

平成30～令和元年度 食品健康影響評価技術研究 研究成果報告書（終了時）
（※研究全体の期間（初年度及び2年目以降）について記載する。）

研究課題名 (研究項目名)	国内で多発するカンピロバクター食中毒の定量的リスク分析に関する研究（課題番号：1806） （1 危害要因・ばく露実態の評価に必要な科学的知見の集積 食品媒介疾患の原因となる微生物等病原体に関する研究）
主任研究者	研究者名：朝倉 宏 所属機関：国立医薬品食品衛生研究所

I 研究期間及び研究目的等

1 研究期間

平成30年度～令和元年度（2年間）

2 研究目的

本研究は、2009年に食品安全委員会が行った食品健康影響評価「鶏肉中のカンピロバクター・ジェジュニ/コリ」で示された課題を踏まえた研究を行い、今後、定量的なリスク評価をするために必要な知見を得ることを目的としている。平成30年度から平成31年度にかけて、それぞれの項目について以下の目標を設定して検討を進めた。

（1）鶏の生産段階における動態解析

：実験感染動物を用いて、鶏の盲腸内での本菌の汚染濃度分布を経時的に定量的に求める。更に、生食用鶏肉の生産農場より出荷される鶏の盲腸内菌数についても定量的に求めるべく検討を進めた。

（2）食鳥処理及び流通段階における本菌の汚染動態に関する検討

：食鳥処理段階における汚染菌数の推移を把握するため、食鳥処理場に搬入された鶏盲腸便、脱羽・内臓摘出後、冷却後、製品の4工程を対象として、汚染菌数を求める。検体数としては、原則として各施設・工程別にn=5以上と設定した。なお、外剥ぎ処理を行っている食鳥処理場と一般的な中抜き処理を行っている処理施設との汚染濃度を比較するため、それぞれの処理を経た鶏肉の汚染濃度も定量的に求めることとした。

（3）食中毒事例における本菌の濃度分布の把握

：カンピロバクター食中毒は、潜伏期間が長く、食中毒調査時には菌が死滅している場合が多いため、平成30年度は、糞便検体の一部を対象として培養法による定量試験とリアルタイムPCR法による定量試験間で成績比較を行う。一定の関連性が得られた後に、リアルタイムPCR法を用いて、食中毒事例（各年度50事例・検体を目標とする）由来の糞便及び原因食品（疑いを含む）における菌数を求めることとした。平成31年度は引き続き、事例における患者検体中のカンピロバクター・ジェジュニ/コリ菌数を求める検討を進めることとした。なお、本検討にあたっては、10検体程度について上述のISO法（培養法）とリアルタイムPCR法（遺伝子検出法）を平行して実施し、両者の相関性についての評価を行った後に、リアルタイムPCR法による定量検出試験を実施することとした。

（4）食中毒被害実態及び食品寄与率の推定に関する検討

：下痢症患者からの臨床検査機関における便検査結果を集計し、カンピロバクター等の菌検出情報と各種疫学情報を基に、被害実態を推定することとした。また、必要に応じ、食品の病原体汚染実態及び喫食量等の文献情報の収集を行うべく検討を進めた。

（5）ギラン・バレー症候群（GBS）に関連性の高い菌株の特性解析

: GBS との関連性の高い血清型株を収集・整理し、ゲノム解析を実施する。各年度の目標菌株数は5株以上とした。

(6) 定量的分析法に関する検討

: 蛍光イムノクロマト法について、検出感度・精度を検証し、食鳥処理等への適用性を考察することとした。

3 研究体制 (※研究項目ごと個別課題ごとに研究担当者及び所属機関名を記入すること。)

研究項目名	個別課題名	研究担当者名 (所属機関名)
鶏の生産段階における動態解析	鶏の生育過程における動態解析	中山達哉 (国立医薬品食品衛生研究所)
食鳥処理及び流通段階における本菌の汚染動態に関する検討	生食用食鳥肉から流通に至る本菌汚染動態に関する検討	中馬猛久 (鹿児島大学)
	肉用鶏の生産から流通に至る本菌汚染動態に関する検討①	山崎伸二 (大阪府立大学)
	食鳥処理工程及び流通製品における本菌汚染動態に関する検討②	佐々木貴正 (国立医薬品食品衛生研究所)
	食鳥処理工程を通じた本菌汚染動態に関する定量的リスク分析	豊福 肇 (山口大学)
食中毒事例における本菌の濃度分布の把握	食中毒発症患者における菌数把握に関する検討	坂田淳子 (大阪健康安全基盤研究所)
		朝倉 宏 (国立医薬品食品衛生研究所)
食中毒被害実態及び食品寄与率の推定に関する検討	食中毒被害実態推定に関する検討	窪田邦宏 (国立医薬品食品衛生研究所)
	カンピロバクター食中毒の原因食品寄与率推定に関する検討	熊谷優子 (和洋女子大学)
ギラン・バレー症候群 (GBS) に関連性の高い菌株の特性解析 ギラン・バレー症候群 (GBS) に関連性の高い菌株の特性解析	ギラン・バレー症候群 (GBS) 関連菌株の収集	坂田淳子 (大阪健康安全基盤研究所)
	GBSと関連性の高い菌株の特性解析	朝倉 宏 (国立医薬品食品衛生研究所)

定量分析法に関する検討	定量分析法に関する検討	中山達哉（国立医薬品食品衛生研究所），坂田淳子（大阪健康安全基盤研究所），朝倉 宏（国立医薬品食品衛生研究所）
-------------	-------------	---

4 倫理面への配慮について

個別課題「食中毒事例における本菌の濃度分布の把握」の実施にあたっては、ヒト臨床検体に関わる疫学情報を取り扱うことを鑑み、予め大阪健康安全基盤研究所及び国立医薬品食品衛生研究所において研究倫理審査を受け、承認を得た上で実施した。また、動物実験については、国立医薬品食品衛生研究所・動物実験の適正な実施に関する規定に則り、審査を受け、承認を得た上で実施した。このほか、カンピロバクターの取り扱いに際しては各対応機関の定める病原体等安全管理規定に則り、対応を行った。

II 研究内容及び成果等

1 研究項目名：鶏の生産段階における動態解析

(1) 個別課題名：鶏の生育過程における動態解析（研究担当者名：中山達哉（所属機関名：国立医薬品食品衛生研究所）

【背景及び目的】

鶏盲腸内におけるカンピロバクターの定着動態については、ブロイラーの出荷時系列を基に、概ね生後 8-10 週間程度の動態解析は報告されている。一方、わが国では採卵鶏の産卵鶏や親鳥等、成鶏も約 1 割程度、食鳥肉として供給されているほか、地鶏等は JAS により 75 日齢以上の飼育が定められているため、上述の期間を超過した長期飼育は一定の割合で存在するといえる。しかしながら、こうした長期飼育を行った際の、鶏生体内におけるカンピロバクターの動態、とりわけ定量的動態についてはこれまで報告されていない。こうした背景を受け、本研究では長期飼育を通じた鶏生体内での当該菌の定量動態を把握することを目的として検討を行った。

【材料及び方法】

昨年度、レイヤーを原種とする LineM-系の SPF 鶏（2 週齢メス）を所属機関に導入し、1 個体あたり 2.0×10^7 CFU の *C. jejuni* 81-176 株を単回経口投与後、長期飼育を開始した。昨年度は感染 2 週間後、2 か月後、4 か月後の時点での経過を報告したが、本年度に入り、感染から 6 か月後、8 か月後、10 か月後の時点で、鶏（各群 5 羽）の盲腸内容を無菌的に採材し、ISO10272:2017-2 に準じた方法により本菌の定量検出試験を行った。また、各時系列群より、代表 3 検体を無作為に抽出し、DNA を抽出した後、16S rRNA 遺伝子をターゲットとした比較菌叢解析を行った。

また、東京農業大学農学部鳥居恭司教授ら、及び関東地方の採卵鶏農場の協力を得て、異なる日齢（21 日齢、300 日齢、400 日齢、600 日齢）の採卵鶏（ボリスブラウン）の盲腸内容を各群 10 検体採材し、約 3 時間の冷蔵輸送後、速やかにカンピロバクターの定量検出試験に供した。

【結果】

鶏盲腸内容における本菌陽性率は、感染 2 週間後及び 2 か月後の時点においては、それぞれ 80%(4/5)、100%(5/5) であったのに対し、感染 4 か月後には 40%(2/5)、6 か月後以降は全て 20%(1/5) となった。また、平均検出菌数は、感染 2 週間後には 1.2×10^7 CFU/g と顕著な上昇を示したが、2 か月後には 7.9×10^6 CFU/g と微減を呈し、感染 2 か月以降は、 $4.0 \times 10^3 \sim 1.5 \times 10^5$ CFU/g で推移した (図 1)。以上の結果より、鶏盲腸内における *C. jejuni* の定着性は感染 2 か月後以降減弱傾向を示すことが明らかとなった。加えて、各時系列群より、代表 3 検体より DNA を抽出し、16S rRNA をターゲットとした菌叢解析を行ったところ、感染 2 か月後以降では、*Clostridium* 属及び *Sporobacter* 属の占有率が増加した一方、*Lactobacillus* 属の占有率は減少を認めた (図 2A)。Family 階層での主成分分析を通じ、感染 16 週後以降の検体はそれ以前の検体とは異なるクラスターを形成する事象を確認した (図 2B)。

同一採卵鶏養鶏場において、異なる日齢の採卵鶏盲腸内容を採材し、各検体における本菌の検出状況を定量解析した結果、21 日齢の検体は何れも不検出であったのに対し、300 日齢、400 日齢の検体からは、検体 1g あたり概ね 10^5 オーダーのカンピロバクターが検出された (図 3)。しかしながら、600 日齢の検体では、10 検体中 4 検体が不検出となり、平均菌数は 1.5×10^3 CFU/g と相対的に低値を示した (図 3)。

【考察】

本個別課題の遂行を通じ、2 週齢で *C. jejuni* を実験的に経口感染させた後、継続飼育したレイヤー系の鶏は、感染後 16 週 (4 か月) 以降、盲腸内において当該菌数を顕著に減少させる事象を見出した。その要因としては、生体側では免疫機構や腸内細菌叢の変動、更にはこれらに付随する腸内環境変動 (例えば有機酸や脂肪酸組成) 等が想定されるほか、病原体側では当該菌の遺伝子発現変動などが想定されるが、より短期間で育成される肉用鶏に比べ、出荷時におけるカンピロバクター保菌数は相対的に低いものと推察された。

異なる日齢の採卵鶏を対象とした本菌の定量検出結果より、出荷時において採卵鶏はブロイラー鶏等に比べて相対的に低い菌数のカンピロバクターを保有している実態が把握された。今後は菌数動態を裏付ける要因探索、肉用鶏を対象とした実験感染を通じた定量動態等について検討を行うことで、飼育日齢に応じたカンピロバクターの動態をより正確に把握することが可能になり、生産段階での制御に資する新たな知見の創出へと波及することが期待される。なお、いわゆる採卵鶏由来のカンピロバクター菌株の遺伝特性に関連する近年の知見として、外膜蛋白構造遺伝子 *porA* の配列多型が、肉用鶏と採卵鶏由来株間で異なることが報告されている (Colles *et al.* 2019. *Sci. Rep.* 9: 6204.)。これらの知見の再現性が確認された場合には、食中毒の原因食品として、肉用鶏・採卵鶏の分類を可能とする手段となることも想定される。

本研究で得られた成果は、令和 2 年度中を目途に学術論文として取り纏め、投稿する予定である。

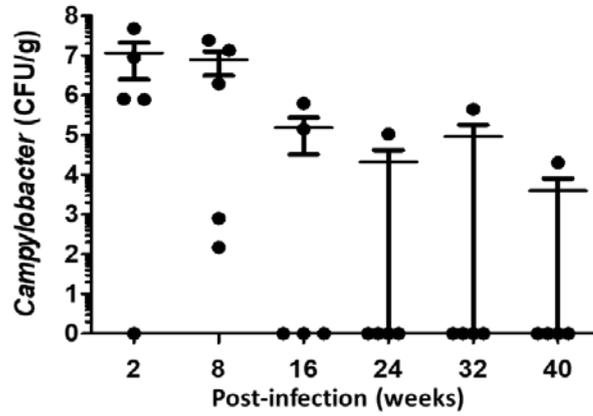
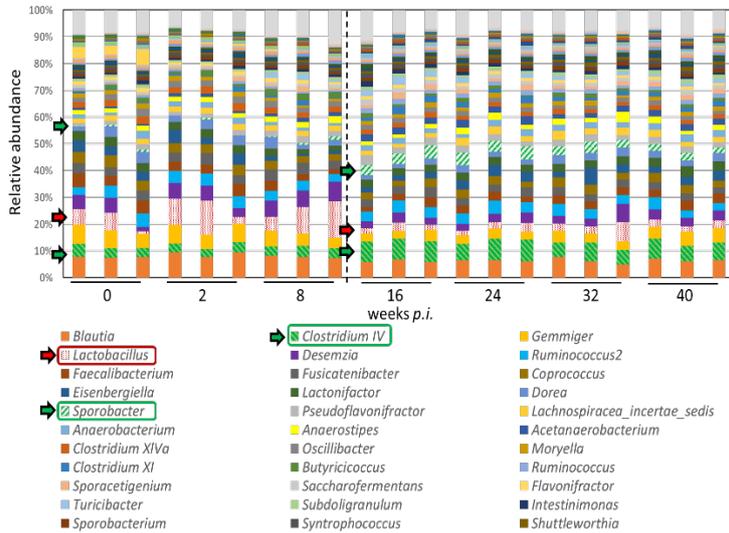


図 1. Line-M 系鶏盲腸内におけるカンピロバクター菌数の時系列動態解析.

A



B

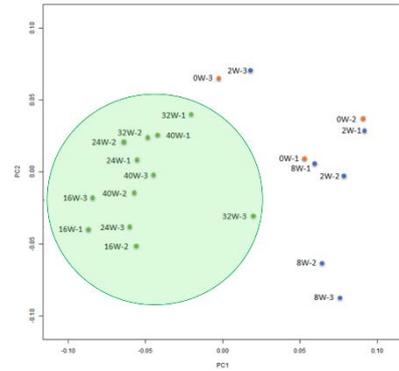


図 2. Line-M 系鶏盲腸内構成菌叢の時系列動態解析.

セクション A, B はそれぞれバーチャート (Genus 階層) 及び主成分分析図 (Family 階層) を示す。(A) 緑色矢印、赤色矢印で示した菌属は、それぞれ感染 16 週後以降に占有率の増加または減少を示した菌群を示す。(B) 感染後 16 週以降の検体については淡緑色ハイライトで括った。

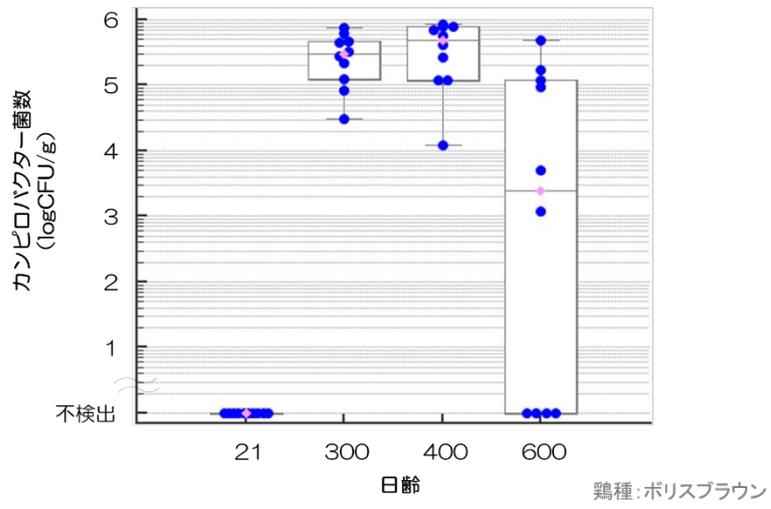


図 3. 異なる日齢の採卵鶏におけるカンピロバクターの定量的検出結果概要.

(2) 研究項目名：食鳥処理及び流通段階における本菌の汚染動態に関する検討

1) 個別課題名：生食用食鳥肉から流通に至る本菌汚染動態に関する検討

(研究担当者名：中馬猛久 (所属機関名：国立大学法人 鹿児島大学))

【背景及び目的】

鹿児島県をはじめとした南九州では、従来より成鶏を原料として、表面加熱工程を含む食鳥処理・食鳥肉加工を行い、「鳥刺し」の製造・流通が行われており、これらによるカンピロバクター食中毒の発生はほぼ見られていない状況にある。これに対し、当該地域を除く国内で現在多発しているカンピロバクター食中毒の主な原因食品と認知される「鳥刺し」は、加熱用として処理された肉用鶏肉（ブロイラー鶏肉や銘柄鶏肉）を調理段階で生食用に転用されたものであり、前者の「鳥刺し」とは、製造・加工工程を含めて大きく異なる食品といえる。

本研究では、外剥ぎ方式の生食用食鳥肉の製造加工を行う認定小規模食鳥処理場に搬入される鶏（成鶏）の盲腸便内の菌数並びに処理工程を通じたカンピロバクター汚染動態を定量的に求めることを目的とし、鹿児島県内の認定小規模食鳥処理場のうち生食用食鳥肉を製造加工する施設の協力を得て、採材時期を冬季と夏季に分けて解析を行った。

【材料及び方法】

あらかじめ、調査目的に合致する鶏個体の保菌状況を把握するため、個別にケージで飼育された採卵鶏の廃鶏よりクロアカスワブをプレストン培地で増菌後、バツラー寒天培地で菌を分離同定した。その後、カンピロバクター陽性鶏計 48 羽（冬季 24 羽、夏季 24 羽）を対象として、盲腸内容物中のカンピロバクター数を ISO 10272 法により求めた。食鳥肉処理工程では、脱羽後（A1～A12 の 12 羽由来食鳥と体）、冷却後（B1～B12 の 12 羽由来食鳥と体）、焼烙後（C1～C12 の 12 羽由来食鳥と体）から皮部分 25g を、最終製品（D1～D12 の 12 羽由来鳥刺し製品）については可食部 25g をそれぞれ採材し、プレストン培地でストマッキング処理後、最確数法（MPN 法）によりカンピロバクター菌数を推定した。なお、培地上に発育した集落については位相差顕微鏡下での形態観察及び PCR 法を用いて *Campylobacter jejuni* または *coli* であることを確認した。同試験の調査時期は 2018 年 11 月及び 2019 年 1 月の 2 回を冬季、2019 年 6 月及び 8 月の 2 回を夏季とした。

【結果】

予備調査として実施した定性試験を通じ、計 48 羽の鶏生体を選択した。ISO 10272-2:2017 法に従い、盲腸内容中の当該菌数を求めたところ、冬季の 24 羽中 5 羽、夏季の 24 羽中 2 羽は陰性を示し、これらの盲腸内容 1g あたりの菌数は 100CFU 未満と推定された。夏季の陽性鶏群からは $2.0 \log\text{CFU/g} \sim 7.71\log\text{CFU/g}$ のカンピロバクターが検出され、定量試験陽性検体中の平均値±標準偏差は、夏季が冬季よりも高く、 $(6.8 \pm 7.2)\log\text{CFU/g}$ と算定された。並行して実施した食鳥処理工程及び製品におけるカンピロバクター定量検出試験結果として、冬季では脱羽後で 6 検体中 5 検体が陽性、冷却後では 6 検体中 1 検体のみが陽性（推定菌数は 2.3 MPN/g）を示した。夏季の脱羽後、冷却後検体は全て陽性を示した。夏季の脱羽後検体における平均値±標準偏差は、 $(20.8 \pm 10.2)\text{MPN/g}$ 、チラー後

検体の平均値±標準偏差は(1.0±0.8)MPN/gであった。一方、焼烙後検体では1検体(C12由来)のみ0.36 MPN/gと極めて少菌数が検出されたものの、残り11検体は何れも陰性となった。最終製品は同様の試験法(MPN法)により全て陰性の結果を示した。

【考察】

本個別課題で対象とした成鶏・盲腸便中のカンピロバクター菌数は、冬季に比べ、夏季では相対的に高い傾向を認めた。一般的な鶏(肉用鶏)における当該菌保有率は、初夏から晩夏にかけて上昇傾向を示すとの報告もあることから、成鶏・肉用若鳥の別を問わず、鶏盲腸内におけるカンピロバクター菌数は季節に応じ変動しうることが想定された。

最終製品である「鳥刺し」から当該菌は検出されなかったが、焼烙後に僅かな数値ながら、カンピロバクター陽性を呈した検体も認められた。このことは、焼烙工程が本菌の汚染低減に有効である一方、不適切な焼烙処理を実施した場合にはカンピロバクターの生残リスクがあることを示していると考えられる。従って、今後、当該地域の認定小規模食鳥処理場で製造加工される、鳥刺しのリスク管理上の課題としては、焼烙を含めた衛生管理手法の適切性の評価の実施を行った上で、適切な衛生管理策を例示することが挙げられよう。また、鹿児島県では2018年に生食用食鳥肉として内臓肉は対象外と位置付ける改正を行っている。内臓肉については、ウシ・ブタ共に規格基準の設定或いは生食提供禁止措置が取られているが、鶏内臓肉については明確な措置がなされていない。その背景には、当該内臓肉における病原体汚染実態に関する知見に乏しいことも一因と想定される。従って、鶏内臓肉におけるカンピロバクター等の病原微生物の汚染実態を本個別課題で示した鶏肉及び同と体を対象に行った定量的手法を用いて検討することも必要と思われる。

表 1. 外剥ぎ方式の認定小規模食鳥処理場における生食用食鳥と体及び同製品におけるカンピロバクター検出状況の工程別推移。

表 1-A
盲腸内容物と脱羽後の鶏皮のカンピロバクター数

調査月	鶏番号	盲腸内容物 (cfu/g)	脱羽後の皮部分 (MPN/10g)
2018年11月	A1	1.1x10 ⁴	—
	A2	6.6x10 ⁴	7
	A3	7.0x10 ²	3.6
2019年1月	A4	4.2x10 ³	9
	A5	1.1x10 ³	3.6
	A6	5.4x10 ³	23
2019年6月	A7	4.0x10 ⁵	290
	A8	—	120
	A9	—	210
2019年8月	A10	1.3x10 ⁴	93
	A11	9.0x10 ⁵	>1100
	A12	9.0x10 ⁴	240

表 1-B
盲腸内容物とチラー後の鶏皮のカンピロバクター数

調査月	鶏番号	盲腸内容物 (cfu/g)	チラー後の皮部分 (MPN/10g)
2018年11月	B1	2.3x10 ⁴	23
	B2	3.0x10 ²	—
	B3	—	—
2019年1月	B4	1.1x10 ⁵	—
	B5	1.7x10 ⁴	—
	B6	7.5x10 ³	—
2019年6月	B7	7.2x10 ⁴	3.6
	B8	4.3x10 ⁵	15
	B9	1.0x10 ²	3.6
2019年8月	B10	6.9x10 ⁵	23
	B11	8.0x10 ³	3.6
	B12	—	11

表 1-C
盲腸内容物と焼烙後の鶏皮のカンピロバクター数

調査月	鶏番号	盲腸内容物 (cfu/g)	焼烙後の皮部分 (MPN/10g)
2018年11月	C1	1.0x10 ²	—
	C2	6.9x10 ³	—
	C3	6.8x10 ³	—
2019年1月	C4	2.3x10 ³	—
	C5	8.8x10 ⁴	—
	C6	3.0x10 ⁴	—
2019年6月	C7	—	—
	C8	5.5x10 ⁴	—
	C9	7.6x10 ³	—
2019年8月	C10	5.2x10 ⁷	—
	C11	5.0x10 ⁷	—
	C12	2.9x10 ⁴	3.6

表 1-D
盲腸内容物と製品のカンピロバクター数

調査月	鶏番号	盲腸内容物 (cfu/g)	製品 (MPN/10g)
2018年11月	D1	—	—
	D2	1.6x10 ⁵	—
	D3	5.0x10 ²	—
2019年1月	D4	1.6x10 ³	—
	D5	1.7x10 ⁴	—
	D6	1.5x10 ²	—
2019年6月	D7	2.6x10 ⁴	—
	D8	—	—
	D9	4.3x10 ⁵	—
2019年8月	D10	10 ⁶ ~10 ⁷	—
	D11	10 ⁵ ~10 ⁶	—
	D12	6.0x10 ³	—

2) 個別課題名：肉用鶏の生産から流通に至る本菌汚染動態に関する検討①

(研究担当者名：山崎伸二 (所属機関名：大阪府立大学))

【背景及び目的】

加熱用鶏肉の生食によるカンピロバクターによる健康被害が続発する中、上記の個別課題 1) の生食用鶏肉と共に、加熱用鶏肉についても、食鳥処理工程を通じた当該微生物の汚染動態を定量的に把握し、対象施設の衛生管理実態を調査することが、わが国で製造される加熱用鶏肉の安全性確保に向けた課題と考えられる。

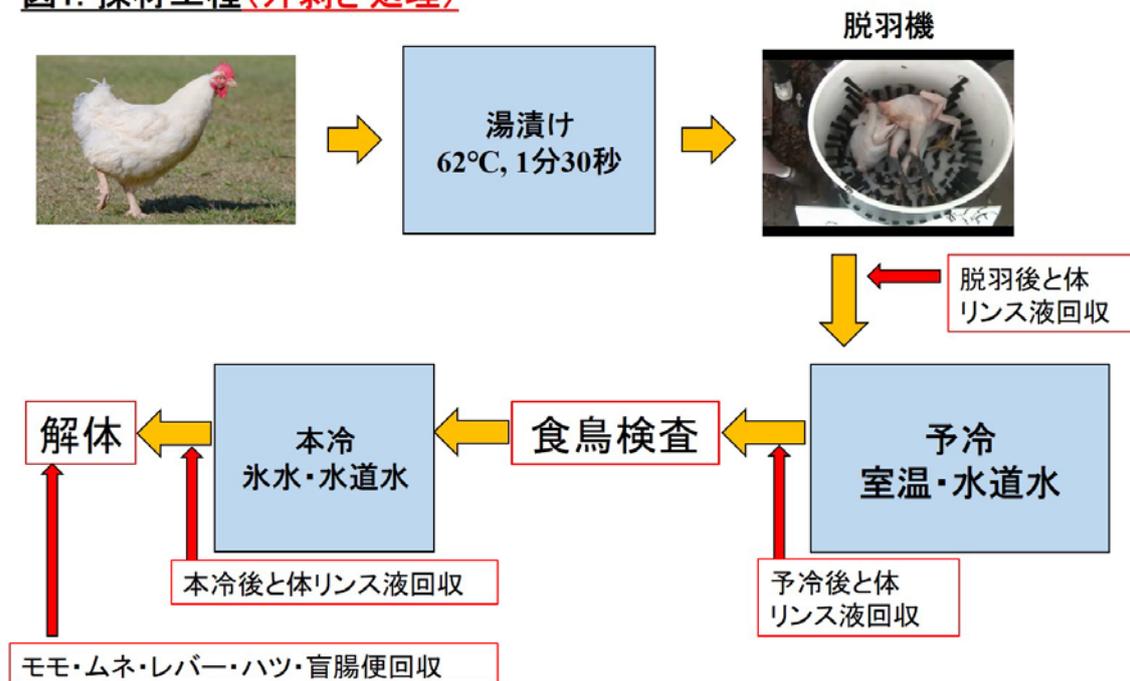
本個別課題では、肉用鶏（ブロイラー鶏）を処理する外剥ぎ方式の認定小規模食鳥処理場（処理羽数約 1,400 羽/日）の協力を得て、同施設の食鳥処理工程を通じたカンピロバクターの汚染動態を定量的に求めることを目的とした。

【材料及び方法】

西日本にある、肉用鶏（ブロイラー鶏）を処理する外剥ぎ方式の認定小規模食鳥処理場

(処理羽数約 1,400 羽/日) の協力を得て、2018 年 10 月、2019 年 2 月、5 月、8 月の計 4 回、当該施設でブロイラー鶏の盲腸内容及び脱羽後・冷却前・冷却後食鳥と体を 1 群 5 羽単位で採材し、と体検体についてはリンスパック法を用いて洗い出し液を調整した。採材工程については図 1 に示す。何れも ISO 10272-2:2017 法に従って、カンピロバクター菌数を求めた。さらに 2019 年 9 月および 10 月に 2 回ずつニワトリ盲腸便を採材しリアルタイム PCR にてカンピロバクターの検出を試みた。また、2019 年年 6 月には関西地方で銘柄鶏を取り扱う中抜き方式の大規模食鳥処理場(処理羽数約 3.5 万羽/日) の協力を得て、上記と同様の手法によりカンピロバクターの汚染動態を定量的に求めた(但し、採材対象とした工程は、脱羽後・中抜き後・内外洗浄後・冷却後の計 4 工程とした)。

図1. 採材工程(外剥ぎ処理)



【結果】

肉用鶏(ブロイラー鶏)を外剥ぎ方式で取り扱う認定小規模食鳥処理場で採材した検体については、2018 年 10 月に採材した検体のみより *C. jejuni* が検出・分離された。他の検体についてはいずれもカンピロバクターは検出限界以下であり、分離もされなかった。2019 年 9 月および 10 月に採材した計 20 検体の盲腸便についてもすべてカンピロバクターは検出限界以下であった。また、本年 6 月に大規模食鳥処理場で採材した盲腸便及び食鳥と体計 25 検体及び鶏肉検体計 10 検体についても全てカンピロバクターが検出限界以下であった。

認定小規模食鳥処理場にて 2018 年 10 月に採材した検体のうち、盲腸便からは約 10^6 CFU/g 以上の *C. jejuni* が検出された。一方、食鳥処理段階である脱羽後および予備冷却後のと体リンス液からは、約 10^3 CFU/mL の *C. jejuni* が検出された。また、喫食部位であるモモ肉、ムネ肉、ハツおよびレバーからは約 $10^2 \sim 10^3$ CFU/g の *C. jejuni* が検出された。同検

体から *C. coli* は検出されなかった（表 1）。

表 1. *C. jejuni* の検出状況

サンプル	RT-PCR	コロニーカウント
盲腸便	$\geq 1.0 \times 10^7$	$3.29 \pm 2.62 \times 10^6$
モモ	2.72×10^2	$6.67 \pm 9.75 \times 10^2$
ムネ	5.16×10^2	$4.67 \pm 2.21 \times 10^2$
ハツ	$\leq 1.0 \times 10^3$	0.56×10^2
レバー	$\leq 1.0 \times 10^3$	$6.13 \pm 10.9 \times 10^2$ (CFU/g)
脱羽後リンス液	$6.63 \pm 1.67 \times 10^3$	$0.94 \pm 1.28 \times 10^3$
冷却後リンス液	$1.36 \pm 0.85 \times 10^3$	$1.59 \pm 1.35 \times 10^2$ (CFU/mL)

【考察】

今回対象とした小規模食鳥処理場では計 4 回採材を行ったが、2018 年に最初に調べた 1 回のみ盲腸便よりカンピロバクターが検出・分離され、残りの 3 回は検出されなかった。このことは、肉用鶏であっても、本研究で用いた試験法で陰性となる生産農場の存在を示唆していると言える。すなわち、今回対象とした鶏群の生産農場における飼養管理体制を確認することは生産段階での制御手法を構築する上で有用であると考えられた。また、カンピロバクター陰性鶏群を処理した場合、可食部のカンピロバクターによる汚染は認められず、当該処理場の一般衛生管理体制は適切であったと考えられるほか、そもそも当該処理場のような外剥ぎ方式を採用する施設では可食部を採取した後に、内臓摘出を行うため、腸管内容物の汚染が中抜き方式に比べて生じにくい様式であることが、モモ、ムネ等の汚染菌数が約 10^2 個に抑えることができた背景にあるものと推察される。

また、食鳥処理場において定量動態データの収集を行う場合には、カンピロバクター陽性鶏群を迅速かつ簡便に判定するスクリーニング手法を構築・運用することも、円滑なデータ集積を考えた場合には、検討が必要な項目であろう。その意味において、リアルタイム PCR 法による定量値はコロニーカウントの結果とほぼ一致していたことから、リアルタイム PCR 法が培養を基盤とする定量検査法の代替法として有用かもしれない。

2018 年 10 月の検体においては、盲腸便において最も多い菌数のカンピロバクターが検出され、解体工程を経るごとに汚染菌数が減少していったことより、検体の主な汚染源は糞便であったと考えられる。カンピロバクターによる鶏肉汚染を制御していくためには、鶏群におけるカンピロバクターの有無を判断し、陰性鶏群より処理を行うこと、および食鳥処理場においていかに糞便汚染を減らしていくかを検討することが重要であろう。

3) 個別課題名：食鳥処理工程及び流通製品における本菌汚染動態に関する検討②
(研究担当者名：佐々木貴正 (所属機関名：国立医薬品食品衛生研究所))

【背景及び目的】

わが国で製造加工される食鳥肉の約 9 割はブロイラー鶏を主体とする加熱用食鳥肉であるが、同食品の処理工程を通じた汚染動態の多くは定性的な知見に留まっている。加熱用鶏肉を生食用に転用することによりカンピロバクター食中毒が多発する現況において、同食品の安全確保に資するリスク分析を行う上では、病原体汚染に関する定量的知見が必要不可欠である。本個別課題では、大規模食鳥処理場においてブロイラー鶏の食鳥処理過程を通じたカンピロバクターの工程別動態について定量的知見を収集することを目的とした。

【材料及び方法】

西日本の大規模食鳥処理場(処理羽数約 10 万羽/日)の協力を得て、当該施設でブロイラー鶏の盲腸内容及び脱羽後・チラー前・チラー後食鳥と体を 1 群 5 羽単位で採材し、と体検体についてはリンスパック法を用いて洗い出し液を調整した。何れも ISO 10272-2:2017 法に従って、カンピロバクター菌数を求めた。

【結果】

盲腸内容検体については、8 月 5 日の検体 (5 羽中 1 羽のみ陽性、4.6logCFU/g) を除き、全羽からカンピロバクターが分離された(表 1)。同陽性検体中の平均菌数は 6.5logCFU/g であった。

脱羽後とたい検体は、全検体で当該菌が検出され、平均菌数(最少～最大菌数)は 5.5logCFU/と体(5.1～6.3logCFU/と体)であった。冷却前とたい検体では、1 採材日(7 月 29 日)を除く全検体で当該菌が検出され、陽性検体の平均菌数(最少～最大菌数)は、6.2(4.8～6.9logCFU/と体)であった。冷却後とたい検体では、(7 月 29 日)を除く全検体より当該菌が検出され、陽性検体の平均菌数(最少-最大菌数)は、3.9logCFU/と体(3.5～4.1logCFU/と体)であった。

【考察】

対象施設では、脱羽後に 5.5logCFU/と体の高い汚染菌数を示し、中抜き工程を通じて冷却前工程で 6.2logCFU/と体へ増加した後、冷却工程を経ることで 3.9logCFU/と体へと減少することが明らかとなった。今後は対象施設の衛生管理実態に関する情報提供を協力者に求める必要があると考える。また、食鳥処理工程を通じた食鳥と体におけるカンピロバクター汚染動態を定量的に評価することを念頭においた場合、米国や豪州で実施されているリンスパック法が、食鳥と体全体の汚染状況を確認できる点で有用と考えられる。実際に本個別課題でも同法を採用し、検討を行った。一方、同法の欠点としては多検体処理が困難であることが挙げられる。欧州等では、首皮等の鶏皮を採材対象として多検体を試験に供する方法が採用されていることを踏まえると、両法の同等性を評価することも今後検討すべき課題として挙げられる。

表 1. 大規模食鳥処理場 1 施設におけるカンピロバクターの検出状況.

採材日	盲腸内容		脱羽後		冷却前		冷却後	
	定性	定量 (平均±SD logCFU/g)	定性	定量 (平均±SD log cfu/とたい)	定性	定量 (平均±SD log cfu/とたい)	定性	定量 (平均±SD log cfu/とたい)
2018/10/22	5/5	8.0±0.8	5/5	5.8±0.7	未実施		未実施	
2018/10/29	5/5	8.7±0.4	5/5	5.5±0.6				
2018/11/5	0/5	不検出	0/5	不検出				
2018/11/19	0/5	不検出	4/5	2.3	5/5	2.3	未実施	
2018/11/26	0/5	不検出	5/5	2.6±0.4	5/5	2.9±0.5		
2018/12/4	0/5	不検出	4/5	2.3	3/5	2.3		
2018/12/11	0/5	不検出	2/5	2.3	1/5	2.3		
2018/12/18	0/5	不検出	0/5	不検出	0/5	不検出		
2019/1/8	未実施		0/5	不検出	0/5	不検出		
2019/2/12	0/5	不検出	0/5	不検出	0/5	不検出		
2019/7/1	5/5	7.5±0.1	5/5	5.1±0.6	5/5	4.8±0.5		
2019/7/8	5/5	6.2±1.3	5/5	5.3±0.4	5/5	6.4±0.7		
2019/7/22	5/5	8.2±0.7	5/5	5.3±1.0	5/5	6.1±0.8		
2019/7/29	5/5	4.5±1.4	未実施		4/5	6.3±0.5	2/5	3.5±0.2
2019/8/5	1/5	4.6			5/5	6.4±0.3	5/5	4.0±0.5
2019/8/26	5/5	6.7±0.8			5/5	6.2±0.7	5/5	4.0±0.5
2019/10/28	5/5	7.6±1.2	5/5	6.3±0.7	5/5	6.9±0.4	5/5	4.1±0.2

4) 個別課題名：食鳥処理工程を通じた本菌汚染動態に関する定量的リスク分析
(研究担当者名：豊福肇(所属機関名 D：山口大学共同獣医学部))

【背景及び目的】

本個別課題では食鳥処理工程でのカンピロバクター汚染動態データを元にリスク分析を行う手法について検討することを目的とした。昨年度、複数の既存モデルを比較検討する中で、JEMRA (Joint FAO/WHO Expert Meetings on Microbiological Risk Assessment) が工程ごとに数値を入力することで、介入研究の有効性評価等に有効なモデルとして「Risk Management Tool for the Control of *Campylobacter* and *Salmonella* spp. in Chicken Meat」 (<http://tools.fstools.org/PoultryRMTool/Default.aspx>) を報告しており、同法の適用は国際整合の観点からも最も妥当なリスク分析法との結論に至った。そこで本年度は二年間の取得データを同モデルへ適用することについて検討した。

【材料及び方法】

本研究事業で集積された食鳥処理工程を通じたカンピロバクター汚染動態成績のうち、個別課題(1)の計4ロットの脱羽後、冷却後、焼烙後、最終製品、並びに個別課題(3)の脱羽後、内臓摘出後、冷却後の各工程成績を対象として上述のリスク分析モデルで解析した。生体盲腸便中の菌数データについては代替として陽性率を入力した(個別課題(1)では、0.854(41/48羽)、個別課題(3)では1(5/5羽))。各工程のデータ分布入力にあたってはデータ量が限定的であったため、min/mode/maxのパラメータであらわされる β -PERTを採用した。なお介入が該当しない工程は数値変化無しと見做した。

【結果及び考察】

外剥ぎ方式で生食用食鳥肉を処理する認定小規模食鳥処理場を対象とした個別項目(1)のデータについては、脱羽後、冷却後、焼烙後と体及び最終製品の全データを入力し、平均1.541logMPN/10gの脱羽後とたいが冷却後には平均0.551logMPN/10gと減少を示し、その後の焼烙工程後には1検体のみ陽性(0.561logMPN/10g)へと更に低減し、製品検体は何れも陰性である実態が確認された(図1A)。よって、対象施設における食鳥処理工程では冷却工程とその後の焼烙工程でとたいの標的菌はほぼ不検出となることが示された(図1A)。従って、対象施設の衛生管理については特段の介入研究は不要と思われるが、その他の病原菌であるサルモネラ汚染等については不明であることから更なる検討を進める必要があると思われる。また、今回は見られなかったが、焼烙後のカット～包装の過程で交叉汚染が発生するリスクは否定できず、今後も確認が必要と目された。

個別項目(3)の中抜き方式の大規模食鳥処理場データについては、脱羽後、内臓摘出後、冷却後とたいの全データを同一ロットで収集されたのは2019年10月28日のデータのみであり、これを解析対象とした。当該ロットは全5羽が陽性で脱羽後とたい1羽あたり平均6.291logCFUの高濃度汚染を受けていた。内臓摘出後には平均0.571logCFU/とたいと菌数増加を認め、同工程での腸切れ等による交叉汚染の発生が菌数増加の要因と推察された。その後の冷却工程では平均2.811logCFU/とたいの菌数減少を認めた。同施設の菌数挙動から、冷却工程がリスク低減に有効に機能していること、対して内臓摘出工程はリスク増大を招くことから、対策を講じる必要性があると考えられた。同解析結果は1ロットのみによるものであったが、本分析モデルの適用に際しては、同一ロットを対象として代表的工程の汚染菌数を取得すること、時系列を追い複数ロットで比較解析すること

が対象施設でのカンピロバクター汚染動態の把握及び対策を講じ、その有効性を評価する上で必要かつ有効な手段と考えられる。また、今後こうしたリスク分析モデルの使用方法を平易な形で提供することも、国内事業者や自治体関係者等が取得したデータを自らが解析できるようなシステム化を進める上では必要な事項であろう。

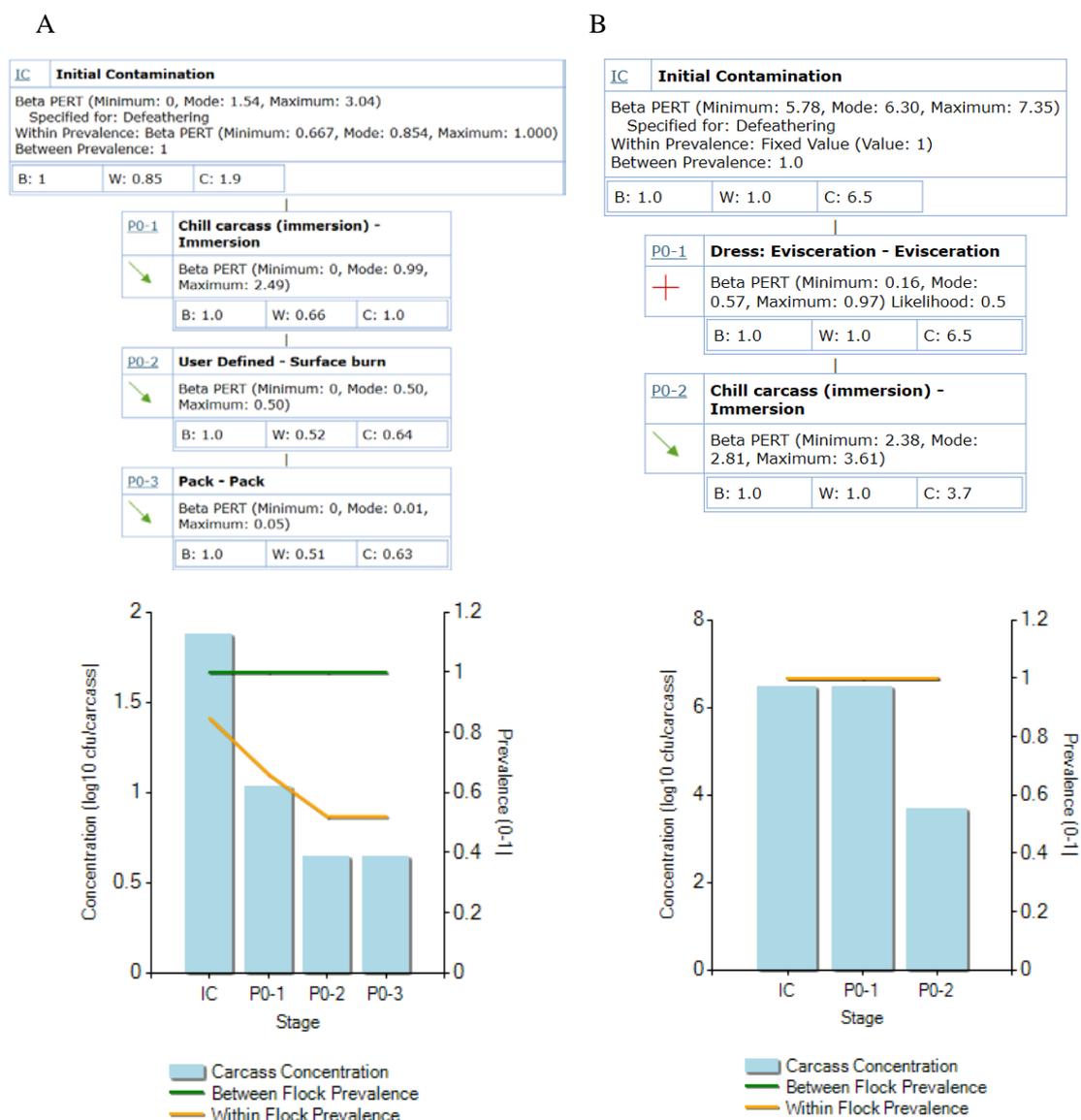


図1. 食鳥処理工程を通じたカンピロバクター定量成績を基とした解析例。セクションA/Bはそれぞれ、個別課題（1）、（3）の該当成績を入力した場合の例を示す。なお上図に示される Mode は最も妥当と考えられる数値（但し今回は限定的な数のため平均値を採用）、赤+・緑矢印は前工程の菌数に対する増減を各々意味する。X軸上の文字はICが共に脱羽後とたい、セクションAのPO-1～3は冷却後、焼烙後とたい、最終製品（生食用食鳥肉製品）、セクションBのPO-1～2は内臓摘出後、冷却後とたいをそれぞれ指す。また、下図の淡青色バー、黄色線、緑色線は工程毎の菌数、鶏群内での陽性率、鶏群間での陽性率を示す。但し鶏群間での陽性率については採材対象が限定的なため変動がないものとしている。

(3) 研究項目名：食中毒事例における発症菌数に関する検討

1) 個別課題名：食中毒発症患者における菌数把握に関する検討

(研究担当者名：坂田淳子(所属機関名：地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所))

(研究担当者名：朝倉宏(所属機関名：国立医薬品食品衛生研究所))

【背景及び目的】

カンピロバクター発症菌数については、1980年代に米国で行われた臨床実験において得られた成績である500~800CFUが現在に至るまで各国においてリスク評価やリスク管理措置の構築における科学的根拠として用いられている。しかしながら、近年ではカンピロバクターの菌株性状は日々多様であることや原因食品の内訳は国間で異なること等も明らかとなりつつあり、上述の過去の実験で用いられた数値の正確性については不明である。そこで本個別課題では、大阪府及び他地域(東京都、島根県)で発生したカンピロバクター食中毒患者由来検体におけるカンピロバクター菌数を定量的に求めることを目的とした。

【材料及び方法】

大阪健康安全基盤研究所のほか、東京都健康安全研究センター(食品微生物研究科 赤瀬悟氏) 島根県保健環境科学研究所(細菌科長 川瀬遵氏)の協力を得て、食中毒対応業務を通じて得られた臨床検体について、Liuらの報告にあるPrimer/Probeを参考に本研究班で構築した定量リアルタイムPCR法(以下、qPCR法)並びに定量培養法(ISO 10272-2:2017)に供することで、食中毒発症患者便検体中に含まれるカンピロバクター菌数を求めることとした。添加回収試験にあたっては、カンピロバクター陰性糞便検体を用いた。また、大阪健康安全基盤研究所では業務上、多検体対応が求められていることを踏まえ、平成30年度には少数検体で両試験法の整合性を検討した上で、平成31年度(令和元年度)にはリアルタイムPCR法でのみ検討を行うこととした。また、データ解析にあたり、東京都からのデータについては倫理面から疫学情報を付加できなかったため、それ以外の検体について各疫学要因とカンピロバクター菌数との関連性を重回帰分析等により解析した。特に記載しない限り、コピー数または菌数の群間比較には、Mann-WhitneyのU検定を用い、 $p < 0.01$ または 0.05 を有意差ありと判定した。

【結果】

平成30年度から平成31年度(令和元年度)にかけて、計288検体(大阪197検体、東京54検体、島根37検体)のカンピロバクター食中毒患者検体を対象として検討を進めた。

まず、本研究で採用したqPCR法による定量性を確認するため、*C. jejuni*を用いた添加回収試験を行った。カンピロバクター陰性が確認された臨床検体計19検体をマトリックスとして異なる菌数の*C. jejuni*を添加し速やかにISO 10272-2:2017に基づく定量培養法及びqPCR法に供した結果、 $R^2 = 0.929$ と高い正の相関を示し(図1)、qPCR法の有効性が示された。

次に、実検体(カンピロバクター食中毒患者糞便検体)を用いてqPCR法及び培養法(定量法)の成績比較を行った。培養法(定量)及びqPCR法で共に陽性を示した計45検体につ

いて解析を行ったところ、培養法により求められた*C. jejuni*菌数は約 $1.5 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/g、qPCR法により求められたゲノムコピー数は $7.3 \times 10^3 \sim 3.9 \times 10^8$ copies/gとなり、両成績間の相関係数は0.646と正の相関を示したものの、高い正の相関には至らなかった（図2）。

これらの検体について、検体保管日数（採材～試験開始日数）との相関性を解析したところ、培養法成績は保管日数と負の相関（相関係数-0.481）がある一方、qPCR法成績と保管日数との間に相関はないと判断された（相関係数0.012）（図3）。

これを受けて、保管日数を指標として、両試験法成績を重回帰分析に供することで、qPCR法成績（コピー数）と保管日数から、保管0日目の培養法成績（菌数）を予測することとした。培養法成績（log CFU/g）をy、コピー数（log copies/g）をX1、保管日数をX2とした場合、yはX1に正の相関を示すこと、並びにX1のp値は < 0.01 で、X1係数の95%信頼区間の下限と上限は正となることが示された。また、yはX2に負の相関を示し、X2のp値は < 0.01 でX2係数の95%信頼区間の下限/上限は負を示した（表1、図4）。これらの結果を基に、保管日数0日目の検体の培養法成績（菌数）を予測するための補正式を求めた。

（補正式）

$$\text{保管0日目の菌数 (CFU/g)} = 0.942 \times (\text{コピー数/g}) - 0.397 \times (\text{保管日数}) - 0.374$$

上記補正式を、東京都及び島根県で両法陽性を示した計 38 検体に適用することで、2試験法間の成績に関する相関係数は 0.646 から 0.812 へと改善された（図5）。

大阪健康安全基盤研究所では計197検体を対象として、qPCR法及び培養法（定性法）による評価を行った。培養（定性法）陽性は*C. jejuni*、*C. coli*のそれぞれで83検体、5検体認められ、うち71検体（85.5%）、5検体（100%）はqPCR法でも陽性を示した（表2）。培養法（定性）陰性を示した検体は*C. jejuni*、*C. coli*についてそれぞれ114検体、192検体であったが、うち29検体（25.3%）、2検体（1.04%）はqPCR法陽性を示した（表2）。qPCR法により求められた検体1g当たりのコピー数は*C. jejuni*で $2.72 \times 10^3 \sim 2.78 \times 10^8$ コピー、*C. coli*では $2.02 \times 10^3 \sim 1.99 \times 10^7$ コピーであった。

培養法陽性・陰性の別にqPCR法で得られたコピー数の分布を求めたところ、培養陰性群のqPCRコピー数は $2.67 \times 10^6 \pm 5.99 \times 10^6$ （平均±標準偏差）、培養陽性群では $7.09 \times 10^7 \pm 4.07 \times 10^7$ （平均±標準偏差）となり、二群間で有意差を認めた（ $p < 0.01$ 、図6）。

次に、大阪のqPCR法成績について疫学情報を付加した統計解析を行った。まず、定性培養成績と抗菌剤投与の有無に基づき比較したところ、定性培養陽性検体は同陰性検体に比べ有意にコピー数が高いこと、抗菌剤投与を受け培養陰性となった検体ではコピー数のバラツキが大きいこと、抗菌剤投与検体ではコピー数と培養成績（菌数）との差異が大きくなるおそれがあることが明らかとなった（図7）。

服用抗菌剤の種類別にqPCR法（特に定性成績を採用）及び培養法（定性法）のデータを解析したところ、抗菌剤の種類間で、qPCR法の定性成績に有意差は認められなかったが、培養法定性成績として、特にマクロライド系抗菌剤投薬患者由来検体はその他の抗菌剤投与患者由来検体に比べ有意に低い検出成績を示した（表3）。

上記を踏まえ、抗菌剤の種類別に、発症から検体採取までの日数経過とqPCR法定量値

との相関性を解析した。結果として、マクロライド系及びホスホマイシン系抗菌剤投与患者由来検体では日数経過に伴いqPCR法定量値の明確な減少が認められた一方、ニューキノロン系、セフェム系抗菌剤投与患者由来検体では定量値の日数経過に伴う減少は認められなかった（図8）。

【考察】

本研究では、これまで未検討の項目であったカンピロバクター食中毒患者由来検体中の原因菌の定量検出成績の創出を行うことを目的として、培養法と共に qPCR 法を設定し、検出値の上・下限、並びに検出分布を求めた上で、両成績間の相関性に着目し、qPCR 法による菌数推定に資する補正式の作成を行うことができた。

近年発生する細菌性食中毒の多くはカンピロバクターに占められており、本食中毒対応の検査数も多い状況が続いている。本菌の好気性である性質や、食中毒原因施設の多くで検査システムがないこと等から、原因食品の保管や同食品検体からの原因菌の確保は極めて難しい。更に、臨床検体の検査は主として地方衛生研究所で行われるが、検体の確保や輸送は保健所等が行うことが多く、検査機関で検体に関わる疫学情報を集積することは限定的な状況にあり、また検体採取から検査に供するまでに時間を要する事例も多い。これらの社会背景は、食中毒の原因食品及び原因菌の確保のみならず、臨床検体中の原因菌数を定量的に求める上でも障壁となっていると考えられる。本研究ではこうした状況を踏まえ、定量検出成績を集積あるいは予測することができたほか、本食中毒の治療に際して投与される抗菌剤のうち本菌の菌数低減に有効性を示すものを定量検出実態に基づいて指し示すことができた。

qPCR 法を基とする菌数予測手法は、食中毒事例発生時に原因食品を確保できた場合に必ずしも速やかな対応が困難な場合にあっても、当該食品中の菌数予測へと利用することで、我が国で多発する本食中毒の発症菌数に係る新たな科学的知見の創出に寄与するものと考えられる。その波及にあっては、補正式の妥当性を実検体を用いて更に検証する必要があることは言うまでもない。また、継続的な患者便検体中の菌数把握は、発症菌数のみならず、分離菌株の特性解析と併せることで、本食中毒に係る臨床疫学的な知見集積にも寄与するものと思われる。その際には倫理上の対応は必要ではあるが、検体に関わる疫学情報を付加することが精緻な実態把握に波及することが期待される。なお、本研究の成果については、令和2年度中に学術論文として投稿する予定である。

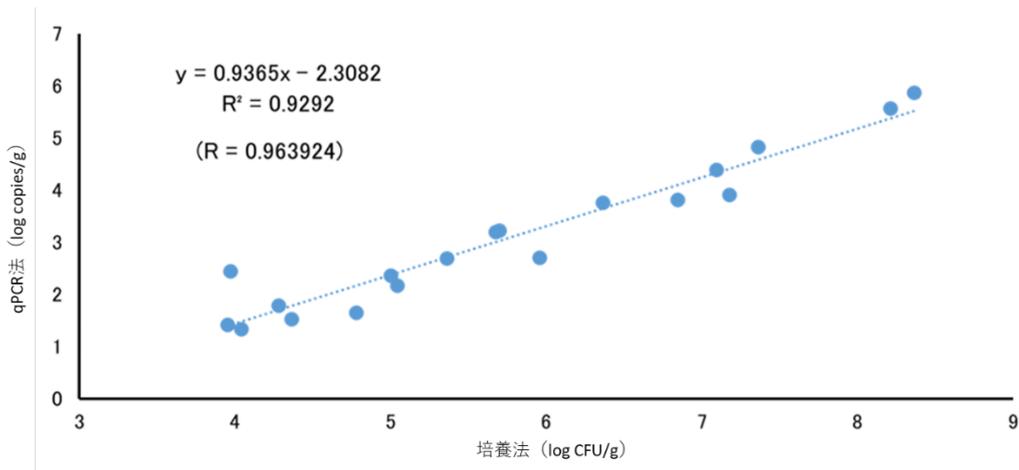


図 1. 添加回収試験を通じた qPCR 法・培養法（定量法）成績の相関性に関する検討

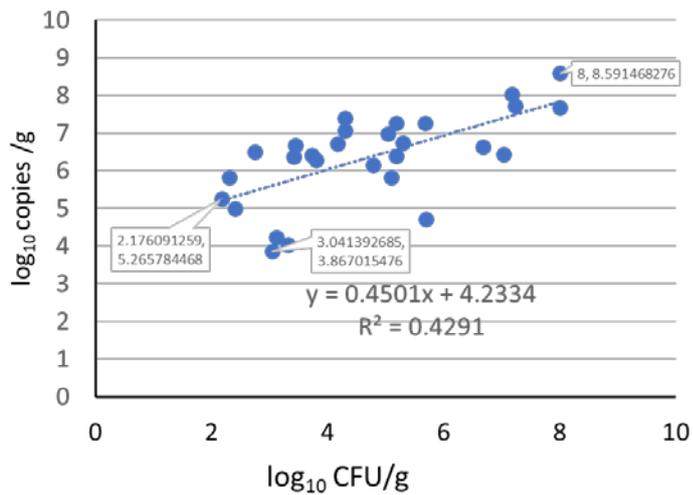


図 2. 実検体を対象とした qPCR 法・培養法（定量法）成績の相関性に関する検討

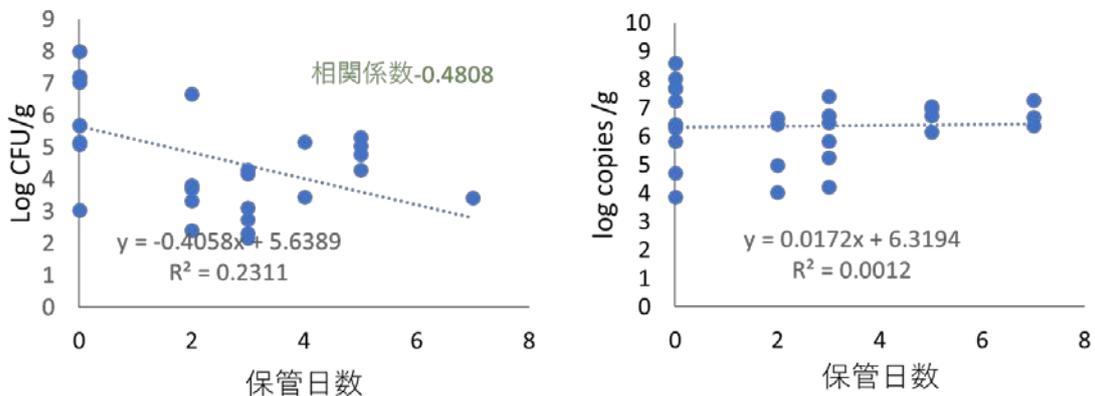


図 3. 検体搬入から試験開始までの保管日数と定量検出成績との相関性に関する検討

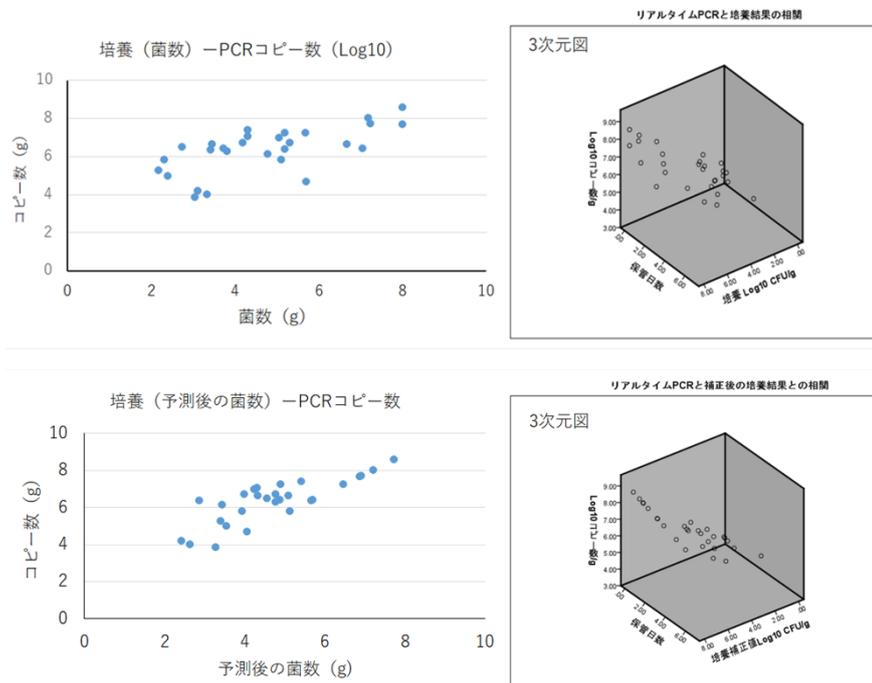


図 4. qPCR 法で得られたコピー数及び補正式に基づく検体受入時の菌数予測

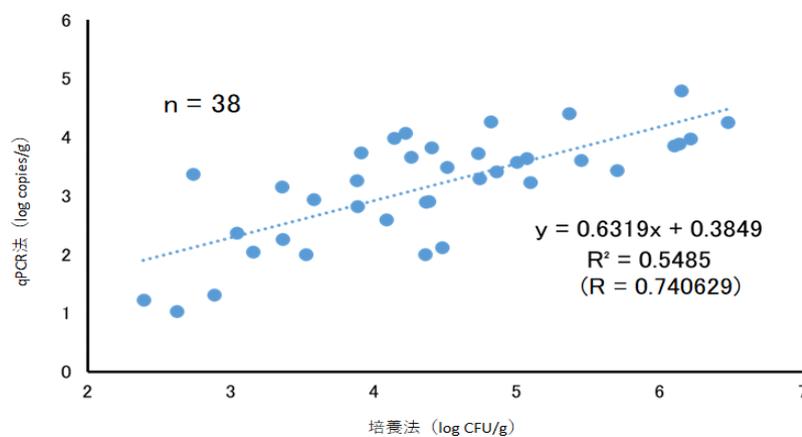


図 5. 東京都及び島根県で収集された患者糞便のうち、培養法と qPCR 法で共に陽性を示した計 38 検体の定量値の相関性評価

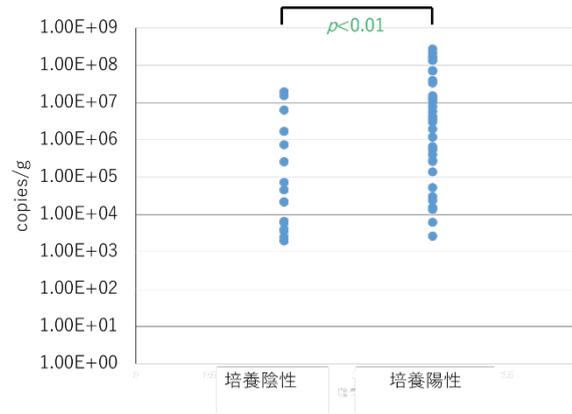


図6. qPCR陽性検体の数値（コピー数）分布（大阪）

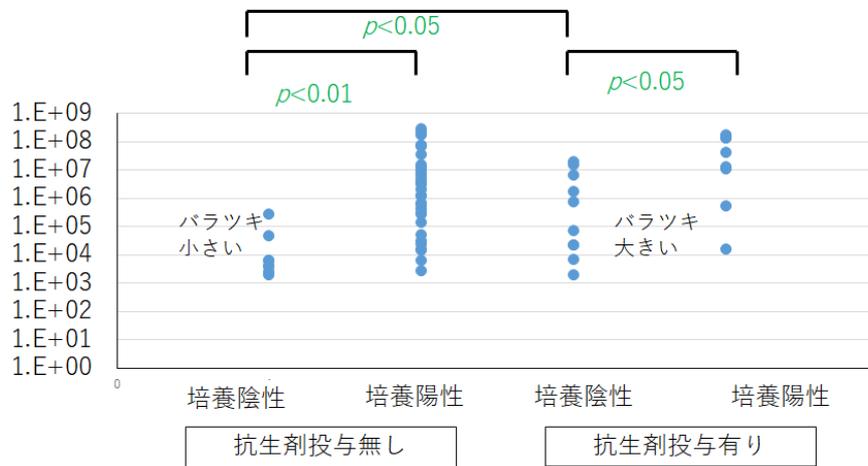


図7. 抗生剤投与の有無、培養法（定性）成績の別による、qPCR法成績（コピー数）分布の比較. 緑文字の p 値はマンホイットニーU検定により求めた。

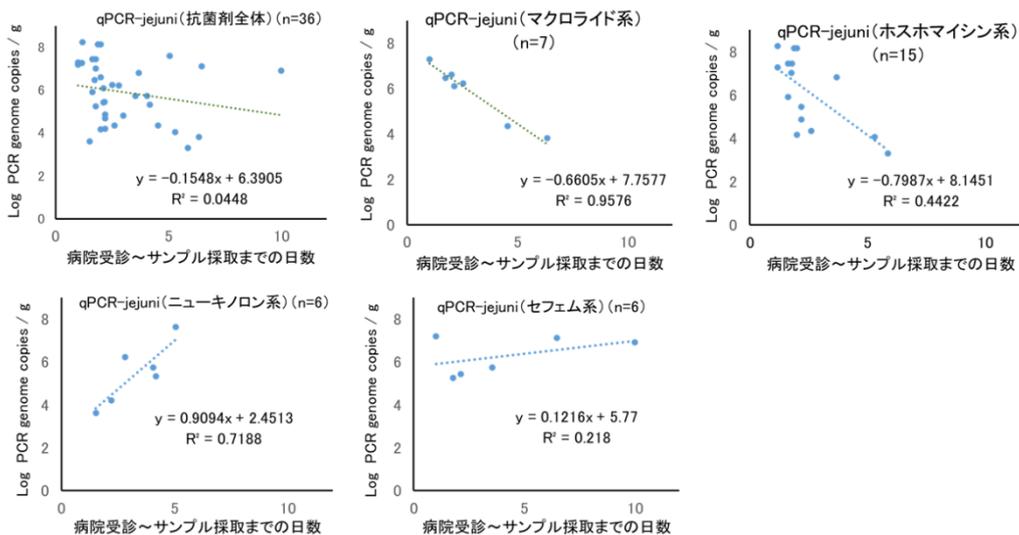


図8. 各種抗菌剤投与患者由来検体における保管日数と qPCR 法成績との相関性

表 1. 重回帰分析結果

回帰統計		係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
重相関 R	0.806315	切片	-0.3741	1.139471	-0.32831	0.745411	-2.7208863	1.97268431	-2.7208863	1.97268431
重決定 R2	0.650144	X 値 1	0.942204	0.172192	5.471832	1.11E-05	0.58756887	1.29683997	0.58756887	1.29683997
補正 R2	0.622155	X 値 2	-0.39685	0.099861	-3.97408	0.00053	-0.6025213	-0.1911872	-0.6025213	-0.1911872
標準誤差	1.062566									
観測数	28									

培養法成績 (logCFU/g) を y、コピー数(log copies/g)を X1、保管日数を X2 とする。

表2. 培養法 (定性) とリアルタイムPCR法の結果比較 (大阪)

標的菌種		培養陽性	培養陰性	計
<i>C. jejuni</i>	PCR陽性	71	29	100
	PCR陰性	12	85	97
	計	83	114	197
<i>C. coli</i>	PCR陽性	5	2	7
	PCR陰性	0	190	190
	計	5	192	197

注記：PCR 陰性には、判定不能を含む。

表 3. 抗菌剤の種別毎にみた、培養法、qPCR 法 (何れも定性) との比較成績
qPCR 法成績

服用した抗菌剤の種類		<i>C. jejuni</i> qPCR定性結果		計
		陽性	陰性	
セフェム系	サンプル数	6	2	8
	割合 (%)	75.0	25.0	100.0
	調整済み残差	1.3	-1.3	
キノロン系	サンプル数	6	5	11
	割合 (%)	54.5	45.5	100.0
	調整済み残差	0.1	-0.1	
ホスホマイシン系	サンプル数	16	17	33
	割合 (%)	48.5	51.5	100.0
	調整済み残差	-0.9	0.9	
マクロライド系	サンプル数	7	6	13
	割合 (%)	53.8	46.2	100.0
	調整済み残差	0.0	0.0	
合計	サンプル数	35	30	65
	割合 (%)	53.8	46.2	100.0

培養法成績

服用した抗菌剤の種類		<i>C. jejuni</i> 培養定性結果		計
		陽性	陰性	
セフェム系	サンプル数	5	3	8
	割合 (%)	62.5	37.5	100.0
	調整済み残差	1.5	-1.5	
キノロン系	サンプル数	7	4	11
	割合 (%)	63.6	36.4	100.0
	調整済み残差	1.9	-1.9	
ホスホマイシン系	サンプル数	12	21	33
	割合 (%)	36.4	63.6	100.0
	調整済み残差	-0.4	0.4	
マクロライド系*	サンプル数	1	12	13
	割合 (%)	7.7	92.3	100.0
	調整済み残差	-2.5	2.5	
合計	サンプル数	25	40	65
	割合 (%)	38.5	61.5	100.0

(4) 研究項目名：食中毒被害実態及び食品寄与率の推定に関する検討

1) 個別課題名：食中毒被害実態推定に関する検討

(研究担当者名：窪田 邦宏 (所属機関名：国立医薬品食品衛生研究所))

【背景及び目的】

我が国ではカンピロバクターをはじめとする食品由来感染症の患者数は食品衛生法及び感染症法に基づいて報告されているが、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可能性が示唆される。広域散発事例による被害も報告されていることから、食品衛生評価のためにはそれらの事例も含めた被害実態の全容の把握が重要と考えられる。

米国では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により散発事例も含めた推定を行っており、同システムで得られた推定結果は患者数の複数年度に渉る変動の把握や各種行政施策の評価等、食品衛生行政に活用されている。

我が国においても患者数の全容把握のためには散発事例も把握可能な同様のシステムが必要と考えられるが、これ迄に日本にはこうしたシステムが設置されていない。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、食品衛生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対応等にきわめて重要と考えられる。こうしたことをふまえ、本研究では宮城県及び全国を対象としてアクティブサーベイランスを行い、カンピロバクターを始めとする食中毒実患者数の推定を行う。これにより、その有効性を実証し、日本における既存のサーベイランスシステムを補完する新たなシステムの構築の基礎とすると同時に今後検討すべき特徴の把握を行うことを目的とする。

【材料及び方法】

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臨床検査機関に協力を依頼し、その機関から菌検出数のデータ収集を行った。さらに民間臨床検査会社3社より全国を対象とした菌検出数データを収集した。

1-1. 宮城県の臨床検査機関から同県のデータを収集

○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. 民間臨床検査会社から全国のデータを収集

○協力検査会社

- ・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

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. 宮城県および全国を対象とした急性下痢症に関する電話住民調査

研究担当者が過去に行なった、電話住民調査による医療機関受診率と検便実施率の推

定の結果に基づき実患者数の推定を行なった。これらは、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）及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）、全国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、全国約1万2000人）及び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）である（表1）。

これらの電話調査は全て共通の質問票および手順にて行った。宮城県及び全国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。

有症者の医療機関受診率及び医療機関受診者の検便実施率は、電話住民調査の結果をモデルに導入し推定した。季節変動を考慮して冬期だけでなく夏期にも電話住民調査を行い、冬期の結果と比較検討の上、両期の結果を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。図1、2に全国の結果を示す。

2. データの集計・解析

検査機関（会社）による病原菌検出データおよび電話調査により得られたデータはMicrosoft Excel を利用してコンピューターファイルに入力した。菌検出データの個人情報提供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ようにしたものであった。また、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。推定モデルは@RISK ソフトウェア（Palisade 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、上記臨床検査機関によるデータから *Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の3菌の年間検出数を抽出した。協力検査機関ではこれら3菌に関しては全ての検体に対して検査を行っている。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（研究担当者による過去の研究による）。

検査機関菌検出数データは、2017年1月～2018年12月の2年分の新規データと、当該研究担当者が過去に他の研究にて同じ方法で収集した2005年1月～2016年12月までの12年分のデータを用いた。

検査機関における陽性検体からの菌検出率は100%であると仮定した。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. 全国についての菌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会社3社の検査データから、*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の3菌の年間検出数を抽出した。これに対し、検査会社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。

検査会社菌検出数データは、2017年1月～2018年12月の2年分の新規データと、当該研究担当者が過去に他の研究にて同じ方法で収集した2006年1月～2016年12月までの11年分のデータを用いた。

患者数推定には、2010～2018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。

各検査会社の住民カバー率は、各検査会社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 0157（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4）。

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

【結果】

1. 宮城県についてのアクティブサーベイランスデータから宮城県および全国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実患者数推定の試みを図3の考え方に沿って実施した。

1-1. 宮城県における年間菌検出数の推定

宮城県における食品由来下痢症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数データをもとに推定を行った。2005年に陽性であった便検体数は両センターを合わせて、*Campylobacter* が562件、*Salmonella* が78件、*Vibrio parahaemolyticus* が36件であった。2006年は *Campylobacter* が550件、*Salmonella* が46件、*Vibrio parahaemolyticus* が27件、2007年は *Campylobacter* が538件、*Salmonella* が46件、*Vibrio parahaemolyticus* が24件、2008年は *Campylobacter* が468件、*Salmonella* が56件、*Vibrio parahaemolyticus* が8件、2009年は *Campylobacter* が339件、*Salmonella* が33件、*Vibrio parahaemolyticus* が6件、2010年は *Campylobacter*

が354件、*Salmonella* が51件、*Vibrio parahaemolyticus* が15件、2011年は *Campylobacter* が324件、*Salmonella* が23件、*Vibrio parahaemolyticus* が7件、2012年は *Campylobacter* が262件、*Salmonella* が30件、*Vibrio parahaemolyticus* が3件、2013年は *Campylobacter* が226件、*Salmonella* が33件、*Vibrio parahaemolyticus* が5件、2014年は *Campylobacter* が252件、*Salmonella* が43件、*Vibrio parahaemolyticus* が4件、2015年は *Campylobacter* が271件、*Salmonella* が41件、*Vibrio parahaemolyticus* が4件、2016年は *Campylobacter* が282件、*Salmonella* が42件、*Vibrio parahaemolyticus* が2件、2017年は *Campylobacter* が336件、*Salmonella* が40件、*Vibrio parahaemolyticus* が7件、2018年は *Campylobacter* が315件、*Salmonella* が64件、*Vibrio parahaemolyticus* が3件であった（表2）。協力検査機関はあわせて宮城県の人口の約52%をカバーしているとの検査機関からの情報により、宮城県全体での各菌の検出数を、2005年は *Campylobacter* が1,081件、*Salmonella* が150件、*Vibrio parahaemolyticus* が69件、2006年はそれぞれ1,058件、88件、52件、2007年はそれぞれ1,035件、88件、46件、2008年はそれぞれ900件、108件、15件、2009年はそれぞれ652件、63件、12件、2010年はそれぞれ681件、98件、29件、2011年はそれぞれ623件、44件、13件、2012年はそれぞれ504件、58件、6件、2013年はそれぞれ435件、63件、10件、2014年はそれぞれ485件、83件、8件、2015年はそれぞれ521件、79件、8件、2016年はそれぞれ542件、81件、4件、2017年はそれぞれ646件、77件、13件、2018年はそれぞれ605件、123件、6件であると推定した。

1-2. 宮城県での有症者の医療機関受診率の推定

今回実患者数の推定に用いた医療機関受診率は、当該研究担当者により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。

1-3. 宮城県での医療機関受診者の検便実施率の推定

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。

1-4. 宮城県における下痢症疾患実患者数の推定

上記で得られた種々の値を用い、図3の考え方に沿っ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は、*Campylobacter* が年別に37,019（2005）、36,238（2006）、

35,437 (2007)、30,786 (2008)、26,272 (2009)、23,291 (2010)、21,331 (2011)、17,256 (2012)、14,878 (2013)、16,600 (2014)、17,835 (2015)、18,548 (2016)、22,130 (2017)、20738 (2018) 人であった。*Salmonella* は5,134 (2005)、3,028 (2006)、3,028 (2007)、3,690 (2008)、2,169 (2009)、3,358 (2010)、1,515 (2011)、1,973 (2012)、2,174 (2013)、2,831 (2014)、2,698 (2015)、2,765 (2016)、2,634 (2017)、4,213 (2018) 人であった。*Vibrio parahaemolyticus* は2,369 (2005)、1,778 (2006)、1,582 (2007)、527 (2008)、395 (2009)、988 (2010)、460 (2011)、197 (2012)、329 (2013)、263 (2014)、263 (2015)、132 (2016)、461 (2017)、198 (2018) 人と推定された(表2)。宮城県(人口236万人)の人口10万人あたりの下痢症疾患実患者数として表すと、*Campylobacter* は1,569 (2005)、1,536 (2006)、1,502 (2007)、1,305 (2008)、1,113 (2009)、987 (2010)、904 (2011)、731 (2012)、630 (2013)、703 (2014)、755 (2015)、786 (2016)、938 (2017)、879 (2018) 人と推定された。*Salmonella* は同10万人あたり218 (2005)、128 (2006)、128 (2007)、156 (2008)、92 (2009)、142 (2010)、64 (2011)、84 (2012)、92 (2013)、120 (2014)、114 (2015)、117 (2016)、112 (2017)、179 (2018) 人、*Vibrio parahaemolyticus* は同10万人あたり100 (2005)、75 (2006)、67 (2007)、22 (2008)、17 (2009)、42 (2010)、20 (2011)、8 (2012)、14 (2013)、11 (2014)、11 (2015)、6 (2016)、20 (2017)、8 (2018) 人とそれぞれ推定された(表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疾患実患者数にはヒト-ヒト感染、動物との接触感染等、食品由来ではないものを原因とする患者が多く含まれており、食品由来感染の実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疾患実患者数の推定を行った。その結果、食品由来下痢症疾患実患者数は年別に、*Campylobacter* が29,615 (2005)、28,990 (2006)、28,350 (2007)、24,629 (2008)、21,018 (2009)、18,633 (2010)、17,065 (2011)、13,805 (2012)、11,902 (2013)、13,280 (2014)、14,268 (2015)、14,838 (2016)、17,704 (2017)、16,591 (2018) 人、*Salmonella* が4,877 (2005)、2,877 (2006)、2,877 (2007)、3,506 (2008)、2,061 (2009)、3,190 (2010)、1,439 (2011)、1,874 (2012)、2,065 (2013)、2,689 (2014)、2,563 (2015)、2,627 (2016)、2,503 (2017)、4,0003 (2018) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が1,540 (2005)、1,156 (2006)、1,028 (2007)、343 (2008)、257 (2009)、642 (2010)、299 (2011)、128 (2012)、214 (2013)、171 (2014)、171 (2015)、86 (2016)、300 (2017)、128 (2018) 人と推定された(表2)。

宮城県における食中毒患者報告数は年別に、*Campylobacter* が143 (2005)、109 (2006)、32 (2007)、33 (2008)、9 (2009)、25 (2010)、9 (2011)、52 (2012)、8 (2013)、32 (2014)、5 (2015)、7 (2016)、19 (2017)、5 (2018) 人、*Salmonella* が12 (2005)、11 (2006)、25 (2007)、0 (2008)、23 (2009)、13 (2010)、0 (2011)、12 (2012)、0 (2013)、0 (2014)、0 (2015)、0 (2016)、0 (2017)、7 (2018) 人、*Vibrio parahaemolyticus*

が32 (2005)、0 (2006)、627 (下記参照) (2007)、37 (2008)、19 (2009)、16 (2010)、0 (2011)、1 (2012)、0 (2013)、0 (2014)、0 (2015)、0 (2016)、0 (2017)、0 (2018) 人であった (表2)。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。

1-6. 宮城県についての実患者数推定値を用いた全国の食品由来下痢症疾患実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ている (表1) ことから、宮城県の実患者数推定値から人口比で全国の実患者数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 (約54.1倍、2010年) を乗ずることで全国推定を行った。

全国における下痢症の推定食品由来患者数は年別に、*Campylobacter* が1,603,178 (2005)、1,569,344 (2006)、1,534,698 (2007)、1,333,266 (2008)、1,137,788 (2009)、1,008,678 (2010)、923,796 (2011)、747,320 (2012)、644,303 (2013)、718,899 (2014)、772,384 (2015)、803,240 (2016)、958,388 (2017)、898,137 (2018) 人、*Salmonella* が264,011 (2005)、155,743 (2006)、155,743 (2007)、189,794 (2008)、111,570 (2009)、172,687 (2010)、77,899 (2011)、101,447 (2012)、111,787 (2013)、145,566 (2014)、138,745 (2015)、142,210 (2016)、135,497 (2017)、216,698 (2018) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が83,366 (2005)、62,579 (2006)、55,650 (2007)、18,568 (2008)、13,912 (2009)、34,754 (2010)、16,186 (2011)、6,929 (2012)、11,585 (2013)、9,257 (2014)、9,257 (2015)、4,656 (2016)、16,240 (2017)、6,929 (2018) 人とそれぞれ推定された (表3)。

全国の食中毒患者報告数は年別に、*Campylobacter* が3,439 (2005)、2,297 (2006)、2,396 (2007)、3,071 (2008)、2,206 (2009)、2,092 (2010)、2,341 (2011)、1,834 (2012)、1,551 (2013)、1,893 (2014)、2,089 (2015)、3,272 (2016)、2,315 (2017)、1,995 (2018) 人、*Salmonella* が3,700 (2005)、2,053 (2006)、3,603 (2007)、2,551 (2008)、1,518 (2009)、2,476 (2010)、3,068 (2011)、670 (2012)、861 (2013)、440 (2014)、1,918 (2015)、704 (2016)、1,183 (2017)、640 (2018) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が2,301 (2005)、1,236 (2006)、1,278 (2007)、168 (2008)、280 (2009)、579 (2010)、87 (2011)、124 (2012)、164 (2013)、47 (2014)、224 (2015)、240 (2016)、97 (2017)、222 (2018) 人であった (表3)。

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全国の食品由来下痢症疾患実患者数の推定

全国の食品由来下痢症の実患者数把握に向けて、民間検査会社3社の菌検出データをも

とに推定を行った。

2-1. 各検査会社の住民カバー率の推定

各検査会社の各年の住民カバー率は、可能な限り EHEC 0157の検出数を使用して推定した。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 0157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。

対象の3菌の検出数データが得られた検査会社数に応じて、1~3社のカバー率合計値を推定に用いた。すなわち、2006~2008年はビー・エム・エル1社の各年のカバー率（2006年は8.5%、2007年は7.1%、2008年は10.0%）で、2009年はビー・エム・エルと LSI メディエンスの2社合計で14.4%であった。2010~2018年は3社合計のカバー率とし、2010年は15.8%、2011年は15.7%、2012年は20.4%、2013年は21.0%、2014年は20.9%、2015年は19.7%、2016年は19.1%、2017年は25.9%、2018年は23.8%であった（表4）。

2-2. 全国における年間菌検出数の推定

民間臨床検査会社における2006年（ビー・エム・エル1社）の菌検出数は、*Campylobacter* が10,144件、*Salmonella* が1,888件、*Vibrio parahaemolyticus* が523件、2007年（ビー・エム・エル1社）は *Campylobacter* が10,962件、*Salmonella* が1,886件、*Vibrio parahaemolyticus* が421件、2008年（ビー・エム・エル1社）は *Campylobacter* が12,934件、*Salmonella* が1,894件、*Vibrio parahaemolyticus* が216件、2009年（ビー・エム・エルと LSI メディエンス2社）は *Campylobacter* が14,057件、*Salmonella* が2,059件、*Vibrio parahaemolyticus* が227件、2010年（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3社、以下同）は *Campylobacter* が15,401件、*Salmonella* が2,434件、*Vibrio parahaemolyticus* が563件、2011年は *Campylobacter* が14,950件、*Salmonella* が2,705件、*Vibrio parahaemolyticus* が351件、2012年は *Campylobacter* が12,794件、*Salmonella* が2,258件、*Vibrio parahaemolyticus* が312件、2013年は *Campylobacter* が13,947件、*Salmonella* が2,324件、*Vibrio parahaemolyticus* が287件、2014年は *Campylobacter* が16,762件、*Salmonella* が2,726件、*Vibrio parahaemolyticus* が209件、2015年は *Campylobacter* が18,164件、*Salmonella* が2,728件、*Vibrio parahaemolyticus* が138件、2016年は *Campylobacter* が18,547件、*Salmonella* が2,689件、*Vibrio parahaemolyticus* が232件、2017年は *Campylobacter* が19,844件、*Salmonella* が3,090件、*Vibrio parahaemolyticus* が208件、2018年は *Campylobacter* が19,565件、*Salmonella* が3,103件、*Vibrio parahaemolyticus* が188件であった（表5）。

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。その結果、全国での各菌の検出数は、2006年は *Campylobacter* が119,341件、*Salmonella* が22,212件、*Vibrio parahaemolyticus* が6,153件、2007年はそれぞれ154,423件、26,563件、5,930件、2008年はそれぞれ129,340件、18,940件、2,160件、2009年はそれぞれ97,618件、14,299件、1,576件、2010年はそれぞれ97,475件、15,405件、3,563件、2011年はそれぞれ95,223件、17,229件、2,236件、2012年はそれぞれ62,716件、11,069件、1,529件、2013年はそれぞれ66,414件、11,067件、1,367件、2014年はそれぞれ80,201件、13,043件、1,000件、2015年はそれぞれ92,203件、13,848件、701件、2016年はそれぞれ

96,876件、14,045件、1,212件、2017年はそれぞれ76,618件、11,931件、803件、2018年はそれぞれ82,206件、13,038件、790件であると推定された。

2-3. 全国における食品由来下痢症疾患実患者数の推定

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、2014年夏、および2016年夏の計3回行われた（表1）。2009年12月5日～12月24日、2014年7月11日～8月3日、2016年7月22日～8月23日のそれぞれ約3週間に全国約1万2千人、約1万3千人、約2万3千人を対象として調査が行われた。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）。これらの値と全国における年間菌検出数とを用いて、全国における下痢症疾患の実患者数を推定した。

推定された実患者数の平均値は、*Campylobacter* では年別に13,078,840（2006）、16,924,710（2007）、14,173,930（2008）、10,699,920（2009）、10,687,290（2010）、10,427,500（2011）、6,873,533（2012）、7,285,664（2013）、8,799,557（2014）、10,101,070（2015）、10,641,090（2016）、8,401,971（2017）、9,015,508（2018）人であった。*Salmonella* では2,434,232（2006）、2,911,878（2007）、2,075,571（2008）、1,567,271（2009）、1,689,037（2010）、1,886,715（2011）、1,213,103（2012）、1,214,016（2013）、1,431,070（2014）、1,517,052（2015）、1,542,777（2016）、1,308,309（2017）、1,429,856（2018）人であった。*Vibrio parahaemolyticus* では674,313（2006）、650,000（2007）、236,707（2008）、172,788（2009）、390,685（2010）、244,820（2011）、167,621（2012）、149,924（2013）、109,719（2014）、76,742（2015）、133,107（2016）、88,067（2017）、85,708（2018）人と推定された。

宮城県についての推定の場合と同様に Mead らの結果を適用することにより、全国における下痢症の食品由来実患者数の平均値は年別に、*Campylobacter* が10,463,071（2006）、13,543,466（2007）、11,339,146（2008）、8,559,932（2009）、8,549,830（2010）、8,342,000（2011）、5,498,827（2012）、5,828,531（2013）、7,039,646（2014）、8,080,859（2015）、8,512,871（2016）、6,721,577（2017）、7,212,407（2018）人、*Salmonella* が2,312,520（2006）、2,767,039（2007）、1,971,792（2008）、1,488,907（2009）、1,604,585（2010）、1,792,379（2011）、1,152,448（2012）、1,153,315（2013）、1,359,516（2014）、1,441,199（2015）、1,465,638（2016）、1,242,894（2017）、1,358,363（2018）人、*Vibrio parahaemolyticus* が438,304（2006）、422,616（2007）、153,860（2008）、112,312（2009）、253,945（2010）、159,133（2011）、108,954（2012）、97,450（2013）、71,317（2014）、49,883（2015）、86,519（2016）、57,244（2017）、55,710（2018）人とそれぞれ推定された（表5）。

日本全国における人口10万人あたりの下痢症の食品由来実患者数の平均値は、*Campylobacter* が8,206（2006）、10,629（2007）、8,909（2008）、6,719（2009）、6,706（2010）、6,553（2011）、4,317（2012）、4,572（2013）、5,519（2014）、6,343（2015）、6,677（2016）、5,272（2017）、5,657（2018）人、*Salmonella* が1,815（2006）、2,172（2007）、1,549（2008）、1,169（2009）、1,259（2010）、1,408（2011）、903（2012）、

904 (2013)、1,066 (2014)、1,131 (2015)、1,150 (2016)、975 (2017)、1,065 (2018) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が344 (2006)、332 (2007)、121 (2008)、88 (2009)、199 (2010)、125 (2011)、86 (2012)、76 (2013)、56 (2014)、39 (2015)、68 (2016)、45 (2017)、44 (2018) 人とそれぞれ推定された(表5)。なお表5には2006～2018年の *Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の全国食中毒患者報告数も示してある。

食品由来下痢症疾患実患者数について、宮城県データからの全国推定結果(平均値)、全国データからの全国推定結果(平均値)、および全国の食中毒患者報告数を表6にまとめた。

【考察】

宮城県の臨床検査機関のデータから食品由来下痢症疾患実患者数の推定では、2005～2018年の14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による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のみでは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。より正確な患者数を把握するための補完システムとしてアクティブサーベイランスの構築およびその活用が必要であり、そのシステムにおいて最も重要なことは継続性であると考えられる。今回の研究手法による結果には不確実性による比較的大きな幅があるため、平均値等を別のサーベイランスの結果と比較するよりも、同一手法の推定を長期にわたり継続して行うことで同一サーベイランス内における変動を検討する方がより効果的と考えられる。

民間臨床検査会社3社から2006年以降の全国の菌検出データを収集し(年によってデータ提供会社数は異なる)、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を行った。宮城県の場合と同様、2006～2018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による報告数より大幅に多いことが確認された。また13年間の推定結果を検討した結果、宮城県の場合と同様、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は連動しているとは言えないことが示された。

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6.7～10.6倍、*Salmonella* では9.3～23.0倍、*Vibrio parahaemolyticus* では5.4～18.6倍の違いがあった(表6)。この違いはデータサイズや対象地域が大きく異なることを考慮すると、推定の結果としては比較的小さい違いであると考えられる。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ことから、この違いはそれぞれの推定に用いた検査機関(会社)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ものであると考えられる。特に住民カバー率の推定の方法は、宮城県の場合と全国の場合とで異なっており(前者は専門家の意見、後者はEHEC 0157やEHECの検出数)、推定結果の違いに対する影響が大きいと考えられる。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。2006～2007年と2009～2014、2016年との間に有症者の医療機関受診傾向や医師の検便実施傾向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、実患者数の推定結果に違いをもたらしている可能性がある。複数年にわたるアクティブサーベイランスによりカバー率をよりの確に把握することでその影響を少なくすることが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何より必要であると考えられる。

本研究で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。

本推定に使用したデータには不確定要素が複数存在する。検査会社住民カバー率は上述のように特定地域に発生したアウトブレイク等の影響を受ける。また医療機関受診率および検便実施率を推定した元データは特定時期（それぞれ2～3週間）における下痢症発症者のデータであり、米国のように継続した調査の結果と比較して大規模アウトブレイク等の不確定要素の影響を受けやすい。本研究に使用したデータの採取期間に大規模アウトブレイク等の報告はなかったものの、患者や医師の行動変化等の可能性を考えると、長期にわたり継続するか、もしくは時期を余り空けない定期的な調査による精度向上の可能性が考えられる。

食中毒に対する各種施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る。本研究での推定値は不確実性が大きい要素等が含まれた推定値ではあるものの、実患者数の幅を統計学的に推定することができ、その推定結果から、実患者数が報告数より大幅に多い可能性が定量的に、かつ多年度について示された点はリスク評価のみならず、今後のリスク管理措置の策定や改善措置などを講じる上で重要な意義を有すると思われる。特に、*Campylobacter* の被害実態の概要及びその経年変化の把握を可能とする本システムを用いた調査は継続的運用が不可欠である。なお、本システムの各不確定要素の推定の精度向上を図っていくことも今後の課題である。

表1. 全国を対象とした電話住民調査の結果（2009年冬、2014年夏、2016年夏）
 と宮城県を対象とした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 (2005～2018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
	2016	282	18,548	786	14,838	7
	2017	336	22,130	938	17,704	19
	2018	315	20,738	879	16,591	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
	2016	42	2,765	117	2,627	0
	2017	40	2,634	112	2,503	0
	2018	64	4,213	179	4,003	7
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
	2016	2	132	6	86	0
	2017	7	461	20	300	0
	2018	3	198	8	128	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17～30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. 宮城県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とその食中毒患者報告数との比較（2005～2018年、日本全国人口1億2777万人）

検出菌	年	推定食品由来患者数（全国）	※食中毒患者報告数（全国）
カンピロバクター	2005	1,603,178	3,439
	2006	1,569,344	2,297
	2007	1,534,698	2,396
	2008	1,333,266	3,071
	2009	1,137,788	2,206
	2010	1,008,678	2,092
	2011	923,796	2,341
	2012	747,320	1,834
	2013	644,303	1,551
	2014	718,899	1,893
	2015	772,384	2,089
	2016	803,240	3,272
	2017	958,388	2,315
	2018	898,137	1,995
サルモネラ	2005	264,011	3,700
	2006	155,743	2,053
	2007	155,743	3,603
	2008	189,794	2,551
	2009	111,570	1,518
	2010	172,687	2,476
	2011	77,899	3,068
	2012	101,447	670
	2013	111,787	861
	2014	145,566	440
	2015	138,745	1,918
	2016	142,210	704
	2017	135,497	1,183
	2018	216,698	640
腸炎ピブリオ	2005	83,366	2,301
	2006	62,579	1,236
	2007	55,650	1,278
	2008	18,568	168
	2009	13,912	280
	2010	34,754	579
	2011	16,186	87
	2012	6,929	124
	2013	11,585	164
	2014	9,257	47
	2015	9,257	224
	2016	4,656	240
	2017	16,240	97
	2018	6,929	222

（宮城県データ：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）

※ 食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計資料、平成17～30年食中毒発生状況）

表 4. 全国を対象とした民間検査会社の住民カバー率の推定（2006～2018年）

年	検査機関住民カバー率(合計)
2006	8.5%(1社)
2007	7.1%(1社)
2008	10.0%(1社)
2009	14.4%(2社)
2010	15.8%
2011	15.7%
2012	20.4%
2013	21.0%
2014	20.9%
2015	19.7%
2016	19.1%
2017	25.9%
2018	23.8%

※2010年以降は3社

表5. 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とその食中毒患者報告数（全国）との比較（2006～2018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	※ ² 推定食品由来患者数 （全国）【平均値】	※ ³ 食中毒患者 報告数（全国）	推定食品由来患 者数（10万人あた り）【平均値】
カンピロバクター	2006	10,144	10,463,071	2,297	8,206
	2007	10,962	13,543,466	2,396	10,622
	2008	12,934	11,339,146	3,071	8,893
	2009	14,057	8,559,932	2,206	6,714
	2010	15,401	8,549,830	2,092	6,706
	2011	14,950	8,342,000	2,341	6,543
	2012	12,794	5,498,827	1,834	4,313
	2013	13,947	5,828,531	1,551	4,571
	2014	16,762	7,039,646	1,893	5,521
	2015	18,164	8,080,859	2,089	6,338
	2016	18,547	8,512,871	3,272	6,677
	2017	19,844	6,721,577	2,315	5,272
2018	19,565	7,212,407	1,995	5,657	
サルモネラ	2006	1,888	2,312,520	2,053	1,814
	2007	1,886	2,767,039	3,603	2,170
	2008	1,894	1,971,792	2,551	1,547
	2009	2,059	1,488,907	1,518	1,168
	2010	2,434	1,604,585	2,476	1,259
	2011	2,705	1,792,379	3,068	1,406
	2012	2,258	1,152,448	670	904
	2013	2,324	1,153,315	861	905
	2014	2,726	1,359,516	440	1,066
	2015	2,728	1,441,199	1,918	1,130
	2016	2,689	1,465,638	704	1,150
	2017	3,090	1,242,894	1,183	975
2018	3,103	1,358,363	640	1,065	
腸炎ビブリオ	2006	523	438,304	1,236	344
	2007	421	422,616	1,278	332
	2008	216	153,860	168	121
	2009	227	112,312	280	88
	2010	563	253,945	579	199
	2011	351	159,133	87	125
	2012	312	108,954	124	86
	2013	287	97,450	164	76
	2014	209	71,317	47	56
	2015	138	49,883	224	39
	2016	232	86,519	240	68
	2017	208	57,244	97	45
2018	188	55,710	222	44	

※¹ 菌検出数：下記の民間検査会社の検出データを合計した。

2010～2018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18～30年食中毒発生状況）

表6. 宮城県および全国についてのアクティブサーバ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とその食中毒患者報告数（全国）との比較（2006～2018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】	※食中毒患者報告数 (全国)
カンピロバクター	2006	1,569,344	10,463,071	2,297
	2007	1,534,698	13,543,466	2,396
	2008	1,333,266	11,339,146	3,071
	2009	1,137,788	8,559,932	2,206
	2010	1,008,678	8,549,830	2,092
	2011	923,796	8,342,000	2,341
	2012	787,320	5,498,827	1,834
	2013	644,303	5,828,531	1,551
	2014	718,899	7,039,646	1,893
	2015	772,384	8,080,859	2,089
	2016	803,240	8,512,871	3,272
	2017	958,388	6,721,577	2,315
	2018	898,137	7,212,407	1,995
サルモネラ	2006	155,743	2,312,520	2,053
	2007	155,743	2,767,039	3,603
	2008	189,794	1,971,792	2,551
	2009	111,570	1,488,907	1,518
	2010	172,687	1,604,585	2,476
	2011	77,899	1,792,379	3,068
	2012	101,447	1,152,448	670
	2013	111,787	1,153,315	861
	2014	145,566	1,359,516	440
	2015	138,745	1,441,199	1,918
	2016	142,210	1,465,638	704
	2017	135,497	1,242,894	1,183
	2018	216,698	1,358,363	640
腸炎ビブリオ	2006	62,579	438,304	1,236
	2007	55,650	422,616	1,278
	2008	18,568	153,860	168
	2009	13,912	112,312	280
	2010	34,754	253,945	579
	2011	16,186	159,133	87
	2012	6,929	108,954	124
	2013	11,585	97,450	164
	2014	9,257	71,317	47
	2015	9,257	49,883	224
	2016	4,656	86,519	240
	2017	16,240	57,244	97
	2018	6,929	55,710	222

・宮城県データ（2006～2018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：

2010～2018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18～30年食中毒発生状況）

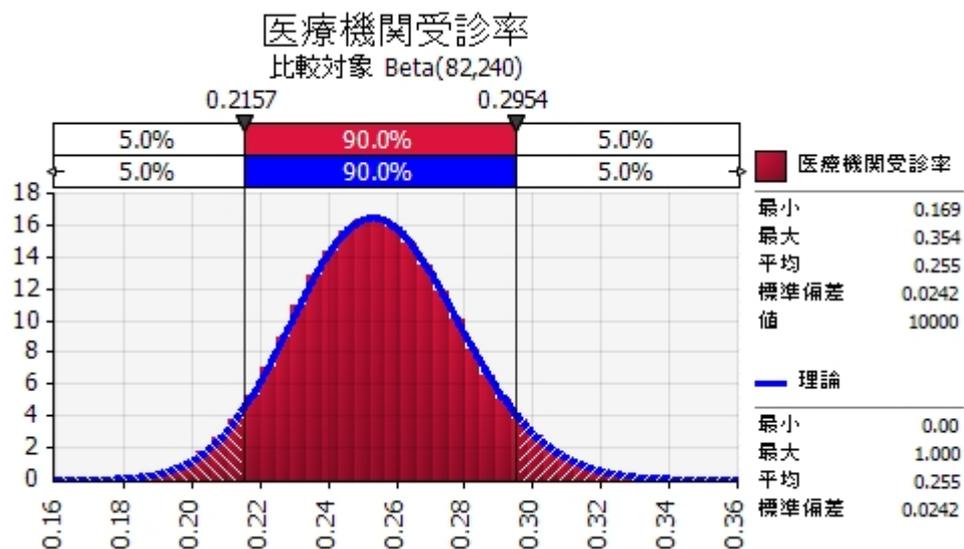


図1：2009年冬期、2014年夏期、2016年夏期の電話住民調査の統合データから推定した全国の医療機関受診率（試行1万回）

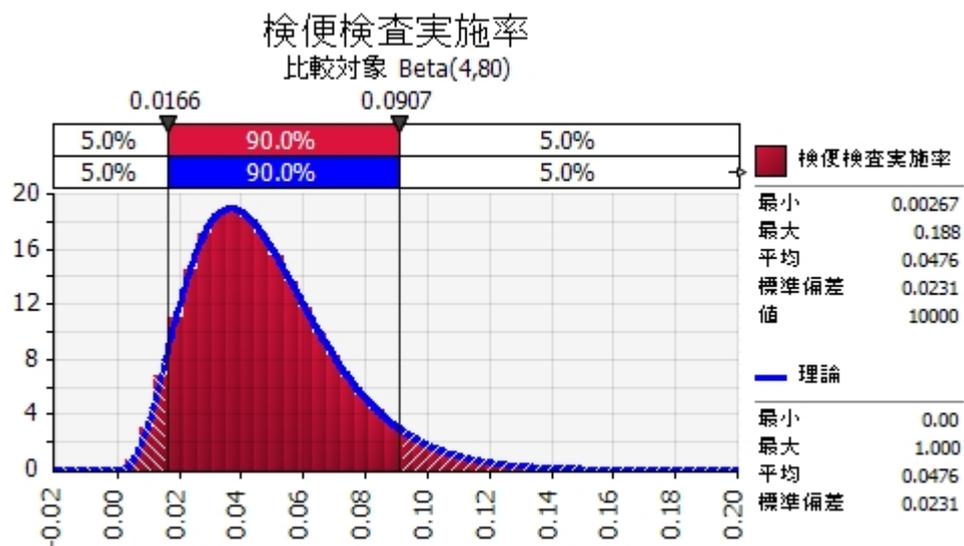


図2：2009年冬期、2014年夏期、2016年夏期の電話住民調査の統合データから推定した全国の検便検査実施率（試行1万回）

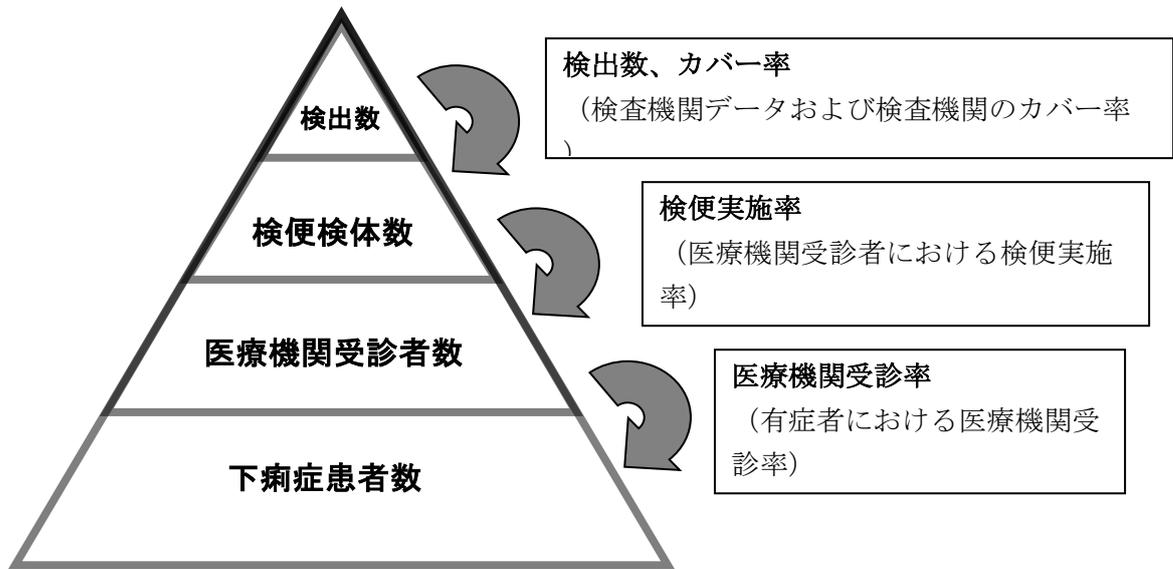


図3. 下痢症疾患実患者数の推定

(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の推定を行う)

引用文献：

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.

2) 個別課題名：カンピロバクター食中毒の原因食品寄与率推定に関する検討
(研究担当者名：熊谷優子(所属機関名：和洋女子大学))

【背景及び目的】

カンピロバクター感染に係る食品寄与率については各国の食習慣等により異なると想定される。国内では過去に検討が行われたこともあるが、鶏肉が食中毒事例の原因食品として占める割合が増加の一途を辿ると推察される現状において科学的な手法を用いた推定は行われていない。本個別課題では、こうした背景を基に、食品寄与率を推計することを目的とした。

【材料及び方法】

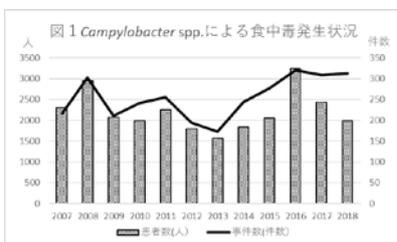
初年度は、専門家の意見を基にした解析手法 (expert elicitation) を用いた食品寄与率の解析を行うため、日本カンピロバクター研究会会員等からの意見を収集し、解析した。令和元年度は専門家の意見による解析結果を還元するため、カンピロバクター研究会にて研究報告を行うこととした。また、デンマーク工科大学のSara博士の協力を得て、食中毒調査結果をもとにした食品寄与率推定モデルを作成し、国内の食中毒調査(2007年～2018年) データからカンピロバクター属菌による食品由来疾患の食品寄与率を算出した。また、食中毒統計及び食中毒調査報告データを収集し、カンピロバクター属菌による食中毒の発症率(発症者/喫食者)の変化を分析した。更に、カンピロバクター属菌による急性胃腸炎疾患患者等から分離されたカンピロバクター属菌の遺伝情報を解析するため、PubMLSTデータベースに登録されている菌株情報を収集した。

【結果】

表1に、2007年から2018年までのカンピロバクター属菌による食中毒事例(一人事例を除いた事例)の発生状況及び発症率を示した。表2にカンピロバクター属菌による食中毒の原因食品を単一食品、複合食品、更に不明の場合に分類した結果を示した。表3に食中毒調査結果を用いた食品寄与率の推計結果を示した。表4にPubMLSTデータベースから抽出した日本のカンピロバクター属菌の分離状況を示した。

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
事件数(件数)	216	303	211	242	256	195	173	244	277	321	309	313
患者数(人)	2305	2960	2072	1985	2261	1796	1572	1831	2048	3254	2433	1989
発症率(%)	56.6	60.2	60.2	58.6	58.5	60.1	61.2	63.2	62.8	61.2	60.4	61.4

(厚生労働省食中毒統計及び食中毒調査報告より)



	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
単一食品	57	48	75	45	43	48	34	63	50	63	50	80
複合食品	29	37	0	13	13	4	5	9	11	3	7	5
原因食品不明	333	430	272	304	281	216	189	235	257	273	265	234

(食中毒調査報告より)

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Chicken	75.3(73.3-76)	78.3(76.3-78.9)	73.3(73.3-73.3)	68.5(67.3-69.1)	78.0(78-78)	70.0(70-70)	100(100-100)	94.3(93-94.4)	96.5(96.6-96.6)	92.3(90.9-92.4)	92.7(92.7-92.7)	92.9(92.9-92.9)
Beef	23.3(22.7-25.3)	20.4(19.7-22.4)	4.0(4-4)	26.1(25.5-27.3)	20.0(20-20)	26.0(26-26)	0(0-0)	2.9(2.8-4.2)	1.8(1.7-1.7)	4.6(4.5-6.1)	3.6(3.6-3.6)	2.4(2.4-2.4)
Pork	1.4(1.3-1.3)	1.3(1.3-1.3)	0(0-0)	1.8(1.8-1.8)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	1.4(1.4-1.4)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Water	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	4(4-4)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	3.6(3.6-3.6)	0(0-0)
shellfish	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
seaweed	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
finfish	0(0-0)	0(0-0)	1.3(1.3-1.3)	1.8(1.8-1.8)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	1.7(1.7-1.7)	1.5(1.5-1.5)	0(0-0)	0(0-0)
Seafood	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
OilsSugar	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
GrainsBeans	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Vegetables	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
FruitsNuts	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Game	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	1.8(1.8-1.8)	2(2-2)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	1.5(1.5-1.5)	0(0-0)	0(0-0)
Horse	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Mutton	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Lamb	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Turkey	0(0-0)	0(0-0)	18.7(18.7-18.7)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Ducks	0(0-0)	0(0-0)	2.7(2.7-2.7)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Poultry	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Meat	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	1.2(1.2-1.2)
GoatMilk	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Dairy	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	1.4(1.4-1.4)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	3.5(3.5-3.5)
Eggs	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)

注) 括弧内は95%信頼

区間

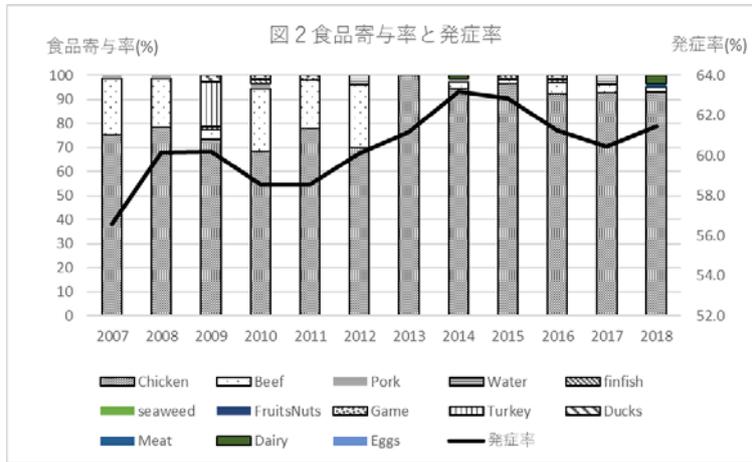


表4-1 日本Campylobacter coliの検出状況

		ST-1150	ST-828	ST-952	不明	合計
cattle	2010			1		1
	2011			1		1
	2013			16		16
	2014			8		8
	2015			0		0
chicken	2007	0	1		2	3
	2008	0	3		2	5
	2009	0	8		1	9
	2010	1	1		1	3
	2013	0	3		0	3
	2014	0	7		0	7
	2015	0	2		0	2
	2018	0	0		0	0
human stool	2006			0	2	2
	2007			1	0	1
	2008			7	0	7
	2009			10	0	10
	2010			5	0	5
	2011			9	0	9
	2012			1	0	1
	2014			8	0	8
other animal	2015				2	2
pig	2011		1		1	2
	2012		0		4	4
	2013		12		1	13
	2014		13		0	13
wild bird	2014				2	2

(PubMLSTより)

表4-2 日本におけるCampylobacter jejuni の検出状況

		ST-1150	ST-1275	ST-179	ST-206	ST-21	ST-22	ST-257	ST-283	ST-353	ST-354	ST-403	ST-42	ST-443	ST-45	ST-460	ST-464	ST-48	ST-49	ST-52	ST-574	ST-607	ST-61	ST-658	ST-692	ST-952	不明	合計		
broiler environment	2010					0						0					0											2	2	
	2013					6						1					0												0	7
	2014					0						0					3												2	5
cattle	2005					3	1	1	0	0	0	0	2	5			0	0	0	0	0	0	0	1				2	15	
	2006					11	4	0	3	0	0	0	0	5			0	0	4		0	0	3					6	36	
	2012					3	0	0	0	6	4	0	0				5	5	0				3	9	0			4	39	
chicken	2003	0	0			1	0	0		0	0				1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	
	2004	0	1			2	0	0		0	0				1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	7	
	2005	0	0			4	0	0		1	1				1	3	0	1	6	0		3	1				0	6	27	
	2006	0	0			9	2	0		4	2				6	9	2	8	7	0		2	0				0	6	57	
	2007	1	0			6	0	0		3	1				0	0	3	0	3	0		0	0				0	6	23	
	2008	0	0			4	0	0		1	3				0	0	0	0	1	0		0	0				0	2	11	
	2009	0	0			5	0	1		0	5				3	1	1	3	1	0		1	1			1	1	1	24	
	2010	0	0			7	0	0		9	2				1	7	0	8	0	0		0	0			0	0	3	37	
	2011	0	0			0	0	0		0	0				3	0	0	0	0	0		0	1			0	0	1	5	
	2012	0	0			0	1	1		0	3				0	1	1	1	0	0		0	0			0	0	1	9	
	2013	0	0			0	0	0		0	0				0	0	0	0	0	0		0	0			0	0	0	1	1
	2015	0	0			1	0	0		0	1				0	0	2	0	0	0		0	0			0	0	0	2	6
2017	0	0			2	0	0		1	1				1	1	2	2	0	0		0	0			0	0	0	7	17	
2018	0	0			3	0	0		1	2				0	0	0	4	0	2		0	0			1	1	3	16		
chicken offal or meat	2010					1	1																						2	2
	2015					0	2																							2
environmental waters	2010																												1	1
farm environment	2019											1												1					1	3
human stool	1982					0	0	1	0	0	1	0			0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	5
	2000					0	0	1	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
	2002					0	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	2003					0	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	2005					0	11	1	0	0	0	2			2	1	2	0	0	5	1	1	0	0	0	1		6	33	
	2006					1	15	9	6	0	4	1			4	4	5	2	0	6	2	0	1	0	1	0		6	67	
	2007					0	0	0	0	1	0	0			0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	2008					0	1	0	0	0	0	2			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4
	2009					0	1	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	2010					0	17	4	0	0	0	2			0	3	1	8	0	1	0	0	3	1	2	0		4	46	
	2011					0	5	9	1	0	0	0			3	0	2	0	0	0	1	0	0	1	1	0		2	25	
	2013					0	2	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	2014					0	0	0	0	0	0	1			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	2015					0	1	7	0	0	0	1			0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	15
2017					0	3	1	0	0	0	0			0	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	12	
2018					0	0	1	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
pig	2013											1																	1	1
wild bird	2010			0	4																							1	17	22
	2012			0	0																							1	0	1
	2013			1	0																							0	1	2
	2014			0	0																							1	20	21
unknown	1997					0	1			0	0			0			1			0		0						0	2	
	2009					0	0			0	0			0			1			0		0						0	1	
	2012					2	0			2	1		2				1			2		5						7	22	

(PubMLSTより)

【考察】

2007年～2018年の食中毒調査の結果から得られるカンピロバクター属菌由来の食中毒の食品寄与率は全ての年で「鶏肉およびその加工品」、「牛肉及びその加工品」が90%を占め、2011年、2012年の生食用の牛肉等に関する規制強化後の2013年以降は90%以上が鶏肉由来の食中毒であった。また、カンピロバクター食中毒の発生状況をみると、生食用牛肉等の規制強化後の2013年は事件数、患者数共に減少したが、2014年には規制前の発生状況に戻り、更に平均発症率は60%以上を維持している。このことから、鶏肉のカンピロバクター汚染低減対策の充実は本食中毒の発生低減を図る上で必須の課題と思われる。

今後は、本研究で進めたデンマーク工科大学のSara博士との共同研究を進展させるべく、異なる食品寄与率推定法である、カンピロバクター菌株の遺伝情報に基づく解析を行う必要があると考えられる。

(5) 研究項目名：ギラン・バレー症候群（GBS）に関連性の高い菌株の特性解析

1) 個別課題名：ギラン・バレー症候群（GBS）関連菌株の収集

(研究担当者名：坂田 淳子（所属機関名：大阪健康安全基盤研究所）)

【背景・目的】

国内で発生するギラン・バレー症候群（GBS）は軸索障害型が多いとされるほか、生物学的要因として、血清型HS:19型のカンピロバクター株が高い関連性を示すとの報告もある。しかしながら、当該血清型株の特性については明らかにされておらず、同血清型の特性を理解することは、他血清型とのリスクの高低を比較・検討する上で必須の事項である。こうした背景を基に、本個別項目では、HS:19型株を研究班全体で10株以上収集することを目的として検討を開始した。

【材料及び方法】

大阪府内の食中毒検査業務において、カンピロバクター食中毒が疑われた事例より、原因菌として分離されたカンピロバクター・ジェジュニ株を対象として、デンカ生研のキットを用いた血清型別試験を行い、0群の血清型に陽性反応を示す菌株を主任研究者に送付した。

【結果】

平成30年度は4株、平成31年度はギラン・バレー患者由来株1株を含む5株（臨床由来3株、食品由来2株）のHS:19型株を収集し、個別課題2)の担当者である主任研究者に提供した。

【考察】

近年のカンピロバクター食中毒事例では一定頻度でHS:19型株が分離されていることを確認した。本食中毒罹患者のうち、ギラン・バレー症候群の潜在的発症リスクを有するとされる現状の疫学情報を踏まえ、リスク低減を啓発する意味でも、今後は食中毒由来株や食品分離株に占める当該血清型の割合についてモニタリングを行うことが、本菌感染による危害性の強弱を見極める上で有用な知見となるものと考えられる。

2) 個別課題名：GBS と関連性の高い菌株の特性解析

(研究担当者名：朝倉 宏（所属機関名：国立医薬品食品衛生研究所）)

【背景・目的】

血清型 HS:19 型のカンピロバクター・ジェジュニ株については、国内で発生するギラン・バレー症候群（GBS）との関連性が指摘されているが、同血清型株の特性についてはこれまで報告がない。カンピロバクターは菌株間でのゲノム多様性が高いことから、本個別課題では、同血清型株のゲノム特性の理解向上に資する基礎知見の集積を図ることを目的として検討を行った。

【材料及び方法】

昨年度は、大阪健康安全基盤研究所より分与された4株及びGBS患者由来ATCC株2株のドラフトゲノム解析を行った。本年度は、大阪健康安全基盤研究所坂田淳子氏より提供を受けた菌株のほか、研究協力者である東京都健康安全研究センター赤瀬悟氏及び島根県環境保健研究所川瀬遵博士より計16株の0:19型株の分与を受けた。併せて鹿児島大学中馬猛久教授より野鳥由来0:19型2株の分与を受けた後、計18株をNGS解析に供した。また、同血清型代表株をヒト由来培養細胞（INT-407細胞）を用いた細胞付着侵入試

験に供した。更に、PubMLST データベース上に収載される *C. jejuni* 株のうち、GBS 患者由来株の血清型に関する情報を収集した。

【結果】

0 群血清型株のドラフトゲノム解析を実施した。供試株の多くは遺伝子型として ST-22 であったが、一部は ST-9723 であった。関連情報として、PubMLST データベース上に収載される GBS 患者由来 *C. jejuni* HS:19 型株は日本のほか、オランダ、米国、メキシコでの報告があり、その多くは ST-22 であるとの知見を収集した (9/13 株)。

また、ゲノム解析データに基づく薬剤耐性遺伝子の探索の結果、全ての供試株は *bla_{oxa-61}* の保有並びに *cmeR* 点変異 (E84K) を認めた。また、GBS の原因物質と想定される LOS (リポオリゴ糖) の型別は全て GBS との関連性が高いとされる A 型と判定された (表 1)。全ゲノム配列解読株をあわせたゲノム系統解析を通じ、同血清型株は菌株間で近似性 (安定性) に富むことが明らかになった (図 1)。また、他血清型株との配列比較解析を通じ、細胞付着侵入性に係る複数の構成遺伝子で他血清型株に比した多型性が推定されたため、INT-407 細胞を用いた細胞付着侵入試験を行ったところ、HS:19 型代表株は NCTC 11168 株や 81-176 株等に比べ、細胞付着性が乏しい形質を示した。

【考察】

上記成績から、血清型 0 群の菌株間ゲノム安定性と共に、同血清型株は細胞付着性に乏しい形質を有することが示された。後者の表現形質解析から、GBS 発症の前段階に顕れる本菌の感染過程ではヒト腸管上皮細胞への付着性は必要とは言い難いことが示唆された。当該血清型株のゲノム安定性に関わる遺伝学的要因を他血清型間での SNPs 解析を通じて検討したが、分離源等による差異は見られず、本血清型の形質を基とした原因推定は困難と思われる知見を得た。

C. jejuni の型別法として、90 年代までは血清型別が国際標準として運用されていたが、現在ではモニタリングやサーベイランスには適さないと判断され、国際的には MLST 型別法が代替的な標準型別法として疫学解析に使用されている。実際に PubMLST データベースに収載される GBS 患者由来株の約半数 (2000 年以降の分離株が大半を占める) では血清型別は未定であり、MLST 情報が登録されている。一方、日本国内では依然として血清型別が大腸菌等と同様の取り扱いと見做され、型別法として踏襲的に運用されている状況にある。血清型別は簡便性という利点はあるものの、識別能が低いほか、近年では型別不能率も 50%を切る状況にある。国内では、現在型別率の向上に向けた PCR 法の設定やキットの再評価等も検討されているが、国際動向を踏まえた疫学情報向上に資する、国内対応方針の策定は今後検討すべき課題と思われる。なお、本研究の成果については、令和 2 年度中に学術論文として投稿する予定である。

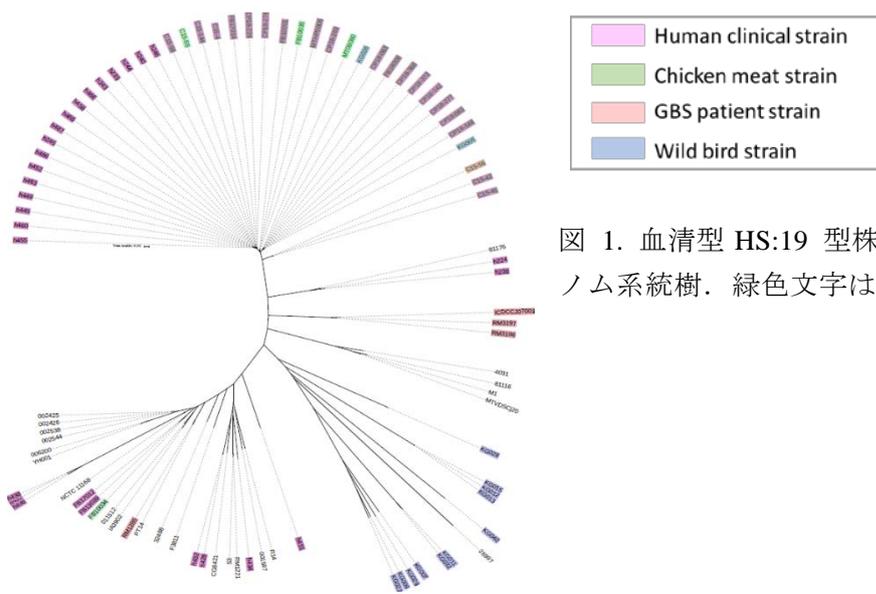


図 1. 血清型 HS:19 型株を含む *C. jejuni* のゲノム系統樹. 緑色文字は HS:19 型株を示す。

表 1. 本研究で用いた HS:19 型株のゲノム特性の概要.

Strain	Source	MLST	LOS	Antimicrobial resistance gene				Antimicrobial susceptibility (Phenotype) ^{†1}						Virulence gene						
				Acquired gene		Point mutation		CPEX	NA	TC	ABPC	GM	KM	Adherence & colonization			Invasion		Cytotoxin production	
				<i>bla</i>	<i>tetO</i>	<i>gyrA</i>	<i>cmeR</i>							<i>cadF</i>	<i>dnaJ</i>	<i>racR</i>	<i>virB11</i>	<i>iam</i>		<i>ciaB</i>
MTHP0006	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	+	-	E84K	S	S	R	S	S	S	+	+	+	+	+	+	+
FB10001	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	-	E84K	S	S	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
FB17014	Human	9723	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	+	T86I	E84K	R	R	R	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
FB18008	Human	9723	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	(A)	+
C15-4	Human	9723	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	-	-	+
C15-42	Human	9723	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
C15-45	Human	9723	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	-	-	+
C15-59	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
C15-144	Human	9723	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-060	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-063	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-142	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-226	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-148	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	-	E84K	S	S	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-263	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-276	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-277	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I/D90N	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-366	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
CP18-373	Human	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
C15-56	GBS patient	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
MT08080	Chicken meat	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	-	E84K	S	S	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
FB10035	Chicken meat	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	+	-	E84K	S	S	R	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
C15-55	Chicken meat	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
KG0006	Wild bird	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I/D90N	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+
KG0026	Wild bird	22	A	<i>bla</i> _{OXA-61}	-	T86I	E84K	R	R	S	S	S	S	+	+	+	-	+	+	+

(7) 定量分析法に関する検討

(研究担当者名：中山達哉(所属機関：国立医薬品食品衛生研究所)、坂田淳子(所属機関：大阪健康安全基盤研究所)、朝倉 宏(所属機関名：国立医薬品食品衛生研究所))

【背景及び目的】

本個別課題では、食鳥処理工程において、食鳥と体のカンピロバクター陽性・陰性判定を迅速簡便に判断し得ることが期待される蛍光イムノクロマト法について、検出感度・精度を検証し、食鳥処理等への適用性を考察することを目的とした。

【材料及び方法】

古河アドバンスドエンジニアリングの協力を得て、大阪健康安全基盤研究所で作出した4B4単クローン抗体(8mg/ml, 750 μ l)を用いてカンピロバクターに対する蛍光イムノクロマトを作成した。その後、異なる菌数の*C. jejuni* 81-176株懸濁液を調整し、同クロマトへ適用させることで検出感度を評価した(各群5検体)。加えて、*C. jejuni* 12株、*C. coli* 7株、その他の菌種14株を対象として、反応性を評価した。

【結果】

蛍光イムノクロマトの検出感度を81-176株を用いて評価したところ、約 10^2 オーダー以上での検出が可能と判断される知見を得た(図1)。その後、鶏皮へ同菌株を添加した場合の回収試験を行い、約 10^3 オーダー/g以上であれば同抗原検出法を用いて検出できる可能性が示された。複数の菌株を用いた評価の結果、*C. jejuni*及び*C. coli*は全株に反応性を認めた。両菌種では、菌株間で検出感度に幅を認め、*C. jejuni*では $9.6 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^4$ CFU、*C. coli*では $1.0 \times 10^4 \sim 8.0 \times 10^4$ CFUが検出下限値として算出された。

【考察】

従来より報告されている呈色反応性のイムノクロマト法に比べ、本研究で作成した蛍光イムノクロマト法は相対的に高い検出感度を示したと考えられる。また、反応特異性については今後菌株数を増やす必要はあるが、同属菌のうち、*C. fetus*、*C. hyointestinalis*のほか、近縁菌である*Arcobacter butzleri*は何れも陰性反応を示したことから、これらの共在が想定される食鳥肉検体での適用について今後実地での検証が進むことが期待される。

(2) 研究全体の成果、考察及び結論

本研究では、生産・食鳥処理・消費の各段階において定量的リスク評価に必要とされる科学的知見の集積を図ると共に、今後検討が必要と思われる事項について得られた成績を基に考察を行った。

生産・食鳥処理段階での検討成績として、まず長期飼育される採卵鶏は経時的に盲腸内菌数を減少させる傾向にあり、実際に異なる日齢の採卵鶏は出荷日齢ではそれ以前に比べ、盲腸内菌数は減少傾向にあることを確認できた。また、こうした時系列的な菌数変動と関連して構成菌叢の変動も見られたことは、長期飼育に伴う腸内細菌叢の変動が本菌の定着等に関与する可能性を示唆していると考えられる。南九州地方で加工・消費される鳥刺し等の生食形態の食鳥肉製品については、原料肉として主に成鶏を用いているほか、一般衛生管理に加えて特徴的な焼烙工程を設けることで、一定の安全性確保を行っている現状を把握できた。また、ブロイラー鶏等のいわゆる肉用若鳥は総じて高い保菌数を示し、大規模食鳥処理場において中抜き方式で処理した場合にも冷却工程前後で大幅な菌数低減を示した。但し、こうした低減効果は上述の生食形態で提供された場合には直接的にヒトへの感染リスクを有する状態であり、今後も処理工程における衛生管理の更なる高度化に向けた検討が必要であるほか、更に川下の段階にある流通調理段階での制御を充実させることが本菌による健康被害低減に必要不可欠な事項と思われる。食鳥処理工程を通じたカンピロバクター汚染動態の把握には、本研究で用いた定量法を活用することが有用と思われる。

食中毒患者における菌数把握に関する検討では、食中毒患者由来検体 1g あたり概ね 10^3 オーダーの菌数が下限値であることが明らかとなったほか、統計解析を通じ、定量リアルタイム PCR 法を用いて食中毒患者由来検体中の同菌コピー数を算出することで、原因菌数を予測する補正式を作成することができた。また、疫学情報を付加することで本菌の菌数低減を招く抗菌剤の種類を示すことができた。逆に言えば、こうした抗菌剤を服用した患者由来検体から培養法により原因菌を検出することは極めて困難とも考えられ、本研究で評価したリアルタイム PCR 法の活用は定量的データの収集のみならず、食中毒の原因究明にも寄与するものと考えられる。

健康被害実態推定及び食品寄与率に関する検討では、継続的に統一されたアクティブサーベイランス手法を活用することで、国内における散発事例も含めた本食中毒による健康被害実態を推定できることを示した。また、過去 10 年以上に亘り、検討されていなかった食品寄与率推定では、現状の原因食品として、食鳥肉が大きく関与する実態を統計的手法を用いて示すことができたと考えられる。

ギランバレー症候群との関連性が高いと目される血清型 HS:19 型株のゲノム特性に関する検討では、複数の由来、地域から成る菌株を収集し、ゲノム特性として、本血清型株間ではゲノム安定性が高いとおもわれる知見を得た。海外においても本血清型株はギランバレー症候群との関わりが深いことが示され、同血清型株の特異的検出法を検討することも今後の課題と思われる。

また、蛍光イムノクロマト法に関する検討では、同法の特異性と感度を明確にすることができた。食鳥処理工程における適用を考える上では、サンプリング方法の設定をはじめ、実地での検証を通じた検討は今後の課題であるが、既存の呈色反応性イムノクロマト

法に比べて、本研究で検討対象とした蛍光イムノクロマト法はより高感度な検出をもたらす可能性が示唆された。

III 本研究を基に発表した論文等

1 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト（※別添として別刷（投稿中のものは、受理証明書の写し）を提出すること。また、査読付きの場合は、雑誌名の冒頭に◎を付すこと。）

・ Asakura H, Sakata J, Nakamura H, Yamamoto S, Murakami S. Phylogenetic diversity and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* from humans and animals in Japan. ◎Microbes Environ. 2019;34(2):146-154.

・ 柿内梨那, 阿井隆之介, 堀内雄太, 朝倉 宏, 中馬猛久. 認定小規模食鳥処理場の生食用鶏肉加工におけると体表面の焼烙による加熱が微生物汚染低減にもたらす効果. ◎日本食品微生物学会雑誌. 2019;36(2):105-109.

・ 柿内梨那, 阿井隆之介, 堀内雄太, 朝倉 宏, 中馬猛久. 鹿児島県内で市販される鳥刺しと加熱用鶏肉のカンピロバクター汚染状況. ◎日本食品微生物学会雑誌. 2019;36(4):165-168.

・ Kumagai Y, Pires SM, Kubota K, Asakura H. Attributing human foodborne diseases to food sources and water in Japan using analysis of outbreak surveillance data. ◎J Food Prot. 2020 (In press). DOI: 10.4315/JFP-20-151.

2 本研究を基にした学会発表の実績

・ 柿内梨那, 下地康大, Vu Minh Duc, 中馬猛久. 鳥刺し用と加熱用食鳥肉の原材料におけるカンピロバクター汚染状況. 第 39 回日本食品微生物学会学術総会 (大阪) 2018 年 9 月.

・ 下地康大, 阿井隆之介, 柿内梨那, Vu Minh Duc, 小尾岳士, 中馬猛久. 鳥刺し用食鳥肉の原材料でのカンピロバクター汚染調査. 第 161 回日本獣医学会学術集会 (茨城) 2018 年 9 月.

・ 朝倉宏, 森田幸雄, 中馬猛久, 中村寛海. 食鳥肉におけるカンピロバクター汚染制御と汚染探知への次世代シーケンサーの活用. 第 161 回日本獣医学会学術集会 (茨城) 2018 年 9 月.

・ 川瀬遵, 朝倉宏. Real-time PCR による糞便検体からの食中毒菌の検出と培養成績との相関. 第 71 回日本細菌学会中国・四国支部総会 (愛媛) 2018 年 10 月.

・ Kubota K, Amanuma H, Tamura M, Tamai K, Shimojima M, Shibuya S, Sakurai Y, Komatsu M, Kasuga F. Estimating the burden of foodborne illness for *Campylobacter*, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan, 2006-2015. International Association for Food Protection (IAFP) Annual meeting (Salt Lake City, US). July/2018.

・ 佐々木貴正, 五十君静信, 朝倉宏. 食鳥処理場におけるカンピロバクター交叉汚染. 第 11 回日本カンピロバクター研究会総会 (徳島). 2018 年 12 月.

- ・朝倉宏, 山本詩織, 中山達哉, 佐々木貴正, 岡村雅史, 中馬猛久. 野鳥由来カンピロバクター・ジェジュニの鶏腸管適用及びこれに関わるゲノム変動. 第11回日本カンピロバクター研究会総会(徳島). 2018年12月.
- ・畑中 律敏, 日根野谷 淳, 山崎 伸二. 食鳥処理場における鶏と体のカンピロバクターによる汚染状況. 第40回日本食品微生物学会学術総会(東京) 2019年11月.
- ・朝倉宏, 坂田淳子, 赤瀬悟, 山本詩織, 川瀬遵. Distribution and phylogenetic diversity of *Campylobacter jejuni* HS:19 in Japan. 日本微生物生態学会第33回大会(山梨). 2019年9月.
- ・朝倉宏. と鳥, 食鳥肉からのカンピロバクター試験法. 第12回日本カンピロバクター研究会総会(鹿児島). 2019年9月.
- ・佐々木貴正, 朝倉宏. 食鳥工程における「とたい」のカンピロバクター汚染菌量の変化. 第12回日本カンピロバクター研究会総会(鹿児島). 2019年9月.
- ・中山達哉, 山本詩織, 朝倉 宏, 村上覚史, 鳥居恭司. 鶏の生産段階におけるカンピロバクター動態解析. 第40回日本食品微生物学会学術総会(東京) 2019年11月.

3 特許及び特許出願の数と概要

該当なし

4 その他(各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等)

該当なし

IV 研究開始時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

1 達成目標の自己評価

達成目標	評価結果	自己評価コメント
(1) 鶏の生育過程における動態解析: 動物実験計画に沿って、鶏を適切に飼育・採材すると共に、定量解析及び菌叢解析を実施する。	5	採卵鶏の長期実験感染系を導入・維持し、継続的に盲腸内菌数の動態を定量解析することで、菌数は初期に上昇するものの長期間飼育を通じて減少する事象を明らかにした。また盲腸菌叢の構成はカンピロバクター菌数動態と相関を示すことを明らかにした。
(2) 生食用食鳥肉から流通に至る本菌汚染動態に関する検討: 生食用食鳥肉に係る本菌定量動態を外剥ぎ施設で評価する。	5	盲腸便がカンピロバクター陰性の鶏群を食鳥処理に供した場合、対象施設のように小規模な施設では、ロット単位で作業がなされるため、可食部からもカンピロバクターが検出されないこと、一方で陽性鶏群は処理工程を通じて可食部を汚染する可能性があること、盲腸内菌数が限定的である成鶏を原料として用いていること、生食用食鳥肉製造加工工程では表面焼烙が適切になさ

		れており、焼烙後の可食部はほぼカンピロバクター陰性を確保できることが示された。
(3) 肉用鶏の生産から流通に至る本菌汚染実態に関する検討①：肉用鶏の小規模食鳥処理場における汚染菌数の動態解析を開始する。	5	計5回の定量評価を実施し、うち1回のみでカンピロバクターが検出された。このことは生産段階での肉用鶏（ブロイラー鶏）の本菌制御の可能性を示唆するほか、処理後の食鳥肉からも比較的低い汚染菌数であったことから、対象施設での腸管内容汚染を一定程度制御できている実態を確認できたと言える。衛生状況の確認は定期的・継続的に行うべきと考えられ、迅速簡便性を持つ（定量）検出法の開発・評価は本菌の汚染管理に極めて重要と思われる。
(4) 肉用鶏の生産から流通に至る本菌汚染実態に関する検討②：肉用鶏の大規模食鳥処理場における汚染菌数の動態解析を開始し、データ蓄積にあたる。	5	西日本の大規模食鳥処理場において処理される肉用若鳥を対象として、工程別に汚染菌数を求め、特に本冷却を通じて本菌汚染が顕著にあらわれることを示した。また、内臓肉における汚染菌数を求めた。
(5) 食鳥処理工程を通じた本菌汚染動態に関する定量的リスク分析：既存定量的評価モデルの適切性を判断した上で、データ解析を行う。	4	JEMRA の定量的リスク評価手法を導入し、上記の検討で得られたデータをインプットすることでリスクを評価することができた。
(6) 食中毒発症患者における菌数把握に関する検討：定量リアルタイム PCR 法及び培養法を用いて、カンピロバクター食中毒事例由来検体中の原因菌定量解析を行う。	5	定量リアルタイム PCR 法及び培養法を用いたカンピロバクター食中毒事例由来検体中の原因菌を定量検出することができた。特に発症者の下限値を求められた点、リアルタイム PCR 法による成績から搬入時検体の菌数を予測する補正式を作成できた点、疫学情報を加味することで抗菌剤の有効性を推定できた点は今後活用が期待される内容と考える。
(7) 食中毒被害実態推定に関する検討：臨床検査機関からのデータ収集に関する承諾を得た上で、年度内にそ	5	散発事例も含めた食中毒被害実態の継続した把握や動向調査が可能となり、リスク評価や食中毒対策の評価に寄与できる情報を提供することができた。精度向上および継

のデータ収集及び解析を進められるよう調整を行う。		続性の確保が今後の課題である。
(8) カンピロバクター食中毒の原因食品寄与率推定に関する検討：食中毒調査結果や専門家の意見に基づく食品寄与率推計作業を進行させると共に、関連文献収集を進める。	5	食中毒調査結果やヒアリングに基づく食品寄与率推定を行うことができた。また、100株以上の菌株の遺伝子情報の集積を行えたことから、今後遺伝子情報に基づく寄与率推定も行うべき課題として抽出された。
(9) ギラン・バレー症候群(GBS) 関連菌株の収集及び特性解析：HS:19型株を2年間で10株程度収集しゲノム特性に関する解析を実施する。	5	当初計画を超える計 18 株の HS:19 型株を収集し、ゲノム解析を行うことで、同血清型株間では極めて高いゲノム相同性を有すること、本菌の病原遺伝子のうち付着・定着性関連遺伝子を共通に保有する一方、侵入性に関わる virB11 遺伝子や細胞膨化壊死毒素構造遺伝子 (cdtABC) はほぼ保有しない特性を示すことを明らかにできた。
(10) 定量分析法に関する検討：蛍光イムノクロマト法について、検出感度・精度を検証し、食鳥処理等への適用性を考察する。	5	蛍光イムノクロマトを作成し、検出感度及び精度(特異性)を検証することで、食鳥処理等への適用の可能性を示した。今後、適用性を判断する上では実地での検証が必要と思われる。

注) 評価結果欄は「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点すること。

2 研究全体の自己評価

項目	評価結果	自己評価コメント
(1) 研究目標の達成度	5	計画に沿って各個別課題を進め、当初計画以上の内容を進めることができた。
(2) 研究成果の有用性	5	成鶏での時系列に応じた菌数動態は基礎では腸内細菌叢との関わりを探索するモデルとして、応用では低汚染原料候補となる可能性が想定される。食鳥処理工程を通じた汚染動態解析結果及び評価については、サンプリング・解析方法を示す参考資料としての活用が期待される。また、外剥ぎ方式処理場ではブロイラー鶏肉も相対的に低い菌数となっていた。対して、中抜き方式処理場では本冷却工程の一層の管理が必要であることを示す知見として活用されることが期待される。健康被害実態推定成績は継続的

	<p>なデータ取得を行うことでリスク管理措置の適切性を判断する指標として用いることが期待される。食品寄与率推定成績は海外との比較成績として、特に我が国では食鳥肉に因るカンピロバクター食中毒被害が多いことを統計学的に示す根拠として活用が期待される。食中毒発症患者における菌数成績は発症患者の菌数を指し示した我が国では初めての例であり、生体内動態を評価する際の根拠として有用性が期待されるほか、食中毒対応への波及が期待される。GBS関連性を示す HS:19 型株のゲノム特性に関する検討成績は本血清型特異的な検出法の開発への応用性が期待される。蛍光イムノクロマト法の評価成績は、実地での評価へと応用されることが期待される。</p>
--	---

総合コメント

全体を通じ、計画に沿って多方面のアプローチを行い、カンピロバクター食中毒の定量的リスク評価並びにリスク管理の向上に資するための科学的知見を集積することができたと考える。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。

(別紙) 研究成果の概要 (英文)

Title of research project	Research for quantitative risk analysis of <i>Campylobacter</i> food poisoning in Japan
Research project number	1806
Research period	FY 2018 – 2019
Name of principal research investigator (PI)	Hiroshi Asakura, D.V.M., Ph.D.

Abstract/Summary

FSCJ conducted self-tasking risk assessment on *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in chicken on 2009. Given the risk assessment report proposed the development of quantitative risk assessment for reducing the bacterial contamination in chicken throughout food chain, this study aimed at accumulating scientific evidences for quantitative risk assessment of *Campylobacter* contamination in chicken meat.

Throughout the study, we adopted universal method ISO 10272-2:2017 for quantitative detection of *C. jejuni* and *C. coli* from a variety of samples. For the microbial detection from human clinical specimens, we simultaneously used real-time PCR approach as considered variation of bacterial survival conditions dependent on the samples. Toward poultry cecal samples, we used 16S rRNA pyrosequencing methods to elucidate dynamics of bacterial community structures during the experimental terms. Fluorescence-based immunochromatography was constructed to examine its sensitivity and specificity for the detection of *C. jejuni* and *C. coli*.

To monitor spatiotemporal dynamics of *C. jejuni* in poultry caeca, *C. jejuni* 81-176 was experimentally administrated into SPF chicken at 2weeks age, and fed for up to 10 months. The bacterial numbers continuously increased for up to 4-8 weeks p.i., whereas thereafter decreased. At 6, 8, 10 months p.i., only one out of five birds were positive for *C. jejuni*. In parallel to the altered bacterial colonization fitness, bacterial community structures were also altered between 0-8 weeks p.i. and 4-10 months p.i., suggesting the association between these bacterial dynamics.

We also conducted the quantitative detection of the thermophilic *Campylobacter* at poultry slaughterhouses. At one processing plant that produced chicken-sashimi located on south Kyushu area, laying hen at old age were used as materials. Important issue was that the surface of the poultry carcasses were heated prior to cutting, which process clearly decreased the numbers of *Campylobacter* spp. At other slaughterhouses, we could obtain the quantitative data showing that chilling process drastically decreased the bacterial contamination on the poultry carcasses.

We also examined the estimation of the burden of foodborne campylobacteriosis in Japan as well as its source attribution. Fluorescence immunochromatography-based detection

system was also developed and its sensitivity and specificity were examined, revealing approximately 10^3 cells of *C. jejuni* 81-176 could be detected by this approach although the system exhibited variation of detection sensitivity dependent on bacterial strains.

A total of 289 clinical fecal samples originated from patients who suffered from campylobacteriosis were subjected quantitative detection assays. The real-time PCR assays showed greater sensitivity than the culture-based methods, and the data of which also exhibited association with the medication history of the sources. We calculated correction formula to predict bacterial numbers based on the qPCR approach.

Together, we expect that our data would contribute to the development of risk assessment of *Campylobacter* contamination in chicken meats, provided by the FSCJ.

This report provides outcome of the captioned research programme funded by Food Safety Commission Japan (FSCJ). This is not a formal publication of FSCJ and is neither for sale nor for use in conjunction with commercial purpose. All rights are reserved by FSCJ. The view expressed in this report does not imply any opinion on the part of FSCJ.

1. List of papers published on the basis of this research

- 1) Asakura H, Sakata J, Nakamura H, Yamamoto S, Murakami S. Phylogenetic diversity and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* from humans and animals in Japan. *Microbes Environ.* 2019;34(2):146-154.
- 2) Kakiuchi R, Ai R, Horiuchi Y, Asakura H, Chuma T. The Effect of heating surface on the reduction of microorganism: Contamination through chicken-sashimi processing in a small-size poultry processing plant. *Jpn. J. Food Microbiol.* 2019;36(2):105-109.
- 3) Kakiuchi R, Ai R, Horiuchi Y, Asakura H, Chuma T. *Campylobacter* Contamination of Torisashi (Chicken-Sashimi) and Chicken Meat for Cooking Retailed in Kagoshima. *Jpn. J. Food Microbiol.* 2019;36(4):165-168.
- 4) Kumagai Y, Pires SM, Kubota K, Asakura H. Attributing human foodborne diseases to food sources and water in Japan using analysis of outbreak surveillance data. *J. Food Prot.* In press. DOI: 10.4315/JFP-20-151.

2. List of presentations based on this research

- 1) Kakiuchi R, Shimoji Y, Duc VM, Chuma T. Prevalence of *Campylobacter* spp. in chicken-sashimi and chicken meats for heat-processing. The 39th Annual meeting of Japan Society for Food Microbiology. Osaka, Sep 2018.
- 2) Shimoji Y, Ai R, Kakiuchi R, Duc VM, Obi T, Chuma T. Quantitative detection of *Campylobacter* spp. from the materials of chicken-sashimi products. The 161th Annual meeting of Japan Society for Veterinary Medical Sciences. Ibaraki, Sep 2018.
- 3) Asakura H, Morita Y, Chuma T, Nakamura H. Control of *Campylobacter* spp. in chicken meats and application of next generation sequencer for tracking the contamination. The 161st Annual meeting of Japan Society for Veterinary Medical Sciences.

Ibaraki, Sep 2018.

4) Kawase J, Asakura H. Detection of foodborne pathogens by real-time PCR: its application for estimating the bacterial numbers. The 71st Annual meeting of Japan Society for Bacteriology, Chugoku-Shikoku area. Ehime, Oct 2018.

5) Kubota K, Amanuma H, Tamura M, Tamai K, Shimojima M, Shibuya S, Sakurai Y, Komatsu M, Kasuga F. Estimating the burden of foodborne illness for *Campylobacter*, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan, 2006-2015. International Association for Food Protection (IAFP) Annual meeting (Salt Lake City, US). July 2018.

6) Sasaki T, Igimi S, Asakura H. Cross contamination of *Campylobacter* spp. at poultry slaughterhouse. The 11th Annual meeting of Japan Society for *Campylobacter* Research. Tokushima, Dec 2018.

7) Asakura H, Yamamoto S, Nakayama T, Sasaki T, Okamura M, Chuma T. Fitness of chicken intestinal colonization and the associated genomic alteration of *Campylobacter jejuni* from wild birds. The 11th Annual meeting of Japan Society for *Campylobacter* Research. Tokushima, Dec 2018.

8) Asakura H, Sakata J, Akase S, Yamamoto S, Kawase J. Distribution and phylogenetic diversity of *Campylobacter jejuni* HS:19 in Japan. The 33th Annual meeting of Japan Society for Microbial Ecology. Yamanashi, Sep 2019.

9) Asakura H. Testing methods for the detection of *Campylobacter jejuni* and *coli* from poultry carcass and meat. The 12th Annual meeting of Japan Society for *Campylobacter* Research. Kagoshima, Sep 2019.

10) Sasaki T, Asakura H. Dynamics of *Campylobacter* contamination on poultry carcass at slaughter. The 12th Annual meeting of Japan Society for *Campylobacter* Research. Kagoshima, Sep 2019.

11) Nakayama T, Yamamoto S, Asakura H, Murakami S, Torii Y. Spatiotemporal dynamics of *Campylobacter* in poultry by experimental infection. The 40th Annual meeting of Japan Society for Food Microbiology. Tokyo, Nov 2019.

12) Hatanaka T, Hinenoya A, Yamasaki S. Quantitative detection of *Campylobacter* spp. on the surface of poultry carcasses during slaughter. The 40th Annual meeting of Japan Society for Food Microbiology. Tokyo, Nov 2019.

3. The number and summary of patents and patent applications

None

4. Others (awards, press releases, software and database construction)

None