

保健環境トピックス

生食用生鮮食品による食中毒について

平成 23 年 6 月 17 日付け食安発 0617 第 3 号、厚生労働省医薬食品局食品安全部長名で通知された文書「生食用生鮮食品による原因物質不明有症事例への対応について」を受け、ヒラメ及び馬肉の摂食履歴があり、*Kudoa septempunctata* 及び *Sarcocystis fayeri* を起因とすると考えられる有症事例においては、食中毒として取り扱われることとなった。

K. septempunctata は、主にヒラメなどの海産魚に寄生する粘液胞子虫の一種で、平成 22 年に輸入養殖ヒラメから新種として発見された。*S. fayeri* は犬を終宿主とし馬を中間宿主とする生活環を持つ獣肉胞子虫の一種である。症状は、摂食後数時間程度で一過性の嘔吐や下痢を呈し、軽度で終わる特徴がある。これらの特徴は、黄色ブドウ球菌、嘔吐型のセレウス菌あるいはウエルシュ菌による食中毒と類似している。

両寄生虫の検査法は、平成 23 年 7 月 11 日付け食安監発 0711 第 1 号にてヒラメに寄生する *K. septempunctata*、同年 8 月 23 日付け食安監発 0823 第 1 号にて馬肉に寄生する *S. fayeri* の検査法が暫定版として通知された。

当所でも平成 22 年度に両寄生虫の検査体制を整備し、平成 23 年度より両寄生虫を食中毒原因究明の検査対象項目とし、実施することとなった。

本稿では、これらの食中毒の特徴と原因不明食中毒事例の概要と平成 23 年度における両寄生虫の検査状況について報告する。

1 食中毒（疑い）事例の検査状況

過去 5 年間（平成 19 年度から平成 23 年度）の食中毒（疑い）のうち、検体が搬入された事例の病因物質検出状況を表 1 に示した。このうち病因物質が判明しない事例が、平成 20 年度から増加した。平成 21 年 7 月 30 日付けで厚生労働省医薬食品局食品安全部から「病因物質不明有症事例の情報収集について（協力依頼）」が事務連絡され、県庁保健衛生課からの依頼により、ヒラメ等の残品を国立医薬品食品研究所に送付した。平成 22 年度では検査事例の約半数の 17 事例は病因物質が検出されず、そのうち患者らは 4 事例で馬肉を、7 事例でヒラメを摂食していた。平成 23 年度では、15 事例は病因物質が検出されなかったが、

このうち 9 事例でヒラメの摂食履歴があった。

表 1. 当所で検査した食中毒（疑い）事例の病因物質の検出状況

年度	事例数	不検出 (%)	検出		
			細菌	寄生虫	ウイルス
H19	27	4 (14.8%)	5	検査せず	18
H20	30	9 (30.0%)	20	検査せず	1
H21	35	10 (28.6%)	16	検査せず	9
H22	35	17 (48.6%)	12	検査せず	6
H23	37	15 (40.5%)	7	8	7

2 *Kudoa septempunctata* の検査

平成 23 年度に食中毒（疑い）事例として搬入された検体のうち、16 事例でヒラメの摂食履歴が認められ、摂食後数時間程度で一過性の嘔気、嘔吐、腹痛や下痢を発症していた（図 1）。16 事例中 7 事例でヒラメや有症者の嘔吐物から *Kudoa* 胞子や *Kudoa* 属の遺伝子が検出された。検出結果は表 2 に示した。検査法が通知された 6 月以前の事例（事例 A）では定性試験のみを実施し、ヒラメの保存食及び有症者嘔吐物を検査した結果、前者から *Kudoa* 胞子及び Conventional PCR にて *Kudoa* 属遺伝子を検出した。

7 月以降の 6 事例中 2 事例（事例 C 及び E）でヒラメ残品または参考品、計 3 検体が確保され、1 検体から光学顕微鏡で 6-7 極嚢を有する *Kudoa* 胞子（写真 1）を 2.0×10^6 /g 確認した。また、すべての検体から $4.0 \times 10^4 - 4.9 \times 10^{10}$ *kudoa* rDNA コピー数/g の *Kudoa* 属遺伝子が検出された。

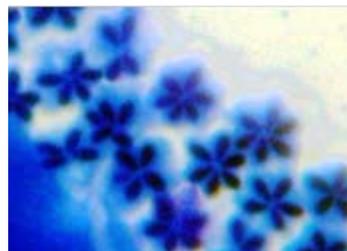


写真 1. *Kudoa* 胞子の顕微鏡写真（メチレンブルー染色）

また、5 事例（事例 B、D、E、F 及び G）で確保された計 6 件の有症者嘔吐物では、すべての検体から $5.7 \times 10^5 - 8.1 \times 10^9$ *kudoa* rDNA コピー数/g の *Kudoa* 属遺伝子が検出された。しかし、6 事例はいずれも *K. septempunctata* を病因物質とする食中毒とは判断されなかった。その理由として、通知では、ヒラメ筋肉中に光学顕微鏡で 6-7 極嚢を有する *Kudoa* 胞子を確認し、かつ Real-time PCR により 10^7 *kudoa* rDNA コピー数/g 以上が検出された場合に、食中毒の原因として判断される。本基準では、事例 E のように複

数名の有症者嘔吐物から *Kudoa* 属遺伝子を検出し、保存食からも同様に *Kudoa* 属遺伝子を検出しているが、*Kudoa* 胞子が検出できず、食中毒とは判断されなかった。また、事例 C では「ヒラメ参考品 B」は陽性であったが、有症者が摂食したヒラメとは断定しがたく、食中毒病因物質としての判断はできなかった。ヒラメの検査にあたっては、検査するヒラメについて患者が摂食したヒラメ個体と同一個体であることを調査確認することが重要であると考えられた。

一方、有症者嘔吐物についての評価は、現段階では判断基準は示されていないが、有症者がヒラメを摂食したことを実証する科学的な根拠として、有用であると考えられた。

Kudoa 胞子の病原性は、-15℃～-20℃で4時間以上保管、あるいは中心温度75℃5分以上の加熱で失活することが分かっている。しかし、実際にはヒラメを冷凍あるいは加熱処理して調理することは稀であり、予防策としては現実的でない。対策として、農林水産省でクドアが寄生したヒラメが出荷されることを防ぐため、養殖施設等でのヒラメのクドアの寄生の汚染実態調査や防止対策の開発等の取組がなされている。今後これらの成果に期待したい。

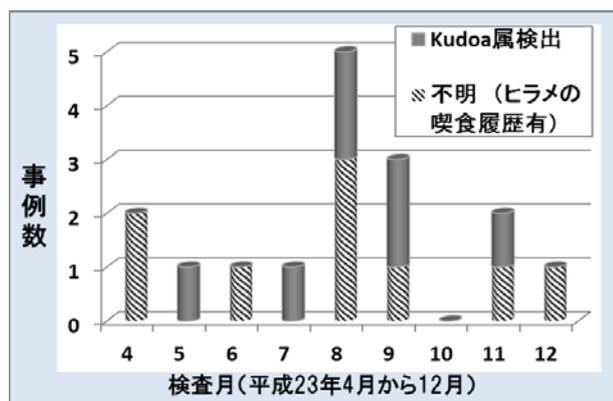


図1. 平成23年度にヒラメの摂食履歴のあった事例

表2. *Kudoa* 胞子、及び *Kudoa* 属遺伝子の検出

事例	検査材料	遺伝子検査	
		Conventional PCR	Real-time PCR
A	ヒラメ(保存食)	検出(定性)	検出
	有症者嘔吐物	NT	-
B	有症者嘔吐物	NT	検出 (5.7×10 ⁵)
C	ヒラメ参考品A	-	検出 3.5×10 ⁶
	ヒラメ参考品B	2.0×10 ⁶	検出 4.9×10 ¹⁰
D	有症者嘔吐物	NT	検出 (1.9×10 ⁸)
E	ヒラメ(保存食)	-	検出 4.0×10 ⁴
	有症者嘔吐物A	NT	検出 (5.3×10 ⁶)
	有症者嘔吐物B	NT	検出 (7.4×10 ⁹)
F	有症者嘔吐物	NT	検出 (8.1×10 ⁹)
G	有症者嘔吐物	NT	検出

* NT 検査せず

3 *Sarcocystis fayeri* の検査

馬肉を摂食し、数時間から1日以内に、下痢と嘔吐を主症状とした食中毒疑い事例は、かなり以前から発生していた。これらの事例では、細菌やウイルスの検査を実施しても原因となる微生物は検出されず、原因不明の有症事例となっていた。病因物質として、馬肉に含まれるワックス等の化学物質の可能性等についても研究されていたが、因果関係が明確ではなく、馬に寄生する *S. fayeri* が食中毒の病因物質の一つとして特定された。

福岡県では、厚生労働省から具体的な検査法が通知された直後の9月上旬に、馬肉を共通食とする2グループで同時に食中毒が発生した。患者が保存していた馬肉を検査した結果、顕微鏡検査により馬肉中に *Sarcocystis* のシスト(写真2、3)及びブラデゾイト(写真4)を確認した。また、Conventional PCRにより *Sarcocystis* 属遺伝子を検出した。本事例は、馬肉による食中毒と判断された。6月の通知により、*Sarcocystis* 由来の毒性たんぱく質は、馬肉を冷凍処理することにより失活できることが明示され、冷凍処理による対応策を講じるよう提言されていた。しかし、今回原因となった馬肉は、冷凍処理がなされていなかった。適切に冷凍処理することの重要性が示された事例となった。

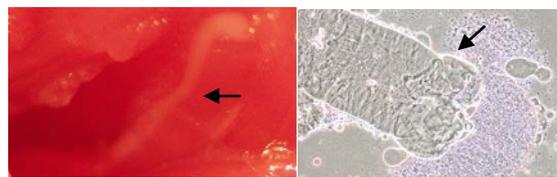


写真2. *Sarcocystis* のシスト
(右：馬肉中のシスト、左：シスト走査型顕微鏡像)



写真3. *Sarcocystis* のブラデゾイトの顕微鏡写

アオコ問題について

近年、水環境における問題解決のためには、化学物質等の水質汚染を測定し、解析する従来の手法に加え、その水域における生態系を俯瞰した総合的なアプローチが求められている。このため我々も藻類などの生態系の一部に視野を広めた研究を始めているところである。その例として現在、水質成分と関連する珪藻と藍藻に着目した研究を行っている。一つは有明海における珪藻に関する研究である。有明海の珪藻はノリの色落ちの一因として考えられており、その挙動を溶存態ケイ素という水質からアプローチしている。もう一つは富栄養化した湖沼でみられる藍藻類が生産する有毒物質に関する研究を行っている。このように水環境問題を、水質と生物（生態系）と関連してとらえることにより、県内の水資源と水環境保全へ寄与していきたいと考えている。本稿では藍藻類が生産する有毒成分マイクロシスチン問題を取り上げ、その概要を紹介する。

1 アオコとは？

富栄養化がすすんだ池や湖沼では、水面に緑のペンキを撒いたような現象がみられることがある（図 1）。一般に「アオコ」といわれる現象であり、主に藍藻類が原因である。まれに、緑藻類やミドリムシ藻類が原因となる場合もある。藍藻は細胞内にはっきりとした核を持たない原核生物のシアノバクテリアに分類されており、その中で日本においてアオコを形成する藍藻は15属55種あるとされている。

2 アオコ問題について

アオコにはいろいろな弊害が知られている。まず、アオコが水道水源で大発生した場合、水道水のカビ臭や浄水過程におけるろ過障害を引き起こす原因となる。さらに、湖沼の景観を損ない、その腐敗による悪臭や藍藻の呼吸による水中酸素の消費から魚のへい死を引き起こす原因にもなる。

加えて近年、藍藻類の一部が有毒成分を生産することが明らかになり、新たな水質問題となっている。身近なアオコが有毒であると書くと、よく質問されるのが、アオコはすべて有毒かという疑問である。世界中の3000を超える湖沼を対象にした世界保健機構（WHO）の調査報告によると、湖沼で発生したアオコのうち59%が有毒だったとしている。日本では23箇所の湖で調査が行われ、そのうち39%の湖沼で有毒藍藻類が確認されている。これまでに、毒素を生産する藍藻類は7属10種報告されているが、表1にその藍藻類と有毒成分の名前を示す。有毒成分は、構造に基づいて分類すれば環状ペプチドとアルカロイドに分類される。また、標的とする器官によって分類すると大きく神経毒と肝臓毒に分類される。本稿の対象であるマイクロシスチンは、*Microcystis* 属、*Anabaena* 属、*Oscillatoria* 属が生産する7個のアミノ酸から構成される環状ペプチ



図1 アオコが発生した水面

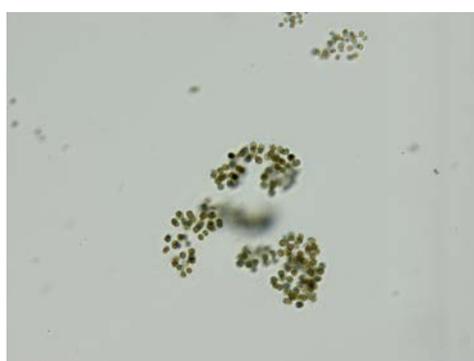


図2 アオコを形成する藍藻類

表1 藍藻類が生産する毒素

毒素の種類	名称	標的器官	生産する藍藻類
環状ペプチド	マイクロシスチン	肝臓	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> ,
	ノジュラリン	肝臓	<i>Nodularia</i>
アルカロイド	アナトキシン-a	神経	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> ,
	アブリシアトキシン	皮膚	<i>Lyngbya</i> , <i>Schizothrix</i> ,
	シンドロスパーモプシン	肝臓	<i>Cylindrospermopsis</i> ,
	リングピアトキシン-a	皮膚、腸管	<i>Lyngbya</i>
	サキトキシン	神経軸索	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> ,

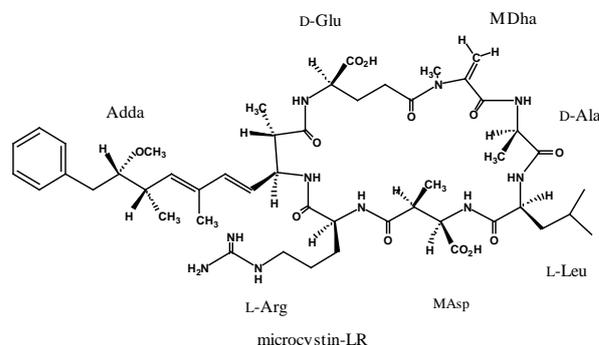


図3 ミクロシスチンの構造

ドで、肝臓を特異的に標的とする毒素である。現在、70種類以上のマイクロシスチンが報告されているが、その基本的な構造を図3に示す。

3 ミクロシスチンについて

家畜や動物に毒性を示す藍藻類の存在は古くから知られていた。その被害がはじめて報告されたのは1878年のオーストラリアにおける動物被害とされている。報告では放牧されていた羊や豚、馬などが、水飲み場の池でスカム状に浮いていたアオコを水と一緒に飲み、数時間で死亡した事例が紹介されている。これ以降、世界各地で同様な有毒藍藻類による被害が報告されているが、多くはオーストラリアやアメリカ、イギリスなどで起きた家畜や野生動物に対する被害となっていた。一方、ヒトに対する被害もアオコの広がりと共に世界各地で報告されている。たとえば、1996年、ブラジルでは腎臓透析に用いる水にミクロシスチンが混入し、131名の透析患者の内100名以上に肝臓障害が起こり、52名が命を落としている。

とはいえ、現在の日本ではアオコを大量に含む水をヒトが口にすることや医療用の水にミクロシスチンが混入することは通常考えにくい。ミクロシスチンの毒性を考える上で重要なのは最も懸念されるのは長期間にわたって微量に摂取し続けることによって起こる慢性毒性である。ミクロシスチンとノジュラリンはオカダ酸と同様の発ガンプロモーション活性を持つことが報告されている。人間の発ガンはイニシエーション（腫瘍細胞の発生）、プロモーション（腫瘍細胞の増殖）、プログレッション（腫瘍細胞の悪性化）及び転移などと分けられる多段階で生じると考えられているが、ミクロシスチンとノジュラリンはプロテインフォスファターゼ1（PP-1）と2A（PP-2A）の活性を阻害することにより発ガンプロモーション活性をもつとされている。このような慢性毒性を示すミクロシスチンに対して、WHOは飲料水中におけるミクロシスチン-LRのガイドライン濃度を1.0 µg/Lと設定している。我が国でも水道水質について、水道水質基準項目ではないが要検討項目としてミクロシスチン-LRを指定している。要検討項目とは毒性評価が定まらず、浄水中の存在量などが不明であるため情報を収集する必要がある物質である。

4 現在の取り組みと今後の課題

現在、我々も福岡県内の湖沼についてミクロシスチンの調査を行っている。現在までの調査の結果、県内の大規模な湖沼ではミクロシスチンはほとんど検出されない。但し、富栄養化し、アオコが日常的にみられるため池では、長期間にわたって継続的にミクロシスチンが検出された。

一方、今後解明しなければならない点もある。ミクロシスチンは藍藻類が生産する物質であるため環境中での挙動は、化学物質の汚染と異なると考えられる。一般的な化学物質は汚染源から拡散して、その後、物理化学的な分解や微生物等による生分解により減衰していく。一方、ミクロシスチンの汚濁源は藍藻類である。藍藻類は水面を風向などの気象条件や地理的な条件によって移動することができる。また、細胞内にガス胞を持っていることから、垂直方向にも移動する。一般に藍藻類が生育しているとき、

ミクロシスチンはその細胞内で保持されて、水中には溶出ししないとされている。しかし、その細胞が何らかの条件で破壊されたり、水温の低下等で藍藻が死滅する場合は細胞外に放出される。このためミクロシスチンの挙動を把握し、湖沼におけるミクロシスチンの安全性評価には化学物質汚染とは異なる留意が必要になる。そのため我々はミクロシスチンの時空間的な分布状況の把握調査を行っている。ミクロシスチンの垂直分布調査例を図4に示す。藍藻類が大量に生育する時期には表層と底層におけるミクロシスチン濃度に約3倍程度の差がでることがある。また、水平方向の分布調査でも6倍以上の濃度差が検出されることもある。このようにミクロシスチンの湖沼内分布には著しい偏在性がある。このことは、サンプリング場所や時間によって大きく値が異なり、その評価に大きな影響を与える。今後、モニタリング調査と偏在性調査を継続して適正なサンプリング場所選定の方策やそれに基づくミクロシスチン評価手法を検討しなければならない。

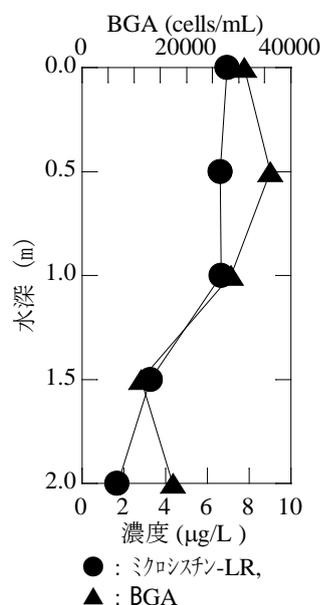


図4 ミクロシスチンの垂直分布調査結果
注) BGAとは水中の藍藻細胞数

5 おわりに

近年、アオコの問題が再び注目されている。理由の一つに地球温暖化の影響があげられる。水温が上昇することにより、今までは水温が低いためにアオコが発生していなかった地域でもアオコの発生が懸念されている。また、すでに発生していた地域では、アオコ発生期間の長期化が懸念される。もう一つの理由として、我が国の閉鎖性水域の水質改善が河川と比べて進んでいないことがあげられる。閉鎖性水域の水質改善がすすまなければ、必然的にアオコ発生の懸念は高まることになる。北部九州は一人あたりの水資源が少ない地域である。よって、限りある水資源の安全な保全が今後も重要となっている。