シンポジウムI 食品の微生物制御の抱える課題と検査

● Current problems in the microbiological control of food and food testing

食中毒としての食品媒介寄生虫症：現状と検査の課題

Current Situation and Parasite Detection Methods in Parasitic Food Poisoning in Japan

杉山 広

(国立感染症研究所寄生動物部)

Hiromu SUGIYAMA

(Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640)

1. はじめに

寿司・刺身など魚介類の生食（なましょく）が、日本では食習慣として広く定着している。このような生食あるいは生（なま）ものに対する高い嗜好に起因して、わが国では「蠕虫」（多細胞の寄生虫）や「原虫」（単細胞の寄生虫）に感染する症例が相当数発生している。このような症例もまた、寄生虫を原因に発生した飲食による健康被害であり、細菌やウイルスなどほかの感染性微生物を原因とする事例と同じく「食中毒」として取扱われ、食品衛生法に則した届出がなされる。

しかし食品媒介の寄生虫症を食中毒として対応するようになったのは比較的新しく、1994年の寄生虫予防法（回虫、鉤虫、肝吸虫、日本住血吸虫が対象）の廃止以降である。まず1997年に、食品媒介の寄生虫性疾患への対策強化に関する通知が旧厚生省から発出された。次いで1999年には、食中毒事件票の病因物質の種別として、「その他」の項にアニサキス等が例示された。さらに2012年には食品衛生法施行規則が一部改正され、クダア、サルコシスティス、アニサキス、その他の寄生虫の合計4種別が、食中毒の病因物質として食中毒事件票に追加された²⁾。このように寄生虫（症）の取扱いに関する行政上の対応には、法改正も含めた強化が行われており、食品における寄生虫検査の重要性は増加の一途にある。

食品を対象として寄生虫の検査を実施するには、寄生虫が食品を汚染する様式をよく知る必要がある。これには二通りがあり、一つは寄生虫が食品内に寄生する場合で、もう一つは寄生虫が偶発的に食品に付着して汚染する場合である。前者は食品となる魚介類等が寄生虫の生活環の維持に必要な中間宿主（あるいは待機宿主）となる場合で、海産魚介類に寄生するアニサキスなどが例となる。後者は回虫卵が輸入キムチに混入した場合が相当する。特に前者の場合、寄生虫の種類ごとに汚染を受ける食品が限定されるために、検査対象の寄生虫に関する

知識を活かして、適切な検査材料および検査法を選択する必要がある。

寄生虫の検査に関して公定法が示されているのは、クダアおよびサルコシスティスに対するものになる（通知による公定法）。一方、通知として発出された「対EU輸出水産食品の取扱いについて（2009年6月4日）」においては、衛生基準の項で「水産物を出荷する前に寄生虫の目視検査が必要」と記されている。しかし本通知では、検査対象の寄生虫種は明記されておらず、検査に関する具体的な記述も乏しい。さらに食品媒介の数多くの寄生虫に関しては、食品の検査にかかわる公定法はなく、食品衛生検査指針等を参考として検査が実施される。

そこで本稿では、わが国で昨今、話題となっているアニサキス、クダア、サルコシスティスという3種類の食品媒介寄生虫に焦点を当て、それぞれの寄生虫の特徴やその食中毒の発生状況を概観するとともに、これらの寄生虫による食品の汚染がどのような形で検査されているかについて現状を紹介したい。

2. アニサキス

(1) アニサキス食中毒の届出と事件数・患者数

海産魚介類が感染源の食品媒介寄生虫症の中で、わが国で最も多く発生するのは、アニサキス食中毒である。症例の9割以上は、魚を喫食して数時間前後に激しい胃痛で発症するとされる（胃アニサキス症）。そして胃の内視鏡検査により、胃粘膜に穿入した虫体が検出・摘出されると、激しい痛みは速やかに消失して治癒に至る。

このようなアニサキス食中毒の届出の根拠には、原因食品である生鮮魚介類を患者が喫食して、症状や潜伏期が本症に一致し、さらに原因物質であるアニサキス幼虫が患者から検出されるなどの確認が必要で、そしてその症例を食中毒として医師が届け出なければならない。これを受けて保健所がアニサキス食中毒と判定し、食品衛生法第6条・第3項違反で行政処分がおりる。

アニサキス食中毒の事件数・患者数は、2007年に6件・6人であったが、その後徐々に増加して、2015年に

表1. 食品衛生法に則して届出された寄生虫性食中毒の発生状況の推移

年	総数 事件数 (患者数)	アニサキス 事件数 (患者数)	クドア 事件数 (患者数)	サルコシステイス 事件数 (患者数)
2007	1,289 (33,477)	6 (6)	— (—)	— (—)
2010	1,254 (25,972)	28 (29)	— (—)	— (—)
2011 ^{a)}	1,068 (21,700)	34 (35)	33 (473)	2 (11)
2012 ^{b)}	1,100 (26,699)	65 (71)	41 (417)	1 (3)
2013	931 (20,802)	88 (89)	21 (244)	1 (6)
2014	976 (19,355)	79 (79)	43 (429)	0 (0)
2015 ^{c)}	1,202 (22,718)	127 (133)	17 (169)	0 (0)

^{a)} クドア (*Kudoa septempunctata*) とサルコシステイス (*Sarcocystis fayeri*) は、これらに関する厚生労働省からの通知「生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例への対応について」が発出された (2011 年 6 月 17 日) 以降の数値。

^{b)} 食品衛生法施行規則の一部が改正され (2012 年 12 月 28 日), 寄生虫性食中毒の事件数・患者数が外部からも自由に閲覧できるようになった。

^{c)} 2016 年 5 月 30 日アクセス。

は 127 件・133 人に達した (表1)。この 127 件という値は、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、第3位の事件数となる。全食中毒の中で件数が第3位との位置づけは、2013 年以降、3 年間連続している。ただしアニサキス食中毒の事件数が最近、急増したとは考えられず、むしろ事件数増加の背景には、アニサキスによる感染事例を食中毒として捉え、法に則して届出するとの認識の普及があると考えられる。一方で、民間のレセプトデータを用いたわれわれの解析結果から、わが国におけるアニサキス食中毒の患者数は毎年約 7,000 人と推計された³⁾。したがって実際に届出されるアニサキス食中毒は、いまだに氷山の一角に過ぎない。

(2) アニサキス食中毒の原因となる寄生虫種

アニサキス食中毒の「アニサキス」とは、クジラなどの海産哺乳動物を終宿主とし、その体内に成虫が寄生するアニサキス亜科の線虫の仲間である。一方で、魚はアニサキスの中間宿主となり、その内臓や筋肉に幼虫が寄生する。ヒトもクジラと同様に、魚を喫食してアニサキスに感染するが、人体内でアニサキスは幼虫のままとなり、成虫に発育することはない。

アニサキスの中で、特に食中毒の原因となる虫種は、アニサキス属およびシュードテラノバ属の線虫である。魚介類にはコントラシーカム属など多くの種類のアニサキス亜科の線虫が寄生するが、これらは極めてまれにしかヒトに寄生せず、アニサキス亜科であっても、食中毒の病因物質からは除外される。

アニサキスは患者由来の発育期がすべて幼虫で、種の同定・鑑別に必要となる解剖学的な特徴は乏しい。しかし属レベルの形態鑑別は可能であり、アニサキス食中毒の届出であっても、形態に基づく属の確認が望ましい。一方で検出虫体の確実な種同定が必要な場合は、虫体からの DNA 調製、リボゾーム DNA 等の領域の PCR 増幅、塩基配列の解読・解析という流れに沿った分子同定が行われる。

(3) アニサキスの検査法

感染源となる魚介類からアニサキス幼虫を検出するには、腹腔や内臓の表面および筋肉 (フィレやスライス) を肉眼で観察する。これを直接観察法と呼ぶ。輸出水産食品を対象とした通知である「対 EU 輸出水産食品の取扱いについて」では、寄生虫の項で目視検査 (視覚検査) の必要性和要領を述べ、検査法として直接観察法を紹介している。拡大鏡の使用やキャンドリングによる検出にも触れている。通知で対象となる寄生虫は特に明記されていないが、アニサキスが含まれることは確実である。

アニサキスの検査法であるキャンドリング法では、白色光に替えて紫外線を照射し、虫体の検出効率を上げることもある。また拡大鏡 (実体顕微鏡) を使用して、筋肉や内臓のスライスを 2 枚のガラス間に挟み、鏡下に虫体を検出する方法 (圧平法と呼ぶ)、さらに人工胃液で内臓や筋肉を消化して、沈渣から虫体を検出する方法 (消化法と呼ぶ) も適用できる。これらの検査法はいずれも、参考法として食品衛生検査指針に詳しい。

3. ク ド ア

(1) クドア食中毒とその届出

2012 年の食品衛生法施行規則の一部改正で、食中毒事件票の病因物質として追加された寄生虫の一つが、粘液胞子虫類の *Kudoa septempunctata* (和名: ナナホシクドア) である²⁾。本虫は 2010 年に韓国産のヒラメから検出されたクドア属の新種で、筋肉内の一つの胞子の中に、6~7 個の極嚢を認める (ナナホシの由縁)。本虫による食中毒は「クドア食中毒」と呼ばれるが、粘液胞子虫類の寄生虫がヒトの病気を引き起こすことは、従来は全く予想されていなかった⁴⁾。

今より十数年以上前から、海産魚の刺身などを喫食した後、数時間以内に一過性に軽度の下痢や嘔吐を発症する事例が知られていた。これらの事例では、既知の食中毒病因物質、例えば黄色ブドウ球菌やノロウイルスは検出されず、原因物質は不明とされてきた。原因食品も魚

介類ではヒラメが最も多かったが、絞り込みが容易ではなかった。その中で2010年10月に発生したアウトブレイクでは、233名が特定の養殖施設由来のヒラメを喫食し、59名が発症、潜伏期の中央値は5時間で、80%に下痢、56%に嘔吐を認めた⁵⁾。そして当該養殖施設のヒラメからナナホシクドアが検出された。このような症例を積み重ね、また喫食残品を用いたメタゲノム解析、あるいは動物と培養細胞を用いた病原性解析が進められ、2011年6月に厚労省から、ヒラメの喫食に関連したナナホシクドアによる有症事例を「食中毒」として取扱うとの決定が、通知として発出された。

クドア食中毒の発症には多量の胞子を摂取する必要がある。そのような多量のナナホシクドア胞子が、陽性ヒラメからほかの食材に交差汚染する危険性は低い。したがって食中毒の原因がナナホシクドアと確定された場合は、営業停止の処分は不要との通知が厚労省から出ている。

(2) クドアの検査法

ヒラメを検査材料とした本虫の検査法が、公定法「*Kudoa septempunctata*の検査法について」として、2016年4月に厚労省から自治体に通知された。試料としてヒラメの筋肉を用い、まずリアルタイムPCR、LAMP法あるいはイムノクロマトグラフィー法によるスクリーニング検査を行う。陽性の試料については、さらに顕微鏡検査を行い、両方の検査で陽性の場合に「検査したヒラメを食中毒の原因」と判定する。スクリーニング検査では多数の検体を同時に処理し、顕微鏡検査では成熟胞子を検出・計数して病害性を総合的に判定する。

スクリーニング検査法を詳しく見ると、リアルタイムPCRでは、ナナホシクドアの18S リボソームDNAを標的とし、試料1g当たりのコピー数が10の7乗以上を陽性とする。またLAMP法およびイムノクロマトグラフィー法では、試料1g当たり10の5乗個以上の胞子を検出できることが、既に確認されている。一方、顕微鏡検査では、血球計算盤で胞子数を算出し、試料1g当たりの胞子が10の5乗個以上を陽性とする。このような検出の感度や基準値を定めてあることが、本検査法の特徴となる。

一方で糞便を用いた遺伝子検査法も、「食中毒患者便からの*Kudoa septempunctata*遺伝子検出法（参考）について」との事務連絡として、2014年5月に厚労省から発出された。ナナホシクドアは患者の体内で増殖しないが、事務連絡の検査法でも条件が良ければ、7割もの高い陽性率が得られる。しかし本検査法で陽性結果が得られた場合は、ほかの検査や疫学調査の結果を併せて、総合的にクドア食中毒と判断するようにと但し書きされている。

(3) クドア食中毒の事件数・患者数と解決すべき今後の課題

クドア食中毒が通知された2011年には、通知が発出

された6月以降の約半年間で、事件数・患者数の届出が33件・473人に達した。その後の事件数・患者数は、2014年にいったん増加したが、年々減少の傾向にあり、2015年には17件・169人にまで減少した（表1）。

クドア食中毒の原因物質のナナホシクドアは、ウマズラハギからも検出されている。また、マグロやタイ、カンパチから、ナナホシクドア以外の粘液胞子虫が見つかり、有症苦情事例も発生している¹⁾。これらの情報を収集し、発生予防対策の策定も目途に「食中毒調査に係る病因物質不明事例の情報提供について（協力依頼）」との事務連絡が、2015年7月に厚労省から発出された。クドア食中毒とナナホシクドア以外の粘液胞子虫による有症苦情との鑑別および行政的な対応が、食品衛生上の今後の重要な課題となる。

4. サルコシスティス

(1) サルコシスティスとその届出

今から十数年前の「原因不明有症事例」では、馬刺しも原因食品の候補に挙がっていた。その後、実際に馬肉から原虫の*Sarcocystis fayeri*（和名：フェイアー住肉胞子虫）が検出されたことにより、馬刺し喫食者において発生したフェイアー住肉胞子虫による有症事例を「食中毒」として取扱うとの決定が、通知として2011年6月に厚労省から発出された。

本虫はウマの筋肉に寄生し、サルコシストと呼ばれる袋の中に、ブラディゾイトという発育期の虫体を多数認める。本虫が生活環を維持するには2種類の動物が必要で、ウマが中間宿主、イヌ科の動物が終宿主となる。本虫に感染したウマの筋肉をイヌ科の動物が摂取すると、虫体はその腸管の細胞に侵入して発育・増殖し、さらに虫体が糞便とともにその体外に排泄される。そして虫体に汚染された草や水をウマが摂取することでウマが感染する。ヒトも終宿主動物と同様に陽性馬の肉を摂食することで感染し、下痢などの症状が一過性に発現するが、ヒトの体内で虫体が発育・増殖することはない。

(2) サルコシスティスの検査法

馬肉を検査材料とした公定法「*Sarcocystis fayeri*の検査法について」が、2016年4月に厚労省から自治体に通知された。定性PCRあるいはLAMP法でスクリーニング検査を行い、陽性の試料については、さらに顕微鏡検査を実施し、両方の検査で陽性の場合に「検査した馬肉を食中毒の原因」と判定する。

(3) サルコシスティスの事件数・患者数と予防対策

フェイアー住肉胞子虫が寄生した肉を摂食しても、その肉が摂食前に-20℃で48時間以上冷凍されていれば、虫体は死滅しており発症しない。そこで販売の前に馬肉を冷凍することで、食中毒発生リスクの低減が図られてきた。実際に2014年および2015年には、食中毒としての届出はない（表1）。

5. おわりに

本稿では、わが国で最近、問題となっている食品媒介の寄生虫として、アニサキス、クドア、サルコシスティスの3種類を選び、各寄生虫による食中毒の発生状況や原因食品の検査法について解説を試みた。このうちのアニサキスは、ほかの多くの食品媒介寄生虫と同じく、わが国で消費される食品の検査において、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検査法、特に公定法の確立は、食の安全・安心を担保するうえでも、重要な要件である。

一方、クドアおよびサルコシスティスに関しては、公定法に則した原因食品の検査が実施される。しかも2016年4月に発出された通知では、従来の通知（暫定版）に加えて、より簡便で迅速な方法が新たなスクリーニング法として盛り込まれた。

食品における寄生虫検査の重要性は、今や増加の一途にある。特に食中毒の原因となる寄生虫の検査法に関する検討は急務である。食品の衛生管理を担う各方面の方々の協力のもと、この分野の検討がさらに進展するものと期待される。

文 献

- 1) 阿部仁一郎：日本における寄生虫性食中毒の最近の話題と今後の課題。日食微誌, **31**, 129-137 (2014).
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長, 食安第 1228 第7号 (2012). 通知は以下のアドレスから閲覧できる (2016年5月20日アクセス) http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/gyousei/dl/121228_2.pdf
- 3) 杉山 広, 森嶋康之, 大前比呂思, 山崎 浩, 木村真也: アニサキスによる食中毒: 届出に関わる法改正とレセプトデータによる患者数の推計. Clin. Parasitol., **24**, 44-46 (2013).
- 4) Sugita-Konishi, Y., Sato, H. and Ohnishi, T.: Novel food-borne disease associated with consumption of raw fish, olive lounder (*Paralichthys olivaceus*). Food Safety, **2**, 141-150 (2014).
- 5) Yahata, Y., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., Toyokawa, T., Nakamura, N., *et al.*: *Kudoa septempunctata*-induced gastroenteritis in humans after flounder consumption in Japan: a case-controlled study. Jpn. J. Infect. Dis., **68**, 119-123 (2015).