

感染症発生動向の基礎資料化 ―流行の探知に向けて―

管理課 疫学情報

○長谷昌巳, 掛布有紀(東山区役所保健部)

<はじめに>

感染症発生動向調査事業は、平成 11 年 4 月に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づいて実施されており、地方感染症情報センターは、感染症の発生状況の正確な把握と分析、その結果の的確な提供・公開を重要な業務としている。

京都市感染症情報センター（京都市保健福祉局 衛生環境研究所）では、医療機関から市内 11 ヶ所の各保健センターに報告されたデータを集計分析し、感染症発生動向を「京都市感染症週報」として発行し、ホームページ等による情報提供を行って、感染症予防及びまん延防止のため注意を喚起してきた。具体的には、各疾患の週別患者報告数をグラフ化し、過去 5 年平均値と比較してきた。またこれを毎週継続することで、長期的な動向や季節変動を解析してきた。しかしこの方法では、通常範囲を超えて流行期に入ったことや流行が終息したことを、担当者が経験や知識に頼って判断せざるを得なかった。

感染症の監視体制を有効に機能させるには、基本的に、例年の発生レベルを基盤として把握することが不可欠である。またその基盤の設定のしかたが、感染症サーベイランスの精度に影響する。加えて、統計学的手法を用いることで基盤との妥当な比較検討が可能になる。

そこで本研究では、中央感染症情報センターや多くの地方感染症情報センターで用いられている「平均値+2SD」を判断指標として導入し、定点把握対象疾患について、過去 5 年間の定点あたり週別患者報告数の平均と標準偏差（以下 SD）を基盤にすることで流行を適切に判断できるかどうかを検討した。

<目的>

本研究では、京都市感染症情報センターの感染症サーベイランスの精度向上のため、定点把握対象疾患を対象に、過去 5 年間の定点あたり報告数の「平均値+2SD」が流行探知の指標として妥当かどうかを明らかにすることを目的とする。

<方法>

1 分析対象

定点把握対象疾患のうち、インフルエンザ定点及び小児科定点の届出対象疾患（計 12 疾患）について、平成 21 年～26 年の週別定点あたり患者報告数を対象とした。

インフルエンザ定点届出対象疾患：インフルエンザ

小児科定点届出対象疾患：RS ウイルス感染症、咽頭結膜熱（プール熱）、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎、水痘、手足口病、伝染性紅斑（りんご病）、突発性発しん、百日咳、ヘルパンギーナ、流行性耳下腺炎（おたふくかぜ）

2 分析方法

- ①当該週の報告数の過去 5 年平均値（過去 5 年の前週、当該週、後週の合計 15 週の平均）とその標準偏差を算出し、グラフ化する。
- ②各年の週別患者報告数を当該週の「過去 5 年平均値+2SD」と比較する。
- ③各年の報告数が「過去 5 年平均値+2SD」を超える場合は、例年に比べて統計学的に有意に多いとみなし、流行と判断して、各疾患の流行を的確に探知する。

<結果と考察>

1 「過去 5 年平均値+2SD」を超える報告状況

12 種の感染症について、平成 21 年～26 年の発生状況にそれぞれの「過去 5 年平均値+2SD」を重ねてみた。その結果、いずれの

年も約半数の疾患において、報告数が「過去5年平均値+2SD」を超えた週があった。たとえば平成26年の場合は、インフルエンザ、RSウイルス感染症、咽頭結膜熱、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、水痘、百日咳において「過去5年平均値+2SD」を超える報告があったことが確認された。

このうち「過去5年平均値+2SD」を超える報告が連続していたのは、インフルエンザ、RSウイルス感染症、咽頭結膜熱であった。インフルエンザはシーズンごとに流行する時期がずれることが影響しているため、ここでは検討外とすると、連続して「過去5年平均値+2SD」を超えていたのは、RSウイルス感染症が3週間、咽頭結膜熱が12週間であった。

2 「過去5年平均値+3SD」を超える報告状況

上記より、報告数が「過去5年平均値+2SD」を超えると直ちに流行と捉えるのではなく、少なくともそれが連続する状況を流行と捉える方が妥当と考えられた。そこで、「過去5年間の平均値+3SD」を超える報告のあった疾患を調べてみた。

その結果、調査対象の各年において、1~2疾患が何週間も連続していた。それらは、平成26年は咽頭結膜熱が8週続けて超えており、同様に25年は咽頭結膜熱9週間、手足口病7週間、24年はRSウイルス感染症15週間、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎6週間、22年及び23年は手足口病でそれぞれ7週間と6週間となっていた。21年には、いわゆる「新型インフルエンザ」の流行があったが、これはそれ以前5年間のインフルエンザの「過去5年平均値+3SD」を23週連続して超える状況であった。

3 「ベースライン」の再設定

ここまでの報告状況の比較検討に用いてきた「ベースライン」は、前述したように、過去5年間の定点あたり患者報告数の平均値(過去5年の前週、当該週、後週の合計15週の平均)と標準偏差「2SD」、「3SD」であった。

ところがこの「ベースライン」は、「過去5年平均値+2SD」や「過去5年平均値+3SD」を超えるほどの発生があった場合、そのことに影響され、翌年以降は見かけ上、報告数が増加したようになってしまい、報告数のデータ個数が少ない場合は特にこの傾向が顕著になった。しかし、本来、「ベースライン」は、例年並みの報告パターンを反映することによって、流行の的確な探知を可能にするものでなければならない。

そこで、「ベースライン」を設定する際に、「過去5年平均値+3SD」を超える流行が続いた場合には当該年のデータを外し、外した年数だけさらに過去にさかのぼって5年分のデータを使用した。たとえば、平成26年の咽頭結膜熱の場合は流行のあった25年を外して20年から24年までの分を用い、同年のA群溶血性レンサ球菌咽頭炎の場合は24年を外して20年から25年までの5年分を用いた。

4 「過去5年平均値+2SD」を超える報告状況の再検討

上述のようにして「ベースライン」を再設定したところ、平成26年の場合、連続して「過去5年平均値+2SD」を超えていたのは、RSウイルス感染症が4週間連続、咽頭結膜熱が7週続いた後1週飛んで再び10週間連続、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎が6週間連続となっていた。

この結果は、平成26年において上記1で流行状況にあると確認したのが、RSウイルス感染症及び咽頭結膜熱の2疾患であったのに対し、その方法では探知できていなかったA群溶血性レンサ球菌咽頭炎が加わったことになる。このうち、RSウイルス感染症については、平成23年に迅速診断キットに対する保険適用が外来診療にも拡大されたために年々報告数が増加していると考えられるので、過去の状況との比較には注意を要する。

以上により、報告数が連続して「過去5年平均値+3SD」を超えた場合は、その年のデータを次の「ベースライン」に反映させないことが、流行の探知をより妥当にさせると考えられた。

<結論>

本研究により、定点あたり報告数を「ベースライン」と比較して流行を的確に探知する方法として、次の2点が導かれた。

- 1 「過去5年の平均値+2SD」を連続して超える場合、アウトブレイクと捉える。
- 2 「ベースライン」設定の際には、連続して「過去5年平均値+3SD」を超えた年があった場合には、その年を外してさらに過去に遡って合計5年分を使用する。

アレルギー物質含有食品の検査結果について

生活衛生部門

○中尾 好絵, 並河幹夫, 藪下小雪, 富田陽子, 塩見哲生(北区役所保健部)

[目 的]

近年, 食物アレルギー患者の増加は大きな社会問題となっており, 食物アレルギーに関する対策の普及啓発が求められている。そこで厚生労働省は, 食物アレルギーによる健康被害を防止する目的で, 平成 13 年 4 月に特定原材料を含む食品の表示制度を定め, 平成 14 年 11 月には, アレルギー物質を含む食品の検査方法を通知した。検査の概要は, まずスクリーニング検査を行い, アレルギー物質が $10 \mu\text{g/g}$ 以上検出された場合に陽性と判断し, その後, 必要に応じて確認検査を実施するというものである。しかし, 食物アレルギーは数 $\mu\text{g/g}$ のアレルギー物質で発症する可能性があるとされており, 衛生管理の面から, $10 \mu\text{g/g}$ 未満の微量検出事例を把握することも重要である。

当研究所でも, 平成 25 年度からアレルギー物質含有食品検査を開始し, スクリーニング陽性検体及びアレルギー物質を $5 \mu\text{g/g}$ 以上検出した微量検出検体については確認検査を実施しているので, 検出状況を報告する。

[方 法]

(1) 試料

平成 25 年 5 月～平成 26 年 6 月に京都市内で収去された加工食品 211 検体。

(2) スクリーニング検査

卵, 乳, 小麦, そば, 落花生については, 日本ハム(株)製 FASTKIT エライザ ver. II シリーズ及び(株)森永生科学研究所製 FASPEK 特定原材料測定キットを使用した。えび・かにについては, 日水製薬(株)製 FA テスト EIA-甲殻類「ニッスイ」及び(株)マルハニチロ食品製甲殻類キット「マルハ」を使用した。

(3) 確認検査

ウエスタンブロット法(WB法), PCR法ともに通知法に準じて検査を行った。DNA抽出には, QIAGEN社製 Genomic-Tip 20/Gを使用した。PCR阻害物質除去キットには, ZYMO RESEARCH社製 One Step PCR Inhibitor Removal Kitを使用した。

[結 果・考 察]

(1) スクリーニング検査

検査を行った加工食品 211 検体の種類別検体数は, 菓子類 84 検体, そうざい類 74 検体, 乳児用食品 31 検体, 魚介類加工品 16 検体, 麺類 6 検体であった。検査は 1 検体につき 2 項目ずつ, のべ 422 件実施し, その項目別内訳は乳が 120 件, 卵が 91 件, 落花生が 61 件, 小麦, えび・かにが各 60 件, そばが 30 件であった。スクリーニング検査結果を表 1 に示す。検査を実施した 422 件のうち, 陽性となった件数(検出率)は, 卵 2 件(2.2%), 乳 2 件(1.7%), 小麦 1 件(1.7%), 落花生 1 件(1.6%)であった。また, 陽性または微量検出した件数(検出率)は, 卵 5 件(5.5%), 乳 9 件(7.5%), 小麦 7 件(11.7%), 落花生 2 件(3.3%), えび・かに 4 件(6.7%)であった。全体としては, 422 件中 6 件(1.4%)で陽性となり, 陽性または微量検出したものは 27 件(6.4%)であった。

陽性となった 6 件のうち, 卵 2 件及び乳 1 件は, 特定原材料の使用に対する認識不足が原因であった。残りの 3 件は製造過程でのコンタミネーションが原因であった。特に, 検出率の高かった小麦は, 粉末状のため空中に飛散しやすく, 同一施設内で他の製品に使用されることが多いため, コンタミネーションが発生しやすいと考えられる。

また, 卵, 乳は使用頻度が高く, 機械・器具等の洗浄不足によるコンタミネーションが疑われる。えび・かにについては, 生態や原材料の採取方法により加工食品に意図せず混入する可能性が高い。

(2) 確認検査

スクリーニング陽性検体及びアレルギー物質を $5 \mu\text{g/g}$ 以上検出した微量検出検体について, 卵, 乳では WB 法を, 小麦, そば, 落花生, えび・かにでは PCR 法を実施し, 特定原材料の含有を確認した。確認検査を実施したのは, 卵 2 件, 乳 3 件, 小麦 4 件, 落花生 1 件, えび・かに 1 件であった。確認検査の結果を表 2 に示す。

WB 法を実施した卵 2 件, 乳 3 件については, 5 件すべてで確認検査陽性となり, 特定原材料の含有が確認された。

表 1. スクリーニング検査結果

種類	検体数	卵			乳			小麦			そば			落花生			えび・かに			合計検査 件数
		ND	±	+	ND	±	+	ND	±	+	ND	±	+	ND	±	+	ND	±	+	
菓子類	84				77	6	1	24	6		24			28	1	1				168
そうざい類	74	58		2	28	1	1	13		1							42	2		148
乳幼児用食品	31	28	3											31						62
魚介類加工品	16							16									14	2		32
麺類	6				6						6									12
計	211	86	3	2	111	7	2	53	6	1	30	0	0	59	1	1	56	4	0	422

ND: 2種類のキットで1μg/g未満 ±: 微量検出(少なくとも片方のキットで1μg/g以上10μg/g未満検出) +: 陽性(少なくとも片方のキットで10μg/g以上検出)

表 2. 確認検査結果

項目	試料	スクリーニング検査(μg/g)			確認検査		
		モリナガ	日本ハム	判定	WB法	PCR法	
		マルハ	ニッスイ				
卵	肉団子	>10	>10	+	+		
	魚肉練り製品	>10	>10	+	+		
乳	肉団子	>10	>10	+	+		
	豆菓子	6.7	5.5	—	+		
	よもぎ団子	>10	4.6	+	+		
小麦	クッキー	7.9	6.2	—		+	
	甘栗	5.8	4.5	—		+	※
	水ようかん	3.6	9.6	—		+	
	大学芋	5.8	>10	+		+	
落花生	豆菓子	>10	>10	+		+	
えび・かに	ちりめんじゃこ	ND	7.2	—		+	

ND: 1μg/g未満 +: 陽性 —: 陰性 ※: PCR阻害物質除去キットの適用

PCR法を実施した小麦4件、落花生1件、えび・かに1件については、小麦3件、落花生1件、えび・かに1件で確認検査陽性となり、特定原材料の含有が確認された。PCR法で陰性となった小麦1件については、植物由来DNAバンドは確認できたが、小麦由来DNAバンドが確認できなかった。この原因として、試料中の小麦DNAがごく微量であるのに加え、試料中に含まれるポリ多糖類などのPCR阻害物質の影響が大きいと考えられる。そこで、PCR法で陰性となった小麦1件について、PCR阻害物質除去キットを適用した。結果、PCR法で陰性となった小麦1件についても小麦由来DNAバンドが確認された。

[まとめ]

京都市で収去された211検体について、食品中のアレルギー物質検査を実施した。結果、特定原材料の使用に対する認識不足や、製造過程でのコンタミネーションによるアレルギー物質検出事例が見られた。今後、衛生指導による意識の向上や、コンタミネーションを起こさないよう、製造施設や工程などの適切な衛生管理の徹底が求められる。

また、食物アレルギーは数μg/gのアレルギー物質で発症する可能性があるため、微量検出事例を把握し、指導の一助とすることは重要である。それに際し、スクリーニング検査は簡便・高感度である一方、擬陽性を示す可能性もあるので、アレルギー物質を検出した検体には確認検査を行うことが望ましい。しかし、検査対象品の多くは加工食品であり、確認検査が困難な事例も報告されているため、今回のようなPCR阻害物質除去キットの適用などの柔軟な対応も必要と思われる。

京都市内における蚊の生息・分布調査（第1報）

微生物部門

○土佐 祐輔 西野康子 伊藤隆起（退職）

1 目的

京都市内に生息する蚊の種類については、1962年の京都市衛生害虫研究会の報告で36種が確認されている。しかしその後本格的な調査がなく、現在市内にどれほどの種類が生息・分布しているか不明である。そこで、市内の蚊生息水域を調査し、現在の蚊の生息・分布状況を把握することにより、本市の蚊防除対策の基礎資料とする。

2 方法

年に数回、蚊の生息が予想される水域を調査し、蚊幼虫が採取できた場合、検査室内で飼育して成虫に羽化させ、種を鑑別する。なお、調査月は前述の報告（1962年）で高齢幼虫が多く採集できた時期を選んだ。

3 結果

今年度中に調査を行った水域と採集結果は下表のとおりであった。

水域	調査地点	調査日	採集した蚊
水田	伏見区久我, 左京区大原	26.8.22 26.9.11	採集なし
竹株	西京区大原野	25.9.12 25.11.7	キンバラナガハシカ, ヤマダシマカ, フタクロホシチビカ, オオクロヤブカ, ハマダラナガスネカ
墓地	伏見区深草	26.6.30 26.10.5	アカイエカ群
川岸 岩溜水	右京区保津峡	26.5.23 27.3.13	ヤマトヤブカ
雨水マス	衛生環境研究所前 道路端	通年	アカイエカ群, ヒトスジシマカ, ヤマトヤブカ, トラフカクイカ

4 考察

(1) 水田

水田は昭和40年代まではコガタアカイエカとシナハマダラカの主要発生源であったが、今回の調査ではどの地点でも蚊幼虫は全く採集されなかった。時期的に発生が終息していたことも考えられるので、再度6、7月にも調査する必要がある。

(2) 竹林

9月と11月の2回の調査で、5種類の幼虫が採集できた。その中で、ハマダラナガスネカは過去の調査では採集されなかった種であった。

(3) 墓地

今回調査した墓地では、あかうけには幼虫が全くみられなかった。花立の水溜りから数匹の幼虫が採集されたが、すべてアカイエカ群であった。予想したヤブカ類は採集されなかった。今後他の墓地も調査する必要がある。

(4) 川岸岩溜水

保津峡の桂川右岸の岩溜水（ロックプール）数箇所から蚊幼虫を採集したが、すべてヤマトヤブカであった。予想したハトリヤブカは見られなかった。

(5) 雨水マス

衛生環境研究所前の道路端の雨水マスを通年調査したが過去2年の調査で4種が採集された。その中で、アカイエカ群とヒトスジシマカが大半を占めていた。トラフカクイカの採集は特に珍しい事例であった。

京都市におけるマダニの生息調査について (IV)

微生物部門

○西野 康子, 伊藤 隆起 (退職)

1 目的

平成 23 年度から刺咬障害や感染症を引き起こすマダニの京都市内における生息状況を調査している。23, 24, 25 年度の調査から市内周辺部にはかなりのマダニが生息しており, その遺伝子検査の結果からリケッチアを保有すると思われる個体が多いことが明らかになった。

平成 26 年度は野生鹿の目撃頻度の多い宝ヶ池公園を調査した。調査は 9 月～3 月まで各月 1 回同じコースで行い, ダニの月毎の採集種, 発育期を観察した。また, 特に親ダニを多く採集した 10 月分を遺伝子検査することとした。

2 方法

前年度と同様にフランネル布を用いた flagging 法により, 1 ポイント当たり概ね 30 分間採集した。

遺伝子検査するマダニは生きたまま持ち帰り, 体液を採取した後にプレパラート作成し鑑別を行った。体液は MACHEREY-MAGEL 社の NucleoSpin Blood QuickPure を用いて DNA を抽出し, 17-kDa 蛋白遺伝子を増幅するプライマー R1/R2 及び *R. japonica* に特異的なプライマー Rj5/Rj10 による nested-PCR を行った。

3 結果

採集結果は温暖な 9, 10 月は多く採集できたが, 寒くなる 11 月からは激減した。発育期で観ると, 9 月は幼ダニが多く 10 月からは親ダニ, 若虫が多く採集できた。また 9 月に採集した親ダニはフタトゲチマダニであったが, 10 月からの採集ダニはキチマダニであった。

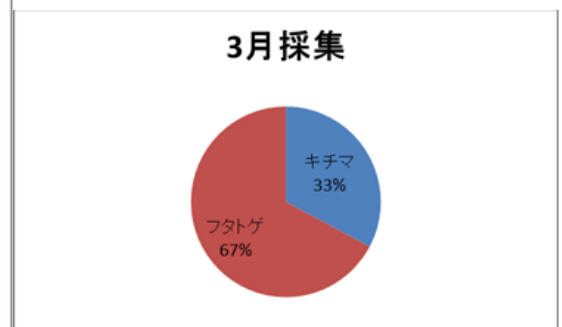
1 月採集の親ダニにキチマダニ以外のオオトゲチマダニが一匹混じっていた。3 月にはキチマダニとフタトゲチマダニが混合して採取された。親ダニ, 若ダニがそれぞれ採取でき, フタトゲチマダニの方が多く採取できた。冬型ダニであるキチマダニから夏型ダニのフタトゲチマダニへの繁殖移行期ではないかと思われる。

10 月に採集したマダニの PCR 検査を 81 匹中 55 匹実施し, R1/R2 陽性は 8 匹 (14.5%), Rj5/Rj10 陽性は 5 匹 (9%) であった。氷室で採集したフタトゲチマダニの陽性率と比べると, 宝ヶ池のキチマダニの陽性率は低いようである。4 月から 8 月に向けてキチマダニからフタトゲチマダニが繁殖する季節となるので, 採集状況とその陽性率を継続調査する予定である。

4 考察

宝ヶ池公園は広く多くの人が集う公園である, 山深いことから多くの野生鳥獣も生息していると思われる。

調査中にたくさんの鹿の糞を見る時期もあった。調査は主道からそれた側道で行ったのだが, 人の往来は皆無ではなく, すれ違うことがあった。これから夏を迎えフタトゲチマダニが増えてくることが予想される中, 側道に入る時はダニに注意する必要がある。



鴨川のカモにおけるインフルエンザウイルスの保有状況

微生物部門

○永棹 彰子, 渡辺 正義 (伏見区役所保健部)

1 目的

インフルエンザウイルスは変異しやすく, 平成 21 年に発生した新型インフルエンザ (AH1pdm) のように, しばしば大流行を引き起こす。

カモはインフルエンザウイルスの宿主であり, A 型インフルエンザウイルスの全ての亜型 (HA16 型, NA9 型) を保有している。

また, カモは渡り鳥であり, インフルエンザウイルスの「運び屋」として注目されている。

そこで, 鴨川に飛来するカモの糞を採取し, インフルエンザウイルスの保有状況を調査した。

なお, 本調査研究は京都産業大学との共同研究である。

2 方法

平成 26 年 12 月から平成 27 年 3 月まで, 鴨川河畔 (丸太町橋から北山大橋間) にてカモの糞を採取した。

検査は, 実験施設が当研究所に無いため, 京都産業大学において実施し, 孵化鶏卵法によるウイルス分離 (及び同定) を行った。

3 結果

平成 26 年 12 月 8 日から平成 27 年 3 月 30 日まで (計 12 回), 鴨川河畔にてカモの糞を採取した。

採取した 430 検体は, 孵化鶏卵法でインフルエンザウイルスの分離を試みたが, インフルエンザウイルスは分離されなかった。

4 考察

本シーズンの調査において, カモ糞便からインフルエンザウイルスは分離されなかった。一方, 環境省が実施している野鳥における定期糞便検査の結果によると, 平成 25-26 年シーズンは約 12000 検体から 27 検体の低病原性鳥インフルエンザウイルスが分離されている¹⁾。また, 平成 26-27 年シーズン (平成 27 年 4 月 30 日現在) には, 12 検体の高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N8 亜型) が分離されている²⁾。

本シーズンの京都市における調査ではインフルエンザウイルスは検出されなかったが, 全国的な調査結果を勘案すると, 今後定期的な調査をすることが重要と考えられる。

中国ではトリインフルエンザウイルス A (H7N9) のヒトへの感染が報告されており³⁾, インフルエンザウイルスの動向は, 常に監視の必要があるといえる。

5 参考文献等

1) 環境省自然環境局鳥獣保護業務室 (平成26年9月24日)

: 「平成25-26年シーズンの野鳥における鳥インフルエンザウイルス保有状況調査の結果について」

2) 環境省ホームページ「高病原性鳥インフルエンザに関する情報—国内での野鳥における過去の鳥インフルエンザ発生状況」

3) WHOホームページ 「Avian influenza A(H7N9) virus」

ブタにおけるインフルエンザウイルスの保有状況

微生物部門

○永棹 彰子, 渡辺 正義 (伏見区役所保健部)

1 目的

平成 21 年に発生した新型インフルエンザ (AH1pdm09) のように, インフルエンザウイルスは変異しやすく, トリ型由来のパンデミックが世界的に危惧されている。

ブタはヒトインフルエンザとトリインフルエンザの両方に感受性があり, 遺伝子再集合によって, 新型インフルエンザウイルスが発生する可能性がある。

そこで本研究では, ブタの鼻腔ぬぐい液よりインフルエンザウイルスを分離し, その解析を行うことを目的とした。

なお, 本調査研究は京都産業大学との共同研究である。

2 方法

食肉検査部門に依頼し, 京都市と畜場に搬入されたブタから, 鼻腔ぬぐい液を採取した。

調査期間は, ヒトにおけるインフルエンザ流行シーズンと想定した平成 26 年 12 月から平成 27 年 3 月までとし, 期間中週 1 回, 各 10 検体を採取した。

採取した鼻腔ぬぐい液を液体培地に懸濁後, ろ過滅菌し, ろ液を MDCK 細胞に接種し 1 週間培養を 2 回行い (盲継代 2 代), CPE を観察した。

3 結果

平成 26 年 12 月 2 日から平成 27 年 3 月 24 日の間 (計 15 回), 食肉検査部門に依頼し, ブタ鼻腔ぬぐい液 150 検体を採取した。検体を MDCK 細胞に接種したところ, インフルエンザウイルスは分離されなかった。

4 考察 (結論及び評価)

本調査ではインフルエンザウイルスが分離されなかったが, IASR の速報¹⁾によると 2014/15 シーズンはヒトからのインフルエンザウイルス (AH3) の分離・検出が多く報告されている。

また, アメリカではブタインフルエンザウイルス (AH3N2v)²⁾, 中国ではトリインフルエンザウイルス (AH7N9) のヒトへの感染が報告されており³⁾, インフルエンザウイルスの動向は, 常に監視の必要があるといえる。

5 参考文献等

- 1) 国立感染症研究所ホームページ「IASR インフルエンザウイルス分離・検出速報 2014/15 シーズン」
- 2) CDC ホームページ「Information on Influenza A (H3N2) Variant Viruses (“H3N2v”)」
- 3) WHO ホームページ「Avian influenza A(H7N9) virus」

ウェルシュ菌による食中毒事例から得られた一考察について

微生物部門

○永田 有希, 西中 麻里子, 松本 剛芳, 橋本 貴弘, 今江 清朝

1 目的

平成 26 年 5 月, 京都市内の施設で調製された配達弁当によるウェルシュ菌を原因とする食中毒が発生し, 患者数は 900 名に上る大規模事例であった。調製された弁当は, 配送当日に加熱後放冷する調理工程があるにも関わらず, 食中毒が発生した。当時の調理状況を検証し再現実験を行うことで, 本食中毒事例の発生要因を推定し, 今後の食中毒予防に役立てることを目的とする。

2 事件概要

平成 26 年 5 月 2 日に施設を所管する保健所に通報があった。

食中毒の発生状況としては当該施設で調製された弁当の喫食者 1,696 名中 900 名が有症となった。また, 平均潜伏時間は 13 時間で, 比較的短時間であった。有症者の主症状は腹痛及び下痢であった。

3 原因食品の特定

患者便 5 検体, 返品された弁当内のキーマカレー 4 検体及びハムチーズフライ 1 検体からウェルシュ菌(型不明, エンテロトキシン陽性, カナマイシン感受性有り)が検出された。食品の検査結果及び喫食状況等を考慮すると, キーマカレーが本事例の原因食品と推定された。

なお, ハムチーズフライはキーマカレーと弁当内の同区画に盛り付けられており, 弁当の移送中における汚染が疑われた。

4 推定原因食品の調理工程について

キーマカレーは, 平成 26 年 4 月 30 日 12 時から調理を開始し, カレーの具材となるみじん切りされた玉ねぎと合い挽きミンチを炒めた後, 水と塩を加え, 沸騰後 5 分間加熱し, 翌日まで鍋に入れた状態で室温放置されていた。翌日(平成 26 年 5 月 1 日 3 時), 前日の鍋を沸騰後 5 分間加熱し, レトルトカレーを投入し, 沸騰後 5 分間再加熱を行った後, バットに移し, 扇風機にあてながら 15 分毎に混ぜ, 2 時間放冷されていた。

別の釜にてボイルした具材のグリーンピース及びダイスポテトを 30℃以下に放冷後, カレーの入ったバットに加えた。別室の盛り付け室にて, 盛り付けが完了したものから順次出荷され, 配送は常温で行われていた。

現場での聞き取り調査から, 調理室内に空調設備はなかったが, 盛り付け室には空調設備が設置されていた。また, 加熱の工程においてタイマーや中心温度計の使用はなかった。

5 再現試験

(1) ウェルシュ菌患者由来株の耐熱性試験

本事例は加熱工程があるにも関わらず, 食品中のウェルシュ菌が残存し, 増殖していることが予想された。ウェルシュ菌は増殖型と芽胞型の 2 種の菌形態をとることが知られている。本事例のウェルシュ菌患者由来株(以下使用菌株とする)についての耐熱温度を検証するため, 増殖型及び芽胞型の耐熱実験を行った。

ア 方法

増殖型の耐熱性について調べるため, CW 寒天培地(カナマイシン不含有)で培養した使用菌株を生理食塩水 4ml に懸濁し, 濃度を約 10^5 cfu/ml に調整した。調整菌液を水浴で 75℃及び 85℃で 5 分間加熱後, 100 μ l を CW 寒天培地(カナマイシン不含有)に接種し, 培養後の菌数を測定した。

また, 芽胞の耐熱性について調べるため, 使用菌株を, 変法 DS 培地 3ml に接種し, 濃度を約 10^5 cfu/ml に調整した後, 嫌気条件で 35℃18 時間培養を行い芽胞化させた。培養液を水浴で 75℃, 85℃及び 95℃で 5 分間加熱後, 段階希釈し, 各 100 μ l を CW 寒天培地(カナマイシン不含有)に接種し, 培養後の菌数を測定した。

(2) 使用菌株の食品添加試験及び菌数測定

加熱調理後に残存した芽胞型のウェルシュ菌が発芽した場合を想定し、使用菌株を市販のレトルトのキーマカレーに添加し、保管条件の違いによる増殖の様子を調べた。調理中の鍋底にあるカレーを想定し、カレーの入ったチューブを嫌気条件下で保管した。また、小分け後のカレー（カレーの内部は嫌気状態を保持）を想定し、カレーの入ったチューブを好気条件下で保管した。

ア 方法

市販のレトルトキーマカレー（45g）を 50ml チューブに移し、チューブ内の中心温度が 85℃に達してから 30 分間加熱し脱気させた。カレーの中心温度が 40℃程度に下がったことを確認し、約 10^4 cfu/ml の使用菌株を 5ml 添加し、チューブの保管温度（10℃及び 35℃）と保管条件（好気及び嫌気）を変え、継時的に菌数の測定を行った。

6 結果

(1) 使用菌株の耐熱性試験

表 1 で示すように、増殖型である CW 寒天培地（カナマイシン不含有）で培養した使用菌株は、75℃及び 85℃で 5 分間の加熱では検出されなかった。

また芽胞化を行った場合には 75℃、85℃及び 95℃の全てにおいてウェルシュ菌が検出され、約 10^6 cfu/ml を示した。

表 1 使用菌株の耐熱性試験結果

		加熱温度		
		75℃	85℃	95℃
菌形態	増殖型	×	×	—
	増殖型+芽胞型	○	○	○

(2) 使用菌株の食品添加試験及び菌数測定

図 1 及び図 2 で示すように、保管温度 35℃では、嫌気及び好気のチューブの保管条件に関わらず、保管後約 4 時間でウェルシュ菌は食中毒を発生させる菌量である約 10^5 cfu/g まで増殖した。

また好気条件では 16 時間以降では菌数の低下が見られ、22 時間後には約 10^4 cfu/g になったのに対し、嫌気条件下では増加し続けた。

保管温度 10℃では、嫌気及び好気のチューブの保管条件に関わらず、22 時間を経過してもウェルシュ菌の食中毒を発生させる菌量に達することはなかった。好気条件下では、4 時間以降の菌数の減少が見られた反面、嫌気条件下では 4～16 時間の間に増加が見られた。

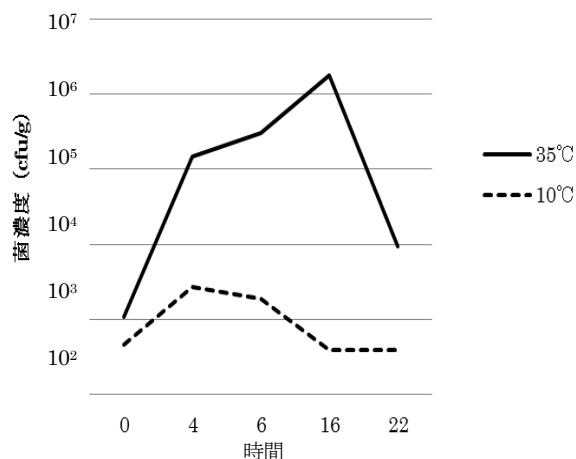


図 1 好気条件下保管におけるウェルシュ菌増殖

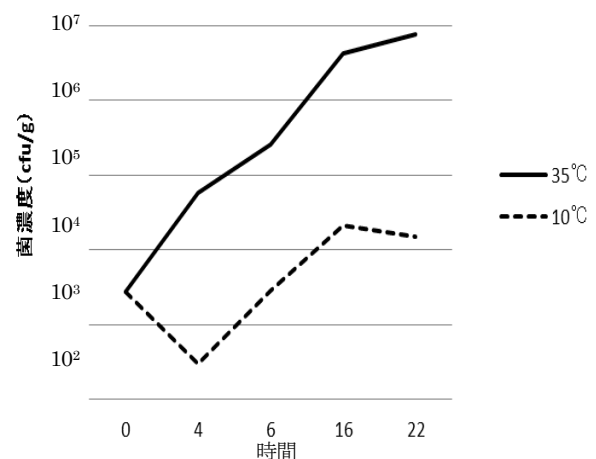


図 2 嫌気条件下保管におけるウェルシュ菌増殖

7 考察

再現試験（１）において、本事例の使用菌株の増殖型は 75℃及び 85℃5 分間の加熱で死滅する一方、芽胞型では 95℃5 分間の加熱でも生存することが分かった。

カレーは粘性が高く、鍋の中心部まで加熱し難いメニューであり、また、今回の原因食品であるキーマカレーは具材が細かく、一般的なカレーよりも粘性が高いペースト状の食品であると感じた。このため、本事例において、調理時の鍋における中心温度が 75℃に達していなかった可能性がある。

再現試験（１）により、調理工程における中心温度の測定とタイマー等の使用による加熱時間の管理が重要であることが考えられた。また、死滅せず発芽した芽胞については、増殖を防ぐための適切な温度管理が重要であると考えられる。

再現試験（２）においては、添加時の食品中の使用菌株濃度は約 10^3 cfu/g であったが、鍋底もしくは小分け後のカレーを想定した嫌気もしくは好気の保管条件に関わらず、35℃保管の場合では約 4 時間後には食品中の菌量が食中毒を引き起こす約 10^5 cfu/g に達することが分かった。10℃保管の場合には食品中の菌濃度が食中毒を引き起こす菌量に達することはなかったが、嫌気の鍋底条件下において僅かではあるが菌量の増加が見られた。

本検討において使用菌株の増殖は保管温度に大きく影響を受けることが分かった。

本事例において弁当の調製が室温で行われており、当時の平均気温は約 25℃であったことから、調理室内の温度はそれ以上に上昇していたと予想され、また、配送は常温で行われていた。これらの条件が重なり、加熱調理後の食品中に残存した芽胞の発芽及び調理時に加熱不十分で残存した増殖型の菌が時間の経過とともに増殖することにより食品中のウェルシュ菌濃度が食中毒を発生させる菌量に至った可能性が考えられた。

予防策としては、加熱調理は中心部まで十分に行い、加熱調理後の食品は速やかに冷却し、大量調理施設衛生管理マニュアルに基づき適切に管理することが望ましいと考えられる。

また、食肉がウェルシュ菌に高率に汚染されていることが知られており、食肉などを用いた煮物によるウェルシュ菌食中毒事例が多く見られる。本検討を踏まえ、今後の課題として、食肉中のウェルシュ菌の汚染率について調査することも有用であると感じた。

牛枝肉の微生物汚染調査に基づく衛生指導

食肉検査部門

○中森 健人, 泉 千加, 浜田 絢也, 小野寺 佳隆, 多田 二郎(退職), 男成 良之(退職)

1 目的

枝肉の微生物汚染防止は、衛生的な食肉を供給するために重要である。そこで枝肉の微生物汚染状況を調査することで、汚染原因を解明し、業者への衛生指導に役立てることを目的とする。

2 方法

(1) 調査期間

平成 26 年 4 月から平成 26 年 12 月までとし、調査期間内に月 1 又は 2 回の頻度で調査を行った。

(2) 調査対象

検査実施日の最初にと畜解体処理したと体及び最後に処理したと体を含め、間隔が均等になるように配慮した 5 頭の枝肉を対象とした。

(3) 一般細菌数及び大腸菌群数の測定

「食品衛生検査指針微生物編」により指定された方法に準じて行った。と畜検査終了直後の枝肉一つにつき胸部 1 箇所と肛門周囲部 1 箇所の計 2 箇所をふきふきチェックⅡ(栄研化学)を用いて 100cm²を拭き取り、それぞれを試料原液とした。試料原液 1ml に希釈液 9ml を加え、10 倍希釈液を作製し、同様の方法でさらに 100 倍及び 1,000 倍希釈液を作製した。これらの原液及び希釈液を、一般細菌数は標準寒天培地を、大腸菌群数はデスオキシコーレート培地を用いて培養し 1cm²あたりの菌数を算出した。なお、4 月から 7 月までは胸部の一般細菌数のみを測定し、8 月から 12 月までは胸部及び肛門周囲部の一般細菌数並びに大腸菌群数を測定した。なお、数値目標を一般生菌数は 1,000cfu/cm²未満、大腸菌群数は 3cfu/cm²未満とした。

(4) 衛生指導

検査所で食肉処理作業の衛生管理マニュアル点検表を作成し、月に一度検査員が処理工程を検証した。7 月 24 日から月に一度の頻度で、解体業者と枝肉汚染対策会議を開き、拭取検査結果及び現場検証結果を報告し、解体業者に衛生指導を実施した。

3 結果

(1) 一般細菌数の測定結果

胸部及び肛門周囲部の測定結果は表 1 及び表 2 のとおりであった。胸部の一般細菌数は 6 月 7 日の 3 頭目が 1,260cfu/cm²、6 月 12 日の 4 頭目が 11,000cfu/cm²で、ともに当日の平均値が数値目標を超えた。しかし、6 月 19 日以降の検査で数値目標を超える検体はなかった。(図 1)

肛門周囲部は 8 月 7 日、8 月 28 日及び 9 月 11 日の 1 頭目がそれぞれ、1,270cfu/cm²、19,500cfu/cm²及び 22,800cfu/cm²で、8 月 28 日と 9 月 11 日はともに当日の平均値が数値目標を超えた。しかし、9 月 25 日以降の検査で数値目標を超える検体はなかった。(図 2)

表 1 胸部の一般細菌数 (cfu/cm²)

日付	4月3日	4月17日	4月24日	5月17日	5月27日	6月7日	6月12日	6月19日	6月26日	7月3日	7月8日	7月19日	8月7日	8月28日	9月11日	9月25日	10月16日	10月23日	10月30日	11月20日	11月27日	12月18日
1項目	152.5	845	47	230.5	117.5	585	147	34.5	21.9	36	150.1	20.85	690	49.5	85.5	6.1	6.05	40	7.65	39.5	2.45	6.3
2項目	17.6	410	6.2	3.95	805	1025	116	15.4	11.95	13	90.5	27.8	133.5	118	68	19.35	17	80	4.1	23.8	11.6	68
3項目	38	54	1.6	4.5	380	1260	95	13.7	246	32.5	560	25.1	153.5	139	188	52.5	143	48	14.1	7.4	25.1	55
4項目	17.65	19.15	3.45	13.1	1000	23.05	11000	24.5	246.5	28.5	68	11.6	65.5	460	39	85.5	0.4	69.5	9.8	0.25	258.5	3.3
5項目	185	168.5	420	4	445	3950	400	47	12.45	45.5	172	71	34	72	10.25	35	2.65	6.8	104	1	2.75	7.25
平均	82.15	299	96	51	550	1184	2352	27	108	31	208	31	215.3	167.7	78.15	39.7	33.82	48.86	27.93	14.39	60.08	27.97

表 2 肛門周囲部の一般細菌数 (cfu/cm²)

日付	4月3日	4月17日	4月24日	5月17日	5月27日	6月7日	6月12日	6月19日	6月26日	7月3日	7月8日	7月19日	8月7日	8月28日	9月11日	9月25日	10月16日	10月23日	10月30日	11月20日	11月27日	12月18日
1項目													1270	19500	22800	234	210	176	45	8.95	81.5	9.3
2項目													41.5	3.95	190.5	151	68	7.35	510	8.2	17.65	57
3項目													47	4.35	770	64	42	4.8	13.4	16.05	14	34
4項目													36.5	123	12.8	13.35	0.45	69.5	37.5	26.1	105.5	91.5
5項目													37	55	1385	620	5.4	155.5	182	5.7	58	4.4
平均													286.4	3937.26	5031.66	216.47	65.17	83	157.58	13	55.33	39.24

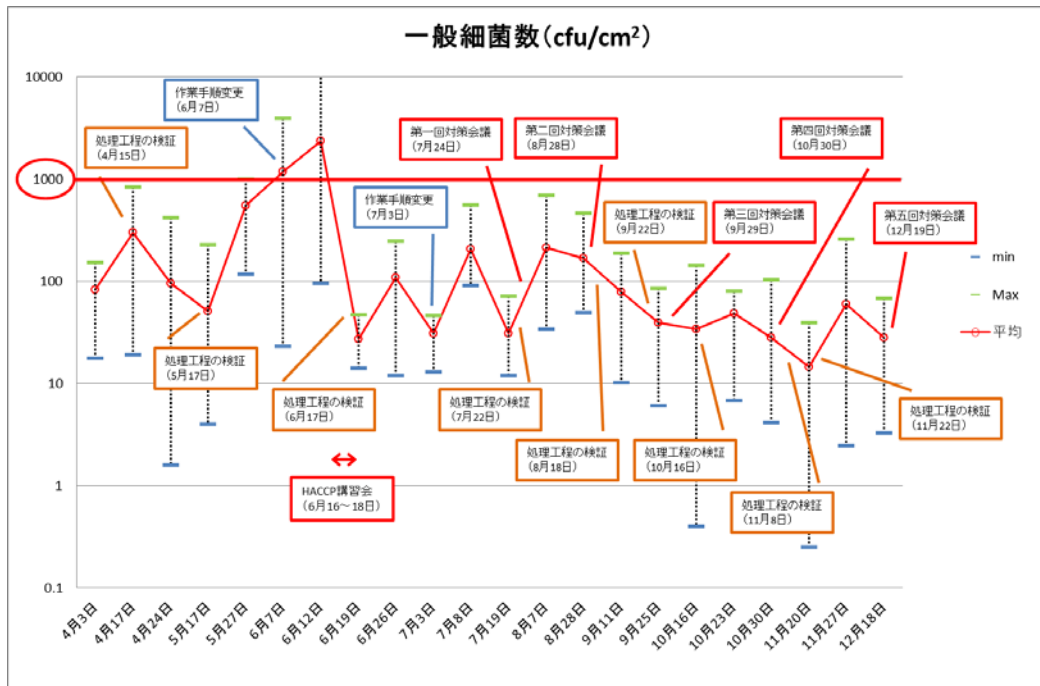


図 1 胸部の一般細菌数の測定結果

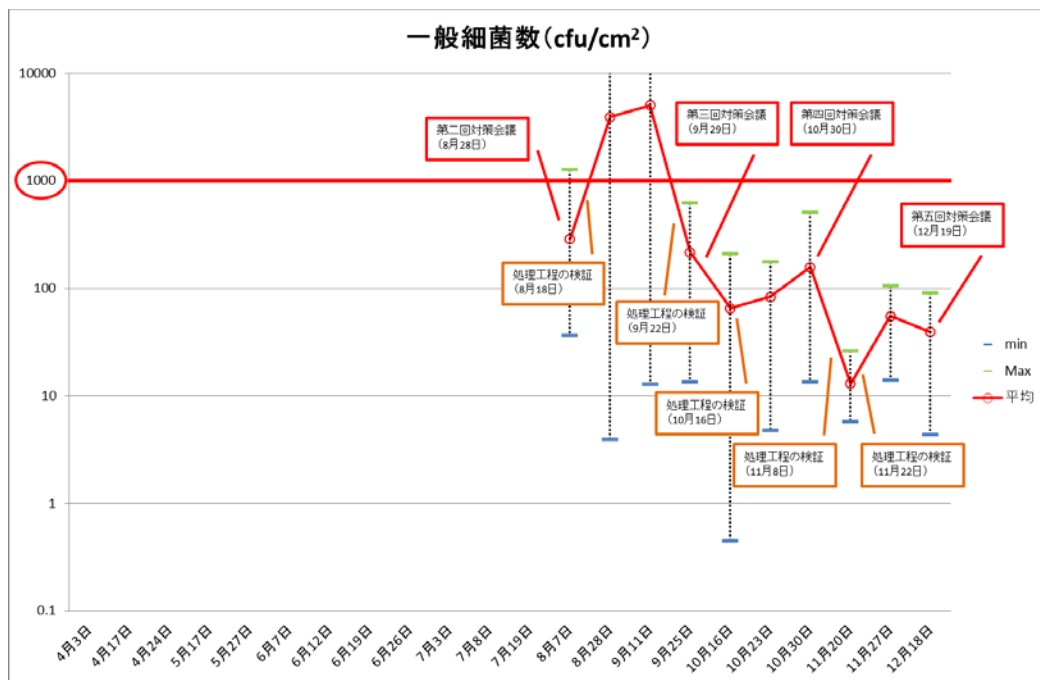


図 2 肛門周囲部の一般細菌数の測定結果

(2) 大腸菌群数の測定結果

胸部及び肛門周囲部の測定結果は表3及び表4のとおりであった。胸部は全検体で数値目標を超える検体はなく、9月11日の1.9cfu/cm²が最高値だった。(図3)

肛門周囲部は8月7日の1頭目が17.25cfu/cm²だったが、8月28日以降の検査では数値目標を超える検体はなかった。(図4)

表3 胸部の大腸菌群数 (cfu/cm²)

日付	8月7日	8月28日	9月11日	9月25日	10月16日	10月23日	10月30日	11月20日	11月27日	12月18日
1頭目	0.9	0.2	0.15	0	0.5	0.1	0	0.05	0	0
2頭目	0	0	0.35	0	0	0	0	0	0.05	0
3頭目	0.05	0	0.6	0	0	0	0	0	0	0
4頭目	0.05	0.25	1.9	0	0	0.05	0	0	0.1	0
5頭目	0.1	0.05	0	0	0	0.05	0	0	0	0.05
平均	0.22	0.1	0.6	0	0.1	0.04	0	0.01	0.03	0.01

表4 肛門周囲部の大腸菌群数 (cfu/cm²)

日付	8月7日	8月28日	9月11日	9月25日	10月16日	10月23日	10月30日	11月20日	11月27日	12月18日
1頭目	17.25	0.8	1.85	0	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1	0.05
2頭目	0	0	1.8	0	0	0	0	0.05	0.15	0
3頭目	0	0	0.05	0.05	0	0	0	0	0	0
4頭目	0	1.7	0	0.25	0	0.05	0.05	0.1	0	0
5頭目	0.7	0	0.6	0	0	0.05	0	0	0.3	0
平均	3.59	0.5	0.86	0.06	0.01	0.04	0.03	0.04	0.11	0.01

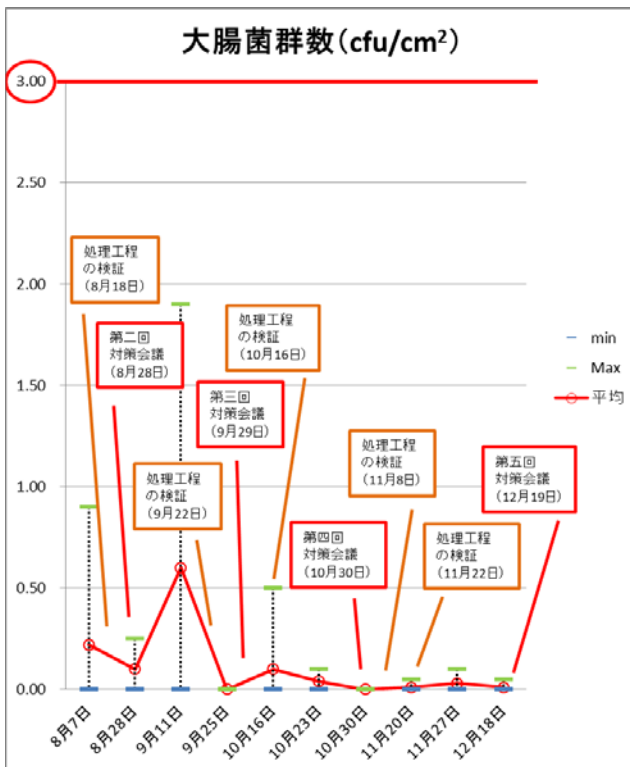


図3 胸部の大腸菌群数の測定結果

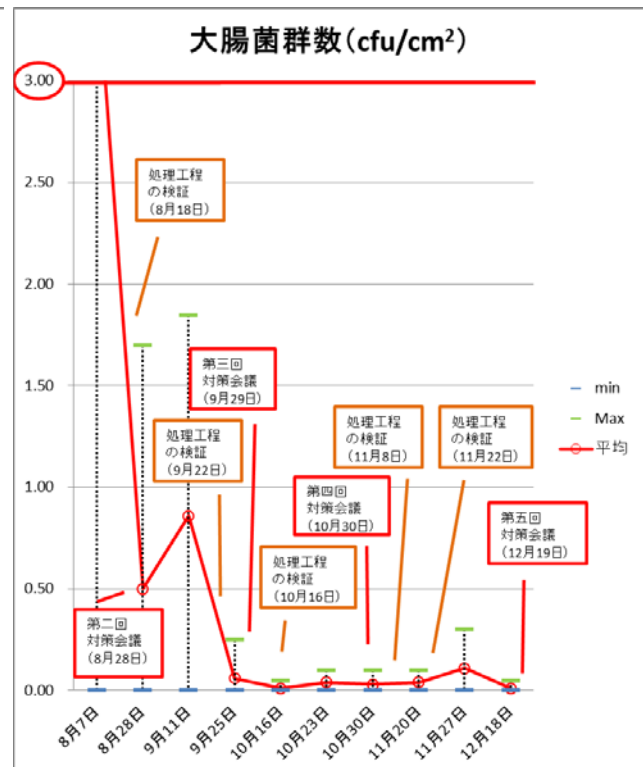
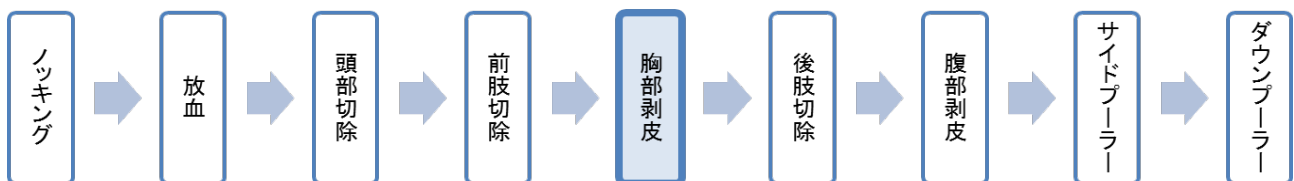


図4 肛門周囲部の大腸菌群数の測定結果

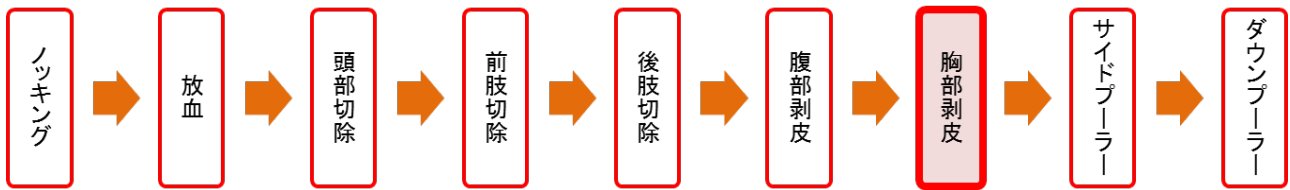
(3) 処理工程の検証

4～6月の検証結果から処理工程の順番を一部変更した。

7月までの処理工程



けん垂された体の胸部から剥皮すると、上部の汚れが枝肉の胸部を汚染する可能性があったので次の作業工程に改善した。



(4) 枝肉汚染対策会議

8月7日、8月28日、9月11日の枝肉拭取検査の肛門周囲部の結果が非常に高値であったことについて、9月29日の対策会議で検証した結果、始業前点検がなされていないことが判明した。

4 考察

枝肉胸部の汚染原因の一つとして、胸部剥皮後の枝肉が剥皮された外皮に接触することが考えられる。そのため、6月7日と7月3日の2回にかけて、胸部剥皮を作業工程の後半にするように指導し、作業手順が変更された。結果、6月19日以降、胸部で一般細菌数が $1,000\text{cfu}/\text{cm}^2$ を超える検体が見られなかった。また、大腸菌群数が常に $3\text{cfu}/\text{cm}^2$ 未満に収まっていたことから、内臓摘出時における腸管内容物による汚染はほとんど認められないことが分かった。

肛門周囲部では一般細菌数が $1,000\text{cfu}/\text{cm}^2$ を超えた3検体がすべて当日の1頭目であったことから、作業開始前のナイフや切断器具類の消毒が不十分であったことが考えられる。そこで枝肉汚染対策会議で解体業者へ、「作業開始前に作業員の器具の洗浄、消毒を確認すること、消毒槽の温度が 83°C 以上になってから作業を開始すること」を重ねて伝えた。9月25日以降の検査で $1,000\text{cfu}/\text{cm}^2$ を超える検体が見られなかったのは、その効果だと思われる。大腸菌群数も8月7日の1頭目のみ $3\text{cfu}/\text{cm}^2$ を超えていたが、同様の理由で結果が改善されたと考えられる。

これらのことから、細菌検査や現場検証を行い、対策会議等により衛生指導を行うことは枝肉汚染の防止に効果があるといえる。また、細菌検査によって枝肉の微生物汚染の状態をグラフ等で「可視化」することで、汚染状況を理解しやすくなり、解体業者の衛生意識を高めることにつながったと思われる。今後は、簡易なポスター等を作製することで、対策会議に出られなかった作業員にも広く情報を提供できるように努める。

今回の検査では、胸部及び肛門周囲部でそれぞれ数値目標を超える検体があったが、ともに汚染要因を特定し汚染を軽減することに成功した。さらに、後半の検査では胸部と肛門周囲部ともに一般細菌数の平均値が $100\text{cfu}/\text{cm}^2$ を下回っており、衛生的な作業が浸透してきたといえる。しかし、過去の検査では突発的に高い値を示す検体があり、その原因を特定するのは非常に困難である。数多くある汚染要因を減らしていくには、今後もSSOPの遵守、見直しを繰り返し、汚染要因を減らしていく必要がある。そのために、これからも細菌検査、処理工程の検証、対策会議を継続して行い、長期的な視点から更なる改善点を探していけるように努める。

検査所アトラスの作成

食肉検査部門

○川崎 成人

1 目的

と畜検査では様々な疾病を診断し、その診断結果をデータとして蓄積し、その後の診断の一助として活用している。しかし、活用方法については統一された方法はない。そこで、データの蓄積だけではなく、データを基に診断に至るまでの参考としてと畜検査時の肉眼所見や精密検査時の病理組織所見をアトラスとして活用することを検討し、若干の知見を得た。

2 方法

平成26年4月1日から平成27年3月31日までの期間に診断した症例の中から、牛及び豚において特に重要な「牛白血病」と「豚の抗酸菌症」を取り上げて、病変部の程度等を比較検討し、アトラスを作成した。

3 結果

ア 「牛白血病」

3例を診断し、各症例について、その病変部の程度は臓器によって違いを認めた。その中の一つを挙げる。(図1)

イ 「豚の抗酸菌症」

13例を診断し、各症例について病変部の程度は肝臓、脾臓、肺及び各リンパ節で違いを認めた。その中の一つを挙げる。(図2)

4 考察

今回取り上げた「牛白血病」及び「豚の抗酸菌症」は全身の臓器や各リンパ節に病変を認める代表的な疾病である。しかしながら、その病変部は必ずしも特徴的かつ必然的に現れるとは言えず、と畜現場で保留する判断に苦慮することがある。同じ疾病でも様々な症例をアトラスとして活用すれば、今後の診断の一助となることがわかった。

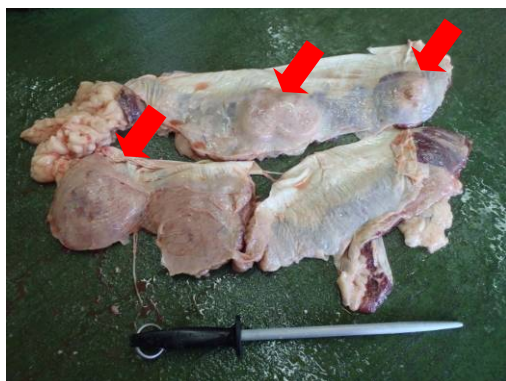
図1.「牛白血病」の一症例 と畜検査時の肉眼所見及び精密検査時の病理組織所見
(肉眼所見)



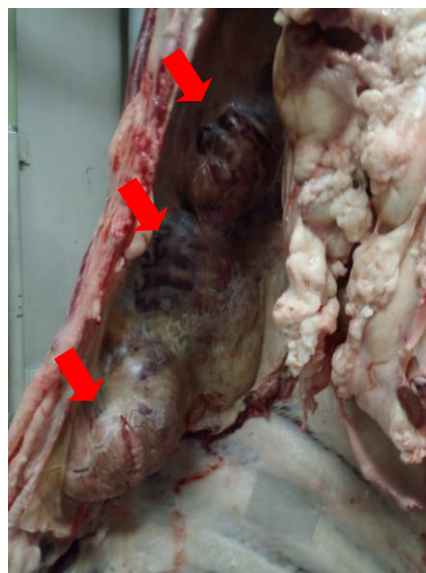
①腸間膜リンパ節の腫大 (赤色矢印, 好発部位)



②右心耳の肥厚 (赤色矢印, 好発部位)

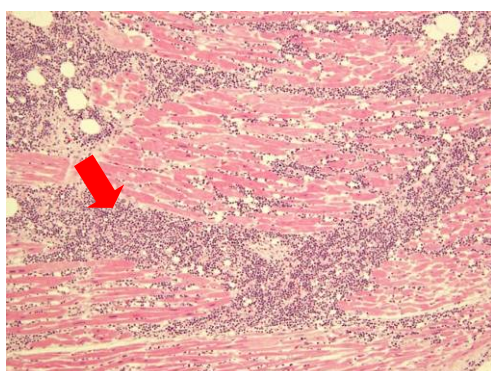


③横隔膜の腫瘍 (赤矢印)

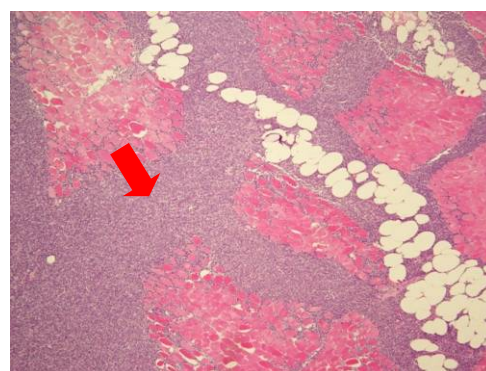


④腹膜の腫脹 (赤色矢印)

(病理組織所見: HE)



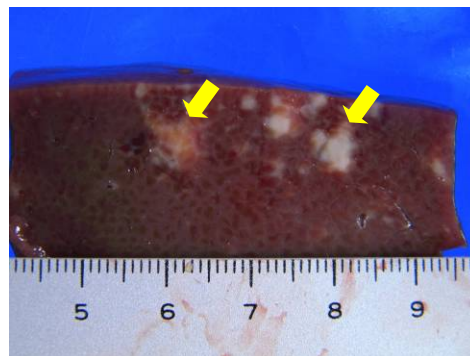
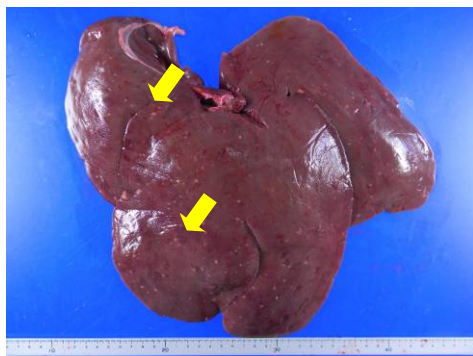
心臓 (×100)



横隔膜 (×100)

各種臓器やに腫瘍リンパ球の著しい浸潤を認めた (赤色矢印)

図2.「豚の抗酸菌症」の一症例 と畜検査時の肉眼所見及び精密検査時の病理組織所見
(肉眼所見)



①肝臓表面（写真左）及び断面（写真右）に針頭大～粟粒大の白色結節が散発

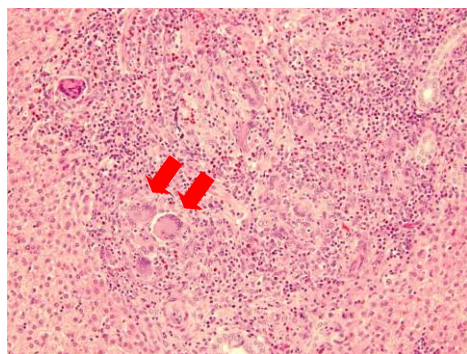


②脾臓に粟粒大の白色結節

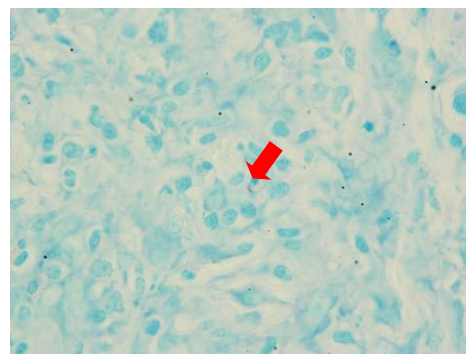


③肺に麻実大の乳白色結節

(病理組織所見)



肝臓 (HE 染色) : 類上皮細胞及び多核巨細胞からなる肉芽腫性炎, $\times 400$



肺 (ZN 染色) : 抗酸菌の菌体, $\times 1,000$