

研究発表集

【第2分科会】

3 食品衛生・薬事衛生

- (1)

LC-MS/MSによるセレウス菌産生嘔吐毒素セレウリドの試験法の検討

〈岡山県〉 倉敷市保健所

副主任

松原 直紀
- (2)

有毒部位を含むマフグを誤って一般消費者に販売した事案への対処

〈鳥取県〉 鳥取県西部総合事務所米子保健所

係長

渡邊 知美
- (3)

全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌O157菌株の複数解析手法による関連性の検討

〈広島市〉 広島市衛生研究所生物科学部

専門員

田内 敦子
- (4)

養殖海域調査で採取したカキと海水における各検査項目の相関についての検討

〈広島県〉 総合技術研究所保健環境センター

主任研究員

平塚 貴大
- (5)

一般飲食店に対するHACCPに沿った衛生管理の導入に向けた取り組み

〈広島市〉 広島市保健所食品指導課

技師

渋谷 里香
- (誌)

動画によるアニサキス食中毒の予防啓発に関する取組

〈鳥取県〉 鳥取市健康こども部鳥取市保健所

衛生技師

山崎 明歳
- (誌)

亜硝酸根測定へのマトリックス検量線の応用について

〈広島市〉 広島市衛生研究所

主任技師

森本 章嗣
- (誌)

生食用かきの保存条件の検証

〈広島市〉 広島市保健所食品指導課

技師

真鳥 燦
- (誌)

中小規模食品製造施設におけるアレルギー物質の汚染実態調査について

〈岡山市〉 岡山市保健所衛生課

副主査

森本 晃司
- (誌)

2022年から2024年に広島市域で分離されたSalmonella Enteritidisの分子疫学解析

〈広島市〉 広島市衛生研究所生物科学部

技師

大原 有希絵
- (誌)

ノロウイルス食中毒事例における食品・ふき取りからのウイルス検出及び各事例の遺伝子解析

〈鳥取県〉 鳥取県衛生環境研究所

主幹研究員

最首 信和
- (誌)

SEH遺伝子単独保有の黄色ブドウ球菌による食中毒事例

〈島根県〉 島根県保健環境科学研究所

主任研究員

野村 亮二
- (誌)

微生物リスク管理の数値指標（ムービング・ウィンドウ）の考え方による健康異常探知システムの検討

〈島根県〉 松江市・島根県共同設置松江保健所

主任獣医師

来待 幹夫
- (誌)

広島県における食中毒事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型状況

〈広島県〉 総合技術研究所保健環境センター

研究員

末井 真菜

# LC-MS/MS によるセレウス菌産生嘔吐毒素セレウリドの試験法の検討

倉敷市保健所衛生検査課 ○松原直紀 中尾優 東義慶 笠原健一

杉村一彦 矢吹茉里江 光信智恵 甲加桂子

## 1 はじめに

セレウス菌は食中毒を引き起こす菌として知られている。日本では嘔吐型が多く見られ、飲食店での発生が多く、主に米飯類や麺類といった穀類及びその加工品を原因食品として発生している。

セレウス菌は芽胞を形成するため、加熱調理によっても菌が死滅せず、調理後に食品中でセレウス菌が増殖し、増殖する際に毒素セレウリドを産生することで食中毒を引き起こす。また、セレウリドも加熱により失活しない特性を持っているため、セレウリドが産生された後に食品を再加熱したとしても食中毒を防ぐことはできない。潜伏期間は喫食後 30 分～6 時間と短く、最小発症量は  $1\mu\text{g}/\text{body}$  とされており、症状は嘔吐が主で、軽症がほとんどであるが、一方で死亡事例も報告されている。

食中毒が発生した場合、原因食品等についてセレウス菌等の検査を実施し、セレウス菌が確認された場合にはセレウリド産生遺伝子の有無を検査するが、微生物学的手法によりセレウリドそのものを検出することは非常に困難である。これは微生物学的手法によるセレウリドの検出方法（Hep-2 細胞空胞化試験）は、熟練を要し、日数がかかる等の理由からである。

一方で理化学的手法では抽出、精製を行った後、高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS/MS）を用いて検査を行うことで、半日程度で検査結果を得ることが可能である。

今回、食中毒原因判断に使用することを目的

とし、この理化学的手法について検討を行った。

## 2 調査方法

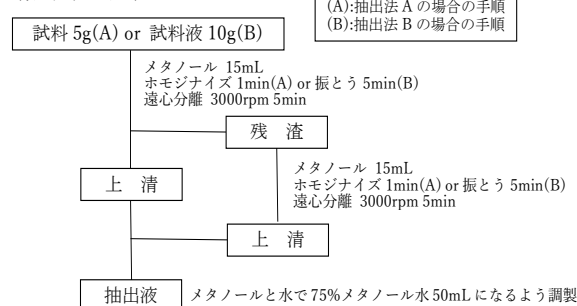
### （1）検査方法

メタノールによる抽出、固相カラムによる精製等を行う検査方法とした。また、抽出法は以下の 2 種類を実施した。

抽出法 A：原因食品からメタノールで直接抽出

抽出法 B：細菌検査の途中の試料液（ストマック処理後）からメタノールで抽出（原因食品の入手が少量の場合を想定）

#### （抽出方法）



#### （精製方法）



### （2）添加回収試験

抽出法 A 及び抽出法 B のそれぞれの検査方法で、添加回収試験を実施した。

### （3）セレウス菌培養白ご飯の検査

白ご飯にセレウス菌を接種し、37℃で 6 時間及び 24 時間培養した白ご飯について抽出法 A により検査した。

### 3 結果及び考察

#### (1) 添加回収試験結果

抽出法 A により添加回収試験を実施した結果を表 1 に示す。

表 1 添加回収試験結果（抽出法 A）

| 検査品目  | 回収率 (%) |
|-------|---------|
| 白ご飯   | 82.2    |
| ピラフ   | 70.6    |
| ナポリタン | 53.5    |
| チャーハン | 33.6    |

(添加量：10ng/g(最小発症量相当)、各 3 検体平均)

目標回収率である 70～120%となったのは、白ご飯、ピラフのみであり、チャーハン等で回収率が低い結果となった。この原因としては、油分等の夾雑物による妨害が考えられた。

回収率の向上を図るため、精製工程における洗浄及び溶出に使用する溶媒をより溶出力が高いアセトニトリルに変更してチャーハンについての添加回収試験を行った。その結果を表 2 に示す。

表 2 添加回収試験結果（抽出法 A-改良法）

| 検査品目  | 回収率 (%) |
|-------|---------|
| チャーハン | 70.3    |

(添加量：10ng/g(最小発症量相当))

メタノールで溶出させた場合と比較して大幅に回収率が向上し、目標回収率である 70～120%を達成した。以上の結果から、幅広い穀類及びその加工品について本検査法が適用可能であることが確認された。

次に抽出法 B により添加回収試験を実施した結果を表 3 に示す。検体である白ご飯へのセレウリドの添加はストマック処理前に行った。

表 3 添加回収試験結果（抽出法 B）

| 検査品目 | 回収率 (%) |
|------|---------|
| 白ご飯  | 49.8    |

(添加量：10ng/g(最小発症量相当)、3 検体平均)

目標回収率である 70～120%の範囲外となったが、定性的な判断（セレウリドが存在するか）を行うことは可能な結果であった。抽出法 A と比較して回収率が低い原因としては、プラスチック製であるストマック袋への吸着が考えられる。

#### (2) セレウス菌を培養した白ご飯の検査結果

白ご飯にセレウス菌（事前にセレウリドを産生することを確認したもの）を接種したのち、37℃で 6 時間及び 24 時間培養した白ご飯について検査した結果を表 4 に示す。

表 4 セレウス菌培養白ご飯の検査結果

| 検査対象        | セレウス菌数<br>(CFU/g) | セレウリド<br>濃度 (ng/g) |
|-------------|-------------------|--------------------|
| 白ご飯接種直後     | $3.5 \times 10^4$ | < 0.5              |
| 白ご飯培養 6 時間  | $1.1 \times 10^7$ | 0.9                |
| 白ご飯培養 24 時間 | $1.0 \times 10^9$ | 286.5              |

(セレウス菌数は 2 平板の平均、濃度は各 3 検体の平均)

セレウス菌の増殖が進むにつれて、セレウリド濃度が上昇しており、実際にセレウス菌が産生したセレウリドに対しても本検査法が採用できることが確認された。

### 4 まとめ

今回の検討結果から、理化学的手法により嘔吐毒素セレウリドを食品から半日程度で迅速に検査することが可能となり、食中毒の原因判断に適用可能となった。

また、原因食品の入手量が少量である場合等を想定し、細菌検査の途中の試料液（ストマック処理液）からでもセレウリドの定性的な検査が可能であることを確認した。

## 有毒部位を含むマフグを誤って一般消費者に販売した事案への対処

○渡邊知美、大森可奈子、渡辺亜美、織奥真弓※<sup>1</sup>、梁川直宏  
鳥取県西部総合事務所米子保健所生活安全課、※<sup>1</sup> 現鳥取県食肉衛生検査所

### 1 はじめに

ふぐの有毒成分であるテトロドトキシンは猛毒であり、摂取すると死亡率が高く、日本で起こる食中毒死亡者の過半を占めている。食後20分から3時間程度の短時間でしびれや麻痺症状が現れ、口唇から四肢、全身に広がり、重症の場合には呼吸困難で死亡することがある。

その中でマフグは、全長50cmに達する中型種で、サハリン以南の日本海、北海道以南の太平洋側、東シナ海に分布し、筋肉と精巣以外は有毒とされ、肝臓、皮等の毒力は100MU/g以上の猛毒である。

鳥取県条例では、下表のとおり未処理のふぐの流通が規制されており消費者への販売はできない。

この度、管内でその猛毒部位を有するマフグを処理しないまま陳列し、一般消費者に販売していた事案が発生したので、その事案の概要とふぐ取扱いのある魚介類販売店への注意喚起について報告する。

表 未処理のふぐの流通に関する規制状況

| 出荷側   | 入荷側        | 卸売業者 | 仲卸業者 | 売買参加者 | 運搬業者 | 加工業者        |            | 販売業者        |            | 消費者 |
|-------|------------|------|------|-------|------|-------------|------------|-------------|------------|-----|
|       |            |      |      |       |      | ふぐ許可<br>無施設 | ふぐ許可<br>施設 | ふぐ許可<br>無施設 | ふぐ許可<br>施設 |     |
| 漁業者   |            | ○    | ○    | ○     | ○    | ×           | ○          | ×           | ○          | ×   |
| 卸売業者  |            |      | ○    | ○     | ○    | ×           | ○          | ×           | ○          | ×   |
| 仲卸業者  |            |      |      | ○     | ○    | ×           | ○          | ×           | ○          | ×   |
| 売買参加者 |            |      |      |       | ○    | ×           | ○          | ×           | ○          | ×   |
| 運搬業者  |            |      |      |       |      | ×           | ○          | ×           | ○          | ×   |
| 加工業者  | ふぐ許可<br>施設 |      |      |       |      | ×           | ○          | ×           | ○          | ×   |
| 販売業者  | ふぐ許可<br>施設 |      |      |       |      | ×           | ○          | ×           | ○          | ×   |

### 2 事案の概要

#### (1) 探知

令和6年12月7日（土）午前10時35分にスーパー内に店舗を構える魚介類販売店Aの営業者から未処理のマフグを販売したと保健所に報告があった。

#### (2) 魚介類販売店Aでの陳列販売状況

販売店Aでは、魚介類の陳列場所にディスプレイ用として丸ごとのマフグを陳列し、通常、購入希望者にはふぐ処理師が有毒部位を除去して販売していた。

事案発生日は、従事者3名（内、営業者1名、パート職員2名）で営業していた。そのうち、ふぐ処理師の免許を有しているのは営業者である1名であった。

この日午前9時7分頃、ふぐ処理師が電話対応している間に、陳列していた3匹のマフグのうち2匹をパート職員が未処理のまま客に販売してしまった。購入者は常連ではなく見かけない方とのことであった。

販売されたマフグ2匹は、いずれも体長約30cm、重量約1kgであった。

営業者は、販売したことに気づき客を追いかけたが、既に店外に出た後であり見失った。

#### (3) 購入者に向けての広報

当所は、12月7日（土）午後1時から購入者に対し、喫食しないよう呼び掛けを行うために次の対応をとることとした。

- ア 管内2市6町1村の防災無線による広報を依頼 午後2時20分頃
- イ マスコミへの資料提供 午後2時25分頃
- ウ 管内ケーブルテレビによる広報を依頼
- エ 県が実施するメーリングリスト（あんしんトリピーメール）での情報提供
- オ 消防関係機関に情報共有

また、販売店Aに対して購入者に向けてふぐを回収していることの周知を指示したところ、次の対応をとった。

- ア 店頭POP表示（鮮魚コーナーとレジ横）
- イ 営業者SNSで購入者に呼びかけ

#### （4）購入者の発見

12月8日（日）午後1時頃、販売店Aから当所にふぐの購入者から連絡があったと報告があった。購入者が販売店Aに申し出るに至った経緯は、購入者の家族が防災無線やネットニュースを見聞きしたことから、購入者本人に伝わることとなった。

購入者はふぐ処理師の資格を有する者であり、12月7日（土）午後7時頃、自ら2匹のふぐを処理したのち知人ら含め4人で喫食したとのことであった。いずれの喫食者も健康被害はなかった。

### 3 営業者への指導

当該販売業者に対して、有毒部位を含むふぐを一般消費者に陳列販売したことに対し、食品衛生法第6条第2号（有毒物質の含有食品の販売禁止）及び鳥取県ふぐの取扱い等に関する条例第3条（ふぐの加工等の制限）に違反する行為であることから文書により次の指導を行った。

- ア 自主回収届を提出すること
- イ 未処理のふぐを陳列しないこと
- ウ 従業員教育をすること

### 4 ふぐ取扱いのある魚介類販売店への注意喚起

同様の事案の再発防止のため、管内の魚介類販売業者及び水産製品製造業者のうちふぐ取扱施設21施設に対し、鳥取県ふぐの取扱い等に関する条例に基づくふぐの取り扱いについて監視指導を実施し、条例の遵守を啓発した。

### 5 考察

本事案は、未処理のふぐを店頭で陳列するという販売店の誤りに端を発し、ふぐ処理師が不在の間にふぐの取り扱いに関する知識のない者が消費者に未処理のふぐを販売してしまうという第2の誤り、さらに、販売できないことを承知しているはずのふぐ処理師の資格を有する者が魚介類販売店に陳列された未処理のふぐを購入するという第3の誤りが重なった事案であった。食中毒患者が発生しなかったことが幸いであった。

ふぐ取扱施設においては、ふぐ処理師だけでなく従業員についても、ふぐの取扱いの正しい知識が必要であり、引き続き関係事業者等に対しふぐの適切な取扱いについて監視指導していくことが重要である。

本事案は週休日に発生したが、有毒部位を含むふぐの販売という人の命に関わる事案であったため、緊急時の広報として市町村の協力を得て防災無線による広報を実施した。また、マスコミへの資料提供を介した新聞、テレビ、ネットニュース等での報道、さらにSNSへの投稿も行った結果、購入者の発見につながったことから、早期の多方面への情報拡散が非常に有用であると考えられた。

今回、当所の食品衛生行政において防災行政無線を利用した公報は初めての事例であり、公報に関し各所から公報回数、時間帯等に係る意見いただいた。今後の緊急対応事案の対処に活用していきたい。

### 6 参考文献

- 1) 厚生労働省自然毒のリスクプロファイル：魚類：ふぐ毒
- 2) 遠藤隆二, The Journal of Toxicological Sciences vol.9 SupplementI, 1-11, 1984

# 全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 0157 菌株の複数解析手法による関連性の検討

広島市衛生研究所生物科学部      ○田内敦子   山本泰子   中谷史帆  
青田達明\*   古谷玲子   山本美和子  
(\*現 広島市健康福祉局環境衛生課)

## 1 序論

腸管出血性大腸菌(EHEC)は、家畜等の腸管内などに存在しており、加熱不足の肉などによる食中毒を引き起こす。少量でも感染し、腹痛、水様性下痢、血便などを呈する。感染源の特定や感染経路を把握するためには、疫学調査に加えて、患者や食品等由来菌株の分子疫学的解析による遺伝子レベルでの比較が重要である。EHECの分子疫学的解析手法としては、ゲノムやプラスミド上の繰り返し配列を解析する Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis (MLVA) があり、特に主要 O 血清群 (0157, 026, 0111) については、広域的な感染症・食中毒に関する調査の一環として従来より実施している。疫学的関連性がある患者菌株間で MLVA が一致した場合は同一感染源である可能性が高いが、疫学的関連性が不明な事例間での一致や、疫学的関連性があると思われる同一事例内での不一致など、判断に苦慮する場合もある。そこで今回、市内で発生した複数の EHEC 0157 感染事例における分離菌株について、MLVA に加えて全ゲノム配列 (WGS) を用いたより詳細な解析手法である一塩基多型 (SNPs) 解析や core genome multilocus sequence typing (cgMLST) 解析を行い、菌株間の関連性について検討を行ったので報告する。

## 2 材料及び方法

### (1) 材料

5 事例から分離された EHEC (0157:H7 VT1&2) 9 株を対象とした (表 1)。

### (2) 方法

#### ア MLVA

17 か所の遺伝子座 (loci) について、SeqStudio 8 Flex ジェネティックアナライザを用いてフラグメント解析を行い、Gene Mapper で繰り返し配列のリピート数を決定した。さらに、リピート数を基に解析ソフトウェア BioNumerics により Minimum Spanning Tree (MST) を作成した。

#### イ SNPs 解析

iSeq100 により WGS 解析を行い、ウェブサイト Galaxy (<https://usegalaxy.org>) 内のツール (fastp, snippy, snippy-core, snippy-clean\_full\_aln, Gubbins, SNP distance matrix) により各菌株間の SNPs 数の総当たり表を作成した。

#### ウ cgMLST 解析

iSeq100 により WGS 解析を行い、解析ソフトウェア Geneious Prime を用いて、取得したリードデータを参照配列 (Accession No. CP038342) に対してアライメントし、各検体の全ゲノム配列を決定後、解析ウェブサイト PubMLST (<https://pubmlst.org/organisms/>) を用いて、大腸菌のコアゲノム領域 2513 loci の各アレル番号を取得し、MST を作成した。

## 3 結果及び考察

MLVA, SNPs 解析及び cgMLST 解析の結果をそれぞれ図 1, 表 2 及び図 2 に示す。家庭内食中毒事例 (事例 A) や同一施設の関係者から同時期に複数人の感染が確認された事例 (事例 B) では、各事例内の菌株間において MLVA は完全一致、SNPs 数は 0 から 1、cgMLST は解析できた loci でアレル番号が全

表 1 検体の概要 (EHEC 0157:H7 VT1&2)

| 事例 | 菌株番号  | 検体採取日     | 年齢   | 症状          | 備考       |
|----|-------|-----------|------|-------------|----------|
| A  | 22018 | 2022/6/22 | 47 歳 | なし (発生届出時点) | 家庭内食中毒事例 |
|    | 22019 | 2022/6/22 | 14 歳 | なし (発生届出時点) |          |
|    | 22021 | 2022/6/18 | 11 歳 | 腹痛、水様性下痢    |          |
| B  | 22030 | 2022/7/15 | 19 歳 | 血便、嘔吐       | 同一施設の関係者 |
|    | 22032 | 2022/7/22 | 22 歳 | なし          |          |
|    | 22031 | 2022/7/16 | 52 歳 | 腹痛、水様性下痢、血便 |          |
| C  | 24040 | 2024/8/9  | 49 歳 | 腹痛、水様性下痢、血便 |          |
| D  | 24044 | 2024/8/10 | 44 歳 | 腹痛、水様性下痢、血便 |          |
| E  | 24046 | 2024/8/9  | 30 歳 | 腹痛、水様性下痢、血便 |          |

て一致(事例 A 2505 loci, 事例 B 2508 loci)しており, 全ての解析法において各事例内の菌株が遺伝的に非常に近縁であることが示された。このことから事例 A 及び事例 B はそれぞれ同一感染源によるものと推察された。事例 A と事例 C, D 及び E はそれぞれ MLVA で 4 から 5 loci 違い, SNPs 数は 29 から 43, cgMLST は解析できた 2500 loci の内 4 loci でアレル番号が異なっており, 3 手法の解析結果は共通して各事例間の関連性が低いことを示していた。また事例 B と事例 C, D 及び E においても, 同様の結果であった。一方, 同時期に発生した事例 C, D 及び E の各菌株は, MLVA で事例 D 及び E の株は完全一致し, 事例 C の株は 1 locus 違いであった。さらに SNPs 数は 0 から 9 であり, cgMLST においてもアレル番号が一致(2508 loci)していた。また, 事例 A と事例 B では, MLVA が 4 loci 違い, SNPs 数は 24 から 28 であったが, cgMLST はアレル番号が一致(2501 loci)していた。今回用いた 3 つの手法はそれぞれ解析原理が異なる。MLVA は一部の大腸菌のみが持つアクセサリゲノムに存在する高度可変領域を対象としており, 分裂時の DNA 複製の際のコピーミスなど細かい変異を捉えることができる。SNPs 解析はゲノム DNA 上の一塩基の違いをみているため, 最も詳細に違いが表れる。cgMLST は生存に不可欠な高度保存領域であるコアゲノムを対象としているため, 起源が同一であるかの判断に寄与する。cgMLST でアレル番号が一致した事例 A と事例 B や事例 C, D 及び E は, それぞれ同一起源のクローンであると考えられる。しかし, パルスフィールドゲル電気泳動法の疫学的解釈である Tenover の分類と同様の考え方で整理された MLVA の疫学的解釈<sup>1)</sup>において, 事例 A と事例 B は「集団発生の一部ではない」とされる 4 loci 違いであり, 事例 C, D 及び E は「ほぼ確実に集団発生の一部である」1 locus 以内の違いであった。SNPs 解析においても事例 C, D 及び E は, 菌株間の関連性が高いとの報告<sup>2)</sup>がある 10 以下であり, これらの事例は同一感染源である可能性が示唆された。今回の検討により, MLVA が 0157 において優れた型別能を持つことが確認できたが, コアゲノムとアクセサリゲノムを組み合わせることで, 株の起源や事例間の関連性など, より詳細な情報を得ることができると示した。WGS を用いた解析には時間とコストがかかるため, 全ての事例での対応は難しいものの, 同時期に発生し疫学的関連性が不明な場合などにおいて積極的に実施し, 詳細な疫学調査を進める科学的根拠となりうるデータを示していくことが重要である。

参考文献 1) IASR, 35(5), 129-130 (2014) 2) Schürch AC et al., Clinical Microbiology and Infection, 24, 350-354 (2018)

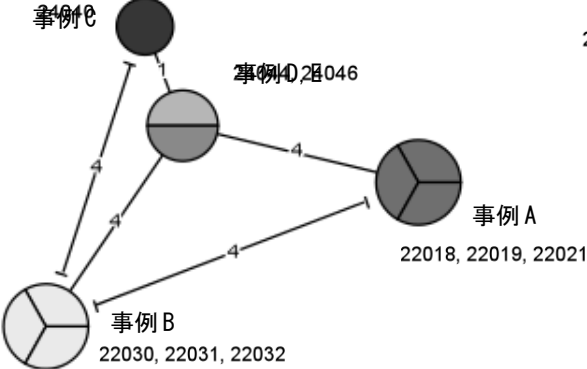


図 1 MLVA による MST

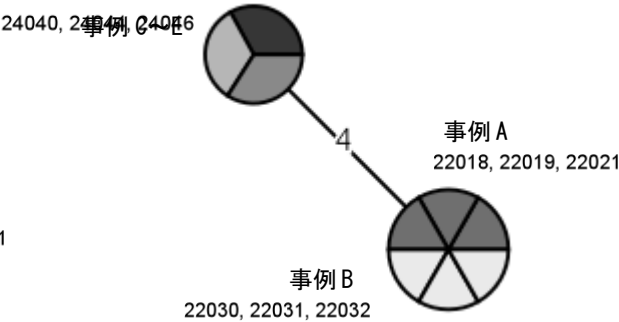


図 2 cgMLST 解析による MST

表 2 各菌株間の SNPs 数

| 事例 | 菌株No. |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|    |       | A     |       |       | B     |       |       | C     | D     | E     |
|    |       | 22018 | 22019 | 22021 | 22030 | 22032 | 22031 | 24040 | 24044 | 24046 |
| A  | 22018 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|    | 22019 | 0     |       |       |       |       |       |       |       |       |
|    | 22021 | 0     | 0     |       |       |       |       |       |       |       |
| B  | 22030 | 25    | 24    | 27    |       |       |       |       |       |       |
|    | 22032 | 25    | 24    | 28    | 1     |       |       |       |       |       |
|    | 22031 | 25    | 24    | 28    | 0     | 1     |       |       |       |       |
| C  | 24040 | 29    | 30    | 33    | 23    | 24    | 22    |       |       |       |
| D  | 24044 | 38    | 39    | 43    | 32    | 33    | 31    | 9     |       |       |
| E  | 24046 | 29    | 30    | 34    | 23    | 24    | 22    | 0     | 9     |       |

# 養殖海域調査で採取したカキと海水における 各検査項目の相関についての検討

○平塚 貴大 東久保 唯 石田 祥子

広島県立総合技術研究所保健環境センター

## 背景

広島県では養殖海域調査事業に基づき、広島県内の海域毎に海水と養殖中のカキを採取し、生菌数、大腸菌群最確数、糞便系大腸菌群(E.coli)最確数、腸炎ビブリオ最確数を検査し、各海域の衛生状態の調査を長年にわたり実施してきた。平成 15 年度から令和 6 年度までに得られた海水とカキのデータを基に、各検査項目の関連性について検討を行った。

## 方法

平成 15 年度から令和 6 年度に得られた養殖海域調査の検査結果を基に、各項目の検査結果についてピアソンの相関係数を求めた。また、相関係数と検体数を用いて t 分布から p 値を求めた。表 1 の基準に従って相関の程度を判定した。なお、検出限界以下の結果については、任意の値に変換して比較に使用した。また、海水の水温及び塩分濃度は実測値のまま、各検査によって得られた菌数は、対数に変換した値を解析に利用した。

表 1 相関係数と判定基準

| 相関係数                   | 判定          |
|------------------------|-------------|
| $r <  0.2 $            | 相関はほぼない ±   |
| $ 0.2  \leq r <  0.4 $ | 弱い相関 +      |
| $ 0.4  \leq r <  0.7 $ | 相関 ++       |
| $ 0.7  \leq r$         | 非常に強い相関 +++ |

## 結果

本検討において、相関が認められた結果についてはすべて有意差が認められた ( $p < 0.01$ )。

海水の水温及び塩分濃度と、各検査項目における菌数との相関を検討した結果を表 2 に示した。なお、条件をそろえるため、4 月から 10 月のデータのみを検討に使用した。水温と相関したのは、海水の検査結果では腸炎ビブリオ最確数、カキの検査結果では大腸菌群最確数と腸炎ビブリオ最確数であった(表 2A)。塩分濃度においては、すべての項目で負の相関が認められた(表 2B)。

表 2 海水の水温及び塩分濃度と各検査結果との相関 (4-10 月採取分)

| A) 水温 |           |           |            |            | B) 塩分濃度 |             |             |             |             |
|-------|-----------|-----------|------------|------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       | 生菌数       | 大腸菌群最確数   | E.coli 最確数 | 腸炎ビブリオ最確数  |         | 生菌数         | 大腸菌群最確数     | E.coli 最確数  | 腸炎ビブリオ最確数   |
| 海水    | 0.19<br>± | 0.15<br>± | 0.00<br>±  | 0.40<br>++ | 海水      | -0.45<br>++ | -0.53<br>++ | -0.48<br>++ | -0.56<br>++ |
| カキ    | 0.12<br>± | 0.33<br>+ | 0.02<br>±  | 0.56<br>++ | カキ      | -0.31<br>+  | -0.29<br>+  | -0.27<br>+  | -0.47<br>++ |

(上段:相関係数、下段:判定)

各検査項目について、海水の検査結果とカキの検査結果の相関について検討した結果を表 3 に示した。いずれの項目においても相関が認められ、最も強い相関を示したのは E.coli 最確数であった。

海水及びカキにおける、検査項目間の相関について検討した結果を表 4 に示した。海水とカキの結果は同様の傾向を示し、大腸菌群最確数と E.coli 最確数の相関が最も強かった。また、生菌数と大腸菌群



最確数、または E.coli 最確数との相関はほぼ同等であり、腸炎ビブリオ最確数とその他の項目との相関と比べると高かった。

表 3 海水の検査結果とカキの検査結果の相関

| 生菌数  | 大腸菌群<br>最確数 | E.coli<br>最確数 | 腸炎ビブリオ<br>最確数 |
|------|-------------|---------------|---------------|
| 0.49 | 0.64        | 0.70          | 0.54          |
| ++   | ++          | +++           | ++            |

(上段:相関係数、下段:判定)

表 4 各検査項目間の相関

A) 海水

|               | 生菌数        | 大腸菌群<br>最確数 | E.coli<br>最確数 |
|---------------|------------|-------------|---------------|
| 大腸菌群<br>最確数   | 0.67<br>++ |             |               |
| E.coli<br>最確数 | 0.61<br>++ | 0.76<br>+++ |               |
| 腸炎ビブリオ<br>最確数 | 0.47<br>++ | 0.40<br>++  | 0.31<br>+     |

B) カキ

|               | 生菌数        | 大腸菌群<br>最確数 | E.coli<br>最確数 |
|---------------|------------|-------------|---------------|
| 大腸菌群<br>最確数   | 0.55<br>++ |             |               |
| E.coli<br>最確数 | 0.52<br>++ | 0.68<br>++  |               |
| 腸炎ビブリオ<br>最確数 | 0.31<br>+  | 0.42<br>++  | 0.27<br>+     |

(上段:相関係数、下段:判定)

## 考察

水温は腸炎ビブリオ最確数と相関しており、海水温の上昇により、腸炎ビブリオの菌数も増加することが示された。また、カキの大腸菌群最確数の検査結果は水温と相関を示した一方で、海水の大腸菌群最確数は相関を示さなかった。原因については今後詳細を検討していきたい。塩分濃度においてはすべての検査項目と負の相関関係にあり、塩分濃度が下がると菌数が増えることが示された。塩分濃度の減少の要因として、降雨による河川水の増加に伴う淡水の流入が考えられることから、降雨と菌数の増加には統計的な関連性があることが示唆された。

腸炎ビブリオ最確数は他の検査項目と比べて水温と関連性が高く、表 4 の結果から、腸炎ビブリオ最確数と他の検査項目との相関係数は、生菌数及び大腸菌群最確数、E.coli 最確数の間の相関係数よりもやや低い値であったことから、比較的、他の検査項目とは相関が弱いことが考えられた。この原因として、腸炎ビブリオは発育に影響する要因が比較した他の種の菌とは異なることが考えられた。一般的にも、腸炎ビブリオは発育至適温度が多く他の食中毒菌と比較すると低く、発育に塩分を必要とするなど、生菌数や大腸菌群の検査で発育する細菌とは異なる条件を必要とする。

表 2、4 の結果から、カキの検査結果は、海水の検査結果と比較すると、水温との相関を除いて相関係数がやや低い傾向にあった。カキの生体内では海水の変化の影響は受けにくく、細菌の生体への定着性や、免疫系の影響など、単純な相関関係では説明できない様々な要因が存在していることが考えられる。

## 総括

菌数の増減には、今回検討を行った項目以外にも様々な要因が関わっていると考えられる。これらの関係性を解明することで、菌数の増減をある程度予測することが可能となり、養殖海域やカキの衛生管理に重要な情報となる。今後も引き続き検討を行い、菌数の増減にかかわる要因について、詳細な解明を行いたい。

# 一般飲食店に対する HACCP に沿った衛生管理の導入に向けた取組

広島市保健所食品指導課 ○渋谷 里香、古矢 健一郎※、島本 琢士、徳村 守  
(※ 現(公財)広島市農林水産振興センター)

## 1 背景

令和3年6月の改正食品衛生法の施行に伴い、全ての食品等事業者（以下、事業者という。）に対し、HACCP に沿った衛生管理（以下、HACCP 管理という。）の実施が義務化された。

義務化から数年が経過し、大手チェーン店やスーパー等の経営規模の大きい事業者については、HACCP 管理の導入・運用は定着しているものの、小規模な一般飲食店（以下、一般飲食店という。）の事業者においては、依然として導入が進んでおらず、指導に苦慮している。

このため、保健所内で HACCP 管理導入推進チームを組織し、一般飲食店の HACCP 管理の導入率を向上させることを目的に、業種別の衛生管理計画及び記録表の様式（以下、業種別様式という。）の作成・周知並びに HACCP 管理導入のための講習会を開催したため、その結果を報告する。

## 2 内容

### (1) 業種別様式の作成及び効果検証

#### ア 概要

一般飲食店に対して、HACCP 管理の導入を効果的に進めるため、事業者の意見を反映させた業種別様式を作成し、周知する。業種別様式を作成する対象業種は、事業者数が多く、提供品目に業種別の特徴があるという理由から、飲食店営業施設（お好み焼き店、中華料理店、ラーメン店）及び菓子製造業施設（パン屋）の4業種とした。

なお、業種別様式の作成に際しては、厚生労働省が公開する手引き書の内容から逸脱しないように配慮している。

#### イ 方法及び結果

##### (ア) 業種別様式の作成

- ・厚生労働省や他自治体が公開している手引き書や様式を参考に、既存の記述式とチェック式の2種類の業種別様式（案）を作成した。
- ・対象業種の事業者（4業種×4事業者の計16業者）に対して、業種別様式（案）を手交して導入指導及び約1か月の経過観察（以下、現場検証という。）を行った。
- ・現場検証の結果、事業者からは「チェック方式が使いやすかった」「初めから代表的なメニューがある方が分かりやすかった」「取扱説明書（詳しい記載例）がほしい」「記録表は1枚にまとめてほしい」等の意見があった。これらの意見を反映させ、最終的な業種別様式を完成させ、取扱説明書及び記載例を追加で作成した（図1～図4）。
- ・なお、現場検証の際に「記録を保管しても意味がない。HACCP 管理がなくても店の衛生管理に不備があるわけではない。従業員が少ないのに、負担が増えるだけ」という意見を述べる事業者もいたが、最終的に、業種別様式を使用し、改めて導入指導を行った。

##### (イ) 現場導入（様式の周知、利用）

- ・業種別様式の完成後、次のとおり、周知した。
- ・監視員が対象業種の業者に対して、窓口相談、立入調査等の指導を行う際に、業種別様式を積極的に活用するよう促した。
- ・広島市（広島市保健所）のホームページに業種別様式を掲載した。
- ・飲食店組合、商工会議所、お好み焼き業界団体等の関連団体（計8団体）の事務局を通して、各団体に所属する関係飲食店へ周知した（配布部数：387部）。
- ・周知後、監視員がお好み焼き業界団体の会員が経営する飲食店に経常監視で立ち入りした際、業種別様式を活用していたと報告があった。

| 重要管理のポイント |                                                                                                                           |                                                                                                                                           |                                           |          |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------|
| 分類        | メニュー                                                                                                                      |                                                                                                                                           | チェック方法                                    | 問題があったとき |
| 第1グループ    | 非加熱のもの（冷蔵・常温で販売・調理済みの惣菜）<br>ロットパング<br>ロ飯き<br>ロしそ<br>ロ南太子<br>ロ紅しょうが<br>ロ冷奴<br>ロトマトスライス<br>ロみそキュウリ<br>ロ千手<br>ロチナンジャ<br>ロその他 | 洗浄及び温度管理の方法<br>ロ野菜は十分に洗浄<br>ロ冷蔵庫で保管<br>ロ冷蔵庫から出したらすぐに提供<br>ロ生入れ品は表示の保存方法に従って保存<br>ロ盛り付け皿を手洗いを十分に行う<br>ロ盛りつけなどは素手で触らない<br>ロ異物の確認<br>ロその他（ ） | ロ破棄する<br>ロ再加熱する<br>ロ加熱用に使う<br>ロその他<br>[ ] |          |
| 第2グループ    | 加熱するもの（冷蔵品・加熱し、熱いまま提供）<br>ロお好み焼き<br>ロ餃子類<br>ロ揚げ物<br>ロ炒め物<br>ロその他                                                          | 加熱が十分にされたことの確認方法<br>ロ中心温度で確認<br>ロ火の強さと時間を目判断<br>ロ見た目（外観、肉汁の色）や触感（弾力）で判断<br>ロその他（ ）                                                        | ロ破棄する<br>ロ再加熱する<br>ロその他<br>[ ]            |          |

[illegible]

図1 重要管理のポイント【お好み焼き編】（抜粋）

図2 記録表（一枚物）【お好み焼き編】（抜粋）

## HACCP 導入のためのチェックリストの使い方 ～お好み焼き編～

- HACCPとは、全ての食品取扱事業者に取り組むことが義務付けられています。
- HACCPを導入するためには、「衛生管理計画」を立てて、計画が実行できたかどうか「記録」する必要があります。
- HACCP衛生管理には、「一般的衛生管理」と「重点管理」の2種類があり、それぞれの「計画」と「記録」が必要です。

Ⅰ 一般的衛生管理計画は「一般的衛生管理のポイント」を活用して設定する（資料Ⅰ）

- ・主な「一般的衛生管理のポイント」は、①～⑦の7項目。
- ・項目ごとに**毎日の点検**を従業員が**いつ、行か**て、**どの**間。点検の方法やトラブル時の対応については、「どのよう」に「問題があったとき」の内容に従って、実施する。
- ・「どのよう」に「問題があったとき」の内容が実際の店の管理方法と異なる場合は、**計画を修正**する。必要に応じて、チェックポイントを増やしていく。

**2 重点管理計画は「チェックリスト～お好み焼き編～」を活用して設定する（資料2）**

- ・店で提供しているメニューを「非加熱のもの」「加熱するもの」「加熱後に冷却(又は再加熱)して提供するもの」の3グループに分類する。
- ・リストのメニューに☑をつけるか、リストにメニューがない場合は、自身で「その他」に書き加

## 【お好み焼き編】チェックリスト

[illegible]

図4 記載例【お好み焼き編】(抜粋)

## (2) HACCP 講習会の開催

## ア 概要

一般飲食店の事業者を対象に、HACCP 管理の知識習得及び衛生管理計画の作成を目的とする、ワークショップ形式の講習会を開催した。

## イ 方法及び結果

- ・関係施設での募集案内掲示、監視時に事業者へ配布、関係団体へ送付及び市ホームページへの掲載等で周知し、参加者を募集したところ（定員 40 名(20 名×2 日)）、計 28 名が参加した。
- ・ワークショップでは、一般的な定食屋を想定した模擬メニューを用意し、参加者が重要管理計画の作成に必要なメニューの温度帯分類を行った。その後、参加者が持参した自店舗のメニューをもとに各自の衛生管理計画を作成させた。
- ・ステッカーを作成し、講習会終了後に参加者へ配布した。
- ・参加者からは「HACCP 管理の基礎がとてもよく分かった」「ワークショップ形式で、監視員に相談しやすかった」「店舗の具体的な衛生管理計画も作成することができて良かった」「事業者間での交流の場として、大変有意義であった」等の感想があった。

### 3 まとめ

現場検証や講習会を通じて、一般飲食店では、従業員数が限られている等の理由から、衛生管理計画の作成や日々の衛生管理の記録を実施することが難しい、必要性を感じられないと考えている事業者が多いことが分かった。また、当初より HACCP 管理の導入について、何をすべきなのか具体的に理解できておらず、漠然とハードルが高いものであると考える事業者が多いと感じた。

今回の業種別様式の作成・周知及び講習会の開催は、HACCP 管理の導入に対する事業者の意識を変えていく取組みとしては、どちらも非常に有益なものになったと考える。

しかし、2つの取組みには、それぞれ長所と短所がある。まず、業種別様式による導入指導については、様式の配布によって導入促進が行えるという点で効率が良いものの、事業者の意識を根本的に変えない限り、継続が難しいという課題が残る。一方、講習会の開催は、事業者の意識を変える効果が高く、その後の継続も見込むことができるが、参加人数に制限があることや参加者を集めることに大きなハードルあることを考慮すると、導入効率はよくないと言わざるを得ない。

今後は各取組みの長所と短所を考慮しながら継続的な指導を行い、一般飲食店の HACCP 導入率の向上に努めていきたい。

# 動画によるアニサキス食中毒の予防啓発に関する取組

鳥取市健康こども部鳥取市保健所生活安全課

○山崎明歳、清水裕子、奥田英二\*<sup>1</sup>、安達絵美\*<sup>2</sup>、田中充樹、福政民栄\*<sup>3</sup>、門木淳子

( \* 1 現鳥取県くらしの安心推進課、\* 2 現市民生活部環境局環境保全課、\* 3 現鳥取県衛生環境研究所 )

## 1 はじめに

平成30年以降、全国でのアニサキス食中毒発生件数は他の病因物質を抑え第1位となっており、鳥取市保健所管内においても、平成30年からこれまでに24件の発生があり、これは管内の食中毒発生件数の約5割を占めている。このうち10件は家庭内で発生しており、アニサキス食中毒の4割を占めていることから、食品事業者に限らず、一般消費者に対しての啓発も不可欠である。現在、食品関連事業者に対しては、講習会や立入監視時に食中毒予防について啓発を行っているが、一般消費者に対する啓発については周知する機会が限られている。単に文字やイラストでの広報を行うだけでは受け手側の興味を引くことができず、あまり大きな啓発効果が得られないといった課題がある。そこで、市民に対し効果的に周知・啓発するため、アニサキス食中毒予防に関する動画を制作してSNSで公開し、アンケート調査により評価を行ったので、その概要について報告する。

## 2 動画の制作

誤った調理法ではアニサキスを死滅させることはできないこと等を検証し、映像で紹介することに主眼を置き、動画の制作を行った。

### (1) シナリオの概要

#### ア 検証内容

地元産の魚介類への寄生状況を調査したほか、一般消費者の誤った知識による調理を想定して、以下の内容でアニサキスの生存実験を行った。

＜検証Ⅰ＞ 山陰沖で取れたサバへのアニサキスの寄生状況

13匹のサバを捌き、アニサキスの寄生状況を確認した。

＜検証Ⅱ＞ アニサキスに効くとウワサされている調味料について検証（表1）

表1：調味料検証方法

|       |                                               |                                                 |
|-------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| グループ1 | 塩水（濃度8%、12%）                                  | アニサキスを浸し、4時間静置した後の生存状況を確認                       |
| グループ2 | しょうゆ* <sup>1</sup> 、わさび、わさびしょうゆ* <sup>1</sup> | アニサキスをくぐらせ、海水に10分静置した後の生存状況を確認（喫食する際の調味料・薬味を想定） |
| グループ3 | 酢、しめさば調味液* <sup>2</sup>                       | アニサキスを浸し、4時間静置した後の生存状況を確認                       |

※1：こいくちしょうゆ（市販品）、チューブわさび（市販品）を使用

※2：しめさば調味液：食酢300mL、みりん100mL、砂糖小さじ5杯、塩適量

＜検証Ⅲ＞ アニサキス対策に代表される加熱・冷凍処理について検証（表2）

表2：加熱・冷凍処理方法

|       |      |                                                              |
|-------|------|--------------------------------------------------------------|
| グループ1 | 加熱処理 | ① 70℃の湯にくぐらせ、生存状況を確認（70℃瞬時）<br>② 60℃の湯に1分間浸し、生存状況を確認（60℃1分間） |
| グループ2 | 冷凍処理 | －20℃に24時間静置し、生存状況を確認（－20℃24時間）                               |

#### イ 検証結果（表3）

表3：検証結果

|     |       |                                                       |
|-----|-------|-------------------------------------------------------|
| 検証Ⅰ |       | サバ13匹中12匹でアニサキスの生息を確認した。最も多い個体でアニサキスが73隻、平均で13隻確認された。 |
| 検証Ⅱ | グループ1 | 濃度8%、12%ともに4時間後も生存していた。                               |
|     | グループ2 | しょうゆ、わさび、わさびしょうゆいずれも生存していた。                           |
|     | グループ3 | 酢、しめさば調味液ともに4時間後も生存していた。                              |
| 検証Ⅲ | グループ1 | ① 70℃瞬時、② 60℃1分間ともに死滅していた。                            |
|     | グループ2 | 死滅していた。                                               |

### (2) 動画の内容

上記の検証結果を踏まえ、内容は以下の5項目に分けてストーリーを構成し、編集を行った。一般的にSNS上の動画では、冒頭で大半の視聴者が離脱する傾向があり、以前当市が公開した別の啓発動画においても同様の傾向がみられたため、最も視聴してもらいたいストーリー①を冒頭に据え、その後興味を惹きやすいと考えられるストーリー②、③と続く構成とした。

＜ストーリー＞

- |                                        |          |
|----------------------------------------|----------|
| ① 食中毒予防のポイント（アニサキス食中毒の4つの予防方法の紹介）      | (～01:07) |
| ② アニサキスを探してみた！（実際にサバを捌いてアニサキスの生息状況を確認） | (～02:14) |
| ③ ウワサについて検証してみた！（検証内容を映像とともに解説）        | (～03:33) |
| ④ アニサキスの紹介（生態、症状、治療法の紹介）               | (～04:50) |
| ⑤ まとめ                                  | (～05:41) |



作成動画はこちら→

### 3 動画の公開、周知及び活用

#### (1) 動画の公開及び周知方法

動画は次の方法で令和6年4月12日に公開し、周知を行い、消費者に対する啓発を行った。

- ・SNS上への動画掲載
- ・当市ホームページへの動画掲載
- ・令和6年、7年の鳥取市報6月号へのアニサキス食中毒記事に併せた当市ホームページの二次元バーコード掲載
- ・当市庁内掲示板でのお知らせ

#### (2) 動画の活用

継続的にアニサキス食中毒予防を周知するため、次の方法により動画の活用を行った。このうち、令和6年7月28日の鳥取市公式LINEによる動画配信では、再生回数が約590回であったところ、3日間で1000回に到達し、大幅な再生回数の増加がみられた。

- ・鳥取市公式LINEからの動画配信
- ・食中毒月間イベントや衛生講習会等での放映

### 4 動画による効果の評価

令和6年6月14日に当市庁内掲示板にて、動画の公開をお知らせするとともに、市職員に対し動画視聴に関するアンケート調査を実施した(回答数146件)。

#### (1) アンケート項目(表4)

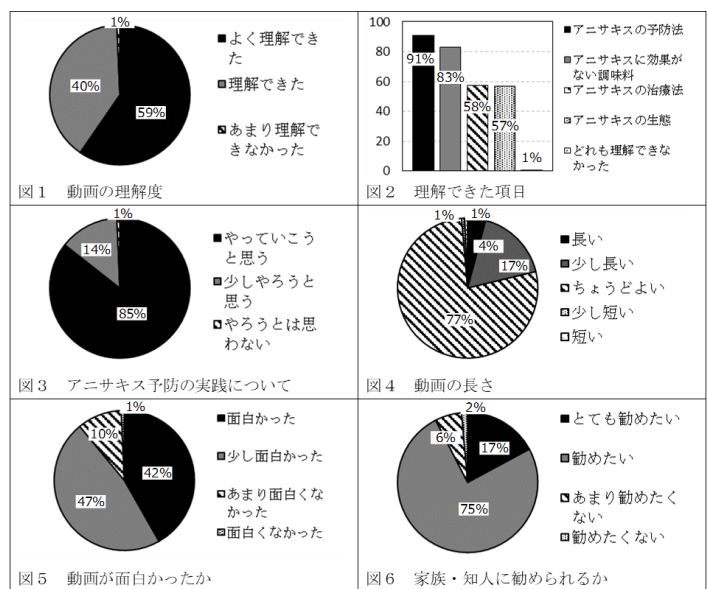
表4: アンケート項目

|                      |                 |                      |
|----------------------|-----------------|----------------------|
| 【問-1】性別              | 【問-2】年齢         | 【問-3】アニサキスに関する知識     |
| 【問-4】料理頻度            | 【問-5】動画の長さ      | 【問-6】動画の面白さ          |
| 【問-7】動画の理解度          | 【問-8】理解できた項目    | 【問-9】動画を家族・知人に勧められるか |
| 【問-10】アニサキス予防の実践について | 【問-11】本動画に対する感想 | 【問-12】興味のある食品衛生関連情報  |

#### (2) アンケート結果

アンケート結果は図1から図6のとおり。動画の理解度は、145人(99%)から「よく理解できた」、「理解できた」との回答が得られ、そのうち「アニサキスの予防法」では9割以上、「アニサキスに効果がない調味料」では8割以上から理解が得られた(図1、2)。今後の実践については、145人から「やっていこうと思う」、「少しやろうと思う」と回答が得られた(図3)。さらに、実験形式で視覚的にわかりやすい内容だったなどの意見も複数あり、本動画は理解しやすい内容であることが示唆された。

動画の長さについては、113人(77%)が「ちょうどよい」と回答し、動画の面白さについては、130人(89%)が「面白かった」、「少し面白かった」と回答した(図4、5)。また、135人(92%)がこの動画を「とても勧めたい」、「勧めたい」と回答しており(図6)、理解しやすい内容であるだけでなく、動画コンテンツとしての魅力が視聴者の拡散意識にも繋がっていると考えられた。



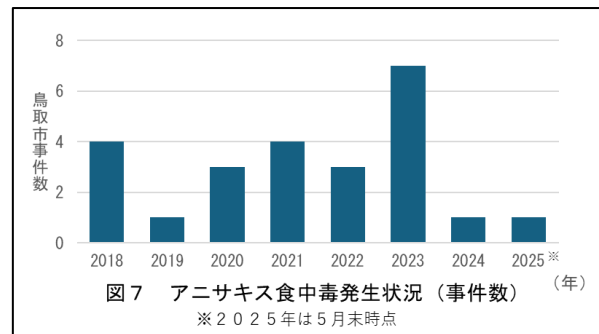
### 5 管内の食中毒発生状況

鳥取市保健所管内でのアニサキス食中毒は令和5年に7件発生していたが、動画を公開した令和6年4月12日以降、令和6年5月に1件、令和7年1月に1件の計2件のみであった。(図7参照)

### 6 まとめ

一般消費者を対象としたアニサキス食中毒予防のための動画を制作・公開し、アンケート調査を行ったところ、本動画はアニサキス食中毒予防のための効果的な啓発ツールであることを示唆する結果が得られた。動画公開後、鳥取市公式LINE、各種講習会、イベントなど機会をとらえてアニサキス食中毒予防の啓発に使用したところ、アニサキス食中毒の発生は約1年間で2件であった。これは動画公開前の令和5年の7件に比べて少ないが、全国的には令和6年に330件発生しており、依然として病因物質1位であるため、今後も本動画を積極的に活用し、啓発を行っていききたい。

一方で、視聴回数は令和7年5月末時点で、1500件程度と伸び悩んでおり、日数が経つにつれて視聴回数が鈍化していることから、さらなる周知を図る必要がある。今後はアニサキスへの興味が薄い方にも視聴してもらえよう、スーパー等の販売店に動画紹介ポップを設置するなど、一般消費者を特に意識した本動画の効果的な周知方法を検討し、積極的に啓発することで、アニサキス食中毒の減少に寄与したい。



# 亜硝酸根測定へのマトリックス検量線の応用について

広島市衛生研究所 生活科学部 ○森本 章嗣, 馬部 文恵, 吉岡 英明

## 1 背景

食品中の亜硝酸塩は、比色法により亜硝酸根 ( $\text{NO}_2^-$ ) として定量し、基準値が定められている。

食肉製品には発色剤として、硝酸カリウム、硝酸ナトリウム及び亜硝酸ナトリウムの使用が認められているが、亜硝酸塩は主に硝酸カリウムや硝酸ナトリウムの還元物質及び亜硝酸ナトリウムにより構成される。

食肉製品には発色剤が使用されているものが多いが、発色剤を使用していない「無塩せき」を謳ったものも販売されている。そのため、当該商品にて定量限界における添加回収試験を行ったところ、厚生労働省の通知<sup>(1)</sup>に準じた方法では良好な回収率が得られなかった。

そこで様々な検討の結果、当所では質量分析装置による有機物の定量で採用しているマトリックス検量線を、無機物である亜硝酸根の測定に応用したところ、良好な結果が得られたため報告する。

## 2 マトリックス検量線

試験溶液中のマトリックス（分析対象物質以外の共存成分）の測定に及ぼす影響が大きい場合、有機溶媒等で作成した検量線を用いると、本来の値から大きく乖離する可能性があるため、補正を目的として前処理を行った試験溶液等を溶媒として検量線を作成する。これをマトリックス検量線という。

## 3 検査概要

### (1) 対象食品

無塩せきのベーコン（国産）

### (2) 前処理法

無塩せきのベーコン約 5g をホモカップに入れ、水酸化ナトリウム及び温水を加えて直ちにホモジナイズした。内容物を温水とともにコンカルビーカーに移し、酢酸亜鉛溶液を加えて混和し、80℃の水浴中で 20 分間加温した。加温後氷水中で 10 分間以上冷却した後吸引ろ過し、ろ液と水を併せて正確に 100mL として試験溶液とした。

試験溶液 5mL を 20mL 試験管に分取し、スルファニルアミド溶液及びナフチルエチレンジアミン溶液を 2mL ずつ加えて赤紫色に呈色させ、蒸留水にて 20mL とした。

### (3) 測定法

分光光度計（UV-1900i、株式会社島津製作所製）を用い、波長 540nm における吸光度を測定した。

### (4) 検量線

マトリックスが検量線に与える影響を確認するため、2 種類の検量線を作成した。1 本目の検量線は標準液を蒸留水で 20mL にメスアップする（以下、絶対検量線）のみであるが、2 本目の検量線はマトリックスの影響を確認するために標準液に試験溶液を 5mL 加えたのち、蒸留水で 20mL にメスアップ（以下、マトリックス検量線）した。

また、標準液を含む測定液の吸光度を  $A_{\text{Sa1}} \sim A_{\text{Sa4}}$ 、標準液を含まない測定液の吸光度を  $A_{\text{Sb}}$  とし、 $A_{\text{Sa1}} \sim A_{\text{Sa4}}$  と  $A_{\text{Sb}}$  の各吸光度の差を用いて検量線を作成した。

なお、亜硝酸根の測定において、通常は 0.01 ~ 0.4  $\mu\text{g/mL}$  の範囲で作成するが、今回はより低濃度の値を正確に確認するため、0.01 ~ 0.1  $\mu\text{g/mL}$  の範囲のみで作成した。

### (5) 定量

吸光度差  $\Delta A$  を以下の式で求めたのち、検量線から試験溶液中の亜硝酸根濃度を求め、試料中の亜硝酸根含量を計算した。

$$\Delta A = A_{\text{Ta}} - (A_{\text{b}} + A_{\text{Tc}})$$

$A_{\text{Ta}}$  : 発色試薬を含んだ試験溶液の吸光度

$A_{\text{b}}$  : 空試験の吸光度

$A_{\text{Tc}}$  : 発色試薬を含まない試験溶液の吸光度

### (6) 添加回収試験

分析者 1 名が 5 日間 2 併行で、絶対検量線とマトリックス検量線を用い、厚生労働省の通知<sup>(1)</sup>の定量限界に基づく 0.001g/kg となるよう亜硝酸ナトリウム標準液をベーコンに加え、比較試験を行った。ガイドライン<sup>(2)</sup>を参考に、真度 70 ~ 120%、併行精度 10%未満及び室内精度 15%未満を目標値とした。



## 4 結果及び考察

### (1) 検量線の比較

結果は図1及び図2のとおり。

$A_{sb}$  差引前の検量線における吸光度は、低濃度側の2点はマトリックス検量線の方が高かったが、最も高濃度の  $0.1 \mu\text{g/mL}$  では絶対検量線の方が高くなった。

一方、 $A_{sb}$  差引後の検量線における吸光度は、全ての点において絶対検量線の方が高くなった。

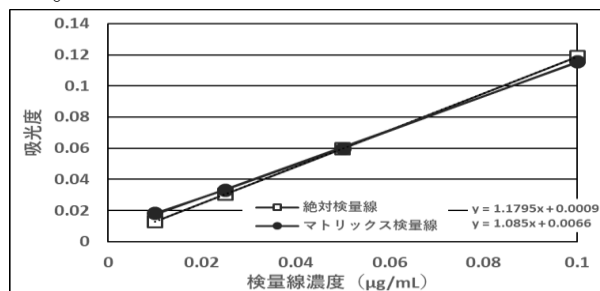


図1 検量線の比較 ( $A_{sb}$  差引前)

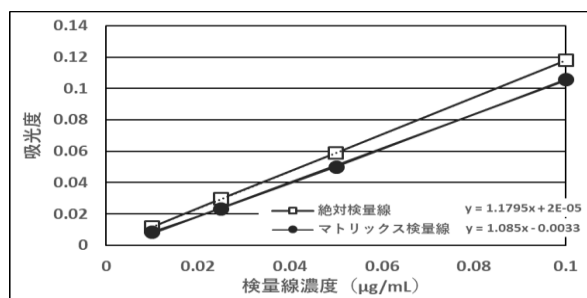


図2 検量線の比較 ( $A_{sb}$  差引後)

これらの結果から、ベーコン由来の色素等から見かけの吸光度が若干上昇するものの、本来の赤紫色(540nm)の発色はベーコン由来のマトリックスにより妨げられている(図3、4)と考えられるため、絶対検量線により亜硝酸根が低濃度の試験溶液を算定すると、本来の濃度よりも低い値となる可能性が高いことが分かった。

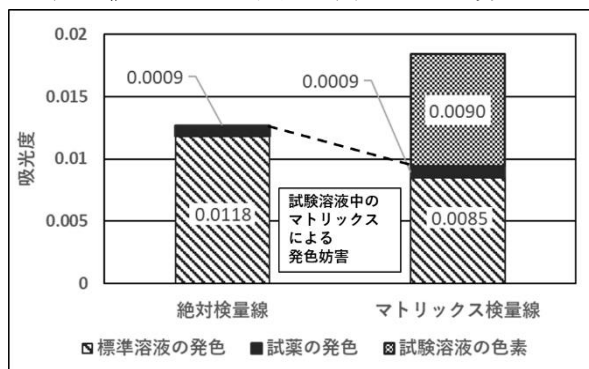


図3 試験溶液添加の有無による  
吸光度の比較 ( $0.01 \mu\text{g/mL}$ )

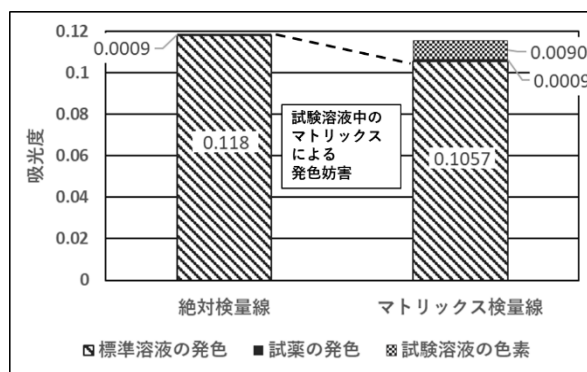


図4 試験溶液添加の有無による

吸光度の比較 ( $0.1 \mu\text{g/mL}$ )

### (2) 添加回収試験結果

吸光度差  $\Delta A$  から求めた亜硝酸根の添加回収率を表に示す。

全ての試験においてマトリックス検量線の方が高い結果となり、10回中9回が適正な範囲とされる70~120%の間であった。

これは、いずれの試験においてもマトリックスによる発色妨害が起こっており、定量限界の測定においては、それを加味する必要があることを示している。

また、妥当性確認においても、マトリックス検量線を用いた値においては、真度75.4%、併行精度6.10%、室内精度8.40%と、いずれも目標値を満たしていた。

表 検量線による添加回収率の比較

|           | 1日目   | 2日目   | 3日目   | 4日目   | 5日目   |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 絶対検量線     | 74.9% | 69.6% | 23.2% | 69.6% | 42.4% |
|           | 77.2% | 81.6% | 24.0% | 72.0% | 33.6% |
| マトリックス検量線 | 80.3% | 72.0% | 77.6% | 73.7% | 71.2% |
|           | 82.7% | 84.0% | 78.4% | 76.1% | 61.6% |

※ 網掛け部分は回収率が70~120%の範囲外

## 5 今後の方針について

定量限界における亜硝酸根の測定において、マトリックス検量線による測定が統計上問題ないことを確認できたため、今後はマトリックス検量線による測定を行うこととする。

## 6 参考文献

- (1) 「食品中の食品添加物分析法」の改正について  
薬生食基発 0529 第1号、薬生食監発 0529 第1号  
令和5年5月29日
- (2) 食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン  
健生食基発 0308 第1号、健生食監発 0308 第1号  
令和6年3月8日

# 生食用かきの保存条件の検証

広島市保健所食品指導課 ○真鳥燦 坂野有岐子※ 高場雄貴 徳村守  
(※現 環境衛生課)

## 1 はじめに

本市のかき加工施設A(以下、施設Aという。)において、生食用かきの成分規格違反が頻発している(表1)。施設Aでは、出荷前に同一ロット品を自主検査し、成分規格適合を確認の上で出荷することから、違反の一因として、流通過程の温度管理不備が考えられた。また、施設Aでは、つけ水を充填するロケット包装かきと、つけ水を充填しないトレイ包装かきを加工しており、過去に違反となった製品の多くは、トレイ包装かきであった。かきのつけ水は、鮮度保持及び細菌増殖抑制を目的とした清浄海水(塩分濃度2%以上及び残留塩素0.1ppm以上)であり、清浄海水の有無が影響を与えた可能性も考えられた。

こうした状況を受け、本実験では、施設A及び市場での保存方法、つけ水が製品へ及ぼす影響について検証し、若干の知見を得たので報告する。

表1 施設Aにおける生食用かきに関する成分規格違反

| 違反通知日                                                                    | 商品名         | 違反内容<br>(細)細菌数(/g)<br>(E) E.coli 最確数(/100g) | 収去場所   |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------|--------|
| H26.11.28                                                                | 生食用かき(ロケット) | (細) 110,000                                 | 市場     |
| H26.12.2                                                                 | 生食用かき(トレイ)  | (細) 63,000<br>(E) 490                       | 市場     |
| H28.12.1                                                                 | 生食用かき(トレイ)  | (細) 88,000                                  | 市場     |
| H30.3.8                                                                  | 生食用かき(トレイ)  | (細) 1,200,000                               | 市場     |
| H31.1.31                                                                 | 生食用かき(トレイ)  | (E) 330                                     | 市場     |
| R1.11.28                                                                 | 生食用かき(トレイ)  | (細) 58,000                                  | 市場     |
| R2.1.28                                                                  | 生食用かき(トレイ)  | (E) 330                                     | 市場     |
| R3.1.20                                                                  | 生食用かき(トレイ)  | (細) 270,000                                 | ネット買取り |
| R4.11.29                                                                 | 生食用かき(トレイ)  | (細) 370,000                                 | 市場     |
| R5.11.14                                                                 | 生食用かき(トレイ)  | (E) 330                                     | 市場     |
| 生食用かきの成分規格<br>細菌数 50,000/g以下 E.coli最確数 230/100g以下 腸炎ビブリオ最確数(むき身) 100/g以下 |             |                                             |        |

## 2 加工及び流通状況

施設Aにおける加工及び流通工程は表2のとおりである。出荷前約3時間と市場到着後約4時間、氷詰め状態で室温放置されていた。

表2 加工及び流通工程

| 日時 | 1日目                                              | 2日目                                                     | 3日目                                       |
|----|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 場所 | 加工施設                                             | 加工施設                                                    | 市場                                        |
| 工程 | 原料かきの処理                                          | 包装～出荷                                                   | 市場到着～収去                                   |
| 詳細 | 17:30頃 原料かき受入<br>18:00頃 洗浄・選別<br>19:30頃 一時保管(冷蔵) | 9:00頃 軽量・包装<br>梱包(氷詰め)<br>12:00頃 室内保管<br>15:00頃 出荷(冷蔵車) | 0:00頃 市場到着<br>陳列(せり売り場)<br>4:00頃 収去(市場仲卸) |

## 3 方法

### (1) 施設及び市場での保存方法の検証

#### ア 検体

検査に供した検体は表3のとおり。

表3 検体情報(施設及び市場での保存方法の検証)

| No | 目的     | 検体情報           |
|----|--------|----------------|
| 1  | コントロール | ・ 生食用かき(トレイ包装) |
| 2  | 施設Aを再現 | ・ 生産者:M水産      |
| 3  | 市場を再現  | ・ 採取海域:広島県呉湾   |

#### イ 方法

施設A及び市場におけるかきの保存方法を再現し(表5)、室温放置後の細菌数を検査した(n=2)。各検体には図1の位置に温度ロガーを設置し、品温の推移を記録した。

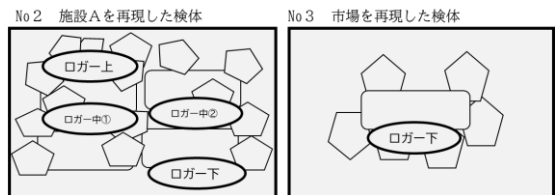


図1 温度計測箇所

### (2) つけ水が製品へ及ぼす影響について

#### ア 検体

検査に供した検体は表4のとおり。

表4 検体情報(つけ水が製品へ及ぼす影響について)

| 包装形態   | 検体情報                      |
|--------|---------------------------|
| トレイ包装  | ・ 生食用かき(トレイ包装)            |
| ロケット包装 | ・ 生産者:M水産<br>・ 採取海域:広島県呉湾 |

#### イ 方法

各包装形態の検体を用意し、各々を22℃で保存し、24時間後及び48時間後の細菌数の経時変化を比較した(n=2)。保存温度は、かきの細菌及び好塩菌の繁殖が著しいとされている22℃とした<sup>1)</sup>。本実験に用いるロットのコントロール(0時間後の細菌数)として、各1検体を収去検査した。また、ロケット包装について、つけ水検査用の検体を別に用意し、検体採取直後、24



時間後及び 48 時間後のつけ水の塩分濃度及び残留塩素濃度を測定した(n = 2)。

#### 4 結果及び考察

##### (1) 施設及び市場での保存方法の検証

表 5 のとおり、全検体が生食用かきの成分規格に適合していた。施設 A での保存方法を再現した検体 No 2 は、0℃付近で安定し、3 時間後も氷は残存していた。市場での保存方法を再現した検体において、No 3 ①・②は、蓋の有無に関わらず、0～1℃付近を推移し、4 時間後も氷が残存していたが、No 3 ③は、後半約 2 時間は 10℃を超過した。

表 5 結果（施設及び市場での保存方法の検証）

| No | 目的     | 条件①                                                     | 結果             |                       | 条件②                                    | 結果                              |
|----|--------|---------------------------------------------------------|----------------|-----------------------|----------------------------------------|---------------------------------|
|    |        |                                                         | 細菌数<br>(/g)    | E. coli 菌数<br>(/100g) |                                        | 品温推移                            |
| 1  | コントロール |                                                         | 300以下          | 78                    |                                        |                                 |
| 2  | 施設Aを再現 | 温度:12℃<br>放置時間:3時間<br>梱包形態:発泡スチロール・氷<br>詰め              | 300以下<br>300以下 | 230<br>20             | 計測位置:梱包内上部<br>計測位置:検体との間<br>計測位置:梱包内下部 | 0.3℃付近<br>-0.1~0.1℃付近<br>0.0℃付近 |
| 3  | 市場を再現  | ① 温度:19℃<br>放置時間:4時間<br>梱包形態:発泡スチロール・氷<br>あり(2.5kg)・蓋あり | 420<br>390     | 130<br>45             | 計測位置:梱包内下部                             | -0.3~1.1℃                       |
|    |        | ② 温度:19℃<br>放置時間:4時間<br>梱包形態:発泡スチロール・氷<br>あり(2.5kg)・蓋なし | 300以下<br>300以下 | 78<br>230             | 計測位置:梱包内下部                             | 0.1~1.4℃                        |
|    |        | ③ 温度:19℃<br>放置時間:4時間<br>梱包形態:発泡スチロール・氷<br>なし・蓋なし        | 300以下<br>300以下 | 20<br>230             | 計測位置:梱包内下部                             | 3.5~16.3℃                       |
|    |        | ④ 温度:0~10℃(冷蔵庫保存)<br>放置時間:4時間<br>梱包形態:発泡スチロール           | 300以下<br>300以下 | 18未満<br>20            | 計測位置:梱包内下部                             | 0.1~9.3℃                        |

これらの結果から、流通過程において、氷が完全に解ける状況は考えにくく、氷が残存した状態の品温は 0～1℃付近に保持されるものと考えられた。施設 A 加工の生かきの市場での取去時、氷は残存していたことから、流通過程での温度管理が細菌増殖の原因である可能性は低いと推察された。

##### (2) つけ水が製品へ及ぼす影響について

細菌数の経時変化について、図 2 に結果を示す。24 時間後の細菌数に有意差は見られなかったが、48 時間後ではロケット包装がトレイ包装を 1 オーダー上回った。

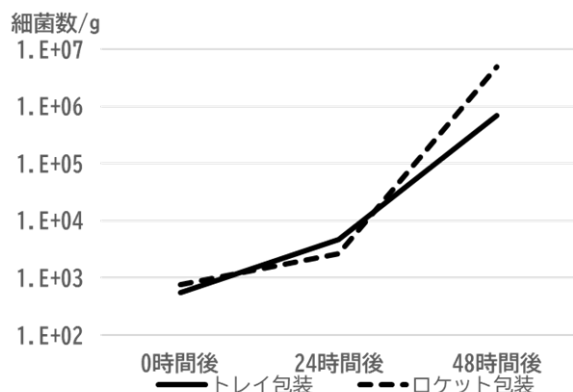


図 2 細菌数の経時変化

原因として、ロケット包装のつけ水が有効塩素濃度を保てていなかったこと(図 3)、本実験では細菌増殖を促すため、本来の流通ではあり得ない 22℃という高温で保存したことから、つけ水中の海洋細菌が増殖した可能性が考えられた。しかし、細菌増加の初速は、トレイ包装がロケット包装を上回る傾向が確認されたことから、本来の流通温度に近い条件では、トレイ包装がロケット包装よりも早く成分規格の基準値へ到達する可能性が示唆された(図 2)。

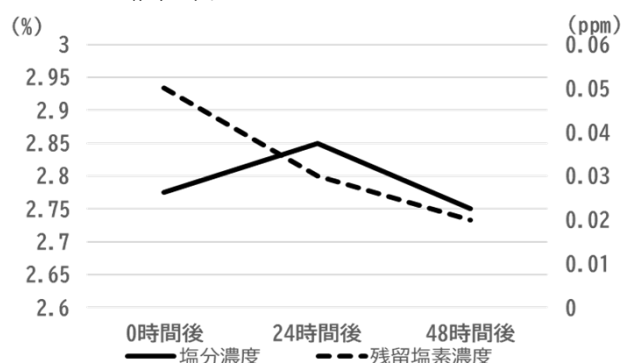


図 3 つけ水の塩分濃度及び残留塩素濃度

#### 5 まとめ

本調査では、施設 A で加工した生食用かきの成分規格違反の原因を探るため、流通過程の保存方法や包装形態に応じた品温や細菌数等の変化について調査した。その結果、一定の温度管理がなされていれば、流通過程における細菌数増加への影響は小さいことなどが推察された。

また、かきは体内に細菌やウイルスを蓄積しやすい性質があり、組織中の細菌数が 1 万～100 万(/g)と保有する菌数に個体差があることが知られており<sup>2)</sup>、生息海域の汚染状況に影響を受けやすいことから、自主検査の頻度を増やすこと、集荷先の原料かきの採取海域の状況の検証などの対策が必要と考えられる。

本実験で得た知見等を踏まえ、引き続き施設 A への効果的な指導方法を検討していきたい。

#### 6 参考文献

- (1) 「市場に入荷するカキの細菌学的考察について」 日獣会誌 10(1957)
- (2) 「気になる 水・食・大気のはなし Vol.47 生食用牡蠣」 CRC 食品環境衛生研究所

# 中小規模食品製造施設におけるアレルギー物質の汚染実態調査について

岡山市保健所衛生課                      平井葉名、山田拓実、森本晃司、出井有紀  
岡山県環境保健センター      金子英史

## 1 はじめに

食品を製造する際に原材料として使用していないにも関わらず、特定原材料等が意図せずごく少量、最終加工食品に混入してしまう場合がある。食物アレルギーは微量のアレルギー物質でも発症することがあるため、製造ラインを十分に洗浄する、特定原材料等を含まない食品から順に製造する、専用器具を使用するなどの混入防止対策を徹底する必要がある。

製造ラインの洗浄は衛生管理の基本であり、その洗浄不足はアレルギー物質のコンタミネーション以外にも食中毒等を発生させる原因と成りうる。特に中小規模の食品製造施設では製造工程が多いものの、作業場が狭小であるためコンタミネーションの可能性が高くなっている。

そこで、食品製造施設への立入時に実施している拭取り検査と同時に、アレルギー物質の汚染実態調査を行った。

## 2 方法

エルメックス社製検査キット（ST-25PBS）で食品製造施設内を拭取り、FASTKIT スリムシリーズ（日本ハム株式会社中央研究所）を用いてアレルゲン（小麦・卵・乳）の有無を確認した。

なお、陽性となった検体の定量検査（FASTKIT ELISA シリーズ（日本ハム株式会社中央研究所））も一部で実施した。

対象：従業員 30 人以下の中小規模食品製造業 14 施設（弁当そうざい製造業 11 施設・菓子製造業 3 施設）

## 3 結果及び考察

拭取り場所を 7 種に分類し、弁当そうざい製造業と菓子製造業別に集計した。

中小規模の弁当そうざい製造業施設では、下処理の時間や場所を取ることが難しい。従って、下処理済の製品または半製品を購入し、加熱調理のみを行っている業者が多い。

小麦はフライや天ぷら等で多く使用されるが、下処理済みの食材を用いることが多いため広範囲での汚染が見られなかったと考えられた。卵を使用する製品は加工がし易く安価なことから、多くの具材に用いられている。また、卵は消毒に用いられるアルコールにより変性し、清掃時に除去しにくいため、広く汚染されていると考えられた。乳は使用する具材が少ないことから、検出率が低くなっていると思われた。

弁当そうざい製造業 3 施設において簡易検査で陽性となった検体で定量検査を実施したところ、全て定量下限 1μg/mL 以下であった。

菓子製造業では 3 種のアレルゲン全てで汚染率が高く、これは多くの製品に原材料として使用されているためであると考えられた。また、1 施設では卵及び乳の除去室を設置しており、その区画からの検出は無かった。

表 1 弁当そうざい製造業の検査結果

| 拭取り場所                    | 小麦<br>陽性率(%) | 卵<br>陽性率(%) | 乳<br>陽性率(%) |
|--------------------------|--------------|-------------|-------------|
| 保管庫取っ手(冷凍冷蔵庫等) (n=27)    | 30.8         | 61.5        | 0           |
| シンクレバー(n=18)             | 37.5         | 43.8        | 0           |
| 機械器具つまみ（電子レンジ取っ手等）(n=19) | 56.3         | 68.8        | 0           |
| 作業台(n=13)                | 30.8         | 69.2        | 7.7         |
| 調理器具類（包丁、まな板、トング等）(n=16) | 0            | 37.5        | 0           |
| ドアノブ(n=11)               | 9.1          | 36.4        | 0           |
| その他（操作盤、タイマー等）(n=16)     | 0            | 16.7        | 0           |
| 計                        | 25.5         | 50.0        | 0.9         |

表2 菓子製造業の検査結果

| 拭取り場所                    | 小麦<br>陽性率(%) | 卵<br>陽性率(%) | 乳<br>陽性率(%) |
|--------------------------|--------------|-------------|-------------|
| 保管庫取っ手(冷凍冷蔵庫等) (n=8)     | 62.5         | 100         | 75.0        |
| シンクレバー(n=12)             | 75.0         | 66.7        | 41.7        |
| 機械器具つまみ(電子レンジ取っ手等) (n=0) | —            | —           | —           |
| 作業台(n=2)                 | 100          | 100         | 100         |
| 調理器具類(包丁、まな板、トング等) (n=2) | 100          | 100         | 100         |
| ドアノブ(n=1)                | 100          | 100         | 0           |
| その他(操作盤、タイマー等) (n=5)     | 40.0         | 16.7        | 20.0        |
| 計                        | 70.0         | 80.0        | 53.3        |

今回、卵アレルギーの汚染が高かった結果を踏まえ、施設内でよく使用されているステンレス（以下、「SUS」という）及びポリプロピレン（以下、「PP」という）について、試験室内にて効果的な清掃方法を検討した。

バットを5枚ずつ用意し、乾燥卵白をバット全体にふりかけ自然吸着させ、余剰分を捨てた。次にバットを0.5MPaのエアガンで1分間ブローした後、1枚はそのまま（Ⅰ）、残りの4枚は水（Ⅱ）、アルコール（70%）（Ⅲ）、次亜塩素酸ナトリウム（200ppm）（Ⅳ、Ⅴ）をそれぞれ約2mL噴霧し、30秒間放置した後、縦・横方向に1回ずつペーパータオルで拭き上げた。次亜塩素酸ナトリウムを使用したもののうち1枚はさらに水で同様の清掃を行った（Ⅴ）。

Ⅰ：ブローのみ

Ⅱ：水で清掃

Ⅲ：アルコール（70%）で清掃

Ⅳ：次亜塩素酸ナトリウム（200ppm）で清掃

Ⅴ：次亜塩素酸ナトリウム（200ppm）で清掃後に水で清掃

表3 清掃後の拭取り結果

|     | ブローのみ（Ⅰ） | 水（Ⅱ） | アルコール（Ⅲ） | 次亜塩（Ⅳ） | 次亜塩＋水（Ⅴ） |
|-----|----------|------|----------|--------|----------|
| SUS | ＋        | ＋＋   | ＋W       | ＋W     | ＋W       |
| PP  | ＋        | ＋W   | ＋W       | ＋W     | ＋W       |

＋w:0.025以上0.25未満（弱陽性）、＋:2.5以上25未満（陽性）、＋+:25以上（強陽性）（ $\mu\text{g/g}$ ）

ブローのみでは陽性反応を示しており、清掃方法として不十分であることが示唆された。水での拭き上げはSUSで強陽性反応を示した。この原因は、水噴霧後の放置時間中に粉末状の原材料が融解し、粘性が増すことで素材に残存しやすくなったものと考えられた。ブロー後にアルコールや次亜塩素酸ナトリウムで拭き上げた場合は、陽性反応が弱陽性反応にまで低減されたことから、拭き上げ清掃の必要性が確認できた。

#### 4 まとめ

弁当そうざい等の食品製造施設では小麦や卵が多く用いられている。特に卵はその使用が多く、他の食材へのコンタミネーションに注意が必要である。中小規模の施設では狭小のため機械器具の専用化がなされていない。また、水や洗剤による機器の洗浄が困難であるため、アルコールでの消毒のみであることが多い。

アルコールや水はタンパク質を変性させ落ちにくくなり、特に作業台等で使用されるSUSとの相性は悪く、清掃方法には注意が必要である。

中小規模の食品製造施設におけるアレルギーのコンタミネーション対策として、HACCPの考え方を取り入れた衛生管理のための手引書に例示された清掃方法の手順を指導していく必要がある。ただし、手引書の手順ではコンタミを完全に防ぐことは困難と考えられるため、アレルギーの注意喚起表示を行うように併せて指導していきたい。

# 2022 年から 2024 年に広島市域で分離された *Salmonella* Enteritidis の分子疫学解析

広島市衛生研究所生物科学部     ○大原有希絵\* 池田伸代 坂本悠紀子 兼重泰弘 山本美和子

## 1 はじめに

サルモネラ属菌の血清型は約 2500 種類以上報告されており、そのうち *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (以下 *S. Enteritidis*) は主に鶏卵やその関連食品から分離される。1989 年以降 *S. Enteritidis* 原因の食中毒の多発によりサルモネラ食中毒が著しく増加したが、1998 年の *S. Enteritidis* に対する鶏用ワクチンの承認と普及、1999 年の鶏卵の表示基準変更や液卵の規格基準設定などにより、サルモネラ食中毒は 1999 年をピークに減少し<sup>1)</sup>、サルモネラ下痢症患者からの *S. Enteritidis* 分離率は 2022 年には約 9% と大幅に減少した<sup>2)</sup>。

一方、広島市においては 2022 年から 2024 年にかけて *S. Enteritidis* が分離された複数の散発感染事例や集団食中毒事例が発生した。これらの疫学的関連性を検討するため、2022 年から 2024 年に広島市域で分離された *S. Enteritidis* を対象に、薬剤感受性試験、次世代シーケンサー(NGS)を用いた全ゲノムシーケンスによる cgMLST 解析及び SNPs (一塩基多型)解析を行ったので報告する。

## 2 材料と方法

### (1) 材料

2022 年から 2024 年に分離された *S. Enteritidis* 全 36 株を供試した。

### (2) 薬剤感受性試験

厚生労働科学研究「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」における薬剤感受性検査プロトコル<sup>3)</sup>に準じて、18 種類の薬剤を使用し、CLSI ディスク拡散法による薬剤感受性試験を行った。なお、耐性以外のものは感受性と判定し、型別を行った。

### (3) NGS による全ゲノム解析

散発事例由来全 14 株及び集団食中毒等有症事例 3 事例から 6 株(菌株番号 22005, 23002, 23005, 23018, 24004, 24005)の計 20 株を供試した。それらの株から抽出したゲノム DNA を用いてライブラリー調製を行い、次世代シーケンサー-iseq100(illumina)にて解析を行った。

#### a cgMLST 解析

NGS により得られたデータを、*S. Enteritidis* リファレンス配列(RefSeq accession 番号:NC\_011294)にマッピングして配列データを作成した。PubMLST (<https://pubmlst.org/>)を用いてコアゲノムのアレル番号を決定し、BioNumerics Ver. 7.5(Applied Maths)を用いて最小全域木(Minimum spanning tree, MST)を作成した。

#### b SNPs 解析

NGS により得られたデータを、MINTyper<sup>4)</sup> (Center for Genomic Epidemiology (<http://genomicepidemiology.org/services/>))を用いて SNPs を抽出し、系統樹解析を行った。なお、リファレンス配列は a と同じ配列のものを使用した。

## 3 結果

### (1) 薬剤感受性試験 (表)

菌株番号 22005, 23001, 24001 の 3 株は 18 薬剤全て感受性であった。他 33 株はナリジクス酸 (NA) のみに耐性を示した。

### (2) cgMLST 解析 (図 1)

供試した 20 株のうち、菌株番号 22005, 23001, 24001, 24003 の 4 株以外の 16 株は 1 つのクラスターを形成した。また、家庭内散発事例、集団事例 B 及び C 由来株はそれぞれ同じクラスターを形成した。

### (3) SNPs 解析 (図 2)

菌株番号 22005, 23001, 24001 の SNPs は、50~103 ヶ所であった。他 17 株の株間の SNPs は 0~11 ヶ所であった。また、家庭内散発事例、集団事例 B 及び C 由来株の、それぞれの事例内 SNPs は 0 ヶ所であった。

## 4 考察

薬剤感受性試験結果が全て感受性であった 3 株については cgMLST 解析及び SNPs 解析においても、それ以外の株と異なるクラスターを形成する結果となった。家庭内散発事例や集団事例 B 及び C 由来株では、それぞれの事例内で薬剤感受性が同じであり、cgMLST 解析でも同じクラスターを形成していることに加え、SNPs が 0 ヶ所であったことから、同一由来株である可能性が高いと考えられた。一方、事例 B 由来株と同時期に分離された散発事例由来株 2 株(菌株番号 23021, 23022)の SNPs も 0 ヶ所であり、これらは遺伝的に近縁と考えられるものの、喫食調査で関連

\*: 現 広島市経済観光局水産課

性は不明であること、SNPs 解析は可変領域やリードの精度が低いものについては除いて解析を行っていることから、これらの株が同一由来株とする判断は慎重に行うべきと考えられる。*Salmonella enterica* において、同事例株の SNPs が 4 ヶ以内であったという報告<sup>5)</sup>や、*S. Enteritidis* において変異頻度が 1 年間 1 ゲノム当たり 1.01 SNPs という研究結果もある<sup>6)</sup>。これらの報告や今回の cgMLST、SNPs 解析での結果を踏まえると、今回調査した SNPs11 ヶ以内の NA 耐性菌株については、遺伝的に近縁である可能性が示唆された。

今回の調査より、cgMLST 解析や SNPs 解析結果について、喫食調査と合わせることで、サルモネラ食中毒の疫学的関連性を判断する情報として有用であると考えられた。しかしながら、近縁株の判断基準については、明確な基準がなく、関連する研究や論文も少ないため、今後も引き続き *S. Enteritidis* の菌株のデータを収集し解析していく必要があると考える。

表 薬剤感受性試験結果

| 事例        | 菌株番号     | 由来  | 分離年月    | 耐性パターン |
|-----------|----------|-----|---------|--------|
| 散発        | 22001    | 患者  | 2022.5  | NA     |
| 散発        | 22002    | 患者  | 2022.5  | NA     |
| 散発        | 22003    | 患者  | 2022.8  | NA     |
| 散発        | 22004    | 患者  | 2022.9  | NA     |
| 集団 A(他都市) | 22005    | 患者  | 2022.10 | 感受性    |
| 散発(家庭内)   | 22006    | 患者  | 2022.10 | NA     |
|           | 22007    | 患者  | 2022.10 | NA     |
| 散発        | 23001    | 患者  | 2023.7  | 感受性    |
| 集団 B      | 23002~3  | スワブ | 2023.7  | NA     |
|           | 23004~20 | 患者  | 2023.7  | NA     |
| 散発        | 23021    | 患者  | 2023.7  | NA     |
| 散発        | 23022    | 患者  | 2023.7  | NA     |
| 散発        | 23023    | 患者  | 2023.8  | NA     |
| 散発        | 23024    | 患者  | 2023.10 | NA     |
| 散発        | 24001    | 患者  | 2024.7  | 感受性    |
| 散発        | 24002    | 患者  | 2024.7  | NA     |
| 散発        | 24003    | 患者  | 2024.7  | NA     |
| 集団 C      | 24004    | 患者  | 2024.8  | NA     |
|           | 24005    | 患者  | 2024.8  | NA     |

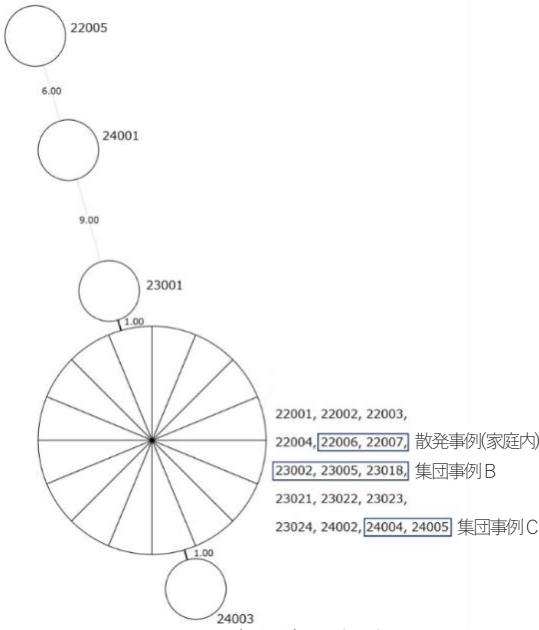
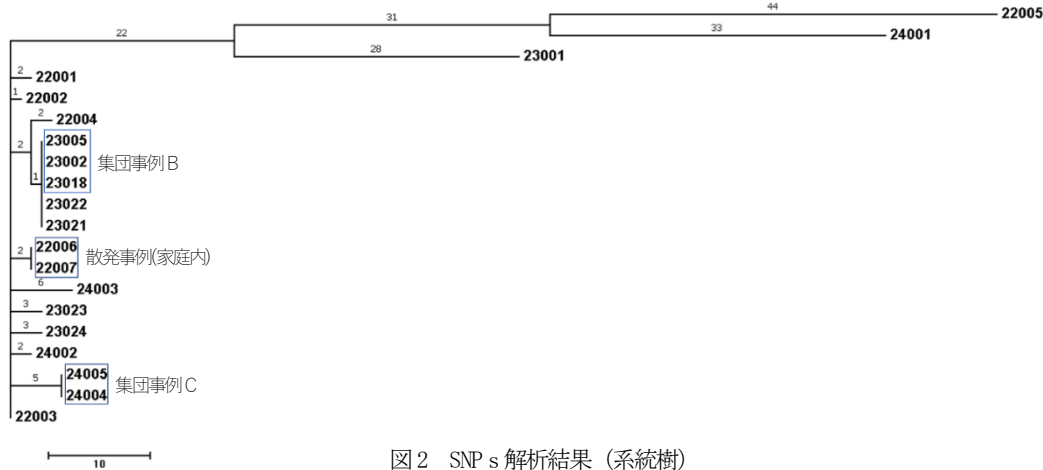


図 1 cgMLST 解析結果 (MST)



# ノロウイルス食中毒事例における食品・ふき取りからのウイルス検出及び各事例の遺伝子解析

○最首信和、上田豊、高野史嗣、泉ありさ、音田李帆、福田武史  
鳥取県衛生環境研究所

## 1 はじめに

令和6年12月から令和7年3月にかけて、全国でノロウイルスによる食中毒が多発し、県内においても令和7年2月中旬から3月下旬にかけて食中毒疑い事例（他県依頼分を含む）が10事例（うち6事例が食中毒確定）発生した。当所で食中毒検査を行ったところ、全事例からノロウイルスGⅡが検出された。

今回の検査では、2事例において食品1検体・ふき取り3検体からノロウイルスGⅡが検出された。従来、食品・ふき取りはウイルス量が少ないため検出は難しいとされ、特に食品で検出されることは稀なことから、今回ノロウイルスが検出されたことは大変に貴重であった。

そこで、今回の食品・ふき取り検査内容を検証するとともに、食中毒検査で検出されたノロウイルスGⅡについて遺伝子解析を行い、あわせて同時期の発生動向調査事業で検出された小児の感染性胃腸炎由来ノロウイルスGⅡについても遺伝子解析を行ったので報告する。

## 2 材料及び方法

### 1) 検査材料

令和7年2月中旬から3月下旬にかけて当所で食中毒検査を行い、ノロウイルスが検出された10事例（他県依頼1事例を含む）について、患者便72検体、従事者便85検体、食品34検体及びふき取り59検体を対象とした（表1）。

また、3月の発生動向調査事業で提出された小児の感染性胃腸炎患者便6検体も対象とした。

### 2) 核酸抽出及びノロウイルス遺伝子検出

便は、10%ふん便懸濁液の上清をmagLEAD（プレジジョン・サイエンス・システム社）でRNA抽出し、逆転写反応後にリアルタイムPCRで遺伝子を検出した[1]。食品は、パンソルビン・トラップ法によるウイルス濃縮後にカラム方式のQIAamp Viral RNA Mini Kit（Qiagen社）でRNA抽出し、逆転写反応及び1st PCR後にリアルタイムPCRで遺伝子を検出した[2]。ふき取りは、ポリエチレングリコール（PEG）によるウイルス濃縮後にmagLEADでRNA抽出し、逆転写反応及び1stPCR後にリアルタイムPCRで遺伝子を検出した[3]。

### 3) ノロウイルスの遺伝子解析

各事例から検出されたノロウイルスGⅡと、3月の発生動向調査事業で小児の感染性胃腸炎から検出されたノロウイルスGⅡについて遺伝子型別を行った。RdRp領域及びVP1領域についてPCRを行い、それぞれの領域についてタイルレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、Norovirus typing tool (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>)を用いて遺伝子型別を行った[1]。

また、RdRp領域及びVP1領域については、遺伝子解析ソフトウェアMEGA Xを用いて系統樹解析を行った。

## 3 結果

### 1) 食品・ふき取りからのノロウイルス遺伝子検出

食品については、1事例1検体（いちご大福の餡）からノロウイルスGⅡを検出した（表1）。この1検体については、実際にいちご大福が3個回収されていたため、今回の検査で3個のいちご大福（求肥+餡+いちご）を1個ずつ、さらに3個のいちご大福から求肥のみ、餡のみ、いちごのみの合計6検体に分けて検査し、そのうち1検体（餡のみ）からノロウイルスGⅡを検出した。

ふき取りについては、2事例3検体からノロウイルスGⅡを検出した（表1）。

### 2) ノロウイルスの遺伝子解析

各事例から検出されたノロウイルスGⅡについて、それぞれ1～5株を遺伝子型別したところ、9事例はGⅡ.P17\_GⅡ.17（以下、GⅡ.17 [P17]）であり、残り1事例はウイルス量が少なくRdRp領域は型別不明（ND）であったが、VP領域の解析でGⅡ.17 [ND]と判明した。また、事例5の食品及びふき取りも同様にGⅡ.17 [ND]と判明し、事例4のふき取りはウイルス量が少なく、RdRp領域及びVP1領域ともに型別不明

(ND) で GⅡ (ND) であった (表 1)。

3 月の発生動向調査事業で提出された小児の感染性胃腸炎由来ノロウイルス GⅡ 6 株については、GⅡ.17 [P17] が 2 株、GⅡ.P16\_GⅡ.4(以下、GⅡ.4 [P16]) が 4 株であった。

表 1 ノロウイルス食中毒疑い事例検査結果一覧 (令和 7 年 2 月中旬から 3 月下旬)

| 事例No. | 発生年月日   | 発生地域 | 発生場所         | 食中毒<br>確定/未確定 | 患者  |     |     | 従事者 |     | 食品  |     | ふき取り |     | 遺伝子型別<br>VP1領域 [RdRp領域]                                                               |
|-------|---------|------|--------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------|
|       |         |      |              |               | 患者数 | 検査数 | 陽性数 | 検査数 | 陽性数 | 検査数 | 陽性数 | 検査数  | 陽性数 |                                                                                       |
| 1     | R7.2.10 | 東部   | 飲食店          | 確定            | 12  | 8   | 7   | 6   | 2   |     |     | 25   | 0   | 便: GⅡ.17 [P17]                                                                        |
| 2     | R7.2.26 | 東部   | 学校           | 確定            | 14  | 20  | 14  |     |     | 9   | 0   |      |     | 便: GⅡ.17 [P17]                                                                        |
| 3     | R7.2.25 | 東部   | 飲食店          | 未確定           | 7   | 5   | 5   | 43  | 1   |     |     |      |     | 便: GⅡ.17 [P17]                                                                        |
|       |         | 中部   |              |               | 1   | 1   | 1   |     |     |     |     |      |     |                                                                                       |
|       |         | 西部   |              |               | 1   | 1   | 1   |     |     |     |     |      |     |                                                                                       |
| 4     | R7.3.4  | 西部   | 宿泊施設         | 確定            | 115 |     |     | 9   | 8   | 7   | 0   | 5    | 1   | 便: GⅡ.17 [P17]<br>ふき取り: GⅡ (ND <sup>※</sup> )<br>GⅡ.17 [P17]                          |
| 5     | R7.3.4  | 西部   | 和菓子店         | 確定            | 102 | 6   | 6   | 1   | 1   | 2   | 1   | 12   | 2   | 食品: GⅡ.17 [ND※]<br>ふき取り①: GⅡ.17 [ND <sup>※</sup> ]<br>ふき取り②: GⅡ.17 [ND <sup>※</sup> ] |
| 6     | R7.3.4  | 西部   | 宿泊施設         | 未確定           | 4   |     |     | 15  | 2   | 16  | 0   | 10   | 0   | 便: GⅡ.17 [ND <sup>※</sup> ]                                                           |
| 7     | R7.3.6  | 東部   | 飲食店          | 確定            | 17  | 4   | 4   | 7   | 1   |     |     |      |     | 便: GⅡ.17 [P17]                                                                        |
| 8     | R7.3.17 | 西部   | 宿泊施設         | 確定            | 33  | 21  | 21  | 4   | 0   |     |     | 7    | 0   | 便: GⅡ.17 [P17]                                                                        |
| 9     | R7.3.25 | 西部   | 学校           | 未確定           | 10  | 3   | 1   |     |     |     |     |      |     | 便: GⅡ.17 [P17]                                                                        |
| 10    | R7.3.24 | 西部   | 飲食店<br>(東京都) | 不明            | 不明  | 1   | 1   |     |     |     |     |      |     | 便: GⅡ.17 [P17]                                                                        |
| 合計    |         |      |              | 確定6事例         | 318 | 72  | 62  | 85  | 15  | 34  | 1   | 59   | 3   | ※ND(Not Defined): 検出量が少なく型不明                                                          |

### 3) 系統樹解析

食中毒疑い事例のうち、GⅡ.17 と判明した 10 事例 28 株と GⅡ.17 [P17] と判明した 9 事例 15 株、さらに 3 月の発生動向調査事業で検出された GⅡ.17 [P17] 2 株及び GⅡ.4 [P16] 4 株について、RdRp 領域及び VP1 領域の 2 領域で系統樹解析を行った。VP1 領域における GⅡ.17 の解析結果では、10 事例 28 株と発生動向調査 2 株はすべて同一と判定された。RdRp 領域における GⅡ.17 [P17] の解析結果では、9 事例 15 株は大きく 3 つに分けられ、2 月発生の事例 1, 2, 3 がほぼ同一で他県依頼株とも近縁にあり、3 月発生の事例 4, 5, 8, 9 と小児感染性胃腸炎由来 1 株がほぼ同一と判定された。事例 7 は事例 4, 5, 8, 9 と近縁であり、また小児感染性胃腸炎由来残り 1 株については、他とは異なっていた。

## 4 考察

県内で発生した食中毒疑い事例 10 事例について、すべてからノロウイルス GⅡ.17 が検出され、うち 9 事例は GⅡ.17 [P17] と判明した。GⅡ.17 [P17] については、平成 26 年に川崎市で確認された新しい遺伝子型であり [4]、鳥取県でも当時検出された型であった [5]。GⅡ.17 については、平成 28 年以降大きな流行はなかったが、今回全国で GⅡ.17 の検出数が増加しており、県内の検出状況も考慮すると、GⅡ.17 が全国の食中毒多発の原因となった可能性も考えられた。また、多くの人がこの GⅡ.17 に免疫を持っていなかったことも感染拡大の一因と考えられた。

系統樹解析では、VP1 領域の GⅡ.17 について 10 事例ともに同一であったが、RdRp 領域の GⅡ.17 [P17] については大きく 3 つに分けられ、2 月発生の 3 事例と、3 月発生の 4 事例、それ以外の 1 事例に分かれていたと推察された。また、今回食品 1 検体・ふき取り 3 検体からノロウイルスが検出されたが、ウイルス量はわずかであり、食品を 6 つに分けたうちの 1 検体から辛うじて検出できており、疫学情報から焦点を絞り、検体採取や検査実施することが重要であると考えられた。

終わりに、遺伝子解析に御協力いただいた国立医薬品食品衛生研究所の岡 智一郎先生に深謝する。

### 【参考文献】

- [1] 病原体検出マニュアル ノロウイルス (第 1 版), 令和元年 6 月, 国立健康危機管理研究機構
- [2] 「ノロウイルスの検出法について」の一部改正について, 平成 25 年 10 月 22 日付食安監発第 1022 第 1 号
- [3] 「ノロウイルスの検出法について」食品衛生検査指針 (微生物編 2015 年版)
- [4] 新規遺伝子型ノロウイルス GⅡ.P17-GⅡ.17 の流行, IASR Vol. 36 p. 175-178, 2015 年
- [5] 鳥取県における新型ノロウイルス (GⅡ.P17-GⅡ.17) 検出状況, N056, 2015, 鳥取県衛生環境研究所報



# SEH 遺伝子単独保有の黄色ブドウ球菌による食中毒事例

島根県保健環境科学研究所 ○野村亮二 川上優太 河原知世 酒井智健 川瀬遵

## 1. はじめに

黄色ブドウ球菌食中毒は、黄色ブドウ球菌が食品中で増殖する時に産生したエンテロトキシン(SE)を食品と共に摂取することにより起こる毒素型食中毒である。SE は、エンテロトキシン様毒素(SE1)も加えると 20 種類以上のタイプが報告されている<sup>1)</sup>。特に、最も食中毒の発生件数が多い SE 型は SEA で、他に SEB、SEC 及び SED に関連する事例が確認されている<sup>2)</sup>。これら以外の SE による事例報告は極めて稀であるが、今回、SEH 遺伝子単独保有の黄色ブドウ球菌が原因と考えられる食中毒事例を経験したので報告する。

## 2. 事例の概要

令和 3 年 7 月に島根県内の医療機関から「食中毒を疑う患者を診察した」旨の連絡が管轄保健所にあった。保健所が調査したところ、2 グループ 22 名が下痢、嘔吐等の症状を呈していることが判明し、原因食品は、患者が発症当日喫食していた飲食店の食事と断定された。

## 3. 方法と結果

患者便 14 検体、従事者便 4 検体、食品残品 8 検体(ひじきの煮物、だし巻きたまご、骨せんべい、魚の白焼き、煮魚、くぐらせ用の蒲焼のたれ、仕上げ用の蒲焼のたれ、米飯)、ふき取り検体 10 検体計 36 検体について、食中毒起因菌の検査を行った。また、食品残品のうち、「くぐらせ用の蒲焼のたれ」及び「仕上げ用の蒲焼のたれ」について、水分活性測定を実施した。食中毒起因菌の検査の結果、患者便 10 検体、従事者便 2 検体、食品残品 4 検体、ふき取り検体 3 検体の計 19 検体から黄色ブドウ球菌を検出した。黄色ブドウ球菌の菌数は、患者及び従事者が  $1.0 \times 10^2 \sim 9.5 \times 10^5$  cfu/g、食材は  $2.2 \times 10^3 \sim 7.1 \times 10^4$  cfu/g で「仕上げ用の蒲焼のたれ」が最も多く、ふき取り検体では、 $7.0 \times 10^2 \sim 1.9 \times 10^3$  cfu/g であった。食品残品の水分活性測定の結果、「くぐらせ用の蒲焼のたれ」は 0.8178、「仕上げ用の蒲焼のたれ」は、0.9005 であった。分離された菌株について、狩野らの方法<sup>3)</sup>によりエンテロトキシン遺伝子の型別 PCR を行ったところ患者由来株、従事者由来株、食品残品由来株から SEH 遺伝子が検出され、これらの株はコアグラマーゼ VII に分類された(表 1)。SEH 遺伝子保有株計 10 株(患者便由来 5 株、従事者便由来 1 株、食品残品由来 2 株、ふき取り検体由来 2 株)において、制限酵素 *Sma* I を用いた PFGE 法で解析したところ同一のパターンを示した。また、追加で次世代シーケンサー(NGS)を用いた病原性遺伝子の網羅検索及び Multilocus Sequence Typing(MLST)解析を行った。その結果、すべての分離株から SEH 遺伝子が検出され、他の SE 遺伝子は検出されなかった。また、SEH 遺伝子保有株は、すべて ST81 型となった。

## 4. 考察

SEH は SEA と同様に嘔吐活性を有するエンテロトキシンであり、環境や動物、食品から広く SEH 遺伝子保有の黄色ブドウ球菌が検出されている。しかしながら、SEH 単独による食中毒の発生頻度は非常に低く、稀な SE 型である。今回の事例は患者、従事者、食品、環境から SEH 保有の黄色ブドウ球菌が検出され、分子疫学解析でも遺伝的に同一の菌株と考えられた。患者の症状等の疫学情報を考慮すると、今回の事例は SEH 遺伝子単独保有の黄色ブドウ球菌による食中毒であると考えられた。

一般的に、食品中に黄色ブドウ球菌が  $1 \times 10^5$  cfu/g 以上増殖すると、症状を引き起こすエンテロトキシンが産生されると言われている。今回の事例は、「仕上げ用の蒲焼のたれ」から最も多い黄色ブドウ球菌( $7.1 \times 10^4$  cfu/g)が検出されたものの、菌量は  $1 \times 10^5$  cfu/g を下回った。患者が喫食した食品の一部は残品がなく、検査が一部未実施のものがあつた、この中に黄色ブドウ球菌が十分量増殖した食

品が含まれている可能性が考えられた。検査未実施の魚の蒲焼は、黄色ブドウ球菌に汚染されたたれが魚の加熱工程後に使用されており、黄色ブドウ球菌が大量に増殖した魚の蒲焼を患者が喫食したのではないかと推定された。なお、水分活性測定の結果、「仕上げ用の蒲焼のたれ」は黄色ブドウ球菌が増殖可能な範囲であった。

今回の事例で検出された菌株は、新たな試みとして NGS 解析を行った。すべての菌株は MLST 解析の結果から ST81 型 (Clonal complex 1) に型別された。本邦では、黄色ブドウ球菌食中毒を引き起こす主な遺伝系統は、Clonal complex 81 であるので<sup>4)</sup>、今回の菌株は、マイナーな遺伝系統であると考えられた。我々は新型 SE や SE1 を検出するための PCR 用陽性コントロールをすべて保有していなかったため、NGS 解析による網羅的な病原性遺伝子の検出を行うことで結果を得ることができた。陽性コントロールの入手が困難な場合に NGS を活用することは有用と考えられた。また、データ解析に課題は残っているが、NGS の利用により、今までより少ない手間で多くの情報を得ることができ、職員の負担軽減に繋がる可能性も示唆された。

SEA～SED 以外の SE や SE1 による事例などの特殊なケースは国内で発生報告があり、今後に対応が求められる可能性がある。典型的ではない事例にも対応するには、応用力のある人材育成や環境整備が今後必要であると考えられた。

## 5. 参考文献

- 1) Suzuki Y, et al.: Food Microbiol, 92, 103588 (2020).
- 2) 平井昭彦ら: 日本食品微生物学会雑誌, 34(1), 26-31 (2017).
- 3) 狩野真由子ら: 岩獣会報, 35, 43-48 (2009).
- 4) Sato' o Y. et al.: J Clin Microbiol, 52, 2637-2640 (2014).

表 1: 黄色ブドウ球菌の検出状況、菌数、および分離株におけるコアグララーゼ型ならびにエンテロトキシン型の結果

| 検査結果       |         | 検体の種類                                       |                                             |                                             |                                             |    |
|------------|---------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|----|
|            |         | 患者便                                         | 従事者便                                        | 食品残品                                        | ふき取り<br>検体                                  | 合計 |
| 検体数        |         | 14                                          | 4                                           | 8                                           | 10                                          | 36 |
| 黄色ブドウ球菌検出数 |         | 10                                          | 2                                           | 4                                           | 3                                           | 19 |
| コアグララーゼ型   | VII     | 10                                          | 1                                           | 4                                           | 2                                           | 17 |
|            | UT※1    | 0                                           | 1                                           | 0                                           | 1                                           | 2  |
| エンテロトキシン型  | SEB 遺伝子 | 0                                           | 0                                           | 1                                           | 0                                           | 1  |
|            | SEH 遺伝子 | 10                                          | 1                                           | 3                                           | 2                                           | 16 |
|            | ND※2    | 0                                           | 1                                           | 0                                           | 1                                           | 2  |
| 菌数 (CFU/g) |         | $1.0 \times 10^2$<br>～<br>$9.5 \times 10^5$ | $2.0 \times 10^2$<br>～<br>$4.0 \times 10^2$ | $2.2 \times 10^3$<br>～<br>$7.1 \times 10^4$ | $7.0 \times 10^2$<br>～<br>$1.9 \times 10^3$ |    |

※1: UT 不明 ※2: ND 検出せず

微生物リスク管理の数値指標（ムービング・ウィンドウ）の考え方による健康異常探知システムの検討  
松江市・島根県共同設置松江保健所 ○来待幹夫

1 はじめに

集団生活を行っている施設における健康異常の集団発生は、感染症あるいは食中毒かもしれないと気づくタイミングやその後の対応によってその様相は大きく異なってくる。

感染症法では感染症発生届、社会福祉施設からは「社会福祉施設等における感染症等発生時に係る報告について」（厚生労働省健康局長等通知、以下通知という。）に基づく報告、並びに学校では学校保健安全法に基づき保健所に報告される。

保健所は、これらの報告に基づき感染症・食中毒の対応を行うが、報告時点で感染が広がっている場合やすでに蔓延状態となっている場合もある。

そこで、国際的な政府間組織のコーデックス委員会が食品微生物関連のリスク管理のため示した数値指標であるムービング・ウィンドウ（moving window）という考え方を参考に健康異常探知システムを検討したので報告する。

2 方法

（1）ムービング・ウィンドウ（moving window、以下MWという。）の考え方

- ①比較的大きな数のサンプル数(n)を一定期間、決められた頻度で採取し検査する。
  - ②サンプル数(n)の中で、基準値(m)を超えるものがあつた。
  - ③基準値(m)を超えたサンプルが(c)個以内の場合は工程や食品安全管理システムは適切に管理されていると判断。
- ①～③を前提とし、サンプル数(n)の枠を1つの窓に見立て、検査結果が加わるごとに、その窓をずらして結果の推移を観察する。異常を確認した場合は対策を講じる。日々、枠（窓）が移動するように見えることからMWと呼ばれる。

（2）食品検査の場合のMWを実施するための要素

- ①数値指標の設定  
指標細菌、サンプル数(n)検体、「検査数<m」（c）検体、基準(m)及び危険度で設定する。
- ②微生物検査におけるリスクの考え方  
微生物検査における検討ポイント、微生物のカテゴリー分類、カテゴリー別サンプリングプランを考慮する。

（3）集団生活を行っている施設における健康異常探知システム

- ①社会福祉施設における感染症等リスク検討ポイント  
ターゲット、方法、サンプル、頻度、解釈及びActionの事項ごとに考慮するポイントを設定し、リスク検討ポイントを策定する。
- ②感染症等病原微生物のカテゴリー分類  
食中毒を想定した場合は、カテゴリーの分類を有用性、緩やかなハザード、重大なハザード及び深刻なハザードとし、それぞれの懸念の程度並びに病因物質を設定する
- ③集団生活を行っている施設における数値指標の設定  
「対象者：利用者、入所者、職員、調理従事者等」、「数値確認のタイミング：起床時、当所時、利用中、勤務中等」及び「確認方法：出欠記録簿、健康観察記録、カルテ等」を考慮する。

3 結果

（1）数値指標の設定

感染症及び食中毒等の原因となる主な病因物質の潜伏期間を参考に、以下の数値指標を設定した。  
なお、食品の微生物リスク管理を目的とした数値指標と異なり、感染拡大を未然防止することを目的として、「注意」「警戒」「危険」「Outbreak」と段階的にアラートを鳴らし、健康異常を探知するシステムとした。

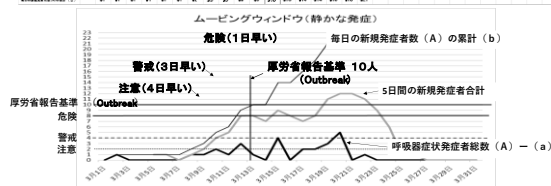
| 呼吸器感染症           | 潜伏期間   | n (日) | ○1 (人)<br>注意 | ○2 (人)<br>警戒 | ○3 (人)<br>危険 | ○4 (人)<br>Outbreak | m (人)                             |
|------------------|--------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------------|-----------------------------------|
| インフルエンザ          | 1～8日   | 1     | 2            | 4            | 8            | 10                 | 平常時の<br>平均的な<br>有症者数              |
| 人獣共通性インフルエンザ     | 2～8日   | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| RSウイルス感染症        | 2～8日   | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| 細菌性肺炎(肺炎球菌)      | 3～8日   | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| オウム病(ornithosis) | 突然     | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| 百日咳              | 7～10日  | 1     | 全体か<br>隠れ    | 全体への<br>拡がりは | 保健所に<br>報告   | 手遅れ                | 普段から喘息、咳、<br>喉痛、鼻炎、鼻水、<br>発熱の症状あり |
| 風疹               | 14～21日 | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| 麻疹               | 10～12日 | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| マイコプラズマ肺炎        | 2～8週間  | 1     |              |              |              |                    |                                   |

| 消化器感染症   | 潜伏期間     | n (日) | ○1 (人)<br>注意 | ○2 (人)<br>警戒 | ○3 (人)<br>危険 | ○4 (人)<br>Outbreak | m (人)                             |
|----------|----------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------------|-----------------------------------|
| 食中毒(細菌性) | 1～8時間    | 1     | 2            | 4            | 8            | 10                 | 平常時の<br>平均的な<br>有症者数              |
| ウェルシュ菌   | 6～18時間   | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| サルモネラ菌   | 8時間～48時間 | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| 腸炎ビブリオ   | 12時間     | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| ノロウイルス   | 1～2日     | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| ロタウイルス   | 2日       | 1     | 全体か<br>隠れ    | 全体への<br>拡がりは | 保健所に<br>報告   | 手遅れ                | 普段から喘息、咳、<br>喉痛、鼻炎、鼻水、<br>発熱の症状あり |
| カンピロバクター | 2～7日     | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| 腸管出血性大腸菌 | 4～6日     | 1     |              |              |              |                    |                                   |
| アデノウイルス  | 6～7日     | 1     |              |              |              |                    |                                   |

（2）有症者の発症パターン毎の有効性

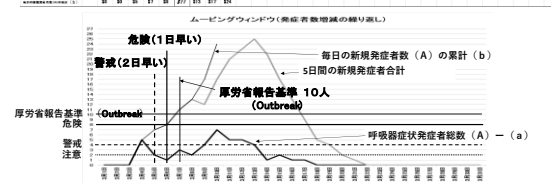
MWにおける新規発症者数の把握は前5日間の合計人数とし、通知に基づく保健所への報告人数

①静かな発症（少人数の発症者が増えるでもなく減るでもなく続く場合）



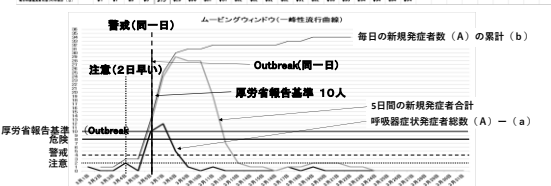
厚労省通知基準（１０名以上）に基づき報告する日より、注意（２人）は４日、警戒（４人）は３日、危険（８人）は１日早い結果となった。

③発症者数が増減を繰り返しながら感染拡大（最初はある程度まとまった発症者があったがその後減少し、再び増加するように増減が繰り返される場合）



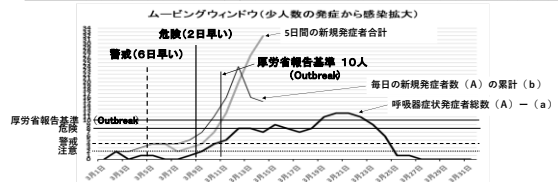
厚労省通知基準(10名以上)に基づき報告する日より、警戒は2日、危険は1日早い結果となった。

⑤一峰性流行曲線（食中毒のように何かの機会（時点）を境に急激に発症者が増加する場合）



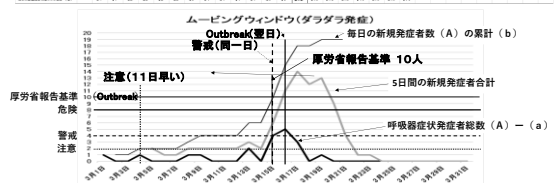
厚労省通知基準(10名以上)に基づき報告する日より、注意は2日早い結果となったが、警戒と厚労省通知基準(10名以上)が同日となり、Outbreakも重なった。

②少人数の発症から感染拡大（最初は発症者が少人数であったものの徐々に増加し始める場合）



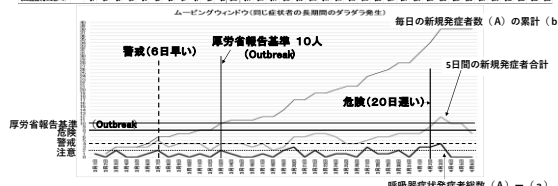
厚生省通知基準(10名以上)に基づき報告する日より、警戒は6日、危険は2日早い結果となった。

④ダラダラとした有症者の発生（複数人の発症者が継続的に発生している場合）



厚労省通知基準（１０名以上）に基づき報告する日より、注意は１１日早い結果となったが、警戒と厚労省通知基準（１０名以上）が同一日となった。  
なお、その１日後に、数値指標の Outbreak が来る結果となった。

⑥同一症状者の長期間に及ぶダラダラした発生（複数人の発症者が継続的に増減を繰り返して発生している場合）



厚労省通知基準（１０名以上）に基づき報告する日より、警戒が６日早い結果となったが、危険は２０日遅い結果となった。

コーデックス委員会が示した微生物リスク管理の数値指標（MW）の考え方を参考に、集団生活を行っている施設における感染拡大を未然防止するために「注意」「警戒」「危険」「Outbreak」と段階的な数値指標を設定した。

## 5 まとめ

社会福祉施設、児童福祉施設並びに学校においては、日々様々な疾患等による症状を呈する者、早退者、欠席者、欠勤者など（以下、有症者という。）が存在し、集団感染の兆候を見逃してしまう要因が存在する。そのため、施設や学校では平常時における有症者の数を把握していく必要がある。

感染症及び食中毒は、事例ごとにその様相は異なり、どれ一つ取っても同じ対応が良いとは言えない。ただ、兆候をいち早く探知し、素早い対応をすることで鎮静化や感染拡大を防ぐことができる。

今回検討した数的指標（MW）による健康異常探知システムの活用が、感染症・食中毒対策の一助となると考える。

# 広島県における食中毒事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型状況

広島県立総合技術研究所保健環境センター ○末井 真菜、伊藤 彩乃、重本 直樹

## 1 緒言

ノロウイルスは下痢症を引き起こす主要な原因ウイルスの一つであり、わが国でも主に11月から2月にかけて食中毒や集団発生を引き起こす病因物質として知られている[1]。

今回、2015年度から2024年度に当センターに搬入されたノロウイルスを原因とする食中毒疑い事例について、検出ノロウイルスの遺伝子型を特定することで食中毒におけるノロウイルスの流行実態を把握し、その傾向について考察を行ったので報告する。

## 2 材料および方法

### 1) 供試検体

2015年5月から2024年3月までに、当センターに搬入されたノロウイルスを原因とする食中毒疑い事例46例の糞便検体を用いた。

### 2) ノロウイルスの遺伝子型別

ノロウイルス陽性検体のcDNAを用いて、VP1領域の一部をPCR法により増幅し、シークエンス解析により得られた塩基配列データをNorovirus Typing Tool Version 2.0および遺伝子解析ソフトMEGA Xを用いて解析し、遺伝子型を特定した。

## 3 結果

2015年度から2024年度に発生したノロウイルス由来の食中毒疑い事例で検出されたノロウイルスの遺伝子型を図1に示した。

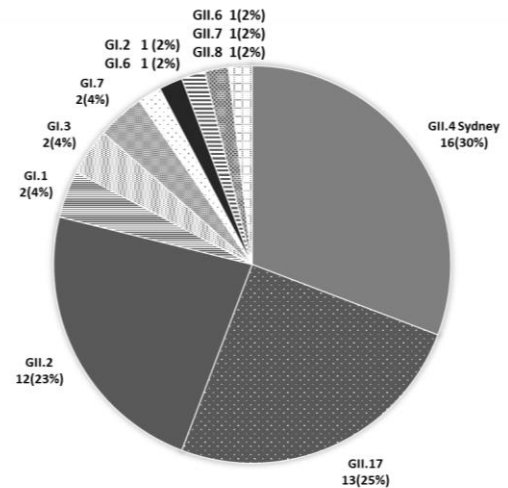


図1 過去10年間の検出遺伝子型の内訳

食中毒疑い事例46例中、GIを原因とするものは8例、GIIを原因とするものは44例あった。検出された遺伝子型は、GIが5種類(GI.1、GI.2、GI.3、GI.6、GI.7)、GIIが6種類(GII.2、GII.4 Sydney、GII.6、

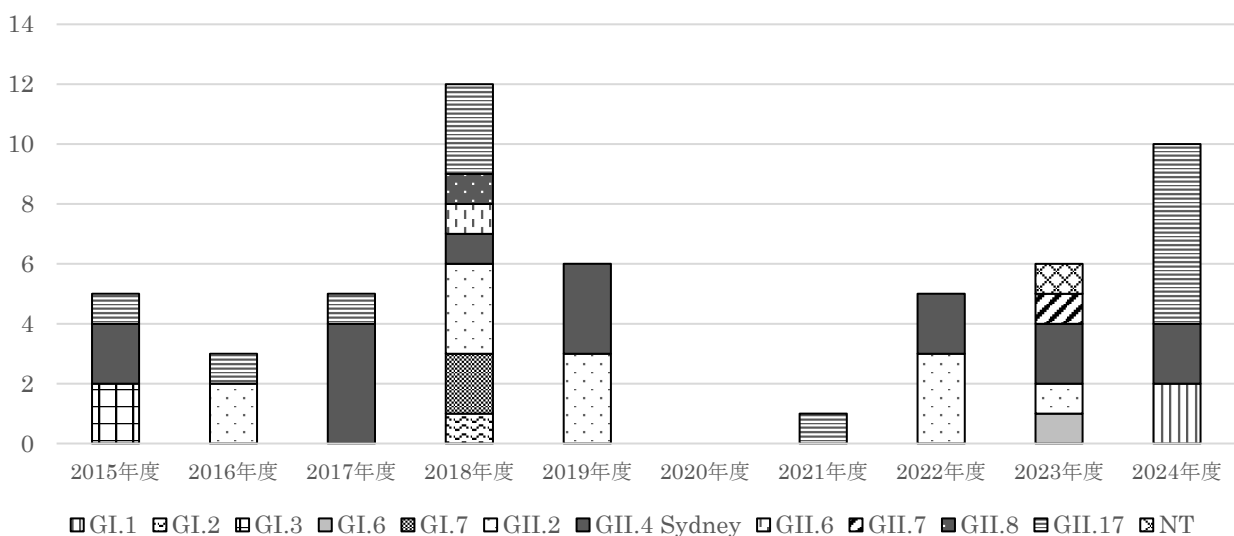


図2 過去10年間の検出遺伝子型と事例数

GII.7、GII.8、GII.17) であった。また、1つの事例において2つ以上の遺伝子型が検出された例は6例あった。最も多く検出された遺伝子型は、GII.4 Sydney だった。次いで GII.17、GII.2 の順で多く検出された。

年度ごとに検出された遺伝子型を図2に示した。2020年度及び2021年度は食中毒疑い事例数が減少したが、その後再び増加した。過去10年間で検出数が最も多かった GII.4 Sydney は、2016年度、2020年度及び2021年度を除く過去7年間で検出された。GII.17 は、2024年度に検出数が大幅に増加した。

#### 4 考察

今回、過去10年間に広島県内で発生した食中毒疑い事例で検出されたノロウイルスについて、それらの遺伝子型を調べた。過去10年間で原因ウイルスとなったノロウイルスの遺伝子型は11種類検出されており、多様な遺伝子型が食中毒の原因ウイルスとなっていた。その11種類の遺伝子型の中で最も多く検出された GII.4 Sydney は、過去7年間で一定数検出されており、新型コロナウイルス流行前と流行後では、変わらず主要流行遺伝子型の一つであると考えられた。次に検出数が多かった GII.17 は、2015年度から2018年度の間は検出されていたが、その後2021年度の1事例のみしか検出されていなかった。しかし、2024年度に検出数が急増しており、特に2024年度の末に GII.17 の増加がみられた。これらを全国の検出状況〔2〕と比較したところ、全国においても当県と同様に2024年度の後半から GII.17 の増加がみられた。このことから、GII.17 は2024年度の主要流行遺伝子型と考えられた。また GII.17 については、2025年度の流行状況にも注視していく必要がある。

食中毒疑い事例数は、厚生労働省がまとめる食中毒統計資料〔3〕が示すように、新型コロナウイルス流行禍だった2020年度から2022年度では、2019年度と比較して減少傾向にあり、当県においても同様であった。これは、2020年に発令された緊急事態宣言による外出の自粛、飲食店などの時短営業など

により、人同士が接触するイベント等の機会が急激に減少したことや、手洗いなどの新型コロナウイルスに対する感染対策が行われたことが理由と考えられた。しかし、新型コロナウイルスが5類感染症に移行し、2023年度以降は食中毒事例数が増加傾向にあった。これは新型コロナウイルス流行禍でノロウイルスに対する免疫を獲得する機会が得られなかったことが理由と考えられた。一方で、十数年前は、GII.4 が長い間主流の遺伝子型であり続けたこともあったが、最近は様々な遺伝子型が混在しており、年度によって主要な遺伝子型も変わってきている。これらのことから、新型コロナウイルス流行後から変化したノロウイルスを原因とする食中毒例の増加や検出される遺伝子型の変化について今後も監視を強化する必要がある。

#### 参考文献

- 〔1〕 野田衛. 我が国におけるノロウイルス食中毒、感染症の現状. 獣医疫学雑誌. 2014, 18(1), 77-84.
- 〔2〕 国立健康危機管理研究機構. “月別胃腸炎ウイルス”. 感染症情報提供サイト. 2025-06-25. <https://id-info.jihs.go.jp/surveillance/ias/graphdata/050/index.html>. 2025-06-25.
- 〔3〕 厚生労働省. “食中毒統計資料”. 2025-06-24. [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunit suite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunit suite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html). 2025-06-27.