

腸管出血性大腸菌に係る食品の衛生管理基準の変遷寺嶋淳[#], 工藤由起子^{*1}, 朝倉宏^{*2}**Transition of the hygiene management standard of the food for enterohemorrhagic *Escherichia coli***Jun Terajima[#], Yukiko Kudo^{*1}, Hiroshi Asakura^{*2}

Although enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection is mainly food borne, preventive measures against EHEC infection would not be effective just by taking measures in the simple food hygiene since it is difficult to identify the source of infection and furthermore, EHEC often causes secondary transmission. Therefore, after massive EHEC O157 outbreak in Sakai city and sequential outbreaks in various parts of Japan in 1996, the disease was designated as notifiable disease for the purpose of taking control measures against EHEC O157 infection in addition to preventive measures against food poisoning and for reduction of EHEC contamination at slaughter houses. Cattle are considered to be major reservoir of EHEC and continuous EHEC food poisoning lead to establishment of series of hygiene management standard for beef and the internal organs. A hygiene management standard of the fresh meat for eating raw was devised in 1998 against EHEC O157 food poisoning caused by consumption of eating raw beef liver and, in view of the EHEC O157 outbreak that occurred with salmon roe eaten as raw, the hygiene management manual of the salmon roe product was devised. Since then, however, the number of EHEC case reported through the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases has increased and there is no sign of declining in number of EHEC cases for the past several years. Under the circumstances, victims by EHEC infection were reported in outbreaks due to consumption of Yukhoe (raw beef) in 2011 and a brand of lightly salted vegetables in 2012, respectively. With this, severe food standards were established including prohibition against providing cattle liver for eating raw in 2012 and pig meat for eating raw in 2015. On the other hand, reference methods in detecting EHEC in food were established beginning with EHEC O157 in 1997 followed by O26, O111, O103, and O104. Recently, reference method for serogroups of non-O157 EHEC, O26, O111, O103, O121, and O145 in addition to EHEC O157 in food has been established. This article reviews the change of the hygiene management standard of the food for enterohemorrhagic *Escherichia coli*. (337 words)

Keywords: enterohemorrhagic *Escherichia coli*, food hygiene, food standard, outbreak

[#] To whom correspondence should be addressed:

Jun Terajima; Laboratory of Veterinary Public Health, Co-department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550, Japan; Tel & Fax +81-19-621-6221; Email: terajima@iwate-u.ac.jp; (Previous address; Division of Microbiology, National Institute of Health Sciences, 3-25-26 Tonomati, Kawasaki-ku, Kawasaki City, Kanagawa 210-9501, Japan)

^{*1} Division of Microbiology, National Institute of Health Sciences

^{*2} Division of Biomedical Food Research, National Institute of Health Sciences

はじめに

EHECは食品媒介性の感染症を惹起するものの、本菌が食中毒の原因食品から分離されるのは極めて稀で、散発事例はもちろんのこと集団発生事例においても、感染源を特定するのは非常に困難である。しかし、主な保菌動物が牛であるため、解体時の腸内容物による牛肉汚染が主要な汚染食品であり、さらに水を介する農産物汚染をはじめ、直接・間接的な汚染により感染源として実にさまざまな食品の存在が明らかになっている¹⁾。日本では平成8年に学校給食を主たる原因食品としてEHECによる集団事例が多発して以来、EHEC感染症の制御に向けてさまざまな行政対応が行われてきているが、感染症発生動向調査によるEHEC感染者報告数は漸増状態が続いているのが現状である。また、EHEC感染症のハイリスクグループは幼児と高齢者であり、出血性大腸炎にとどまらず重症化し尿毒症症候群（Hemolytic Uremic Syndrome: HUS）や脳症を発症して死亡する場合がある。感染原因として、加熱不十分な牛肉や牛生レバーの喫食も多く、その対策としての通知も度々発出されたが、平成24年に生食用の牛肝臓の提供禁止、平成27年に生食用の豚食肉の提供禁止が通知されるに至った。食肉以外にも野菜を含め多様な食品の汚染が報告されており、今後は食材の生産段階からの包括的な衛生管理が必要になってくると考えられる。一方、食品におけるEHECの検査法に関しては、180を超えるEHECのO血清群のうち、O157など上位10血清群がEHEC感染症の9割以上を占めている現状を反映し、平成9年にEHEC O157の食品における試験法にはじまり、続いて分離頻度の高い血清群の試験法が策定されてきた。従来の分離培養法を最適化しつつ遺伝子診断による迅速化を進めた検査法が通知されている。

1. 腸管出血性大腸菌感染症

腸管出血性大腸菌（Enterohemorrhagic *E. coli* : EHEC）O157:H7は、1982年にアメリカ合衆国のオレゴン州及びミシガン州で発生したハンバーガー食中毒における出血性大腸炎患者の便から分離されたのが最初である²⁾。その後、出血性大腸炎を引き起こす原因菌として、志賀毒素（Shiga toxin: Stx）あるいはベロ毒素産生能を持つ血清型O157:H7等の大腸菌に対して、EHECという名称が用いられるようになった³⁾。EHEC感染による出血性大腸炎、重症化した場合のHUSや脳症などの臨床症状に最も重要である病原因子がStxである。Stxには免疫学的性状の異なる2種類、Stx1及びStx2があり、いわゆるA-B毒素でAサブユニットがRNA N-グリコシダーゼ活性を持ち、細胞の蛋白質合成を阻害することで毒性を発揮する⁴⁾。典型的なEHECでは、Stxの他の病原

性因子として染色体上のlocus of enterocyte effacement（LEE）領域に接着因子やタイプIII蛋白質輸送系をコードしており、腸管上皮細胞にAE障害（attaching and effacing lesion）を惹起することが知られている⁵⁾。典型的なEHEC O157:H7の感染では、3、4日の潜伏期の後下痢が始まり、半数程度に血便が生じる。通常、一週間程度で症状は改善してゆくが、約6%の患者ではHUSを発症し、特に幼児と高齢者がHUSを発症しやすい⁶⁾。EHECが酸耐性を示すこと⁷⁾は低菌量での感染が成立する一因と考えられ、赤痢菌と同様二次感染例が多い。実際、EHEC O111による食中毒事例で推定された摂取菌数は10個以下だと報告されている⁸⁾。平成8年に日本各地でEHECによる集団事例が発生してから種々の予防対策が取られてきているが、現在年間約4000名の感染者が報告されており、減少する気配があるとは言えない。

2. EHECによる集団事例の発生と予防対策

1982年に米国で初めてEHEC O157による集団発生が報告されて以来、わが国においてもEHECによる集団もしくは散発感染事例が報告されてはいたが、平成2年に埼玉県浦和市の私立幼稚園で発生したEHEC O157の集団事例で園児2名が亡くなり注目を浴びた。本事例は当該幼稚園の井戸を利用した飲用水が原因で患者319名の患者が発生したもので、これを契機として、「埼玉県浦和市における感染性下痢症患者の集団発生について（平成2年11月1日、健医発第1473号・衛食第155号・衛水第252号）」が発出された。これらの通知では、腸管出血性大腸菌に係る知見及び実態把握等の対策並びに食品及び飲用水の衛生確保の対策を講じることとされた。以降平成7年までは、年間50件前後から150件近くの事例数が報告されたが、死亡例は平成7年のEHEC O157感染によるHUSでの小児1名のみである。ところが、平成8年には、大阪府堺市をはじめとして、小学校における集団事例が多発し、この年にはEHEC O157による感染者数が1万7000名を超え死亡者が12名に上る事態となった。平成8年以降、EHECによる集団事例で感染源となった食品から実際に原因菌が分離された事例を中心に表1にまとめた。集団食中毒事例であっても原因食品から実際にEHECが分離されることは稀で、平成8年の集団事例では岐阜市、岩手県及び帯広市の3事例のみであった。また、表1より原因食品の多様さもうかがえる。

平成8年のEHEC集団事例の多発を受けて、この年にはEHEC O157による食中毒防止に向けた多数の通知が発出され（表2）、と畜場及び食肉処理場における衛生管理も喚起され（表2、平成8年7月26日、衛乳182号）解体時の腸内容物による食肉汚染の低減が図られた。さらに、EHEC予防対策として、食中毒としてのみならず、感染

表 1. 腸管出血性大腸菌による集団発生等における原因食品

発生年月日	発生地	O血清群	Stx毒素型	原因食品等	発生施設等
平成8年	6月 岐阜市	O157	1+2	おかかサラダ	小学校
	7月 堺市	O157	1+2	(カイワレ大根)	小学校
	9月 岩手県	O157	1+2	かぼちゃサラダ、シーフードソース	小学校
	10月 帯広市	O157	2	ジャガイモサラダ	幼稚園
平成9年	3月 愛知県	O157	1+2	ネギトロ汁つきカイワレ大根	ホームパーティー
	4月 横浜市	O157	1+2	カイワレ大根	家庭内
	7月 兵庫県	O157	1+2	キャベツ	保育園
	7月 千葉県	O157	1+2	給食(メロン)	保育園
	7月 岡山県	O157	1+2	給食(冷やし日本そば)	病院
	7月 名古屋市	O157	1+2	白菜漬け	老人福祉施設
平成10年	5~6月 富山県、東京都、 千葉県、神奈川県、 大阪府、山梨県、 茨城県	O157	1+2	イクラ	広域発生
	11月 山口県	O157	2	サラダ(大根、レタス、わかめ、マ グロの油づけ、ノンオイルドレッシ ング)	老人福祉施設
平成11年	7月 長野県	O157	1+2	小規模水道	利用世帯
平成12年	2月 横浜市	O157	2	ハンバーグ	レストラン
	5月 富山県	O157	1+2	給食(検査)、レタス(食材)	医療機関
	6月 埼玉県	O157	1+2	かぶの浅漬け	老人福祉施設
	8~9月 和歌山県、神奈川県 神奈川県、山梨県、 埼玉県、静岡県	O157	2	牛肉(輸入冷凍牛肉)	焼肉店
	9月 千葉県	O157	1+2	一口ステーキ	チェーンレストラン
	12月 千葉県	O157	2	牛の丸焼き	フェスティバル
平成13年	3月 滋賀県、富山県、 奈良県	O157	1+2	ビーフ角切りステーキ	チェーンレストラン
	1都6県	O157	1+2	牛たたき、ローストビーフ	広域発生
	8月 埼玉県、東京都	O157	1+2	和風キムチ	広域発生
平成14年	4~5月 2府4県	O157	1+2	牛肉等	焼肉チェーン店
	6月 福岡市	O157	1+2	キュウリの浅漬け	保育園
	8月 宇都宮市	O157	1+2	香味和え：ゆでほうれん草、蒸しさ さみ、ねぎ、しょうが、醤油で和 えたもの	病院及び老人保健施設
平成15年	5月 長野県	O157	1+2	昼食弁当	配食サービス
平成17年	10月 香川県	O157	1+2	浅漬け	老人福祉施設(2ヶ所)
平成18年	9月 横浜市	O157	2	牛ハラミ	焼肉店
	9月 新潟市	O157	1	ギアラ(赤センマイ)(第四胃)	焼肉店
平成19年	5月 和歌山市	O157	2	生レバー	-
	10月 宮城県	O157	1+2	仕出し弁当	広域発生
平成21年	9月 関東~関西・中国・ 四国	O157	1+2	角切りステーキ	A ステーキチェーン店 (広域発生)
	9月 埼玉・群馬・東京・ 千葉、神奈川・長野	O157	1+2	角切りステーキ	B ステーキチェーン店 (広域発生)
	10月 佐賀県	O26	1	レタス	保育園
	11月 東京・神奈川・埼玉・ 千葉・沖縄	O157	1+2	サガリ(横隔膜)	焼肉チェーン店
平成22年	5月 三重県	O157	2	給食	高校等
	7月 愛知県	O157	1+2	生レバー	焼肉店等
	8~9月 三重県	O157	1+2	給食(もやし、チャーシュー)	高校等
平成23年	4月 富山県、福井県、石川県、 横浜市	O111	2	牛肉(ユッケ)	焼肉チェーン店
	5月 山形県、宮城県、福島県、 東京都	O157	1+2	だんご	広域発生
	8月 栃木県	O157	1+2	なすと大葉の漬物	介護老人施設
	12月 福岡県	O145	2	大葉	
平成24年	8月 北海道他	O157	1+2	きゅうり	老人福祉施設
平成25年	9月 川崎市	O157	2	白菜きりづけ	高齢者施設等
平成26年	7月 静岡市	O157	1+2	牛肉(カルビ)	焼肉店
平成28年	8月 千葉県、東京都	O157	1+2	冷やしきゅうり	花火大会の露店
	8月 千葉県、東京都 神奈川県、千葉県、 秋田県、広島県、兵庫県、 東京都	O157	2	きゅうりのゆかり和え	老人福祉施設
	10月 千葉県、東京都	O157	2	冷凍メンチカツ	広域発生

症としての観点から、感染経路の究明と二次感染を防止することが急務であり、伝染性、高い危険性並びにその予防対策の緊急性等に鑑み、EHEC感染症が指定伝染病となった(表2, 平成8年8月6日, 健医発第940号)。

平成9年には、食肉に起因する食中毒の未然防止を目的として、とさつ又は解体の過程での体表及び消化管内容物による食肉の汚染防止を中心とした衛生管理が極めて重要であるため、と畜場法施行規則の一部改正が行われた(表2, 平成9年1月28日, 衛乳第24号, 衛乳第25号)。また、同年にはEHEC O157の検査法の通知が発出された(表2, 平成9年7月4日, 衛食第207号及び衛乳第199号)。平成8年以降、レバー等食肉の生食を避けるよう通知が出されていたが、平成10年には生食用食肉の衛生基準が策定され、生食用食肉の成分規格目標と加工等基準目標が示された(表2, 平成10年9月11日, 生衛発第1358号)。同年にはやはり生食するイクラ製品によるEHEC O157の広域発生事例があり、イクラ製品の衛生管理マニュアルが策定された(平成10年9月18日, 衛乳第231号)。

平成12年から13年にかけては、焼肉店やチェーンレストランにおいて牛肉を原因とする集団事例があり、平成14年に発生した焼肉チェーン店でのO157事例では、系列店の食肉処理施設が原因施設だったことから、同年にはと畜場等における衛生管理の徹底が通知された(平成14年6月28日, 食監発第0628001号)。その後も飲食店特に焼肉店における牛肉及び生レバーを原因とする事例が続き、飲食店における食中毒予防対策の通知が発出されている(平成19年5月14日, 食安監発第0514001号)。平成21年の飲食店での事例には、サイコロステーキ等の結着等の加工処理を行った食肉によるステーキチェーン店での事例も含まれ、広域での患者発生となった。加工処理には、テンダライズ処理(刃を用いてその原型をたもったまま筋及び繊維を短く切断する処理)、タンプリング処理(調味料に浸潤させる処理)等を含み、食肉内部に病原体が侵入する可能性があるため、十分な加熱調理が必要であることが通知された(平成21年9月15日, 食安監発0915第1号)。

その後も焼肉店等における牛肉や牛生レバーの喫食を原因とした事例が報告されたが、平成23年には、焼肉チェーン店において牛肉の生食(ユッケ)によるEHEC O111集団事例が発生した(表1)。本事例では、患者181名のうち85名がO111陽性者で、34名がHUSを発症し、このうち21名が脳症を発症、5名が死亡した。本事例の発生に鑑み、また衛生基準を事業者に遵守させる強制力を持たすため、生食用食肉の規格基準が設定された(平成23年9月12日, 食安発0912第7号)。この改正により、生食用食肉の成分規格として、EHEC及びサルモネラ属菌を含む腸内細菌科菌群が陰性でなければならないと定

められた。さらに、牛の肝臓の内部からEHECが検出されたこと等を受けて、牛の肝臓の生食の安全性を確保する知見が得られるまでの間、牛の肝臓を生食用として販売することが禁止された(平成24年6月25日, 食安発0625第1号)。これらの対策による効果については、平成23年、平成24年のEHEC O157事例における生肉・生レバーの喫食歴の記載がある報告数が減少し、特に15歳未満の減少が著しいことが示された⁹⁾。

一方、EHECによる集団事例の原因食品として牛肉以外に、漬物や浅漬けなどの生食野菜がしばしば報告されている。平成24年には、札幌市等の高齢者施設等で白菜のきりづけを原因食品とするEHEC O157の集団事例が発生し、患者169名のうち8名が死亡した。本事例を踏まえ、同様の食中毒の発生を凶る観点から、「漬物の衛生規範」が改正された(平成24年10月12日, 食安監発1012第1号)。浅漬は、加熱工程がなく製造の過程で十分な殺菌をすることができないことから、原料から製品までの一貫した衛生管理が必要である。改正された漬物の衛生規範では、浅漬の原材料の低温保管、浅漬製造に当たっての原材料の洗浄、低温管理、殺菌等の留意点が示された。食肉に関しては、平成24年7月に牛レバーの生食用としての提供が禁止されたが、豚の食肉の生食については、飲食店等における提供実態があること、E型肝炎ウイルス、食中毒菌及び寄生虫による危害要因があること等を踏まえ、規格基準が設定され、豚の食肉を生食用として販売することが禁止された(平成27年6月2日, 食安発0602第1号)。

食肉及び野菜を原因とするEHEC事例が発生する度に対策が取られているが、表1に示すように、最近でもきゅうりや冷凍メンチカツによる事例が発生しており、今後は食材の生産段階からの包括的な衛生管理が必要になってくると考えられる。

3. 食品でのEHEC検査法

食品からのEHEC検出法に関しては、平成8年のEHEC O157による集団事例の多発を受けて、平成9年にEHEC O157の検査法についての通知が発出された。当時は、報告されるEHEC感染症の原因菌は7~8割がO血清群O157であったため、食品からの検出法もEHEC O157を標的とするものが求められた。O157に続いて高頻度に分離される血清群として、O26, O111, O103, O121, O145などが従来報告されていたが、種々の試験法感度の向上もあり、最近は全体に占めるO157の割合が5~6割程度に減少し、これらO157以外の血清群による感染報告の割合が増加傾向にある。海外においても、O157以外の血清群の増加を反映してその重要度は高く、食品における検査法が確立され、検査が実施されている。米国農

務省 (USDA) ではO26, O45, O103, O111, O121, O145 およびO157 の7 血清群¹⁰⁾, 欧州食品安全機関 (EFSA) ではO26, O103, O111, O145 およびO157 の5血清群¹¹⁾ が対象となっている。

日本では, 平成9年のO157の検査法に続き, 平成18年にO157及びO26, 平成23年にO111の検査法が, また平成24年には, O157, O26, O111の統一検査法とともに, O103及びO104の検査法が通知され, O157, O26,

O111の統一検査法についてはさらに同年, Stxの遺伝子検出によるスクリーニング法等を追加した改正がなされた。平成26年には, わが国における主要6血清群である, O26, O103, O111, O121, O145及びO157に対する食品からの検査法が通知され, Stxの遺伝子スクリーニングと免疫磁気ビーズ法及び直接塗抹法による分離培養法からなる検査法 (図) が実施されている。

表 2. 腸管出血性大腸菌に係る主な通知等

埼玉県浦和市における感染性下痢症患者の集団発生について	平成2年11月1日	健医発第1473号、衛食第155号、衛水第252号
食中毒事故発生防止について	平成8年6月6日	衛食146号
病原性大腸菌O157による食中毒防止の徹底について	平成8年6月12日	衛食151号
病原性大腸菌O-157による食中毒に対する今後の対応について	平成8年6月17日	衛食第155号
レバー等食肉の生食について	平成8年7月22日	衛食第196号、衛乳第175号
腸管出血性大腸菌感染症に係る二次感染予防の徹底について	平成8年7月23日	健政計第28号、健医感発第75号、衛食第197号
と畜場及び食肉処理場の衛生管理について	平成8年7月26日	衛乳182号
腸管出血性大腸菌感染症の指定伝染病への指定及び「腸管出血性大腸菌感染症について適用される伝染病予防法の規定等を定める省令」の施行について	平成8年8月6日	健医発第940号
腸管出血性大腸菌感染症防疫対策について	平成8年8月6日	健医感発第82号、衛食第209号
腸管出血性大腸菌感染症の指定伝染病への指定に伴う食品衛生上の留意点について	平成8年8月7日	衛食第210号
と畜場法施行規則の一部を改正する省令の施行等について	平成9年1月28日	衛乳第24号、衛乳第25号
大規模食中毒対策等について	平成9年3月24日	衛食第85号
食肉処理業に関する衛生管理について	平成9年3月31日	衛乳第104号
腸管出血性大腸菌O157による食中毒の予防対策について	平成9年4月4日	衛食第124号、衛乳第112号
腸管出血性大腸菌O157の検査法について	平成9年7月4日	衛食第207号及び衛乳第199号
生食用食肉等の安全性確保について	平成10年9月11日	生衛発第1358号
イクラ製品の衛生的取扱いについて	平成10年9月18日	衛乳第231号
腸管出血性大腸菌による食中毒対策について	平成13年4月27日	食監発第78号
と畜場等における衛生管理の徹底について	平成14年6月28日	食監発第0628001号
腸管出血性大腸菌O157及びO26の検査法について	平成18年11月2日	食安監発第1102006号
飲食店における腸管出血性大腸菌食中毒対策について	平成19年5月14日	食安監発第0514001号
大規模腸管出血性大腸菌食中毒の防止について	平成19年7月31日	食安監発第0731002号
腸管出血性大腸菌感染症の予防対策について	平成19年8月8日	健感発第0808001号、食安監発第0808004号
飲食店における腸管出血性大腸菌O157食中毒対策について	平成21年9月15日	食安監発0915第1号
腸管出血性大腸菌O157による広域散発食中毒対策について	平成22年4月16日	食安発0416第1号
腸管出血性大腸菌O111の検査法について	平成23年6月3日	食安監発0603第2号
食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について	平成23年9月12日	食安発0912第7号
腸管出血性大腸菌O26、O111及びO157の検査法について	平成24年5月15日	食安監発0515第1号
腸管出血性大腸菌O103の検査法について	平成24年5月25日	食安輸発0525第1号
腸管出血性大腸菌O104の検査法について	平成24年5月25日	食安輸発0525第2号
食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について	平成24年6月25日	食安発0625第1号
漬物の衛生規範の改正等について	平成24年10月12日	食安監発1012第1号
腸管出血性大腸菌O26、O111及びO157の検査法について	平成24年12月17日	食安監発1217第1号
腸管出血性大腸菌O26、O103、O111、O121、O145 及びO157 の検査法について	平成26年11月20日	食安監発1120第1号
食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について	平成27年6月2日	食安発0602第1号、食安発0602第2号

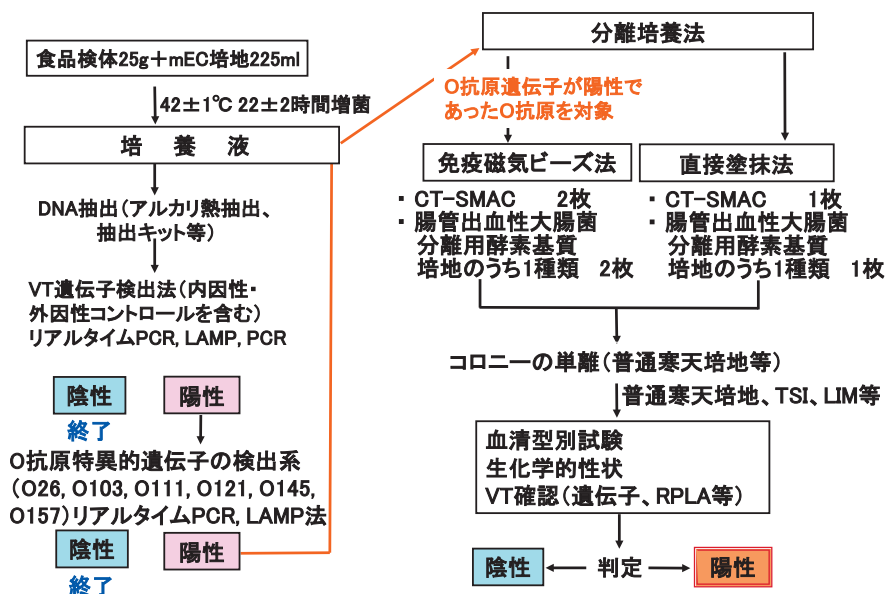


図. 平成26年11月20日食安監発1120号第1号「腸管出血性大腸菌O26、O103、O111、O121及びO157の検査法について」

引用文献

- 1) Terajima J, Izumiya H, Hara-Kudo Y, Ohnishi M. Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* and foodborne disease: A Review. Food Safety. 2017; Published online; 30 June
- 2) Centers for Disease Control. : Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic Colitis -- United States. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 1982;31:580-85.
- 3) Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis.* 1987;155:377-89.
- 4) Endo Y., Tsurugi K., Yutsudo T., Takeda Y., Ogasawara T., Igarashi K. Site of action of a Vero toxin (VT2) from *Escherichia coli* O157:H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. RNA N-glycosidase activity of the toxins. *Eur J Biochem.* 1988;171:45-50.
- 5) McDaniel T. K., Jarvis K. G., Donnenberg M. S., Kaper J. B. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:1664-8.
- 6) Griffin P.M. *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: Blaser MJ SP, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL, editor. Infections of the gastrointestinal tract.: Raven Press, New York, pp.739-61 (1995)
- 7) Arnold KW, Kaspar CW. Starvation- and stationary-phase-induced acid tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol.* 1995;61:2037-9.
- 8) Paton A. W., Ratcliff R. M., Doyle R. M., Seymour-Murray J., Davos D., Lanser J. A., et al. Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 1996;34:1622-7.
- 9) <http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000041452.pdf>
- 10) United States Department of Agriculture : Laboratory guidebook MLG 5B. 05 (2014)
- 11) European Food Safety Authority: Technical specifications for the monitoring and reporting of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) on animals and food (VTEC surveys on animals and food). EFSA J, 11, 1366 (2009)