

平成28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

アニサキス食中毒の原因物質の同定

研究分担者 杉山 広 国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者 森嶋康之 国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者 常盤俊大 日本獣医生命科学大学獣医寄生虫学研究室

研究要旨：海産魚介類を感染源とするアニサキス食中毒は、我が国固有の食習慣と関連した重要な食品媒介寄生虫症である。しかし感染源の中でも、流通品中のアニサキス幼虫の汚染実態に関しては、不明な点も多く、そこで市場に流通するシメサバ製品および回転寿司店のシメサバ寿司を対象に、アニサキスの寄生状況調査を実施した。その結果、シメサバ製品は90検体中の41検体（46%）にアニサキス幼虫を認めた。しかし虫体はいずれも死滅しており、感染の危険はないと判断された。一方で、自家製のシメサバを使用して製造されたシメサバ寿司は、検査した40検体の内、7検体が陽性で、合計14隻のアニサキス幼虫が検出された。このうちの3隻は生存しており、運動性も維持されていた。これらの虫体は形態から、アニサキス Type I の幼虫と判定され、更に遺伝子検査から、人体寄生の主要病原種である *A. simplex sensu stricto* と分子同定された。魚介類の加工・調理の現場では、アニサキス虫体の検出と除去が試みられていた。魚の冷凍や養殖魚の利用などはアニサキスの感染防御に極めて有効な方法ではあるが、これらの方法を全面的に適用することは、実際には困難な状況にある。従って、販売者による消費者への啓発が、感染予防の鍵を握る実効的な方法と考えられた。これを支援する行政による対応・啓発も継続が必要である。

A. 研究目的

食品媒介の寄生虫症、特に多細胞の寄生虫である蠕虫（ぜんちゅう）の感染症は、従来は食中毒として認識されていなかったが、最近では特にアニサキス症が食中毒として認知され、多くの症例が届出されるようになった。その結果、2015年のアニサキス食中毒の届出数は126件に達した。この値はノロウイルスおよびカンピロバクターに次いで、全食中毒の事件数で第3位となった。実際のアニサキス感染者数は更に多く、民間のレセプトデータを用いた我々の解析では、我が国で毎年約7,000人が感染していると推計される。海産魚介類を刺身・寿司で生食する食習慣の日本では、最も重要な食中毒の一つと言える。

アニサキスが食中毒の病因物質の種別として表示され、注目されるようになったのは、2012年12月の食品衛生法施行規則の一部改訂が契機とされる。その結果として、アニサキス食中毒の具体的な事件数・患者数が食中毒統計に明示されるようになり、各食中毒事例の原因食品（魚種）についても、外部から閲覧できるようになった。例えば2015年で見てみると、アニサキス食中毒は89例で、その4割の35例がサバを原因としたことが分かる。しかもサバは刺身としてだけではなく、むしろシメサバやその寿司が原因食品として喫食され、食中毒が発生したとの事例が目立つ。そこで本研究では、従来余り検査がなされてこなかったシメサバ製品や回転寿司におけるシメサ

バ寿司におけるアニサキスの寄生状況を調べた。併せて、サバに比べて食中毒の原因となる事例が少ないことから、アニサキスの検出報告が余り多くないマアジについて、部位別（筋肉・内臓）の寄生状況を調べた。さらに、アニサキスの感染リスクに対するサバの加工品製造者や鮮魚販売者の実際の対応についても調査した。なお本報告書では、マサバ、ゴマサバおよび大西洋サバの総称として「サバ」を用いた。

B. 研究方法

1. シメサバ製品におけるアニサキス寄生状況の調査

日本、ノルウェーおよびアイルランドの各国産のサバを使用して製造されたシメサバ90検体（3枚におろしたサバの身を酢や調味料で処理したもの）を検査の対象とした。これらはいずれも我が国での流通量が多い食品であり、スーパーマーケットで2016年4月から7月に購入して、検査に供した。シメサバはまず視認によりアニサキスを探し、見付かった場合はピンセットにて1隻ずつ摘出して、実体顕微鏡下に観察、頭部、胃部および尾部の形態的特徴に基づき、アニサキスI型幼虫を選別した。このアニサキスI型幼虫は、個体別にQIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)によりDNAを抽出した後、リボソームDNAのITS領域（ITS1から5.8SリボソームDNAを経てITS2に至る領域）を標的としたPCR増幅を行い、増幅産物を用いた制限酵素による切断パターンの解析（PCR-RFLP）と、さらに一部についてはシーケンシングを行なうことで種の決定を試みた。

2. 回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキス寄生状況の調査

2016年4～12月に都内の回転寿司店3箇所で購入したシメサバ寿司72検体を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。

検査の方法および検出虫体の種同定に関しては、シメサバ由来の虫体と同様の方法を適用した。

3. マアジにおけるアニサキスの寄生状況の調査

日本海・東シナ海で漁獲され長崎港に陸揚げされたマアジを2016年1～12月に東京の鮮魚店で各月10尾ずつ購入し、検査の対象とした。魚は先ず体腔を切開し、体腔と内臓の表面に寄生する虫体を目視下に検出した。次に内臓を取り出して適切な大きさに細切し、また筋肉も適切な大きさに細切し、これらを2枚のガラス板で圧平、実体顕微鏡下に虫体を探した。検出された虫体の種同定に関しては、シメサバ由来の虫体と同様の方法で調べた。

4. アニサキス感染リスクに対するサバ加工品製造者や鮮魚販売者の対応に関する調査

鮮魚や加工品を取り扱う現場（サバ加工品製造者や鮮魚販売者）において、アニサキス幼虫をどのように検出・摘出し、アニサキスの感染リスクを軽減しているのか、その状況を行政機関（衛生研究所・保健所）の担当者に尋ね、さらにウェブサイトからも情報の検索・収集を行った。

C. 研究結果

1. シメサバ製品におけるアニサキスの寄生状況

シメサバ加工品90検体を検査したところ、41検体（46%）から合計98隻のアニサキス幼虫が検出された（図1）。1検体からの検出虫体数が最も多かったのは日本産で、最大11隻が検出された。アニサキス幼虫の検出状況を国別に調べると、陽性率と検出数は日本産が共に最も高く、次いでノルウェー産で、アイルランド産は最も低かった。なお検出虫体は運動性が全くないために総て死滅していると考えられた。また種同定

できたものは総て *Anisakis simplex sensu stricto* であった。

2. 回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキスの寄生状況

回転寿司店でのアニサキスの寄生状況は、自家製のシメサバを使用して寿司を製造する店舗と加工品のシメサバを用いて寿司を製造する店舗とで、大きく異なった。まず自家製のシメサバを使用する店舗では、購入して検査した40検体の内、7検体から合計14隻のアニサキス幼虫が検出された。1検体あたりの寄生数は1~3隻(平均2隻)で、このうちの3隻は生存しており、運動性があった。検出虫体を詳しく調べると、特に生存幼虫3隻は、いずれも形態からType Iと同定され、さらに *A. simplex sensu stricto* と分子同定された。

一方で加工品のシメサバを用いた寿司を販売する店舗では、32検体を購入して検査したが、いずれもアニサキス陰性であった。

3. マアジにおけるアニサキスの寄生状況

サバに比べて食中毒の原因となる事例が少ないことから、アニサキスの検出報告が余り多くないマアジについても、2016年1~12月に長崎で水揚げされ都内で流通した120尾を対象に、部位別(筋肉・内臓)の寄生状況を調べた。その結果、陽性個体は65尾(54.2%)と予想外に多く、しかも陽性魚1尾あたりの寄生数も平均7.0隻(1~94隻)であった。幼虫はほとんどが内臓に寄生していたが、1尾の筋肉から幼虫が1隻検出された。検出虫体の形態分類は総てType Iであり、PCR-RFLPでは総て *A. pegreffii* と同定された(筋肉寄生の1隻も *A. pegreffii*)。

4. アニサキス感染リスクに対するサバ加工品製造者および鮮魚販売者の対応

我が国において寿司・刺身として喫食さ

れる魚介類は、加工品も含めて、アニサキスの幼虫が可食部の筋肉に寄生していた。しかも既に示したように、シメサバ寿司から検出された虫体は運動性を保ち、ヒトへの感染能力を十分に持つことが疑われた。このような状況から、魚介類の加工・調理の現場では、アニサキスによる感染の予防や異物としてのアニサキス混入の苦情防止を目的として、アニサキス幼虫の除去が試みられていると聞いたので、その情報の収集を試みた。

まずアニサキス幼虫を検出するためには、魚のフィレや切り身を肉眼で観察する「直接観察法」がしばしば適用されていた。一方で、スーパーマーケットや居酒屋の中には、白色光に替えて紫外線をキャンドリング照射するアニサキス検査装置(i-Spector, 株式会社イシダ)を導入する店舗もあった(企業グループで一斉に購入して配備)。この装置は、魚のフィレや切り身の表面に存在するアニサキス幼虫の目視確認を容易にする上で、有用と考えられた。

調理上の工夫として、調理の現場においては、新鮮なうちに魚介類の内臓を摘出し、アニサキスの幼虫が魚の内臓から筋肉に移行することを防ぐという方法がしばしば採用されていた。また内臓に接する部分の筋肉(ハラミ)をアニサキスの好寄生部位としてとらえ、切り取って捨ててしまうことも行われていた。さらに切断等により受傷したアニサキス幼虫は、胃粘膜への侵入性が低下することから、特にサバの刺身・寿司には切り目を入れて客に提供するとの工夫もなされていた。これらの方法はいずれも科学的根拠を持つものである(学術論文に成績が記載されている)。保健所の食品監視員がこれらの方法を採用し、指導時に積極的に活用している行政機関も認められた。

D. 考察

1. シメサバ製品におけるアニサキスの寄

生状況

今回、シメサバ製品から検出されたアニサキス虫体は、総て運動性を失い、死滅していた。検査の対象としたシメサバ製品が、いずれも加工場で製造されていたことが原因と想像された。既に明らかにされているが、アニサキス幼虫はシメサバの製造に使用される事が多い15%食塩水中に浸漬すると、18時間後には死滅すると言う(鈴木ら、2011)。従って加工場ではなく、スーパーマーケットのバックヤード等において、短時間の加工(酢ジメ)だけで製造されるシメサバ製品を対象に、改めてアニサキスの検出に取り組み、シメサバ検体に生存虫体が検出されるかを確認したいと考えている。

2. 回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキスの寄生状況

回転寿司店でのアニサキスの寄生状況は、自家製のシメサバを使用して寿司を製造する店舗と加工品のシメサバを用いた寿司を販売する店舗とで、大きく異なった。加工品のシメサバを用いた寿司は、32検体の総てがアニサキス陰性であった。一方、自家製のシメサバを使用する販売店では、40検体の内の7検体(18%)がアニサキス陽性で、1検体あたり平均2隻(合計14隻)のアニサキス幼虫が検出された。しかも、このうちの3隻は運動性があり、ヒトへの感染性が疑われた。これら3隻は *A. simplex sensu stricto* と分子同定され、人体感染の主要病原種であった。従って、自家製のシメサバを使用して寿司を製造・販売する店舗では、特にアニサキス食中毒の発生に留意する必要がある。

一方で加工品のシメサバを用いた店舗では、32検体のすべてがアニサキス陰性であったので、アニサキス食中毒に関しては、ある程度の安全性が担保できるのではないかと考えられた。

3. マアジにおけるアニサキスの寄生状況

サバサバに比べて食中毒の原因となる事例が少ないことから、アニサキスの検出報告が余り多くないマアジについても、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。その結果、寄生率は54.2%と予想外に高く、しかも1尾からではあるが、筋肉から幼虫が検出された(1隻)。アニサキス食中毒の原因として、マアジにも今後注意を払う必要がある。なおアニサキス陽性の個体は冬季(1-3月)および夏季(7-9月)に多く、この傾向が持つ意味を明らかにするには、継続的な調査が必要である。

4. アニサキス感染リスクに対するサバの加工品製造者および鮮魚販売者の対応

アニサキスによる感染の予防に関しては、魚介類の冷凍が有効で、 -20°C 以下・24時間以上の冷凍によりアニサキスの幼虫は感染性を失う。このような冷凍処理を施した後であれば、魚を非加熱で摂食しても、アニサキスに感染しない。実際にオランダでは、「酢漬けで生食するニシンを調理前に -20°C 以下で24時間以上冷凍する」と1968年に法律で義務付け、アニサキス症の患者を激減させることに成功している。このような実績を背景に、諸外国や国際機関の中には、魚の冷凍を食品衛生関連の法令やガイドラインなどで定めている場合がある。一方我が国でも、魚体が傷まぬ漁法でサバを捕獲し、一旦冷凍した後に解凍し、刺身用で提供し始めた地域がある。刺身用の魚を冷凍後に提供する試みは、アニサキスの感染予防に極めて有用な方法である。

また魚食性のサバは食物連鎖の上位に位置し、アニサキスの幼虫が寄生した小魚を多量に摂食する。このため、サバの体内にはアニサキスの幼虫が蓄積し、その結果としてサバがヒトへの重要な感染源となってきた。このような情報も背景として、人工飼料を用いてサバを稚魚から養殖する事業

が、西日本を中心に、一部の地域で始まっている。刺身や寿司を喫食するなら、ペレットで養殖されたサバを選択すべきとのアイデアも、アニサキス感染の予防に有効な手段となるかも知れない。

一方で、冷凍の徹底や養殖サバの普及を一般化できない現状では、消費者への啓発が感染予防の鍵を握る。例えば首都圏・百貨店内の大型鮮魚店では、鮮魚売場の店頭で、「アニサキス症にならないための安全な食べ方：十分な加熱と-20℃で48時間以上の冷凍」、あるいは「鮮魚介類をご家庭で調理する際の注意：加熱・冷凍でアニサキス症を防ぐ」等の掲示を見かける。鮮魚や加工品を販売する業者から消費者に対して、アニサキスの感染リスクの低減に関する情報として、具体的な予防法を提供・啓発することは重要である。食品販売の現場で、このような活動が継続される様に、行政としては積極的に支援する必要がある。

地方自治体の担当者によると、自治体の食品衛生監視指導計画は、国が発出する食中毒予防対策（夏季と年末）の一斉取締り実施要領が、骨子になると言う。アニサキス食中毒の事件数は2013年以降、ノロウイルスあるいはカンピロバクターによる食中毒に次いで、常に第3位の位置を占めていることもあり、国による一斉取り締まり要領でも、「魚介類の寄生虫による食中毒について」が取り上げられてきた。このような対応が、地方自治体にも良い影響を及ぼし、アニサキス対策が忘れずに取り上げられている。アニサキスは我が国固有の食習慣と強く関連する健康被害(食中毒)である事から、国から地方自治体への発信を、意識的に継続する事は有意義である。

アニサキスに関しては、同じく食品媒介の寄生虫であるナナホシクドアやファイア一住肉孢子虫とは異なり、食品の検査における公定法の定めがない。消費者は寄生虫感染の恐れがない食品を求めており、これ

を満たすために必要なアニサキスの検査法、特に公定法の確立は、食の安全・安心を担保する上でも、重要な要件となる。現在研究班では、魚介類における異物の混入に関する調査も始まっているが、寄生虫の混入が予想外に多いとも聞く。このような専門家を包含して、アニサキスの検査法の検討（公定法の作成）に取り組む時期が来ているようにも思われた。

E. 結論

流通品中のアニサキスの汚染実態に関する調査の結果、シメサバ製品の内、特に自家製のシメサバを使用したシメサバ寿司にアニサキス幼虫の寄生を認め、一部は生存・運動していた。分子同定の結果、人体寄生の主要病原種である *A. simplex sensu stricto* であることが分かったので、人体感染の予防に向けた注意啓発が必要である。行政も販売店の指導などを通じ、この点の支援や啓発を継続する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 論文発表
- Baird FJ, Morishima Y, Sugiyama H: Anisakis allergy and the globalization of food. In Food Allergy: Molecular and Clinical Practice, Lopata AA ed., CRC Press, Boca Raton. 2017. pp.155-175.
- 杉山 広. 我が国における寄生虫性食中毒：発生状況と原因食品の検査法. クリーンテクノロジー, 2016年8月号:24-27, 2016
- 杉山 広. 過去に学ぶ食文化の誤認. 食衛誌, 57(3):J83-J85, 2016
- 杉山 広. 食中毒としての食品媒介寄生虫

症：現状と検査の課題．食微誌，
33(3):134-137, 2016

5. 杉山 広. アニサキスによる食中毒. 人と動物の共通感染症研究会ニュースレター, 15:9-14, 2016

2. 学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許および実用新案登録共になし

図1 シメサバ製品におけるアニサキスの寄生状況

原料原産国	検体数	陰性数(%)	検出数平均 (範囲)	アニサキスの種類
日本	75	36 (48%)	2.3 (1-11)	<i>A. simplex</i> s.s.
ノルウェー	9	4 (44%)	1.5 (1-2)	<i>A. simplex</i> s.s.
アイルランド	6	1 (16%)	1.0 (1)	<i>A. simplex</i> s.s.
合計	90	41 (46%)	2.2 (1-11)	<i>A. simplex</i> s.s.

図2 回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキスの寄生状況

店	使用品	検査数	陽性数(%)	検出数	平均(範囲)	生存虫体数	アニサキスの種類
A	自家製	40	7 (18%)	14	2 (1 - 3)	3	<i>A. simplex</i> s.s.
B	購入品	24	0	-	-	-	-
C	購入品	8	0	-	-	-	-
計		72	7 (18%)	14	2 (1 - 3)	3	<i>A. simplex</i> s.s.

図3 長崎産マアジにおけるアニサキスの寄生状況

月 [2016年]	検査 尾数	陽性尾数		検出中体数		アニサキスの種類
		内臓	筋肉	合計	範囲	
1-3	30	25 (83%)	0	166	1 - 50	<i>A. pegreffii</i>
4-6	30	9 (30%)	0	39	1 - 10	<i>A. pegreffii</i>
7-9	30	21 (70%)	1	242	1 - 94	<i>A. pegreffii</i>
10-12	30	10 (33%)	0	11	1 - 2	<i>A. pegreffii</i>
合計	120	66 (55%)		458(平均 7)	1 - 94	<i>A. pegreffii</i>