

原 著

モデル式による腸炎ビブリオ食中毒の発症率と摂取菌量 及び発症必要菌量到達時間の推計

小川 博美, 竹田 義弘, 井上 佳織*, 東久保 靖

The Study for Risk Assessment of Dose and Response, and Predictive Modelling of Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in Sea Food.

HIROMI OGAWA, YOSHIHIRO TAKEDA, KAORI INOUE* and YASUSHI TOUKUBO

(Received Oct. 2, 2002)

We studied to clarify the mechanism of food poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus* by predictive microbiological modelling, quantitative microbiological risk assessment of dose and response, and modelling the growth of *Vibrio parahaemolyticus* in a kind of sea food.

To find out relationship between exposed dose(N) and probability of infection(Pi), by using exponential and beta-poisson models for food poisoning due to *V. parahaemolyticus*.

The parameter defining the dose-response models were estimated to be $Pi=1-(1+N/130,835,222)^{-970.2}$, $Pi=1-\exp(-0.00000689*N)$ with the basic data which at exposed dose of 5log(10) and 6log(10)CFU/person, probability of infection was 50%, and 100%, respectively. Those models led us to estimate the exposed dose to be 85,000CFU and 92,000CFU/person at the 47.1% of probability of infection.

We predicted the growth time of arrival dose for infection in the kind of sea food concerned, by using simple model and Gompertz model. The simple model led us to estimate the time for arrival at 5log(10)CFU, 6log(10)CFU/person to be 42 and 64 min at 10 min of generation time, and 78 and 116 min at 15 min, respectively.

Maximum likelihood estimates of the parameters of the Gompertz equation based on the derived probability of infection are calculated using data published by Fujiwara in boiled octopus, "Yude Tako" inoculated initial population of 320CFU/g, and reserved at 30°C. The model equation led us to estimate the time for arrival at 5log(10)CFU, 6log(10)CFU/person to be 66 and 120 min, and generation time to be 11.2 min.

By these results, the use of predictive modelling on the surveys for outbreaks of food poisoning was useful as a tool for microbial risk assessment. And critical control points for prevention of food poisoning caused by *V. parahaemolyticus*, were to reduce initial populations, to prevent cross-contamination in cooking, and to control the storage temperature and the time after cooking to consumption.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, Food poisoning, Dose-response, Predictive modelling, Gompertz model

要 約

腸炎ビブリオ食中毒の発症機構について予測微生物学的手法により検討した。

発症率(Pi)と摂取菌量(N)の関係をモデル式、ポアソンモデル式、指数モデル式を応用して試みた。10⁵ CFU/人摂取時、発症率50%、10⁶ CFU/人摂取時、発症率100%の基礎データを代入し、式のパラメーターを求めると、 $Pi=1-(1+N/130,835,222)^{-970.2}$ 、 $Pi=1-\exp(-0.00000689*N)$ が得られた。これらのモデル式から発症率47.1%時の推計摂取菌量は、85,000CFU/人、92,000CFU/人と推計された。

原因食品中の発症必要菌量到達時間を単純モデルとGompertzモデルを用い検討した。単純モデルでは、初期汚染菌量100/g、食品摂取量100g/人、世代時間10分、15分の条件で、10⁵ CFU/人、10⁶ CFU/人への到達時間は、それぞれ42分、64分及び78分、116分が推計された。

Gompertzモデルのパラメーターの計算は、藤原らの報告したゆでタコ中に320 CFU/g接種、30°C保存時の増殖データに基き最も適合する数値を求めた。えられたモデル式では世代時間11.2分、100g摂取の場合、10⁵ CFU/人到達に66分、10⁶ CFU/人到達に120分がそれぞれ算出された。

以上のように食中毒についても予測微生物学的技法として各種のモデル式を応用することが有効と考えられ

* 広島県動物愛護センター：Hiroshima Prefectural Animal Management and Welfare Center

た. 本菌食中毒予防の重要管理点は, 初期汚染菌量の抑制と二次汚染の防止, 調理後の保存温度と摂取までの時間管理が最も重要であることが明らかにされた.

はじめに

腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) は, 1950年, 日本でシラス食中毒の原因菌として世界ではじめて発見された[1]. 本菌食中毒の発生は1997年まで急激に増加したが, 1996年腸管出血性大腸菌O157の流行とともに食品衛生対策が強化され増加傾向は鈍化している [2]. しかし, わが国の食文化である生鮮魚介類の生食習慣やグルメ嗜好の食生活から, 本菌は依然として夏季食中毒の重要な原因菌種となっている.

厚生労働省は腸炎ビブリオ食中毒予防対策として, 平成13年6月生食用魚介類の規格, 基準を設定し, 発生予防対策の強化を進めている[3, 4].

今日, 食品の安全性確保にむけ食品製造への HACCP システムの導入が進められ, 多くの食品で予測微生物学の技法を用いたリスクアセスメントが応用されている [5-20]. その中では, 関与する病原微生物の暴露用量と生体の反応評価 (Dose-response) に基づいた数値的リスク評価法が試みられている.

そこで 本菌食中毒における用量 - 反応評価(Dose-response model)について 感染モデル式を応用し, 増殖, 摂取, 発症の機構を明らかにする目的で発症率から摂取総菌量の推計を行った. さらに, 予測微生物学による食品中の発育モデルを用いて, 原因食品中の各種条件下(世代時間別)での発症必要菌量到達時間を推計した. モデル的検討ではあるが, 腸炎ビブリオ食中毒の発生機構について数値的な予測と予防対策への有効な解析結果を得たので報告する.

材料および方法

1) 発症率からの摂取菌量のモデル推定

腸炎ビブリオ食中毒における発症率と摂取菌量の測定報告は少ない. 一般に本菌食中毒の発症率は平均33.6%といわれてきた[21]. 著者らは1975~1999年の食中毒統計データを抽出し, 事例毎の発症率の分布から, その中央値は47.1%(29%~79%)であることを明らかにした [22]. そこで, Hass, C.N.らの暴露菌量(exposed dose)と感染確率(probability of infection)について, 次に示す推計モデル

式 (1) -poisson model, (2) exponential modelを応用し, 本菌発生時の発症率と摂取菌量を推計した[23, 24].

$$P_i = 1 - (1 + N/\lambda)^{-\lambda} \quad (\text{-poisson model}) \dots\dots\dots (1)$$

$$P_i = 1 - \exp(-r \times N) \quad (\text{exponential model}) \dots\dots\dots (2)$$

応用したモデル式(1), (2)に滝川らが報告した菌量 10^5 CFU, 10^6 CFU /人摂取時, 発症率それぞれ50%, 100%を基礎データとして入力し, (1), (2)式の各パラメーターを求め, P_i ; 感染確率(発症率)と N ; 摂取総菌量(暴露菌量)の関係を求めた[25].

2) 原因食品中での発症必要菌量到達時間のモデル推計
原因食品中での本菌の発症必要菌量到達時間を単純モデル式(3)とGompertzモデル式(4)で推計した[26].

$$L(t) = F \times A(1 + 2^{-(t/G)}) \dots\dots\dots (3)$$

(L(t); t時間経過の摂取総菌量 (CFU/人),
F; 食品摂取量(g/人当たり),
A; 食品中初期汚染菌量(1g当たり),
t; 保存時間(分), G; 世代時間(分))

$$L(t) = F \times (A + C \times \exp(-\exp(-B(t-M)))) \dots\dots\dots (4)$$

(L(t); T時間経過の摂取総菌量 (1人当たり),
F; 食品摂取重量 (g/1人当たり),
A; 食品中初期汚染菌量 (1g当たり),
C; 最大増殖菌量の常用対数, 発育速度が最大となる培養時間 (hr),
B; M(最大増殖)時の発育速度)

Gompertz式の計算は, 藤川から供与された簡易ソフトを用い, 測定値はTable 1に示す藤原らの報告したためタコに菌量320CFU/g添加し, 30 保存の条件下で得られた成績の近似値を入力しパラメーターを算出した [5, 27]. 解析ソフトは経時的測定値を 10組(時間, 菌数, 希釈倍数)入力すれば, 測定値が対数変換 $(\ln(-\ln((\log N - A)/C)))$ 後, 各パラメーターや, 世代時間, 6分毎の推計菌量が出力される. (Table 1)

結 果

1) 発症率からの摂取菌量の推定

各モデル式のパラメーターは, それぞれ次の(5), (6)式

Table 1. The growth data[27] of *V.parahaemolyticus* on sea food for estimated by Gompertz model.

Incubation time hr (t)	0	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	5	6
Numbers of CFU/Plate (a)	32	130	32	16	40	10	60	32	40	20
Dilution times(log10) (b)	1	1	2	3	3	4	4	5	6	7
Log10 (a×10 ^b)CFU/g	2.505	3.114	3.505	4.204	4.602	5	5.699	6.508	7.602	8.901
ln(-ln((log10(N-A)/C))	1.417	0.792	0.572	0.248	0.079	-0.087	-0.388	-0.777	-1.502	-2.340

† N; (a)×(10^b), A; Initial level of bacteria, C; Number of log cycles of growth, [27]; Fujiwara et al.

が得られた。

$$P_i = 1 - (1 + N/130,835,222)^{-907.2} \dots\dots\dots(5)$$

$$P_i = 1 - \exp(-0.00000689 \times N) \dots\dots\dots(6)$$

(5), (6)式によると発症率47.1%時の推定摂取総菌量は、それぞれ85,000CFU/人, 92,000CFU/人を得た。この場合の摂取総菌量は 10^5 CFU/人以下であり、原因食品摂取量を100gと仮定すれば、原因食品の汚染菌量はその $1/100$ の 10^3 CFU/g以下と推計された。(Fig.1, Table 2)

2) 食品中での発症必要菌量到達モデルによる推計

発症率100%の時、摂取総菌量を 10^6 CFU/人とした場合、原因食品の汚染菌量は 10^4 CFU/gとなる。この条件を前提に単純モデル式 (3) $L(t) = F \times A \times (1 + 2^{(t \div G - 1)})$ を用い、摂取総菌量 $L(t)$ が 10^5 CFU, 10^6 CFU/人となる t (到達時間)を求めると、世代時間(G)が10分, 15分, 20分, 25分, 30分では 10^5 /人到達にそれぞれ42分, 64分, 84分, 106分, 126分および、 10^6 /人到達にはそれぞれ78分, 116分, 154分, 192分, 230分と推計された。(Table 3)

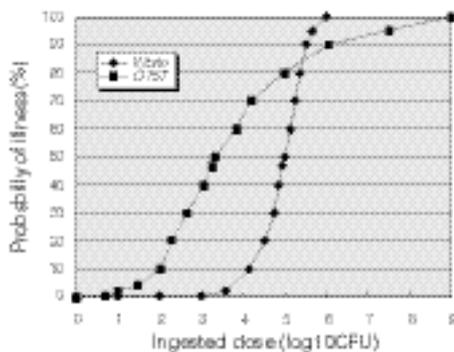


Fig.1 Relation between probability of illness and dose response for *V. parahaemolyticus* (□) and EHEC O157 (○) by β -poisson model.

† ; EHEC O157 graph was depicted with data reported by Cassin[13]

Table 2 Relation between probability of infection and ingested dose which were estimated.

Probability of illness	Model(5) † β -poisson	Model(6) ‡ exponential
Pi	N/person	N/person
100%	1,000,000	1,000,000
90%	330,000	334,000
80%	233,000	233,000
70%	174,000	175,000
60%	132,000	130,000
50%	100,000	101,000
40%	73,700	74,200
30%	51,500	52,500
20%	32,300	34,000
10%	15,200	15,300

† Model(5); $P_i = 1 - (1 + N/130,835,222)^{-907.2}$

‡ Model(6); $P_i = 1 - \exp(-0.00000689 \times N)$

3) Gompertzモデルによる推計

藤原らの「ゆでタコ」中、 30 , 初期汚染菌量 320 CFU/g, の測定データから経時的なデータを入力し解析した結果をFig. 2, Table 4に示した。世代時間 (G) は11.2分, 10^5 CFU/ヒト到達時間66分, 10^6 CFU/ヒト到達に120分がそれぞれ推計された。Growth曲線の各パラメーターは $M = 2.52$ hr, $B = 0.60$ /g/hr, $C = 6.5$ が算出され、入力データの変換値と時間 (t) の相関は $R = -0.992$ で直線性を示した。(Fig. 2, Table 4)

Table 3 Simulation of the predictive time for numbers required to causing symptoms by simple model.

Generation time	Ingested 5log(10)CFU 50% of probability	Ingested 6log(10)CFU 100% of probability
10min	42 min	84 min
15min	64 min	116 min
20min	84 min	154 min
25min	106min	192 min
30min	126min	230min

† Weight of ingested food was 100g/person.

‡ Initial population of bacteria were 100CFU/g.

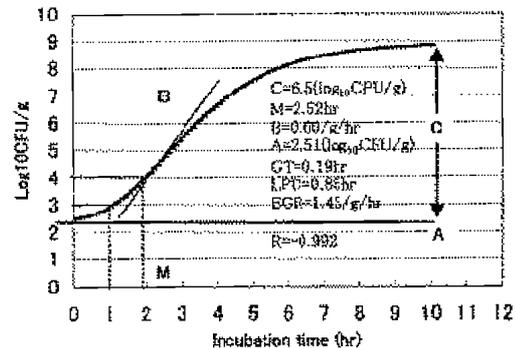


Fig.2 Growth curve of *V. parahaemolyticus* with the Gompertz model on sea food at 30 .

Table 4 Parameters of Gompertz model and derived growth kinetics values of *Vibrio parahaemolyticus* on sea food at 30 .

Gompertz model $L(t) = A + C \cdot \exp(- \exp(- B(t - M)))$	values
(Parameters values for the model fitted to the functions data) where: $L(t)$; log count of bacteria at time t (log (10) CFU/g)	-
M; Time at which the absolute growth rate is maximal (hr)	-2.52hr
B; Relative growth rate at M (log (10) CFU/g/hr)	-0.60/g/hr
A; Initial level of bacteria (log (10) CFU/g)	-1.4/g
C; Number of log cycles of growth (log (10) CFU/g)	-6.5/g
(Derived growth kinetics equations)	
GT; Generation time, $(\log(2) \cdot e) / BC$ (hr)	-0.19hr
LPH; Lag phase duration, $M - (1/B)$ (hr)	-0.85hr
EGR; Exponential growth rate, $BC \cdot e$ (log (10) CFU/g/hr)	-1.43/g/hr
R; Correlation between t and $\ln(-\ln((\log(10)N - A) / C))$	-0.992
(The predictive time estimated using the model)	
Arrival at ingested 5log (10)CFU/person	-66min
Arrival at ingested 6log (10)CFU/person	-120min
Arrival at ingested 7log (10)CFU/person	-162min

Table 5 Probability of illness and exposed dose caused by several groups of micro-organisms.

Model	Microorganisms	Models and parameters(α, β, λ)	Probability of illness and exposed dose					N_{50}	reference
			10^5	10^6	10^7	10^8	10^9		
Model (1)	<i>Escherichia coli</i>	$Pi=1-(1+N/161,000)^{-1}-0.1705$	0.000	0.001	0.010	0.079	0.286	500×10^5	[18]
	<i>Shigella</i> spp.	$Pi=1-(1+N/345)^{-1}-0.248$	0.570	0.705	0.802	0.922	0.968	53	[23]
	<i>Shigella dysenteriae</i>	$Pi=1-(1+N/100)^{-1}-0.50$	0.298	0.699	0.901	0.968	0.990	300	[24]
	<i>Shigella flexneri</i> 2a	$Pi=1-(1+N/2,000)^{-1}-0.20$	0.010	0.078	0.301	0.545	0.712	62×10^5	[24]
	<i>Shigella dysenteriae</i>	$Pi=1-(1+N/211.6)^{-1}-0.28$	0.387	0.692	0.822	0.906	0.951	230	[29]
	<i>Shigella flexneri</i>	$Pi=1-(1+N/8346)^{-1}-0.24$	0.172	0.459	0.684	0.818	0.895	1400	[29]
	Echovirus 12	$Pi=1-(1+N/186.69)^{-1}-0.374$	0.148	0.499	0.776	0.905	0.959	1000	[30]
	Poliovirus 3	$Pi=1-(1+N/1.14)^{-1}-0.5$	0.894	0.986	0.990	0.997	0.999	34	[24]
	Rotavirus	$Pi=1-(1+N/0.62)^{-1}-0.26$	0.759	0.868	0.927	0.960	0.978	5.6	[31]
	<i>E. coli</i> O157	$Pi=1-(1+N/2.47)^{-1}-0.267$	0.630	0.799	0.891	0.941	0.968	31	[31]
	<i>S. Meleagridis</i>	$Pi=1-(1+N/440000)^{-1}-0.89$	0.000	0.002	0.019	0.167	0.622	12×10^4	[32]
	<i>Campylobacter jejuni</i>	$Pi=1-(1+N/7.9)^{-1}-0.15$	0.324	0.517	0.688	0.758	0.828	800	[32]
	<i>Campylobacter jejuni</i>	$Pi=1-(1+N/2.46)^{-1}-0.12$	0.361	0.514	0.631	0.720	0.788	800	[29]
<i>E. coli</i> O111/O65	$Pi=1-(1+N/11456)^{-1}-0.175$	0.002	0.015	0.104	0.328	0.514	59×10^4	[8]	
<i>V. parahaemolyticus</i>	$Pi=1-(1+N/130,835,222)^{-1}-9072$	0.004	0.007	0.067	0.459	0.909	1×10^5	this study	
Model (2)	<i>Giardia</i> spp.	$Pi=1-\exp(-0.198 \times N)$	0.842	1	1	1	1	35	[23]
	<i>Cryptosporidium</i>	$Pi=1-\exp(-0.00467 \times N)$	0.373	0.991	1	1	1	150	[23]
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	$Pi=1-\exp(-0.004 \times N)$	0.329	0.982	1	1	1	175	[32]
	<i>Salmonella</i> spp.	$Pi=1-\exp(-0.00752 \times N)$	0.829	0.999	1	1	1	92	[18]
	Poliovirus 1	$Pi=1-\exp(-0.00910 \times N)$	0.087	0.598	0.999	1	1	800	[31]
	Echovirus 12	$Pi=1-\exp(-0.0122 \times N)$	0.705	0.999	1	1	1	57	[24]
<i>V. parahaemolyticus</i>	$Pi=1-\exp(-0.00000689 \times N)$	0.004	0.007	0.067	0.458	0.909	1×10^5	this study	

† Model(1): $Pi=1-(1+N/\beta)^{-1}-\alpha$ (α -poisson model), Model(2): $Pi=1-\exp(-\alpha \times N)$ (exponential model)

‡ Nonexposed dose (CFU/person), Pi: probability of illness (infection), N_{50} : dose of 50% probability.

考 察

感染症の発症モデルとして (1) α -poisson model, (2) exponential modelが報告, 応用されてきた[23, 24]. 今回このモデル式を食中毒細菌に応用し, 感染確率を発症率に, 暴露菌量を摂取総菌数として検討した結果 2式は近似した推計値を示した. 暴露菌量と感染確率の報告は, ウイルスや赤痢菌等の感染症微生物では多くみられるが, 食中毒菌についての報告は比較的少ない[28-34]. 本菌食中毒の発症率は, 食中毒統計での算術平均で33.6%, 中央値で47.1%と報告がある[21, 22]. 今回得られたモデルによる発症率47.1%時の総摂取総菌数は, 85,000CFU/人~92,000CFU/人で, その場合の摂取菌量は 10^5 CFU/人以下であり, 原因食品を100g摂取した場合, 原因食品中には 10^3 CFU/g存在することとなる. 本モデルによるO157等の感染症微生物では, なだらかな「S」字状曲線を示すのと比較し, 腸炎ピブリオは 10^{5-6} CFU/人菌量で急速な立ち上がりを示す特異な曲線を示した (Fig. 1, Table 5). これは少量の菌量で人から人 (person to person) への2次感染が成立する感染症原因菌と, 発症に十分な摂取菌量が必要な食中毒原因菌との特異的な相違と考えられる. (Table 5)

これまで食中毒菌の発症菌量は, ボランティアなどの人体実験や食べ残した食品検査から摂取菌量が判明した事例の報告はみられるが, そのデータ集積は比較的少ない[8, 24, 29-34]. 今後, 予測微生物学を応用した発症率から摂取菌量の推計が可能となれば, 発生事例における原因追跡調査の有効な補助手段となると考えられる. 感

染モデルの前提条件は, 原因細菌が食品中に均一に汚染し, 摂食者 (母数) も均等に食しているとの前提で成立している. そのため, 具体的な集団事例に応用する場合は, 疫学調査において摂取した人, しない人の区分をより正確に算出し, 摂取しない人を分母 (摂食者数) から除外し, より正確な発症率の算出が必要と考えられる.

今回用いた単純モデルは誘導時間 (Lag time) を考慮しない単純式であるが, 初期汚染菌量100CFU/g, 世代時間10分では 10^5 CFU/人, 10^6 CFU/人到達にそれぞれ42分, 64分, 世代時間15分では, それぞれ64分, 84分を示した. これは誘導時間を算入しないため, Gompertzモデルと比較して到達時間が短く算出されたと考えられる.

Gompertzモデルでは, 初期汚染菌量320CFU/g, 30保存で最短世代時間は11.2分を示し, 10^5 CFU/人, 10^6 CFU/人到達にそれぞれ66分, 120分を示した. 夏季の温度管理が不十分な条件では, 今回の予測値に類似した増殖曲線を示すと考えられ, 2時間が大きなリスク管理点と考えられる.

各種条件で異なるが, いずれのモデルにおいても100CFU/g程度の汚染菌量があれば, 2時間程度で賞味危険食品となることが確認された.

自然界での本菌の分布生態をみると, ヒトに腸炎起病性を示す耐熱性溶血毒 (TDH), 耐熱性溶血毒素様毒素 (TRH) 保有の病原性腸炎ピブリオと腸炎起病性を有しない非病原性腸炎ピブリオは, 1:100~1:1000の比率で混在している[35]. 今回のモデル式による検討では, 初期汚染菌全てが病原性腸炎ピブリオとの前提で推計し, そのため到達時間も短く算出された. 実際の食品では,

初期汚染菌量の1/100程度が病原性ビブリオであり、その誤差を安全率と考えれば、「調理後2時間で摂取すべきである」との考えを支持する結果を得た。本菌の世代時間は最適条件下（BHIブイヨン，37℃，pH7.5，塩分濃度1-3%）で8～8.9分との報告がある[36, 37]。一方、タコ、イカなどのエキス中には、本菌の発育を促進する物質が存在するとの報告もある[38]。今回、30℃、ゆでタコ中で世代時間が11.2分と急速な増殖を示したことは、夏場における調理段階から摂取されるまでの保存温度と保存時間の管理の重要性を理論的に裏付けたと考えられる。

以上のようにモデル式を用いた予測微生物学の応用は、リスクの数値的評価とその設定リスクへの到達予測を可能とし、原因究明や予防対策に有用であることが判明した。

本菌は魚介類が採取される自然界（海洋）に多数生息しており、生鮮魚介類への付着を皆無にすることは不可能である。加えて生食されることから加熱調理（CCP1）などの確実な制御も不可能であり、採取、流通、調理、摂取までの各工程でのHACCP理論に基づいた綿密な対策が重要となる[39, 40]。わが国の基準でも生食用魚介類の流通温度4℃以下(品温)、腸炎ビブリオ菌量100 CFU/g以下であり、この基準が厳守されればリスクは極めて少ない。しかし、最近のグルメ嗜好は活魚介類での移送が多く、活エビなどの移送では温度管理が困難で本菌の増殖が懸念される。

また、本菌食中毒の特徴は、汚染した魚介類の厨房や台所への持ち込みにより調理場が汚染され、これが二次汚染源として重要となる点である。特に、食中毒統計では非魚介類である浅漬、焼き卵、キュウリの塩もみなどが原因食品として多く報告されている[22]。

今回のモデル解析では、調理後2時間でハイリスクな時間帯となる。調理時の十分な洗浄による初期汚染菌量の制御、2次汚染の防止、調理後の温度と時間の制御が重要であり、調理後の速やかな消費がポイントとなる。

謝 辞

本研究にあたりGomperztモデルの解析ソフトの供与と貴重な御助言を頂いた東京都衛生研究所 藤川 浩 先生に深謝いたします。

文 献

- [1] 藤野恒三郎, 奥野良臣, 中田大輔ほか (1951) : シラス中毒事件の細菌学的検査報告 . 日本伝染病学会誌, 25, 11-12.
- [2] 厚生労働省医薬局 (2001) : 平成12年度食中毒発生状況 . 食品衛生研究, 51(9), 110-195.
- [3] 厚生省生活衛生局通知局 (2000) : 腸炎ビブリオ食中毒対策について生環衛第891号, 平成12年5月19日).
- [4] 厚生労働省 (2001) : 食品衛生法施行規則の一部を改正する省令 . 平成13年厚生労働省令第128号 (平成13年6月7日).
- [5] 藤川 浩, 小久保彌太郎 (1999) : 食品衛生における微生物学的リスク評価 . 食品衛生研究, 49(11), 7-21.
- [6] 藤川 浩, 小久保彌太郎 (1999) : 食品における微生物学的安全性確保のための定量的リスク評価 . 日食微誌, 16, 87-97.
- [7] 藤川 浩 (1999) : 予測食品微生物学 . 食品衛生研究, 49(7), 47-60.
- [8] Hass, C.N., Thayyar-Madabusi, A., Rose, J. B. et al. (2000) : Development of a dose-response relationship for *E.coli* O157:H7. Int. J. Food Microbiol., 56, 153-159.
- [9] Miles, D. W., Ross, T., Olley, J. et al. (1997) : Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *V. parahaemolyticus*. Int. J. Food Microbiol., 38, 133-142.
- [10] Dalgaard, P. (1995) : Modeling of microbial activity and prediction of shelf life for packed fresh fish. Int. J. Food Microbiol., 26, 305-317.
- [11] Ross, T. and McMeekin, T.A. (1994) : Predictive microbiology (review). Int. J. Food Microbiol., 23, 241-264.
- [12] Soboleva, T.K., Pleasants, A.B. and Roux, G. (2000) : Predictive microbiology and food safety. Int. J. Food Microbiol., 57, 183-192.
- [13] Cassin, M. H., Lammerding, A.M., Todd, E. C.D. et al. (1998) : Quantitative risk assessment for *E.coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. Int. J. Food Microbiol., 41, 21-44.
- [14] 矢野信禮 (1998) : 食品への予測微生物学の適用 . 日食微誌, 15, 81-87.
- [15] McMeekin, T.A., Ross, T. and Olley, J. (1992) : Application of predictive microbiology to assure the quality and safety of fish and fish products. Int. J. Food Microbiol., 45, 13-32.
- [16] Coleman, M. and Marks, H. (1998) : Topics in dose-response modeling. J. Food Prot., 61, 1550-1559.
- [17] Rose, J. B. and Sobsey, M.D. (1993) : Quantitative risk assessment for viral contamination of shellfish and coastal waters. J. Food Prot., 56, 1043-1050.
- [18] Rose, J.B., Hass, C.N. and Gerba, C.P. (1995) : Linking microbiological criteria for foods with quantitative risk assessment. J. Food Safety, 15, 121-132.

- [19] Marks, H. M., Coleman, M. E., Lin, C. T. J. et al. (1998) : Topics in microbial risk assessment : dynamic flow tree process. *Risk Analysis*, 18, 309-328.
- [20] 宮島嘉道 (2000) : 腸炎ビブリオ食中毒の発生予測・予防対策構築に関する研究 . 平成 11年度厚生科学研究事業報告書, 1-77 .
- [21] 蔵田 浩, 小沼博隆, 尾上洋一ほか (1995) : 食品衛生における微生物制御の基本的考え方 . 日本食品衛生協会, 34.
- [22] 小川博美, 竹田義弘, 井上佳織ほか (2001) : 日本の腸炎ビブリオ食中毒25年(1975-1999)の変遷 . 広島県保健環境センター研究報告, 9, 1-8.
- [23] Rose, J.B., Lisle, J.T and Hass, C.N.: The role of pathogen monitoring in microbial risk assessment. *in* Hurst. C. J. ed.(1996) : Modeling disease transmission and its prevention by disinfection. Cambridge Uni. pub. New York, USA , 75-98.
- [24] Hass, C. N.(1983) : Estimation of risk due to low doses of microorganisms : a comparison of alternative methodologies. *Am. J. Epidemiol.*, 118, 573-582.
- [25] 滝川 巖(1958) : 腸炎ビブリオの摂取菌量と発症率 . *横浜医学*, 9, 313-322.
- [26] Gompertz, B.(1825) : On the nature of the law of human mortality, and on a new mode determining the value of life contingencies. *Philos, Trans. R. R. Soc. London*. 115, 513-585.
- [27] 藤原喜久夫(1964) : 腸炎ビブリオ食中毒の予防 : 汚染後の増殖と発症菌量の問題 . *食品衛生研究*, 14(11), 79-85.
- [28] 伊藤 武, 坂井千三(1989):主な食中毒起因細菌の食品中における増殖について . *食衛誌*, 30, 123-137.
- [29] Holcomb, D. L., Smith, M. A., Ware, G. O. et al.(1999) : Comparison of six dose-response models for use with food-borne pathogens. *Risk Analysis*, 19, 1091-1100
- [30] Ward, R. L., Berstein, D. I., Young, E. C. et al.(1986) : Human rotavirus studies in volunteers of infectious dose and serological response to infection. *J. Infect. Dis.*, 154, 871-877.
- [31] Schiff, G. M., Stefanovic, G. M. Young, E. C. et al.(1984) : Studies of Echovirus 12 in volunteers : determination of minimal infectious dose and the effect of previous infection on infectious dose. *J. Infect. Dis.*, 150, 858-866.
- [32] Teunis, P. F. M., Nagelkerke, N. J. D. and Hass, C. N.(1999) : Dose response models for infectious gastroenteritis. *Risk Analysis*, 19, 1251-1260.
- [33] Minor, T.E., Allen, C. I., Tsiats, A. A. et. al. (1981) : Human infective dose determination for oral poliovirus type 1 vaccine in infants. *J. Clin. Microbiol.*, 13, 388-389.
- [34] Buchanan, R. L., Smith, J. L. and Long, W.(2000) : Microbial risk assessment : dose-response relations and risk characterization. *Int. J. Food Microbiol.*, 58, 159-172.
- [35] 小川博美, 福田伸治, 佐々木実己子ほか (1992) : 腸炎ビブリオ食中毒における原因食品からの神奈川県現象陽性株回収法の検討(10-3-100法) . *食品と微生物*, 8, 189-195.
- [36] 加藤 博(1965):各種食品細菌の増殖速度に関する研究第 1 報 . *Vibrio parahaemolyticus* の generation time について . *日本細菌学雑誌*, 20, 94-99.
- [37] 加藤 博(1965):各種食品細菌の増殖速度に関する研究第 3 報 . 生鮮魚肉中における *V. parahaemolyticus* の増殖について . *日本細菌学雑誌*, 20, 541-544.
- [38] 西尾隆昌, 下内啓万, 平松卓ほか (1972) : 腸炎ビブリオの発育に及ぼすペタインおよびタコ抽出物の影響 . (第 7 回腸炎ビブリオシンポジウム)
- [39] 豊福 肇(1997) : HACCP方式に基づく食品原材料の衛生管理 . *日食微誌*, 14, 21-28.
- [40] 食品衛生調査会乳肉水産食品部会 (2000) : 腸炎ビブリオによる食中毒防止対策に関する報告書 . 1-109.