検討するために食品由来感染症の実患者数の把握を継続して行なっている。FoodNet は全米 10 州の定点検査機関から病原体検出データを集約して分析している。さらに電話住民調査や検査機関調査等を継続して行い、各推定段階に必要なデータを得ることで全体推定を行なっている。このシステムで得られた推定結果は患者数の多年度にわたる変動の把握や各種行政施策の効果を検討する等、食品衛生行政に活用されている。

日本においても患者数の全容把握のために同様のシステムが必要と考えられるが、これまでに日本にはこうしたシステムが設置されてこなかった。下痢症の発生動向や実態把握のための基礎データを蓄積することは、食中毒行政における食中毒対策立案、その効果の評価および各種リスク評価等にきわめて重要と考えられる。こうしたことをふまえ、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すると同時に、そのようなシステムを日本に導入する際に検討すべき特徴の把握を行ってきた。

２.【異物混入被害実態の把握】

近年、食品の異物混入事例に関する報道が数多く見られるように、消費者の異物混入に対する関心はこれまでになく高まっている。実際にそれらの喫食による健康被害も報告されているにもかかわらず、食品における異物混入被害実態は、各自治体レベルでの報告はあるものの日本全国での状況を明確に把握できるような情報は少ない。特に食品に混入する異物のうち硬質異物については、材質、形状等によっては健康被害を発生する危害要因とされているが、やはり全国での状況の全容を示すデータは限られている。

厚生労働省では現在、HACCP の制度化に向けた議論が行われている。今後、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を集めることで、異物混入事例の全容、食品や混入異物の種類、食品への異物混入においてリスクの高い組み合わせや混入工程等を把握し、それらの低減対策指導に役立つ基礎データとすることを目的とした。

Ｂ．研究方法

１.【食品由来感染症患者数の推定】

１．データ収集

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に協力を依頼し、その機関からのデータ収集を継続して行っている。また 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。

宮城県の有症者の医療機関受診率および受診者の検便実施率は、同県において以前に行った電話住民調査の結果より推定された値を用いた。季節変動を考慮して冬期（2006 年）だけでなく夏期（2007 年）にも電話住民調査を行い、冬期の結果と比較検討の上、統合したデータから検便実施率および医療機関受診率を確率分布に当てはめて推定した。

１－１．宮城県の臨床検査機関からの同県のデータの収集

〇協力検査機関

・宮城県医師会健康センター

・宮城県塩釜医師会臨床検査センター

これら 2 機関での検便結果を集計した。

１－２．民間検査機関からの全国のデータの収集

〇協力検査機関

・株式会社ミロクメディカルラボラトリー

・株式会社ビー・エム・エル

・株式会社 LSI メディエンス

これら 3 社での全国を対象とした検便の結果を集計した。

１－３．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

全国および宮城県を対象とした急性下痢症に関する冬期電話住民調査（2009 年 12 月 5 日～12 月 24 日、約 1 万 8 千人（全国約 1 万 2000 人、宮城県約 6,000 人））、全国を対象とした 2 回の夏期電話住民調査（2014 年 7 月 11 日～8 月 3 日、全国約 1 万 3 千人を対象、2016 年 7 月 22 日～8 月 23 日、全国約 2 万 3 千人を対象）、宮城県を対象とした急性下痢症に関する冬期電話住民調査（2006 年 11 月 22 日～12 月 4 日、約 1 万人）および夏期電話住民調査（2007 年 7 月 14 日～7 月 27 日、約 1 万 2 千人）が行われ（表 1）、その結果の一部は適宜報告されているが、ここでは以下に概略を示しておく。

電話調査は全て共通の質問票および手順にて行った。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。調査時点から過去 1 カ月以内に血便、24 時間以内に 3 回以上の下痢、もしくは嘔吐があったという有症者条件を満たし、かつ慢性胃腸疾患、飲酒、投薬、妊娠等の除外条件がなかった人を有症者とした。

１－４．厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）のデータ

統計法 32 条に基づく目的外利用申請により、2008 年から 2015 年の厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS)・検査部門情報及び医療機関情報の一部を入手した。JANIS は平成 12 年 7 月に開始され、参加医療機関における院内感染の発生状況や、薬剤耐性菌の分離状況および薬剤耐性菌による感染症の発生状況を調査し、我が国の院内感染の概況を把握し医療現場への院内感染対策に有用な情報の還元等を行うことを目的としている。

Campylobacter、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus*、腸管出血性大腸菌（EHEC）による下痢症患者の症例定義は、糞便検体から、*Campylobacter*、*Salmonella*、

Vibrio parahaemolyticu、腸管出血性大腸菌（EHEC）が分離された患者とし、各年（2008年から2015年）で症例定義に合致する症例をSPSS Statistics Base Version 23（IBM社）を用いて抽出した。

２．データ集計・解析

検査機関からの病原菌検出データおよび電話調査からのデータはMicrosoft Excelを利用してコンピューターファイルに入力した。検査機関データの個人情報は提供された時点で既に切り離されており、提供データから個人を特定することはできない。電話調査データは人数だけのデータであり個人情報は含まれていない。電話調査データは全国または地域の年齢人口分布にもとづき補正し、集計後に確率分布として推定モデルに導入した。モデルは@RISKソフトウェア（Palaside社）上にて作成し、1万回の試行を行った。

３．宮城県における食品由来下痢症患者数の推定

宮城県における菌種ごとの食品由来下痢症疾患被害推定のために、上記検査機関のデータから*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus*の3菌の検出数を抽出した。協力検査機関ではこれら3菌に関しては、全ての検体で検査を行なっている。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、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2機関あわせて52%と推定した。

検査機関菌検出データは2015年1～12月の新規データと2005年1月～2014年12月までの10年分の既集計データを用いた。

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。さらに米国における研究（P. Mead et al., 1999）で、食品由来感染の割合を*Campylobacter*は80%、*Salmonella*は95%、*Vibrio parahaemolyticus*は65%であるとそれぞれ推定していることから、これらの値を用いて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。

４．宮城県についての推定結果から全国における食品由来下痢症患者数の推定

宮城県についての推定値より、全国での当該菌による食品由来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下痢症患者数を推定した。このために総務省統計局のWebページに掲載されている人口統計データ（2010年）を用いた。

５．全国についての検出数データから全国での食品由来下痢症患者数の推定

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、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、*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus*の3菌の検出数を抽出し、菌ごとに年間の検出数を求めた。これに対し、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。

2010～2015 年については 3 社（ミロクメディカルラボラトリー、ビー・エム・エル、LSI メディエンス）、2009 年については 2 社（ビー・エム・エル、LSI メディエンス）、2006～2008 年については 1 社（ビー・エム・エル）の検出数データを使用した。

各検査機関の住民カバー率は、各検査機関の腸管出血性大腸菌（EHEC）（2009 年および 2010 年の LSI メディエンス）もしくは EHEC O157（ミロクメディカルラボラトリー、ビー・エム・エル、2011 年以降の LSI メディエンス）の検出数を厚生労働省への全国届出数と比較することによりそれぞれの年度ごとに推定した（表５）。

検便実施率および医療機関受診率としては、全国を対象として夏期に 2 回実施された電話住民調査（2014 年 7～8 月、2016 年 7～8 月）および冬期に実施された電話住民調査（2009 年 12 月）のデータを統合し、その解析により得られた各推定値（図 1、２）を用いた。

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。

６．JANIS データから全国での食品由来下痢症患者数の推定

JANIS データから抽出した症例数に対し、JANIS へのデータ提出医療機関の住民カバー率による補正を行い、その結果を下痢症患者の医療機関受診率および医療機関における受診者の検便実施率の推定値とともに推定モデルに導入することにより各菌による推定患者数を算出した。

JANIS データの住民カバー率の推定には JANIS への 2008～2015 年の EHEC 報告数と国立感染症研究所病原微生物検出情報（IASR）に記載された全国の EHEC 有症者数から、それぞれの年のカバー率の推定を行った。

医療機関の検査部門もしくは外部委託検査機関等での陽性検体からの菌検出率は 100%であると仮定した。　さらに他の推定手法と同様、Mead らの推定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。

２．【異物混入被害実態の把握】

１．データ収集

各都道府県、保健所設置市、特別区など、全 142 自治体へご協力をお願いし、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。平成 26 年度、平成 27 年度は 1 年分（4～翌年 3 月）、平成 28 年度に関しては 4～11 月の報告数の集計をお願いした。①上記約 3 年間において、調査対象期間中に苦情処理を行った事案について、年度毎に調査票 1 の様式に従い食品分類別および異物分類別の件数を記入してもらった。各事案のうち製造、加工、調理現場における混入が判明（可能性が高いものを含む）しているものについてはカッコ内に件数を記入してもらった。②さらに、上記①のうちで製造、加工、調理現場における混入が判明（可能性が高いものを含む）している事案について、そのうち A.硬質異物の混入事

例、B.健康被害のあった事例、C. 報道等で大きく話題になった事例や興味深い事例について、食品名、異物の内容、健康被害の有無、混入が起きた製造工程などを調査票2の様式に従い記入してもらった。

２．データ集計・解析

送付されたデータは全てMicrosoft Excelのファイルに統合、入力を行い、各種集計や解析を行った。調査表１をもとに、食品への異物混入被害の苦情受付の概要を集計し、異物分類毎、食品分類毎の件数や割合を集計した。さらに食品分類毎の混入異物の内訳を集計した。調査票２から硬質異物混入事例および有症事例を集計した。食品分類、異物分類は調査票１の分類に従って行った。調査票１の場合と同様、異物分類毎、食品分類毎の件数や割合、食品毎の混入異物の内訳を集計した。また混入異物の大きさに関しても集計を行い、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も行った。

Ｃ．研究結果

１．【食品由来感染症患者数の推定】

２−１．宮城県でのアクティブサーベイランスデータからの食品由来下痢症疾患実患者数の推定

Campylobacter、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus*の３菌に関して、食品由来下痢症疾患の実患者数推定の試みを図３の考え方に沿って実施した。

２−１−１．宮城県における年間検出数の推定

宮城県における食品由来下痢症の実患者数の把握に向けて、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の菌検出データをもとに推定を行った（表２）。

２−１−２．宮城県での有症者の医療機関受診率の推定

今回用いた推定値は、2006年と2007年の２回の電話住民調査の結果にもとづいて既に得られているものである。以下に当該電話住民調査の結果について説明する。

宮城県における電話住民調査では 2006年冬期2,126件、2007年夏期2,121件の有効回答が得られた（有効回答率はそれぞれ21.2%、17.7%）。下痢症疾患の有病率は冬期が3.3%（70／2,126人）、夏期が3.5%（74／2,121人）であった（表１）。

冬期調査では有症者数は70人、医療機関受診者数は27人であり、夏期調査では有症者数は74人、医療機関受診者数は23人であった（表１）。これらのデータを宮城県の人口年齢分布で補正した後に統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入した結果、医療機関受診率の平均値は 32.0%であった。

２−１−３．宮城県での医療機関受診者の検便実施率の推定

今回用いた推定値は、2006、2007年の２回の電話住民調査の結果にもとづいて既に得られているものである。

上記電話住民調査において、冬期調査では下痢症による医療機関受診者数は27人、検便実施者数は４人、夏期調査では医療機関受診者数は23人、検便実施者数は２人であった（表１）。これらのデータを人口年齢

分布で補正した後に統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入したところ、検便実施率の平均値は10.9%であった。

２−１−４．宮城県における下痢症疾患による実患者数の推定

上記で検討した種々の係数を用いて推定した宮城県における下痢症疾患による実患者数の平均値を表２に示した。

２−１−５．宮城県における食品由来下痢症実患者数の推定とその食中毒患者報告数との比較

上記で推定された下痢症患者数にはヒト−ヒト感染、動物との接触感染等、食品由来でないものを原因とする被害が多く含まれており、食品由来感染の患者数の把握には更なる推定が必要である。米国の Mead らの研究では菌種ごとに食品由来感染の割合を *Campylobacter* は 80%、*Salmonella* は 95%、*Vibrio parahaemolyticus* は 65%と推定しており、ここではこれらの値を用いて食品由来下痢症患者数の推定を行った。その結果を表２に示した。2007 年の *Vibrio parahaemolyticus* 食中毒患者報告数 627 人のうち 620 人は１件のアウトブレイクの患者であり、宮城県を含む東日本１都７県の患者を、原因食品の製造事業所の所在地であった宮城県がとりまとめて報告したものである。2007 年に宮城県内で発生した *Vibrio parahaemolyticus* 患者の報告数は、当該アウトブレイク患者のうち宮城県外の 610 名を除外した 10 人とそれ以外の７人の合計 17 人であった。

２−１−６．全国を対象とした 2016 年夏、2014 年夏および 2009 年冬の電話住民調査の結果の概要

2016 年夏、2014 年夏および 2009 年冬に全国を対象に行われた電話住民調査の結果について以下に記載する（表１）。

2016 年 7 月 22 日〜8 月 23 日、2014 年 7 月 11 日〜8 月 3 日、2009 年 12 月 5 日〜12 月 24 日のそれぞれ約 3 週間に全国約 2 万 3 千人、約 1 万 3 千人、約 1 万 2 千人を対象として下痢症に関する電話住民調査が行われた。有効回答率は 2016 年調査が 13.3%（3,020 件）、2014 年調査が 15.2%（2,039 件）、2009 年調査が 16.9%（2,077 件）であった。

下痢症有症者数はそれぞれ 96 人（2016）、90 人（2014）、77 人（2009）で、従って下痢症有病率はそれぞれ 3.2%、4.4%、3.7%であった。

２−１−７．宮城県についての推定値を用いた全国の食品由来下痢症患者数の推定およびその全国の食中毒患者報告数との比較

上述するように、宮城県における 2006、2007 年の電話住民調査と、2009、2014、2016 年の全国における電話住民調査とで下痢症有病率が全国の方が宮城県より概ね高い結果が得られた（表１）ことから、宮城県の推定値から人口比で全国の推定値を算出しても過大推定にはならないと考えられた。そこで、宮城県における推定食品由来患者数（表２）に、宮城県と全国の人口比を乗ずることで全国推定を行った（表５）。

２−２．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品由来下痢症疾患実患者数の推定

２−２−１．各検査機関の住民カバー率の推定

全国の食品由来下痢症の実患者数把握に向けて、民間検査機関 3 社の菌検出データをもとに推定を行った。

本年度もこれまで EHEC 検出数で推定を行っていた検査機関も可能な限り EHEC O157 検出数を使用した推定とした。LSI メディエンスの 2009 年および 2010 年のデータについては、EHEC O157 の検出数データが得られなかったためこれらの年のカバー率は EHEC の検出数に依った。

２−２−２．全国における年間菌検出数の推定

民間検査機関における菌検出数表３に示した。これらの検出数と各社の推定カバー率の合計を用いて、全国における年間菌検出数を推定した。その推定結果を表３に示した。

２−２−３．全国における食品由来下痢症疾患の実患者数の推定

全国を対象とした下痢症に関する電話住民調査は 2009 年冬と 2014 年夏の２回行われている。本年度は 2016 年夏の全国を対象とした電話調査を行った（表１）。そこでこれらのデータを全国の人口年齢分布で補正後、統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入し、全国の医療機関受診率および検便実施率を推定した。その結果、全国の医療機関受診率は 25.5%、全国の検便実施率は 4.8%とそれぞれ推定された（図１、２）。これらを用いて、全国における下痢症疾患の実患者数を推定した。

推定された 3 菌の実患者数の平均値は推定結果を表３に示した。

２−３．JANIS データからの全国の食品由来下痢症疾患実患者数の推定

２−３−１．EHEC 報告数によるカバー率の推定

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。

２−３−２． EHEC 報告数により推定したカバー率を用いた全国の医療機関における年間菌検出数の推定

Campylobacter、*Salmonella*、*Vibrio para haemolyticus* の 3 菌の各年の JANIS 検出数を各年の推定カバー率で除することで全国の年間検出数を推定した。その結果を表４に示した。

２−３−３．JANIS データからの食品由来下痢症疾患の実患者数の推定

2009 年冬、2014 年夏、2016 年夏の全国を対象とした下痢症に関する電話住民調査結果から全国の下痢症患者の医療機関受診率の平均値は 25.5%、受診者の検便実施率の平均値は 4.8%とそれぞれ推定された（図１、図２）。

全国における下痢症疾患の実患者数、食品由来実患者数の平均値を表４に示した。

２−４．各データからの推定結果と相互比較

宮城県データからの推定では全国レベルで、*Campylobacter* では約 370〜680 倍、

Salmonella では約 25～330 倍、*Vibrio parahaemolyticus* では約 40～200 倍の患者が存在している可能性が考えられた（表５）。また、11 年間の各菌の推定患者数と報告患者数の経年変化は *Vibrio parahaemolyticus* の場合を除いて互いに連動しているとは言えず、食中毒統計の報告数だけで実患者数の変動を把握することは難しいことが示唆された。

10 年間（2006～2015 年）の全国レベルのアクティブサーベイランスデータから同様に上記 3 菌に起因する全国の食品由来下痢症実患者数を推定し全国の食中毒患者報告数と比較したところ、*Campylobacter* では約 3,000～5,600 倍、*Salmonella* では約 580～3,000 倍、*Vibrio parahaemolyticus* では約 220～1,800 倍の患者が存在している可能性が示された（表５）。宮城県データからの全国推定と比較した場合は 5.6～19 倍程度の違いであった。宮城県データからの推定の場合と同様、2015 年は全国データから推定した *Salmonella* の推定食品由来患者数が 2014 年に比べて大きく変化しておらず、全国の食中毒患者報告数の動向とは連動していなかった。

JANIS データからの推定では 8 年間（2008～2015 年）のデータから同様に上記 3 菌に起因する全国の食品由来下痢症実患者数を推定し全国の食中毒患者報告数と比較したところ、*Campylobacter* では約 2,200～6,400 倍、*Salmonella* では約 580～8,700 倍、*Vibrio parahaemolyticus* では約 310～1,900 倍の患者が存在している可能性が示された（表５）。宮城県データからの全国推定と比較した場合は 6.1～58.8 倍程度、全国データからの推定では 0.6～5.6 倍程度の違いであった。

２．【異物混入被害実態の把握】

１．全国における異物混入被害実態の概要（調査票１総数）

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%）から回答があり、それらのデータをまとめた解析を行った。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（H26 年度 5,255 事例、H27 年度 5,876 事例、H28 年度 3,248 事例。ただし H28 は 11 月まで）、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。H26、H27、H28 の各年度間で異物分類の内訳に大きな違いは見られなかった（図表１）。

次に総数のうち食品分類別の件数を集計したところ、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。異物分類の場合と同様、H26、H27、H28 の各年度間で食品分類の内訳に大きな違いは見られなかった（図表２）。

さらに食品分類別に混入異物の内訳を集計したところ（全て 3 年分の合計）、「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。「水産加工品」で多かったのは「鉱物性異物−金属」（13.5%）、「動物性異物−その他」（10.2%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.2%）であった。「畜産食品」では「鉱物性異物−金属」

（16.0%）、「動物性異物−その他」（11.4%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（7.9%）が多かった。「畜産加工品」では「動物性異物−人毛」（10.4%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（11.6%）が多かった。「農産食品」では「虫−その他の虫」（33.6%）、「虫−虫卵・幼虫・蛹」（11.9%）、「鉱物性異物−金属」（6.1%）が多かった。「農産加工品」では「虫−その他の虫」（16.4%）、「鉱物性異物−金属」（9.8%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（8.4%）、「動物性異物−人毛」（7.6%）が多かった。「菓子類」では「鉱物性異物−金属」（13.0%）、「動物性異物−人毛」（12.7%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.1%）が多かった。「飲料」では「虫−その他の虫」（11.0%）、「虫−ハエ」（7.7%）、「食品の一部」（6.6%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（6.1%）が多かった。「油脂」では「食品の一部」（44.4%）と「動物性異物−人毛」（33.3%）が多かった（図表 3I）。「調理済み食品」では「動物性異物−人毛」（13.5%）、「鉱物性異物−金属」（11.1%）、「合成樹脂類−ビニール」（9.9%）、「虫−その他の虫」（8.4%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（8.2%）が多かった。「惣菜半製品」では「合成樹脂類−ビニール」（12.9%）、「鉱物性異物−金属」（12.9%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（11.6%）、「食品の一部」（11.0%）が多かった。「その他の食品」では「虫−その他の虫」（17.7%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.5%）、「食品の一部」（10.7%）、「動物性異物−人毛」（10.3%）が多かった。

２．全国における異物混入被害実態の概要（調査票１事業所）

全事例（A）14,379 件のうち、事業所での混入が判明した（可能性が高いものを含む）事例（B）は 4,519 件（31.4%）であった（H26 年度 1,674 件、H27 年度 1,841 件、H28 年度 1,004 件。ただし H28 は 11 月まで）。事業所で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。また H26、H27、H28 の各年度間で異物分類の内訳に大きな違いは見られなかった（図表３）。

次に事業所事例（B）の食品分類別の件数を集計したところ、一番多いのは「調理済み食品」（53.2%）であり、ついで「菓子類」（17.2%）、「農産加工品」（8.3%）であった。異物分類の場合と同様、H26、H27、H28 の各年度間で食品分類の内訳に大きな違いは見られなかった（図表４）。

食品分類別に混入異物の内訳を集計したところ（全て 3 年分の合計）、「水産食品」で多かったのは「寄生虫−その他」（24.0%）、「寄生虫−アニサキス」（20.7%）、「鉱物性異物−金属」（13.2%）であった。「水産加工品」で多かったのは「動物性異物−その他」（12.8%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.4%）、「鉱物性異物−金属」（9.8%）、「食品の一部」（9.8%）であった。「畜産食品」では「動物性異物−その他」（17.0%）、「鉱物性異物−金属」（12.9%）、「合成樹脂類−ビニール」（10.2%）が多かった。「畜産加工品」では「食品の一部」（16.3%）、「動物性異物−その他」（15.4%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.6%）が多かった。「農産食品」では「虫−その他の虫」（23.1%）、「虫−虫卵・幼虫・蛹」（10.3%）、「鉱物性異物−金属」

（10.3%）、「植物性異物」（9.0%）が多かった。「農産加工品」では「虫−その他の虫」（14.2%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.4%）、「鉱物性異物−金属」（10.2%）、「食品の一部」（9.1%）が多かった。「菓子類」では「鉱物性異物−金属」（13.4%）、「動物性異物−人毛」（13.4%）、「食品の一部」（13.4%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.7%）が多かった。「飲料」では「虫−ゴキブリ」（12.4%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（9.3%）が多かった。「調理済み食品」では「合成樹脂類−ビニール」（13.1%）、「鉱物性異物−金属」（12.8%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（9.3%）、「食品の一部」（9.2%）が多かった。「惣菜半製品」では、「合成樹脂類−その他樹脂」（18.0%）、「食品の一部」（16.0%）、「動物性異物−人毛」（14.0%）が多かった。「その他の食品」では「虫−その他の虫」（15.1%）、「食品の一部」（11.8%）、「鉱物性異物−金属」（10.9%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（10.1%）が多かった。

３．硬質異物の混入実態（調査票２）

調査票２のデータについて集計・解析を行った。調査票２から硬質と判断される異物が事業所で混入した事例の件数は 1,524 件であった（H26 年度 330 件、H27 年度 750 件、H28 年度 444 件。ただし H28 は 11 月まで）。事業所でのすべての異物混入事例（4,519 件）の 33.7%に相当する。

1,524 件の混入異物の内訳では「鉱物性異物−金属」（40.0%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（23.4%）、「動物性異物−その他」（15.0%）が多かった。また H26、H27、H28 の各年度で異物分類の内訳に大きな違いは見られなかった（図表５）。1,524 件の食品分類別内訳は、一番多いのは「調理済み食品」（54.5%）であり、ついで「菓子類」（17.4%）、「農産加工品」（9.6%）であった。異物分類の場合と同様、H26、H27、H28 の各年度で食品分類の内訳に大きな違いは見られなかった（図表６）。

事業所で硬質異物が混入した事例に関して食品分類別に混入異物の内訳を集計したところ（全て 3 年分の合計）、「水産食品」で多かったのは「鉱物性異物−金属」（55.2%）、「動物性異物−その他」（31.0%）であった。「水産加工品」で多かったのは「動物性異物−その他」（33.3%）、「鉱物性異物−金属」（31.5%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（20.4%）であった。「畜産食品」では「鉱物性異物−金属」（49.2%）、「動物性異物−その他」（30.5%）が多かった。「畜産加工品」では「合成樹脂類−その他樹脂」（29.6%）、「動物性異物−その他」（24.1%）、「鉱物性異物−金属」（18.5%）が多かった。「農産食品」では「合成樹脂類−その他樹脂」（46.2%）、「鉱物性異物−金属」（23.1%）、「植物性異物」（15.4%）が多かった。「農産加工品」では「鉱物性異物−金属」（37.7%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（23.3%）が多かった。「菓子類」では「鉱物性異物−金属」（42.6%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（27.5%）が多かった。「飲料」では「合成樹脂類−その他樹脂」（37.0%）、「鉱物性異物−ガラス」（28.3%）、「鉱物性異物−金属」（21.7%）が多かった。「調理済み食品」では「鉱物性異物−金属」（41.6%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（22.2%）、「動物性異物−その他」（17.8%）が多かった。「惣菜半製品」では「動物性異物−その他」（33.3%）、「鉱物性異物−金属」（27.8%）、「合成樹脂類−その他樹脂」

（27.8%）が多かった。「その他の食品」では「鉱物性異物−金属」（75.0%）が多かった。

４．事業所で硬質異物が混入した製造工程（調査票２）

調査票２から硬質異物がどの製造工程で混入したかを集計した。「製造工程不明」が488件（32.0%）と最も多く（図表７）、その後の解析に影響を与えると考え、これ以降、製造工程に関する解析は「不明」を除いた1,036件で行うこととした。硬質異物混入事例全体としては、異物混入工程として「原材料」（28.2%）、「加熱工程」（19.5%）、「盛り付け」（17.6%）、「その他」（11.9%）、「カット工程」（10.1%）が多かった（図表８）。

さらに食品分類別の混入製造工程の内訳を集計したところ（全て３年分の合計）、「水産食品」で多かったのは「原材料」（75.0%）、と「カット工程」（20.8%）であった。「水産加工品」で多かったのは「原材料」（63.9%）、と「カット工程」（13.9%）であった。「畜産食品」で多かったのはと「カット工程」（44.7%）、「原材料」（39.5%）であった。「畜産加工品」では「原材料」（38.9%）、「盛り付け」（33.3%）が多かった。「農産食品」では「原材料」（57.1%）、「盛り付け」（28.6%）が多かった。「農産加工品」では「原材料」（27.2%）、「加熱工程」（16.3%）、「盛り付け」（13.0%）、「カット工程」（12.0%）が多かった。「菓子類」では「混ぜる工程」（21.2%）、「加熱工程」（21.2%）、「盛り付け」（13.5%）、「原材料」（11.2%）が多かった。「飲料」では「盛り付け」（41.7%）、「混ぜる工程」（22.2%）が多かった。「調理済み食品」では「原材料」（28.6%）、「加熱工程」（25.0%）、「盛り付け」（18.9%）が多かった。「惣菜半製品」では「原材料」（70.0%）、が多かった。「その他の食品」では「盛り付け」（50.0%）、「加熱工程」（33.3%）が多かった。

５．健康被害が報告された事例における異物の種類（調査票２）

硬質異物に限らず健康被害が報告された事例は、事業所における混入事例4,519件中236件であった。それを集計した結果、異物としては「動物性異物−その他」（24.2%）、「鉱物性異物−金属」（20.8%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（19.1%）が突出していた（図表９）。硬質異物に限ると、「動物性異物−その他」（26.6%）、「鉱物性異物−金属」（22.9%）、「合成樹脂類−その他樹脂」（19.6%）であった（図表１０）。

６．硬質異物混入事例における混入異物の大きさ（調査票２）

硬質異物混入事例（1,524件）のうち異物の大きさが報告された825件について集計を行った。異物の大きさは最大辺の長さをその大きさとした。その結果、一番多かったのは10.0〜19.9mm（32.0%）で、次いで0〜9.9mm（29.3%）、20.0〜29.9mm（17.8%）であった（図表１１）。

７．健康被害が報告された事例における異物の詳細（調査票２）

健康被害があった事例として調査票２に報告された236件のうち、硬質異物214件およびそれ以外の異物によるもの22件について異物の詳細を抽出した。その結果、

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」が見られ、硬質ではない異物による健康被害は「ビニール片」、「輪ゴム」、「合成樹脂片（柔らかいもの）」によるものであった（図表１２）。

Ｄ．考察

１．【食品由来感染症患者数の推定】

宮城県の臨床検査機関のデータからの食品由来下痢症疾患実患者数の推定では、2005～2015 年の 11 年間を通じて、推定食品由来下痢症患者数は食中毒統計や病原微生物検出情報での報告数より大幅に多いことが確認された。また推定食品由来下痢症患者数と食中毒患者報告数の経年変化が *Vibrio parahaemolyticus* の場合を除いて互いに連動しているとは言えないことから、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ることが示唆された。

2011 年からは全国を対象としている民間検査機関 3 社（年によって社数は異なる）から 2006 年以降の全国の菌検出データを収集し、これをもとに全国の食品由来下痢症疾患実患者数の推定も行っている。宮城県の場合と同様、2006～2015 年の調査期間を通じて推定食品由来下痢症患者数は食中毒統計や病原微生物検出情報での報告数より大幅に多いことが確認された。

本年度も全国を対象とした民間検査機関 3 社の住民カバー率を EHEC O157 の検出数により算出した。EHEC O157 に関しては全ての検査機関において全検体について検査を行っており、EHEC の検出数と比べてより正確なカバー率の推定が可能であると考えられたためである。2014 年以前についてもできるかぎり EHEC O157 の検出数により住民カバー率を求め、これにより推定患者数を計算した。

全国データからの全国の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（表５）。宮城県と全国とで下痢症疾患有病率に大きな差は認められない（表１）ことから、この違いはそれぞれの推定に用いた検査機関住民カバー率、医療機関受診率、検便実施率などにより生じたと考えられる。住民カバー率の推定の方法は、宮城県の検査機関と全国を対象とする民間検査機関とで異なっている（前者は専門家の意見、後者は EHEC O157 や EHEC の検出数）。また受診率、検便率の推定は、宮城県の場合、2006 年と 2007 年に行われた電話住民調査の結果にもとづいており、これに対し全国の場合は 2009 年、2014 年、2016 年に行われた調査にもとづいている。2006～7 年と 2009～2014 年さらには 2016 年との間に有症者の医療機関受診行動や医師の検便実施行動に変化が起きている可能性も考えられる。

以上のような種々の推定値の全国と宮城県における違いが相乗的に作用して、上述の違いをもたらしている可能性がある。

今回の食品由来下痢症患者数推定において、宮城県の検査機関については専門家からの情報で住民カバー率を推定した。しか

し専門家の情報には不確定な要素が含まれている可能性がある。宮城県の検査機関の住民カバー率の推定に EHEC 検出数による手法を試みたが検出数が少ないためにカバー率の年ごとのばらつきが大きくなり、推定に用いるのは現実的ではないと考えられた。全国を対象とした検査機関の場合は EHEC O157（または EHEC）の検出数が宮城県の場合より大幅に多いため、推定結果のばらつきは宮城県の場合より小さいと考えられる。しかし特定地域において 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。複数年にわたるカバー率の把握等によりその影響を少なくすることも可能であると考えられ、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と考えられる。

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（報告病院数が 2008 年 517、2009 年 562、2010 年 602、2011 年 685、2012 年 725、2013 年 802、2014 年 971、2015 年 1446）に起因している可能性がある。特に 2014 年と 2015 年の増加が大きく、データが大きく変動していることから、その影響が考えられる。データは宮城県および全国のアクティブサーベイランスデータとは少し性格が異なっていることに留意する必要がある。もともと耐性菌のサーベイランスのためのシステムであり、今回調査した食中毒関連細菌に関しては耐性菌サーベイランスで対象としている菌種と比較して、菌検出報告に関する精度管理等に問題がある可能性もある事例も見られた。今後はこのような問題点への対応を考えた上での活用が必要と考えられる。いずれにせよ、異なる性格のデータからの被害実態推定により、互いが苦手とする部分を補完するように活用することが望まれる。

本研究では検査機関で検出された病原菌の検出数から下痢症患者数を推定した。食品由来下痢症の患者数は米国における研究成果を適用し、各菌の食品由来感染の割合を 65%～95%と仮定して推定したが、米国と日本の食習慣の違い等から、今回適用した値が妥当であるかは今後の検討課題である。日本においては米国と比較して生食が多いことから、日本における上記 3 菌の食品由来感染の割合は米国よりも高い可能性がある。

食中毒に対する各種対策等の検討およびその効果の評価を行なうためには継続した定量的な実患者数の把握が必要であり、本研究での推定値は不確実性が大きい要素等も含まれた推定値ではあるものの、実患者数が報告数より大幅に多いという可能性が定量的に、かつ多年度について示された点が重要であると考える。

２．【異物混入被害実態の把握】

解析の結果、混入異物としては、虫、動物性異物（毛等）、樹脂、金属の順に多いことが確認された。食品分類別では調理済み

食品、菓子類、農産加工品への混入が多かった。また各食品分類で混入異物の傾向が異なっていた。事業所での混入が判明またはその可能性が高いとされた事例は全事例の 31.4%であった。事業所混入事例の約34%が硬質異物の混入であった。硬質異物混入事例は食品分類別では調理済み食品、菓子類、農産加工品の順に多く、異物分類別では金属、合成樹脂（その他）、動物性異物（その他）、植物性異物（木片等）、ガラスの順に多かった。事業所で硬質異物が混入した作業工程の解析では、混入は原材料由来、加熱工程、盛り付け工程で多く発生していた。

今回の調査では 142 自治体中、127 自治体から回答が得られたことで、全国の食品への異物混入の概要が把握できたと考えられる。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、対策や指導の必要性が確認された。また食品毎で混入異物の種類や混入した工程にそれぞれ特徴があったことから、それぞれの食品ごとに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。

E．結論

1．【食品由来感染症患者数の推定】

食品媒介感染症被害実態の概要を図 4 に示した。宮城県および全国におけるアクティブサーベイランスおよび JANIS データの活用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。

これらの結果から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システムの有効性およびその必要性が強調される。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でアウトブレイク等の特殊事例の影響を最小限にすることができ、より現実に即した実態把握が可能となることが示唆される。また継続調査により各項目の動向把握が可能となり、緊急事例の早期発見につながる可能性がある。菌検出件数を把握する検査機関データは、報告率等の不確定要素が少なく、推定を行う上でより直接的なデータであると考えられる。全国の食品由来下痢症実患者数のより正確な把握と地域差等の把握のために、より拡大したアクティブサーベイランスを行なうこと、および各不確定要素の推定の精度向上を図っていくことが今後の検討課題である。

2．【異物混入被害実態の把握】

今回の調査で、苦情処理事例の集計から、食品における異物混入の被害実態の全体像の把握が可能となった。特に事業所における混入事例について、食品分類および異物の種類の組み合わせを検討することで、各食品分類において起きやすい異物混入の概要が得られた。本調査により硬質異物の危険性が確認され、さらにそれが発生しやすい食品との組み合わせ、また混入が起こる作業工程の基礎データが得られ、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。

参考文献：

Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe.
Food-related illness and death in the United States.
Emerging Infectious Diseases, 5:607–625. 1999.

F．研究発表

１．論文発表
　なし

２．学会発表

①Kunihiro Kubota, Hiroshi Amanuma, Emiko Iwasaki, Hideji Yanagisawa, Masahiro Shimojima, Syunsuke Shibuya, Mayumi Komatsu, Tadahiro Kobayashi, Miyako Oguro, Noburiro Matsuki, Fumiko Kasuga
Estimating the burden of foodborne illness in Japan using clinical laboratory data for whole of Japan, 2006-2011
国際食品保全学会 2014 年次総会（International Association for Food Protection 2014 Annual Meeting）、インディアナポリス、米国、2014 年 7 月

②Kunihiro Kubota, Hiroshi Amanuma, Emiko Iwasaki, Hideji Yanagisawa, Masahiro Shimojima, Syunsuke Shibuya, Mayumi Komatsu, Tadahiro Kobayashi, Miyako Oguro, Noburiro Matsuki, Fumiko Kasuga
Estimating the burden of foodborne illness for *Campylobacter*, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan, 2006-2012
国際食品保全学会 2015 年次総会（International Association for Food Protection 2015 Annual Meeting）、ポートランド、米国、2015 年 7 月

③K. Kubota, H. Amanuma, H. Yanagisawa, M. Shimojima, T. Yamashita, Y. Sakurai, M. Komatsu, F. Kasuga
Estimating the Burden of Foodborne Illness for *Campylobacter*, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan from Laboratory Confirmed Numbers of Infections and Data from Telephone Surveys
国際新興感染症学会 2015 年次総会（International Conference on Emerging Infectious Diseases 2015）、アトランタ、米国、2015 年 8 月

④K. 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

⑤Kunihiro 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

⑥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
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
第 112 回日本食品衛生学会学術講演会（2016 年 10 月）、函館市

G．知的財産権の出願・登録状況

特になし

表１．全国における電話住民調査の結果（2009 年冬、2014 年夏、2016 年夏）と宮城県における電話住民調査の結果（2006 年冬および 2007 年夏）
（全て人口年齢分布補正前のデータ）

	2009年冬（全国）	2014年夏（全国）	2016年夏（全国）
合計コール数	12,265件	13,396件	22,682件
有効コール数 （有効回答率）	2,077件（16.9%）	2,039件（15.2%）	3,020件（13.3%）
有症者数（有病率）	77人（3.7%）	90人（4.4%）	96人（3.2%）
医療機関受診者数 （受診率）	23人（29.9%）	17人（18.9%）	17人（17.7%）
検便実施者数 （検便実施率）	2人（8.7%）	0人（−）	2人（11.8%）

	2006年冬（宮城県）	2007年夏（宮城県）
合計コール数	10,021件	11,965件
有効コール数 （有効回答率）	2,126件（21.2%）	2,121件（17.7%）
有症者数（有病率）	70人（3.3%）	74人（3.5%）
医療機関受診者数 （受診率）	27人（38.6%）	23人（31.1%）
検便実施者数 （検便実施率）	4人（14.8%）	2人（8.0%）

表２．宮城県における食品由来下痢症疾患の患者数推定結果とその食中毒患者報告数との比較（2005～2015 年、シミュレーション試行回数：1 万回、宮城県人口:236 万人）

検出菌	年	※[1] 検出数	推定患者数（宮城県）【平均値】	推定患者数（宮城県）【10万人あたり】	※[2]推定食品由来患者数（宮城県）	※[3]食中毒患者報告数（宮城県）
カンピロバクター	2005	562	37,019	1,569	29, 615	143
	2006	550	36,238	1,536	28, 990	109
	2007	538	35,437	1,502	28, 350	32
	2008	468	30,786	1,305	24, 629	33
	2009	339	26,272	1,113	21, 018	9
	2010	354	23,291	987	18, 633	25
	2011	324	21,331	904	17, 065	9
	2012	262	17,256	731	13, 805	52
	2013	226	14,878	630	11, 902	8
	2014	252	16,600	703	13, 280	32
	2015	271	17,835	755	14, 268	5
サルモネラ	2005	78	5,134	218	4, 877	12
	2006	46	3,028	128	2, 877	11
	2007	46	3,028	128	2, 877	25
	2008	56	3,690	156	3, 506	0
	2009	33	2,169	92	2, 061	23
	2010	51	3,358	142	3, 190	13
	2011	23	1,515	64	1, 439	0
	2012	30	1,973	84	1, 874	12
	2013	33	2,174	92	2, 065	0
	2014	43	2,831	120	2, 689	0
	2015	41	2,698	114	2, 563	0
腸炎ビブリオ	2005	36	2,369	100	1, 540	32
	2006	27	1,778	75	1, 156	0
	2007	24	1,582	67	1, 028	※[4]627 (17)
	2008	8	527	22	343	37
	2009	6	395	17	257	19
	2010	15	988	42	642	16
	2011	7	460	20	299	0
	2012	3	197	8	128	1
	2013	5	329	14	214	0
	2014	4	263	11	171	0
	2015	4	263	11	171	0

※[1] 宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける検出数

※[2] 米国での胃腸炎疾患における食品由来感染の割合（カンピロバクター80%、サルモネラ 95%、腸炎ビブリオ 65%）を用いて算出（Mead et al. 1999）

※[3] 食中毒患者報告数（宮城県）（厚生労働省食中毒統計、平成 17～26 年食中毒発生状況）

※[4] 620 人は 1 件のアウトブレイクにおける東日本 1 都 7 県での患者を宮城県がとりまとめて報告したもので、2007 年の宮城県の実際の腸炎ビブリオ患者報告数は 17 人である。

表３．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品由来下痢症疾患の実患者数推定とその食中毒患者報告数との比較（2006～2015 年、シミュレーション試行回数：1 万回、日本全国人口 1 億 2777 万人）

検出菌	年	※[1] 検出数	推定患者数（全国）【平均値】	推定患者数（10万人あたり）	※[2]推定食品由来患者数（全国）	推定食品由来患者数（10万人あたり）	※[3]食中毒患者報告数（全国）
カンピロバクター	2006	10,144	13,084,001	10,262	10, 467, 201	8,210	2, 297
	2007	10,962	16,939,998	13,286	13, 551, 998	10,629	2, 396
	2008	12,934	14,198,429	11,136	11, 358, 743	8,909	3, 071
	2009	14,057	10,707,971	8,398	8, 566, 377	6,719	2, 206
	2010	15,401	10,687,320	8,382	8, 549, 856	6,706	2, 092
	2011	14,950	10,443,399	8,191	8, 354, 719	6,553	2, 341
	2012	12,794	6,880,816	5,397	5, 504, 652	4,317	1, 834
	2013	13,947	7,286,661	5,715	5, 829, 329	4,572	1, 551
	2014	16,762	8,796,321	6,899	7, 037, 057	5,519	1, 893
	2015	18,164	10,108,930	7,929	8, 087, 144	6,343	2, 089
サルモネラ	2006	1,888	2,435,193	1,910	2, 313, 433	1,815	2, 053
	2007	1,886	2,914,508	2,286	2, 768, 783	2,172	3, 603
	2008	1,894	2,079,158	1,631	1, 975, 200	1,549	2, 551
	2009	2,059	1,568,451	1,230	1, 490, 028	1,169	1, 518
	2010	2,434	1,689,042	1,325	1, 604, 590	1,259	2, 476
	2011	2,705	1,889,592	1,482	1, 795, 112	1,408	3, 068
	2012	2,258	1,212,503	951	1, 151, 878	903	670
	2013	2,324	1,213,198	952	1, 152, 538	904	861
	2014	2,726	1,430,543	1,122	1, 359, 046	1,066	440
	2015	2,728	1,518,232	1,191	1, 442, 320	1,131	1, 918
腸炎ビブリオ	2006	523	674,579	529	438, 477	344	1, 236
	2007	421	650,587	510	422, 882	332	1, 278
	2008	216	237,116	186	154, 126	121	168
	2009	227	172,918	136	112, 397	88	280
	2010	563	390,686	306	253, 946	199	579
	2011	351	245,193	192	159, 375	125	87
	2012	312	167,799	132	109, 069	86	124
	2013	287	149,944	118	97, 464	76	164
	2014	209	109,678	86	71, 291	56	47
	2015	138	76,802	60	49, 921	39	224

※[1] 菌検出数：下記の民間検査機関の検出データを合計した。

2010～2015 年：3 社（株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル、株式会社 LSI メディエンス）

2009 年：2 社（株式会社ビー・エム・エル、株式会社 LSI メディエンス）

2006～2008 年：1 社（株式会社ビー・エム・エル）

※[2] 米国の胃腸炎疾患における食品由来感染の割合（カンピロバクター80%、サルモネラ95%、腸炎ビブリオ 65%）を用いて算出（Mead et al. 1999）

※[3] 食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計、平成 18～26 年食中毒発生状況）

表４．JANIS データからの全国の食品由来下痢症疾患実患者数の推定（2008～2015 年、シミュレーション試行回数：1 万回、日本全国人口 1 億 2777 万人、カバー率推定に EHEC 報告数を使用）

検出菌	年	検出数（全国推定）	推定患者数（全国）【平均値】	推定患者数（10万人あたり）	※[1]推定食品由来患者数（全国）	推定食品由来患者数（10万人あたり）	※[2]食中毒患者報告数（全国）
カンピロバクター	2008	142,580	15,657,757	12,281	12, 526, 206	9,825	3, 071
	2009	131,498	14,340,696	11,248	11, 472, 557	8,998	2, 206
	2010	116,773	12,801,098	10,040	10, 240, 879	8,032	2, 092
	2011	127,425	14,055,398	11,024	11, 244, 318	8,819	2, 341
	2012	115,937	12,768,043	10,014	10, 214, 434	8,011	1, 834
	2013	113,277	12,386,364	9,715	9, 909, 091	7,772	1, 551
	2014	120,008	13,126,452	10,295	10, 501, 162	8,236	1, 893
	2015	54,053	5,925,163	4,647	4, 740, 130	3,718	2, 089
サルモネラ	2008	53,595	5,885,595	4,616	5, 591, 315	4,385	2, 551
	2009	52,404	5,715,004	4,482	5, 429, 254	4,258	1, 518
	2010	42,759	4,687,383	3,676	4, 453, 014	3,493	2, 476
	2011	43,729	4,823,439	3,783	4, 582, 267	3,594	3, 068
	2012	40,340	4,442,583	3,484	4, 220, 454	3,310	670
	2013	35,424	9,873,474	3,038	3, 679, 800	2,886	861
	2014	37,113	4,059,404	3,184	3, 856, 434	3,025	440
	2015	22,154	2,428,482	1,905	2, 307, 058	1,810	1, 918
腸炎ビブリオ	2008	2,941	322,920	253	209, 898	165	168
	2009	1,567	170,838	134	111, 045	87	280
	2010	2,562	280,870	222	182, 566	143	579
	2011	2,351	259,325	203	168, 561	132	87
	2012	2,017	222,129	174	144, 384	113	124
	2013	1,835	200,604	157	130, 392	102	164
	2014	5,571	610,652	479	396, 924	311	47
	2015	3,188	349,459	274	227, 149	178	224

※[1] 米国の胃腸炎疾患における食品由来感染の割合（カンピロバクター80%、サルモネラ 95%、腸炎ビブリオ 65%）を用いて算出（Mead et al. 1999）

※[2] 食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計、平成 20～27 年食中毒発生状況）

表５．宮城県および全国についてのアクティブサーベイランスデータ、およびJANISデータからの全国の食品由来下痢症患者数の推定との相互比較（2006～2015年、シミュレーション試行回数：1万回）

検出菌	年	宮城県データからの推定【平均値】	全国データからの推定【平均値】	JANISデータからの推定【平均値】	※食中毒患者報告数（全国）
カンピロバクター	2006	1,569,344	10,467,201		2,297
	2007	1,534,698	13,551,998		2,396
	2008	1,333,266	11,358,743	12,526,206	3,071
	2009	1,137,788	8,566,377	11,472,557	2,206
	2010	1,008,678	8,549,856	10,240,879	2,092
	2011	923,796	8,354,719	11,244,318	2,341
	2012	787,320	5,504,652	10,214,434	1,834
	2013	644,303	5,829,329	9,939,883	1,551
	2014	718,899	7,037,057	10,501,162	1,893
	2015	772,384	8,087,144	4,740,130	2,089
サルモネラ	2006	155,743	2,313,433		2,053
	2007	155,743	2,768,783		3,603
	2008	189,794	1,975,200	5,591,315	2,551
	2009	111,570	1,490,028	5,429,254	1,518
	2010	172,687	1,604,590	4,453,014	2,476
	2011	77,899	1,795,112	4,582,267	3,068
	2012	101,447	1,151,878	4,220,454	670
	2013	111,787	1,152,538	3,691,235	861
	2014	145,566	1,359,046	3,856,434	440
	2015	138,745	1,442,320	2,307,058	1,918
腸炎ビブリオ	2006	62,579	438,477		1,236
	2007	55,650	422,882		1,278
	2008	18,568	154,126	209,898	168
	2009	13,912	112,397	111,045	280
	2010	34,754	253,946	182,566	579
	2011	16,186	159,375	168,561	87
	2012	6,929	109,069	144,384	124
	2013	11,585	97,464	130,798	164
	2014	9,257	71,291	396,924	47
	2015	9,257	49,921	227,149	224

・宮城県データ（2006～2015年）：

宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける検出数

・全国データ：

2010～2015年：3社（株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2009年：2社（株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2006～2008年：1社（株式会社ビー・エム・エル）

※食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計、平成18～27年食中毒発生状況）

図１：2009 年冬期、2014 年夏期、2016 年夏期の電話調査結果の統合データから推定した医療機関受診率（試行 1 万回）

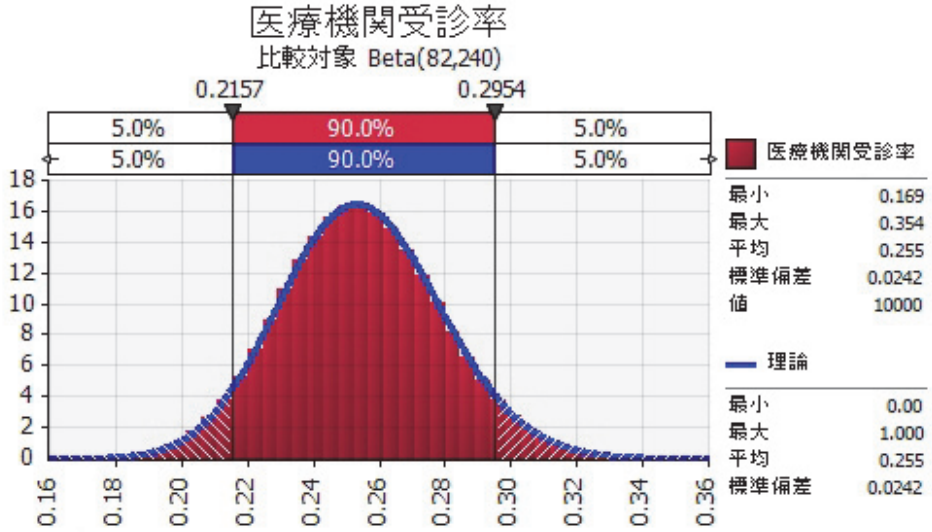


図２：2009 年冬期、2014 年夏期、2016 年夏期の電話調査結果の統合データから推定した検便検査実施率（試行 1 万回）

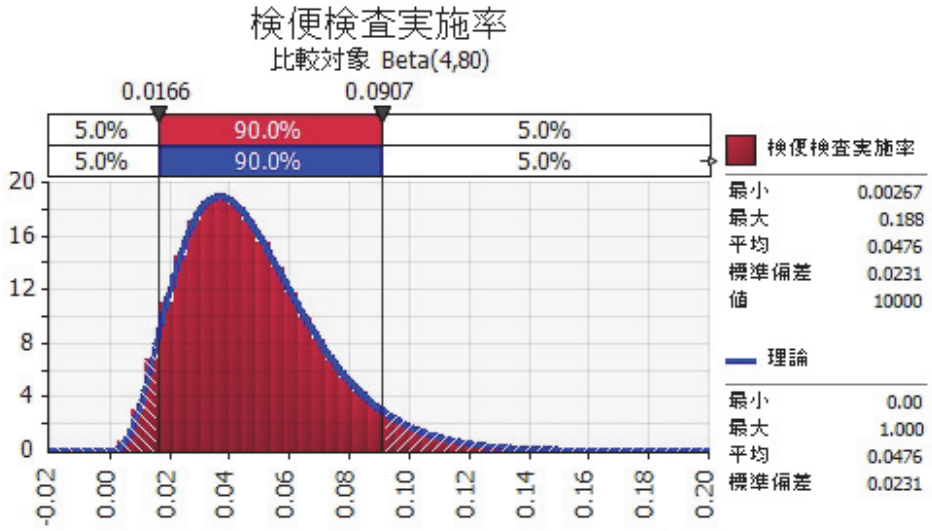


図３．下痢症疾患の実患者数の把握

（各段階における不確定要素を検討、積算することで検出数から実被害推定を行う）

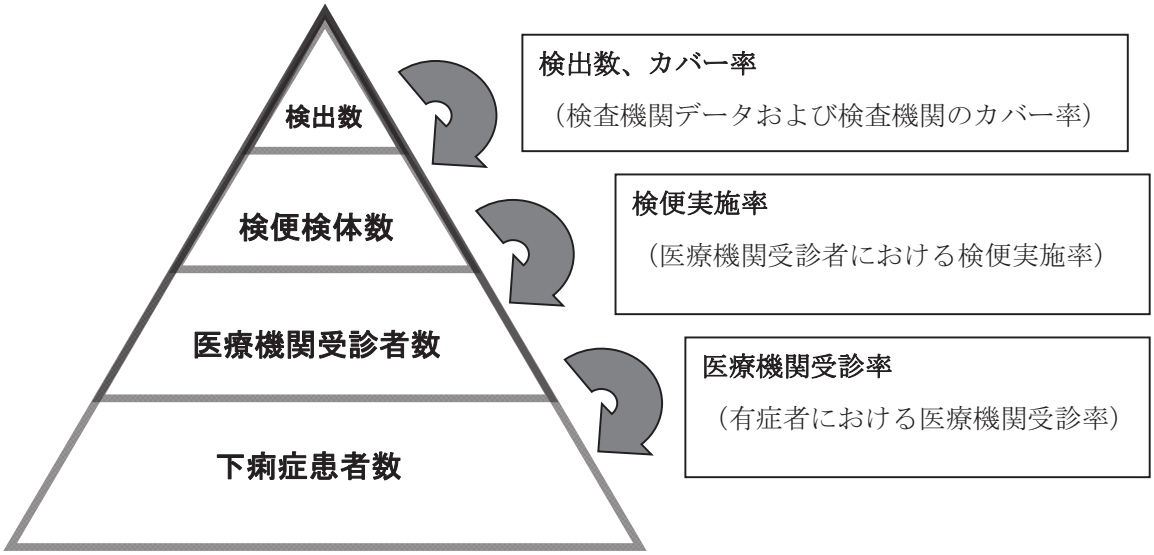
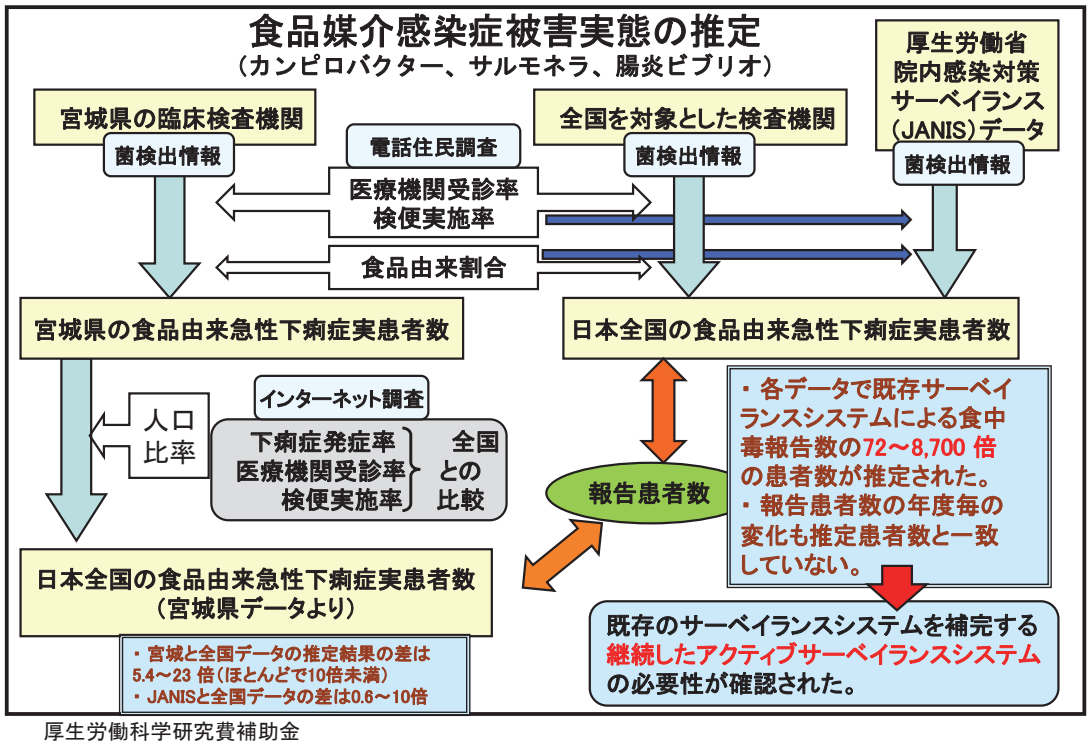


図４：食品媒介感染症被害実態の概要



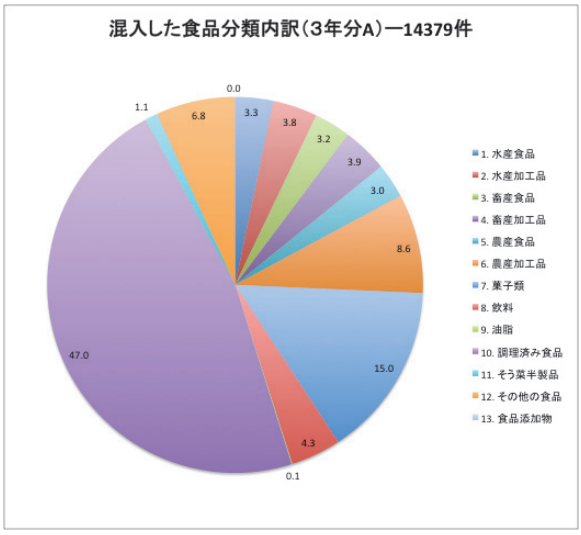
厚生労働科学研究費補助金
H16～18, H19～21年度「食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究（研究代表者　森川馨）」、
H22, H23～H25年度「食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究（岡部信彦、H24～H25 砂川富正）」
H26～28年度「広域・複雑化する食中毒に対応する調査手法の開発に関する研究（砂川富正）」

図表１：調査票１総数（A）H26～H28 年度の混入異物内訳。

異物の種類	件数―3年分A（14379件）	割合（%）
1. 虫―ハエ	469	3.3
2. 虫―ゴキブリ	648	4.5
3. 虫―虫卵・幼虫・蛹	404	2.8
4. 虫―その他の虫	1442	10.0
5. 虫―不明	444	3.1
6. 寄生虫―アニサキス	92	0.6
7. 寄生虫―その他	142	1.0
8. 鉱物性異物―ガラス	225	1.6
9. 鉱物性異物―石・砂	130	0.9
10. 鉱物性異物―金属	1547	10.8
11. 鉱物性異物―その他	221	1.5
12. 動物性異物―人毛	1564	10.9
13. 動物性異物―獣毛	117	0.8
14. 動物性異物―人の歯	137	1.0
15. 動物性異物―その他	617	4.3
16. 合成樹脂類―ビニール	1026	7.1
17. 合成樹脂類―ゴム	178	1.2
18. 合成樹脂類―その他樹脂	1222	8.5
19. 植物性異物	549	3.8
20. 紙	281	2.0
21. 繊維	272	1.9
22. たばこ	48	0.3
23. 絆創膏	89	0.6
24. 食品の一部	1059	7.4
25. その他	1456	10.1

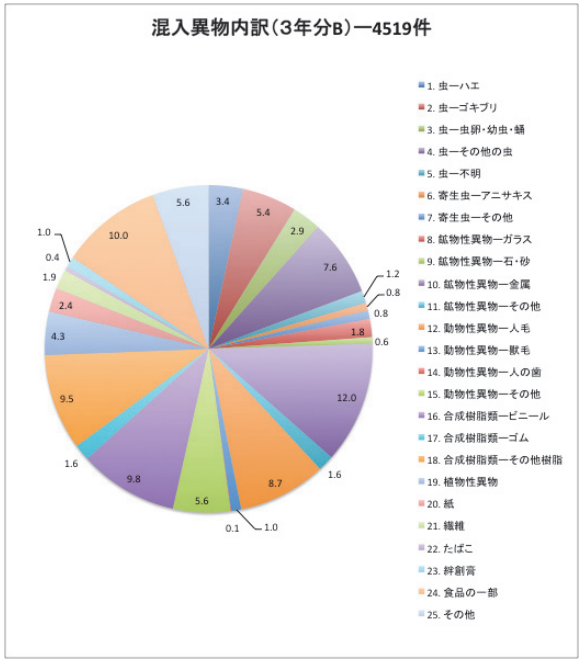
図表２：調査票１総数（A）H26～H28 年度の食品分類内訳。

食品分類	件数―3年分A（14379件）	割合（%）
1. 水産食品	472	3.3
2. 水産加工品	550	3.8
3. 畜産食品	455	3.2
4. 畜産加工品	559	3.9
5. 農産食品	428	3.0
6. 農産加工品	1231	8.6
7. 菓子類	2164	15.0
8. 飲料	621	4.3
9. 油脂	9	0.1
10. 調理済み食品	6754	47.0
11. そう菜半製品	155	1.1
12. その他の食品	979	6.8
13. 食品添加物	2	0.0



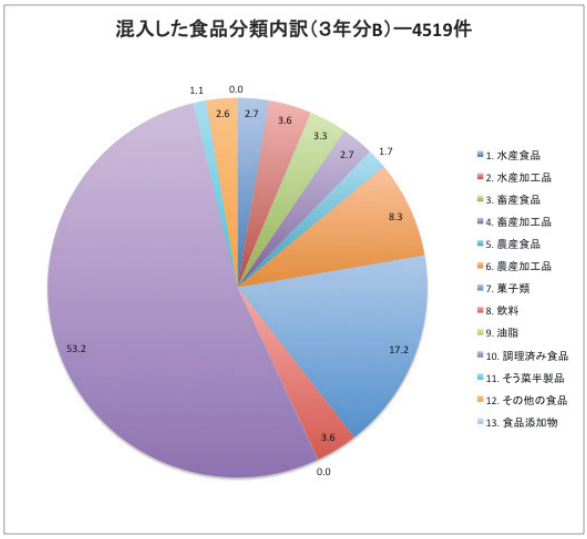
図表３：調査票１の事業所事例（B）H26～H28 年度の混入異物内訳。

異物の種類	件数―3年分B（4519件）	割合（%）
1. 虫―ハエ	153	3.4
2. 虫―ゴキブリ	244	5.4
3. 虫―虫卵・幼虫・蛹	129	2.9
4. 虫―その他の虫	344	7.6
5. 虫―不明	55	1.2
6. 寄生虫―アニサキス	34	0.8
7. 寄生虫―その他	38	0.8
8. 鉱物性異物―ガラス	81	1.8
9. 鉱物性異物―石・砂	29	0.6
10. 鉱物性異物―金属	544	12.0
11. 鉱物性異物―その他	71	1.6
12. 動物性異物―人毛	393	8.7
13. 動物性異物―獣毛	45	1.0
14. 動物性異物―人の歯	3	0.1
15. 動物性異物―その他	255	5.6
16. 合成樹脂類―ビニール	443	9.8
17. 合成樹脂類―ゴム	72	1.6
18. 合成樹脂類―その他樹脂	429	9.5
19. 植物性異物	193	4.3
20. 紙	107	2.4
21. 繊維	87	1.9
22. たばこ	19	0.4
23. 絆創膏	47	1.0
24. 食品の一部	453	10.0
25. その他	251	5.6



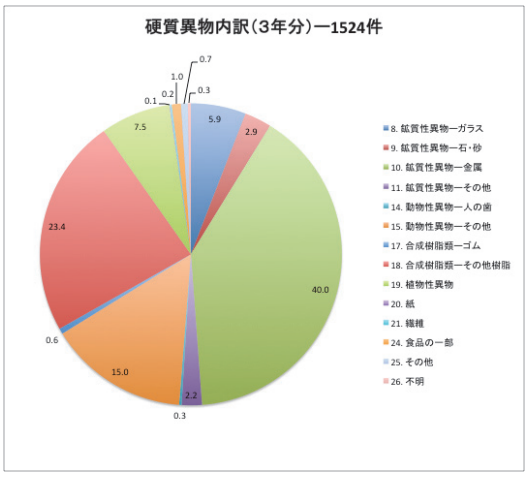
図表４：調査票１の事業所事例（B）H26～H28 年度の食品分類内訳。

食品分類	件数―3年分B（4519件）	割合（%）
1. 水産食品	121	2.7
2. 水産加工品	164	3.6
3. 畜産食品	147	3.3
4. 畜産加工品	123	2.7
5. 農産食品	78	1.7
6. 農産加工品	374	8.3
7. 菓子類	776	17.2
8. 飲料	161	3.6
9. 油脂	1	0.0
10. 調理済み食品	2404	53.2
11. そう菜半製品	50	1.1
12. その他の食品	119	2.6
13. 食品添加物	1	0.0



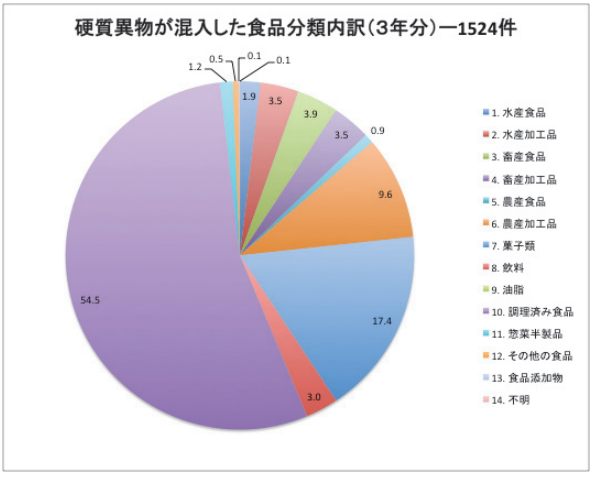
図表５：事業所における硬質異物混入事例（調査票 2）の H26～H28 年度の混入異物内訳。

異物の種類	件数―3年分―硬質（1524件）	割合（%）
8. 鉱物性異物―ガラス	90	5.9
9. 鉱物性異物―石・砂	44	2.9
10. 鉱物性異物―金属	610	40.0
11. 鉱物性異物―その他	33	2.2
14. 動物性異物―人の歯	4	0.3
15. 動物性異物―その他	228	15.0
17. 合成樹脂類―ゴム	9	0.6
18. 合成樹脂類―その他樹脂	357	23.4
19. 植物性異物	114	7.5
20. 紙	1	0.1
21. 繊維	3	0.2
24. 食品の一部	15	1.0
25. その他	11	0.7
26. 不明	5	0.3



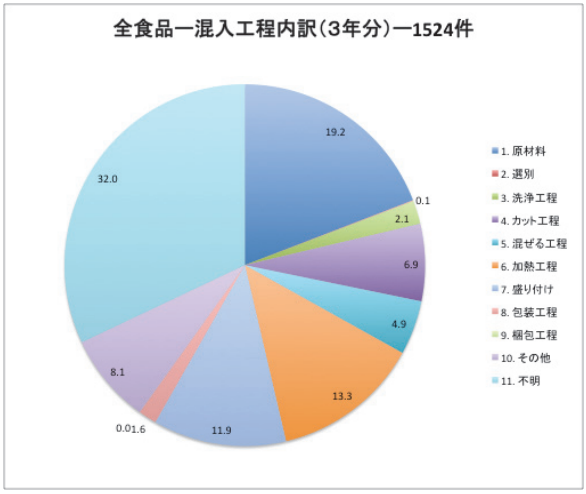
図表６：調査票２の硬質異物混入事例における混入食品内訳（H26～H28 年度、総計 1,524 件）

食品分類	件数―硬質3年分（1524件）	割合（%）
1. 水産食品	29	1.9
2. 水産加工品	54	3.5
3. 畜産食品	59	3.9
4. 畜産加工品	54	3.5
5. 農産食品	13	0.9
6. 農産加工品	146	9.6
7. 菓子類	265	17.4
8. 飲料	46	3.0
9. 油脂	0	0.0
10. 調理済み食品	830	54.5
11. 惣菜半製品	18	1.2
12. その他の食品	8	0.5
13. 食品添加物	1	0.1
14. 不明	1	0.1



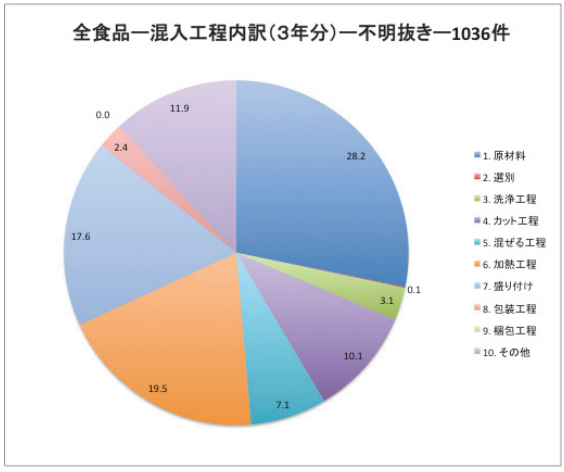
図表７：調査票 2 の硬質異物混入事例における各異物混入の製造工程別の報告数と割合（H26～H28 年度、総数 1,524 件）

製造工程	件数（3年分）―1524件	割合（%）
1. 原材料	292	19.2
2. 選別	1	0.1
3. 洗浄工程	32	2.1
4. カット工程	105	6.9
5. 混ぜる工程	74	4.9
6. 加熱工程	202	13.3
7. 盛り付け	182	11.9
8. 包装工程	25	1.6
9. 梱包工程	0	0.0
10. その他	123	8.1
11. 不明	488	32.0



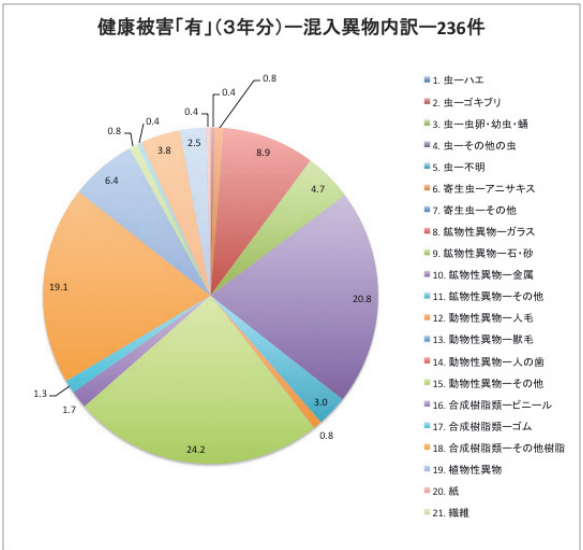
図表８：調査票 2 の硬質異物混入事例における異物混入の製造工程別の報告数と割合（H26～H28 年度、製造工程「不明」データを除いた 1,036 件）

製造工程	件数（3年分）―不明抜き―1036件	割合（%）
1. 原材料	292	28.2
2. 選別	1	0.1
3. 洗浄工程	32	3.1
4. カット工程	105	10.1
5. 混ぜる工程	74	7.1
6. 加熱工程	202	19.5
7. 盛り付け	182	17.6
8. 包装工程	25	2.4
9. 梱包工程	0	0.0
10. その他	123	11.9



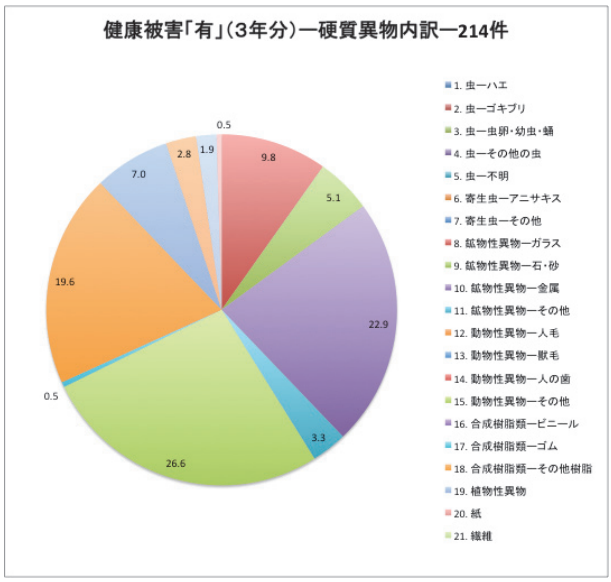
図表８：健康被害があった事例の混入異物別の件数と割合（H26～H28 年度、総数 236 件）

異物の種類	件数―3年分（236件）	割合（%）
1. 虫―ハエ	0	0.0
2. 虫―ゴキブリ	1	0.4
3. 虫―虫卵・幼虫・蛹	0	0.0
4. 虫―その他の虫	0	0.0
5. 虫―不明	0	0.0
6. 寄生虫―アニサキス	2	0.8
7. 寄生虫―その他	0	0.0
8. 鉱物性異物―ガラス	21	8.9
9. 鉱物性異物―石・砂	11	4.7
10. 鉱物性異物―金属	49	20.8
11. 鉱物性異物―その他	7	3.0
12. 動物性異物―人毛	2	0.8
13. 動物性異物―獣毛	0	0.0
14. 動物性異物―人の歯	0	0.0
15. 動物性異物―その他	57	24.2
16. 合成樹脂類―ビニール	4	1.7
17. 合成樹脂類―ゴム	3	1.3
18. 合成樹脂類―その他樹脂	45	19.1
19. 植物性異物	15	6.4
20. 紙	0	0.0
21. 繊維	2	0.8
22. たばこ	0	0.0
23. 絆創膏	1	0.4
24. 食品の一部	9	3.8
25. その他	6	2.5
26. 不明	1	0.4



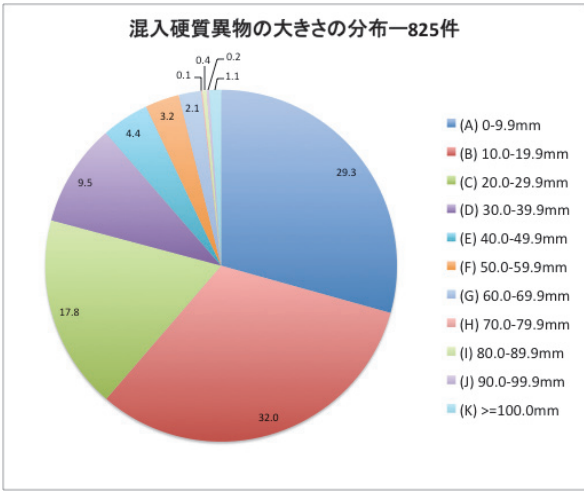
図表９：硬質異物により健康被害があった事例の混入異物別の件数と割合（H26～H28 年度、総数 214 件）

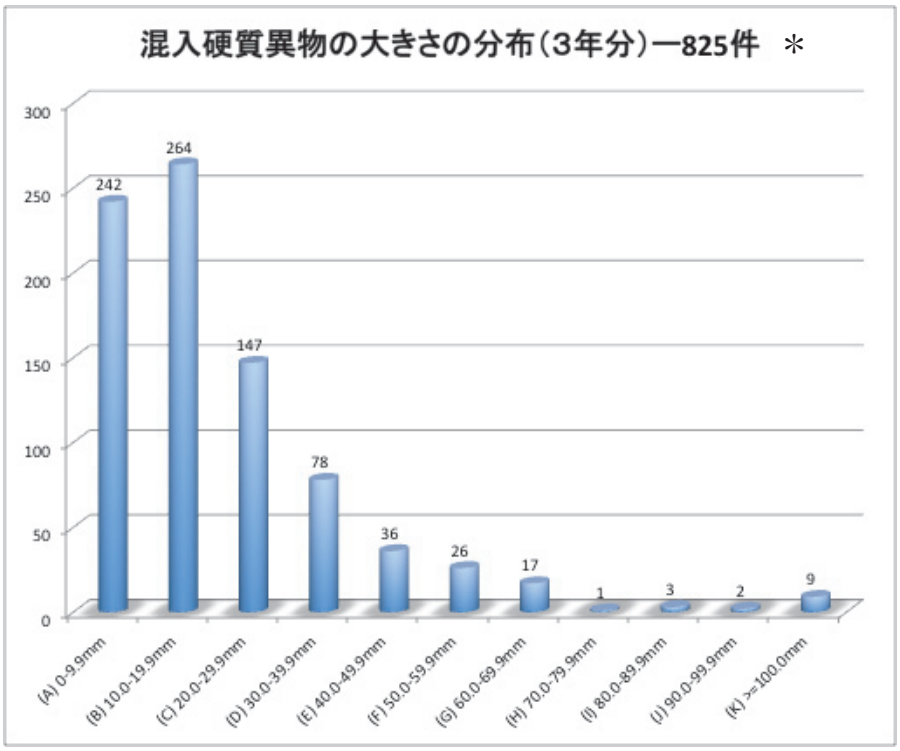
異物の種類	件数―3年分―硬質(214件)	割合(%)
1. 虫―ハエ	0	0.0
2. 虫―ゴキブリ	0	0.0
3. 虫―虫卵・幼虫・蛹	0	0.0
4. 虫―その他の虫	0	0.0
5. 虫―不明	0	0.0
6. 寄生虫―アニサキス	0	0.0
7. 寄生虫―その他	0	0.0
8. 鉱物性異物―ガラス	21	9.8
9. 鉱物性異物―石・砂	11	5.1
10. 鉱物性異物―金属	49	22.9
11. 鉱物性異物―その他	7	3.3
12. 動物性異物―人毛	0	0.0
13. 動物性異物―獣毛	0	0.0
14. 動物性異物―人の歯	0	0.0
15. 動物性異物―その他	57	26.6
16. 合成樹脂類―ビニール	0	0.0
17. 合成樹脂類―ゴム	1	0.5
18. 合成樹脂類―その他樹脂	42	19.6
19. 植物性異物	15	7.0
20. 紙	0	0.0
21. 繊維	0	0.0
22. たばこ	0	0.0
23. 絆創膏	0	0.0
24. 食品の一部	6	2.8
25. その他	4	1.9
26. 不明	1	0.5



図表１０：硬質異物混入事例において異物の大きさが報告された 825 件の異物の大きさの集計（調査票２）

異物の大きさ	件数―3年分(825件)	割合(%)
(A) 0-9.9mm	242	29.3
(B) 10.0-19.9mm	264	32.0
(C) 20.0-29.9mm	147	17.8
(D) 30.0-39.9mm	78	9.5
(E) 40.0-49.9mm	36	4.4
(F) 50.0-59.9mm	26	3.2
(G) 60.0-69.9mm	17	2.1
(H) 70.0-79.9mm	1	0.1
(I) 80.0-89.9mm	3	0.4
(J) 90.0-99.9mm	2	0.2
(K) >=100.0mm	9	1.1





＊前掲の円グラフと同内容について表示方法を変更

図表１１：健康被害があった事例として調査票 2 に報告されたもののうち、硬質異物によるもの 214 件（左）およびそれ以外の異物によるもの 22 件（右）の異物の詳細内訳

異物の種類	件数	異物名	件数
8. 鉱物性異物ーガラス	21	ガラス片	21
9. 鉱物性異物ー石・砂	11	石	9
		砂	2
10. 鉱物性異物ー金属	49	金たわし・ブラシ	13
		針金	6
		ざるの一部	5
		ネジ	5
		釣り針	4
		ホッチキスの針・画鋲	3
		釘	1
		金属くず	1
		焼き網	1
		針	1
		サビ	1
		不明	8
11. 鉱物性異物ーその他	7	陶器片	5
		鉛筆の芯	1
		不明	1
15. 動物性異物ーその他	57	鳥の骨	14
		魚の骨	12
		豚の骨	7
		牛の骨	6
		卵殻	6
		骨（動物不明）	4
		貝殻・真珠	4
		人の爪	2
		魚の鱗	1
		不明	1
17. 合成樹脂類ーゴム	1	ゴムパッキン	1
18. 合成樹脂類ーその他樹脂	42	プラスチック片	24
		合成樹脂片（PETなど）	9
		たわし・ブラシの破片	2
		クリアファイル・シート	2
		ピック	1
		網（網漁用）	1
		チューブ	1
		PPバンド	1
		アクリル片	1
19. 植物性異物	15	植物の一部（枝・種など）	6
		木片	5
		竹串・楊枝	4
24. 食品の一部	6	乾燥白飯	2
		アミノ酸結晶	1
		大きい具材	1
		焦げ	1
		不明	1
25. その他	4	洗浄剤	3
		不明	1
26. 不明	1	不明	1
「硬質異物」合計	**214**		**214**

異物の種類	件数	異物名	件数
2. 虫ーゴキブリ	1	ゴキブリ	1
6. 寄生虫ーアニサキス	2	アニサキス	2
12. 動物性異物ー人毛	2	毛髪	2
16. 合成樹脂類ービニール	4	ビニール片	3
		ビニールシート	1
17. 合成樹脂類ーゴム	2	輪ゴム	2
18. 合成樹脂類ーその他樹脂	3	合成樹脂片	2
		ラップ	1
21. 繊維	2	タオルの糸	1
		吸水シート	1
23. 絆創膏	1	絆創膏	1
24. 食品の一部	3	水飴	1
		くずもち成分	1
		乾燥白ネギ	1
25. その他	2	洗浄剤	1
		灯油	1
「硬質以外の異物」合計	**22**		**22**

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）
総合分担研究報告書

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

研究代表者　砂川 富正　国立感染症研究所感染症疫学センター
研究分担者　岡部 信彦　川崎市健康安全研究所
研究協力者　丸山　絢　川崎市健康安全研究所
三﨑　貴子　川崎市健康安全研究所
八幡 裕一郎　国立感染症研究所感染症疫学センター

研究要旨

欧米では、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症対策に Attributable risk percent（アトリビューション）を算出し、対策に利用しているが、我が国においては国レベルでの対策の検討について、本研究班におけるアトリビューションの算出により試行しているところである。一方、自治体においては症例数が少なく、リスク評価が困難であることから、対策が検討されていないのが現状である。そこで、平成 26 年度及び平成 27 年度は研究分担者として川崎市において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した。また、平成 28 年度は研究協力者として川崎市内における症例調査を実施し、八幡研究分担者へデータ提供を行った。

調査期間内において、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）感染症患者の症例調査及びインターネットによる対照群調査を実施した。対照群は年齢階級及び居住地を症例と一致させ、男女それぞれ 10 人以上インターネット調査登録されている場合はランダムに 10 人ずつ抽出し、10 人に満たない場合は全員に調査を実施した。調査内容は、環境との接触及び食品の摂取とした。Conditional logistic regression analysis を実施し、性別による調整オッズ比（aOR）を算出したところ、平成 26 年度においては、食品を取り扱う仕事、保育関係の仕事、屋外プールの利用、赤身肉の喫食、馬肉ユッケ/馬刺しの喫食、半生の牛肉の喫食、十分に加熱された牛肉の喫食、十分に加熱された内臓肉の喫食のうち、牛レバー、牛ホルモン及び豚ホルモン、生の野菜等の喫食のうちネギ、パセリ及びキムチが発症と有意に関連していた。平成 27 年度においては、同居家族に血便、同居家族に腸管出血性大腸菌感染症患者等、公衆浴場の利用、国内旅行の有無、赤身肉の喫食、十分に加熱された赤身肉の喫食のうち、牛肉及び豚肉、内臓肉の喫食、十分に加熱された内臓肉の喫食のうち、牛ホルモン及び豚ホルモン、生のもやしの喫食が発症と有意に関連していた。

本研究のような症例対照研究では、対照データの収集に時間を要することから、アウトブレイク発生時における対策へいかに応用し、原因食品の遡り調査を実施するかは、今後

の課題である。しかしながら、本市データの解析結果は、全国データの結果と類似の傾向が認められたこと等から、自治体における症例対照研究は、長期的な食中毒対策に利用できると考えられる。今後は、自治体と国立感染症研究所が連携して症例対照研究を実施し、散発事例の原因究明に取り組む必要があると考える。

A. 研究目的

欧米では、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症対策に Attributable risk percent（アトリビューション）を算出し、対策に利用しているが、我が国においては国レベルの対策の検討について、本研究班におけるアトリビューションの算出によりリスク推定を試行しているところであり、全国でのアトリビューションの算出は可能であることが示唆されてい

る。

一方、自治体においては症例数が少なく、リスク評価が困難であることから、対策が検討されていないのが現状である。そこで、本市においては、平成 24 年度から EHEC 感染症散発事例のリスク推定の試行を開始し、平成 24 年度は 8 症例、平成 25 年度は 19 症例を対象にリスク推定を行った。平成 26 年度及び平成 27 年度は分担研究者として引き続き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。

また、平成 28 年度は研究協力者として本市における症例調査を実施し、八幡研究分担者へデータ提供を行う。

B. 研究方法

B-1. 症例の定義及び情報収集方法

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 26 年度においては 2014 年 7 月 1 日から 11 月 30 日までに、平成 27 年度においては 2015 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（別添資料）。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、対象者から調査の同意を得て実施した。

また、平成 28 年度においては、2016 年 4 月 1 日から 12 月 31 日までに川崎市内で散発例として報告された EHEC 感染症患者について、前述と同様の定義及び方法を用いて調査を実施した。ただし、本年度に限り全ての血清群の患者を対象とした。

B-2. 対照の登録及び情報収集方法

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。対照の抽出は、1 症例毎に、年齢階級及び居住地（郵便番号上 3 桁）が一致した者を男女ともに 10 人ずつ無作為に抽出することとした。10 人に満たない場合は全員を抽出することとした。対照群に対する調査は調査依頼のメールを送信し、インターネットにて行った。なお、解析の際、対象期間に下痢、血便のある者、本人又は同居家族が EHEC 感染症と診断された者は除外した。

B-3. 標準調査票の内容

症例は主に発症前 1 週間について、対照は症例毎に対応する期間について調査を実施した。曝露

に関する調査項目は、環境に関する内容として「動物との接触」、「プール等の利用」等とした。食品の摂取については、肉類を赤身肉（生／半生／十分加熱）、内臓肉（生／半生／十分加熱）、挽肉類（生／半生／十分加熱）の 9 群に分け、さらに牛、豚、鶏、馬等に分けて喫食の有無について調査した。また、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として「砂場の利用」、「他の子どもとの接触」等についても情報を収集した。

B-4. オッズ比（Odds ratio:OR）の算出

OR は Conditional logistic regression analysis で算出した。OR の算出に利用した変数は食品の摂取、環境との接触に関するすべての項目とし、粗オッズ比（cOR: crude odds ratio）及び性別による調整オッズ比（aOR: sex-adjusted odds ratio）を算出した。なお、解析には IBM SPSS Statistics ver.23 及び SAS ver.9.4 を用いた。

（倫理面への配慮）

「国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査」を受け、承認されている（受付番号 521「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」）。

C. 研究結果

C-1. 平成 26 年度結果

1） 症例対照研究の対象者

調査期間中に症例 30 人の調査を行ったところ、血清群内訳は O157 26 人（86.7%）、O26 3 人（10.0%）、O111 1 人（3.3%）であり、O157 が最も多かったことから、本研究では血清群 O157 の患者のみを症例とした。また、対照 295 人の調査を行い、下痢等の症状がなかった 240 人を対照とした。

2） 対象者の属性等（表 1-表 2）

対象者の属性（表 1）は、症例では男 14 人（53.8%）、女 12 人（46.2%）であった。年齢階級は、症例では 18 歳以上 40 歳未満（30.8%）が最も多く、次いで 40 歳以上 60 歳未満（23.1%）、であった。対照においても、18 歳以上 40 歳未満（27.5%）が最も多く、次いで 40 歳以上 60 歳未満（25.4%）であった。症例が呈した症状等は、腹痛（100.0%）、水様性下痢（80.8%）、血便（76.9%）の順に多く、入院加療は 57.7%であった。なお、溶血性尿毒症症候群（HUS）の発症者は 1 人（3.8%）であった（表 2）。

3） 環境との接触（表 3-表 7）

発症前 4 週間に同居家族が下痢症状を呈した症例は 7.7%、血便症状を呈した症例は 0.0%、腸管出血性大腸菌感染症と診断された症例は 3.8%であったが、対照では、それぞれ 6.2%、0.4%、0.0%であった。仕事については、症例の 57.7%、対照の 56.7%がありと回答し、症例では食品の取扱いが 15.4%、医療・福祉関係が 0.0%、保育関係が 7.7%であった。一方、対照では食品の取扱いが 2.9%、医療・福祉関係が 4.6%、保育関係が 0.0%であった（表 3）。なお、症例の回答者 26 名中、保育関係の仕事に従事していた 2 人（7.7%）はともに食品取扱者であった。

発症前 1 週間の動物との接触（表 4）は、症例では 26.9%、対照では 24.2%であった。接触した動物は、犬との接触が症例で 19.2%、対照で 12.3%であり、ともに最も多かった。

発症前 1 週間のプール等の利用（表 5）は、症例では 26.9%、対照では 19.9%であり、屋外プールの利用については、症例では 23.1%、対照では 8.9%であった。

発症前 1 週間の砂場の利用（18 歳未満）については、症例では 0.0%、対照では 8.6%であった。飲料水については、症例では公設水道を 73.1%が利用し、対照では 57.0%であった。また、市販のミネラルウォーターは症例では 57.7%が飲用し、

対照では 65.4%であった。国内旅行は症例では15.4%、対照では9.7%がありと回答した（表 6）。

対象者が 18 歳未満の場合の他の子どもとの接触（表 7）については、4 歳未満の子どもと同居は症例で 11.1%、対照で 20.3%であった。また、保育園等に通園は症例では11.1%、対照では5.4%であった。

4） 食品の摂取（表 8-表 14）

食品の摂取のうち、赤身肉（表 8）については、肉類の喫食が症例では96.0%、対照では72.0%であった。生の赤身肉については、症例では牛肉（4.0%）、牛肉ユッケ（4.0%）、馬肉ユッケ／馬刺し（8.0%）の摂取があったが、対照では牛肉（0.4%）のみであった。半生の赤身肉については、症例では牛肉（18.2%）、鶏肉（4.5%）の摂取があったが、対照では牛肉（2.5%）のみであった。十分に加熱された赤身肉の摂取については、症例では鶏肉（80.0%）、牛肉（79.2%）、豚肉（75.0%）の順に多く、対照では豚肉（58.9%）、鶏肉（57.6%）、牛肉（38.5%）の順に多かった。

挽肉類の喫食（表 9）については、症例では40.9%、対照では 63.6%であった。生及び半生の挽肉については、症例、対照ともに摂取がなく、十分に加熱された挽肉の摂取については、症例では合挽きミンチ（28.6%）、豚ミンチ（23.8%）、牛ミンチ（14.3%）の順に多く、対照においても合挽きミンチ（38.2%）、豚ミンチ（32.2%）、牛ミンチ（12.2%）の順に多かった。

内臓肉の喫食（表 10）については、症例では30.8%、対照では 20.8%であった。生の内臓肉については、症例では牛レバー（3.8%）の摂取があったが、対照では摂取はなかった。半生の内臓肉については、症例、対照ともに摂取はなかった。十分に加熱された内臓肉の摂取は、症例では牛ホルモン（23.1%）が最も多く、次いで豚ホルモン（12.0%）、牛レバー（11.5%）の順に多かった。対照においても牛ホルモン（4.3%）が最も多く、次いで牛レバー（3.8%）であった。

生の野菜等の喫食（表 11）については、症例ではトマト及びキュウリがともに87.5%で最も多く、次いでキャベツ（80.0%）、レタス（77.3%）であった。対照においてはキュウリが75.2%で最も多く、次いでトマト（74.7%）、レタス（72.5%）、キャベツ（66.5%）であった。

果物及び未殺菌ジュースの喫食（表 12）については、症例ではブドウが20.0%で最も多く、次いでイチゴ以外のベリー種（8.3%）、メロン（8.0%）及びさくらんぼ（8.0%）であった。対照においても同様に、ブドウが29.7%で最も多く、次いでメロン（22.0%）、さくらんぼ（11.4%）であった。

冷凍野菜及び果物の喫食（表 13）については、症例の4.5%、対照の13.4%が冷凍野菜を摂取していた。冷凍果物のうち、マンゴーの摂取については、症例では4.2%、対照では1.7%であった。

焼肉、生肉の嗜好（表 14）については、症例では焼肉が好きと回答した者が 90.5%、生肉が好きと回答した者が 26.3%であったが、対照ではそれぞれ91.7%、36.0%であった。

5） cOR 及び aOR の算出（表 15-表 26）

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＝5.49, 95%CI:1.47-20.51, p＝0.011）及び保育関係の仕事（aOR＝25.74, 95%CI:1.98-∞, p＝0.015）において、有意な関連があった（表 15）。

発症前 1 週間の動物との接触と発症には有意な関連はみられなかった（表 16）。

プール等の利用と発症では、屋外プールの利用（aOR＝3.73, 95%CI:1.12-12.40, p＝0.032）において、有意な関連があった（表 17）。

砂場、飲料水、旅行（表 18）、他の子どもとの接触（表 19）と発症には有意な関連はみられなかった。

発症前1週間の赤身肉の喫食と発症では、肉類の喫食（aOR＝8.39, 95%CI:1.11-63.25, p＝0.039）、馬肉ユッケ／馬刺し（aOR＝13.88, 95%CI:1.08-∞, p ＝ 0.044）、半生の牛肉（aOR ＝ 8.70, 95 % CI:1.77-42.91, p＝0.008）、十分に加熱された牛肉（aOR＝5.26, 95%CI:1.87-14.85, p＝0.002）におい

て、有意な関連があった（表 20）。

発症前 1 週間の挽肉類の喫食と発症には有意な関連はみられなかった（表 21）。

発症前 1 週間の内臓肉の喫食と発症では、十分に加熱された内臓肉のうち、牛レバー（aOR＝3.96, 95％CI:1.00-15.65, p＝0.049）、牛ホルモン（aOR＝6.40, 95％CI:1.89-21.69, p＝0.003）、豚ホルモン（aOR＝8.50, 95％CI:1.62-44.73, p＝0.012）において有意な関連があった（表 22）。

発症前 1 週間の生の野菜等の喫食と発症では、ネギ（aOR＝3.05, 95％CI:1.22-7.59, p＝0.017）、パセリ（aOR＝4.70, 95％CI:1.15-19.18, p＝0.031）、キムチ（aOR＝5.60, 95％CI:2.15-14.56, p<0.001）において有意な関連があった（表 23）。

発症前 1 週間の果物及び未殺菌ジュースの喫食（表 24）、発症前 1 週間の冷凍野菜・果物の喫食（表 25）、焼肉、生肉の嗜好（表 26）と発症には有意な関連はみられなかった。

C-2. 平成 27 年度結果

1） 症例対照研究の対象者

調査期間中に症例 17 人の調査を行ったところ、血清群内訳は O157 14 人（82.4％）、O26 3 人（17.6％）であり、O157 が最も多かったことから、本研究では血清群 O157 の患者のみを症例とした。また、対照 157 人の調査を行い、下痢等の症状がなかった 123 人を対照とした。

2） 対象者の属性等（表 27-表 28）

対象者の属性（表 27）は、症例では男 6 人（42.9％）、女 8 人（57.1％）であった。年齢階級は、症例では 18 歳以上 40 歳未満（28.6％）が最も多く、次いで 40 歳以上 60 歳未満（21.4％）及び 60 歳以上（21.4％）であった。対照においては、40 歳以上 60 歳未満（25.2％）が最も多く、次いで 18 歳以上 40 歳未満（23.6％）であった。症例が呈した症状等は、水様性下痢（100.0％）、腹痛（85.7％）、血便（71.4％）の順に多く、入院加療は 35.7％であった。なお、溶血性尿毒症症候群（HUS）の発症者は 1 人（7.1％）であった（表 28）。

3） 環境との接触（表 29-表 33）

発症前 4 週間に同居家族が下痢症状を呈した症例は 21.4%、血便症状を呈した症例は 14.3%、腸管出血性大腸菌感染症と診断された症例は 14.3％であったが、対照では、それぞれ 6.0％、0.0％、0.0％であった。なお、症例の回答者 14 名中、同居家族が血便症状を呈し、腸管出血性大腸菌感染症と診断された 2 人（14.3%）は同居家族であり、同日に発症していた。仕事については、症例の 42.9％、対照の 59.3％がありと回答し、症例では食品の取扱いが 21.4％、医療・福祉関係が 0.0%、保育関係が 0.0%であった。一方、対照では食品の取扱いが 4.9％、医療・福祉関係が 4.1％、保育関係が 0.8％であった（表 29）。

発症前 1 週間の動物との接触（表 30）は、症例では 7.1％、対照では 22.0％であった。接触した動物は、症例では犬との接触（7.1％）が最も多く、対照ではその他の動物との接触（11.4％）、犬との接触（10.6％）の順に多かった。

発症前 1 週間のプール等の利用（表 31）は、症例では 28.6％、対照では 12.4％であり、屋外プールの利用については、症例では 14.3%、対照では 3.3%、公衆浴場の利用については、症例では 14.3%、対照では 2.5%であった。なお、症例の回答者 14 名中、公衆浴場を利用していた 2 名の利用施設は異なっていた。

発症前 1 週間の砂場の利用（18 歳未満）については、症例では 0.0%、対照では 30.0％であった。飲料水については、症例では 71.4%が公設水道を利用し、対照では 62.0％であった。また、市販のミネラルウォーターは症例では 50.0%が飲用し、対照では 61.2％であった。国内旅行の有無は症例では 28.6%、対照では 6.6％であった（表 32）。なお、症例の回答者 14 名中、国内旅行ありと回答した 4 名については、同居家族の 2 名を除き、訪問先は異なっていた。

対象者が 18 歳未満の場合の他の子どもとの接触（表 33）については、4 歳未満の子どもと同居は症例で 25.0％、対照で 14.6％であった。また、

保育園等に通園は症例では 50.0％、対照では 45.2％であった。

4） 食品の摂取（表 34-表 40）

食品の摂取のうち、赤身肉（表 34）については、肉類の喫食が症例では 100.0％、対照では 74.2％であった。生の赤身肉については、症例では摂取した者はいなかったが、対照では 1.6％が牛肉を摂取していた。半生の赤身肉については、症例、対照ともに牛肉のみ摂取しており、それぞれ 9.1％、1.6％であった。十分に加熱された赤身肉の摂取については、症例では豚肉（92.3％）、鶏肉（83.3％）、牛肉（76.9％）の順に多く、対照についても豚肉（59.3％）、鶏肉（58.3％）、牛肉（37.2％）の順に多かった。

挽肉類の喫食（表 35）については、症例では 58.3％、対照では 63.3％であった。生及び半生の挽肉については、症例、対照ともに摂取がなく、十分に加熱された挽肉の摂取については、症例では豚ミンチ（41.7％）、合挽きミンチ（36.4％）の順に多く、対照では合挽きミンチ（35.7％）、豚ミンチ（29.7％）、鶏ミンチ（15.2％）の順に多かった。

内臓肉の喫食（表 36）については、症例では 64.3％、対照では 24.2％であった。生の内臓肉については、症例、対照ともに摂取はなかったが、半生の内臓肉については、症例において牛レバー（7.7％）の摂取があった。十分に加熱された内臓肉の摂取については、症例では牛ホルモン（53.8％）が最も多く、次いで豚ホルモン（23.1％）、鶏レバー（7.1％）の順に多かった。対照においては豚ホルモン（5.0％）が最も多く、次いで牛レバー（4.1％）及び牛ホルモン（4.1％）であった。

生の野菜等の喫食（表 37）については、症例ではキャベツ及びトマトがともに 90.0％で最も多く、次いでキュウリ（81.8％）、レタス（63.6％）であった。対照においてはトマトが 67.8％で最も多く、次いでレタス（64.2％）、キュウリ（57.3％）、キャベツ（55.1％）であった。

果物及び未殺菌ジュースの喫食（表 38）については、症例ではメロンが 15.4％で最も多く、次いでブドウ（8.3％）、イチゴ（7.7％）及びマンゴー（7.7％）であった。対照においては、ブドウが 22.8％で最も多く、次いでメロン（17.1％）、さくらんぼ（13.8％）であった。

冷凍野菜及び果物の喫食（表 39）については、症例の 16.7％、対照の 13.9％が冷凍野菜を摂取していた。冷凍果物については、症例では摂取がなく、対照ではその他（5.7％）、マンゴー（1.6％）の順に多かった。

焼肉、生肉の嗜好（表 40）については、症例では焼肉が好きと回答した者が 92.3％、生肉が好きと回答した者が 28.6％であったが、対照ではそれぞれ 94.7％、31.1％であった。

5） cOR 及び aOR の算出（表 41-表 52）

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、同居家族に血便（aOR＝23.62, 95％CI:2.91-∞, p＝0.016）、同居家族に腸管出血性大腸菌感染症患者等（aOR＝23.67, 95％CI:2.90-∞, p＝0.016）において、有意な関連があった（表 41）。

発症前 1 週間の動物との接触と発症には有意な関連はみられなかった（表 42）。

プール等の利用と発症では、公衆浴場の利用（aOR＝7.93, 95％CI:1.04-60.81, p＝0.046）において、有意な関連があった（表 43）。

砂場、飲料水、旅行と発症では、国内旅行の有無（aOR＝6.80, 95％CI:1.47-31.40, p＝0.014）において、有意な関連があった（表 44）。

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（表 45）。

発症前 1 週間の赤身肉の喫食と発症では、肉類の喫食（aOR＝8.70, 95％CI:1.71-∞, p＝0.020）、十分に加熱された肉の喫食のうち、牛肉（aOR＝9.71, 95％CI:1.95-48.30, p＝0.005）及び豚肉（aOR＝8.06, 95％CI:1.01-64.49, p＝0.049）において、有意な関連があった（表 46）。

発症前 1 週間の挽肉類の喫食と発症には有意な関連はみられなかった（表 47）。

発症前1週間の内臓肉の喫食と発症では、内臓肉の喫食（aOR＝7.09，95％CI:1.94-25.92，p＝0.003）、十分に加熱された内臓肉の喫食のうち、牛ホルモン（aOR＝24.75，95％CI:5.04-121.50，p<0.001）及び豚ホルモン（aOR＝7.75，95％CI:1.48-40.45，p＝0.015）において有意な関連があった（表48）。

発症前 1 週間の生の野菜等の喫食と発症では、もやし（aOR＝5.71，95％CI:1.44-22.72，p＝0.013）において有意な関連があった（表49）。

発症前1週間の果物及び未殺菌ジュースの喫食（表 50）、発症前 1 週間の冷凍野菜・果物の喫食（表51）、焼肉、生肉の嗜好（表 52）と発症には有意な関連はみられなかった。

C-3. 平成 28 年度結果

調査期間中に症例 26 人の調査を行い、八幡研究分担者へデータ提供を行った。なお、症例の血清群内訳はO157 19 人（73.1％）、O26 5 人（19.2％）、O111 1 人（3.8％）、O121 1 人（3.8％）であった。

D. 考察

今回、本市データにおいて散発事例のリスクを推定したところ、平成 26 年度、平成 27 年度の各年度で発症と有意に関連した項目は異なっていたものの、ともに各年度の全国データと類似の傾向が認められた。

「同居家族に血便」及び「同居家族に腸管出血性大腸菌感染症患者等」については、平成 27 年度に腸管出血性大腸菌感染症の発症と有意に関連があったが、当該症例 2 名は同居家族であり、同日に発症していた。本研究では、全国調査と同様、家族内事例もそれぞれ症例と定義しているが、同居家族は共通の行動歴や喫食歴がみられることが多く、同一感染源に曝露される可能性が高いことから、解析結果は有意となったものの、解釈は慎重に行う必要があると考えられる。また、患者調査の際には、家族への感染も考慮に入れた調査を行うとともに、同居家族の健康診断を確実に実施する必要があると考えられる。さらに、2 次感染により後日発症するケースも考えられるため、発症した際の保健所への連絡を患者家族等へあらかじめ依頼しておくとともに、消毒方法等の2次感染予防に関する指導を徹底する必要がある。

「食品を取り扱う仕事」については、平成 26 年度に腸管出血性大腸菌感染症の発症と有意に関連があったが、これは食品取扱者が定期的に検便を実施する等、健康状態を注視していることが要因の一つと考えられる。食品取扱者の定期検便により腸管出血性大腸菌感染症患者等が発見され、患者等の就業制限が感染拡大防止に寄与していると考えられることから、食品取扱者への定期検便実施の指導を引き続き徹底する必要があると考えられる。なお、「保育関係の仕事」が腸管出血性大腸菌感染症の発症と有意に関連があったが、保育関係の仕事に従事していた症例 2 名はともに食品取扱者であった。保育関係従事者は、食事の介助等、食品を取り扱うケースも多いため、施設の状況等に応じて調理従事者と同様の衛生教育を行う必要があると考えられる。

「屋外プールの利用」については、平成 26 年度に腸管出血性大腸菌感染症の発症と有意に関連があったが、屋外プールは紫外線や温度の影響を受けやすく、遊離残留塩素濃度の維持が比較的困難であることが要因の一つと考えられる。遊泳用プールにおける衛生水準の確保については、「遊泳用プールの衛生基準について」（平成 19 年 5 月 28 日付け健発第 0528003 号厚生労働省健康局長通知）に基づき指導が行われており、本通知では、遊離残留塩素濃度については少なくとも毎日午前中 1 回以上及び午後 2 回以上の測定を、大腸菌については毎月 1 回以上の検査を行い、遊離残留塩素濃度が 0.4mg/l を下回った場合には、遊泳を一旦中止し、塩素剤を追加することとされている。また、遊離残留塩素濃度が 0.4mg/l 以上であるにもかかわらず大腸菌が検出された場合には、大腸菌の由来等を検討し、ろ過の改善等必要な措置を講ずることとされている。夏場や繁忙時は遊離残留塩素濃度の測定回数を増加する等、プール管理者に対し、状況に応じた水質検査の実

施等を引き続き指導するとともに、疫学調査の際には、プール水が原因である可能性を考慮に入れた調査を引き続き実施する必要があると考えられる。

「公衆浴場の利用」については、平成 27 年度に腸管出血性大腸菌感染症の発症と有意に関連があったが、当該症例 2 名の利用施設は異なっていた。うち 1 名が利用した施設は、公衆浴場法に定める施設ではなく、高齢者福祉施設の入浴施設であったが、複数人が入浴する利用形態であることから、本調査では公衆浴場に分類し、解析を行った。公衆浴場における衛生措置等の基準については、公衆浴場法に基づき各自治体において条例に定めており、本市においては「川崎市公衆浴場法施行条例」(平成 24 年 12 月 14 日条例第 64 号)を定め、各施設への監視指導を行っている。本条例では、ろ過器を 24 時間以上連続して使用している浴槽水は 1 年に 2 回以上水質検査を行い、水質基準に適合していることを確認することや浴槽水中の遊離残留塩素濃度を頻繁に測定し、1 リットル中 0.2mg 以上とすること等が定められている。一方、高齢者福祉施設の入浴施設の設置に関しては、法による定めがないため、本市においては「川崎市高齢者福祉施設等の入浴設備におけるレジオネラ症防止対策要綱」を策定し、高齢者福祉施設に対しても、公衆浴場に準じた衛生措置の基準を定めている。施設の設置者は当該基準に適合するよう努めるものと定められているが、法による規制はなく、全ての施設において必ずしも十分な管理が行われているわけではない。患者調査の際には、浴槽水が原因である可能性を考慮に入れた調査を実施するとともに、環境衛生監視員と連携し、高齢者福祉施設も含めた利用施設に対し、引き続き指導を実施していく必要があると考えられる。

「国内旅行の有無」については、平成 27 年度に腸管出血性大腸菌感染症の発症と有意に関連があった。当該症例 4 名のうち同居家族の 2 名を除き、旅行先は異なっていたが、当該症例はそれぞれ旅行先で感染した可能性がある。当該症例に家族内事例が含まれていることから、解析結果の解釈は慎重に行う必要はあるが、旅行の際は、食事や入浴、動物との接触等、通常と異なる行動をとることが多いことから、日常より感染のリスクが高いと考えられる。したがって疫学調査の際には、潜伏期間内の行動歴を確実に把握しておく必要がある。また、近年では腸管出血性大腸菌感染症の広域散発事例が発生しているが、原因食品等が広域に流通しているケースのみならず、旅行先で感染し、帰宅後発症しているケースもあると考えられることから、自治体間で連携し、必要な情報を共有することが重要と考えられる。

「肉類」については、平成 23 年 10 月から生食用食肉の規格基準が定められ、平成 24 年 7 月から生食用牛レバーの販売・提供が禁止される等、生肉の提供に関する規制が強化されており、本市が平成 25 年度に実施した症例対照研究においても規制による効果が示唆された。しかしながら、平成 26 年度においては「赤身肉の喫食」、「十分に加熱された牛肉の喫食」、「十分に加熱された内臓肉(牛レバー、牛ホルモン、豚ホルモン)の喫食」が、平成 27 年度においては「赤身肉の喫食」、「十分に加熱された赤身肉(牛肉、豚肉)の喫食」、「内臓肉の喫食」、「十分に加熱された内臓肉(牛ホルモン、豚ホルモン)の喫食」が腸管出血性大腸菌感染症の発症と有意に関連があったことから、肉の加熱が不十分であった可能性や喫食前に何らかの交差汚染があった可能性が考えられる。焼肉店等に対する指導を強化するとともに、市民に対しても十分に肉を加熱する必要性について啓発していく必要があると考えられる。また、生肉の提供に関する規制が強化されて以降、本市においては牛肉ユッケ、牛生レバーを喫食した腸管出血性大腸菌感染症患者の発生は平成 26 年度の 1 名のみであり、平成 27 年度の調査においては牛肉ユッケ、牛生レバーを喫食した者はいなかった。しかしながら、症例、対照ともに、生又は半生の牛肉を喫食している者がいたことから、生肉の喫食の危険性については引き続き啓発していく必要があると考えられる。

「生の野菜等の喫食」については、平成 26 年度はネギ、パセリ、キムチが発症と有意に関連しており、平成 27 年度はもやしが発症と有意に関

連していたが、喫食時の交差汚染の可能性もあり、今後肉類の喫食との関連性を検討し、慎重に解釈する必要があると考えられる。

本研究結果から、自治体における症例対照研究は、長期的な食中毒対策に利用できると考えられる。ただし、症例数が少ないため、家族内発生例を個別の散発例として解析を行うことで誤った結果が導かれる可能性もあることから、自治体において症例対照研究を行う際には、症例定義を再検討するとともに、解釈を慎重に行う必要があると考えられる。

また、症例対照研究は、思い出しバイアスがかかる可能性があるとともに、対照調査データの収集に時間を要することから、アウトブレイク発生時における対策へいかに応用し、原因食品の遡り調査を実施するかは、今後の課題である。また、自治体においては症例数が少ないことから、第一種の過誤が発生する可能性を考慮しておく必要がある。

なお、本市においては、平成 24 年度から本調査を実施し、統計解析については国立感染症研究所感染症疫学センターに依頼してきたが、平成 27 年度は初めて、本市において統計解析ソフト（IBM SPSS Statistics ver.23）を用いてオッズ比の算出を行った。ただし、当該ソフトでは Exact conditional logistic regression analysis を行うことができないため、一部の項目については、SAS を用いた解析を国立感染症研究所感染症疫学センターに依頼した。自治体において解析作業を行うことで、利用施設情報等の詳細な疫学調査結果を考慮に入れながら迅速に解析を行うことができることから、可能な限り自治体において解析作業を行い、必要に応じて国立感染症研究所感染症疫学センターの技術支援を受けるべきと考えられる。また、対照調査データの収集については、国立感染症研究所感染症疫学センターにおいて実施していたため、平成 27 年度は本市において独自に収集を行うことも検討したが、自治体単独でインターネット調査会社と契約するには莫大なコストがかかることから、データ収集については、国において一括で行うべきと考える。

E. 結論

自治体における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。本結果を踏まえ、今後自治体と国立感染症研究所が連携して散発事例の原因究明に取り組むべきと考える。

F. 謝辞

本研究の調査に御協力いただきました川崎市の本庁並びに保健所支所の関係各位に厚く御礼申し上げます。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 丸山 絢、八幡裕一郎、三﨑貴子、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. 第 73 回日本公衆衛生学会総会,栃木,2014 年 11 月
2) 丸山 絢、八幡裕一郎、三﨑貴子、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. 第 74 回日本公衆衛生学会総会,長崎,2015 年 11 月
3) 丸山 絢、八幡裕一郎、三﨑貴子、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,大阪,2016 年 10 月

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. 対象者の属性（平成 26 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
性別				
男	14	53.8	129	53.8
女	12	46.2	111	46.3
年齢階級				
2 歳未満	0	0.0	0	0.0
2 歳以上 6 歳未満	1	3.8	9	3.8
6 歳以上 12 歳未満	4	15.4	31	12.9
12 歳以上 18 歳未満	4	15.4	34	14.2
18 歳以上 40 歳未満	8	30.8	66	27.5
40 歳以上 60 歳未満	6	23.1	61	25.4
60 歳以上	3	11.5	39	16.3

表 2. 症例が呈した症状等（N=26）（平成 26 年度）

	人	%
腹痛	26	100.0
水様性下痢	21	80.8
血便	20	76.9
嘔吐	3	11.5
発熱	9	34.6
痙攣	0	0.0
昏睡	0	0.0
溶血性貧血	0	0.0
急性腎不全	0	0.0
溶血性尿毒症症候群（HUS）	1	3.8
脳症	0	0.0
入院加療	15	57.7

表 3. 同居家族の健康・仕事の有無（平成 26 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
同居家族				
下痢	2/26	7.7	14/225	6.2
血便	0/26	0.0	1/231	0.4
腸管出血性大腸菌	1/26	3.8	0/240	0.0
仕事の有無	15/26	57.7	136/240	56.7
食品の取扱い	4/26	15.4	7/240	2.9
医療・福祉関係	0/26	0.0	11/240	4.6
保育関係	2/26	7.7	0/239	0.0

表 4. 動物との接触（平成 26 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
動物との接触	7/26	26.9	55/227	24.2
接触した動物 牛	0/26	0.0	0/227	0.0
接触した動物 羊	0/26	0.0	0/227	0.0
接触した動物 馬	0/26	0.0	1/227	0.4
接触した動物 鹿	0/26	0.0	0/227	0.0
接触した動物 ヤギ	0/26	0.0	1/227	0.4
接触した動物 豚	0/26	0.0	1/227	0.4
接触した動物 犬	5/26	19.2	28/227	12.3
接触した動物 鶏	0/26	0.0	0/227	0.0
接触した動物 アヒル	0/26	0.0	0/227	0.0
接触した動物 その他	4/26	15.4	26/227	11.5

表 5. プール等の利用（平成 26 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
プール等の利用	7/26	26.9	47/236	19.9
屋内プール	1/26	3.8	22/236	9.3
屋外プール	6/26	23.1	21/236	8.9
子供用ビニールプール	1/26	3.8	4/236	1.7
公衆浴場	2/26	7.7	5/236	2.1
池	0/26	0.0	0/236	0.0
湖	0/26	0.0	0/236	0.0
川	0/26	0.0	1/236	0.4
海	0/26	0.0	3/236	1.3
その他	0/26	0.0	1/236	0.4

表 6. 砂場、飲料水、旅行（平成 26 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
砂場の利用（18 歳未満）	0/8	0.0	6/70	8.6
飲料水				
公設水道	19/26	73.1	135/237	57.0
簡易水道	0/26	0.0	10/237	4.2
私設井戸水	0/26	0.0	2/237	0.8
市販のミネラルウォーター	15/26	57.7	155/237	65.4
その他の飲料水	1/26	3.8	19/237	8.0
浄化されてない水の飲用	0/26	0.0	1/236	0.4
海外旅行の有無	0/26	0.0	2/239	0.8
国内旅行の有無	4/26	15.4	23/238	9.7

表 7. 他の子どもとの接触（18 歳未満の場合）（平成 26 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
4 歳未満の子どもと同居	1/9	11.1	15/74	20.3
4 歳未満の子どもが訪問	0/9	0.0	5/74	6.8
4 歳未満の子どもの家庭訪問	1/9	11.1	4/73	5.5
子どものおむつ交換	0/9	0.0	2/71	2.8
保育園等に通園	1/9	11.1	4/74	5.4
保育園等に下痢の子ども	0/7	0.0	0/2	0.0

表 8. 食品の摂取（赤身肉）（平成 26 年度）

食品名	症例 人	症例 %	対照 人	対照 %
肉類の喫食あり	24/25	96.0	170/236	72.0
生肉				
牛肉（生）	1/25	4.0	1/240	0.4
豚肉（生）	0/25	0.0	0/240	0.0
鶏肉（生）	0/25	0.0	0/240	0.0
牛肉ユッケ	1/25	4.0	0/240	0.0
馬肉ユッケ／馬刺し	2/25	8.0	0/240	0.0
その他ユッケ	0/24	0.0	0/240	0.0
半生の肉				
牛肉（半生）	4/22	18.2	6/240	2.5
豚肉（半生）	0/23	0.0	0/240	0.0
鶏肉（半生）	1/22	4.5	0/240	0.0
十分に加熱された肉				
牛肉（十分に加熱）	19/24	79.2	85/221	38.5
豚肉（十分に加熱）	18/24	75.0	132/224	58.9
鶏肉（十分に加熱）	20/25	80.0	129/224	57.6

表 9. 食品の摂取（挽肉類）（平成 26 年度）

食品名	症例 人	症例 %	対照 人	対照 %
挽肉類の喫食あり	9/22	40.9	150/236	63.6
生の挽肉				
牛ミンチ（生）	0/24	0.0	0/240	0.0
豚ミンチ（生）	0/24	0.0	0/240	0.0
鶏ミンチ（生）	0/24	0.0	0/240	0.0
合挽きミンチ（生）	0/24	0.0	0/240	0.0
半生の挽肉				
牛ミンチ（半生）	0/24	0.0	0/240	0.0
豚ミンチ（半生）	0/24	0.0	0/240	0.0
鶏ミンチ（半生）	0/24	0.0	0/240	0.0
合挽きミンチ（半生）	0/24	0.0	0/240	0.0
十分に加熱された挽肉				
牛ミンチ（十分に加熱）	3/21	14.3	26/213	12.2
豚ミンチ（十分に加熱）	5/21	23.8	69/214	32.2
鶏ミンチ（十分に加熱）	0/22	0.0	25/215	11.6
合挽きミンチ（十分に加熱）	6/21	28.6	84/220	38.2

表 10. 食品の摂取（内臓肉）（平成 26 年度）

食品名	症例		対照	
	人	%	人	%
内臓肉の喫食	8/26	30.8	49/236	20.8
生の内臓肉				
牛レバー（生）	1/26	3.8	0/240	0.0
牛ホルモン（生）	0/26	0.0	0/240	0.0
豚レバー（生）	0/26	0.0	0/240	0.0
豚ホルモン（生）	0/26	0.0	0/240	0.0
鶏レバー（生）	0/26	0.0	0/240	0.0
鶏ホルモン（生）	0/26	0.0	0/240	0.0
その他内臓肉（生）	0/25	0.0	0/240	0.0
半生の内臓肉				
牛レバー（半生）	0/26	0.0	0/240	0.0
牛ホルモン（半生）	0/24	0.0	0/240	0.0
豚レバー（半生）	0/26	0.0	0/240	0.0
豚ホルモン（半生）	0/25	0.0	0/240	0.0
鶏レバー（半生）	0/26	0.0	0/240	0.0
鶏ホルモン（半生）	0/25	0.0	0/240	0.0
その他内臓肉（半生）	0/25	0.0	0/240	0.0
十分に加熱された内臓肉				
牛レバー（十分に加熱）	3/26	11.5	9/234	3.8
牛ホルモン（十分に加熱）	6/26	23.1	10/233	4.3
豚レバー（十分に加熱）	0/26	0.0	6/232	2.6
豚ホルモン（十分に加熱）	3/25	12.0	4/232	1.7
鶏レバー（十分に加熱）	0/26	0.0	7/234	3.0
鶏ホルモン（十分に加熱）	0/25	0.0	2/234	0.9
その他内臓肉（十分に加熱）	1/25	4.0	2/224	0.9

表 11. 食品の摂取（野菜）（平成 26 年度）

食品名	症例		対照	
	人	%	人	%
生の野菜等の喫食				
レタス	17/22	77.3	161/222	72.5
キャベツ	20/25	80.0	149/224	66.5
トマト	21/24	87.5	171/229	74.7
ピーマン	7/22	31.8	47/218	21.6
大根	7/21	33.3	62/220	28.2
キュウリ	21/24	87.5	173/230	75.2
ネギ	15/24	62.5	87/215	40.5
タマネギ	11/22	50.0	63/219	28.8
セロリ	3/21	14.3	20/214	9.3
ニンジン	7/19	36.8	58/215	27.0
カイワレ大根	1/20	5.0	19/213	8.9
アルファルファ	0/20	0.0	2/214	0.9
その他発芽野菜・スプラウト	0/18	0.0	11/210	5.2
パセリ	4/20	20.0	12/214	5.6
大葉（青じそ）	1/18	5.6	54/215	25.1
クレソン	1/21	4.8	6/215	2.8
もやし	5/21	23.8	23/211	10.9
キムチ	11/21	52.4	41/215	19.1
漬物	9/20	45.0	82/218	37.6
浅漬け	4/18	22.2	65/215	30.2

表 12. 食品の摂取（果物、未殺菌ジュース）（平成 26 年度）

	症例		対照	
食品名	人	%	人	%
果物				
イチゴ	1/24	4.2	9/234	3.8
イチゴ以外のベリー種	2/24	8.3	15/231	6.5
メロン	2/25	8.0	50/227	22.0
ブドウ	5/25	20.0	68/229	29.7
さくらんぼ	2/25	8.0	26/229	11.4
マンゴー	0/23	0.0	20/230	8.7
未殺菌ジュース				
未殺菌りんごジュース	0/25	0.0	1/222	0.5
未殺菌オレンジジュース	0/25	0.0	3/223	1.3

表 13. 食品の摂取（冷凍野菜・果物）（平成 26 年度）

	症例		対照	
食品名	人	%	人	%
冷凍野菜	1/22	4.5	31/232	13.4
冷凍果物				
マンゴー	1/24	4.2	4/237	1.7
パパイヤ	0/24	0.0	1/235	0.4
その他	2/22	9.1	3/231	1.3

表 14. 焼肉、生肉の嗜好（平成 26 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
焼肉が好き	19/21	90.5	210/229	91.7
生肉が好き	5/19	26.3	71/197	36.0

表 15. 同居家族の健康・仕事の有無と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI[b)]	p value	aOR[c)]	95% CI[b)]	p value
同居家族						
下痢	1.39	0.29-6.66	0.684	1.39	0.28-6.91	0.685
血便	11.00	0.00-429.00	1.000	11.19	0.00-436.26	1.000
腸管出血性大腸菌	17.00	0.44-∞	0.111	17.13	0.44-∞	0.110
仕事の有無	1.04	0.42-2.59	0.928	1.05	0.41-2.69	0.915
食品の取扱い	5.45	1.47-20.21	**0.011**	5.49	1.47-20.51	**0.011**
医療・福祉関係	0.64	0.00-4.14	0.693	0.64	0.00-4.12	0.690
保育関係	25.34	1.97-∞	**0.015**	25.74	1.98-∞	**0.015**

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

表 16. 動物との接触と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI[b)]	p value	aOR[c)]	95% CI[b)]	p value
動物との接触	1.22	0.48-3.06	0.678	1.22	0.48-3.06	0.678
接触した動物 牛	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 羊	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 馬	7.00	0.00-273.00	1.000	7.02	0.00-273.78	1.000
接触した動物 鹿	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 ヤギ	7.00	0.00-273.00	1.000	7.02	0.00-273.78	1.000
接触した動物 豚	17.00	0.00-663.00	1.000	16.81	0.00-655.71	1.000
接触した動物 犬	1.62	0.56-4.70	0.373	1.62	0.56-4.70	0.374
接触した動物 鶏	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 アヒル	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 その他	1.72	0.53-5.59	0.367	1.72	0.53-5.59	0.368

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 17. プール等の利用と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
プール等の利用	1.34	0.51-3.48	0.554	1.35	0.51-3.53	0.547
屋内プール	0.31	0.04-2.51	0.273	0.31	0.04-2.51	0.274
屋外プール	3.51	1.10-11.19	**0.034**	3.73	1.12-12.40	**0.032**
子供用ビニールプール	2.62	0.21-32.21	0.453	2.65	0.21-33.03	0.449
公衆浴場	2.83	0.51-15.63	0.233	2.85	0.51-16.13	0.236
池	NA[d)]			NA[d)]		
湖	NA[d)]			NA[d)]		
川	13.00	0.00-507.00	1.000	13.50	0.00-526.52	1.000
海	2.47	0.00-23.13	1.000	2.50	0.00-23.01	1.000
その他	11.00	0.00-429.00	1.000	11.30	0.00-440.55	1.000

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 18. 砂場、飲料水、旅行と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
砂場の利用（18 歳未満）	0.97	0.00-11.16	0.982	0.87	0.00-9.69	0.916
飲料水						
公設水道	2.18	0.86-5.50	0.100	2.18	0.86-5.51	0.100
簡易水道	0.73	0.00-4.63	0.780	0.72	0.00-4.60	0.778
私設井戸水	2.51	0.00-34.60	1.000	2.56	0.00-35.85	1.000
市販のミネラルウォーター	0.69	0.28-1.70	0.420	0.69	0.28-1.70	0.420
その他の飲料水	0.49	0.06-3.79	0.497	0.49	0.06-3.79	0.496
浄化されていない水の飲用	5.00	0.00-195.00	1.000	5.07	0.00-197.80	1.000
海外旅行の有無	3.85	0.00-49.85	1.000	3.95	0.00-52.02	1.000
国内旅行の有無	1.37	0.41-4.56	0.614	1.36	0.41-4.56	0.615

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

表 19. 他の子どもとの接触と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
4 歳未満の子どもと同居	0.65	0.07-6.07	0.703	0.71	0.07-6.92	0.768
4 歳未満の子どもが訪問	1.56	0.00-12.70	1.000	1.45	0.00-11.63	1.000
4 歳未満の子どもの家庭訪問	3.11	0.27-35.88	0.362	3.28	0.28-38.87	0.346
子どものおむつ交換	3.10	0.00-39.83	1.000	2.56	0.00-34.02	1.000
保育園等に通園	2.94	0.23-37.66	0.408	3.18	0.22-45.76	0.396
保育園等に下痢の子ども	NA[d)]			NA[d)]		

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 20. 赤身肉の喫食と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
肉類の喫食あり	8.39	1.11-63.31	**0.039**	8.39	1.11-63.25	**0.039**
生肉						
牛肉（生）	11.49	0.72-183.80	0.084	11.47	0.72-184.02	0.085
豚肉（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏肉（生）	NA[d)]			NA[d)]		
牛肉ユッケ	11.00	0.28-∞	0.167	10.46	0.27-∞	0.175
馬肉ユッケ／馬刺し	14.43	1.11-∞	**0.042**	13.88	1.08-∞	**0.044**
その他ユッケ	NA[d)]			NA[d)]		
半生の肉						
牛肉（半生）	8.65	1.77-42.34	**0.008**	8.70	1.77-42.91	**0.008**
豚肉（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏肉（半生）	9.00	0.23-∞	0.200	8.73	0.22-∞	0.206
十分に加熱された肉						
牛肉（十分に加熱）	5.20	1.86-14.54	**0.002**	5.26	1.87-14.85	**0.002**
豚肉（十分に加熱）	1.87	0.71-4.94	0.206	1.87	0.71-4.94	0.206
鶏肉（十分に加熱）	2.68	0.95-7.56	0.062	2.71	0.96-7.64	0.059

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 21. 挽肉類の喫食と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
挽肉類の喫食あり	0.37	0.15-0.93	0.034	0.36	0.14-0.91	0.032
生の挽肉						
牛ミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
合挽きミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
半生の挽肉						
牛ミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
合挽きミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
十分に加熱された挽肉						
牛ミンチ（十分に加熱）	1.38	0.36-5.33	0.640	1.52	0.38-6.08	0.554
豚ミンチ（十分に加熱）	0.73	0.24-2.24	0.583	0.69	0.22-2.11	0.510
鶏ミンチ（十分に加熱）	0.34	0.00-2.10	0.289	0.34	0.00-2.11	0.293
合挽きミンチ（十分に加熱）	0.62	0.23-1.73	0.363	0.62	0.23-1.73	0.363

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 22. 内臓肉の喫食と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
内臓肉の喫食	1.73	0.68-4.39	0.250	1.76	0.69-4.52	0.240
生の内臓肉						
牛レバー（生）	11.00	0.28-∞	0.167	11.16	0.29-∞	0.165
牛ホルモン（生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚レバー（生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ホルモン（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏レバー（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ホルモン（生）	NA[d)]			NA[d)]		
その他内臓肉（生）	NA[d)]			NA[d)]		
半生の内臓肉						
牛レバー（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
牛ホルモン（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚レバー（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ホルモン（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏レバー（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ホルモン（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
その他内臓肉（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
十分に加熱された内臓肉						
牛レバー（十分に加熱）	3.93	1.01-15.36	**0.049**	3.96	1.00-15.65	**0.049**
牛ホルモン（十分に加熱）	6.33	1.88-21.32	**0.003**	6.40	1.89-21.69	**0.003**
豚レバー（十分に加熱）	0.91	0.00-7.70	0.941	0.92	0.00-7.79	0.947
豚ホルモン（十分に加熱）	8.15	1.60-41.48	**0.012**	8.50	1.62-44.73	**0.012**
鶏レバー（十分に加熱）	1.11	0.00-7.42	1.000	1.11	0.00-7.38	1.000
鶏ホルモン（十分に加熱）	4.11	0.00-52.94	1.000	4.26	0.00-55.90	1.000
その他内臓肉（十分に加熱）	5.99	0.54-66.80	0.146	6.12	0.54-69.04	0.143

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 23. 野菜の喫食と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
生の野菜等の喫食						
レタス	1.63	0.56-4.72	0.368	1.64	0.57-4.75	0.363
キャベツ	2.74	0.90-8.40	0.077	2.75	0.90-8.46	0.077
トマト	2.81	0.79-10.00	0.112	2.92	0.81-10.54	0.101
ピーマン	1.92	0.72-5.12	0.192	1.91	0.72-5.10	0.195
大根	1.46	0.56-3.83	0.440	1.44	0.54-3.83	0.469
キュウリ	2.50	0.73-8.61	0.147	2.55	0.73-8.83	0.141
ネギ	3.02	1.22-7.49	**0.017**	3.05	1.22-7.59	**0.017**
タマネギ	2.45	0.96-6.21	0.060	2.42	0.95-6.16	0.064
セロリ	1.77	0.45-6.86	0.412	1.79	0.46-6.99	0.403
ニンジン	1.71	0.62-4.70	0.299	1.70	0.62-4.70	0.306
カイワレ大根	0.55	0.07-4.29	0.569	0.57	0.07-4.49	0.596
アルファルファ	3.93	0.00-50.50	1.000	3.86	0.00-48.93	1.000
その他発芽野菜・スプラウト	0.85	0.00-6.03	0.892	0.90	0.00-6.43	0.928
パセリ	4.88	1.21-19.67	**0.026**	4.70	1.15-19.18	**0.031**
大葉（青じそ）	0.17	0.02-1.38	0.098	0.17	0.02-1.39	0.099
クレソン	1.80	0.20-16.48	0.605	1.88	0.20-17.46	0.580
もやし	2.74	0.88-8.51	0.082	2.70	0.87-8.43	0.086
キムチ	5.60	2.16-14.54	**<0.001**	5.60	2.15-14.56	**<0.001**
漬物	1.35	0.53-3.47	0.529	1.37	0.53-3.53	0.512
浅漬け	0.63	0.20-1.98	0.425	0.63	0.20-1.98	0.427

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

表 24. 果物及び未殺菌ジュースの喫食と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
果物						
イチゴ	1.28	0.15-11.06	0.821	1.28	0.15-11.11	0.825
イチゴ以外のベリー種	1.68	0.36-7.88	0.508	1.66	0.35-7.77	0.521
メロン	0.34	0.08-1.52	0.159	0.33	0.07-1.47	0.145
ブドウ	0.59	0.20-1.73	0.334	0.57	0.19-1.70	0.312
さくらんぼ	0.99	0.20-5.03	0.993	0.99	0.19-5.01	0.985
マンゴー	0.47	0.00-2.91	0.479	0.46	0.00-2.87	0.471
未殺菌ジュース						
未殺菌りんごジュース	11.00	0.00-429.00	1.000	11.25	0.00-438.88	1.000
未殺菌オレンジジュース	2.55	0.00-23.86	1.000	2.67	0.00-25.67	1.000

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

表 25. 冷凍野菜・果物の喫食と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
冷凍野菜	0.36	0.05-2.84	0.330	0.36	0.05-2.84	0.330
冷凍果物						
マンゴー	3.06	0.31-29.99	0.337	3.07	0.31-30.10	0.336
パパイヤ	NA[d)]			NA[d)]		
その他	6.80	0.90-51.28	0.063	7.08	0.93-54.00	0.059

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 26. 焼肉、生肉の嗜好と EHEC 発症との関連（平成 26 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
焼肉が好き	0.81	0.16-4.21	0.803	0.82	0.16-4.26	0.814
生肉が好き	0.74	0.25-2.19	0.579	0.77	0.26-2.30	0.635

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

表 27. 対象者の属性（平成 27 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
性別				
男	6	42.9	65	52.8
女	8	57.1	58	47.2
年齢階級				
2 歳未満	0	0.0	0	0.0
2 歳以上 6 歳未満	2	14.3	22	17.9
6 歳以上 12 歳未満	2	14.3	20	16.3
12 歳以上 18 歳未満	0	0.0	0	0.0
18 歳以上 40 歳未満	4	28.6	29	23.6
40 歳以上 60 歳未満	3	21.4	31	25.2
60 歳以上	3	21.4	21	17.1

表 28. 症例が呈した症状等（N=14）（平成 27 年度）

	人	%
腹痛	12	85.7
水様性下痢	14	100.0
血便	10	71.4
嘔吐	3	21.4
発熱	2	14.3
痙攣	0	0.0
昏睡	0	0.0
溶血性貧血	1	7.1
急性腎不全	1	7.1
溶血性尿毒症症候群（HUS）	1	7.1
脳症	0	0.0
入院加療	5	35.7

表 29. 同居家族の健康・仕事の有無（平成 27 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
同居家族				
下痢	3/14	21.4	7/116	6.0
血便	2/14	14.3	0/118	0.0
腸管出血性大腸菌	2/14	14.3	0/123	0.0
仕事の有無	6/14	42.9	73/123	59.3
食品の取扱い	3/14	21.4	6/122	4.9
医療・福祉関係	0/14	0.0	5/123	4.1
保育関係	0/14	0.0	1/123	0.8

表 30. 動物との接触（平成 27 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
動物との接触	1/14	7.1	27/123	22.0
接触した動物 牛	0/14	0.0	0/123	0.0
接触した動物 羊	0/14	0.0	0/123	0.0
接触した動物 馬	0/14	0.0	0/123	0.0
接触した動物 鹿	0/14	0.0	0/123	0.0
接触した動物 ヤギ	0/14	0.0	1/123	0.8
接触した動物 豚	0/14	0.0	1/123	0.8
接触した動物 犬	1/14	7.1	13/123	10.6
接触した動物 鶏	0/14	0.0	1/123	0.8
接触した動物 アヒル	0/14	0.0	1/123	0.8
接触した動物 その他	0/14	0.0	14/123	11.4

表 31. プール等の利用（平成 27 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
プール等の利用	4/14	28.6	15/121	12.4
屋内プール	2/14	14.3	7/121	5.8
屋外プール	2/14	14.3	4/121	3.3
子供用ビニールプール	0/14	0.0	2/121	1.7
公衆浴場	2/14	14.3	3/121	2.5
池	0/14	0.0	1/121	0.8
湖	0/14	0.0	0/121	0.0
川	0/14	0.0	0/121	0.0
海	0/14	0.0	2/121	1.7
その他	0/14	0.0	0/121	0.0

表 32. 砂場、飲料水、旅行（平成 27 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
砂場の利用（18 歳未満）	0/2	0.0	12/40	30.0
飲料水				
公設水道	10/14	71.4	75/121	62.0
簡易水道	0/14	0.0	6/121	5.0
私設井戸水	0/14	0.0	0/121	0.0
市販のミネラルウォーター	7/14	50.0	74/121	61.2
その他の飲料水	0/14	0.0	11/121	9.1
浄化されてない水の飲用	0/14	0.0	1/121	0.8
海外旅行の有無	0/14	0.0	0/122	0.0
国内旅行の有無	4/14	28.6	8/122	6.6

表 33. 他の子どもとの接触（18 歳未満の場合）（平成 27 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
4 歳未満の子どもと同居	1/4	25.0	6/41	14.6
4 歳未満の子どもが訪問	0/4	0.0	3/40	7.5
4 歳未満の子どもの家庭訪問	0/4	0.0	3/39	7.7
子どものおむつ交換	0/4	0.0	2/41	4.9
保育園等に通園	2/4	50.0	19/42	45.2
保育園等に下痢の子ども	0/2	0.0	0/10	0.0

表 34. 食品の摂取（赤身肉）（平成 27 年度）

食品名	症例 人	症例 %	対照 人	対照 %
肉類の喫食あり	14/14	100.0	89/120	74.2
生肉				
牛肉（生）	0/14	0.0	2/123	1.6
豚肉（生）	0/14	0.0	0/123	0.0
鶏肉（生）	0/14	0.0	0/123	0.0
牛肉ユッケ	0/14	0.0	0/123	0.0
馬肉ユッケ／馬刺し	0/13	0.0	0/123	0.0
その他ユッケ	0/14	0.0	0/123	0.0
半生の肉				
牛肉（半生）	1/11	9.1	2/123	1.6
豚肉（半生）	0/11	0.0	0/123	0.0
鶏肉（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
十分に加熱された肉				
牛肉（十分に加熱）	10/13	76.9	42/113	37.2
豚肉（十分に加熱）	12/13	92.3	70/118	59.3
鶏肉（十分に加熱）	10/12	83.3	70/120	58.3

表 35. 食品の摂取（挽肉類）（平成 27 年度）

食品名	症例 人	症例 %	対照 人	対照 %
挽肉類の喫食あり	7/12	58.3	76/120	63.3
生の挽肉				
牛ミンチ（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
豚ミンチ（生）	0/14	0.0	0/123	0.0
鶏ミンチ（生）	0/14	0.0	0/123	0.0
合挽きミンチ（生）	0/14	0.0	0/123	0.0
半生の挽肉				
牛ミンチ（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
豚ミンチ（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
鶏ミンチ（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
合挽きミンチ（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
十分に加熱された挽肉				
牛ミンチ（十分に加熱）	0/11	0.0	14/109	12.8
豚ミンチ（十分に加熱）	5/12	41.7	33/111	29.7
鶏ミンチ（十分に加熱）	0/11	0.0	17/112	15.2
合挽きミンチ（十分に加熱）	4/11	36.4	41/115	35.7

表 36. 食品の摂取（内臓肉）（平成 27 年度）

食品名	症例		対照	
	人	%	人	%
内臓肉の喫食	9/14	64.3	29/120	24.2
生の内臓肉				
牛レバー（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
牛ホルモン（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
豚レバー（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
豚ホルモン（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
鶏レバー（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
鶏ホルモン（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
その他内臓肉（生）	0/13	0.0	0/123	0.0
半生の内臓肉				
牛レバー（半生）	1/13	7.7	0/123	0.0
牛ホルモン（半生）	0/12	0.0	0/123	0.0
豚レバー（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
豚ホルモン（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
鶏レバー（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
鶏ホルモン（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
その他内臓肉（半生）	0/13	0.0	0/123	0.0
十分に加熱された内臓肉				
牛レバー（十分に加熱）	0/13	0.0	5/122	4.1
牛ホルモン（十分に加熱）	7/13	53.8	5/121	4.1
豚レバー（十分に加熱）	0/13	0.0	3/121	2.5
豚ホルモン（十分に加熱）	3/13	23.1	6/120	5.0
鶏レバー（十分に加熱）	1/14	7.1	1/119	0.8
鶏ホルモン（十分に加熱）	0/13	0.0	0/120	0.0
その他内臓肉（十分に加熱）	0/13	0.0	2/117	1.7

表 37. 食品の摂取（野菜）（平成 27 年度）

食品名	症例		対照	
	人	%	人	%
生の野菜等の喫食				
レタス	7/11	63.6	77/120	64.2
キャベツ	9/10	90.0	65/118	55.1
トマト	9/10	90.0	80/118	67.8
ピーマン	1/10	10.0	20/115	17.4
大根	4/11	36.4	38/116	32.8
キュウリ	9/11	81.8	67/117	57.3
ネギ	3/11	27.3	44/117	37.6
タマネギ	4/9	44.4	35/116	30.2
セロリ	0/10	0.0	13/116	11.2
ニンジン	5/12	41.7	37/117	31.6
カイワレ大根	0/10	0.0	9/119	7.6
アルファルファ	0/11	0.0	4/119	3.4
その他発芽野菜・スプラウト	0/10	0.0	3/114	2.6
パセリ	0/11	0.0	12/119	10.1
大葉（青じそ）	0/11	0.0	36/119	30.3
クレソン	0/11	0.0	4/119	3.4
もやし	5/12	41.7	16/118	13.6
キムチ	5/12	41.7	32/119	26.9
漬物	1/12	8.3	37/119	31.1
浅漬け	2/13	15.4	29/118	24.6

表 38. 食品の摂取（果物、未殺菌ジュース）（平成 27 年度）

	症例		対照	
食品名	人	%	人	%
果物				
イチゴ	1/13	7.7	7/123	5.7
イチゴ以外のベリー種	0/12	0.0	6/123	4.9
メロン	2/13	15.4	21/123	17.1
ブドウ	1/12	8.3	28/123	22.8
さくらんぼ	0/12	0.0	17/123	13.8
マンゴー	1/13	7.7	4/121	3.3
未殺菌ジュース				
未殺菌りんごジュース	0/13	0.0	0/122	0.0
未殺菌オレンジジュース	0/13	0.0	1/121	0.8

表 39. 食品の摂取（冷凍野菜・果物）（平成 27 年度）

	症例		対照	
食品名	人	%	人	%
冷凍野菜	2/12	16.7	17/122	13.9
冷凍果物				
マンゴー	0/12	0.0	2/122	1.6
パパイヤ	0/12	0.0	0/123	0.0
その他	0/12	0.0	7/122	5.7

表 40. 焼肉、生肉の嗜好（平成 27 年度）

	症例		対照	
	人	%	人	%
焼肉が好き	12/13	92.3	107/113	94.7
生肉が好き	2/7	28.6	33/106	31.1

表 41. 同居家族の健康・仕事の有無と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI[b)]	p value	aOR[c)]	95% CI[b)]	p value
同居家族						
下痢	4.63	1.01-21.25	**0.049**	4.40	0.91-21.18	0.065
血便	26.52	3.16-∞	**0.014**	23.62	2.91-∞	**0.016**
腸管出血性大腸菌	26.52	3.16-∞	**0.014**	23.67	2.90-∞	**0.016**
仕事の有無	0.41	0.12-1.38	0.148	0.44	0.12-1.54	0.198
食品の取扱い	4.43	0.96-20.47	0.056	4.12	0.87-19.48	0.074
医療・福祉関係	1.21	0.00-7.21	1.000	1.23	0.00-7.49	1.000
保育関係	10.00	0.00-190.00	1.000	7.75	0.00-147.22	1.000

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

表 42. 動物との接触と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI[b)]	p value	aOR[c)]	95% CI[b)]	p value
動物との接触	0.21	0.02-1.88	0.163	0.20	0.02-1.81	0.153
接触した動物 牛	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 羊	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 馬	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 鹿	NA[d)]			NA[d)]		
接触した動物 ヤギ	10.00	0.00-190.00	1.000	11.90	0.00-226.04	1.000
接触した動物 豚	10.00	0.00-190.00	1.000	11.90	0.00-226.04	1.000
接触した動物 犬	0.57	0.06-5.54	0.631	0.55	0.06-5.31	0.601
接触した動物 鶏	10.00	0.00-190.00	1.000	11.90	0.00-226.04	1.000
接触した動物 アヒル	10.00	0.00-190.00	1.000	8.81	0.00-167.46	1.000
接触した動物 その他	0.32	0.00-1.80	0.304	0.31	0.00-1.82	0.303

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 43. プール等の利用と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
プール等の利用	3.46	0.90-13.29	0.070	3.84	0.95-15.49	0.059
屋内プール	3.75	0.57-24.69	0.169	3.83	0.57-25.52	0.166
屋外プール	6.97	0.91-53.49	0.062	6.54	0.85-50.45	0.071
子供用ビニールプール	5.50	0.00-104.50	1.000	5.09	0.00-96.61	1.000
公衆浴場	6.64	0.92-48.00	0.061	7.93	1.04-60.81	**0.046**
池	12.00	0.00-228.00	1.000	9.44	0.00-179.26	1.000
湖	NA[d)]			NA[d)]		
川	NA[d)]			NA[d)]		
海	3.37	0.00-29.07	1.000	3.82	0.00-33.43	1.000
その他	NA[d)]			NA[d)]		

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 44. 砂場、飲料水、旅行と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
砂場の利用（18 歳未満）	1.62	0.00-15.10	1.000	1.51	0.00-11.60	1.000
飲料水						
公設水道	1.52	0.45-5.08	0.499	1.57	0.47-5.23	0.464
簡易水道	0.96	0.00-5.13	0.974	0.96	0.00-5.13	0.975
私設井戸水	NA[d)]			NA[d)]		
市販のミネラルウォーター	0.63	0.21-1.90	0.413	0.65	0.22-1.95	0.439
その他の飲料水	0.57	0.00-3.16	0.633	0.58	0.00-3.11	0.638
浄化されていない水の飲用	12.00	0.00-228.00	1.000	13.56	0.00-257.57	1.000
海外旅行の有無	NA[d)]			NA[d)]		
国内旅行の有無	5.24	1.25-22.05	**0.024**	6.80	1.47-31.40	**0.014**

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 45. 他の子どもとの接触と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
4 歳未満の子どもと同居	2.10	0.18-24.94	0.557	4.36	0.23-82.53	0.327
4 歳未満の子どもが訪問	2.81	0.00-24.22	1.000	6.84	0.00-129.96	1.000
4 歳未満の子どもの家庭訪問	2.65	0.00-17.54	1.000	3.13	0.00-25.12	1.000
子どものおむつ交換	5.50	0.00-104.50	1.000	10.73	0.00-203.93	1.000
保育園等に通園	2.08	0.06-76.02	0.690	4.29	0.06-301.35	0.502
保育園等に下痢の子ども	NA[d)]			NA[d)]		

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 46. 赤身肉の喫食と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
肉類の喫食あり	7.68	1.52-∞	**0.029**	8.70	1.71-∞	**0.020**
生肉						
牛肉（生）	3.26	0.00-27.92	1.000	3.21	0.00-26.58	1.000
豚肉（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏肉（生）	NA[d)]			NA[d)]		
牛肉ユッケ	NA[d)]			NA[d)]		
馬肉ユッケ／馬刺し	NA[d)]			NA[d)]		
その他ユッケ	NA[d)]			NA[d)]		
半生の肉						
牛肉（半生）	3.62	0.32-40.72	0.298	3.66	0.32-42.04	0.298
豚肉（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏肉（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
十分に加熱された肉						
牛肉（十分に加熱）	7.95	1.64-38.56	**0.010**	9.71	1.95-48.30	**0.005**
豚肉（十分に加熱）	7.77	0.98-61.53	0.052	8.06	1.01-64.49	**0.049**
鶏肉（十分に加熱）	4.03	0.82-19.87	0.087	4.52	0.86-23.65	0.074

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 47. 挽肉類の喫食と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
挽肉類の喫食あり	0.87	0.24-3.24	0.838	0.89	0.24-3.40	0.869
生の挽肉						
牛ミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
合挽きミンチ（生）	NA[d)]			NA[d)]		
半生の挽肉						
牛ミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
合挽きミンチ（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
十分に加熱された挽肉						
牛ミンチ（十分に加熱）	0.53	0.00-2.95	0.588	0.56	0.00-3.06	0.620
豚ミンチ（十分に加熱）	1.72	0.50-6.00	0.393	1.72	0.49-6.01	0.393
鶏ミンチ（十分に加熱）	0.49	0.00-2.47	0.512	0.52	0.00-2.60	0.551
合挽きミンチ（十分に加熱）	1.14	0.27-4.75	0.860	1.11	0.26-4.66	0.890

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 48. 内臓肉の喫食と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
内臓肉の喫食	5.63	1.64-19.29	**0.006**	7.09	1.94-25.92	**0.003**
生の内臓肉						
牛レバー（生）	NA[d)]			NA[d)]		
牛ホルモン（生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚レバー（生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ホルモン（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏レバー（生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ホルモン（生）	NA[d)]			NA[d)]		
その他内臓肉（生）	NA[d)]			NA[d)]		
半生の内臓肉						
牛レバー（半生）	6.00	0.32-∞	0.286	8.25	0.43-∞	0.216
牛ホルモン（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚レバー（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
豚ホルモン（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏レバー（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
鶏ホルモン（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
その他内臓肉（半生）	NA[d)]			NA[d)]		
十分に加熱された内臓肉						
牛レバー（十分に加熱）	1.33	0.00-9.62	1.000	1.38	0.00-10.33	1.000
牛ホルモン（十分に加熱）	24.98	5.08-122.94	**<0.001**	24.75	5.04-121.50	**<0.001**
豚レバー（十分に加熱）	3.69	0.00-31.01	1.000	3.88	0.00-32.06	1.000
豚ホルモン（十分に加熱）	7.82	1.50-40.77	**0.015**	7.75	1.48-40.45	**0.015**
鶏レバー（十分に加熱）	6.00	0.38-95.93	0.205	5.21	0.30-91.29	0.258
鶏ホルモン（十分に加熱）	NA[d)]			NA[d)]		
その他内臓肉（十分に加熱）	10.00	0.00-190.00	1.000	11.62	0.00-220.74	1.000

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 49. 野菜の喫食と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
生の野菜等の喫食						
レタス	1.19	0.32-4.46	0.794	1.09	0.28-4.22	0.902
キャベツ	5.81	0.73-46.08	0.096	5.95	0.75-47.40	0.092
トマト	5.31	0.64-43.86	0.122	5.69	0.67-48.17	0.110
ピーマン	0.44	0.05-3.79	0.458	0.48	0.06-4.21	0.510
大根	1.01	0.28-3.73	0.984	0.97	0.26-3.58	0.961
キュウリ	3.83	0.78-18.76	0.098	3.71	0.75-18.28	0.107
ネギ	0.47	0.11-1.98	0.305	0.48	0.12-2.01	0.317
タマネギ	1.69	0.37-7.79	0.499	1.96	0.39-9.77	0.414
セロリ	0.77	0.00-4.03	0.826	0.70	0.00-3.68	0.757
ニンジン	1.72	0.49-6.01	0.398	1.84	0.52-6.50	0.343
カイワレ大根	0.78	0.00-4.49	0.840	0.72	0.00-4.18	0.789
アルファルファ	2.68	0.00-22.49	1.000	3.85	0.00-33.61	1.000
その他発芽野菜・スプラウト	8.00	0.00-152.00	1.000	6.13	0.00-116.41	1.000
パセリ	0.75	0.00-4.01	0.812	0.84	0.00-4.53	0.887
大葉（青じそ）	0.15	0.00-0.78	0.052	0.16	0.00-0.87	0.071
クレソン	1.64	0.00-10.82	1.000	1.61	0.00-10.66	1.000
もやし	5.12	1.30-20.21	**0.020**	5.71	1.44-22.72	**0.013**
キムチ	1.75	0.50-6.11	0.380	1.94	0.56-6.78	0.297
漬物	0.18	0.02-1.49	0.112	0.18	0.02-1.50	0.114
浅漬け	0.45	0.09-2.19	0.324	0.48	0.10-2.31	0.357

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

表 50. 果物及び未殺菌ジュースの喫食と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
果物						
イチゴ	1.38	0.16-12.15	0.770	1.23	0.14-11.13	0.852
イチゴ以外のベリー種	1.05	0.00-5.88	1.000	0.74	0.00-4.46	0.808
メロン	0.82	0.16-4.29	0.818	0.87	0.16-4.67	0.870
ブドウ	0.29	0.03-2.74	0.279	0.30	0.03-3.21	0.318
さくらんぼ	0.39	0.00-2.10	0.389	0.39	0.00-2.11	0.396
マンゴー	1.93	0.19-19.48	0.577	1.37	0.12-15.08	0.798
未殺菌ジュース						
未殺菌りんごジュース	NA[d)]			NA[d)]		
未殺菌オレンジジュース	10.00	0.00-190.00	1.000	15.97	0.00-303.45	1.000

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 51. 冷凍野菜・果物の喫食と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
冷凍野菜	1.30	0.25-6.75	0.753	1.19	0.23-6.29	0.835
冷凍果物						
マンゴー	6.00	0.00-114.00	1.000	7.26	0.00-137.90	1.000
パパイヤ	NA[d)]			NA[d)]		
その他	2.41	0.00-20.64	1.000	1.75	0.00-15.35	1.000

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

d) 計算不能

表 52. 焼肉、生肉の嗜好と腸管出血性大腸菌感染症発症との関連（平成 27 年度）

	Crude			Adjusted by sex		
	cOR[a)]	95% CI [b)]	p value	aOR[c)]	95% CI [b)]	p value
焼肉が好き	1.92	0.21-17.90	0.568	1.80	0.19-17.44	0.614
生肉が好き	1.43	0.26-8.04	0.682	1.37	0.23-8.14	0.731

a) cOR: 粗オッズ比

b) 95% CI: 95%信頼区間

c) aOR: 性別による調整オッズ比

EHEC（腸管出血性大腸菌）曝露状況調査（接触編）

1	年齢：（　　）歳（　　）か月　性別：（男・女）　記入日：平成　　年　月　日												
2	同居家族の健康状態（発症前4週間）										はい	いいえ	不明
	1	同居されている家族で下痢											
	2	同居されている家族で血便											
	3	同居されている家族で腸管出血性大腸菌感染症と診断											
3	患者の職業（発症前4週間）										はい	いいえ	
	1	仕事を持っていた											
	2	食品を取り扱う仕事											
	3	医療・福祉関係の仕事											
	4	保育関係の仕事											
4	動物との接触（発症前1週間）										触った	触らない	不明
	1	動物との接触（ペット、動物園、農場、野生）											
	2	接触動物	牛	羊	馬	鹿	ヤギ	豚	犬	鶏	アヒル	その他（　　）	
	3	接触場所											
5	プール等の利用（発症前1週間）										はい	いいえ	不明
	1	以下の場所で利用											
	2	場所	屋内プール	屋外プール	子供用ビニールプール	公衆浴場	池	湖	川	海	その他（　　）		
6	（患者が 18 歳未満の時）砂場の利用（発症前1週間）										はい	いいえ	不明
	1	砂場の利用											
7	飲料水関係（発症前1週間）												
	1	飲料水の種類（すべて選択）	公設水道	簡易水道	私設井戸水	市販ミネラルウオーター	その他						
	2	川や湖などの浄化されていない水									飲んだ	飲まない	不明
8	外食で利用したレストラン等（発症前1週間）※日付、時間帯を記載												
	1	店舗名	月　日　時　分			メニュー							
	2	店舗名	月　日　時　分			メニュー							
	3	店舗名	月　日　時　分			メニュー							

9	利用したデパート、スーパー、お店等（発症前1週間）※購入日・喫食日を記入				
		種類・食材等	購入日	購入先名称（チェーン店は店舗名）	喫食日
	1 肉				
	2 魚				
	3 野菜				
	4 弁当惣菜				
	5 その他				

10	旅行関係（発症前1週間）				
	1	海外旅行（出発または帰国）	はい	いいえ	不明
	2	訪問国、出発日、帰国日は？	訪問国	出発日	帰国日
	3	国内旅行（発症前１週間）	はい	いいえ	不明
	4.1	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発日	帰宅/出発日
	4.2	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅/出発日
	4.3	訪問県、出発日、帰宅日	訪問県	出発/到着日	帰宅日

11	患者（18 歳未満の時）と他の子供との接触（発症前1週間）		はい	いいえ	不明
	1	４歳未満の他の子供が家庭内に同居			
	2	４歳未満の他の子供が自宅を訪問			
	3	患者が４歳未満の子供がいる家庭を訪問			
	4	患者が他の子のおむつを交換			
	5	患者は保育園または幼稚園に通園			
	6	保育園または幼稚園に下痢の子供がいたか？			

12	患者が1歳未満の場合（発症前1週間）		はい	いいえ	不明
	1	哺乳瓶から飲料（ミルク、ジュース、水等）を与えたか？			
	2	母乳を与えたか？			
	3	固形物を与えたか？			

EHEC（腸管出血性大腸菌）曝露状況調査（喫食編）

13 発症前1週間以内に肉類の喫食はありましたか。

	喫食の有無				喫食の有無		
	食べた	食べない	不明		食べた	食べない	不明
13.1 生の肉				**13.2 半生の肉**			
(1) 牛肉				(1) 牛肉			
(2) 豚肉				(2) 豚肉			
(3) 鶏肉				(3) 鶏肉			
(4) 牛肉ユッケ							
(5) 馬肉ユッケ/馬刺し							
(6) その他肉ユッケ（　　）							
13.3 十分に加熱された肉							
(1) 牛肉							
(2) 豚肉							
(3) 鶏肉							

14 発症前1週間以内に内蔵肉の喫食はありましたか。

	喫食の有無				喫食の有無		
	食べた	食べない	不明		食べた	食べない	不明
14.1 生の内臓肉				**14.2 半生の臓肉**			
(1) 牛　レバー				(1) 牛　レバー			
(2) 牛　ホルモン				(2) 牛　ホルモン			
(3) 豚　レバー				(3) 豚　レバー			
(4) 豚　ホルモン				(4) 豚　ホルモン			
(5) 鶏　レバー				(5) 鶏　レバー			
(6) 鶏　ホルモン				(6) 鶏　ホルモン			
(7) その他（　　）				(7) その他（　　）			
14.3 十分加熱された内臓肉							
(1) 牛　レバー							
(2) 牛　ホルモン							
(3) 豚　レバー							
(4) 豚　ホルモン							
(5) 鶏　レバー							
(6) 鶏　ホルモン							
(7) その他（　　）							

15 発症前1週間以内にひき肉類の喫食はありましたか。

15.1 生のひき肉				**15.2 半生のひき肉**			
(1) 牛ミンチ				(1) 牛ミンチ			
(2) 豚ミンチ				(2) 豚ミンチ			
(3) 鶏ミンチ				(3) 鶏ミンチ			
(4) 合いびきミンチ				(4) 合いびきミンチ			

15 発症前1週間以内にひき肉類の喫食はありましたか。

	喫食の有無		
	食べた	食べない	不明
15.3 十分加熱されたひき肉			
(1) 牛ミンチ			
(2) 豚ミンチ			
(3) 鶏ミンチ			
(4) 合いびきミンチ			

16 生の野菜の喫食
（発症前1週間以内）
（サンドウィッチ、サラダ含む）

17 生の果物類の喫食
（発症前1週間以内）

	喫食の有無				喫食の有無		
	食べた	食べない	不明		食べた	食べない	不明
(1) レタス				(1) イチゴ			
(2) キャベツ				(2) イチゴ以外のベリー種（種類）（　　）			
(3) トマト				(3) メロン			
(4) ピーマン				(4) ブドウ			
(5) 大根				(5) サクランボ			
(6) キュウリ				(6) マンゴー			
(7) ネギ				(7) 未殺菌リンゴジュース			
(8) タマネギ				(8) 未殺菌オレンジジュース			
(9) セロリ							
(10) ニンジン							
(11)カイワレダイコン							
(12)アルファルファ							
(13)その他の発芽野菜・スプラウト（　　）							
(14) パセリ							
(15) 大葉（青ジソ）							
(16) クレソン							
(17) もやし							
(18)キムチ							
(19) 漬物(種類)（　　）							
(20) 浅漬け（種類）（　　）							

18 冷凍の野菜・果物の喫食
喫食前加熱調理する食品は除く
（発症前1週間以内）

(1) 冷凍野菜（　　）							
(2) 冷凍野菜（　　）							
(3) 冷凍野菜（　　）							
(4) マンゴー							
(5) パパイヤ							
(6) その他冷凍果物（　　）							
(7) その他冷凍果物（　　）							
(8) その他冷凍果物（　　）							

19 焼肉は好きですか
①好き　②嫌い　③わからない

20 生肉は好きですか
①好き　②嫌い　③わからない

以上で終了です。ご協力有難うございました。

厚生科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
総合分担研究報告書

川崎市における下痢原性大腸菌の分子疫学解析法の検討及び流行状況等に関する調査

研究分担者　岡部　信彦　　川崎市健康安全研究所　所長
研究協力者　窪村　亜希子　川崎市健康安全研究所　消化器・食品細菌検査室
　　本間　幸子　　川崎市健康安全研究所　消化器・食品細菌検査室
　　松尾　千秋　　川崎市健康安全研究所　微生物担当課長

研究要旨
【目的】
平成 26 年度は、腸管出血性大腸菌 O157 の分子疫学解析に用いられる IS-printing 法（IS 法）について、PCR 法による遺伝子増幅後に通常行っているアガロースゲル電気泳動の代替として、迅速性の高い遺伝子解析装置であるマイクロチップ電気泳動装置（MultiNA）を用いてより的確に解析を行うための検討を行った。
平成 27-28 年度は、腸管凝集性大腸菌（EAEC）について表現型及び遺伝子学的特徴に基づく流行状況について調査を行った。
【方法】
平成 26 年度は、川崎市内で分離された O157 菌株のうち IS 法の結果が既に確認されている 5 株を供試株とした。IS 法の各 primer sample の適切な結果判定法については、解析に用いる ladder の違いによる検出遺伝子サイズの違いや、異なるチップで測定することによる遺伝子サイズ誤差を確認し各 set の primer sample 及び positive control との比較がより的確に行える方法の検討を行った。また定法により調整を行ったサンプルについて、MultiNA で測定し得られた信号強度は低く、PCR 後の増幅遺伝子濃度が低いことが示唆されたことから、PCR 反応液全体量を変えるまたは、作成する template やサンプルへの添加量を変えることにより遺伝子濃度を高くする検討を行った。また同じサンプルのうち最も高濃度であった遺伝子増幅産物の各希釈サンプルと低濃度であった遺伝子増幅産物の原液サンプルの測定結果を比較することにより適切な希釈倍率について検討を行った。
平成 27-28 年度は、40 株の EAEC を供試株として、薬剤感受性試験及び O : H 抗原型別や凝集性付着に関する遺伝子（AAF/ Ⅰ - Ⅳ）の検出を行った。
【結果及び考察】
平成 26 年度の解析法の検討においては、importladder に比べサンプル測定時に同時測定を行った ladder を用いる場合の方が 1st set primer sample と ladder との誤差が少なく良好な結果が得られた。異なるチップによる測定結果についてはチップが同じまたは異なった場合で誤差に大きな違いは認めらなかった。PCR 後の増幅遺伝子濃度の検討においては、いずれも定法に比べ高い信号強度を得ることが可能となったが、PCR 反応液全体量を変更するのみでは遺伝子濃度の著増は認められなかった。希釈倍率の検討については、低濃度サンプルを原液測定行った場合に比べ高濃度サンプルを希釈し測定した場合の方がゲルイメージにおいて positive control とのズレが少なく、また誤判定の原因となりうるプライマーダイマーについても低減されることが確認された。
平成 27-28 年度の薬剤感受性試験の結果、最も高い耐性を示したのはアンピシリン（82.5%）であり、次いでテトラサイクリンと ST 合剤（52.5%）であった。また O:H

型別については腸管出血性大腸菌に比べ多様性が認められ、その中でもO99：H10、O131：H27及びO176:H34が多く流行していることが確認された。また、本研究におけるEAECの多くは健康者から分離されたにも関わらず、供試株の65%でAAF/Ⅰ-Ⅳのうち1つの遺伝子を保有していることが示唆された。本調査により未だその病原性や特徴について理解されていないEAECについて一定の知見を得ることが可能となった。

平成26‐28年度の調査結果は、食中毒等事件発生時において感染拡大防止及び原因究明などの観点から、迅速な検査結果の還元や分子疫学解析が求められる地方衛生研究所の検査業務において一助となりうるが、今後も検査株数を増やすなど継続した調査が必要であると考える。

１．平成２６年度研究

Ａ．研究目的

IS-printing System（IS法）は、腸管出血性大腸菌O157の遺伝子の中に存在する複数の異なるIS（insertion sequence）を1st及び2ndの2セットのmultiplexPCR法により、それぞれ最大18バンド、合計36バンドの有無によりタイピングを行う分子疫学解析法である。

またIS法はその迅速性や、サンプルとpositive control（PC）の比較によりバンド検出有りを「1」、無しを「0」とすることで、結果の数値化が可能になることから現在多くの地方衛生研究所において食中毒や感染症等の発生の際に用いられている。

通常IS法は、PCR法による遺伝子増幅後に3.0%のアガロースゲルにサンプル5.0μlと6×LoadingDye 1μlを添加し、100Vにおいては約90分程度の電気泳動を行い、EtBrにて染色後に洗浄を行い（合計約15～30分程度）、撮影装置により結果の確認を行う。

しかしPCR後の遺伝子の検出について、マイクロチップ電気泳動装置（MultiNA）を用いると1分析あたり約4分30秒程度と通常のゲル電気泳動に比べ時間の短縮が可能となり、サンプル数が多い場合には検出に用いるマイクロチップを最大4枚用いることで約80秒ごとに順次分析結果を得ることが可能となるなど迅速性に優れている。

またマイクロチップでは、PCR増幅産物から得られる信号強度（mV）を波形（エレクトロフェログラム）として検出するが、サンプルに自動添加される2つのマーカー(LMとUM)をもとに通常のゲル電気泳動後のバンド画像に似せたゲルイメージに自動変換されることから、結果の確認も容易となる。

平成26年度は、IS法の測定のうち、ゲル電気泳動および染色・洗浄部分の代替として、MultiNAを用いた測定を行い、そこから得られるゲルイメージにおいてIS法の解析が的確に行えるよう検討を行ったので報告する。

Ｂ．研究方法

Ｂ-１．供試菌株

2013年に当所で分離し保管され、ゲル電気泳動によりIS法の結果が既に確認されている腸管出血性大腸菌O157菌株5株(EH1~EH5)を供試菌株とした（表１）。

Ｂ-２．MultiNAによるIS法測定に用いる試薬の調整と機器の設定

IS法測定のためにMultiNAで使用される試薬についてはSHIMADZUのアプリケーションで示される方法に準拠し、分離バッファについては蛍光色素GelSTARを4000倍希釈になるようにDNA-1000に添加したものを用い、マーカ溶液についてはLM及びUMとしてDNA Quantitation Standerd 100bp fragment（Genesure Laboratories、Inc社製）を終濃度2.25ng/μl, 及びNolimit 1200bp DNAFragment

（Fermentas 社製）を終濃度 0.75ng/μl になるよう TBE に添加したものを用いた。

Ladder は IS 法の 1st set positive control（1stPC）を用いるため、1st set positive control template の PCR 増幅産物を DNA-1000 キットにより通常通り測定後、MultiNA 取扱説明書に準じて ladder として登録を行った。

さらに IS 法測定に用いるため、新たにプロジェクトを登録する際の条件設定においては、ladder は既に登録を行った 1stPC を選択し、色素は GelStar に設定した。

B－３．1st 及び 2nd set primer sample の測定結果の解析法の検討

B－３－１．1st set primer sample の解析に適した ladder の検討

MultiNA 測定後の自動解析により表示されるサンプルの検出遺伝子サイズ(bp)は、通常のシングルプライマーによる PCR の測定を行う場合においては問題にはならない程度ではあるが誤差が生じることが知られている。

しかしゲルイメージ画像により IS 法のサンプルと PC の結果を的確に判定するためにはその誤差を低減させる必要がある。

通常、測定を行ったサンプルの遺伝子サイズ（bp）は併せて測定された ladder の結果をもとに自動解析され、結果を得ることが可能であるが、IS 法の場合は ladder の解析に重要な LM が機器により自動認識されないことから、まず ladder の結果を得るために、測定後に検出される ladder の各ピークから手動で LM を選択し設定する必要がある。しかしサンプルと同時に ladder の測定を行わず、事前に登録された ladder（importladder）を再解析ボタンにより選択する場合は LM の設定が不要となる。

今回、供試株 EH1～3 の 1st primer sample（1st sample） について、サンプル測定時に併せて ladder の測定も行い手動で ladder の LM の設定し解析を行う場合と、ladder の測定は行わずに importladder を用いて解析を行った場合のサンプルの検出遺伝子サイズ(bp)を比較することで、いずれの解析法がより誤差の低減が可能か検討を行った。

B－３－２．2nd set primer sample 及び positive control との比較のためのチップ間の検出サイズ誤差の検討

MultiNA の測定に用いるマイクロチップは最大４枚まで使用可能であるが、測定に用いるチップが異なると、同じサンプルを測定する場合でも検出遺伝子サイズは異なる。

IS 法測定において 1stPC を ladder とした場合、2nd set positive control （2ndPC）についてはサンプルと同様に測定を行う必要があり、サンプルとして 18 の増幅遺伝子の検出が必要となる。

今回 2ndPC 及び EH1～5 の 2nd set primer sample（2nd sample）をそれぞれ異なる４枚のチップ（チップ A~D）を用いて測定行い、各チップによる検出遺伝子サイズ（bp）や、2ndPC と 2nd sample の検出遺伝子サイズの差について比較検討を行い、チップの違いにより生じる検出遺伝子サイズ誤差がゲルイメージで 2ndPC とサンプルを比較する際に影響するか検討を行った。

B－４．ゲルイメージによる結果解析に適したサンプル濃度の検討

B－４－１．事前検討（定法に準拠した方法による検討）

各サンプル濃度及び希釈倍率の検討を行うにあたり、EH1～3 株を用いて事前検討として付属の取扱説明書に準拠し PCR 法により増幅された遺伝子の濃度を確認することとした。

菌株からの template 作成は「（１）推奨法：アルカリ溶解法」に準拠し、25mM NaOH 水溶液に１㎜程度の菌体コロニーを懸濁し、95℃で５ 分加熱後、4μl の 1M Tris-HCl を加えて中和、12,000rpm で５分遠心し、上清 1μl を template として使用した。PCR 反応液は「４． PCR 反応液の調製」に準拠し、1st または 2nd set Primer Mix を 5μl、2×IS-P Master Mix を 25μl、

template DNA、1st または 2nd set template Mix を 1µl に滅菌蒸留水 19µl を加え全体量を 50µl とした。PCR を行った後に各サンプル及び PC について MultiNA で測定を行った結果、いずれのサンプルも信号強度が低く、希釈せずに原液を用いた測定を行った場合においても、ゲルイメージで各バンドが非常に薄く表示された（図１）。

ゲルイメージとして表示される画像や信号強度(mV)は遺伝子濃度に比例するため、IS 法サンプルは MultiNA で測定するには遺伝子濃度が低いことが示唆されたことから、初めにより高い濃度の遺伝子増幅産物を得る方法について検討を行い、次に適切な希釈倍率について検討することとした。

B－４－２．高濃度の遺伝子増幅産物を得るための検討

１． PCR 反応液全体量の違いによる比較検討

取扱説明書「（１）推奨法：アルカリ溶解法」に準拠するが、PCR 反応液の全体量を 25µl または 12.5µl に変更することにより増幅遺伝子濃度を高くすることが可能か検討を行った。

全体量が 25µl 及び 12.5µl の PCR 反応液の調整については、各 Primer Mix と 2×IS-P Master Mix をそれぞれ 1/2 量及び 1/4 量とし、template はいずれも 1.0µl 添加、滅菌蒸留水の添加量を調整することで全体量をそれぞれ 25µl、12.5µl とし、PCR 後に超純水により 10 倍希釈した増幅遺伝子を測定し、得られたエレクトロフェログラムや信号強度(mV)について比較検討を行った。

２．template 添加量及び調整法の違いによる比較検討

PCR 反応液全体量は定法と同じ 50µl とするが、添加する template の量を増やす、または template 作成の際に供試するコロニー数を増やすことにより高濃度の template を作成し、さらに PCR 反応液へ添加する量も増やすことで PCR 後の増幅遺伝子濃度を高くすることが可能か検討を行った。

具体的な調整法については、template 添加量を増やす場合は、定法に従い作成した template を PCR 反応液に 2.5µl または 5.0µl 添加することとし、高濃度 template については 2～3 コロニー(1mm 以上のコロニーの場合は 2 コロニー、1 ㎜以下のコロニーのみの場合は 3 コロニーとした)を sweep した菌体から作成した template を PCR 反応液に 1.0µl、2.5µl または 5.0µl 添加し、いずれも各 Primer Mix と 2×IS-P Master Mix の添加量は変えずに、滅菌蒸留水の量を調製することで全量を 50µl とした。ただし、各 PC の添加量は常に 1.0µl とした。

各 PCR 増幅産物については、超純水により 10 倍希釈したものを測定し、得られたエレクトロフェログラムの信号強度(mV)について比較検討を行った。

B－４－３．測定サンプルの希釈倍率の検討

B－４－２の結果から 10 倍希釈後の測定で十分な信号強度を示したサンプルについて超純水で 5 倍、10 倍、20 倍希釈を行い測定結果を比較することで適切な希釈倍率を検討した。

さらにB－４－２の結果から10倍希釈後の測定で低い信号強度を示したサンプルについては原液で測定を行い、上記の各希釈サンプルと比較することでいずれの測定方法がよりゲルイメージによる結果解析に適しているかについても検討行った。

C．研究結果

C－１．1st 及び 2nd set primer sample の測定結果の解析法の検討

C－１－１．1st set primer sample 解析に適した ladder の検討

各ladderの解析による検出遺伝子サイズ(bp)を表 2 に示した。

いずれの解析法においても検出遺伝子サイズの誤差は増幅サイズ(bp)に比例して大きくなる傾向がみられた。

しかし、個々のピークの比較により測定時に併せて測定を行った ladder（以下、測定時 ladder）の方が importladder による解析を行った場合に比べ多くの検出遺伝子で規定の増幅サイズに近い値を得ることが可能であった。さらに、ゲルイメージとして表示された場合においても同様に測定時 ladder により解析を行った場合の方が PC とのズレも少ない傾向が認められた（図 2）

C－１－2. 2nd set primer sample 及び positive control との比較のためのチップ間の検出サイズ誤差の検討

4 枚のチップ A～D のそれぞれで 2ndPC 及び EH1～5 の 2nd sample について測定し、解析は C－１－１の結果から測定時 ladder を用いて解析を行った各検出遺伝子サイズ（bp）の結果を表 3 に示した。2ndPC 及び sample の検出遺伝子サイズはいずれも規定値よりも小さい値で検出され、その誤差は stx1（151bp）から 2-04（710bp）までのバンドについては、バンドの遺伝子サイズが大きくなるのと比例してその誤差も大きくなる傾向が認められた。

さらに、チップ A で測定した 2ndPC と 2nd sample の検出遺伝子サイズの差（2ndPC－2nd sample）うちチップ A 及びチップ A 以外（チップ B～D）の平均値（表４）について比較を行ったが大きな違いは認められず、チップ B～D で同じ比較をした場合においてもチップ A と同様の結果となった。

さらに表 4 のうち EH2 の 2-01 バンドは規定値との誤差や、EH3 の 2-02 バンドにおいては他のチップとの誤差においては特に大きくなったが、ゲルイメージとして表示した場合（図 3）、遺伝子サイズの大きい部分の方が表示間隔が狭まることなどから、数値ほどのズレは認められなかった。

C－２．ゲルイメージによる結果解析に適したサンプル調整及び濃度の検討

C－１の結果から C－２の検討においては測定時 ladder によりサンプルの解析を行った。

C－２－１．PCR 反応液全体量の違いによる比較検討

Template1.0μl に対し全体量を 1/2 または 1/4 にし調整した PCR 反応液の遺伝子増幅産物を 10 倍希釈し測定した結果（表 5）、多くのサンプルにおいて全体量が少ない場合でより高い信号強度を得たが、著増は認めらなかった。しかし、10 倍希釈時において EH3 の様にバンドが明瞭な場合と EH1 の様に不明瞭な場合があるなど、株によりばらつきが認められた（図 4）。

C－２－２．template 添加量及び調整法の違いによる比較検討

定法に準拠し作成した template を PCR 反応液に 2.5μl または 5.0μl 添加したサンプル（以下 1-2.5、1-5.0）、及び複数コロニーの sweep から作成した高濃度 template を PCR 反応液に 1.0μl、2.5μl、5.0μl 添加したサンプル(以下 S-1.0、S-2.5、S-5.0 ）の遺伝子増幅産物を 10 倍希釈し測定した結果（表 6）、いずれも定法に比べ高い信号強度を示し、特に S-5.0 サンプルは高い信号強度を得ることが可能となった。

また EH2 1st set の S-1.0 の 1-06 バンド部分、EH3 1st set の S-1.0 の *eae*、*hlyA* バンド部分、EH1 株の 2nd set の 1-2.5、S-1.0 サンプルの 2-09 バンド部分などにおいては極端に信号強度が低いものの、S-2.5 や S-5.0 サンプルの同バンドにおいては、信号強度が高まり、ゲルイメージとしても確認しやすい状態として表示された（図 5）。

C－２－３．測定サンプルの希釈倍率の検討

C－２－１の結果から十分な信号強度が得られた S-5.0 について 5 倍、10 倍、20 倍希釈を行ったサンプル、及びある程度の信号強度が得られた S-1.0 について原液で測定を行った結果（図 6）、S-1.0 については全てのバンドで信号強度を高くすることが可能であったものの、10 倍希釈時において極端に信号強度が低かった EH2 1st set の 1-06 バンド部分、EH3 1st の *eae*、*hlyA* バンド部分、EH1 2nd の 2-09 バンド部分

などについては、同サンプルの他のバンドに比べ薄く表示された。

また図 6 のゲルイメージにおいて、多くのサンプルでゲルイメージ上における PC とのバンドのズレは、S-5.0 希釈サンプルに比べ S-1.0 原液測定サンプルの方が大きく、S-5.0 サンプルのうち 10 倍または 20 倍希釈サンプルで最も小さい傾向が認められた。

さらに図 6 のエレクトロフェログラムから LM の前に検出されるプライマーダイマー（点線部分）について、希釈を行った場合の方が信号強度が低くなることも確認された。

D．考察

サンプルの解析に必要となる ladder については、サンプル測定時に併せて測定を行った ladder を用いる場合、ladder 測定自体にかかる時間や、測定後に手動による LM の設定が必要になるなど、importladder を用いる場合に比べ全サンプルの結果解析終了までに必要となる時間が長くなる。しかし、C－１の結果から importladder をサンプルの結果解析に用いる場合はバンドの表示位置のズレが大きくなることから、サンプル測定時に併せて測定を行った ladder を用いることが誤判定の低減につながるものと考えられた。

しかし測定毎に複数のピークから的確に LM を選択する必要があることから、人為的ミスも考えられるため、ある程度の熟練が必要であるとも考えられる。

チップ間の誤差については 2ndPC と 2nd sample の比較において重要であると考えられるが、本調査においてはチップが同じまたは異なる場合で大きな違いは認められず、ゲルイメージにおいても表示されるバンドのズレは、チップに係らず一様であり 2ndPC と 2nd sample の結果の比較はいずれのチップで測定を行っても変わらないものであった。しかしながら、チップによる誤差はチップ自体の使用回数や状態によっても左右されるため、極端に使用回数が異なるチップによる測定結果の比較は避けるべきであると考える。

また、MultiNA のゲルイメージで表示されるバンドのうち遺伝子サイズが大きい部分ではその表示間隔が狭くなる特性上、

増幅遺伝子サイズ（bp）が近い 2-02（861bp）と 2-03（801bp）のバンド間隔はさらに近く表示されることから、IS 法のサンプルを測定する場合においては、ある程度状態の良いチップを使用することや、併せてエレクトロフェログラムの確認を行うことも重要であると考える。

PCR 後の増幅遺伝子濃度の検討については表 5 及び表 6 からいずれの検討においても効果が認められた。特に表 6 の S-5.0 では高い信号強度を示したことについて、表 6 の結果のうち template 添加量が同じである定法と S-1.0 サンプルの信号強度の比較において S-1.0 の方が高い信号強度を示したことや、同じ template であっても添加量の異なるサンプルの信号強度の比較においては添加量が多い方が高い信号強度を示す傾向が認められるなど、高濃度 template と添加量を増やすことのいずれも効果が認められたことによるものと考えられた。

また定法による測定を行った場合において、株が異なる場合や、株が同じであっても表 5（50μl 測定結果）及び表 6（定法）において信号強度にばらつきが認められたことについては、template 作成にあたり 1 コロニーを釣菌する際、均一な大きさのコロニーが釣菌されなかったことにより template 濃度が異なっていたことが示唆された。

今回、1-2.5 及び S-1.0 で一部ゲルイメージにおいて薄く表示されたバンドが S-2.5、S-5.0 では確認しやすい画像を得られた（図 5）。IS 法のように複数のバンドを検出する場合、極端に信号強度が異なるとゲルイメージのコントラストに影響を及ぼし信号強度が低いバンドは極端に薄く表示される可能性がある。そのため希釈倍率を変えるなど全体の信号強度を高くした場合に信号強度のばらつきが同様であれば、薄いバンドは薄いままである可能性もある。しかし、図 5 のエレクトロフェログラムの比較から、各バンドの信号強度が高くなったと同時に、

サンプル内でのばらつきが低減されている可能性が示唆された。

また、図6エレクトロフェログラムにおいて高倍率希釈の方がプライマーダイマーが低減されていたことについては、原液による測定を行った図1のエレクトロフェログラムのプライマーダイマー部分についても高値を示していることから、作成するtemplateの濃度などに係らず、PCR後のプライマーダイマーの濃度はある程度一定であることが示唆され、希釈することで低減されたものと考えられた。

プライマーダイマーは、IS法測定結果においてLMに極めて近い位置に検出されるため、信号強度の高い場合はLMに酷似した波形として認められ、ladderのLMを手動で設定をする際の人為的ミスや、機器がサンプルのLMを自動認識する場合に誤判定を起こす原因となり、ゲルイメージ画像に重大なズレを生じさせる。そのため、プライマーダイマーの信号強度はより低いことが望ましいと考えられ、本調査結果からIS法をMultiNAで測定する場合は高濃度サンプルを希釈して測定をする方が適していると考えられた。

またエキストラバンドについても、その検出位置によっては同様に機器が誤判定を起こす原因となる。本調査を行うにあたり検出されたエキストラバンドは、添加するtemplate量に比例して信号強度が増す場合とtemplate量に係らず一定の場合が認められたが、後者の場合、図6のエレクトロフェログラムのEH2及びEH3の1st setのUM後に認められるエキストラバンドのように、サンプルの希釈により低減されることも分かった。

エキストラバンドや遺伝子濃度のばらつきなどにより生じる薄いバンドについては、ゲル電気泳動を行った場合においても結果を判定する際の誤判定の要因となっており検査室間の結果不一致を招いているなど大きな課題となっているが、ゲル電気泳動に適した希釈倍率の検討を行う必要があるものの、同様の方法によりある程度改善される可能性も示唆された。

希釈倍率の検討については、本調査では最も高濃度であったS-5.0を用いて希釈を行い、10または20倍希釈で最も誤差が低減されるなど良好な結果を得ることが出来たが、PCR反応液を通常1/2や1/4量で実施している場合においては、信号強度が高くなる可能性があるためtemplate量を下げるまたは、希釈倍率を上げるなどの調整が必要であると考えられる。また、MultiNAで安定した測定結果を得るためには、遺伝子増幅産物を希釈する際に十分なピペッティングを行うなど基本的なことも重要であった。

PCの希釈倍率については今回十分な検討を行えなかったが、サンプルのコントラストに影響を与えない程度の信号強度にする必要があり、本調査においては10倍希釈または20倍希釈で良好な結果を得られることが多かった。しかし調整したPCによってはPCR後にバンドの一部で極端に高い信号強度を示す場合が見受けられ、希釈倍率の検討を行うとともに均一な信号強度を得るための検討も必要であると考える。

E．結論

MultiNAでIS法の解析を行うことは通常のアガロースゲル電気泳動に比べ大幅な時間短縮が可能となり、測定結果についてもデジタルデータとして保存されることから、データ管理や以前測定した株との比較、画像による結果の共有がより容易になるなど多くのメリットがある。

本調査により、バンドの有無の確認が必要となるIS法の判定をより的確に行うためには、解析はサンプルと併せて測定を行ったladderを用いて行うべきであると考えられた。また2nd setのうち、2-02（861bp）、2-03（801bp）においてはバンド間が狭いため、両ピークが分離可能である状態の良いチップを用いるべきであると考えられた。

さらに、定法のうち推奨法のアルカリ溶解法に準拠し調整されたPCR反応液から得られる増幅産物の遺伝子濃度はMultiNAで測定する場合においては薄いことから、PCR後に高濃度の遺伝子増幅産物を得る必要があると考えられ、本調査に

おいて template の添加量を増やすまたは、供試するコロニー数を増やすなどにより高濃度 template を作成し添加することで効果が得られることが確認された。

さらに測定を行う際、低濃度の遺伝子増幅産物を原液で測定する場合に比べ、高濃度の遺伝子増幅産物を希釈し測定した場合の方が、プライマーダイマーは低減され、かつ各バンドの遺伝子濃度のばらつきが低減されることも示唆されるなど、誤判定の低減にもつながると考えられた。

しかしながら、ladder の LM を手動により設定を行う際に人為的ミスが起こる可能性やエキストラバンドの発生により機器が UM や LM の誤判定を起こすことや、本来のバンドの波形に影響を与える可能性があるなど、今後も株数を増やし検討を続ける必要があると考えられる。

２．平成２７−２８年度研究

Ａ．研究目的

腸管凝集性大腸菌（EAEC）は、以前は途上国の小児における長引く下痢症として知られていたが、近年ではベロ毒素を産生する EAEC による食中毒の発生などにより、先進国においてもその認識が高まってきている。本邦においても EAEC による食中毒事例の調査報告はあるが、その特徴については未だ理解されていない点も多いのが現状である。

平成 27-28 年度については、EAEC の表現型及び遺伝子学的特徴について調査を行うことで流行状況の検討を行ったので報告する。

Ｂ．研究方法

Ｂ-１．供試菌株

2012 年から 2014 年まで川崎市健康安全研究所に搬入された検便検体から、PCR 法による *aggR* 遺伝子の検出により分離された EAEC40 株を供試菌株とした。

Ｂ−2．O：H 型別

O 型別は、市販されている 43 の大腸菌免疫血清を用いて型別を実施した。さらに血清により O 型別不能（OUT）であった株については、162 のプライマーを用いた遺伝子検査を追加で実施し O 型別を行った。H 型別は PCR-RFLP 法により実施した。

Ｂ−３．薬剤感受性試験

ディスク拡散法により実施した。供試薬剤は、セフォタキシム、ST 合剤、ノルフロキサシン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール、シプロフロキサシン、カナマイシン、ゲンタマイシン、アンピシリン、ホスホマイシン、ナリジクス酸、テトラサイクリン、イミペネム、メロペネムの 14 薬剤とした。

Ｂ−４．凝集性付着線毛遺伝子の検出

凝集性付着に関与する遺伝子として、AAF/Ⅰ(*aggA*)、AAF/Ⅱ(*aafA*)、AAF/Ⅲ(*agg3A*)、AAF/Ⅳ(*agg4A*)について、PCR 法にて検出を行った。

Ｃ．研究結果

Ｃ−１．O：H 型別

40 株中 12 株が O 血清による型別が可能であったが、残り 28 株は OUT であった。さらに OUT28 株について遺伝子検査による O 型別を実施したところ 24 株が型別可能となった。H 型別は 39 株が 10 種の H 抗原型に型別された。

Ｃ−２．薬剤感受性試験

供試した 14 薬剤のうち、シプロフロキサシン、カナマイシン、ホスホマイシン、イミペネム、メロペネムについては全ての株で感受性を示した。残り 9 薬剤においては、アンピシリンで最も高い耐性率(82.5%)を示し、次いで ST 合剤とテトラサイクリン(52.5%)となった。

Ｃ−３．凝集性付着線毛遺伝子の検出

26 株から AAF/Ⅰ-Ⅳのいずれかの遺伝子が検出された。最も多く検出されたのは *aggA* で 11 株であり、次いで *agg4A*(6 株)、*aafA*(5 株)、*agg3A*(4 株)であった。

D．考察および E.結論

O 型別については、本調査研究では供試株の半数以上である 28 株が市販血清による型別が不能となり、血清による型別は困難であったが、遺伝子検査により OUT であった 28 株のうち 24 株が型別可能となるなど、遺伝子検査が有効であった。

O:H 型については腸管出血性大腸菌に比べ多様性が認められたが、その中でも多く検出されたのは O99：H10、O131：H27 で 5 株ずつ、次いで O176:H34 が 4 株であった。またそれら 3 つの主要な O:H 型であった 14 株は全株共通してアンピシリン、テトラサイクリン及び ST 合剤に耐性であったことが確認された。同じ O:H 型がそれぞれ同じ由来である可能性もあるため、O:H 型と薬剤耐性の関連性を示唆するものではないが、本研究においてはこれらの主要な O:H 型の存在が EAEC の薬剤耐性状況に影響していると考えられた。

また、本研究における EAEC の多くは健康者から分離されていたにも関わらず、26 株(65%)から凝集性付着関連遺伝子が検出され、それぞれ AAF/Ⅰ-Ⅳのいずれかを保有していることが示唆された。

EAEC については、未だその病原性や特徴について理解されていないが、本調査により一定の知見を得ることが可能となった。またその詳細についてまとめたものを以下の論文等として報告を行った。

F．健康危険情報

該当なし

G．研究発表

1．論文発表

窪村亜希子、小嶋由香、岡部信彦：川崎市における腸管病原性大腸菌及び腸管凝集性大腸菌の分離状況と細胞付着性試験等による病原性の検討，感染症学雑誌，
89, 37-45, 2015.

Akiko Kubomura, Takako Misaki, Sachiko Homma, Chiaki Matsuo, Nobuhiko Okabe: Phenotypic and molecular characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated in Kawasaki, Japan, Jpn J Infect Dis. Accepted (13-Feb-2017)

2．学会発表

窪村亜希子、佐藤弘康、湯澤栄子、小嶋由香、岩瀬耕一、岡部信彦．遺伝子を指標として分離される EPEC 及び EAggEC の病原性等についての検討. 第 88 回日本感染症学会学術講演会、平成 26 年 6 月 18 日－20 日、福岡

H．知的所有権の出願・登録状況

1．特許取得

なし

2．実用新案登録

なし

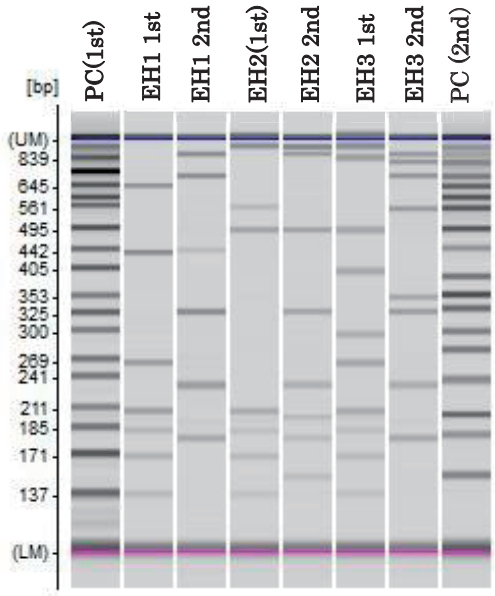
3．その他

なし

表１．供試株の IS パターン

primer set	1st set																		2nd set																
primer no.	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	eae	16	hlyA	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	stx1	stx2
size(bp)	974	839	742	645	595	561	495	442	405	353	325	300	269	241	211	185	171	137	987	861	801	710	642	599	555	499	449	394	358	331	301	278	240	211	181	151
EH1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
EH2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1
EH3	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0
EH4	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1
EH5	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0

図１．事前検討結果（ゲルイメージとエレクトロフェログラム）



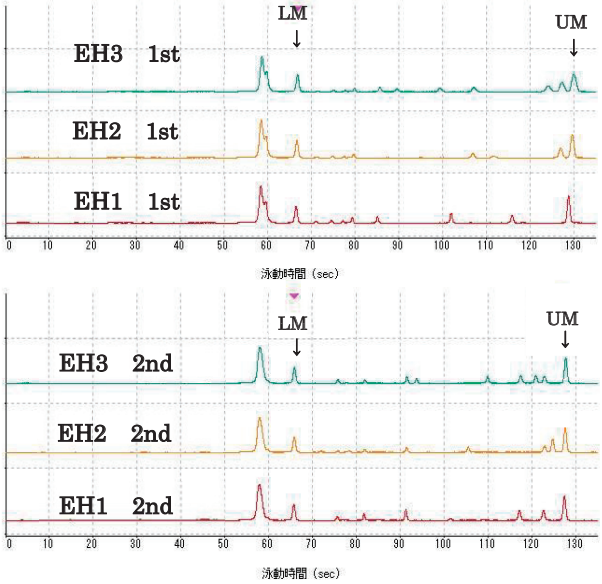
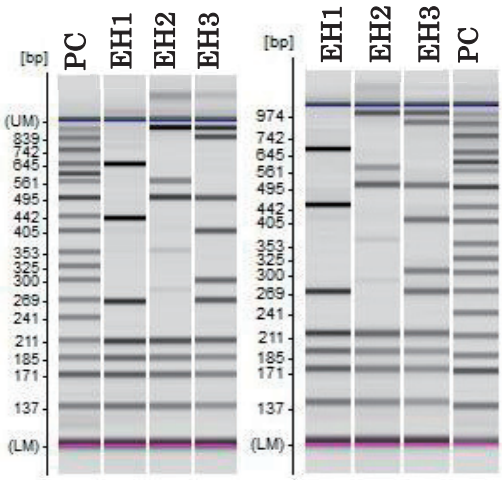


表 2. Ladder の違いによる検出遺伝子サイズ(bp)

株名	1stPC	EH1 1st		EH2 1st		EH3 1st	
バンド	規定値	測定時 ladder	inport ladder	測定時 ladder	inport ladder	測定時 ladder	inport ladder
1-01	974			1113	1141	1076	1136
1-02	839					851	857
1-03	742						
1-04	645	643	662				
1-05	595						
1-06	561			560	573		
1-07	495			496	504	494	502
1-08	442	437	447				
1-09	405					404	409
1-10	353						
1-11	325						
1-12	300					299	302
1-13	269	266	268			268	268
1-14	241						
1-15	211	209	214	210	213	211	214
eae	185	184	191	185	190	185	190
1-16	171	171	173	171	173	171	173
hlyA	137	137	140	137	140	138	140

図２．サンプルと同時測定した ladder による解析（A）と import ladder による解析（B）によるゲルイメージ



A(測定時 ladder)　B(import ladder)

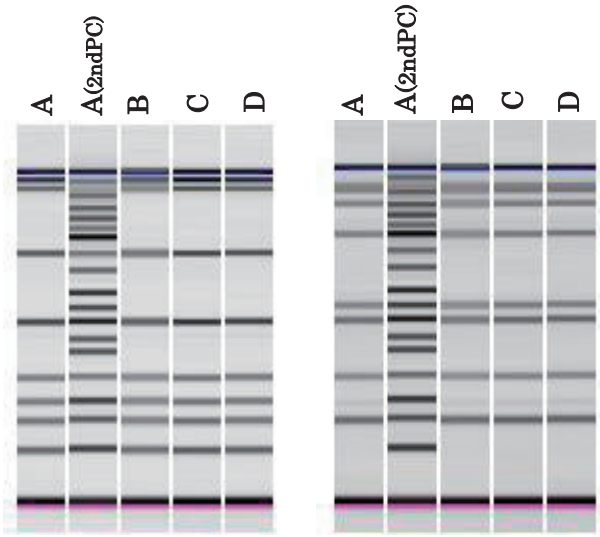
表３．各チップ（A~D）と検出遺伝子サイズ（bp）

サンプル		2ndPC				EH1 2nd				EH2 2nd				EH3 2nd				EH4 2nd				EH5 2nd			
バンド	規定値	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
2-01	987	978	961	971	965					1083	1085	1081	1052									971	971	968	967
2-02	861	846	828	851	847	858	850	858	854	859	857	864	856	840	898	851	845	823	839	834	831	834	833	835	835
2-03	801	798	790	797	793									804	816	806	801	794	807	794	790				
2-04	710	689	680	692	687	701	698	702	697					690	683	694	690	682	684	682	680	679	675	680	678
2-05	642	624	618	626	623																				
2-06	599	578	571	580	576																				
2-07	555	540	535	542	538									533	530	536	535	529	529	530	528	528	524	528	527
2-08	499	483	479	485	481					479	477	480	479												
2-09	449	437	433	438	435	437	432	436	435																
2-10	394	383	380	384	380													377	375	377	375				
2-11	358	349	348	351	348									345	343	346	346	343	342	344	342	341	340	341	341
2-12	331	323	322	326	323	322	319	321	320	318	316	318	318	317	315	318	318	316	316	316	316	315	313	315	315
2-13	301	293	292	295	292													288	288	288	287	288	287	287	286
2-14	278	275	274	276	274																				
2-15	240	236	236	238	236	235	233	234	233	232	230	232	231	231	230	232	232	231	232	231	231	231	232	231	230
2-16	211	205	203	205	204					200	198	200	200												
stx2	181	180	179	181	180	179	178	179	179	178	177	177	177	177	176	177	177	178	177	177	177	178	178	177	177
stx1	151	151	150	151	150					148	146	147	147					148	148	147	147				

表４．チップＡの 2ndPC と各チップのサンプル検出遺伝子サイズ（bp）の差

サンプル	2nPC	EH1 2nd		EH2 2nd		EH3 2nd		EH4 2nd		EH5 2nd	
測定チップ	A	A	A以外平均	A	A以外平均	A	A以外平均	A	A以外平均	A	A以外平均
2-01	987			-105	-95					7	9
2-02	861	-12	-8	-13	-13	6	-19	23	11	12	12
2-03	801					-6	-10	4	1		
2-04	710	-12	-10			-1	0	7	7	10	11
2-05	642										
2-06	599										
2-07	555					7	6	11	11	12	14
2-08	499			4	4						
2-09	449	0	3								
2-10	394							6	7		
2-11	358					4	4	6	6	8	8
2-12	331	1	3	5	6	6	6	7	7	8	9
2-13	301							5	5	5	6
2-14	278										
2-15	240	1	3	4	5	5	5	5	5	5	5
2-16	211			5	6						
stx2	181	1	1	2	3	3	3	2	3	2	3
stx1	151			3	4			3	4		

図３．チップＡの 2ndPC と各チップのサンプル測定結果(EH2、EH3)



EH2 2nd set sample　　EH3 2nd set sample

表５．PCR 反応液全体量の違いによる比較（信号強度（mV））

1st set

株名		EH1			EH2			EH3			EH4			EH5		
バンド	size(bp)	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl
1-01	974				28	44	127	77	97	106	3	7	10	26	10	62
1-02	839							51	64	79	4	9	11	35	13	76
1-03	742															
1-04	645	1	4	10							3	8	11			
1-05	595															
1-06	561				4	6	17							24	12	66
1-07	495				22	36	111	35	47	66	3	9	12	29	16	78
1-08	442	1	4	11							4	11	15			
1-09	405							29	40	60	3	8	12	27	18	75
1-10	353										3	8	12			
1-11	325															
1-12	300							24	35	50	2	7	11	20	17	56
1-13	269	1	3	8				30	44	62	3	8	14	16	16	44
1-14	241															
1-15	211	1	3	8	24	38	92	24	37	52	3	7	12	12	14	36
eae	185	0.4	1	4	7	11	25	9	18	38	1	4	6	2	7	31
1-16	171	1	2	5	13	22	52	11	18	28	2	5	8	10	14	32
hlyA	137	0.4	1	3	5	9	19	6	13	34	1	3	5	1	4	17

2nd set

サンプル		EH1			EH2			EH3			EH4			EH5		
バンド	size(bp)	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl	50μl	25μl	12.5μl
2-01	987				68	80	83							5	10	34
2-02	861	5	7	16	30	38	32	37	10	25	2	3	8	5	10	32
2-03	801							47	20	60	1	5	12			
2-04	710	5	7	16				44	18	56	1	4	11	9	15	45
2-05	642															
2-06	599															
2-07	555							35	18	55	1	4	12	10	17	48
2-08	499				36	44	66									
2-09	449	1	1	6												
2-10	394										1	5	11			
2-11	358							26	25	62	2	6	12	8	20	47
2-12	331	4	6	13	44	53	85	38	27	80	2	6	13	6	13	33
2-13	301										1	4	9	3	13	31
2-14	278															
2-15	240	3	4	10	23	33	31	23	16	59	0	3	9	1	8	21
2-16	211				22	26	47									
stx2	181	3	3	8	22	26	52	24	27	68	1	5	9	4	14	32
stx1	151				18	22	45				1	4	7			

図４．PCR 反応液全体量の違いによる比較（ゲルイメージ）

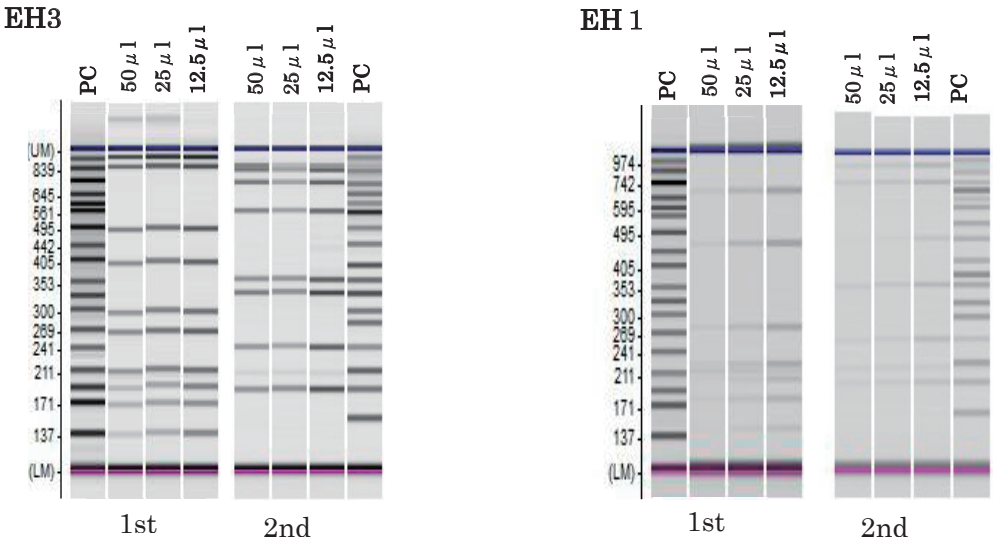


表６．添加する template の量及び濃度の違いによる比較（信号強度(mV)）

1st set

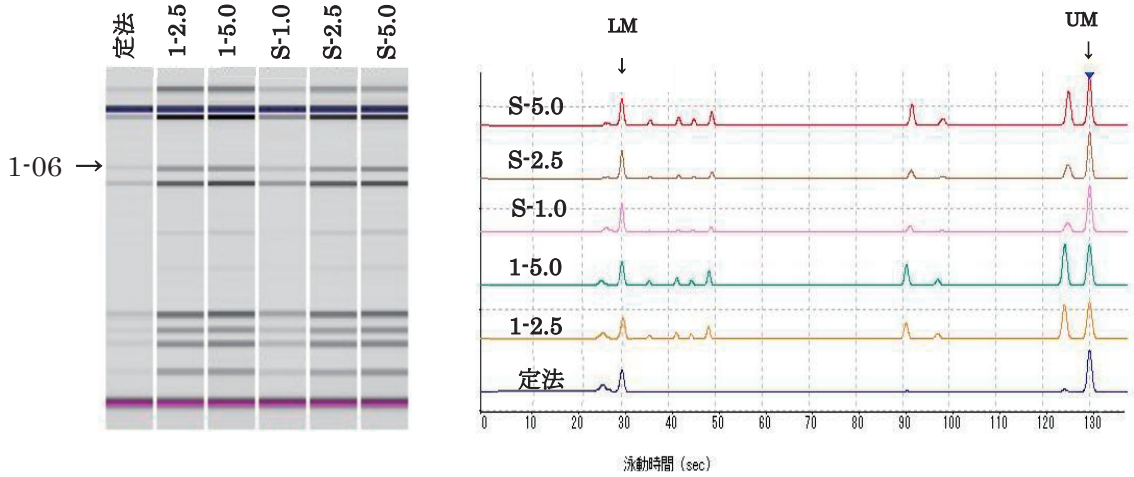
株名		EH1						EH2						EH3					
ladder	規定値	定法	1-2.5	1-5.0	S-1.0	S-2.5	S-5.0	定法	1-2.5	1-5.0	S-1.0	S-2.5	S-5.0	定法	1-2.5	1-5.0	S-1.0	S-2.5	S-5.0
1-01	974							14	169	202	46	68	168	10	125	118	43	107	165
1-02	839													7	82	87	28	73	127
1-03	742																		
1-04	645	7	18	39	91	223	291												
1-05	595																		
1-06	561							3	27	29	8	11	33						
1-07	495							6	79	100	30	42	104	4	64	74	22	58	105
1-08	442	9	23	51	90	204	255												
1-09	405													4	58	73	18	52	98
1-10	353																		
1-11	325																		
1-12	300													3	41	50	14	41	72
1-13	269	6	14	32	55	125	157							4	56	66	20	51	90
1-14	241																		
1-15	211	6	12	27	45	108	136	5	60	73	23	30	68	4	46	54	16	43	75
eae	185	2	5	9	17	50	80	2	22	24	7	11	32	1	15	18	5	19	32
1-16	171	3	6	13	26	72	98	2	30	40	11	16	41	2	24	31	7	21	40
hlyA	137	2	4	8	10	35	60	1	19	22	6	9	27	1	14	16	3	15	25

2nd set

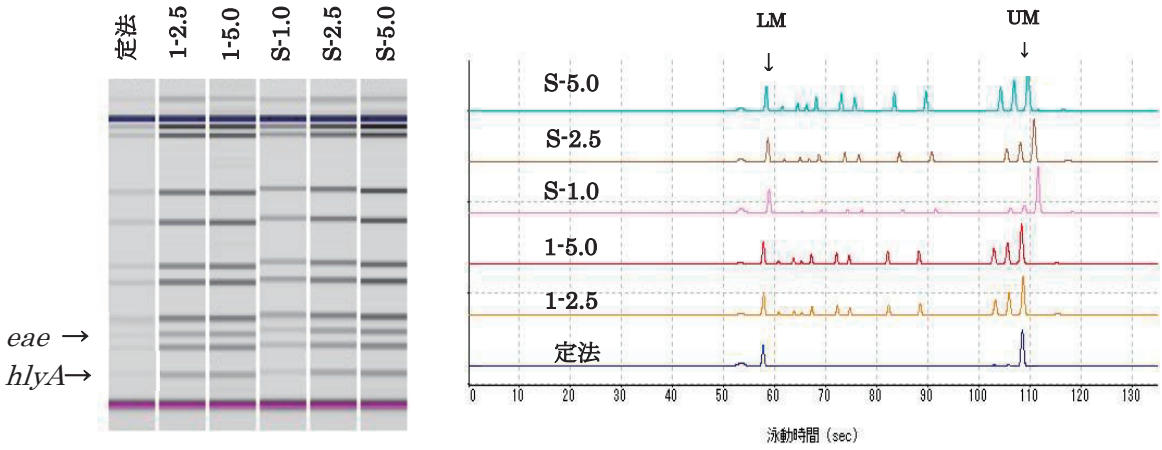
株名		EH1						EH2						EH3					
ladder	規定値	定法	1-2.5	1-5.0	S-1.0	S-2.5	S-5.0	定法	1-2.5	1-5.0	S-1.0	S-2.5	S-5.0	定法	1-2.5	1-5.0	S-1.0	S-2.5	S-5.0
2-01	987							13	98	111	200	189	188						
2-02	861	11	23	52	112	173	164	6	44	58	87	85	73	5	112	70	45	66	40
2-03	801													6	163	158	56	86	96
2-04	710	11	23	49	137	194	227							6	140	131	51	78	84
2-05	642																		
2-06	599																		
2-07	555													5	131	133	48	74	87
2-08	499							5	44	58	107	107	117						
2-09	449	2	4	13	5	54	51												
2-10	394																		
2-11	358													3	93	97	38	58	70
2-12	331	12	21	46	114	152	187	5	53	65	117	112	117	5	129	130	55	81	92
2-13	301																		
2-14	278																		
2-15	240	7	13	29	29	74	80	3	26	40	36	45	50	3	52	56	24	38	31
2-16	211							3	22	29	49	46	53						
stx2	181	5	8	18	105	136	160	2	22	30	50	51	63	4	92	102	51	75	89
stx1	151							1	26	35	70	67	75						

図５．添加する template の量及び濃度の違いによる比較
（ゲルイメージとエレクトロフェログラム）

EH2(1st set)



EH3(1st set)



EH1(2nd set)

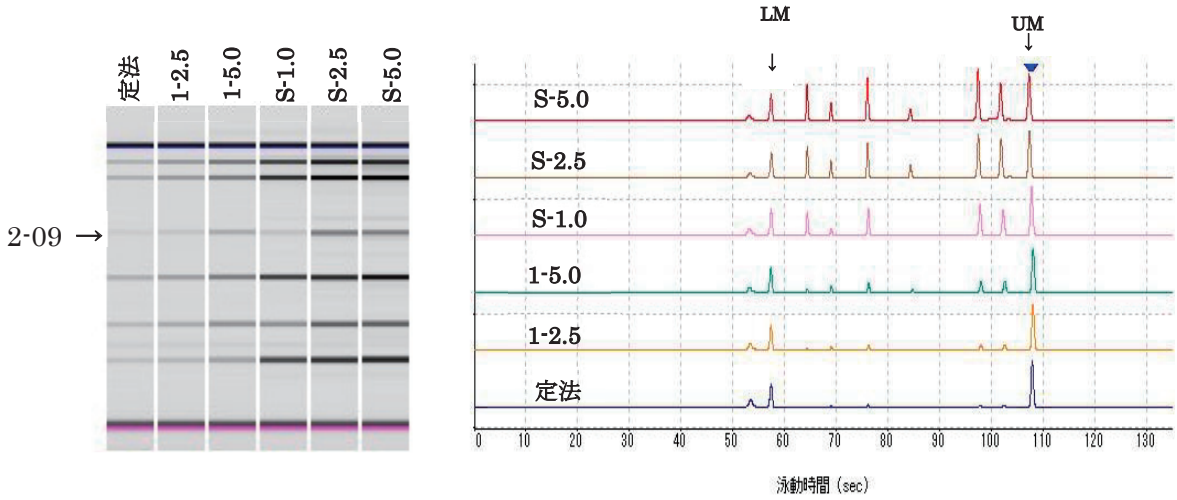
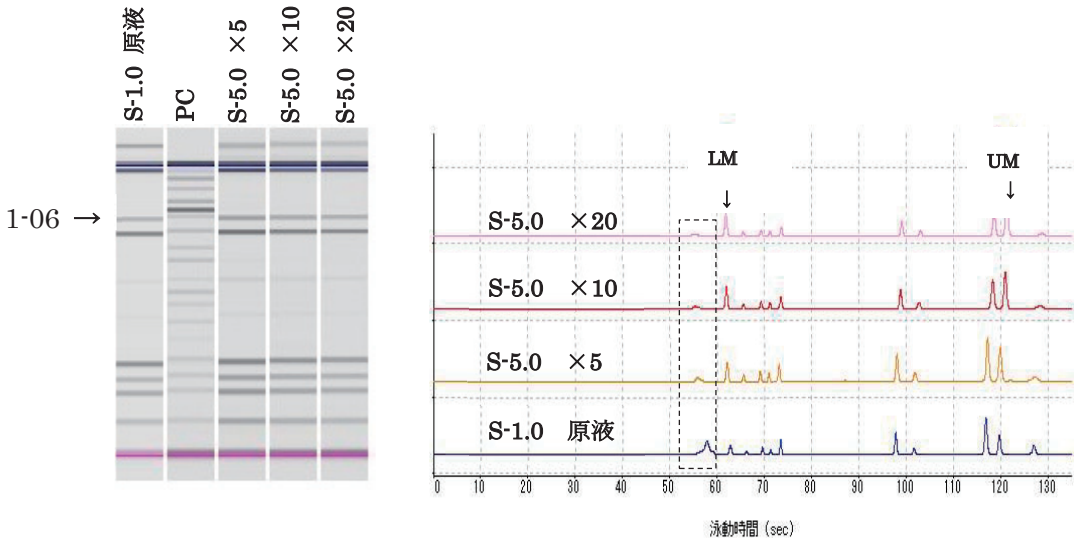
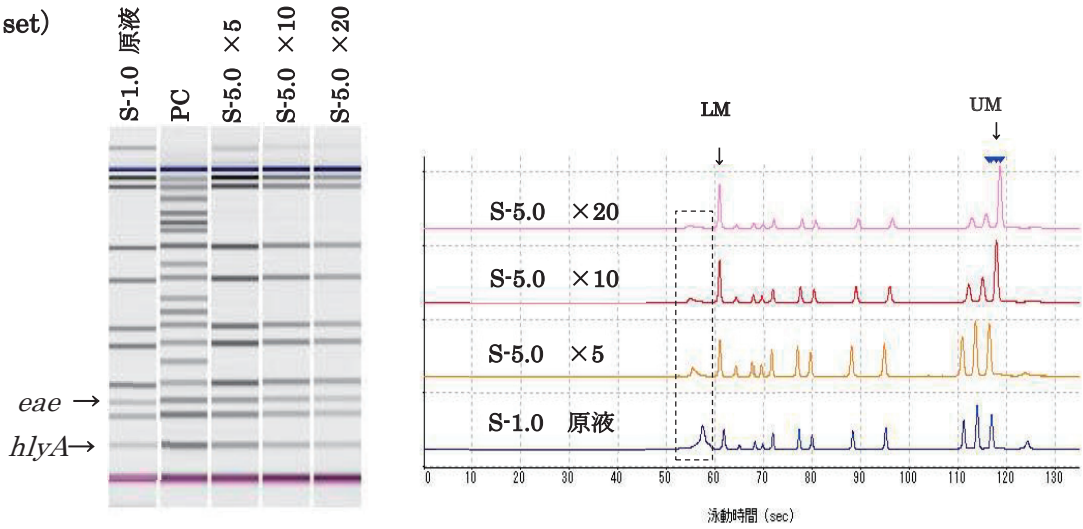


図６．希釈倍率の違いによる比較（エレクトロフェログラムとゲルイメージ）

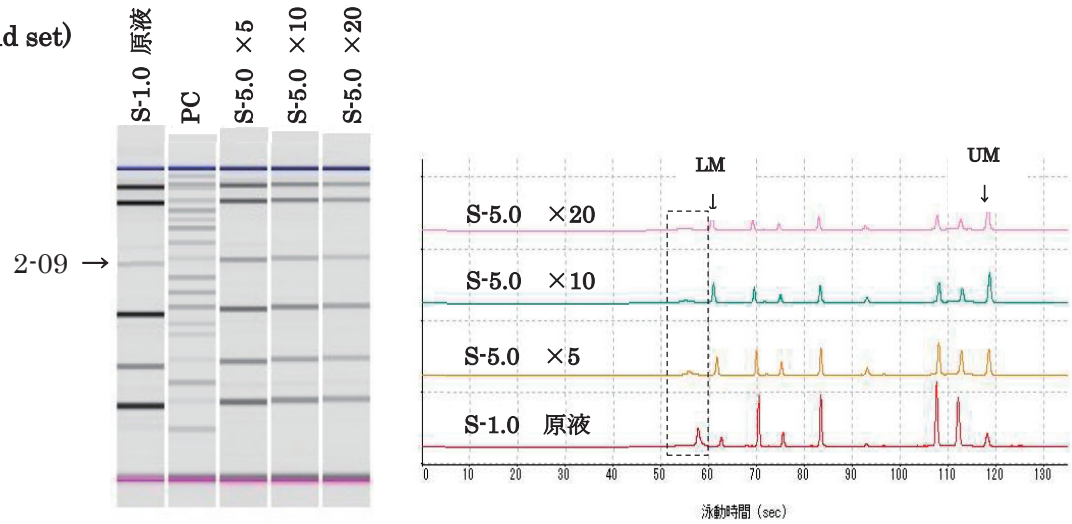
EH2(1st set)



EH3(1st set)



EH1(2nd set)



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）
総合分担研究報告書

地域レベルにおける広域食中毒対策方法の導入と改善策の研究

研究分担者	猿木　信裕	群馬県衛生環境研究所
研究協力者	松田　錦弥	群馬県衛生環境研究所
	藤田　雅弘	群馬県衛生環境研究所
	黒澤　肇	群馬県衛生環境研究所
	塩野　雅孝	群馬県衛生環境研究所
	井上　伸子	群馬県衛生環境研究所
	河合　優子	群馬県衛生環境研究所
	塚越　博之	群馬県衛生環境研究所
	丹羽　祥一	群馬県衛生環境研究所
	後藤　考市	群馬県衛生環境研究所
	小林　美保	群馬県衛生環境研究所
	佐々木佳子	群馬県衛生環境研究所
	松井　重憲	群馬県衛生環境研究所
	中野　剛志	群馬県衛生環境研究所

（平成 27 年度における研究分担者及び研究協力者）

研究要旨

地域レベルにおける広域食中毒対策の導入と改善策の研究として、平成 26 年度及び平成 27 年度に腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症の早期探知・早期診断システムの構築、流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査、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の 3 項目に関して調査研究を実施した。

EHEC 感染症の早期探知・早期診断システムの構築では、本県の基幹保健所 1 箇所と中核市 2 市の保健所及び管内医療機関とが連携し、EHEC 感染を疑った症例について検体を採取した。検体は当研究所へ搬入し、分離・同定検査を実施した。システムを始動した平成 26 年 11 月から平成 28 年 3 月までの間に 15 症例について検体が搬入され、うち 1 例の便から O157（VT2）が分離された。また、他の 1 例の血清からは O157 抗原凝集抗体が検出された。本システムにおける医療機関、保健所との連携による連絡調整、検査体制に問題はなく、検体搬入から 2 日程度で結果を報告できた。目的として挙げていた、EHEC 感染症の早期探知に向けた保健所や医療機関、当研究所間での連携は達成されたと考えられる。

流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査では、県内で購入した食材計 101 点につ

いて、食中毒原因菌 14 種を検出対象に検査を実施した。平成 26 年度には鶏モモ肉及び鶏ムネ肉からサルモネラ O7 群、鶏ひき肉から病原大腸菌 O18（VT 陰性）が検出された。また、野菜類 5 検体からはセレウス菌が検出された。平成 27 年には鶏手羽元や鶏モモ肉からカンピロバクターとリステリアが検出され、さらに鶏モモ肉からはサルモネラ O4 群が検出された。もやしからはセレウス菌が検出された。食中毒は食材の不十分な洗浄や加熱不足など不適切な調理が原因で発生することが知られている。市販食材の汚染状況を調査し、その情報を還元することは、今後も広域食中毒予防の対策として有効な手段となりうる。

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では、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」による研修の効果等を把握するため、県内保健所等の感染症あるいは食中毒関連業務担当者を対象に質問票調査を実施した。平成 26 年度には、研修会の効果について「役に立った」との回答が 82%、頻度について「毎年実施するべき」との回答が 91%あり、研修会に対する評価や期待は高かった。希望する研修会テーマに関しては、「積極的疫学調査」や「データ解析手法」といった実際に事例が発生した際に活用できる項目が多く選択された。平成 27 年度には研修会の効果について、89%が「役に立った」と回答し、ケーススタディで他所属の担当者と意見交換ができたことを評価する回答もあった。研修で使用した「広域食中毒疫学調査ガイドライン」については、「研修に参加して知った」が 61%であった。研修会の開催形式では、「講義とグループワーク形式」を希望する回答が最も多かった。研修会に対しては多くの担当者が必要性を感じており、今後は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と考えられた。

A　研究目的

A-1.　腸管出血性大腸菌感染症の早期探知・早期診断システムの構築

厚生労働省の食中毒統計調査では、腸管出血性大腸菌（EHEC）による食中毒発生数及びその患者総数は、平成 25 年が 13 件 105 名、平成 26 年が 25 件 766 名、平成 27 年が 17 件 156 名と報告されている。平成 26 年 7 月には、静岡市で開催された花火大会において露店で提供された「冷やしキュウリ」を原因とする O157 の集団食中毒が発生した。本事例の患者数は 510 名（入院 114 名）で、O157 による食中毒の中でも大規模な発生事例であった。

こうした現状から、広域に及ぶ EHEC 事例では、その感染を早期に探知し、速やかに二次感染防止を図ることが必要である。そこで、地域の保健所と医療機関、当研究所で連携し、EHEC 感染症の早期探知システムの構築及びその運営について検討する。

A-2.　流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査

食材の流通網が発達し、その形態が広域化・複雑化するなかで、食中毒の広域散発事例における初期探知では原因食材の検索は困難である。そこで、一般に流通する食材を対象として食中毒原因菌による汚染状

況を調査し、事前にリスクを把握するとともに、食中毒対策に係る資料として監視や指導に活用する。

A-3.　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

広域食中毒事例に対して「広域食中毒疫学調査ガイドライン」が示され、疫学調査における標準的な調査手法としての活用が期待されている。しかし各事例においての情報収集や動向監視、情報共有体制は、担当者の経験や技術に依存する部分が大きく、人材育成によるスキルの向上及び認識の標準化は急務であると考えられる。そこで、地域レベルにおける広域食中毒の調査手法等を習得するための研修会を開催し、研修によって得られる効果やその開催方法を検討する。

B.　研究方法

B-1.　腸管出血性大腸菌感染症の早期探知・早期診断システムの構築

平成 26 年 11 月より本県の基幹保健所 1 箇所と中核市 2 市の保健所および各保健所管内の医療機関と連携し、図 1 に示す本システムの構築に向け検討を重ねた。当該医療機関において、腹痛やおう吐、下痢等の消化器症状を呈した患者を診察した医師が EHEC 感染を疑った際には、管轄の保健所へ連絡するとともに、患者の同意を得て当研究用の検体（糞便等）を採取した。採取された検体は保健所の担当者により当研究所へ搬入され、図 2 に示す手順で検査を実施した。

搬入された検体は、DHL 寒天培地、クロモアガーSTEC 寒天培地、CT-sMAC 寒天培地、BHI 増菌培地に塗布し、37℃で 16 時間培養した。その後、TSI/LIM 寒天培地、普通寒天培地、BHI 寒天培地に接種した。TSI/LIM 寒天培地等で生化学的性状を確認し、病原大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いて血清型別（O 型）を行った。ベロ毒素（VT）遺伝子の検出では、普通寒天培地のコロニーから釣菌し、アルカリ熱抽出法により DNA を抽出後、O-157（ベロ毒素 1 型、2 型遺伝子）PCR Typing Set（タカラバイオ）を使用し PCR を実施した。VT 産生性は BHI 寒天培地のコロニーを VTEC-RPLA（デンカ生研）を使用し確認した。また、広域事例が疑われる場合には、菌株の相同性を MLVA（Multilocus variable-number tandem-repeat analysis）法で解析することとした。検体搬入からおおむね 2 日で VT 産生性及び VT 遺伝子の有無が判明、EHEC であるかが判定でき、検査結果は保健所を通して速やかに医療機関へ報告した。

B-2.　流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査

平成 26 年度から 27 年度にかけて県内で肉や野菜等の生鮮食料品を販売する店舗を選定し、そこで購入した肉類（牛、豚、鶏）、野菜類、魚介類、鶏卵等計 101 点（平成 26 年度：4 店舗 47 点、平成 27 年度：11 店舗 54 点）を検査材料とした。なお、鶏卵に関しては行政収去品を用いた。検査は当研究所での食中毒検査に用いる GLP 標準作業書（SOP）に基づき実施した。検出対象とした食中毒原因菌は、病原大腸菌（EHEC を含む）、赤痢菌、サルモネラ属菌、コレラ、腸炎ビブリオ、エロモナス、プレジオモナ

ス、カンピロバクター、エルシニア、リステリア、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、ウェルシュ菌の 14 種で、検査材料の種類により対象の菌種を一部除外した。検査材料から食材原液（検査材料 10g に滅菌 PBS を 90mL 添加し、ストマッキングした乳剤）を調製し、食中毒原因菌検出用の選択分離培地や増菌液体培地へそれぞれ接種した。培養後、原因菌と疑われるコロニーが認められた場合は、生化学的性状試験、血清型別試験、遺伝子検査等を実施し、菌種を同定した。

B-3.　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

当研究所が毎年 7 月に開催している「群馬県感染症食中毒担当者疫学研修会」による研修の効果や活用状況、担当者のニーズ等を把握・検討するため、当該研修会への参加状況にかかわらず、県内の保健所及び中核市保健所、県庁本課の感染症あるいは食中毒関連業務担当者を対象に質問票（図 3, 4）による調査を実施した。質問票は対象者あてにメールで送付し、返信という形で回答を依頼した。質問事項として、回答者の基本情報（感染症や食中毒業務の担当年数等）、研修会の実施に関する意見（日時や内容の設定、研修会の効果等）、今後の研修会に関する要望（希望するテーマ、受講形式等）について質問を設けた。

（倫理面への配慮）

本研究では個人が特定される情報、不利益を被る情報は用いていない。

C.　研究結果

C-1.　腸管出血性大腸菌感染症の早期探知・早期診断システムの構築

システムを始動した平成 26 年 11 月から平成 28 年 3 月までの間に、県内の 8 医療機関から各保健所を通じ 15 症例の検体が搬入された（表 1）。男女別では男 4 名、女 11 名で女性の報告が多かった。年齢は最年少が 0 歳 1 か月、最高齢が 90 歳で、特に 5 歳未満の乳幼児と 60 歳以上の高齢者が顕著であった。

15 例中の 1 例（平成 27 年 7 月 6 日受付）は、67 歳の女性で、腹痛及び水様性下痢を発症して医療機関を受診した。診察した医師は EHEC 感染症を疑い検体が搬入されたものの、当研究所の検査では、カンピロバクターが分離され、EHEC は確認できなかった。検査結果は保健所を通じ速やかに医療機関へ報告された。

4 歳男児の事例（平成 27 年 7 月 21 日受付）では、医師が EHEC 感染を強く疑い、検体として便と血液が当研究所へ搬入された。便からは EHEC が分離されなかったため、感染症法における EHEC 感染症の届出基準である血清からの O 抗原凝集抗体の検出を試みたところ、O157 抗体が確認できた。また、その男児の弟（2 歳、平成 27 年 7 月 22 日受付）の便も後日搬入され、O157（VT2 産生）が分離された。

他の事例については EHEC の分離には至らなかったものの、医療機関、保健所及び当研究所の連携による早期探知・早期診断システムにおける連絡体制や検査体制に問題はなく、円滑に進んだ。

C-2.　流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査

平成26年度及び平成27年度の調査結果を表2に示す。平成26年度には4店舗47検体のうち、2店舗の8検体から食中毒原因菌が検出された。店舗Aでは鶏モモ肉1検体からサルモネラO7群、鶏ひき肉1検体から病原大腸菌O18（VT陰性）が検出された。店舗Cでは鶏ムネ肉1検体からサルモネラO7群、野菜類5検体（白菜、ニンジン、バレイショ、ほうれん草、ゴボウ）からそれぞれセレウス菌が検出された。なお、セレウス菌は、嘔吐毒（セレウリド）遺伝子の保有及び下痢毒（エンテロトキシン）の産生性ともに陰性であった。

平成27年度には11店舗54検体のうち、4店舗の5検体から原因菌が検出された。店舗Eで購入した鶏ウイング（手羽元）1検体からカンピロバクタージェジュニが検出され、店舗Fでは鶏モモ肉1検体からはカンピロバクタージェジュニ及びリステリアモノサイトゲネスが同時に検出された。また、店舗Gで購入した鶏モモ肉1検体からはサルモネラO4群が検出された。店舗Iでは野菜類のもやし1検体からセレウス菌が検出されたが、嘔吐毒遺伝子の保有、下痢毒の産生性はいずれも陰性であった。また、本調査の検出対象菌ではないが、店舗J及び店舗Kの2店舗でそれぞれ購入したもやしからは、枯草菌が検出された。

C-3.　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

平成26年度の調査では、疫学研修について質問票を送付した41名のうち、22名（54%）から回答を得た。研修会の実施方法（開催場所、時期、研修内容）についての設問では、いずれの項目についても回答者の90%以上が「適切である」と回答したものの、食中毒の発生が比較的少ない時期に開催したほうがよいという意見も挙がった。また、研修会の効果に関する設問で「役に立った」との回答が82%（18/22）、開催頻度に関する設問で「毎年開催するべき」との回答が91%（20/22）であり、研修会に対する評価は高かった。希望する研修会のテーマに関しては、「積極的疫学調査」や「データ解析手法」といった、実際に事例が発生した際に活用できる項目が多く選択された。

平成27年度においては、当該研修会の参加者及び不参加者で質問票の設問内容を一部変更した。参加者では34名中18名（53%）、不参加者では59名中34名（58%）から回答を得られた。参加者を対象に研修会の効果を尋ねる設問では、89%（16/18）が「役に立った」と回答し、食中毒担当者と感染症担当者、あるいは他所属の担当者とで意見交換ができたことを評価する回答もあった。また、研修で一部使用した「広域食中毒疫学調査ガイドライン」についての設問では、「研修に参加して知った」が61%（11/18）であった。全回答者に対し、研修会の開催形式を尋ねた設問では、「講義とグループワーク形式」を希望する回答が最も多く、他にコンピュータやWebを利用した研修についての要望もあった。

D.　考察

D-1.　腸管出血性大腸菌感染症の早期探知・早期診断システムの構築

EHECは食中毒の原因菌として、多くの散発あるいは集団事例に関与している。平成19年に富山県及び関東地方の焼肉チェ

ーン店で発生した広域食中毒事件では、EHEC に汚染されたユッケが原因とされ、患者 181 名のうち、溶血性尿毒症症候群（HUS）発症者は 32 名、死者は 4 名となった。EHEC が原因となった食中毒では、HUS や脳症等を伴い重症化する場合が多く、汚染された食材の流通により広域化する可能性がある。したがって、EHEC 感染症を早期に察知し広域発生の関連性を関係機関で共有することは、広域事例への迅速な対応の有用な手段となる。

本研究において、早期探知・早期診断システムの構築に向けた検討は、平成 26 年 11 月から平成 28 年 3 月までの 1 年 4 か月の間に事例数 15 例となり、うち 2 例に関しては EHEC 感染の早期探知につながった。両例とも広域事例への関与はなかったが、当初の目的として挙げていた、EHEC 感染症の早期探知に向け、保健所や医療機関と当研究所間での連携は達成された。

D-2.　流通食材における食中毒原因菌の汚染状況調査

食中毒は調理従事者等からの汚染だけでなく、原因菌に汚染されている、あるいは環境細菌が付着したままの食材を不適切な調理・加工し喫食することによって引き起こされている。食肉では、家畜の腸管常在菌である EHEC やカンピロバクター、サルモネラ菌等が食中毒原因菌として問題となるが、野菜類では、土壌中に生息するセレウス菌やウェルシュ菌が検出されることが問題となる。厚生労働省が各自治体を介して実施している食中毒菌汚染実態調査では、野菜類や加工品としての漬物では大腸菌（*E.coli*）やサルモネラ属菌、EHEC を検出対象として調査を行い、肉類に関してはそれらに加え、カンピロバクターを対象としている。平成 27 年度の調査では、野菜類や漬物から *E.coli* が、肉類からは *E.coli* だけでなくサルモネラ菌やカンピロバクター、EHEC O103 や O121 が検出されていた。

今回の調査では地域での市販食材における食中毒原因菌（14 菌種）による汚染状況を調査したが、2 年間の調査で鶏肉類からは *E.coli* O18 やカンピロバクター、サルモネラ属菌等が検出された。加熱調理用の鶏肉であるため、喫食する際に加熱を十分に行い、適切な調理をすれば大きな問題はないと思われるが、調理器具等を介した二次感染の可能性は否定できない。また、野菜類のうち 6 種類からセレウス菌が検出された。これら野菜は生食用、加熱用の区別なく販売されており、特に白菜やもやしは生で食される可能性もある。本調査の結果のように土壌由来の細菌等が多く付着している場合もあるため、十分な洗浄と加熱調理など衛生的な取扱いをする必要がある。

市販食材の汚染状況を調査し、その情報、対策を周知していくことは、今後も広域食中毒予防対策として有効な手段だと考えられた。

D-3.　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

本県では、保健所の食中毒や感染症の担当者を主な対象として、疫学調査に関する研修を実施している。この研修により、個々の担当者が疫学調査手法等を理解・習得し、また担当者同士で共通認識を得ることで、広域化かつ複雑化する食中毒事例に対応できる人材の育成を図っている。その研修に

対する担当者の意識、研修効果等を調査した結果、研修会の効果については、回答者の８割以上から「役に立った」という回答が得られた。毎年の開催を希望する回答が多かったことからも、研修会の定期的な開催を必要としていることが確認できた。また、今後希望する研修会テーマとしては、「積極的疫学調査」や「データ解析手法」が多く回答された。食中毒事例が多様化する中で、自分の調査手法に対する理解度や基本的な考え方をいま一度確認できるテーマを望んでいると推察される。研修会の形式では、「講義とグループワーク形式」を希望する回答が多かった。グループワークは特に、受動的な聴講型ではなく参加型であること、他の保健所の担当者と直接意見交換できること、ケーススタディにより実践に即した研修ができることなどが有効な研修形式であると考えられた。

平成 27 年度の研修会で用いられた「広域食中毒疫学調査ガイドライン」に関しては、研修会を通して知った者が多く、研修会後にあらためて読み返してみたという意見もあった。ガイドラインを標準的な調査手法として活用していくためには、今後の研修会においても積極的に資料教材として取り上げていく必要がある。

研修会に対する自由な意見として、「異なる職種や所属の担当者から多様な意見が聞ける」、「経験年数が浅い人からベテランまで集まり議論できる」、「保健所同士のネットワークを築いたり、意見交換ができる場でありがたい」といったものが挙がり、単なる個人のスキルアップだけでなく担当者同士で意見を交わすことによる連携の強化も相乗効果として期待される。

発症者が広域かつ多数に及ぶ食中毒事例では、限られた人員の中で役割を分担し、効率よく調査を進めていかねばならないので、日頃から担当者は、研修会等で学ぶ場が必要である。本研修会は多くの担当者がその必要性を感じているため、今後は更に担当者のニーズを考慮した研修を継続して実施していくことが、全体の疫学調査の質向上に寄与できるものと考えられた。

E. 結論

食品・食材流通網のグローバル化や提供する店舗等のチェーン展開により、食中毒事例は広域化する傾向がある。特に EHEC が関与する事例では、重傷者や死亡者が多く見受けられることもあるため、広域的発生を早期に探知し対策を講じることは、感染のまん延や二次的被害を食い止めるうえで極めて効果的である。本研究において検討した早期探知・診断システムは、EHEC 探知情報の関連性を関係機関で共有することで、迅速に広域事例の発生を探知するための有効な手段になると考えられる。

食中毒原因菌による市販食材の汚染状況を事前に把握しておくことは、広域食中毒事件における疫学調査で、原因究明に向けた有用な情報となるだけでなく、消費者に対する食中毒防止や二次感染対策の啓発に活用できる資料となる。今後も対象食材を検討し継続して調査を実施することで、より有効なデータが得られると思われる。

食中毒事例で疫学調査を行う担当者については、初期探知における適切な判断に基づいた疫学調査が必要である。しかし、それぞれの事例において疫学的背景は異なっており、また調査の過程で得られる情報も

多様であることから、それらを処理する手法を習得している必要がある。そのためには研修会等のスキルアップを図る機会を定期的に設けることが大切である。その内容に関しては、担当者のニーズを把握し、実践的な研修を展開することが、効果的な人材育成となり、広域的な食中毒事例の原因究明に寄与する取組となる。

謝辞

本研究の EHEC 感染症早期探知・早期診断システムの構築において、検体収集等に御尽力いただいた県内医療機関並びに前橋市及び高崎市保健所、渋川保健福祉事務所の担当者の皆様に心より感謝いたします。

また、感染症・食中毒業務担当者疫学研修会の調査に回答いただいた前橋市及び高崎市保健所、県内各保健福祉事務所、群馬県保健予防課および衛生食品課の担当者の皆様に深謝いたします。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 28 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会

H. 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

EHEC感染症早期探知・早期診断システム

EHEC感染が疑われる段階で医療機関からの情報を受け、
重症化や集団感染の可能性がある事例を早期探知する。

1. 血便等の症状から、EHEC感染が強く疑われる患者
2. 医療機関から保健所へ早期に患者情報提供
3. 医療機関と保健所で検査実施について協議し、検体を提出
4. 衛生環境研究所で迅速検査を実施し、遺伝子情報を数日で提供
   保健所から医療機関へ報告（広域事例疑いは、後日MLVAを実施）

保健所は届出を伴う事例発生時に、菌株の遺伝子情報や
地域情報を把握しながら、疫学調査を実施することができる。

図１　EHEC 感染症早期探知・早期診断システム概要

		[迅 速 検 査 法]			
0日	検体搬入	DHL培地	STEC培地	CTsMAC培地	（増菌）BHI培地
1日	分離・増菌	TSI/LIM培地	普通寒天培地	BHI培地	平板培地へバックアップ
2日（PM）	遺伝子検査 判定・報告	VT-PCR → PCR判定	VT-RPLA法（血清型別）（最速4-5時間で判定可） → RPLA判定	MLVA（PCR）	
3日（PM）	解析・報告	MLVA解析		MLVA（sequence）	
4日	解析・報告				

・使用培地はDHL、クロモアガーSTEC、CT-sMAC、BHI、TSI、LIM
・増菌のバックアップとしてBHI液体培地（小試2ml分注）にも移植
・ベロ毒素RPLA法／ベロ毒素遺伝子PCR法／MLVA法
（PCR条件　94℃ 60秒、55℃ 60秒、72℃ 60秒を35サイクル）
※ 操作上で不具合が生じた場合は、必ず前段階に戻り確認しながら行う。

図２　EHEC 感染症早期探知・早期診断システムの検査手順

感染症・食中毒担当者疫学研修会に係わる調査（参加者用）

■ 回答者の基本情報を把握するために現在の所属について質問します。

1 感染症・食中毒調査業務の延担当年数をお答えください（例；1年未満、3年）。

2 現在の主な業務を以下から選択してください（複数選択可）。

(1) 保健所の感染症関連業務 (2) 保健所の食中毒関連業務 (3) 保健所の健康危機管理関連業務
(4) 本庁の感染症関連業務 (5) 本庁の食中毒関連業務 (6)その他（具体的に御記載ください）

選択肢回答
選択肢回答
その他回答

3 「広域食中毒ガイドライン（平成26年1月30日）」（今回の研修で一部使用）について知っていますか

(1) 知っていた (2)知らなかった (3) 今回、研修に参加して知った

■ 今回の研修会の実施方法について伺います。（7月3日（金）PM「腸管出血性大腸菌疫学調査」衛生環境研究所）

4 回答欄の各セルをクリックし、「適切だと思う」と「改善を希望する」より選択してください。

	回答	改善案があれば記載してください
開催場所		
開催時期		
開催内容		

5 研修会の効果についてお聞かせください。

(1) 役に立った (2) 変わらない (3) 役に立たなかった

6 本研修会は毎年実施するべきだと思いますか。

(1) 毎年実施するべき (2) 毎年の実施は不要（隔年、数年おきでよい）(3) 今年度のみの実施でよい

■ 今後の研修会の実施方法について伺います。

7 今後の研修会のテーマについて以下の中から希望をお聞かせください（複数選択可）。

(1) 健康危機管理 (2) 積極的疫学調査 (3) データ解析手法 (4)感染症・食中毒の流行状況
(5) 感染症・食中毒の病気の解説 (6)疫学・統計学一般 (7)院内感染 (8)市中感染症 (9)希少感染症・新興感染症

選択肢回答
選択肢回答
選択肢回答

8 研修会に追加を希望するテーマを御記載ください。

9 今後の研修会の開催方法について以下の中から希望をお聞かせください（複数選択可）。

(1) 講義形式 (2) グループワーク形式 (3) 講義とグループワーク形式の両方 (4)Web研修

選択肢回答
選択肢回答

10 研修会に追加を希望する開催方法を御記載ください。

11 今後の研修会の研修時間について以下の中から希望をお聞かせください。

(1) 半日 (2) 1日 (3) 2～3日 (4)1週間 (5) 1週間以上

選択肢回答

12 研修会に対する感想や御要望を御記載ください。

13 また衛研では感染症に関する感染症研修会（11月19日（木）18:30～20:30「エボラ出血熱・MERS」県民健康科学大学）を実施しています。こちらの研修会に対する感想や御要望を御記載ください。

以上で質問は終了です。お忙しいところ御協力いただきありがとうございました。

図３ 感染症・食中毒担当者疫学調査研修会に関する質問票（参加者用）

感染症・食中毒担当者疫学研修会に係わる調査（不参加者用）

■ 回答者の基本情報を把握するために現在の所属について質問します。

1 感染症・食中毒関連業務の延担当年数をお答えください（例；1年未満、3年）。

2 現在の主な業務を以下から選択してください（複数選択可）。

（1） 保健所の感染症関連業務 （2） 保健所の食中毒関連業務 （3） 保健所の健康危機管理関連業務
（4） 本庁の感染症関連業務 （5） 本庁の食中毒関連業務 （6）その他（具体的に御記載ください）

選択肢回答
選択肢回答
その他回答

3 「広域食中毒ガイドライン（平成26年1月30日）」（今回の研修で一部使用）について知っていますか

（1）知っていた （2）知らなかった （3）参加者から聞き知った

■ 今回の研修会の実施方法について伺います。（7月3日（金）PM「腸管出血性大腸菌疫学調査」衛生環境研究所）

4 回答欄の各セルをクリックし、「適切だと思う」と「改善を希望する」より選択してください。

	回答	改善案があれば記載してください
開催場所		
開催時期		
開催内容		

5 参加しなかった理由に該当するものを選択してください。 選択肢回答

（1） 研修会の実施を知らなかった。
（2） 研修内容を加味して、以前参加しているため、参加する必要はないと判断した。
（3） 参加を検討したが、業務に直接関係しない内容と判断した。
（4） 業務の都合で、所属で複数は参加できなかった。
（5） 業務の都合で、設定の曜日・時間に参加できなかった。
（6） その他（回答欄に具体的に記載ください）

その他回答

6 本研修会は毎年実施するべきだと思いますか。

（1）毎年実施するべき （2）毎年の実施は不要（隔年、数年おきでよい）（3） 今年度のみの実施でよい

■ 今後の研修会の実施方法について伺います。

7 今後の研修会のテーマについて以下の中から希望をお聞かせください（複数選択可）。

（1） 健康危機管理 （2） 積極的疫学調査 （3） データ解析手法 （4）感染症・食中毒の流行状況
（5） 感染症・食中毒の病気の解説 （6）疫学・統計学一般 （7）院内感染 （8）市中感染症 （9）希少感染症・新興感染症

選択肢回答
選択肢回答
選択肢回答

8 研修会に追加を希望するテーマを御記載ください。

9 今後の研修会の開催方法について以下の中から希望をお聞かせください（複数選択可）。

（1） 講義形式 （2） グループワーク形式 （3） 講義とグループワーク形式の両方 （4）Web研修

選択肢回答
選択肢回答

10 研修会に追加を希望する開催方法を御記載ください。

11 今後の研修会の研修時間について以下の中から希望をお聞かせください。

（1） 半日 （2） 1日 （3） 2～3日 （4）1週間 （5） 1週間以上

選択肢回答

12 研修会に対する感想や御要望を御記載ください。

13 また衛研では感染症に関する感染症研修会（11月19日（木）18:30～20:30「エボラ出血熱・MERS」県民健康科学大学）を実施しています。こちらの研修会に対する感想や御要望を御記載ください。

以上で質問は終了です。お忙しいところ御協力いただきありがとうございました。

図４ 感染症・食中毒担当者疫学調査研修会に関する質問票（参加者用）

表１　EHEC 感染症早期探知・早期診断システム実施状況

検体番号	受付年月日	年齢（月齢）	性別	血便有無	VTEC-RPLA	VT-PCR	EHEC	検査結果連絡日
SR1	2014年 11月11日	4歳	女	無	陰性	陰性	陰性	11月13日
SR2	12月8日	65歳	女	**有**	実施せず	陰性	陰性	12月10日
SR3	2015年 3月6日	82歳	女	無	実施せず	陰性	陰性	3月10日
SR4	4月14日	49歳	女	**有**	陰性	陰性	陰性	4月16日
SR5	4月15日	29歳	女	無	陰性	陰性	陰性	4月17日
SR6	4月20日	90歳	女	**有**	陰性	陰性	陰性	4月22日
SR7	6月3日	0歳1ヵ月	女	無	陰性	陰性	陰性	6月5日
SR8	6月12日	12歳	男	**有**	実施せず	実施せず	陰性（菌分離されず）	6月15日
SR9	7月6日	67歳	女	無	陰性	陰性	陰性（カンピロバクター分離）	7月8日
SR10	7月8日	67歳	女	**有**	陰性	陰性	陰性	7月10日
SR11	7月21日	4歳	男	無	実施せず	実施せず	**陽性（血清O157抗体）**	7月23日
SR12	7月22日	2歳	男	**±**	**VT2**	***vt2***	**陽性**	7月24日
SR13	8月17日	16歳	男	無	陰性	陰性	陰性	8月19日
SR14	11月2日	81歳	女	**有**	実施せず	実施せず	陰性（菌分離されず）	11月5日
SR15	2016年 2月2日	88歳	女	無	陰性	陰性	陰性	2月4日

表２　市販食材の食中毒原因菌汚染状況

平成26年度

分類		肉類	鶏卵	魚介類	野菜類	その他			計
検査対象		牛肉(2)、豚肉(2)、豚内臓(2)、鶏肉(3)、鶏内臓(3)、鶏ひき肉(1)	卵黄(2)、卵殻ふき取り(2)※	サケ、イワシ、サンマ、しらす、ホタテ(各1)	ネギ、ベビーリーフ、白菜、チンゲンサイ、ニラ、ニンジン、バレイショ、ほうれん草、ブロッコリー、インゲン、パプリカ、ゴボウ(各1)	豆腐(2)	昆布(1)、わかめ(1)	チーズ(3)、牛乳(2)、キノコ類(2)、漬物(キャベツ、ナス各1)	
検体数		13	4	5	12	2	2	9	47
店舗	A	●(鶏モモ肉：サルモネラ O7群)(鶏ひき肉：*E.coli* O18(VT−))	(収去品)	○		○			
	B	○		○			○		
	C	●(鶏ムネ肉：サルモネラ O7群)			●(白菜、ニンジン、バレイショ、ほうれん草、ゴボウ：*B.cereus*)				
	D	○		○				○	

平成27年度

分類		肉類	鶏卵	魚介類	野菜類	計
検査対象		牛肉(2)、豚肉(5)、牛・豚ひき肉(1)、鶏肉(8)	卵黄(2)、卵殻ふき取り(2)※	サケ(2)、エビ(1)	もやし(13)、かいわれ大根(4)、スプラウト(3)、ネギ(2)、レタス(2)、キュウリ(2)、ミニトマト(2)、ベビーリーフ、アルファルファ、豆苗(各1)	
検体数		16	4	3	31	54
店舗	E	●(鶏手羽元：*C.jejuni*)	(収去品)			
	F	●(鶏モモ肉：*C.jejuni*、*L.monocytogenes*)				
	G	●(鶏モモ肉：サルモネラ O4群)		○	○	
	H			○	○	
	I				●(もやし：*B.cereus*)	
	J				○	
	K				○	
	L				○	
	M				○	
	N				○	
	O				○	

検査対象の括弧内は、購入数を示す

※　殻付き鶏卵の検査前のふき取り

○　食材を購入した項目

●　食材を購入し、食中毒原因菌が検出された項目(括弧内は、検出した食材及び原因菌を示す)

平成26年-28年度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)
総合分担研究報告書

ウイルスを主とした広域事例調査手法の検討

研究分担者　野田　衛　(国立医薬品食品衛生研究所)

研究要旨

食品媒介ウイルスによる散在型集団食中毒事例(diffuse outbreak)を早期に探知するためには，各事例の患者等から検出されたウイルスの塩基配列を比較して，株間の異同性を調べることが有用である。また，ウイルスによる食中毒が疑われる場合，調査において，食中毒か否かの判断や調理従事者からの二次汚染の有無の判断などを行うためには，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ことが重要である。しかしながら，これらの解析を行政レベルで実施している自治体は多くないのが現状である。そこで，本研究では迅速な相同性解析や遺伝子型別を行うために，エクセルファイルをデータソースとするローカルBlast検索システムおよび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。平成26年度は，①塩基配列データをFASTA 形式とエクセル形式の相互に変換するプログラム，②検索したい株(問い合わせ株)と検索の対象となる株(参照株)のそれぞれをエクセルファイルで指定することにより，Blast検索を実行し，問い合わせ株に対し類似性が最も高い株の類似度や遺伝子型等の情報を還元するプログラム，③塩基配列データをもつ 2 つのエクセルファイルを統合するプログラムを開発した。平成27年度は，遺伝子のアライメントや近隣結合法による系統樹解析のプログラムとして広く利用されている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。平成28年度は，過去2年で開発したプログラムについて，①Blast 検索において，E-value が最大なもの(E-valueが同値のものがあれば%identicalが最大なもの)を戻す機能の追加,②Blast検索において,ミスマッチが0のものをすべて戻す機能の追加,③ClustalWにおいて，Queryに指定した株ごとにReferenceに指定した株に対してClustaWを実行するプログラムの追加，の改良を行った。3年間にわたり本システムを利用し，研究協力地方衛生研究所と塩基配列データの共有を試行的に実施したところ，迅速な情報還元ができた。最終バージョンは今後 NESFD 等をとおして公開し，必要な自治体に対してプログラムを配布する予定である。本システムはウイルス性食中毒調査等の精度向上にに寄与するものと思われる。

研究協力者

北海道立衛生研究所　吉澄　志磨
青森県環境保健センター　筒井　理華
青森県環境保健センター　菩提寺　誉子
青森県環境保健センター　武差　愛美
青森県環境保健センター　坂　恭平
岩手県環境保健研究センター　佐藤　直人
岩手県環境保健研究センター　梶田　弘子
岩手県環境保健研究センター　高橋　雅輝
仙台市衛生研究所　関根　雅夫
福島県衛生研究所　北川　和寛
福島県衛生研究所　冨田　望
福島県衛生研究所　鈴木　理恵
福島県衛生研究所　金成　篤子
群馬県衛生環境研究所　丹羽　祥一
群馬県衛生環境研究所　塚越　博之
千葉県衛生研究所　堀田　千恵美
千葉県衛生研究所　秋田　真美子

千葉市環境保健研究所　田中　俊光
千葉市環境保健研究所　土井　妙子
千葉市環境保健研究所　水村　綾乃
千葉市環境保健研究所　西川　和佳子
千葉市環境保健研究所　坂本　美砂子
千葉市環境保健研究所　山﨑　恵美
東京都健康安全研究センター　森　功次
東京都健康安全研究センター　宗村　佳子
東京都健康安全研究センター　永野　美由紀
東京都健康安全研究センター　小田　真悠子
東京都健康安全研究センター　木本　佳那
東京都健康安全研究センター　秋場　哲哉
新潟県保健環境科学研究所　田村　務
新潟県保健環境科学研究所　広川　智香
新潟県保健環境科学研究所　新井　礼子
新潟市衛生環境研究所　山本　一成
新潟市衛生環境研究所　南波　裕太
新潟市衛生環境研究所　田岡　悠央
富山県衛生研究所　滝澤　剛則
富山県衛生研究所　名古屋　真弓
富山県衛生研究所　稲崎　倫子
福井県衛生環境研究センター　小和田　和誠
福井県衛生環境研究センター　佐藤　かおり
山梨県衛生環境研究所　大沼　正行
長野県環境保全研究所　中沢　春幸
長野県環境保全研究所　粕尾　しず子
長野県環境保全研究所　水澤　哲也
三重県保健環境研究所　楠原　一
滋賀県衛生科学センター　米谷　僚子
滋賀県衛生科学センター　石川　和彦
大阪府立公衆衛生研究所　左近　直美
大阪市立環境科学研究所　入谷　展弘
大阪市立環境科学研究所　山元　誠司
堺市衛生研究所　三好　龍也
島根県保健環境科学研究所　飯塚　節子
島根県保健環境科学研究所　三田　哲朗
島根県保健環境科学研究所　辰巳　智香
広島市衛生研究所　藤井　慶樹
福岡県保健環境研究所　小林　孝行
福岡県保健環境研究所　吉冨　秀亮
福岡県保健環境研究所　芦塚　由紀
福岡市保健環境研究所　財津　修一
福岡市保健環境研究所　宮代　守
福岡市保健環境研究所　古川　英臣
福岡市保健環境研究所　松藤　貴久
大分県衛生環境研究センター　加藤　聖紀
沖縄県衛生環境研究所　喜屋　武向子
沖縄県衛生環境研究所　加藤　峰史
国立医薬品食品衛生研究所　上間　匡
国立医薬品食品衛生研究所　三元　昌美
（順不同）

A．研究目的

食品媒介ウイルスによる散在型集団食中毒事例(diffuse outbreak)を早期に探知するためには，各事例の患者等から検出されたウイルスの塩基配列を比較して，株間の異同性を調べることが有用である。また，ウイルスによる食中毒が疑われる場合，調査において，食中毒か否かの判断や調理従事者からの二次汚染の有無の判断などを行うためには，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ことが重要である。しかしながら，これらの解析を行政レベルで実施している自治体は多くないのが現状である。そこで，本研究では迅速な相同性解析や遺伝子型別を行うために，エクセルファイルをデータソースとするローカルBlast検索システムおよび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することを目的とした。

B．研究方法

(倫理面への配慮)

倫理面で配慮すべき事項はない。

1　システムの開発

3年間にわたり，以下のプログラムを開発することとした。

(1)　平成26年度

① 塩基配列データをFASTA形式とエクセル形式の相互に変換するプログラムの開発。

② 検索したい株(問い合わせ株)と検索の対象となる株(参照株)のそれぞれをエクセルファイルで指定することにより，Blast検索を実行し，問い合わせ株に対し類似性が最も高い株の

類似度や遺伝子型等の情報を還元するプログラムの開発。

③ 塩基配列データをもつ2つのエクセルファイルを統合するプログラムの開発

(2) 平成27年度

① Blast検索と同様にエクセルファイルをデータソースとし，遺伝子のアライメントや近隣結合法による系統樹解析のプログラムとして広く利用されているClustalWを基本プログラムとする自動遺伝子型別システムの開発

(3) 平成28年度

過去2年で開発したプログラムについて，以下の改良を行う。

① Blast検索において，E-valueが最大なもの(E-valueが同値のものがあれば%identicalが最大なもの)を戻す機能の追加，②Blast検索において，ミスマッチが0のものをすべて戻す機能の追加

② ClustalWにおいて，Queryに指定した株ごとにReferenceに指定した株に対してClustaWを実行するプログラムの追加

2 システムの有用性の検証

研究協力地方衛生研究所と食中毒事例等から検出されたノロウイルスおよびサポウイルスの塩基配列情報を共有する中で，開発したプログラムを用いて解析を行い，その有用性や問題点を検証した。

C．研究結果

1 システムの開発

ほぼ計画どおりのプログラムを開発することができた。

作成したプログラムの操作マニュアルを資料として添付した。

2 システムの有用性の検証

3年間にわたり本システムを利用し，研究協力地方衛生研究所と塩基配列データの共有を試行的に実施した。研究協力地方衛生研究所から連絡を受けた塩基配列データに対して，その還元データ(当該報告に先立って各地方衛生研究所から報告を受けたノロウイルス等の塩基配列のデータベースに対する相同性(Blast)検索および系統樹解析)の作成作業は概ね10分以内で終了することができた。また，次世代シークエンサーで解読された塩基配列データについて本システムのBLASTシステムを利用し遺伝子型別を実施した。これらのシステムの運用をとおし，課題を抽出し，システムの改善につなげた。

D．考察

ウイルス性食中毒の調査精度の向上に寄与するために，エクセルファイルをデータソースとする，ローカルデータに対するBlast検索システムおよび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。本システムの主な利用目的を**表1**に取りまとめた。

本システムの利用や本システムで利用するエクセルファイルを自治体間で共有することで，以下のようなことが可能となり，食中毒調査の精度向上が期待される。

① 広域食中毒事例の迅速な探知：塩基配列が一致するウイルスが他の事例で検出されているか迅速に把握できる。

② 迅速な遺伝子型別：繁雑な遺伝子型別検査を自動で，かつ迅速に実施できる。

③ ウイルス以外の遺伝子検査に対応：シークエンスデータがあれば，菌種鑑別，魚種鑑別等，食中毒調査上必要な遺伝子解析も可能。

④ 疫学情報と遺伝子情報の一元管理と共有：喫食調査等の疫学情報と遺伝子情報をエクセルファイルで一元管理でき，かつ共通の様式で自治体間で共有できる。

⑤ 次世代シークエンサーの解析データに対応：膨大なシークエンスデータでも参照株があればBlast検索で型別できる。

⑥ シークエンス検査の普及：シークエンス検査に対応できない自治体でも，PCR検査が可能であれば，シークエン

ス解析を業者等に委託し，そのデータを本システムで解析することで上記1-5に対応できる。

ノロウイルスの遺伝子型別については，現在，RIVMが提供するNoronetの「Norovirus Genotyping Tool」(http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool)を使用することにより，FASTAファイルを用いて簡便に遺伝子型別を実施することが可能である。しかし，同システムはノロウイルスの遺伝子型別，キメラ型（遺伝子組み換え型）の同定に特化したシステムであり，他のウイルスには利用できない。また，同システムでは複数の株を解析する場合，1株ごとに系統樹解析が行われるため，各事例から検出された株間の相同性については調べることができない欠点がある。今回開発したシステムはNorovirus Genotyping Toolを補完する意味でも有用であると思われる。

一方，本システムの利用や塩基配列情報の共有等に関する課題としては，以下の点があげられる。

① プログラムを使用できる作業環境が限定される。
② 市販ソフトであるエクセル(*.xlsx)を基本的に利用するので，ソフトのバージョンアップ等で，今後作動しなくなる可能性がある。
③ 食中毒事例における汚染経路の調査や共通の原因食品の関与の有無の調査などにおいて，自治体間での情報共有が必要な場合，それらに関する情報の取り扱いに関する取り決めやその方法が確立されていない。
④ ClustalWやBLASTでの遺伝子型別について、遺伝子型別されないためのカットオフ値が十分に検討されたものではないため、参照株との遺伝的距離が長い株等については検証が必要である。

これらの課題については，今後検討する必要がある。

E．結論

ウイルスによる散在型集団食中毒事例の早期探知のための株間の相同性解析や食中毒検査における迅速な遺伝子型別検査を実施可能とするために，エクセルファイルをデータソースとする，ローカルデータを対象としたBLAST検索システムおよび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。

F．健康危険情報

該当なし

G．研究発表

1. 論文発表

入谷展弘，山元誠司，改田　厚，阿部仁一郎，久保英幸，西尾孝之，伯井紀隆，大平真由，安井典子，桝田晴美，細井舞子，松本珠実，坂本徳裕，廣川秀徹，半羽宏之，野田　衛：2014年9～11月に発生したノロウイルスによる胃腸炎集団事例について―大阪市，病原微生物検出情報，36，26-27（2015）

楠原　一，赤地重宏，小林隆司，西中隆道，小林真美，山口江里，岩出義人，田沼正路，野田　衛：ノロウイルスGII.17型の流行とその特徴について－三重県，病原微生物検出情報，36，91-92（2015）

入谷展弘，山元誠司，改田　厚，阿部仁一郎，上林大起，久保英幸，野田　衛：2014-2015シーズンに流行したノロウイルスGII.17について，食品衛生研究，65(10)，7-15（2015）

三好龍也，内野清子，岡山文香，芝田有理，吉田永祥，小林和夫，左近直美，土生川洋，田中智之，野田　衛：臨床検体および下水検体を用いた堺市内のA型肝炎の流行解析，病原微生物検出情報，36，6-7（2015）

入谷展弘，山元誠司，改田厚，阿部仁一郎，久保英幸，平井有紀，上林大起，野田　衛，西尾孝之：2014－2015シーズンに大阪市で認められたノロウイルス流行，大阪市立環境科学研究所報告　調査・研究年報，77，13-16（2015）

2. 学会発表

入谷展弘，山元誠司，改田厚，阿部仁一郎，久保英幸，野田衛：2013/14シーズンに大阪市において集団胃腸炎事例から検出さ

れたノロウイルスGII.6株の分子疫学的解析，第62回日本ウイルス学会学術集会,横浜市，11/10（2014）
山本美和子，伊藤文明，野田衛：広島市で検出されたA型肝炎ウイルスの分子疫学的解析,第62回日本ウイルス学会学術集会，横浜市，11/10（2014）
入谷展弘，山元誠司，改田 厚，阿部仁一郎，久保英幸，上林大起，野田 衛：大阪市におけるノロウイルス GII.17 の流行状況，第63回日本ウイルス学会学術集会，福岡市，11/22（2015）

H．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。

表1　開発したシステムの主な利用方法

<table>
<tr><th rowspan="2">機能</th><th rowspan="2">使用目的</th><th colspan="2">用いるエクセルファイル</th></tr>
<tr><th>参照株</th><th>問い合わせ株</th></tr>
<tr><td>FASTA-Excel 変換</td><td colspan="3">FASTA ファイルをエクセルファイルに変換
エクセルファイルで保管されている塩基配列データを FASTA ファイルに変換</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Blast</td><td>広域事例の探知
疫学的関連性</td><td>他の事例由来株</td><td>検出株</td></tr>
<tr><td>遺伝子型別
（特に NGS 解析）</td><td>遺伝子型別参照株</td><td>検出株</td></tr>
<tr><td rowspan="2">ClustalW</td><td>遺伝子型別
遺伝的距離計算</td><td>遺伝子型別参照株</td><td>検出株</td></tr>
<tr><td>広域事例の探知
疫学的関連性</td><td>他の事例由来株</td><td>検出株</td></tr>
<tr><td>Merge</td><td>データの追加</td><td>保存株</td><td>新規検出株</td></tr>
</table>

V-Nus Net Tool 操作マニュアル

Ver.1.0（2017 年 2 月 20 日）

V-Nus Net Tool について

V-Nus Net Tool は、Excel ファイルを利用して、BLAST を用いたローカルなデータベースに対する相同性検索、ClustalW を用いた遺伝子型別等を自動で実行するためのシステムです。

本システムはノロウイルス等の遺伝子型別や A 型肝炎ウイルス等による広域食中毒事例(diffuse outbreak)の探知等のウイルス性食中毒の調査の精度向上を目的として開発されたものですが、塩基配列データに基づく解析であれば、その他のウイルスの他、食中毒菌や寄生虫の鑑別あるいはフグ等の魚種鑑別等にも利用できると思われます。

また、Excel ファイルを利用するので、データの管理や分析も容易に行うことができます。

食中毒調査等の遺伝子解析に広く活用いただければ幸いです。

内容

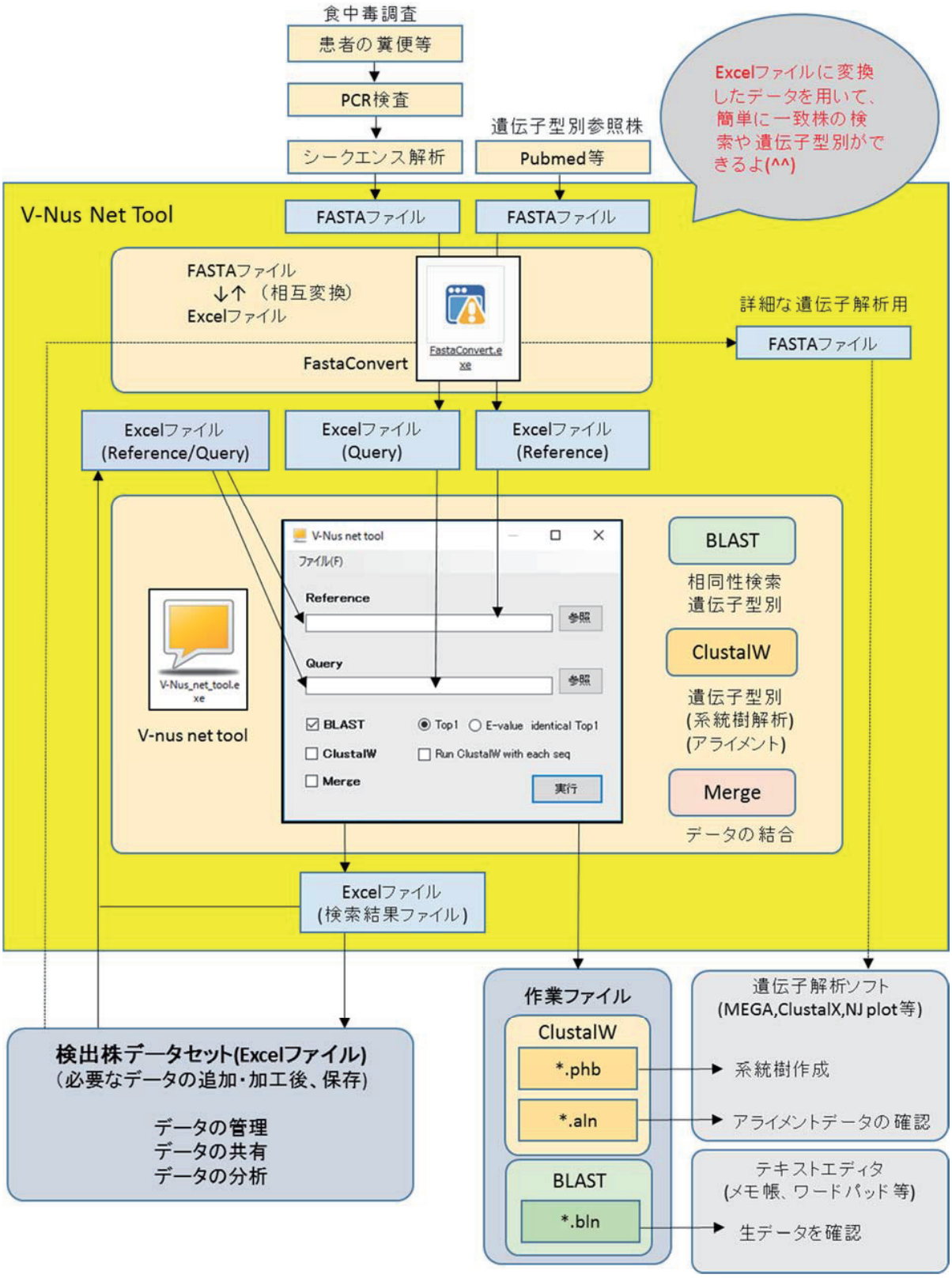


図　V-Nus Net Tool を利用した遺伝子検査の流れの概要

1　V-Nus Net Tool の利用にあたって

配布されたプログラムは、配布にあたって承諾いただいた利用方法を遵守の上、ご利用ください。

- 原則として食中毒調査関連業務等の行政検査に利用してください。
- それぞれの自治体において利用する場合は、複数の部署において複数のパソコンで利用していただいて構いませんが、利用している部署およびパソコン並びに利用状況を把握しておいてください。今後、バージョンアップへの対応等のため、利用状況について照会させていただく場合があります。
- 他の自治体や外部機関へのプログラムの再配布はお控えください。

2　作業に必要な環境

本プログラムの作動には以下のハード的およびソフト的な作業環境が必要です。

① パソコンは 64bit マシーンであること。

② OS は 64bit 版の Windows7、Windows8、Windows10 などであること。

③ Windows の 64bit 版の Excel2007、Excel2010、Excel2013 など（拡張子「*.xlsx」のファイルが利用できる）がインストールされていること。

（注）上記を満たした作業環境においても、必ずしも作動を保証するものではありません。また、作動しない場合の対応はできません。

3　V-Nus Net Tool のインストール

(1)　プログラムファイルのインストール

プログラムのインストールは、各自治体におけるセキュリティ対策等に関する規則を遵守の上、行ってください。

プログラムファイルが保存されている「work」フォルダは、そのまま、C ドライブの直下にコピーしてください。

C ドライブ>work>blast_tool>（各種フォルダやファイル）

(2) データファイルの保存場所

「data」フォルダ（ノロウイルス、サポウイルス、A 型肝炎ウイルスの遺伝子型別参照株データを含む Excel ファイルが含まれている）は、任意の場所にコピーしてください。

フォルダ名は、「data」から任意のフォルダ名に変更したり、サブフォルダを作成しても問題ありません。

4　V-Nus Net Tool の構成

V-Nus Net Tool は、以下の外部モジュール(=ツール)と実行を制御するプログラムで構成されています。

① NCBI Blast+　ver30：Blast 検索の実行プログラム

② ClustalW 2.0.12：ClsutalW の実行プログラム

③ Ruby 64bit ver2.1：①②の制御プログラム

④ C#　　：①②の制御プログラム

V-Nus Net Tool の実行プログラム本体のファイル構成は図 1 のとおりです。

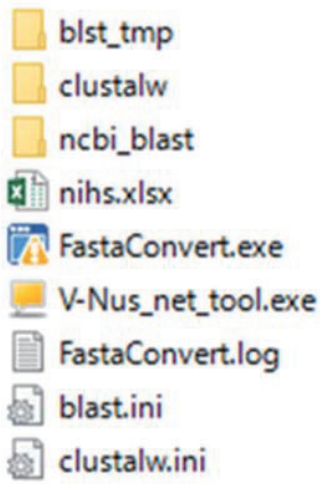


図 1.V-Nus Net Tool のファイル構成

実際の作業において、利用者が主に使用するフォルダやファイルは以下のものです。

① FastaConvert.exe

FASTA ファイルから Excel ファイルへの変換あるいは Excel ファイルから FASTA ファイルへの変換を実行します。

② V-Nus_net_tool.exe

Blast 検索や ClustalW などを実行します。

③ nihs.xlsx

FASTA ファイルから変換される Excel ファイルのテンプレートとなるファイルです。プログラムに関連しない列名は変更できます。

④ blst_temp

BLAST 検索や ClustalW を実行した際に生成される各種の作業ファイルが保存されるフォルダです。系統樹作成に利用する「*.phb」ファイルは本フォルダ内に作成されます。

5　V-Nus NetTool で使用する Excel ファイルについて

V-Nus Net Tool において、塩基配列データはすべて Excel ファイルを利用します。以下の点に注意してください。

①　Excel ファイルは「*.xlsx」の形式で使用する

Excel ファイルは原則として Excel2007 以降の「*.xlsx」の形式で利用してください。「*.xls」のファイル形式でも利用可能ですが、「*.xls のファイル形式と拡張子が一致しません。ファイルが破損しているか、安全ではない可能性があります。発行元が信頼できない場合は、このファイルを開かないでください。ファイルを開きますか？」というメッセージがでる場合があります。また、V-Nus Net Tool 自体は基本的に作動しますが、「sheet1」以外のシートのデータが反映されないなど、機能が制限されるようです。

②　Excel ファイルのフォーマット

FastaConvert.exe による FASTA ファイルから作成される Excel ファイルは、nihs.xlsx と同様のフォーマット(図 2)になります(nihs.xlsx に塩基配列データが収納され、別名で保存される)。

本システムでは Excel ファイルの「sheet1」のシートで作業が行われます。このシートには作業に必須の列（1 行目を赤で塗りつぶしてある A～S の列）と任意に列名を変更できる列があります。A～S の列の 2 行目に記載してある列名は変更しないでください。また、1 行目の「#」も変更しないでください。

列名が変更可能な列（T～）は、任意の列名に変更できます(列 W 以降も利用できます)。

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V
1	#																					
2	#SeqID	株名	シークエンス	ウイルス名	領域	遺伝子型	アクセションNo	類似株名（Blst）	遺伝子型（B）	Score	Expect	Identities	Strand	件数	一致株名（Blst）	一致件数	類似株名（CW）	遺伝子型（C）	類似株との距離	備考1	備考2	備考3

図 2. 作業シートのフォーマット

作業に必須な列名と格納されるデータの概要は表 1 のとおりです。

表 1. V-Nus Net Tool で使用する Excel ファイルのフォーマットとデータ内容の概要

列名の変更	分類	列名	内容	データ例
不可	基本情報	#SeqID	システムが利用する ID	1
		株名	FastaConvert.exe により FASTA ファイルで使用されている株名が自動入力されます	1611-NIHS-F-1234
		シークエンス	FastaConvert.exe により FASTA ファイルのシークエンスデータが自動入力されます	GTTTTCT・・・
		ウイルス名	ウイルス名等:基本的に手作業で入力します	NoV
		領域	シークエンスデータの領域等:手作業で入力します	N/S
		遺伝子型	遺伝子型等:BLAST や ClustalW での解析に利用されます。手作業で入力します	GII.2
		アクセション No	DDBJ 等のアクセション No:BLAST により得られた類似株の「アクセション No」が自動入力されます	XXXXXXXX
	BLAST 検索	類似株名(Blst)	BLAST により得られた類似株の「株名」が自動入力されます	1612-151-F-5467
		遺伝子型(B)	BLAST により得られた類似株の「遺伝子型」が自動入力されます	GII.2
		Score	BLAST により得られた類似株の「Score(=bits)」の値が自動入力されます	623
		Expect	BLAST により得られた類似株の「E-value」の値が自動入力されます	0
		Identities	BLAST により得られた類似株の「Identities」の値が自動入力されます	337/337(100.00%)
		Strand	BLAST により得られた類似株と問い合わせ株の「Strand(plus あるいは minus)」が自動入力されます	Plus/Plus
		件数	BLAST により、reference に指定した株の中の得られた類似株と同じ類似性(Score または E-value)をもつ株の件数が自動入力されます*	5
		一致株名(Blst)	BLAST により、ミスマッチ=0 の株名が自動入力されます*	1612-151-F-5467
		一致件数	BLAST により、ミスマッチ=0 の株の件数が自動入力されます*	5
	ClustalW	類似株名(CW)	ClustalW により得られた類似株の「株名」が自動入力されます*	GII.2_Melksham/89/UK
		遺伝子型(C)	ClustalW により得られた類似株の「遺伝子型」が自動入力されます*	GII.2
		類似株との距離	ClustalW により得られた類似株との遺伝的距離が自動入力されます*	0.02809
可能		備考 1	任意の疫学情報のための列として利用	
		備考 2	任意の疫学情報のための列として利用	
		備考 3	任意の疫学情報のための列として利用	

*:設定により条件が決まります(「パラメータの変更」参照)。

6 FASTA ファイルから Excel ファイルへの変換

シークエンサーによって決定された検出株(問い合わせ株=Query)の塩基配列データあるいは Pubmed (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)等から入手した遺伝子型別用参照株(参照株=reference)など、解析に必要なデータを FASTA ファイル(図 3)で準備します。

```
>株名 1
塩基配列データ 1
>株名 1
塩基配列データ 2
・・・(以下、同様)

(例)
>1611-NIHS-F-1
GTTTTCTGACTTGAGCACGTGGGAGGGCGATCGCAATCTGGCTCCCAATTTTGTGAATGAAGATGGC
GTCGAATGACGCCGCTCCATCTACTGATGGTGCAGCCGGCCTCGTGCCAGAAA・・・
>1611-NIHS-F-2
GTTCTCAGATCTAAGCACATGGGAGGGCGATCGCAATCTGGCTCCCAGTTTTGTGAATGAAGATGGC
GTCGAATGACGCCGCTCCATCTAATGATGGTGCTGCTGGTCTCGTACCAGAGG・・・
>1612-NIHS-F-3
ATTCTCTGACCTCAGCACATGGGAGGGCGATCGCAATCTTGCTCCCGAGGGTGTGAATGAAGATGG
CGTCGAATGACGCTGTTCCATCGAATGATGGTGCTGCCAACCTCGTACCAGAGG・・・
>1612-NIHS-F-4
CCTTGGCCTGTGGACAGGAGATCGCAATCTCCTGCCCGAATTCGTAAATGATGATGGCGTCTAAGGA
CGCCCCAACATCCCCTGATGGCGCCAGTGGCGCCGGCCAGCTGGTACCGGAGG・・・
```

図 3. FASTA ファイル形式(例)

FASTA 形式のファイル(拡張子は*.txt、*.fa、*.fas、*.fast、*.fasta のいずれにも対応)を FastaConvert.exe にドラッグ&ドロップすると、コマンドプロンプト画面が表示され、変換作業が開始されます。黒のコマンドプロンプト画面が消えたら作業が終了し、変化元の FASTA ファイルと同じフォルダ内に変換された同名の Excel ファイルが作成されます(図 4)。

作成された Excel ファイル(図 5)は、株名が B 列に、塩基配列データが C 列に入力されたものとなります。

(参考)

本システムで利用している **Excel ファイルのデータを各種の遺伝子解析ソフトで利用したい場合は、Excel ファイルを同じように FastaConvert.exe にドラッグ&ドロップすることで、同名の FASTA ファイルを作成**することができます。その場合、株名(B 列)および塩基配列のデータ(C 列)以外の各列のデータは反映されません。

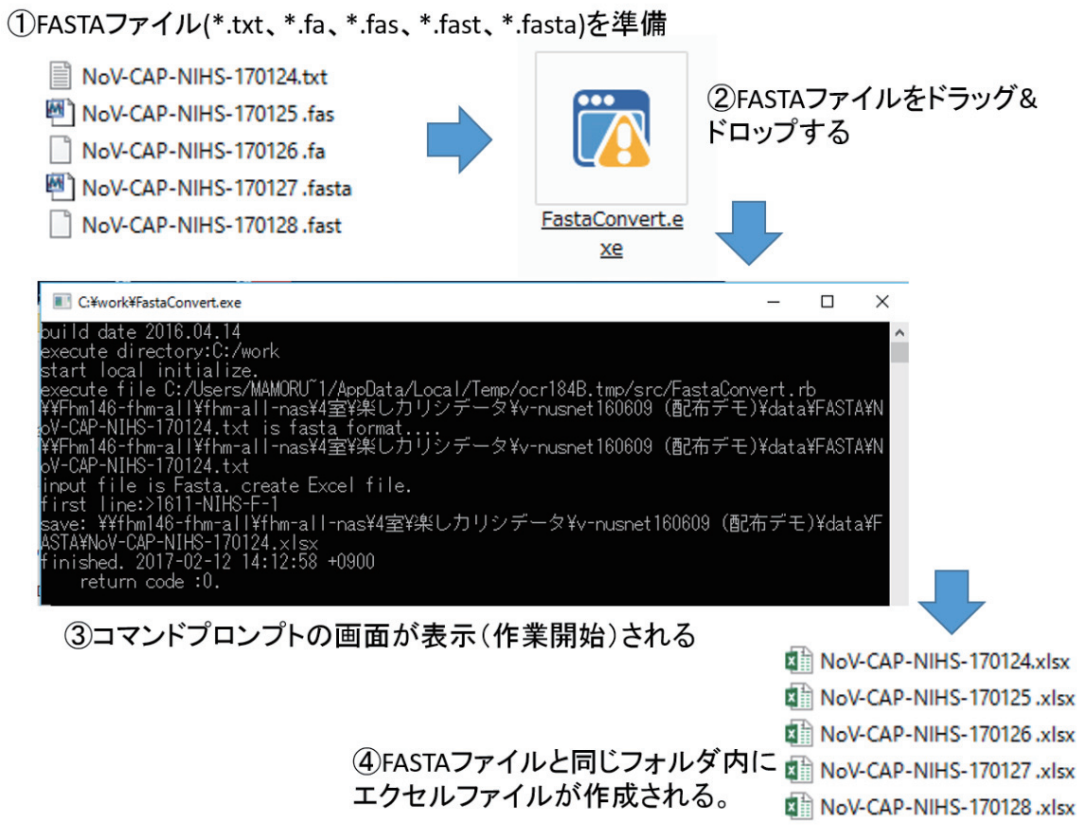
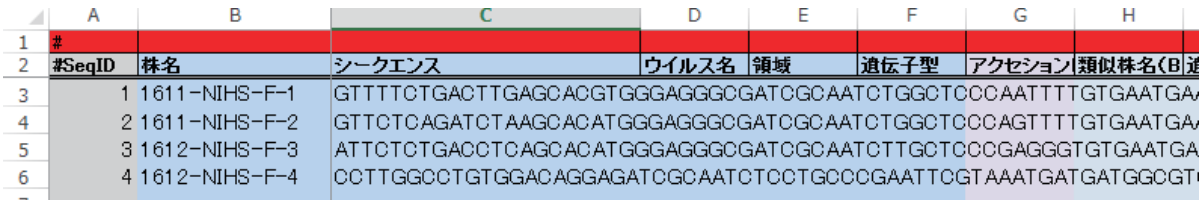


図 4.FASTA ファイルの Excel ファイルへの変換方法



	A	B	C	D	E	F	G	H
1	#							
2	#SeqID	株名	シークエンス	ウイルス名	領域	遺伝子型	アクセション	類似株名(B
3	1	1611-NIHS-F-1	GTTTTCTGACTTGAGCACGTGGGAGGGCGATCGCAATCTGGCTCCCAATTTTGTGAATGA					
4	2	1611-NIHS-F-2	GTTCTCAGATCTAAGCACATGGGAGGGCGATCGCAATCTGGCTCCCAGTTTTGTGAATGA					
5	3	1612-NIHS-F-3	ATTCTCTGACCTCAGCACATGGGAGGGCGATCGCAATCTTGCTCCCGAGGGTGTGAATGA					
6	4	1612-NIHS-F-4	CCTTGGCCTGTGGACAGGAGATCGCAATCTCCTGCCCGAATTCGTAAATGATGATGGCGT					

図 5. 作成されたエクセルファイル

解析したい株（問い合わせ株=Query)については、上記の作業を毎回行った後、BLAST による類似株検索や ClustalW による遺伝子型別等を行います。

遺伝子型別用の参照株（参照株=Reference）についても、基本的に同様の作業が必要です。

参照株については、FASTA ファイルをエクセルファイルに変換した後、「ウイルス名」、「領域」、「遺伝子型」および「アクセション番号（Genbank 等の登録番号）」について必要なデータを入力しておきます(図 6)。**F 列の「遺**

伝子型」に入力されたデータが BLAST 検索や ClustalW 等を実行した場合の戻り値となるので、入力が必須です。

また、本システムをウイルス以外の細菌、寄生虫、魚種(フグ等)等の鑑別に利用したい場合は、参照株(Reference)として、同様の Excel ファイルを準備します。

	A	B	C	D	E	F	G
1	#						
2	#SeqID	株名	シークエンス	ウイルス名	領域	遺伝子型	アクセションNo
3	1	GI.1_M87661 Norwalk/68/US	ATGATGATGGC	NoV	N/S	GI.1	M87661
4	2	GI.2_L07418Southampton/91/UK	ATGATGATGGC	NoV	N/S	GI.2	L07418
5	3	GI.3_U04469DesertShieldDSV395/90/US	ATGATGATGGC	Nov	N/S	GI.3	U04469
6	4	GI.4_AB042808Chiba407/87/JP	ATGATGATGGC	Nov	N/S	GI.4	AB042808
7	5	GI.5_AJ277614Musgrove/89/UK	ATGATGATGGC	Nov	N/S	GI.5	AJ277614
8	6	GI.6_AF093797BS5/98/GE	ATGATGATGGC	Nov	N/S	GI.6	AF093797
9	7	GI.7_AJ277609Winchester/94/UK	ATGATGATGGC	Nov	N/S	GI.7	AJ277609

図 6. 参照株(Reference)の例

7 V-Nus Net Tool の実行(図 7)

V-Nus Net Tool の各機能は、「V-Nus_net_tool.exe」のアイコンをダブルクリックし、作業ウインドウを開き、各種のプログラムを実行します。

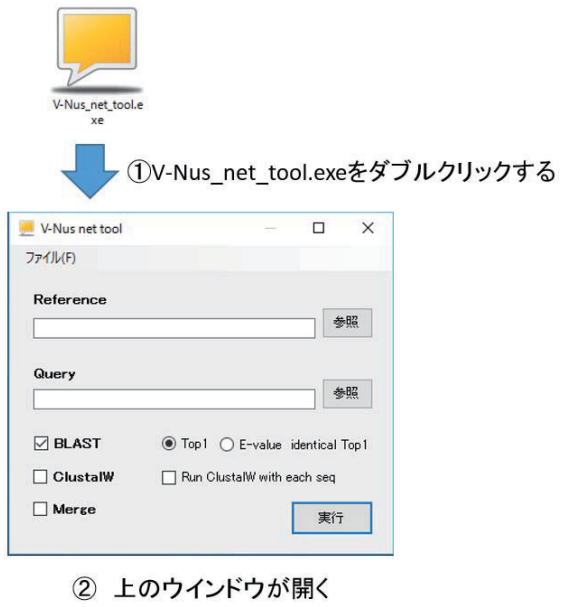


図 7. V-Nus Net Tool の起動

V-Nus Net Tool の機能は大きく 3 種類に分けられます。

① BLAST

インターネットで公開されている迅速な相同性検索システムである BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)のプログラムを利用し、Query で指定した株について Reference で指定した株に対して検索を行い、相同性が高い株を調べます。

② ClustalW

インターネットで公開されている近隣結合法(neighbor-joining method＝NJ 法)に基づく系統樹解析を実行するプログラムである ClustalW を利用して、遺伝子型別等を行います。

③ Merge

Reference で指定した Excel ファイルのデータに Query で指定した Excel ファイルのデータを追加します。

(1) BLAST

1) 使用目的

BLAST は以下のような例に使用します。

目的		用いる Excel ファイル(例)	
		Reference	Query
①	患者と調理従事者、食品、ふき取りなどから検出されたノロウイルスの塩基配列が一致するか調べたい。	患者から検出された株	調理従事者、食品、ふき取り等から検出された株
②	当該事例から検出された株が他の事例から検出された株と一致するものがあるか調べたい(広域事例かどうか調べたい)	他の事例から検出された株	当該事例から検出された株
③	網羅的ゲノム解析等で得られた大量の塩基解列データについて遺伝子型別を行いたい。	遺伝子型別用参照株	型別したい株

2) 使用方法(図 8)

① Reference 欄に、検索対象となるデータ(例:患者から検出された株のデータ、他の事例から検出された株のデータ、遺伝子型別の参照株等)をドラッグ&ドロップする(あるいは、参照をクリックして、該当するファイルを指定する。「以下同様」)

② Query 欄に検索したいデータ(調理従事者から検出された株のデータ、当該事例から検出された株のデータ、遺伝子型別したい株のデータ等)を指定する。

③ 実行をクリックする。

④ 検索結果を含む Excel ファイルの保存場所、ファイル名、ファイル形式の指定を行い、保存をクリックする。

⑤ 作業ウインドウが表示される。

⑥ 終了後、終了を示すウインドウが表示される。

⑦ 検索結果データを含む Excel ファイル(検索結果ファイル)と作業ファイル(*.bln)#が、指定されたフォルダに作成される(#は、Blast のパラメータの設定が debug=true の場合のみ作成される)。

検索結果ファイルの基本情報のうち、「ウイルス名」、「領域」、「遺伝子型」の各データは Query ファイルの情報を受け継ぐため、Query ファイルにデータがない場合は、検索結果ファイルも空欄のままです。そのため、「ウイルス名」、「領域」、「遺伝子型」のデータは、BLAST 実施後手作業で入力する必要があります。

特に、**「遺伝子型」については、検索結果ファイルを Reference ファイルとして利用する場合には、「遺伝子型(B)のデータを代入するなどして、必ず入力**しておいてください。

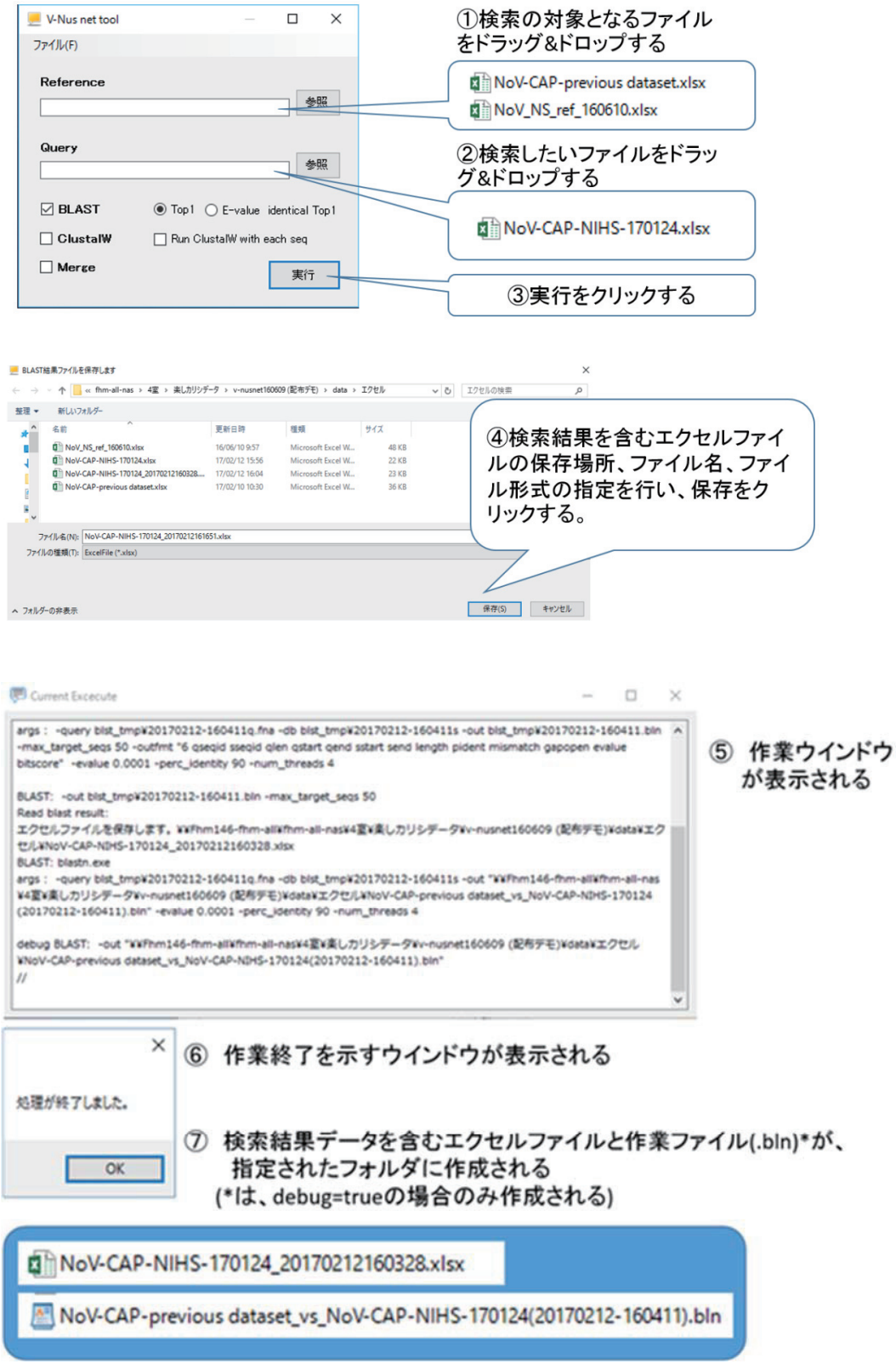


図 8. BLAST の実施方法

3) BLAST で得られるデータについて

本システムでは、Query で指定した株について Reference で指定した株に対して BLAST 検索を行い、以下の項目について結果を戻します。本システムでは、BLAST の結果、

① **Score(=bits)が最も高いもの（Top1）を類似株とする方法**

② **E-value が最も高いもの（最も高い E-value を持つ株が複数ある場合は、%identities が最も高いものの Top1）を類似株とする方法**

の 2 種類が選択できます（通常は、Top1 のままで使用してください）。

列名	戻り値
類似株名（Blst）	Reference に含まれる株の中で、最も Score(=bits)が高いものの Top1 となった株*1(①)の「株名」が戻り値となります。
遺伝子型(B)	①の株の遺伝子型が戻り値となります。
Score	①と当該株との類似性を示す Score(=bits)が戻り値となります。
Expect	①と当該株との類似性を示す E-value が戻り値となります。
Identities	①と当該株との Identites*2 が戻り値となります。
Strand	①と当該株の Strand(Reference 株を Plus 鎖とした場合)が戻り値となります。
件数	①と同じ類似性を示す株の件数が戻り値となります*32。
一致株名(Blst)	ミスマッチ*2＝0 の株名が戻り値となります*4。
一致件数	ミスマッチ＝0 の株の件数が戻り値となります*5。

*1：E-value identical Top1 で実行した場合は、E-value が最も高いもの（最も高い E-value を持つ株が複数ある場合は、Identities が最も高いものの Top1）が戻り値になります。

*2：Identitied とミスマッチは以下の例のように計算されます。

```
Reference：ATGCATGCAT        の場合     Identities=9/10(90%)
Query：    ATGC-TGCAT                   ミスマッチ=0
```

（重要）

***1 と*2 において、BLAST のパラメータ（「(4)　パラメータの設定」参照）に指定した既定値（デフォルト）を満たす値を持つ株が Reference に存在しない場合、戻り値は「該当なし」となります。つまり、これらの値を緩く設定すると相同性が低いものでもヒットすることになり、逆に値を厳しく設定するとヒットしにくくなります。「遺伝子型(B)」には、それらの条件を満たした上で、最も類似性が高い株の遺伝子型が戻り値となります。そのため、「遺伝子型(B)」で得られた遺伝子型が、Query で指定した株の遺伝子型になるとは必ずしも限りません。**

*3：10 株以上の同じ類似性（同じ Score 値など）を示す株が 10 株以上あった場合は「10+」と表示されます。

*4：BLAST パラメータの設定した上限値(例　EntryHit=50)を上回る場合は、上限値（この例の場合は 50）の株名のみが表示されます。

*5：BLAST パラメータの設定した上限値(例　EntryHit=50)を上回る場合は、上限値（この例の場合は 50）が戻り値になります。

検索結果ファイルのデータの由来については、図 9 に示したように、基本情報は Query に指定した株のデータが引き継がれます。

図 10 に作成された Excel ファイルの例を示します。

また、「BLAST 検索」シートには、表 2 に示したように、遺伝子型別結果と塩基配列が一致した(ミスマッチ=0)の株名およびその件数をまとめた一覧表が作成されます(Excel のリンク形式で「sheet1」のデータの必要部分を表示したもの)。必要に応じて、「nihs.xls」ファイルにリンク形式で、必要なフォーマットの表等のテンプレートを作成しておくと、検索結果ファイルにも反映されるので便利です。

表 2. BLAST 検索により一致した株の一覧

株名	遺伝子型	一致した株	件数
1611-NIHS-F-1	GII.2	1611-272-F-16087	1
1611-NIHS-F-2	GII.17	1611-272-F-16088, 1605-181-F-22804N04, 1604-181-O-22801N17	3
1612-NIHS-F-3	GII.6	1612-272-F-16097	1
1612-NIHS-F-4	GI.6	1612-272-F-16101	1
0	0	0	0

分類	列名	Reference ファイル	Query ファイル	検索結果ファイル		
基本情報	#SeqID	12	1	1		
	株名	1611-272-F-16088	Isolate-1	Isplate-1		
	シークエンス	ATGATGAT・・・	TTGATGAT・	TTGATGAT・・・		
	ウイルス名	NoV				
	領域	N/S				
	遺伝子型	GII.17				
	アクセション No	(AB01)		(AB01)		
BLAST 検索	類似株名(Blst)			1611-272-F-16088	BLAST 検索結果	
	遺伝子型(B)			GII.17	Top1	E-value
	Score			625	Score(=bits)が最大(Top1)	E-value が最大(複数ある場合は、%Identities が最大)
	Expect			0		
	Identities			338/338(100.00%)		
	Strand			Plus/Plus		
	件数			1		
	一致株名(Blst)			1611-272-F-1 1605-181-F-22 1604-181-O-28	ミスマッチ=0 の株名	
	一致件数			3	ミスマッチ=0 の件数	
ClustalW	類似株名(CW)					
	遺伝子型(C)					
	類似株との距離					

図 9.BLAST 検索の結果、作成される Excel ファイルのデータの内容

Referenceに他の事例から検出された株のデータセットを指定した場合のBlast検索例

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	#															
2	#SeqID	株名	シ	ウ	例	道	アクセション	類似株名(Blst)	遺伝子型(B	Score	Expect	Identities	Strand	件数	一致株名(Blst)	一致件数
3	1	1611-NIHS-F-1						1611-272-F-16087	GII.2	625	0	338/338(100.00%)	Plus/Plus	1	1611-272-F-16087	1
4	2	1611-NIHS-F-2						1611-272-F-16088	GII.17	625	0	338/338(100.00%)	Plus/Plus	1	1611-272-F-16088, 1605-181-F-22804N04, 1604-181-O-22801N17	3
5	3	1612-NIHS-F-3						1612-272-F-16097	GII.6	625	0	338/338(100.00%)	Plus/Plus	1	1612-272-F-16097	1
6	4	1612-NIHS-F-4						1612-272-F-16101	GI.6	632	0	342/342(100.00%)	Plus/Plus	1	1612-272-F-16101	1

Referenceに遺伝子型参照株を指定した場合のBlast検索例

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	#															
2	#SeqID	株名	シ	ウ	例	道	アクセションNo	類似株名(Blst)	遺伝子型(B	Score	Expect	Identities	Strand	件数	一致株名(Blst)	一致件数
3	1	1611-NIHS-F-1	GTTT				X81879	GII.2_X81879Melksham/89/UK	GII.2	477	4.00E-137	274/282(97.16%)	Plus/Plus	1		0
4	2	1611-NIHS-F-2	GTTC				AB983218	GII.17[P17]_AB983218_Kawasaki323/	GII.17	603	6.00E-175	334/338(98.82%)	Plus/Plus	1		0
5	3	1612-NIHS-F-3	ATTC				AJ277620	GII.6_AJ277620_Seacroft/90/UK	GII.6	368	2.00E-104	254/282(90.07%)	Plus/Plus	1		0
6	4	1612-NIHS-F-4	CCTT				AB081723	GI.6_AB081723WUG1/00/JP	GI.6	486	6.00E-140	283/293(96.59%)	Plus/Plus	1		0

図 10. BLAST の結果、作成された検索結果ファイル（例）

③ BLAST の作業ファイルについて

BLAST パラメータの設定で、debug=true と設定した場合、検索結果ファイルと同じフォルダ内に BLAST 検索の作業ファイル(*.bln)が作成されます。このファイルをテキストエディタソフト(メモ帳、ワードパット等)で開くと、図 11 に示したように、BLAST で作成された生データをみることができるので、解析結果の確認等に利用できます。

```
BLASTN 2.2.31+
(中略)
Database: blst_tmp¥20170212-160411s.fna
           97 sequences; 31,824 total letters
Query= 0001_1611-NIHS-F-1

Length=338
                                                                    Score     E
Sequences producing significant alignments:                        (Bits)  Value

0055_1611-272-F-16087                                               625     0.0
0083_1611-151-0-954/031/Ki/MU                                       619     3e-180
 (中略)
>0055_1611-272-F-16087
Length=338

 Score = 625 bits (338),  Expect = 0.0
 Identities = 338/338 (100%), Gaps = 0/338 (0%)
 Strand=Plus/Plus

Query  1    GTTTTCTGACTTGAGCACGTGGGAGGGCGATCGCAATCTGGCTCCCAATTTTGTGAATGA  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1    GTTTTCTGACTTGAGCACGTGGGAGGGCGATCGCAATCTGGCTCCCAATTTTGTGAATGA  60
```

図 11. BLAST 検索により作成された「*.bln」ファイルの例(一部のみ表示)

(2) ClustalW

1) 使用目的

ClustalW は以下のような例に使用します。

目的		用いる Excel ファイル(例)	
		Reference	Query
①	検出されたノロウイルス等の遺伝子型を決定したい	遺伝子型参照株	遺伝子型別したい株
②	系統樹を作成したい		
③	患者由来株と調理従事者由来株をアライメント(整列)して、比較したい	患者由来株	調理従事者等由来株
④	その他の微生物等(食中毒菌、寄生虫、フグ等の種鑑別等)の遺伝学的鑑別を行いたい	型別の参照株	型別したい株

2) 使用方法(図 12)

① Reference 欄に、遺伝子型別用参照株等の Excel ファイルをドラッグ&ドロップする(あるいは、参照をクリックして、該当するファイルを指定する。「以下同様」)
② Query 欄に遺伝子型別したい株等の Excel ファイルを指定する。
③ 実行をクリックする。
④ 検索結果を含むエクセルファイルの保存場所、ファイル名、ファイル形式の指定を行い、保存をクリックする。
⑤ 作業ウインドウが表示される。
⑥ 終了後、終了を示すウインドウが表示される。
⑦ 検索結果データを含むエクセルファイルが指定されたフォルダに作成される。また、作業ファイル(*.phb,*.aln 等)#が、システムフォルダ内の「blst_temp」フォルダ内に作成される(#は、ClsutalW のパラメータの設定が debug=true の場合のみ作成される)。

検索結果ファイルの基本情報のうち、「ウイルス名」、「領域」、「遺伝子型」の各データは Query ファイルの情報を受け継ぐため、Query ファイルにデータがない場合は、検索結果ファイルも空欄のままです。そのため、「ウイルス名」、「領域」、「遺伝子型」のデータは、ClustalW 実施後手作業で入力する必要があります。

特に、**「遺伝子型」については、検索結果ファイルを Reference ファイルとして利用する場合には、「遺伝子型(C)のデータを代入するなどして、必ず入力**しておいてください。

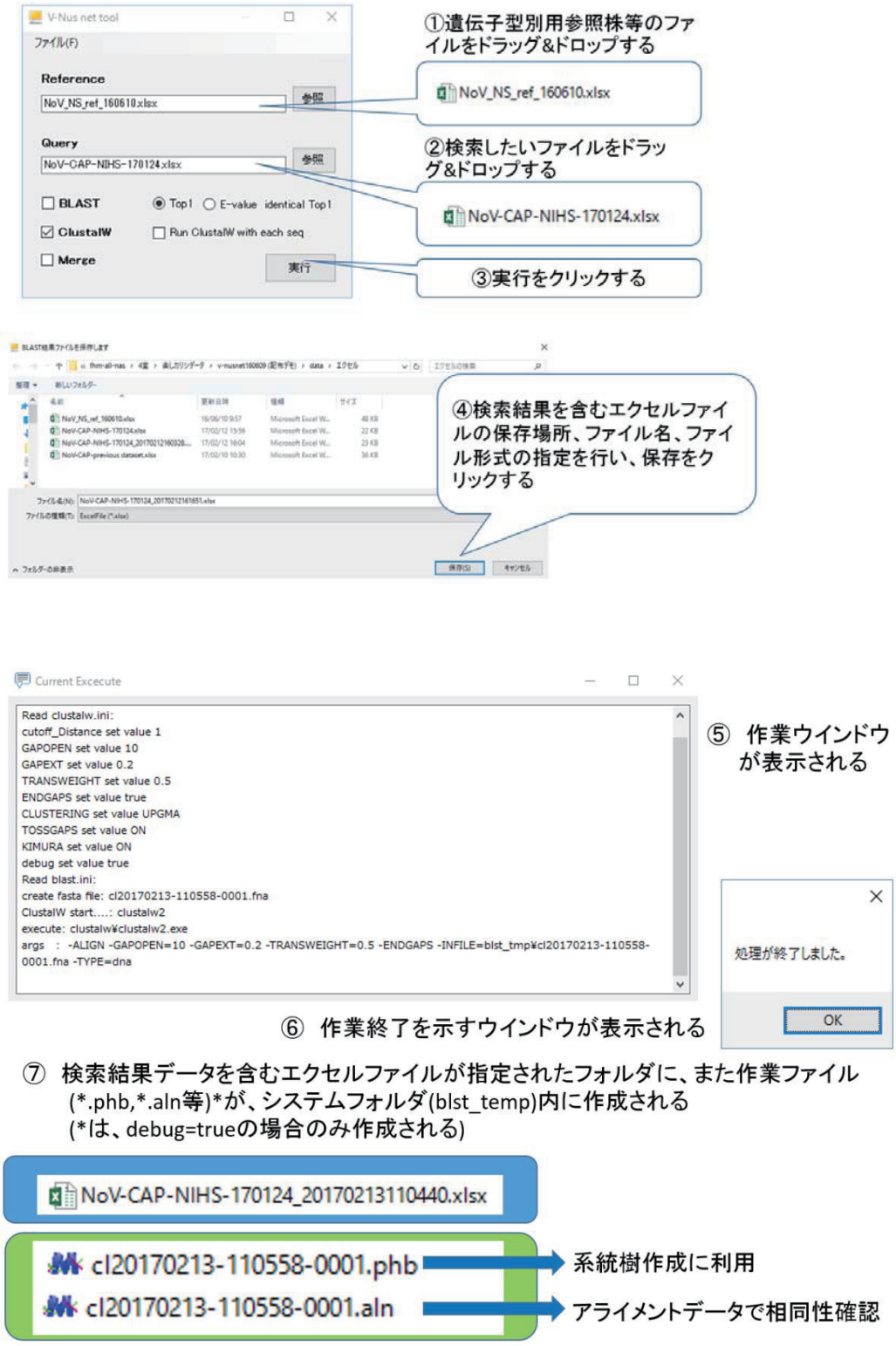


図 12. ClustalW の実施方法

3) ClustalW で得られるデータについて

本システムでは、以下の作業が自動で行われます。

① Query で指定した株と Reference で指定した株を合わせて、FASTA 形式のファイルを作成する。

② ClustalW でアライメントを行う。

③ BootStrap 検定後、N-J 法により距離計算を行う。

④ Query で指定した株のそれぞれに対して、Reference で指定した株のうち、最も遺伝的距離が近い株の「株名」と「遺伝子型」および両者の「遺伝的距離」が入力された検索結果ファイルを作成する。

この場合、ClustalW のパラメータ設定で、「cutoff_Distance」(初期値=1)より小さい遺伝子的距離を持つ株が Reference に指定した株の中に存在しない場合は「該当なし」と表示される。

(重要)

上記のように、V-Nus Net Tool における ClustalW による遺伝子型別は、Reference で指定した株のうち、最も遺伝的距離が近い株の「遺伝子型」が「遺伝子型(C)」の戻り値となり、パラメータの設定(「(4) パラメータの設定」参照)で、「cutoff_Distance」(初期値=1)より小さい遺伝子的距離を持つ株が Reference に指定した株の中に存在しない場合は「該当なし」と表示されます。すなわち、この値を高く設定すると、本来型別不能となる株が遺伝子型別されたり、逆に低く設定すると遺伝子型別される株が「該当なし(型別不能)」と判定されることが生じやすくなります。

つまり、正しい遺伝子型別を実施するためには、「cutoffDistance」の設定がきわめて重要となります。既定値として入力された値は暫定的なもので、ノロウイルスについて利用する場合でも、正しく判定できないことが起こる可能性があります。また、対象とする微生物や生物の種類によって鑑別の基準となる遺伝的距離は必ずしも同じではないため、それぞれに適切な「cutoffDistance」を設定する必要があります。そのため、本システムで得られた型別結果について、参照株との遺伝的距離が通常より多い場合などは、手作業で分析するなどして型別結果の信頼性について検証しておく必要があります。ノロウイルスの遺伝子型別については、Norovirus Genotyping Tool が利用できるので、その型別結果と比較することも有用です。

作成される Excel ファイルと Reference や Query に指定した Excel ファイルのデータの関係性は図 13 のとおりです。

また、ClustalW の実行で作成された検索結果ファイル(例)を図 14 に示します。

(参考)

Norovirus Genotyping Tool

ノロウイルスの遺伝子型別については、RIVM(オランダ国立公衆衛生環境研究所)が提供する Noronet の「Norovirus Genotyping Tool」(http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool)を使用することにより、FASTA ファイルを用いて簡便に遺伝子型別を実施することができます。同システムはノロウイルスの遺伝子型別、キメラ型(遺伝子組み換え型)の同定に特化したシステムです。

分類	列名	Reference ファイル	Query ファイル	検索結果ファイル
基本情報	#SeqID	12	1	1
	株名	GI.1_M87661Norwalk/68/US	Isolate-2	Isolate-2
	シークエンス	ATGATGAT・・・	ATGATGAT・・・	ATGATGAT・・・
	ウイルス名	NoV		
	領域	N/S		
	遺伝子型	GI.1		
	アクセション No	M87661		
BLAST 検索	類似株名（Blst）			
	遺伝子型(B)			
	Score			
	Expect			
	Identities			
	Strand			
	件数			
	一致株名(Blst)			
	一致件数			
ClustalW	類似株名（CW）			GI.1_M87661Norwalk/68/US
	遺伝子型（C）			GI.1
	類似株との距離			0.03061

図 13. ClustalW の結果、作成される Excel ファイルのデータの内容

ClustalWによる遺伝子型別結果

	A	B	CDEFGHIJKLMNOP	Q	R	S
1	#					
2	#SeqID	株名	[illegible]	類似株名(CW)	遺伝子型(C)	類似株との距離
3	1	1611-NIHS-F-1	GTTTTCTGACTTG	GII.2_X81879Melksham/89/UK	GII.2	0.03021
4	2	1611-NIHS-F-2	GTTCTCAGATCTA	GII.17[P17]_AB983218_Kawasaki323/2014/JP	GII.17	0.0171
5	3	1612-NIHS-F-3	ATTCTCTGACCTC	GII.6_AB039776SaitamaU3/97/JP	GII.6	0.09847
6	4	1612-NIHS-F-4	CCTTGGCCTGTGC	GI.6_AB081723WUG1/00/JP	GI.6	0.03458

ClustalW(Run ClustalW with each seq)による遺伝子型別結果

	A	B	I J K L M N O P	Q	R	S
1	#					
2	#SeqID	株名	[illegible]	類似株名(CW)	遺伝子型(C)	類似株との距離
3	1	1611-NIHS-F-1	AAGATGGCG	GII.2_X81879Melksham/89/UK	GII.2	0.03061
4	2	1611-NIHS-F-2	AAGATGGCG	GII.17[P17]_AB983218_Kawasaki323/2014/JP	GII.17	0.01724
5	3	1612-NIHS-F-3	AAGATGGCG	GII.6_AB039776SaitamaU3/97/JP	GII.6	0.09837
6	4	1612-NIHS-F-4	TCTAAGGAC	GI.6_AB081723WUG1/00/JP	GI.6	0.03503

図 14. ClustalW を実行した結果、作成された検索結果ファイル

4) ClustalW と ClustalW run with each seq

ClustalW の実行メニューとしては、ClustalW と Run ClustalW with each seq の 2 種類があります。その違いは以下のとおりです(系統樹は図 15 参照)。通常は、ClustalW を使用します。

	ClustalW	Run ClustalW with each sequence
処理内容	Query と Reference に指定した株全体について処理を行う	Query に指定した株ごとに Reference に指定した株と合わせて処理を行う
処理回数	1 回(作業ファイルは 1 組)	Query に指定した株の数だけ、作業が繰り返される(作業ファイルは Query に指定した株ごとに作成される)
特徴	通常の解析に用いる	NJ 法による正確な遺伝子的距離を求めたい場合などに利用する

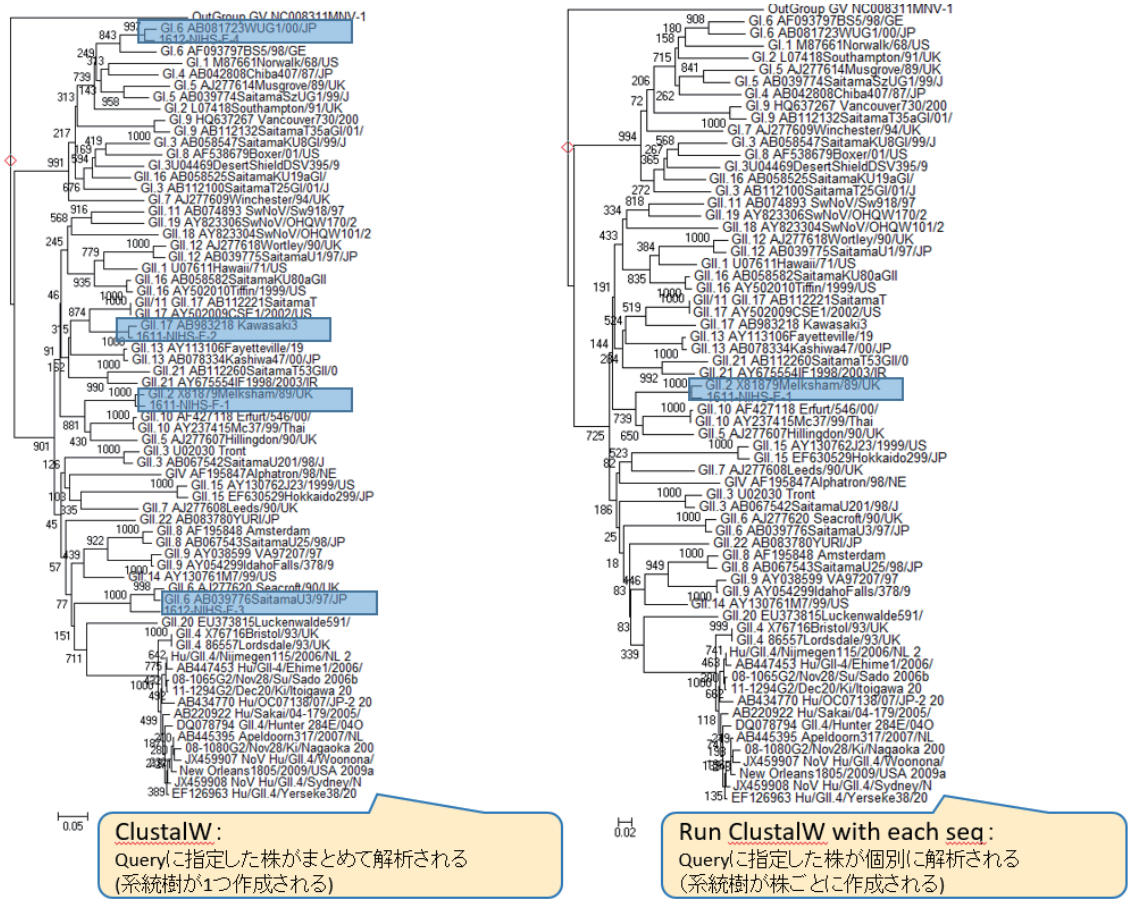


図 15. ClustalW の実行で得られた phb ファイルを基に MEGA を用いて作成した系統樹

③ ClustalW の作業ファイルについて

ClsutalW のパラメータの設定で、debug=true と設定した場合、ClsutalW の作業ファイル(*.phb、*.aln、*deb.log、*clustalW.log、*.dnd、*.fna)がシステムフォルダ内の「blst_temp」内に作成されます。

このうち、主に使用するのは、以下の 2 つです。

作業ファイル	目的	使用するソフト*
*.phb	系統樹の描画	MEGA、NJ plot 等の系統樹描画ソフト
*.aln	アライメントされた塩基配列データを視覚的に確認し、株間の相同性や配列データの正確性を調べる	MEGA、ClustalX 等の遺伝子解析ソフト

*:各ソフトはホームページからフリーでダウンロードできます(各自治体におけるセキュリティ対策等の規則を遵守してダウンロードして使用してください。)

MEGA:http://www.megasoftware.net/

NJ plot:http://doua.prabi.fr/software/njplot

ClustalX:http://www.clustal.org/

(本システムに利用している ClsutalW でも実施可能ですが、コマンド方式なので、操作が煩雑です)

これらの遺伝子解析用ソフトの使用方法は、各自治体における専門家にお問合せください。

(3) Merge

1) 使用目的

Merge は Query に指定した Excel ファイルのデータを reference に指定された Excel ファイルのデータに追加する場合に使用します。

目的	Reference	Query
新たに検出され、遺伝子型別された株を既存の検出株リストに追加したい	既存の検出株リストのファイル	追加したい検出株のファイル
遺伝子型別参照株に新たに参照株を追加したい	既存の遺伝子型別参照株のファイル	新たに参照株として追加したい株のファイル

2) 使用方法(図 16)

① Reference 欄に既存のデータ等を含むファイルをドラッグ&ドロップします(または、参照をクリックしてファイルを指定する)。

② Query 欄に追加したい株のファイルをドラッグ&ドロップします。

③ 実行をクリックします。

④ 既存のデータに新たにデータが追加されたエクセルファイルの保存場所、ファイル名、ファイル形式の指定を行い、保存をクリックします。

⑤ 作業ウインドウが表示されます。

⑥ 作業終了を示すウインドウが表示されます。

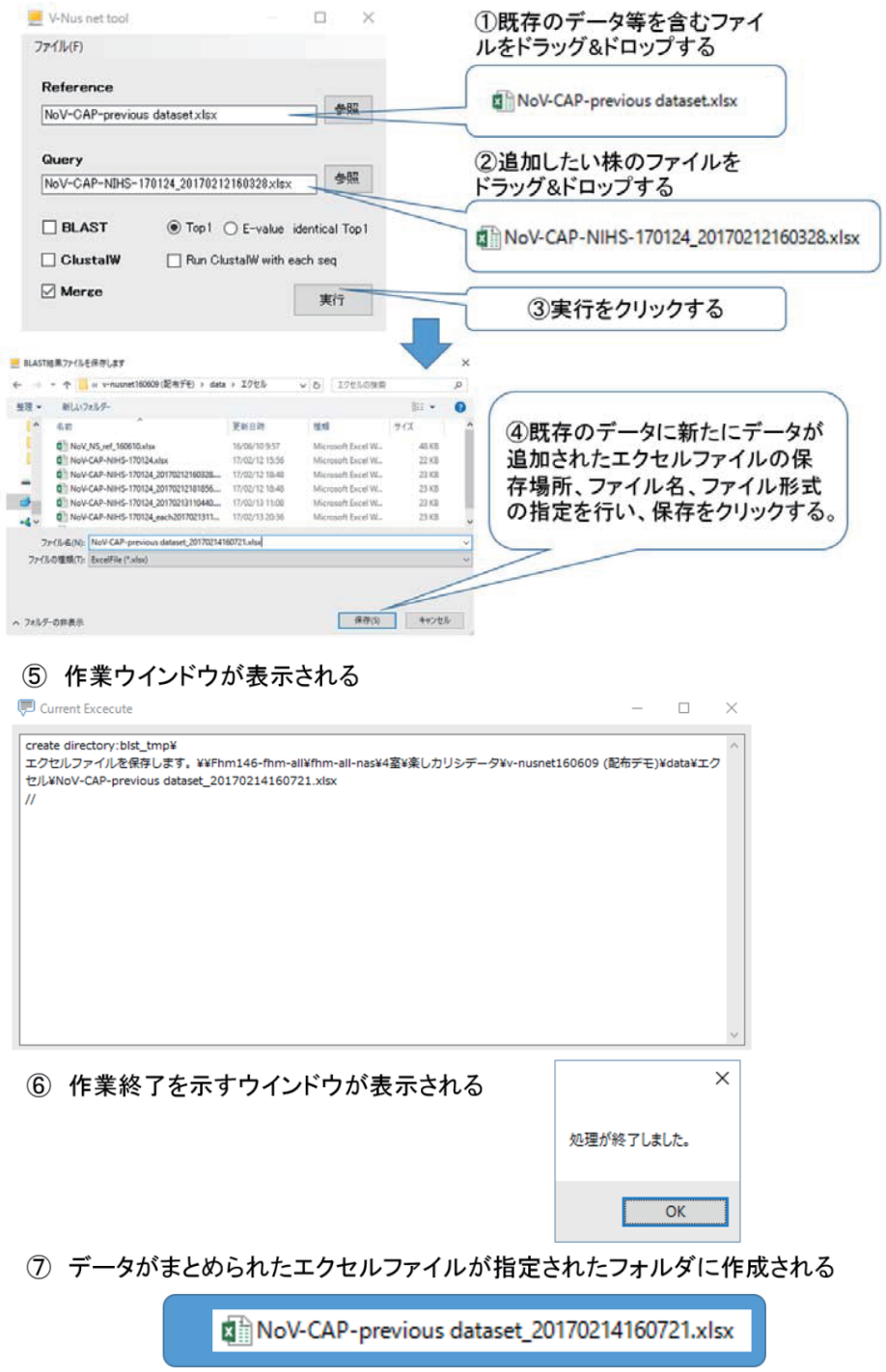


図 16. Merge の実行方法

⑦　データがまとめられたエクセルファイルが指定されたフォルダに作成されます。

(4) パラメータの変更

BLAST 検索および ClustalW のパラメータを変更することができます。ツールのファイルメニューから「設定を開く」をクリックし、BALST パラメータか ClustalW パラメータを選択します(図 17)。

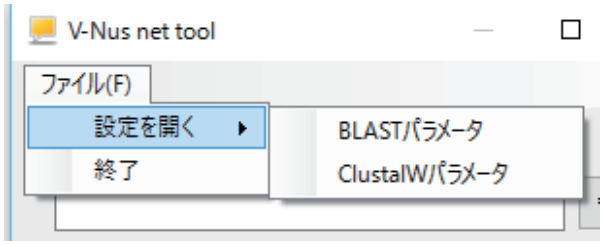


図 17. パラメータの設定

通常変更する場合があるパラメータは以下のとおりです。また、間違えて設定した場合、元の条件に戻す必要がある場合等に備え、ファイルの内容を控えておくことをお勧めします。

各システムの詳細については、下記のホームページ等を参考にしてください。
BLAST:http://www.ddbj.nig.ac.jp/search/help/blasthelp-j.html (DDBJ)
ClustalW:http://www.ddbj.nig.ac.jp/search/help/clustalwhelp-j.html (DDBJ)

BLAST のパラメータ

パラメータ	既定値	内容
Evalue	<0.0001	E-value は,「偶然に同じスコアになる配列の数の期待値」で、E-value が小さいほど、互いの配列の類似性が高いことになります. Reference に指定した株の中に本条件を満たす株がない場合、「該当なし」が戻り値になります。
identify	>90	Reference と query の株の相同性(解析の対象となる塩基長に対する配列が一致した塩基長の割合)を示します。Reference に指定した株の中に本条件を満たす株がない場合、「該当なし」が戻り値になります。
Gap	<1	ギャップの塩基数のカットオフ値。
EntryHit	=50	1 配列当たりの最大 Hit 数。
MatchLengthMin	=200	マッチした塩基配列の最小の長さ。 この長さを満たさない場合は無視されます。
threads	=4	最大使用 CPU コア数(threads)
debug	=true (=false)	true:作業ファイルを残します。 false:作業ファイルを消去します。

ClustalW のパラメータ

[ClustalW -ALIGN]		
QueryLengthMin	=200	Query に指定した株の解析対象となる塩基配列長の最小値です。この値より短いデータは無視されます。
cutoff_Distance	=1	Reference に指定した株の中で、最も近縁であった株との遺伝的距離のカットオフ値です。 Reference に指定した株の中に本値より小さい値をもつ株がない場合は、戻り値が「該当なし」となります。
GAPOPEN	=10	Gap 開始時の Gap penalty を指定します。デフォルトは 10 です。
GAPEXT	=0.2	Gap 継続時の Gap penalty を指定します。デフォルトは 0.2 です。
TRANSWEIGHT	=0.5	TRANSWEIGHT を指定します。デフォルトは 0.5 です。
ENDGAPS	=true	端の Gap について指定します。デフォルトは true です。
[ClustalW -BOOTSTRAP]		
clustering	=NJ (=UPGMA)	Clustering のタイプを指定します。デフォルトは NJ です。
TOSSGAPS	=ON	系統樹計算時に gap を無視するかを指定します。デフォルトは ON (gap を無視する) です。
KIMURA	=ON	系統樹計算時に使用する correction を指定します。デフォルトは Kimura です。
debug	=true (=false)	true：作業ファイルを残します（デフォルト）。 False：作業ファイルを消去します。

参考

##の行は無視されます（メモあるいはパラメータ変更の際に#を消去する等で利用）

8 BLAST プログラムの更新

NCBI Blast (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) の最新プログラムは以下の URL において公開されています。

ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/LATEST

この URL から

ncbi-blast-[バージョン]+-x64-win64.tar.gz

(2017 年 2 月 13 日現在:ncbi-blast-2.6.0+-x64-win64.tar.gz)

のファイルをダウンロードし、解凍したディレクトリをシステムフォルダ内の[ncbi_blast]に上書き保存すると最新の NCBI Blast が利用できます。

平成 26-28 年度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）
総合分担研究報告書

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

研究分担者　大西　貴弘（国立医薬品食品衛生研究所）
研究協力者　渡辺麻衣子（国立医薬品食品衛生研究所）
研究協力者　小西　良子（麻布大学）
研究協力者　緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）
研究協力者　堀川　和美（福岡県保健環境研究所）
研究協力者　江藤　良樹（福岡県保健環境研究所）
研究協力者　奴久妻聡一（神戸市環境保健研究所）
研究協力者　森　英人　（神戸検疫所　輸入食品・検疫検査センター）
研究協力者　峯岸　恭孝（ニッポンジーン）
研究協力者　本間　幸子（川崎市健康安全研究所）
研究協力者　小河内麻衣（川崎市健康安全研究所）
研究協力者　鈴木　淳　（東京都健康安全研究センター）
研究協力者　川上　優太（島根県保健環境科学研究所）

ヒラメの生食による原因物質不明の有症事例は *Kudoa septempunctata*（以下クドア）が原因であることをこれまでの研究で明らかにしてきた。また、ヒラメ以外の魚の生食による有症事例も多発している。本研究ではヒラメ以外の魚による有症事例およびヒラメのクドア食中毒について以下の課題について検討した。
1）ヒラメ以外の魚の生食に伴う有症事例の実態調査
2）カンパチに寄生している *Unicapsula seriolae* に対する検査法の開発
3）ヒラメのクドア食中毒に関して未解決の問題

A. 研究目的

近年、魚の生食による有症事例が多発している。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 *Kudoa septempunctata*（以下クドア）によって引き起こされることが明らかになっている。しかし、ヒラメ以外の魚の生食に伴う有症事例の実態は詳しく調査されていない。これらの事例に対する対策を立てるためには情報を収集し原因食材を明らかにし、また、喫食残品等の収集を行いそこから事例ごとに共通する原因物質の候補を検索する必要がある。原因物質の候補に対しては定量及び定性的な検査法を作成し、さらに詳細な検討を行う必要がある。本研究では全国の自治体に有症事例の情報および検体の提供の協力を依頼し、得られた情報のとりまとめ、さらに検体からは原因微生物候補の検索を行った。また、後述するがカンパチの喫食に伴う有症事例が非常に多く、検体からは粘液胞子虫の一種である *Unicapsula seriolae*（以下、ユニカプスラ）が高率に分離され原因微生物の可能性が示唆されたため、ユニカプスラに対する検査法を検討した。また、タイ類の生食に伴う有症事例も多く報告されており、検体からしばしば *K. iwatai* が分離される。この *K. iwatai* が原因微生物なのか、それとも魚に寄生しているだけの無害な寄生虫なのかを考察するために、タイ類における粘液胞子虫の汚染実態調査を行った。

一方で、ヒラメにおけるクドア食中毒に関して未解決の問題が多く残されている。例えばクドア食中毒は激しいが一過性の下痢、嘔吐が主な症状である。一過性の症状ということで患者に対しては対処療法のみが行われているが、もし、クドアが本来の宿主である貧毛類の消化管同様に、ヒトの腸管でも生残できたとすると、治療の方針を変更する必要があるかもしれない。そのため、ヒト腸管内におけるクドアの生存性を調べる必要がある。また、クドアによる食中毒発症メカニズムのひとつとして、クドアのスポロプラズムの腸管上皮細胞層への侵入が示唆されている。しかし、クドア食中毒の発症メカニズムとしてアレルギーの関与も以前から噂されている。そこで、クドア食中毒におけるアレルギーの関与について検討した。さらに、クドアはcytochromec oxidase subunit I (cox1)遺伝子とlarge subunit rRNA (rnl) 遺伝子のSNPsを調べることによってST1, ST2, ST3 の三つの遺伝子型に分類することが出来る。国産のヒラメに寄生するクドアはST1もしくはST2であり。ST3は存在しない。しかし、韓国産ヒラメに寄生するクドアは 90%以上が ST3に分類される。しかし最近、ST3は下痢毒性がなく食中毒の原因であるかどうかは疑わしいという論文が公表されている。しかし、国内の食中毒は主に韓国産ヒラメによって引き起こされている。そこで、国内における食中毒分離クドア株の遺伝子型別を実施した。また、ウマヅラハギからクドアが分離されたという報告がある。現時点ではクドアの宿主はヒラメだけであると考えられている。そこで、ウマヅラハギにおけるクドアの汚染実態調査を行った。さらに、クドアに対する迅速検査法の検討、ヒラメ筋肉中のクドアの栄養体の検出法の検討などを行った。

B. 研究方法

１．ヒラメ以外の魚の生食に関わる有症事例の調査

厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課食中毒被害情報管理室より事務連絡『食中毒調査に係る病因物質不明事例の情報提供について』を発出していただき、地方自治体から有症苦情事例の残品および情報の取集を行った。得られた検体は顕微鏡検査を行い、粘液胞子虫の胞子の確認を行った。また、検体からDNAを抽出し、遺伝子検査を行った。

２．ユニカプスラの検査法の確立

ユニカプスラは胞子同士の接着性が強く凝集塊を作る傾向が高い。また、形態は円形状で特徴がすくなく、直径がクドアの半分の5 μmしかないため観察しづらい。そこで、ヒラメのクドア計数法をベースにしながら上記の問題点を解決できる計数法を検討した。また、ユニカプスラに対する定性PCR法および定量リアルタイムPCRを確立する。ユニカプスラの18SrDNAを標的にしPrimer3Plus(http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi/)を使用してプライマー及びプローブを設計した。複数の候補の中から増幅効率が高いものを採用した。

３．タイ類における粘液胞子虫の汚染実態調査

市場流通タイ類を無作為に購入した。顕微鏡検査によっ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。

４．ヒト腸管環境におけるクドアの生存性の検討

クドアの病原性の本体であると考えられているスポロプラズムの生存性を検討した。クドア胞子を精製し、胞子から放出されてきたスポロプラズムをヒトの腸管もしくは本来の宿主である貧毛類の消化管の環境条件下で培養し生死を判定した。スポロプラズムの生死の判定は細胞膜非透過性色素SYTO9 (Thermo Fisher Scientific) で染色されたものを死細胞と定義した。

５．クドア食中毒発症におけるアレルギーの関与の検討

マウスは、系統BALB/c、雌性を用いた。クドア胞子の破砕物を免疫原とした。抗原特異的IgE抗体の誘導は初回免疫を腹腔内投与、追加免疫を皮下投与とすることとした。初回免疫後 10～13 日おきに２回の追加免疫を行った。採取した血液は血清分離後－80℃で凍結保存し、サンドイッチELISA法を利用したマウス total IgE測定キット（森永生化学研究所）を使用して行った。

６．国内食中毒分離クドア株の遺伝子型別

検体のヒラメは全国で発生した食中毒の残品を自治体から分与していただいたものを使用した。今回は 2013 年から 2016 年に発生した 32 検体を用いた。クドアの遺伝子型別は既報（竹内ら，2015）に従い行った。

７．ウマヅラハギにおけるクドアの汚染実態調査

ウマヅラハギの汚染実態調査を行うためにウマヅラハギを全国の市場から天然のものを購入した。1 尾当たり 2 か所から DNA 抽出を行い、水産庁 栽培養殖課「ヒラメに寄生した *Kudoa septempunctata* の検査方法について」(2012 年 5 月）に従って定性 PCR を行った。PCR で陽性になった場合、厚生労働省の暫定検査法に従いクドア胞子数と定量 RT-PCR によるクドア DNA のコピー数を測定した。

８．クドア迅速検査法の検討

クドアの LAMP 法は精製クドア胞子の TritonX 可溶化抗原のアミノ酸配列をもとに LAMP 法プライマーを作成した。さらに LAMP 法を食中毒検査に使用できるように 1 個体のヒラメを対象に通知法の規準である 1 グラム当たり 10^5 胞子を定性下限となるように感度の調整を行った。さらに複数機関による妥当性評価を行った。

９．ヒラメ組織中におけるクドア栄養体の検索

クドアの栄養体の検出では福岡県で発生したヒラメが原因食材と疑われる有症苦情事例の検体を用い組織切片を作成した。この事例では暫定通知法による定量的 PCR 法で 1 グラム当たり 10^6 ～10^7 コピーのクドア DNA が検出されているが、胞子を検出ができなかった。これらの検体をホルマリンもしくはパラホルムアルデヒドで固定した後、パラフィン包埋を行った。組織をミクロトームで薄切後、脱パラフィンを行った。Proteinase K (DAKO)で抗原の不活化を行った後、Biotin-Blocking System (DAKO)および Protein Block Serum free (DAKO)でブロッキングを行った。その後、抗クドア抗体と 4℃、1 時間反応させた後、Alexa Fluor 594 Goat anti-chicken IgG (Invitrogen)と室温で 1 時間反応させた。SlowFade Gold antifade reagent with DAPI で封入後、蛍光顕微鏡で観察した。

１０．クドアの凍結保存法の確立

市場から購入したヒラメよりクドアを精製し、市販の各種細胞凍結液に 10^6/ml になるように浮遊させ―80℃で保管した。その後、定期的にバイアルを解凍し、スポロプラズムの生存性を検討した。16 か月後の胞子の毒性を Caco-2 細胞を用いた方法で測定した。

C. 研究結果

１．ヒラメ以外の魚の生食に関わる有症事例の調査

自治体から国衛研に送付されたのは 33 事例 52 検体だった。内訳はカンパチ 14、マグロ（メジマグロを含む） 13、タイ類 6、ブリ 4、シイラ 4、カツオ 3、サワラ 2、ヒラメ 2、キス、ハマチ、ハモ、マダカがそれぞれ 1 検体だった。33 事例中、粘液胞子虫の DNA が検出されたのは 25 事例（75%）、胞子も確認できたのは 16 事例（48%）だった。52 検体中、粘液胞子虫の DNA が検出されたのは 28 検体（54%）、胞子も確認できたのが 15 検体（29%）だった。検出された粘液胞子虫はそれぞれ *Unicapsula seriolae* 9, *K. neothunni* 5, *K. hxapunctata* 2, *K. thyrsites* 2, *K. iwatai* 1, *K. lateolabracis* 1, *K. septempunctata* 4, データベース未記載の新種 4 であった。

魚種ごとに見ていくと、カンパチでは *U. seriolae* 9、*K. septempunctata* 3、*K. neothunni* 1、新種 1 が検出された。マグロでは *K. neothunni* 4、*K. hexapunctata* 2 であった。タイからは *K. iwatai* 1 が検出された。シイラからは *K. thyrsites* 1 が検出された。サワラからは新種 2 が検出された。

２．ユニカプスラの検査法の確立

まず、顕微鏡検査法を確立した。ユニカプスラをクドアと同じ顕微鏡検査法で検出しようとすると、胞子の強い粘着性により塊を作ってしまい正確に計数することが出来ない。また、油滴と胞子の区別がつきにくく、胞子の検出が困難である。検討の結果、カンパチの抽出物をスライドグラス

に塗抹し火炎固定、サフラニン染色することによって観察が容易になることが明らかになった。また、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。様々な方法を検討した結果、検査を始める前に検体を-20℃で一晩凍結すると胞子同士の接着を抑えることが出来ることが明らかになった。また、ヒラメの筋肉抽出液を濾過する際、100 μmのメッシュにとおしていたが、ユニカプスラの胞子は5 μmとクドア胞子の半分しかないため、濾過に40 μmのメッシュを使用すると計数自体に影響を与えず、カンパチの筋肉の残渣をさらに取り除くことが出来るため、計数しやすくなることが明らかになった。さらに、胞子液と10% KOH溶液を混合すると胞子から極糸が弾出するため、カンパチ由来の油滴と見分けやすくなる。この状態で血球計算板を用い胞子を計数する。また、位相差顕微鏡を用いて対物レンズを ph1 で観察すると胞子に黒く影が付くためさらに観察しやすくなることが分かった。

次にユニカプスラの遺伝子検査法を検討した。まず、ユニカプスラ特異的定性PCR法を作成した。この方法はユニカプスラの18S rDNAをターゲットとしたものである。この方法を用いると検体中のユニカプスラを容易に検出することが出来きた。さらにユニカプスラの18S rDNAをターゲットととした定量リアルタイムPCR法を確立した。このリアルタイムPCR法の定量限界は10^2コピー/反応であった。

３．タイ類における粘液胞子虫の汚染実態

川崎市内で無作為にタイ類 100 検体を購入した。マダイ、クロダイ、チダイ、ハナダイそれぞれ1検体から*K. thyrsites*が、サワラから*Kudoa sp.*が検出された。100 検体中 5 検体がクドア陽性となり、陽性率は5%となった。

４．ヒト腸管環境におけるクドアの生存性の検討

浸透圧がスポロプラズムの生存性に及ぼす影響を検討した。本来の宿主である貧毛類の浸透圧に近い3.4%食塩水中でスポロプラズムを培養すると、72 時間後でも 80%以上のスポロプラズムが生存していた。しかし、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。

次に温度の影響を検討した。まず、冬のゴカイの温度に近い 15℃でスポロプラズムを培養すると 72 時間後でも生存率にほとんど変化は見られなかった。夏のゴカイの温度に近い25℃で培養すると 72 時間後には生存率は若干低下するが、80%以上のスポロプラズムが生存していた。しかし、ヒトの体温に近い37℃で培養すると、スポロプラズムの生存率は急速に低下し、48時間後には10%にまで低下した。

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。そこで、人工腸管液の構成成分それぞれとスポロプラズムを培養したところ、0.5% 胆汁と培養すると4時間ですべてのスポロプラズムが死滅した。

５．クドア食中毒発症におけるアレルギーの関与の検討

陰性コントロール群と比較して、卵白アルブミン投与陽性コントロール群およびクドア投与群では、2回目免疫原投与後から血清中 total IgE濃度の有意な上昇（$p<0.05$）が確認され、最終免疫原投与後の全採血直前では、クドア投与群において positive control 群と比較しても高い total IgE濃度の上昇が認められた。

６．国内食中毒分離クドア株の遺伝子型別

2013年から2016年の間に発生したクドア食中毒の内、32事例から分離されたクドア株の遺伝子型別を行った。国産ヒラメによる事例から分離されたのは9株で、ST1が2株（22%）、ST2が7株（78%）、ST3は分離されなかった。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。32株中ST3は22株(69%)であった。

７．ウマヅラハギにおけるクドアの汚染実態調査

ウマヅラハギにおけるクドアの寄生状況をスクリーニングするために国内6地域より31尾を購入した。1尾当たり2か所からDNAを抽出し、クドア特異的PCRを行ったところ2尾がPCR陽性

となった。これらの個体の Kudoa 胞子数の確認を行ったが検出限界以下であった（10^5/g 未満）。またこれらの個体から DNA を抽出し、Kudoa DNA のコピー数を測定したところ 10^3～10^4 コピー/g だった。

８．クドア迅速検査法の検討

これまで厚生労働科学研究で開発を行ってきたクドアに対する LAMP 法を食中毒検査に使用できるように感度の調整を行った。そして、今回改良した LAMP 法が食中毒検査に準じた感度を有しているかどうかを確認するために、4 機関で評価した。その結果、今回の検査法は 1 グラム当たり 1.8 ×10^4 胞子のクドアを検出できることが明らかになった。

９．ヒラメ組織中におけるクドア栄養体の検索

ヒラメの喫食による有症苦情事例で、クドアの DNA は検出されるが胞子は検出できない事例が報告されている。今回こういった事例のヒラメ組織をクドア特異的抗体で染色し、ヒラメ組織中のクドア細胞の検出を試みた。その結果、特異的抗体と DAPI で染色される約 5～10μm の細胞が組織中に認められた。細胞は組織全体に認められたが、局所的に集中して存在している個所もあった。しかし、胞子や多核体と思われる細胞は認められなかった。

１０．クドアの凍結保存法の確立

予備実験の結果、セルバンカー１（日本全薬工業）がクドアの凍結保存に適していたため、長期保管試験を行った。ヒラメから精製したクドア胞子をセルバンカー１を用いて-80℃で保管した。16 か月間の間に適宜バイアルを解凍し、スポロプラズムの生存率を測定した。その結果、バイアルよって生存率にばらつきが見られたが 70%を下回ることはなかった。スポロプラズムは特徴的なアメーバー状の不定形を維持しており、活発に運動していた。16 か月間保管した胞子の毒性を Caco-2 細胞を用いて測定すると、クドアを Caco-2 細胞に接種後、1 時間で経上皮電気抵抗が急速に 60%低下した。

D.考察

１．ヒラメ以外の魚の生食に関わる有症事例の調査

今回検討した事例のうち 47%から粘液胞子虫の胞子が検出された。これらの粘液胞子虫がすぐにこれらの有症苦情事例の原因微生物とすることはできない。原因物質であることを証明するためにはさらに検体の収集を行うとともに、毒性試験を行う必要性が認められた。一方、53%の事例で粘液胞子虫の胞子を検出できなかったため、今後は粘液胞子虫以外の原因物質も検討していく必要性が認められた。

今回検討した中でカンパチが検体として最も多かった。平成 27 年度に厚生労働省に報告があったものだけでもカンパチに関係する事例が 20 件あった。報告がないものがあるとすると、カンパチによる有症苦情事例は相当数に上ると思われる。また、カンパチからはユニカプスラが高率に検出された。市販流通品のカンパチからユニカプスラは検出されていない。また、A 県の事例では毎日カンパチを提供している施設があり、カンパチが原因食と思われる有症苦情事例が発生した。保管されている検食を調べたところ、患者が発生した日に提供されたカンパチだけからユニカプスラが検出された。このようにカンパチを原因食とする有症苦情事例とユニカプスラの間に強い関連性が示唆されている。さらに検体や情報の収集を行うとともに毒性試験を行い、ユニカプスラとカンパチの有症苦情事例の関連性を明らかにしていきたい。

２．ユニカプスラの検査法の確立

ユニカプスラがカンパチの事例の原因微生物である可能性が示唆されているが、カンパチによる有症苦情事例が発生しても、ユニカプスラを見逃してしまう事例がしばしばみられる。その理由としてユニカプスラの胞子はクドアのものよりもサイズが小さく、また油滴と非常に似ているため判別が難しく、胞子自体の粘着性が非常に強いため胞子同士が接着し塊を作るためさらに観察が困難になっているためと思われる。そこで、ユニカプスラの検出が容易な顕微鏡検査、計数法、特異的 PCR 法、定量的リアルタイム PCR 法を作

成した。これらの検査法が普及すれば、地方自治体での日常業務でユニカプスラを容易に検出できるようになるため、今後さらにカンパチによる有症苦情事例とユニカプスラの情報が多く報告されるようになると期待できる。

３．タイ類における粘液胞子虫の汚染実態

タイ類の生食に関連する有症事例が多発している。多くの場合、喫食残品から *K. iwatai* が検出されている。しかし、*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。そこで市場に流通しているタイ類における粘液胞子虫の汚染実態調査を行った。その結果、2 年間で 100 検体の調査を行ったが *K. iwatai* は検出されなかった。一方で、事例残品からは *K. iwatai* が高率に分離される。このことは *K. iwatai* が原因微生物である可能性を示唆している。今後さらに検体数を増やし、*K. iwatai* と有症事例との関連性について検討を行いた。またこの汚染実態調査では 100 検体中 4 検体から *K. thyrsites* が検出された。*K. thyrsites* に関しては不明な点が多く、その病原性についても明らかになっていない。しかし、シイラによる有症事例からも *K. thyrsites* が分離されているため、今後もさらに監視を続ける必要性が認められた。

４．ヒト腸管環境におけるクドアの生存性の検討

今回の結果からクドアのスポロプラズムはヒトの浸透圧、温度条件下では急速に死滅していくことが明らかになった。特に温度に対しては感受性が強く培養 48 時間後に 90%のスポロプラズムが死滅した。また、胆汁に対して強い感受性を示し、腸管液がクドアの感染に対して防御的な役割を有していることが示唆された。

今回の結果からヒトの腸管内環境はクドアの生存に適していないことが明らかになった。そのため、食中毒症状を引き起こした後、クドアは速やかに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。

５．クドア食中毒発症におけるアレルギーの関与の検討

今回の結果からクドア破砕物には代表的な食物アレルゲンである卵白アルブミンと同等またはそれ以上の IgE 抗体産生誘導能があることが確認された。今後、クドア食中毒発症におけるアレルギーの関与について検討を行っていきたい。

６．国内食中毒分離クドア株の遺伝子型別

今回検討したクドア食中毒事例 32 件の内、韓国産ヒラメによって引き起こされたものは 23 件でった。その内、ST3 株が分離された事例は 22 件に上った。32 件中、22 件(69%)が ST3 株によって引き起こされていた。これまでに相次いで ST3 株に下痢毒性はないとの報告が韓国の研究者から発表されているが、今回の結果からも明らかなようにわが国のクドア食中毒の大部分は韓国産ヒラメによって引き起こされており、そのほとんどは ST3 株によるものである。この結果は韓国の研究者の主張と矛盾するものである。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。

７．ウマヅラハギにおけるクドアの汚染実態調査

これまでにクドアが検出されたことが報告されている。ウマヅラハギにおけるクドアの汚染実態調査を行った。その結果、31 尾中 2 尾でクドアに対する PCR が陽性となった。これらの検体の胞子数を測定したところ定量限界以下であった（105/g 未満）。また、暫定検査法による *K. septempunctata* DNA のコピー数は 10^3～10^4/g と低い値を示した。以上の結果から、寄生は少量であると思われた。今後も引き続き監視を行い、食中毒を起こしうるだけの強度のクドアの寄生が見られる個体が存在するのか検討していく必要が認められた。

８．クドア迅速検査法の検討

これまでの厚生労働科学研究でクドアに対する LAMP 法の開発を行ってきた。今回はクドアに対する食中毒検査に LAMP 法が使用できるように定性下限が 1 グラム当たり 10^5 胞子になるように改良を試みた。この改良品を用いて 4 機関によるコラボラティブスタディを行った。その結果、今

回の検査法は 1 グラム当たり 1.8×10^4 胞子の検体を陽性と判定してしまうことが明らかになった。今後さらに改良を行い、食中毒検査に本試験法が利用できるようにしたい。

９．ヒラメ組織中におけるクドア栄養体の検索

ヒラメが原因食材として想定される原因物質不明有症苦情事例の内、高いコピー数のクドア DNA がヒラメから検出されるが胞子は検出されないという事例の報告がある。クドアはヒラメの組織内に侵入後、多核体の形成による無性生殖を繰り返し増殖していく。やがてこれらの細胞が分化し、胞子を形成していくと考えられている。前述のような DNA は検出されるが胞子は検出されない検体には、胞子になる前のクドア細胞が存在していると思われるが、どのような分化段階のクドア細胞が存在しているのか不明である。そこで今回の研究では、高コピー数のクドア DNA が検出されるが胞子は検出されないヒラメが原因食材として疑われる事例のヒラメ組織中のクドア細胞をクドア特異的抗体で免疫染色し観察した。その結果、特異的抗体と DAPI で染色される約 5～10μm の細胞が観察された。しかし、胞子や多核体などの細胞は認められなかった。今回、抗体で染色された細胞がクドアの生活環の中でどの段階の物か特定できなかったが、もし、今回の事例の原因食がこのヒラメであるとすると、この細胞がヒトへの健康被害を引き起こしている可能性がある。今後、胞子に分化する前の段階のクドア細胞の毒性についても検討を行っていく必要が認められた。

１０．クドアの凍結保存法の確立

今回の結果からセルバンカー1 を使用することによって、最低 16 か月間はスポロプラズムの生存率をほとんど低下させることなく保存できることが明らかになった。セルバンカー1 と胞子を混ぜるだけという簡便な操作で特別な機器も必要としない。さらに、セルバンカー１は世界中の多くの国で入手が可能である。以上のことから、今回確立したクドアの凍結保存法はクドア研究に大きく貢献するものと思われる。

E. 結論

3 年間の研究でヒラメ以外の魚が原因食と思われる有症事例の実態が明らかになった。これらの事例の多くから粘液胞子虫が検出されている。特にカンパチの喫食に伴う有症事例が非常に多いこと、さらに原因微生物としてユニカプスラが疑われることが明らかになった。平成 27 年の食中毒統計の患者数を見てみるとヒラメのクドア食中毒は 169 名であった。一方、魚の生食に伴う有症苦情事例の患者数は 246 名とクドア食中毒の患者数を超えている。また、これらの数字は厚生労働省及び国立医薬品食品衛生研究所に報告があったものだけである。有症事例患者の実数はこれよりはるかに多いと思われる。さらに、魚の生食に伴う有症苦情事例の多くから粘液胞子虫が検出されている。そこで、粘液胞子虫による食中毒というカテゴリーを作ると、ヒラメのクドア食中毒 169 名、魚の生食に伴う有症苦情事例 246 名で合計 415 名となり、ブドウ球菌 619 名、ウエルシュ菌 551 名など他の食中毒微生物と比較しても決して少なくない患者数となっている。これだけ多くの国民が苦しんでいる事例を有症事例のまま放置することはできない。積極的に取り組み解決していく必要があると思われる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. Kamata, Y., Saito, M., Irikura, M., Yahata, Y., Ohnishi, T., Bessho, T., Inui, T., Watanabe, M., Konishi, Y.: A Toxin Isolated from *Sarcocystis fayeri* in Raw Horsemeat May Be Responsible for Food Poisoning, Journal of Food Protection. 2014 May;77(5):814-9.
2. Ohnishi, T., Akuzawa, S., Frusawa, H., Yoshinari, T., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y.: Inactivation of *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder, Biocontrol Science. 19, 135-138 (2014)
3. Sugita-konishi, Y., Sato, H., Ohnishi,

T.: Novel Foodborne Disease Associated with Consumption of Raw Fish, Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*), Food safety , 2(4), 141-150, 2014
4. 大西貴弘:新しい寄生虫食中毒とその制御にかかわる最新の話題, 日本防菌防黴学会誌, 2014 vol.42 p625-630
5. Konishi, Y., Fukuda, Y., Mori, M., Mekata, M., Namba, T., Kuroda, M., Yamazaki, A., Ohnishi, T.: New Validated Rapid Screening Methods for Identifying *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*),JJID, Vol.68, 145-147, 2015
6. Yahata,Y., Konishi, Y., Ohnishi,T., Toyokawa, T., Nakamura, N., Taniguchi, K., Okabe, N.,: *Kudoa septempunctata* induced gastroenteritis in humans after flounder consumption in Japan: A case-control study, JJID, Vol. 68, 119-123, 2015
7. Ohnishi, T., Furusawa, H., Oyama, R., Koike, S., Yoshinari, T., Kamata, Y., Konishi, Y. : Molecular epidemiological analysis of *Kudoa septempunctata* by random amplified polymorphic DNA analysis, JJID 2015;68(3):235-8.2015
8. Takeuchi, F., Ogasawara, Y., Kato, K., Sekizuka, T., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., Kuroda, M., Nucleotide sequence typing for *Kudoa septempunctata* (Myxozoa: Multivalvulida), a flounder parasite causing foodborne disease, PLOS ONE, 2015 Jul 6;10(7):e0132030. doi: 10.1371/journal.pone.0132030. eCollection
9. 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)
10. 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)
11. 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)
12. 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)
13. 大西貴弘,都丸亜希子,吉成知也,鎌田洋一,小西良子:生鮮魚介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

学会発表

1. Ohnishi, T., Akuzawa, S., Furusawa, H., Yoshinari, T., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y. : Application of Liquid Freezing Method to Inactivation of *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder Meat, IAFP European Symposium (2014.5) (Hungary・Budapest)
2. 大西貴弘, 阿久澤さゆり, 古沢博子, 吉成知也, 鎌田洋一, 小西良子:リキッドフリーザーを用いたヒラメ筋肉中の *Kudoa septempunctata* 不活化の試み, 第 35 回日本食品微生物学会学術総会 (2014.9)
3. 大西貴弘, クドア属粘液胞子虫による食中毒, 第 84 回日本寄生虫学会 (2015.3) 東京
4. Ohnishi, T., Kikuchi, Y., Furusawa, H., Yoshinari, T., Yamazaki, A., Kamata, Y., Sugita Konishi, Y.: Electron Microscopic Study on *Kudoa septempunctata* Infecting Olive Flounder, IAFP European Symposium on Food Safety, (2015.4) イギリス

5. Takeuchi, F., Sekizuka, T., Ogasawara, Y., Yokoyama, H., Kamikawa, R., Inagaki, Y., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., Kuroda, M.: Phylogenetic analysis of a Myxozoan Genus *Kudoa* Mitochondrial Genomes, and the modulation of host innate immunity by *Kudoa* infection., 2nd International Symposium Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells (2015.9), Tsukuba, Japan
6. 大西貴弘,都丸亜希子,吉成知也,鎌田洋一,小西良子: 原因不明有症苦情事例検体からの粘液胞子虫の検出, 日本食品微生物学会, 2015.11, 川崎
7. Ohnishi, T., Oyama, R., Furusawa, H., Ohba, N., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y.: *Kudoa septempunctata* was Recognized by Toll-like Receptor 2, IAFP's European Symposium, (2016, 5), アテネ
8. 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

H. 知的財産権の出願・登録状況

・ 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

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）
総合分担研究報告書（平成 27 年度のみ）

広域食中毒事例調査における保健所間の連携に関する研究

研究分担者　山口　亮　北海道釧路保健所（現札幌市豊平区保健福祉部）

研究要旨

全国で 1 年間に発生する食中毒事例は約 1000 件で、その約 80%は一つの自治体での患者発生である。2–3 自治体にわたって患者発生があった食中毒事例の保健所間の連携について検討することとした。資料は平成 23–25 年の全国食中毒事件録及びニフティ新聞横断検索の資料を用いた。死者が最も多く報告された事例は平成 24 年に札幌市で発生した白菜きりづけを原因とする腸管出血性大腸菌による食中毒であった。平成 24 年 8 月 7 日に医療機関から市内の高齢者施設入所者 7 名が下痢、発熱、血便等で医療機関受診の連絡が札幌市保健所に報告された。その後も、患者が報告され、同一調理受託業者が受託している施設からも有症者が発生し、行政が対応を行った。行政の公表等の対応について迅速性などについて報道から問題点を指摘されたが、早く公表できなかったのか検証が必要で、その指摘が報道の重要な役目であると考えられた。合同会議への出席は関係団体との情報共有や情報交換の面で重要であることから合同会議の出席は必要であると考えられた。今後も規模の大きい食中毒事例発生が発生することを想定し、広域連携や感染拡大防止策を進めるための会議を目指すことが重要である（本分担班の活動は平成 27 年度のみであったことから当該年度の活動のみを示す）。

A. 研究目的

全国で 1 年間に発生する食中毒事例は約 1000 件（平成 23 年 1062 件、平成 24 年 1100 件、平成 25 年 931 件）であり、その約 80%は一つの自治体内での患者発生である（図 1）。ここでは、2 自治体、3 自治体以上にわたって患者発生があった事例を広域食中毒事例とし、保健所間における連携について報道資料の内容から検討してみたい。

B. 研究方法

資料は平成 23 年、24 年、25 年の全国食中毒事件録（厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）及びニフティ新聞雑誌横断検索における報道資料を用いた。

＜新聞報道の検索方法＞

報道が札幌市と北海道の対応についての問題点をいくつか指摘している。以下、ニフティ新聞雑誌横断検索により得られた情報から、報道の流れを記載した。

C. 研究結果

C–1. 保健所の設置状況

全国の設置主体別保健所の推移を図1に示す。平成 27 年度の全国の保健所数は 486 であり、都道府県型の保健所の減少に伴い、全国的には漸減している。

C–2. 食中毒事例

＜死者のでた食中毒事件＞

全国食中毒事件録によれば、平成 23 年から平成 25 年の3ヶ年において死者のでた食中毒事例は 11 件であった。患者数の最も多かった事例は平成23年 5 月山形県で発生した団子、柏餅を原因食品とする腸管出血性大腸菌によるものであり、死者数の最も多かった事例は平成 24 年 8 月札幌市で発生した白菜のきりづけを原因食品とする腸管出血性大腸菌による食中毒であった。

死者の最も多かった札幌市で発生した事例は、患者発生が札幌市内のみならず、北海道、そして道外へも広がりをみせた。

＜事例の概要＞

平成 24 年 8 月 7 日に、医療機関から札幌市内の高齢者施設入所者7名が下痢・発熱・血便等の症状を呈し受診しているという連絡が札幌市保健所にあった。また、8 月 8 日に別の高齢者施設から入所者 4 名が下痢をしており、調理受託業者が受託している他の施設でも同様の症状を呈している入所者がいるという情報提供があった。この調理受託業者への調査から、同社は前述の2つの高齢者施設の他にも札幌市内の4つの施設にも同一メニューを提供しており、そのうちの3つの施設でも同様の有症者がいることがわかった。さらに、この受託業者が受託している札幌市外の5つの施設でも有症者がいることが判明した。

こうした情報を受け、札幌市と北海道は連携して、それぞれの施設へ疫学調査、検便、食材の調査を実施し、10 の高齢者施設のうち9施設の共通食として提供されていた札幌市内の漬物製造業者が製造した「白菜きりづけ」を原因食品とする食中毒と断定し、8 月 14 日に同社を営業禁止処分とした。

調査を続けるうちに、この原因食品（白菜きりづけ）は高齢者施設以外に、札幌市内のホテルや北海道内のスーパーや小売店にも流通していることが判明した。

最終的には11の高齢者施設と12のそれ以外の施設による患者 169 名（死者 8 名）という大きな被害の食中毒事例となった。

＜北海道内の保健所について＞

北海道内には道立の保健所が 26 ケ所あり、また、政令指定都市の札幌市保健所、保健所設置市の旭川市、函館市、小樽市に保健所があるので、計 30 ケ所の保健所がある。北海道内の第二次医療圏（保健所はこの二次医療圏を参酌して配置されている）は 21 なので、地域によっては二次医療圏に複数の保健所があることになる。他都府県では第三次医療圏は都府県の区域と一致しているが唯一北海道だけは第三次医療圏が6となっている。面積的には 83000 平方キロメートルで、日本全体の約 22%と東北六県と新潟県の面積を合わせたものにほぼ等しいが、人口は約 540 万人と全国の約5%程度となっている。また、北海道の人口の約 30%の 190 万人が札幌市に集中している。

C–3. 報道内容

【8 月 12 日の報道】

北海道と札幌市保健所が 2012 年 8 月 11 日に札幌市と石狩管内と胆振管内の介護保険施設等の 10 ケ所の高齢者施設の入居者で94名が下痢や血便等の症状を訴え、札幌市内の100歳代の女性が8月11日にO157の感染で死亡したことが報道された。北海道内での O157 による死者は1年ぶりであったため、大きく報道されており、この時点では、ある業者が納めた「食材」が O157 の感染源となった可能性があるので原因を調査中であるという冷静な内容であった。

【8 月 13 日の報道】

続報として、十数人の有症者からO157が検出され、新たな有症状者の調査をしているが増えておらず、食材の検査がすすんでいるという内容であった。

【8 月 14 日の報道】

札幌市保健所が 13 日に新たに 80 歳代の女性1名が死亡したことを発表し、有症者数が前回の公表から 6 名増えて 100 名になったことや、有症者がいる 10 施設（札幌市内5施設、それ以外5施設）は同じ業者からの「食材」の納入をうけていること、そして食中毒と感染症の両面で原因の特定を急いでいるという

内容だった。
さらに、札幌市保健所の別の発表として、市内の4歳女児が8月11日にO157で死亡し、原因や感染経路を調べているという報道があった。

【8月15日の報道】

札幌市保健所が14日に本件は札幌市内の食品会社が製造した漬物（浅漬け）による集団食中毒と公表し、4歳女児の死亡が今回の食中毒に関連があるか調査をしているという内容であった。
また、札幌市保健所は14日の午後8時半すぎに、当該漬物は38ケ所のホテルやスーパーなどにも出回っている可能性があることを発表した。

こうした漬物が広く流通して売られていたことに対して市民が不安になっているという指摘の他に、札幌市保健所が感染源を浅漬けの可能性があることを認識していたのが8月9日であったことを報道は指摘している。原因食品が浅漬けである可能性の認識が8月9日だったのに公表が8月14日の夜になった理由として、札幌市は「遺伝子の型の確認等で時間がかかった。疑いの段階では発表できなかったと釈明した」という報道になったが、流通先について札幌市は14日の午後8時過ぎに公表し、北海道は翌日の公表となった。この点について、報道は、その理由をそれぞれに取材した上で札幌市と北海道の連携の不備という指摘となっている。

【8月16日の報道】

社説にて、漬物メーカーへの責任と札幌市の対応への批判（原因食品が浅漬けであることを、被害拡大を防ぐ意味で疑い段階であっても公表すべきではなかったか検討が必要）、国への漬物製造に関する規制や指導のあり方についての提言があった。

【8月17日の報道】

衛生管理が業者まかせになっている実態についての記事が掲載された。これは国が「大量調理施設衛生管理マニュアル」を示し、都道府県はこれを食品加工業者に示して衛生管理指導しているが、このマニュアルを守らなかった場合でも罰則規定がなく、行政チェックも不十分であるという指摘である。

【8月18日の報道】

札幌市保健所が食品会社の作業工程を再現試験する計画があることの報道と、北海道が札幌市以外の約590の漬物製造業者に立入検査をすることになったとの報道があった。また、札幌市も同様に札幌市内の約40の漬物を製造する施設に立入検査を予定している旨の報道があった。これについては、特段に連携についての記載はない。

札幌市以外の70歳代の女性から検出されたO157の遺伝子型が、それまでの型と一致したことや、有症者数が数名増加していることも報道されている。

【8月22日の報道】

札幌市内のホテルで提供された当該食品製造業者の浅漬けを食した宿泊者からも感染者が出たことの報道があり、死者が7人になっている点についても報道がなされている。

北海道知事が8月21日の記者会見で、浅漬けの出荷先の公表が札幌市の発表よりも北海道が1日遅れた点について「二重行政の弊害がここに出たのかな」とし、「頻繁に担当部局同士でのやりとりはあったものの、タイミングが合わなかった」、「われわれとしても反省しなければならない」と語ったことや、北海道食中毒対策本部が設置されなかった理由（比較的早期に原因食品と製造業者の特定がなされ当該食品がすでに流通していないこと）に関しての報道があった。また、北海道として「漬け物の衛生規範」の見直しについて国へ要請することや、全国漬物協同組合連合会が浅漬けの製造工程に関する衛生管理マニュアルを見直す方針を固めたことが報道されている。

【8月23日の報道】

8月22日に北海道の主催で開催された連絡会議についての報道があった。農業や漬物製造、流通、消費の関係者・団体が参加し、風評被害対策等を話し合った会議であったが、漬物製造業者に対する立ち入り検査等で多忙であるとして、札幌市保健所が参加していないという内容の報道があった。この点に

ついては、なお連携不十分という批判になっている。また、調査により新たな流通先があったことが判明したという報道になっている。

【8 月 24 日の報道】

社説で、流通先の発表を札幌市が 8 月 14 日夜に行い、北海道が 8 月 15 日の午前に行ったことに対し、行政側の都合により消費者を置き去りにしかねないという批判になっている。また、8 月 22 日の連携会議に札幌市が欠席したことと、知事の「二重行政の弊害が出たかもしれない」という発言についても指摘を行っている。

【8 月 28 日の報道】

8 月 27 日に北海道と札幌市が行った合同会議についての報道がなされた。漬物製造業者の工程にミスがあったと考えることを共通認識としたことや、広域で食中毒が発生した際には速やかに合同会議を開くことを確認したとされているが、今後どこまで連携を強化出来るのか不透明であるという指摘もされている。また、北海道外でも数十人の規模で有症状者がいることが報道されている。

【8 月 30 日の報道】

厚生労働省が都道府県に漬物製造業などへ立ち入り調査の実施を求める通知が出したことが報道された。また、札幌市長が 8 月 29 日の定例記者会見で、一連の対応について「合同会議が遅くなったことは否めない。総力をあげて原因・販売先の特定に努力していた経過の話だとご理解いただきたい」、「連携に不十分な印象を与えたのは残念」としたものの、札幌市と北海道の連携については「お互いの領域で仕事をしている。(情報の精査には)時間がかかる、タイムラグの問題」と述べたとの報道がなされた。

C–4. 連携

＜札幌市と北海道の連携＞

札幌市と北海道はそれぞれの管轄を持って仕事をしてきているが、今回の事例で連携についての指摘を報道から受けたのは大きく以下の2つであった。

1) 流通先の公表が、札幌市が 8 月 14 日の夜であったのに対し、北海道は 8 月 15 日の午前であったこと
2) 8 月 22 日に北海道が主催して開催された合同会議に札幌市が欠席したこと。

D. 考察

D-1. 報道内容の考察

調査結果の公表が遅いという指摘があった。調査の段階で食中毒の原因である食品がいくつか疑われることは希なことではなく、その段階での公表は通常は行われない。ただし、重大な健康被害や大きな不安が住民に発生する場合等は、当然のこととして、原因が特定される前の段階で疑わしいものを公表することもありえると考える。

本事例は、8 月 14 日の時点で二人の高齢者が死亡しており、4 歳児の死亡も関連を調べている状況であることからしても重大な健康危機であるが、最初の死亡事例（100 歳代の女性）が 8 月 11 日であったことや、通常の食中毒調査の手順における日程を考慮すれば、8 月 14 日に原因食品を特定し、流通先までを公表している対応が、著しく遅れている対応とは思えない。

しかし、3 人が関連した死亡事例を含む集団食中毒事例であるという重大な危機に対してならば、札幌市保健所や北海道は、なるべく早期に対応し、危機の広がりを抑えるべきであるという感情は理解できる。報道では、行政機関は「公表に及び腰」、「漬物が原因という可能性を認識しながら公表が遅れた」という指摘もあったが、浅漬けが原因食品である可能性があるだけでそれを公表すべきであったという指摘は、結果論的にはそうであろうが、実務上、大変難しいと考える。

疫学調査と菌検査の上、検討を加え、公表をするという手順があるとすれば、本事例での公表に著しい遅れがあるとは思えないが、本事例では死者が発生していることもあり、より早く公表でき

なかったかという検証は必要であろう。

8月17日の衛生管理が業者まかせになっているのではないかという指摘に関しては、昨今、どの自治体も職員数に限りがあり、その中で様々施設に立ち入り検査をしている関係上、すべての施設を1年間で回り切るのが難しい場合が生ずる。食品衛生という、何も起こらないことが成果となるような分野への行政コストをどこまで負担できるのか（成果が見えにくい分野の人員や予算は削減されやすいのは自明なので）により、行政チェックの体制も変化があろう。そうした中では、国がマニュアルを作り地方自治体がそれに則り食品を取り扱う業者の指導をするのは、業者の自主性による部分が生ずるものの、ひとつの有力な手法であると思われる。

D-2. 連携

1) 流通先の公表が札幌市と北海道でズレた点について

この時点で2名の方が死亡しているという事案なので、一刻も早く流通先を公表したいと考えたとされる札幌市と、情報がその時点で不十分であったため公表を見送った北海道の対応がバラバラであったという点については、批判は免れないと考える。

一般的な話であるが、札幌市内の一定数の比較的大きな規模の施設を調査する札幌市が調査に要する時間と、広大な面積に散在する施設の調査を道内の保健所で行い、それを集計して精査する北海道が調査に要する時間がある場合、その両者の時間が大きく異なってしまうことは現実に起こりうる。本事例において、両者の公表が数時間（8月14日夜と8月15日午前）しか違わなかったことは、ある意味、札幌市と北海道がともに必死で調査を行った結果と見ることはできないだろうか。

札幌市が公表した時間帯で北海道が公表したとすれば集計中の不完全な情報での公表となりうるし、また逆に北海道が公表した時間で札幌市も同時に公表したとすれば、一刻も早く流通先を知らせたいという札幌市の思いがくじかれることになる。

そうしたジレンマの中、それぞれが最善の策を探る中での対応であったと筆者には思えてならない。

危機管理においては「巧遅より拙速」という原則があることは佐々淳行氏らが講演でよくお話されている言葉であるが、拙速な発表による予期せぬ影響や行政に対する信頼感の喪失等も当然考慮せねばならず、拙速さにも程度を考えねばならない。

本事例の公表については、単に批判するだけでなくこうした見方もできうるのではないかと思う。ただし、どのような場合であっても、死者もでている今回のような事例では原因究明と感染拡大防止の観点からも、少しでも早く公表ができなかったのかの検証が必要であり、それを指摘するのは報道の重要な役目であると思う。

2) 8月22日の北海道が主催した合同会議を札幌市が欠席したことについて

この合同会議は北海道が主催し、道内の食品メーカーや流通業者、農業団体等約40名が参加し、今後の対応等を話し合ったとされる。当時、札幌市保健所は原因究明や感染拡大防止のための対策に没頭していたと思われる時期でもあり、他で行われる会議に責任のある立場のものが出席できる状況ではなかったのであろう。ただ、こうした合同会議では、現在実施している調査に有用な情報や、関係団体の思いを知るよき機会であったはずである。そうした観点からも、情報収集という意味でも、札幌市保健所は合同会議に参加しておくべきであったと考える。

IT を活用したテレビ会議やセキュリティを担保した上でのネットの活用によってこうした会議の参加者の一部は遠隔地から参加できるよう、普段から準備をしておくことも、ひとつの連携のあり方であると思われる。

D-3. 制限

本事例の検討には報道資料を用いた。そのため、連携についての考察は報道内容から得られた情報を基にしており、実態と異なっている可能性がある。また、報道された内容が、その後変更されたり、報道前に修正されていて、連携に関する検討内容が不十分であることがある。

E. 結論

本事例の概要等を読むと、疫学調査、検査、再現試験等、事例調査のステップを踏んで迅速に行われていることが読み取れる。しかし、上記の２点については報道から厳しい指摘を受け、それが行政不信等につながる恐れもある。本事例の後、札幌市は北海道と共同で「合同対策会議」を常設し、独自の保健所を持つ旭川、函館、小樽市にも参加を求めてゆく方針を明らかにした。この会議は、将来的に北海道内での大規模食中毒等の食の安全に関わる問題が発生することを想定し、広域連携で感染拡大防止や再発防止策を進めるための会議を目指すとされる。

（謝辞）北海道留萌保健所大原宰所長と群馬県安中保健所武智浩之所長には急なお願いの上で本稿の作成にご協力をいただいた。心より感謝申し上げます。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表１．関係した自治体数別の全国での食中毒発生の割合（%）（全国食中毒事件録より）

	１自治体	２自治体	３自治体以上
平成 23 年	79.4	11.6	10.7
平成 24 年	79.1	10.2	9.0
平成 25 年	78.5	10.3	11.2

＊食中毒患者の広がりを、発生地域の範囲（保健所管轄区域及び自治体（都道府県、保健所設置市及び特別区））別で検討した

図1. 設置主体別保健所数の推移（全国保健所長会 Hp から引用）

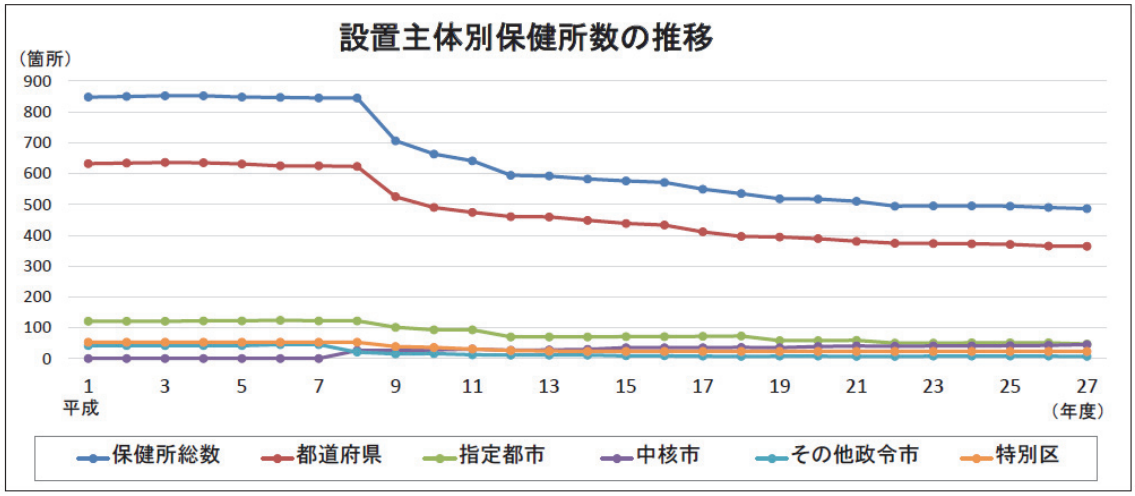


図2. 死者のでた食中毒事件（平成 23 年～25 年）

	都道府県	原因食品	病因	施設	患者数	死者数	喫食者数
平成23年1月	沖縄	昆布の煮物	サルモネラ属菌	家庭	11	1	11
平成23年1月	愛知	フグ	自然毒	飲食店	3	1	4
平成23年4月	富山	ユッケ	腸管出血性大腸菌	飲食店	181	5	不明
平成23年5月	山形	団子、柏餅	腸管出血性大腸菌	製造所	287	1	491
平成23年8月	千葉	サンドウィッチ他	腸管出血性大腸菌	給食	14	1	63
平成23年8月	宮崎	生卵、オクラ納豆	サルモネラ属菌	家庭	3	1	4
平成23年11月	沖縄	不明	サルモネラ属菌	家庭	3	1	3
平成24年3月	長崎	アブダイ（推定）	自然毒	家庭	3	1	6
平成24年4月	函館市	トリカブトおひたし	自然毒	家庭	3	2	3
平成24年8月	札幌市	白菜きりづけ	腸管出血性大腸菌	製造所	169	8	不明
平成25年10月	熊本	キノコ調理品	自然毒	家庭	1	1	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）
総合分担研究報告書（平成28年度のみ）

アニサキス食中毒の原因物質の同定

研究分担者　杉山　広　　国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者　森嶋康之　　国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者　常盤俊大　　日本獣医生命科学大学獣医寄生虫学研究室

研究要旨：海産魚介類を感染源とするアニサキス食中毒は、我が国固有の食習慣と関連した重要な食品媒介寄生虫症である。しかし感染源の中でも、流通品中のアニサキス幼虫の汚染実態に関しては、不明な点も多く、そこで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。その結果、シメサバ製品は90検体中の41検体（46%）にアニサキス幼虫を認めた。しかし虫体はいずれも死滅しており、感染の危険はないと判断された。一方で、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、検査した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。このうちの 3 隻は生存しており、運動性も維持されていた。これらの虫体は形態から、アニサキス Type I の幼虫と判定され、更に遺伝子検査から、人体寄生の主要病原種である *A. simplex* sensu stricto と分子同定された。魚介類の加工・調理の現場では、アニサキス虫体の検出と除去が試みられていた。魚の冷凍や養殖魚の利用などはアニサキスの感染防御に極めて有効な方法ではあるが、これらの方法を全面的に適用することは、実際には困難な状況にある。従って、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。これを支援する行政による対応・啓発も継続が必要である。

A. 研究目的

食品媒介の寄生虫症、特に多細胞の寄生虫である蠕虫（ぜんちゅう）の感染症は、従来は食中毒として認識されていなかったが、最近では特にアニサキス症が食中毒として認知され、多くの症例が届出されるようになった。その結果、2015年のアニサキス食中毒の届出数は126件に達した。この値はノロウイルスおよびカンピロバクターに次いで、全食中毒の事件数で第3位となった。実際のアニサキス感染者数は更に多く、民間のレセプトデータを用いた我々の解析では、我が国で毎年約7,000人が感染していると推計される。海産魚介類を刺身・寿司で生食する食習慣の日本では、最も重要な食中毒の一つと言える。

アニサキスが食中毒の病因物質の種別として表示され、注目されるようになったのは、2012年12月の食品衛生法施行規則の一部改訂が契機とされる。その結果として，アニサキス食中毒の具体的な事件数・患者数が食中毒統計に明示されるようになり、各食中毒事例の原因食品（魚種）についても、外部から閲覧できるようになった。例えば2015年で見てみると、アニサキス食中毒は89例で、その4割の35例がサバを原因としたことが分かる。しかもサバは刺身としてだけではなく、むしろシメサバやその寿司が原因食品として喫食され、食中毒が発生したとの事例が目立つ。そこで本研究では、従来余り検査がなされてこなかったシメサバ製品や回転寿司におけるシメサ

バ寿司のアニサキスの寄生状況を調べた．併せて，サバに比べて食中毒の原因となる事例が少ないことから、アニサキスの検出報告が余り多くないマアジについて、部位別（筋肉・内臓）の寄生状況を調べた。さらに、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。なお本報告書では、マサバ、ゴマサバおよび大西洋サバの総称として「サバ」を用いた。

B. 研究方法

1. シメサバ製品におけるアニサキス寄生状況の調査

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．これらはいずれも我が国での流通量が多い食品であり、スーパーマーケットで 2016 年 4 月から 7 月に購入して、検査に供した。シメサバはまず視認によりアニサキスを探し、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。このアニサキス I 型幼虫は、個体別に QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)により DNA を抽出した後，リボソーム DNA の ITS 領域(ITS1 から 5.8 S リボソーム DNA を経て ITS2 に至る領域）を標的とした PCR 増幅を行い，増幅産物を用いた制限酵素による切断パターンの解析（PCR-RFLP）と，さらに一部についてはシーケンシングを行なうことで種の決定を試みた．

2. 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

2016 年 4～12 月に都内の回転寿司店 3 箇所で購入したシメサバ寿司 72 検体を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。検査の方法および検出虫体の種同定に関しては、シメサバ由来の虫体と同様の方法を適用した。

3. マアジにおけるアニサキスの寄生状況の調査

日本海・東シナ海で漁獲され長崎港に陸揚げされたマアジを 2016 年 1～12 月に東京の鮮魚店で各月 10 尾ずつ購入し，検査の対象とした．魚は先ず体腔を切開し，体腔と内臓の表面に寄生する虫体を目視下に検出した．次に内臓を取り出して適切な大きさに細切し，また筋肉も適切な大きさに細切し，これらを 2 枚のガラス板で圧平，実体顕微鏡下に虫体を探した．検出された虫体の種同定に関しては、シメサバ由来の虫体と同様の方法で調べた。

4. 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

鮮魚や加工品を取り扱う現場（サバ加工品製造者や鮮魚販売者）において、アニサキス幼虫をどのように検出・摘出し、アニサキスの感染リスクを軽減しているのか、その状況を行政機関（衛生研究所・保健所）の担当者に尋ね、さらにウェブサイトからも情報の検索・収集を行った。

C. 研究結果

1. シメサバ製品におけるアニサキスの寄生状況

シメサバ加工品 90 検体を検査したところ、41 検体（46%）から合計 98 隻のアニサキス幼虫が検出された（図 1)。1 検体からの検出虫体数が最も多かったのは日本産で、最大 11 隻が検出された。アニサキス幼虫の検出状況を国別に調べると、陽性率と検出数は日本産が共に最も高く、次いでノルウェー産で、アイルランド産は最も低かった。なお検出虫体は運動性が全くないために総て死滅していると考えられた。また種同定

できたものは総て *Anisakis simplex* sensu stricto であった。

2. 回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキスの寄生状況

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と加工品のシメサバを用いて寿司を製造する店舗とで、大きく異なった。まず自家製のシメサバを使用する店舗では、購入して検査した 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。1 検体あたりの寄生数は 1〜3 隻（平均 2 隻）で、このうちの 3 隻は生存しており、運動性があった。検出虫体を詳しく調べると、特に生存幼虫 3 隻は、いずれも形態から Type I と同定され、さらに *A. simplex* sensu stricto と分子同定された。

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、32 検体を購入して検査したが、いずれもアニサキス陰性であった。

3. マアジにおけるアニサキスの寄生状況

サバに比べて食中毒の原因となる事例が少ないことから、アニサキスの検出報告が余り多くないマアジについても、2016 年 1〜12 月に長崎で水揚げされ都内で流通した 120 尾を対象に、部位別（筋肉・内臓）の寄生状況を調べた。その結果、陽性個体は 65 尾（54.2%）と予想外に多く、しかも陽性魚 1 尾あたりの寄生数も平均 7.0 隻（1〜94 隻）であった。幼虫はほとんどが内臓に寄生していたが、1 尾の筋肉から幼虫が 1 隻検出された。検出虫体の形態分類は総て Type I であり、PCR-RFLP では総て *A. pegreffii* と同定された（筋肉寄生の 1 隻も *A. pegreffii*）。

4. アニサキス感染リスクに対するサバ加工品製造者および鮮魚販売者の対応

我が国において寿司・刺身として喫食される魚介類は、加工品も含めて、アニサキスの幼虫が可食部の筋肉に寄生していた。しかも既に示したように、シメサバ寿司から検出された虫体は運動性を保ち、ヒトへの感染能力を十分に持つことが疑われた。このような状況から、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て、アニサキス幼虫の除去が試みられていると聞いたので、その情報の収集を試みた。

まずアニサキス幼虫を検出するためには、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, 株式会社イシダ）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。また内臓に接する部分の筋肉（ハラミ）をアニサキスの好寄生部位としてとらえ、切り取って捨ててしまうことも行われていた。さらに切断等により受傷したアニサキス幼虫は、胃粘膜への侵入性が低下することから、特にサバの刺身・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

1. シメサバ製品におけるアニサキスの寄

生状況

今回、シメサバ製品から検出されたアニサキス虫体は、総て運動性を失い、死滅していた。検査の対象としたシメサバ製品が、いずれも加工場で製造されていたことが原因と想像された。既に明らかにされているが、アニサキス幼虫はシメサバの製造に使用される事が多い15%食塩水中に浸漬すると、18時間後には死滅すると言う(鈴木ら、2011)。従って加工場ではなく、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と考えている。

2. 回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキスの寄生状況

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と加工品のシメサバを用いた寿司を販売する店舗とで、大きく異なった。加工品のシメサバを用いた寿司は、32検体の総てがアニサキス陰性であった。一方、自家製のシメサバを使用する販売店では、40検体の内の7検体(18%)がアニサキス陽性で、1検体あたり平均2隻(合計14隻）のアニサキス幼虫が検出された。しかも、このうちの3隻は運動性があり、ヒトへの感染性が疑われた。これら3隻は *A. simplex* sensu stricto と分子同定され、人体感染の主要病原種であった。従って、自家製のシメサバを使用して寿司を製造・販売する店舗では、特にアニサキス食中毒の発生に留意する必要がある。

一方で加工品のシメサバを用いた店舗では、32検体のすべてがアニサキス陰性であったので、アニサキス食中毒に関しては、ある程度の安全性が担保できるのではないかと考えられた。

3. マアジにおけるアニサキスの寄生状況

サバサバに比べて食中毒の原因となる事例が少ないことから、アニサキスの検出報告が余り多くないマアジについても、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。その結果、寄生率は54.2%と予想外に高く、しかも1尾からではあるが、筋肉から幼虫が検出された(1隻)。アニサキス食中毒の原因として、アマジにも今後注意を払う必要がある。なおアニサキス陽性の個体は冬季(1-3月)および夏季（7-9月）に多く、この傾向が持つ意味を明らかにするには、継続的な調査が必要である。

4. アニサキス感染リスクに対するサバの加工品製造者および鮮魚販売者の対応

アニサキスによる感染の予防に関しては、魚介類の冷凍が有効で、-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。このような冷凍処理を施した後であれば，魚を非加熱で摂食しても，アニサキスに感染しない。実際にオランダでは,「酢漬けで生食するニシンを調理前に－20 ℃以下で24時間以上冷凍する」と1968年に法律で義務付け，アニサキス症の患者を激減させることに成功している。この様な実績を背景に、諸外国や国際機関の中には，魚の冷凍を食品衛生関連の法令やガイドラインなどで定めている場合がある。一方我が国でも，魚体が傷まぬ漁法でサバを捕獲し，一旦冷凍した後に解凍し、刺身用で提供し始めた地域がある。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.

また魚食性のサバは食物連鎖の上位に位置し，アニサキスの幼虫が寄生した小魚を多量に摂食する．このため，サバの体内にはアニサキスの幼虫が蓄積し，その結果としてサバがヒトへの重要な感染源となってきた．このような情報も背景として、人工飼料を用いてサバを稚魚から養殖する事業

が、西日本を中心に、一部の地域で始まっている。刺身や寿司を喫食するなら、ペレットで養殖されたサバを選択すべきとのアイデアも、アニサキス感染の予防に有効な手段となるかも知れない。

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る。例えば首都圏・百貨店内の大型鮮魚店では、鮮魚売り場の店頭に、「アニサキス症にならないための安全な食べ方：十分な加熱と－20℃で48時間以上の冷凍」、あるいは「鮮魚介類をご家庭で調理する際の注意：加熱・冷凍でアニサキス症を防ぐ」等の掲示を見かける。鮮魚や加工品を販売する業者から消費者に対して、アニサキスの感染リスクの低減に関する情報として、具体的な予防法を提供・啓発することは重要である。食品販売の現場で、この様な活動が継続される様に、行政としては積極的に支援する必要がある。

地方自治体の担当者によると、自治体の食品衛生監視指導計画は、国が発出する食中毒予防対策（夏季と年末）の一斉取締り実施要領が、骨子になると言う。アニサキス食中毒の事件数は2013年以降、ノロウイルスあるいはカンピロバクターによる食中毒に次いで，常に第3位の位置を占めていることもあり、国による一斉取り締まり要領でも、「魚介類の寄生虫による食中毒について」が取り上げられてきた。このような対応が、地方自治体にも良い影響を及ぼし、アニサキス対策が忘れずに取り上げられている。アニサキスは我が国固有の食習慣と強く関連する健康被害(食中毒)である事から、国から地方自治体への発信を、意識的に継続する事は有意義である。

アニサキスに関しては、同じく食品媒介の寄生虫であるナナホシクドアやファイアー住肉胞子虫とは異なり、食品の検査における公定法の定めがない．消費者は寄生虫感染の恐れがない食品を求めており，これを満たすために必要なアニサキスの検査法，特に公定法の確立は，食の安全・安心を担保する上でも，重要な要件となる．現在研究班では、魚介類における異物の混入に関する調査も始まっているが、寄生虫の混入が予想外に多いとも聞く。このような専門家を包含して、アニサキスの検査法の検討（公定法の作成）に取り組む時期が来ているようにも思われた。

E. 結論

流通品中のアニサキスの汚染実態に関する調査の結果、シメサバ製品の内、特に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、一部は生存・運動していた。分子同定の結果、人体寄生の主要病原種である *A. simplex* sensu stricto であることが分かったので、人体感染の予防に向けた注意啓発が必要である。行政も販売店の指導などを通じ、この点の支援や啓発を継続する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

１．論文発表

1. 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.
2. 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
3. 杉山 広．過去に学ぶ食文化の誤認．食衛誌，57(3):J83-J85，2016
4. 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
5．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

２．学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許および実用新案登録共になし

図１　シメサバ製品におけるアニサキスの寄生状況

原料原産国	検体数	陰性数(%)	検出数平均(範囲)	アニサキスの種類
日本	75	36 (48%)	2.3 (1-11)	*A. simplex* s.s.
ノルウェー	9	4 (44%)	1.5 (1-2)	*A. simplex* s.s.
アイルランド	6	1 (16%)	1.0 (1)	*A. simplex* s.s.
合計	90	41 (46%)	2.2 (1-11)	*A. simplex* s.s.

図２　回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキスの寄生状況

店	使用品	検査数	陽性数(%)	検出数	平均(範囲)	生存虫体数	アニサキスの種類
A	自家製	40	7 (18%)	14	2 (1 - 3)	3	*A. simplex* s.s.
B	購入品	24	0	-	-		-
C	購入品	8	0	-	-		-
計		72	7 (18%)	14	2 (1 - 3)	3	*A. simplex* s.s.

図３　長崎産マアジにおけるアニサキスの寄生状況

月 [2016 年]	検査尾数	陽性尾数		検出中体数		アニサキスの種類
		内臓	筋肉	合計	範囲	
1-3	30	25 (83%)	0	166	1 - 50	*A. pegreffii*
4-6	30	9 (30%)	0	39	1 - 10	*A. pegreffii*
7-9	30	21 (70%)	1	242	1 - 94	*A. pegreffii*
10-12	30	10 (33%)	0	11	1 - 2	*A. pegreffii*
合計	120	65 (55%)		458(平均 7)	1 - 94	*A. pegreffii*

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書　籍　名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Baird FJ, Morishima Y, **Sugiyama H**	*Anisakis* allergy and the globalization of food.	Lopata AL	Food Allergy: Molecular and Clinical Practice	CRC Press	Boca Raton	2017	155-175

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
齊藤剛仁、大石和徳	海外由来の腸管感染症の実態と問題点	日本内科学会雑誌	105	2126-2132	2016
Saitoh T, Morita M, Shimada T, Izumiya H, Kanayama A, Oishi K, Ohnishi M, Sunagawa T	Increase in paratyphoid fever cases in Japanese travellers returning from Cambodia in 2013.	Epidemiology and Infecttion	144(3)	602-6	2016
齊藤剛仁	腸チフスの発生動向と小児−海外渡航歴のない患者の増加（2013 年）−	小児科	55	1037-1045	2014
窪村亜希子、小嶋由香、岡部信彦	川崎市における腸管病原性大腸菌及び腸管凝集性大腸菌の分離状況と細胞付着性試験等による病原性の検討	感染症学雑誌	89 号	37-45	2015
Akiko Kubomura, Takako Misaki, Sachiko Homma, Chiaki Matsuo, Nobuhiko Okabe	Phenotypic and molecular characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated in Kawasaki, Japan	Japanese Journal of Infectious Diseases	Accepted (13-Feb-2017)		
Kamata, Y., Saito, M., Irikura, M., Yahata, Y., Ohnishi, T., Bessho, T., Inui, T., Watanabe, M., Konishi, Y.	A Toxin Isolated from *Sarcocystis fayeri* in Raw Horsemeat May Be Responsible for Food Poisoning	J Food Protect	77(5)	814-819	2014

Ohnishi, T., Akuzawa, S., Frusawa, H., Yoshinari, T., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y.	Inactivation of *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder	Biocontrol Sci	19(3)	135-138	2014
Sugita-konishi, Y., Sato, H., Ohnishi, T.	Novel Foodborne Disease Associated with Consumption of Raw Fish, Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*)	Food safety	2(4)	141-150	2014
大西貴弘	新しい寄生虫食中毒とその制御にかかわる最新の話題	日本防菌防黴学会誌	42(11)	625-630	2014
Konishi, Y., Fukuda, Y., Mori, M., Mekata, M., Namba, T., Kuroda, M., Yamazaki, A., Ohnishi, T.	New Validated Rapid Screening Methods for Identifying *Kudoa septempunctata* in Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*)	JJID	68(2)	145-147	2015
Yahata,Y., Konishi, Y., Ohnishi,T., Toyokawa, T., Nakamura, N., Taniguchi, K., Okabe, N.	*Kudoa septempunctata* induced gastroenteritis in humans after flounder consumption in Japan: A case-control study	JJID	68(2)	119-123	2015
Ohnishi, T., Furusawa, H., Oyama, R., Koike, S., Yoshinari, T., Kamata, Y., Konishi, Y.	Molecular epidemiological analysis of *Kudoa septempunctata* by random amplified polymorphic DNA analysis	JJID	68(3)	235-238	2015
Takeuchi, F., Ogasawara, Y., Kato, K., Sekizuka, T., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., Kuroda, M.	Nucleotide sequence typing for *Kudoa septempunctata* (Myxozoa: Multivalvulida), a flounder parasite causing foodborne disease	PLOS ONE	10(7)	doi: 10.1371/journal.pone.0132030.	2015
Ohnishi, T., Fujiwara, M., Tomaru, A., Yoshinari, T. and Sugita-Konishi, Y.	Survivability of *Kudoa septempunctata* in human intestinal conditions.	Parasitol Res	115(6)	2519-2522	2016
Ohnishi, T., Fujiwara, M., Tomaru, A., Yoshinari, T. and Sugita-Konishi,	Cryopreservation of *Kudoa sep-tempunctata* sporoplasm using com-mercial freezing media.	Parasitol Res	116(1)	425-427	2016

Takeuchi, F., Ogasawara, Y., Kato, K., Sekizuka, T., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T. and Kuroda, M.	Genetic variants of *Kudoa sep-tempunctata* (Myxozoa: Multivalvu-lida), a flounder parasite causing foodborne disease.	J Fish Dis	39(6)	667-672	2016
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(2)	135-138	2016
大西貴弘，都丸亜希子，吉成知也，鎌田洋一，小西良子	生鮮魚介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	33(3)	150-154	2016
Baird FJ, Su X, Aibinu I, Nolan MJ, **Sugiyama H**, Otranto D, Lopata AL, Cantacessi C	The *Anisakis* transcriptome provides a resource for fundamental and applied studies on allergy-causing parasites.	PLoS NTD	10(7)	:e0004845,	2016
Nogami Y, Fujii-Nishimur Y, Banno K, Suzuki A, Susumu N, Hibi T, Murakami K, Yamada T, **Sugiyama H,** Morishima Y, Aoki D	*Anisakiasis* mimics cancer recurrence: two cases of extragastrointestinal anisakiasis suspected to be recurrence of gynecological cancer on PET-CT and molecular biological investigation.	MC Med Imaging	16	31-42	2016
Itoh N, Tsukahara M, Yamasaki H, Morishima Y, **Sugiyama H**, Kurai H	*Paragonimus westermani* infection mimicking recurrent lung cancer : A case report.	J Infect Chemother	22(12)	815-818	2016

Yamasaki H, Kumazawa H, Sekikawa Y, Oda R, Hongo I, Tsuchida T, Saito N, Morishima Y, **Sugiyama H**.	First confirmed human case of *Diphyllobothrium stemmacephalum* infection and molecular verification of the synonymy of *Diphyllobothrium yonagoense* with *D. stemmacephalum* (Cestoda: Diphyllobothriidea)	Parasitol Int	65(5)	412-421	2016
Fujita T, Waga E, Kitaoka K, Imagawa T, Komatsu Y, Takanashi K, Anbo F, Anbo T, Katuki S, Ichihara S, Fujimori S, Yamasaki H, Morishima Y, **Sugiyama H,** Katahira H.	Human infection by acanthocephalan parasites belonging to the genus *Corynosoma* found from small bowel endoscopy.	Parasitol Int	65(5)	491-493	2016
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	8 月号	24-27	2016
杉山 広	過去に学ぶ食文化の誤認	食衛誌	57(3)	J83-J85	2016
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
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(1)	9-14	2016
杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 御供田睦代, 森嶋康之, 山﨑浩	野生鳥獣肉（ジビエ）を介した肺吸虫症の感染リスク	Clin Parasitol	27(1)	40-42	2016