総 説

水産物におけるヒスタミン食中毒と ヒスタミン生成菌

Histamine Food Poisoning Associated with Fisheries Products and Histamine-Producing Bacteria

山 木 将 悟・山 崎 浩 司[†]

(北海道大学大学院水産科学研究院)

Shogo YAMAKI, Koji YAMAZAKI[†]

(Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, 3-1-1 Minato-cho, Hakodate 041-8611, Hokkaido;

[†]Corresponding author)

1. はじめに

日本では、古くから重要なタンパク質源として水産物が重宝されてきた。しかし、水産物は保存性が悪く、腐敗の進行が早い。また、日本では水産物を生で喫食する習慣があるため、過去には腸炎ビブリオなどに起因する微生物性食中毒が多数発生していた。近年の食品加工技術や低温流通システムの発達は食品の消費期限や賞味期限の延長に大きく貢献し、食品の安全性を担保する基盤となっている。このような技術の発達と衛生的な取り扱いの徹底により水産物の食中毒リスクは大きく低減している。厚生労働省の食中毒統計によれば、腸炎ビブリオによる年間食中毒患者数は12,000人程度（1998年）をピークに直近の数年では50~250人程度まで減少した。カキによるノロウイルス食中毒はいまだ猛威を振るっているが、わが国における水産物の安全性は極めて高いと言えるであろう。しかし近年、赤身魚のヒスタミン(Hm)による食中毒が注目されるようになり、集団食中毒事例や企業の製品回収事例がたびたび報告されるようになってきた。Hmによる食中毒は昔から発生しているが、特に2009年の学校給食で提供されたマグロフライを原因とする患者数279名の大規模食中毒は大きな話題となった。本稿では、水産物のHm蓄積による食中毒とその原因となるHm生成菌について概説する。

2. ヒスタミン食中毒

1) 国内での発生状況

Hm食中毒は、海外ではScombroid fish poisoningやHistamine poisoningと称されるが、日本ではアレルギー

様食中毒と呼ばれてきた。これは、原因物質であるHmにより、顔面紅潮や蕁麻疹、発熱、頭痛などの一般的なアレルギーで見られる症状を呈するためである。Hmは細菌の働きによって生成されるが、原因となるHmは化学物質であるため、Hmによる食中毒は厚生労働省の食中毒統計において化学性食中毒に分類されている。しかし、前述のとおり、Hmを生成するのは細菌であるため、本食中毒を未然に防ぐためには細菌性食中毒と同様の制御方法を考慮する必要がある。

日本におけるHm食中毒の発生状況をFig. 1に示した。2000年以降、Hm食中毒は年間数件から十数件程度報告されている。一方、患者数は少ない年で数十名、多い年には400名を超える場合もあった。このように、Hm食中毒は1件当たりの食中毒患者数が多くなる傾向にある。例えば、患者数が最も多かった2009年には、1件当たりの患者数が100名を超える大規模食中毒事例が2件（マグロフライ、カツオの麹漬け）発生している。また、2番

Fig. 1. Numbers of incidents and cases of histamine poisoning in Japan. Data from Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html).

[†] 連絡先: yamasaki@fish.hokudai.ac.jp

〒041-8611 北海道函館市港町3-1-1

目に患者数の多い2008年は、患者数100名を超える事例はないが数十名規模の集団食中毒事例が多数発生した。ほかには、2000年（イワシの蒲焼き）、2003年（鉄火丼）、2011年（アジの塩焼き）、2013年（イワシのつみれ汁）、2015年（アジフライ）にそれぞれ患者数100名を超える大規模食中毒事例が報告されており、食品の衛生管理が行き届いた日本であってもHmによる大規模食中毒がしばしば発生している。このような大規模食中毒事例は給食施設や飲食店が原因施設となることが多く、Hmを蓄積させない鮮度管理の徹底が求められる。

2) 原因となる食品

食品でのHmの蓄積は、Hm生成菌の働きによって起こる。Hm生成菌は、自身の持つヒスチジン脱炭酸酵素(HDC)により魚肉に含まれる遊離ヒスチジンを脱炭酸しHmへと変換する。Hm食中毒の原因となる食品は主にマグロ、カツオ、サバ、イワシ、サンマなどの赤身魚であるが、これは赤身魚の遊離ヒスチジン含量が約3,000～12,000 ppm程度と多いことに起因する⁴⁰⁾。一方、白身魚のヒスチジン含量は数十から数百 ppm程度⁴⁰⁾でありHm食中毒は発生しづらい。

Hmは加熱や凍結に安定であるため、一度食品に蓄積すると除去は困難である。Hm生成菌やHDCは加熱により容易に死滅または失活するが、生成されたHmは調理加工工程を経た後も食品に残存してしまう。実際、厚生労働省の食中毒統計によると、患者数100名を超える食中毒事例の原因食品にマグロフライやアジフライ、アジの塩焼き、イワシのつみれ汁などの加熱調理済みの食品が多数報告されている。また、そのほかの単発事例においても、生の魚肉に比べて、加熱などの何らかの調理加工工程を経た食品が原因となった事例も多い。

食中毒を発症するHm摂取量には個人差があると考えられており、過去の事例から推定されるHm摂取量は大人1人当たり22～370 mgと報告されている²⁴⁾。すなわち、給食を喫食する幼児や児童であればより少量のHmで食中毒を発症する可能性が推察される。なお、過去の食中毒事例では、イワシの蒲焼き（患者数127名）で90～3,600 ppm²⁶⁾、マグロフライ（患者数279名）で70～2,700 ppm³⁴⁾、イワシつみれ（患者数65名）で958 ppm¹⁾のHmが原因食品から検出されている。

一方、生鮮魚介類だけでなく発酵食品においてもHmの蓄積が懸念される。特に、水産物を原料とする魚醤油はHm蓄積のリスクが高い。これは、高塩分環境下での魚の内在プロテアーゼと細菌による魚肉タンパク質の分解が長期間の発酵過程を要するためである。そのため、原料が好塩性Hm生成菌で汚染されていた場合、発酵過程に高濃度のHm蓄積を起こす危険性がある。タイの市販または工場より入手した魚醤油を調べた論文では計6試料のHm濃度は141～783 ppmであった⁵⁵⁾。また、ほかの報告では東南アジア産の魚醤油12試料に含まれるHm濃度は45～1,220 ppmと報告しており、そのうち

3試料では500 ppmを超えていたと報告している⁵¹⁾。国内の例では、中里らは、東京都内で購入した国外産の魚醤油41試料のうち75%は100 ppm未満だったが、国産品は14試料中6試料が100 ppm以上であり、不検出および50 ppm未満のものは8試料であったと報告している³⁵⁾。このように、魚醤油のHm含有量は個体差が大きい。これは、原料魚種のヒスチジン含量や鮮度、発酵方法や温度、期間によりHm生成量が大きく変化するためと考えられる。魚醤油は一度の喫食量が少ないため、魚肉に比べてHm食中毒のリスクは少ないと考えられるが、より衛生的な魚醤油の生産のためHm蓄積量の低減手法が求められている。また、発酵食品であるワインやチーズもHmの蓄積が問題になる場合があるが、本稿ではこれについては解説しない。

3) 食中毒症状

Hm食中毒の多くは、Hmを蓄積した食品を摂取してから約30分から1時間後に発症する²⁰⁾。蕁麻疹や顔面紅潮、発熱、頭痛などの軽微なアレルギー様症状を経て、通常24時間以内には回復する²³⁾。しかし、ごくまれに重症化する場合があり^{10,41)}、日本においてもカジキマグロの照焼きにより複数のアナフィラキシー様症状の患者を発生した事例が報告されている³⁸⁾。また、大谷らは、血清中Hm濃度が高い患者はより強い症状を呈する傾向にあったことを述べており³⁸⁾、原因と考えられたカジキマグロの照焼きのHm濃度は440～7,600 ppmと極めて高濃度のものが存在した。したがって、本食中毒の症状が軽微であると断定することは危険であり、Hmの摂取量によっては危険な症状に進行する可能性のあることを認識しなければならない。

4) 食品へのヒスタミンの蓄積

現在、Hmの蓄積はHm生成菌の働きのみにより起こると考えられている。これは、Hmを蓄積した食品からHm生成菌が分離され、その発育とHm蓄積の関連性が知られるようになったためである。しかし、過去には魚肉中でのHmの生成が魚肉の内在酵素によって起こるという考えも存在したことが綴られている²¹⁾。Hm生成菌が検出されないにもかかわらず多量のHmを蓄積した魚肉があったためであるが、Hm生成菌の一部が凍結に弱いことを考慮すると内在酵素説の可能性は低いと考えられる。Neiは、ガンマ線照射した魚肉を用い、微生物と内在酵素のどちらがHm蓄積に寄与するかを実験的に証明した³⁶⁾。ガンマ線を照射した魚肉では7日間の保存後にHmは増加しなかったが、ガンマ線照射後に*M. organii*を接種した魚肉ではHmが2,000 ppm以上まで増加した。この結果より、魚肉でのHm蓄積は内在酵素によるものではなく、Hm生成菌の働きによるものであることが確認され、Hm生成菌の発育制御がHm食中毒予防に最も重要であることが示された。

通常、魚肉でのHmの蓄積と腐敗の進行は同時に起こるため、Hmの蓄積した魚肉は喫食される可能性は少な

いと考えられる。しかし、Hm生成菌の一部は魚肉で増殖しても腐敗臭を発しない場合がある²⁰⁾。すなわち、このようなHm生成菌が魚肉で優先的に発育するとトリメチルアミン臭やアンモニア臭を代表とする異臭を発しないままHmが蓄積してしまう。Linらは、ツナ缶詰肉に*R. ornithinolytica*を接種し、4~37℃で保存したときのHm量および揮発性塩基窒素(VB-N)量を調べ、VB-N値が初期腐敗の値(30 mg/100 g)に達する前にHm量が著しく増加することを報告している³³⁾。Hm食中毒の原因となった食品にはこのような状態であったものも存在すると考えられるため、臭気による品質の判定は注意が必要である。昨今では熟成肉(エージングビーフ)に続き、熟成魚も美味しさの観点から販売されるようになってきている。しかし、前述のように魚肉の熟成はHmの蓄積を招く可能性があるため安易に真似ることは避けるべきと言える。

3. ヒスタミン生成菌

Hm生成菌は、HDCにより食品の遊離ヒスチジンを脱炭酸しHmを生成する。水産物のHm蓄積に関与するHm生成菌はグラム陰性Hm生成菌とグラム陽性Hm生成菌の大きく2種類に分けられる。温度や塩分濃度の発育特性から、両者はそれぞれHm蓄積に関与する食品が異なる場合が多い。ここでは、グラム陰性Hm生成菌とグラム陽性Hm生成菌の種類や特徴、分布、Hm生成能について述べる。

1) グラム陰性ヒスタミン生成菌

グラム陰性のHm生成菌は、腸内細菌科に属するものとビブリオ科に属するものが大多数を占める。また、このグラム陰性菌のHm生成菌は、生の魚肉や調理加工を経たフライや焼魚などの水産食品におけるHm蓄積に関与する場合が多い。代表的なグラム陰性Hm生成菌の発

育特性、報告されている分離例・検出例をTable 1に示した。

腸内細菌科に属するものは、*Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii* subsp. *morganii*, *M. psychrotolerans*, *Raoultella planticola*などの細菌がHmを生成することが報告されており、ここで挙げたもの以外にもHmを生成する腸内細菌科細菌が存在する。腸内細菌科のHm生成菌はその多くが中温性細菌である。すなわち、多くの菌種では低温管理の徹底により増殖を止めることが可能である。しかし、*M. psychrotolerans*は低温発育能を有し、低温保存では増殖を阻止することができない。本菌はHm食中毒に関与したマグロの魚肉から*M. morganii*-like bacteriaとして分離されており^{13,14)}、2006年に新種として提案された¹⁵⁾。Emborgらによると、*M. psychrotolerans*の発育温度は2~35℃であり、分離株の77%は0℃で発育するとされている¹⁵⁾。すなわち、通常の低温保存では*M. psychrotolerans*の制御は期待できない。腸内細菌科のHm生成菌はHm生成能が高い傾向にある。多くが1,000 ppm以上のHmを培地や食品中で生成し、3,000~5,000 ppm程度のHmを生成する場合もある。

ビブリオ科のグラム陰性Hm生成菌は*Photobacterium*属が中心である。*Photobacterium*属には多くの菌種が存在するが、Hm生成菌として報告されているものは*P. damsela* subsp. *damsela*や*P. phosphoreum*, *P. angustum*, *P. aquimaris*, *P. kishitanii*である^{5,27,49)}。*P. phosphoreum*は、2002年に大阪で発生したHm食中毒の際に、1,700 ppmのHmを含有したイワシ丸干しから原因菌として分離された²⁷⁾。先に挙げた5種のうち、*P. phosphoreum*, *P. angustum*, *P. kishitanii*は低温発育能を有する。一方、*P. damsela* subsp. *damsela*は低温では発育しない。また、*P. aquimaris*は株により発育温

Table 1. Summary of Gram-negative histamine-producing bacteria

Bacterial species	Growth feature	Isolation/detection	Reference
Family <i>Enterobacteriaceae</i>			
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Mesophilic	Fish body (gill, skin, and anal vents)	3
		Fish stick (implicated poisoning)	32
<i>Morganella morganii</i>	Mesophilic	Fish body (gill, skin, and anal vents)	3
		Processing plant (during processing)	30
<i>Morganella psychrotolerans</i>	Psychrotrophic	Vacuum-packed tuna (implicated poisoning)	13
		Retail fish meat	29
<i>Raoultella planticola</i>	Mesophilic	Fish body (gill, skin, and anal vents)	3
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	Mesophilic	Fish stick (implicated poisoning)	32
		Retail fish meat	49
<i>Proteus vulgaris</i>	Mesophilic	Fish meat	2
Family <i>Vibrionaceae</i>			
<i>Photobacterium angustum</i>	Psychrotrophic	Retail fish meat	49
		Fish body	5
<i>Photobacterium damsela</i>	Mesophilic	Fish body (gill, skin, and anal vents)	3
<i>Photobacterium kishitanii</i>	Psychrotrophic	Retail fish meat	49
		Fish body	5
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Psychrotrophic	Dried sardine (implicated poisoning)	27
		Retail fish meat	49

度が異なる可能性がある⁵⁶⁾。 *Photobacterium* 属のHm生成能は種や株により差異が大きく、同種でも株が違えばHm生成量が大きく異なる場合がある^{5,7,49)}。 *Photobacterium* 属は海洋細菌であるため、最適な増殖にはある程度の塩分を必要とする。筆者らが *M. psychrotolerans* と *P. phosphoreum* を0.1または2.0% NaClを含んだ液体培地で4℃で培養したところ、0.1% NaCl含有培地では *P. phosphoreum* と *M. psychrotolerans* の発育速度に差はなかったが、2.0% NaCl含有培地では明らかに *P. phosphoreum* の発育速度が優れており、中毒量のHm蓄積に要する時間も短かった。しかし、どちらの塩分濃度においても培養後期の生菌数は *M. psychrotolerans* のほうが約1 log CFU/mL 高く、Hmの蓄積量も *M. psychrotolerans* が勝っていた²⁹⁾。

Photobacterium 属は海洋細菌であるため、魚体から頻繁に分離される。Toridoらは、50%人工海水で調製した histidine broth と東京近郊に流通した魚肉から乳剤を調製し、Hm生成菌の分離を試みた⁴⁹⁾。15と30℃で乳剤を培養したところ、143試料のうち15℃では82試料(57.3%)、30℃では69試料(48.3%)でHmの蓄積が認められた。各温度で培養したHm蓄積乳剤より、15℃では *P. aquimaris* 70株、*P. kishitanii* 17株、*P. phosphoreum* 16株が分離され、30℃では *P. damsela* subsp. *damsela* 41株が分離された。なお、30℃における *M. morganii* の分離菌株は23株であった⁴⁹⁾。メキシコ湾の魚では、235試料のうち49%から *P. damsela* subsp. *damsela*、14%から *M. morganii*、4%から *E. aerogenes* が検出されている³⁾。また、筆者らは、函館市や札幌市近郊で購入した水産物183試料を用いてMPN-PCR法により *M. psychrotolerans* の分布を調べたが、78試料(42.6%)で *M. psychrotolerans* を検出している²⁹⁾。すなわち、*Photobacterium* 属および腸内細菌科のグラム陰性Hm生成菌が魚肉を広く汚染していることは明らかである。*Photobacterium* 属のHm生成菌は腸内細菌科のHm生成菌に比べて魚肉の汚染頻度が高いと考えられるが、実際に食中毒に関与した食品からは *M. morganii* や *R. planticola*、*E. aerogenes* などの腸内細菌科のHm生成菌が分離されることが多い。これは、微生物検査に汎用されるNaClを含まない標準寒天培地で35℃培養する条件が好塩性かつ低温性のものが存在する *Photobacterium* 属の培養

に不適当であることが理由の一つとして考えられる。事実、福田らは標準寒天培地で35℃培養と普通寒天培地で20℃培養の条件で同時に水産食品の生菌数を測定し、普通寒天培地(20℃)の培養が標準寒天培地(35℃)の条件よりも多くのコロニーを検出する場合があることを認めている²²⁾。すなわち、衛生管理においては使用する試料と対象とする細菌を考慮した培養条件の設定が重要である。

原料だけでなく、魚肉を汚染するHm生成菌が加工工場内のラインを汚染する可能性も考慮されなければならない。Kimらは、サバやイワシを処理中の加工工場におけるベルトコンベアなどから *M. morganii* を検出した。一方、稼働前の工場では *M. morganii* はベルトコンベアから検出されなかったとしている³⁰⁾。このように、Hm生成菌に汚染された魚体が付着する部分を元に交差汚染が起こる可能性があり、工場の衛生管理はHm食中毒の防止にとって極めて重要な要素である。しかし、魚体がHm生成菌に広く汚染されていることを考えると完全な汚染防止は困難であろう。

2) グラム陽性ヒスタミン生成菌

グラム陽性Hm生成菌は *Tetragenococcus halophilus* や *T. muritaticus*、*Lactobacillus otakiensis*、*L. buchneri*、*L. hilgardii*、*Oenococcus oeni* などの乳酸菌のほか、*Staphylococcus epidermidis* などのグラム陽性球菌が知られている。グラム陽性Hm生成菌の発育特性、分離源をTable 2に示した。グラム陽性Hm生成菌は、グラム陰性Hm生成菌と異なり主に発酵食品で問題となる。特に、ワインやチーズなどの典型的な発酵食品では、長い発酵過程で原料に含まれるヒスチジンが *Lactobacillus* や *Oenococcus* によりHmに変換される。水産物で重要なグラム陽性Hm生成菌は *T. halophilus* と *T. muritaticus* である。これらの菌は好塩性細菌と呼ばれ、極めて高い耐塩性を有し、20%を超える塩分存在下で発育可能な株も存在する。そのため、発酵細菌の一つとして味噌や醤油の発酵にも関与する³⁷⁾。 *Tetragenococcus* は魚肉を高い塩濃度で発酵させる魚醤油においても風味の醸成に重要な細菌である。しかし、*Tetragenococcus* には、HDCを持つ株と持たない株が存在し、HDCを持つ場合はHm生成菌として魚醤油製造において極めて厄介な存在となる。カタクチイワシを使用するタイのナンプラーや

Table 2. Summary of Gram-positive histamine-producing bacteria

Bacterial species	Growth feature	Isolation/detection	Reference
<i>Lactobacillus buchneri</i>	Mesophile	Cheese	25
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	Mesophile	Cheese	12
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Mesophile	Wine	9
<i>Oenococcus oeni</i>	Mesophile	Wine	9
<i>Tetragenococcus halophilus</i>	Halophilic, mesophile	Fish sauce	43
<i>Tetragenococcus muritaticus</i>	Halophilic, mesophile	Fermented squid liver sauce	42
<i>Staphylococcus capitis</i>	Halotolerant	Cured hum	11
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Halotolerant	Fish-miso	54

Fig. 2. Representation of histidine decarboxylase cluster of Gram-negative (A) and Gram-positive (B) histamine-producing bacteria.

Color of arrows represents function of genes as follow: white, histidine/histamine antiporter; black, histidine decarboxylase; gray, histidyl-tRNA synthetase; hatched, a cleavage factor of immature HdcA.

ベトナムのヌクナムなど魚醤油は東南アジアをはじめとした世界各地で製造されており、*Tetragenococcus* による Hm の蓄積は大きな問題となっている。日本にも伝統的な魚醤油が複数存在し、また近年では日本各地でさまざまな原料を使用した魚醤油が生産されている。遊離ヒスチジン含量の高い赤身魚を原料とする場合も多く、Hm 生成 *Tetragenococcus* による Hm 蓄積が懸念され、その防止策が必要とされている。

4. ヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC)

HDC は Hm 生成菌が産生し、食品への Hm 蓄積に関与する酵素である。グラム陰性菌由来のものとグラム陽性菌由来のものの2種類に分けられ、前者がピリドキサル五リン酸 (PLP) 依存型 HDC であり後者がビルボイル型 HDC である⁴⁵⁾。

1) HDC 遺伝子

HDC をコードする遺伝子は HDC クラスターを構成して存在している。グラム陰性菌とグラム陽性菌の HDC クラスターを Fig. 2 に示した。例えば、*M. morganii* DSM30164^T の HDC クラスターは四つの ORF により構成されており、*hdcT1*, *hdc*, *hdcT2*, *hisRS* の順に存在する¹⁹⁾。*hdcT1/T2* は histidine/histamine antiporter, *hdc* は histidine decarboxylase (HDC), *hisRS* は histidyl-tRNA synthetase をコードすると考えられている。*P. damsela* subsp. *damsela* の場合は *hdcT*, *hdcA*, *hisRS* の三つの ORF で構成されており³¹⁾、*M. morganii* DSM30164^T の HDC クラスターに認められた *hdcT2* に相当する遺伝子が存在しない。これらの遺伝子群から、Hm 生成菌は histidine/histamine antiporter によって細胞外よりヒスチジンを取り込み、HDC によりヒスチジ

ンから Hm を産生後、再び antiporter により細胞外へと Hm を分泌していると推定される。グラム陽性菌の HDC クラスターもグラム陰性菌と同様に histidine/histamine antiporter や HDC, histidyl-tRNA synthetase により構成されるが、多くのグラム陽性菌では HDC と histidyl-tRNA synthetase の間に *hdcB* という遺伝子が存在する。この遺伝子は *hdcA* より作られるビルボイル型 HDC の成熟に関与するタンパク質と考えられている⁵⁰⁾。

HDC 遺伝子の発現は、pH や細胞外ヒスチジンの存在により大きく変化する。*M. morganii* では、pH7.0 の LB 培地での *hdc* 発現量を 1 としたとき、pH4.5 の LB 培地では発現量が約 100 倍となり、さらにヒスチジンを添加した際には発現量が約 540 倍になることが報告されている¹⁹⁾。*P. damsela* subsp. *damsela* においても同様の傾向が確認されており、低 pH とヒスチジンの存在により HDC 遺伝子の発現が著しく上昇した³¹⁾。これは Hm 生成菌の環境適応戦略の一つであり、酸性環境においてアミンである Hm を自身の周囲に分泌することにより周囲の酸性度を緩和する意味があると考えられている。

2) HDC 活性

通常、食品での Hm の蓄積は生きた菌体により行われる。しかし、HDC は酵素であるので、Hm 生成菌が殺菌された場合でも酵素自体が活性を保持していれば生菌体がなくても酵素単独でヒスチジンを Hm に変換してしまう。Kanki らは、*P. phosphoreum*, *P. damsela*, *R. planticola*, *M. morganii* の HDC を用いて、HDC 活性に及ぼす温度、pH、塩分濃度の影響について調べた²⁸⁾。低温性 Hm 生成菌である *P. phosphoreum* の HDC は 30℃ で HDC の活性が最大となり、そのほかの Hm 生成菌の HDC は 40℃ で活性が最大となった。至適 pH はいずれの HDC も 6.0~7.0 に分布したが、*P. damsela*, *R. planticola*, *M. morganii* の HDC は *P. phosphoreum* の HDC よりも酸性域での相対活性が高かった。また、NaCl の影響は、いずれの菌種の HDC も 0% が最大の活性を示したが、*P. phosphoreum* 以外の HDC は 5% NaCl 環境下でも 70~90% の相対活性を保持していた²⁸⁾。また、Kanki らは同時にマグロとサンマの干物を用いて各菌種の HDC による Hm 産生量を調べ、4~30℃ で各菌株の HDC によって 500 ppm 以上の Hm が蓄積することを明らかにしている²⁸⁾。さらに、HDC を接種した魚肉を -20℃ で数週間凍結した場合でも 40~70% 程度の HDC 活性が保持されたままであった。すなわち、魚肉の凍結保存によって Hm 生成菌が死滅したとしても HDC はその活性を維持し、食中毒の発生に十分な Hm を生成する危険があるということである。実験に供された HDC のうち、最も危険と考えられたのが *P. damsela* の HDC であった。*P. damsela* は最も頻繁に水産物から分離される Hm 生成菌の一種である^{3,49)}。したがって、多量の HDC が菌体内で産生された後に Hm 生成菌を殺滅したとしても、死菌

から漏れ出た活性を有するHDCによりHmが多量に生成される可能性があるということである。そのため、多量のHDCが産生されることのないようフードチェーン全体でHm生成菌の発育を抑制することが重要である。

3) 耐熱性

Hm生成菌の耐熱性¹⁸⁾と同様に、一部のグラム陰性Hm生成菌のHDCについては耐熱性が報告されている。Bjornsdottir-Butlerらはグラム陰性中温性Hm生成菌である*M. morganii*, *E. aerogenes*, *R. planticola*および*P. damsela*のHDCを用いて50~60℃でのD値とZ値を調べた⁶⁾。最も耐熱性の高いHDCは*E. aerogenes*のもので $D_{50}=6.3$ 分、 $D_{60}=1.6$ 分であった。最も耐熱性の低いHDCは*P. damsela*のもので $D_{50}=2.9$ 分、 $D_{54}=1.6$ 分であった。また、*M. morganii*と*R. planticola*は中間に位置し、両者の耐熱性はほぼ同等であった。*M. morganii*, *E. aerogenes*, *R. planticola*および*P. damsela*のZ値はそれぞれ19.2, 18.0, 22.0, 13.3となった。前述のように、HDCは凍結解凍後も活性を維持する場合があるが、加熱による不活化は比較的容易と考えられる。

5. ヒスタミン食中毒の制御

Hm食中毒は日本の食中毒統計では化学性食中毒として分類されているが、実際には微生物の発育を必要とする食中毒であることから、制御に当たっては基本的な細菌性食中毒の防止方法に従えば予防することは可能である。しかし、化学物質としてのHmは加熱や凍結に安定なため、一度、食品中でHmが形成されてしまうと、加熱による殺菌を実施したとしても食中毒の危険性は残る。したがって、水産物の場合、漁場から食卓までの徹底した鮮度管理、すなわち低温管理がHm食中毒の制御に最も有効である。しかし近年は、水産物の加工原料が海外から輸入される場合も多く、水揚げから私たちの食卓に並ぶまでの期間や加工工程はとても複雑になっている。マグロなどの大型魚類の冷却では中心部までの冷却時間が小型魚類よりも長くなるほか、船上での水揚げから解体・流通の過程で複数の業者を経由する場合もある。そのため、流過程の各段階で温度履歴のチェックやHm濃度の検査を行うことが望ましい。微生物検査により腐敗の程度を判断する方法もあるが、Hm生成菌の一部が凍結に弱いこと、HDCが凍結解凍後も活性を維持することを考慮すると生菌数のみに頼った鮮度判定は推奨できない。

現在、わが国では水産物のHm濃度についての基準は特になく、しかし、海外では水産物のHm濃度基準が厳格に定められている。例えば、米国FDAはマグロやシイラに対し、50 ppmを腐敗基準、500 ppmを健康に有害なレベルと設定している⁵²⁾。また、Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance—Fourth Editionでは、あるサンプルのHm濃度が50 ppm以上となったとき、ほかのサンプルではHm濃度が500 ppmを

超える可能性があるとして述べている⁵³⁾。これは、Hm生成菌は魚肉に対して一様に分布するとは限らず、同じ魚体やロット内でもHm濃度の分布に差が生じる場合があるためである。そのため、サンプリングの方法も検査の重要な要素の1つと考えられている。また、魚醬のHm濃度基準についてはCODEXで400 ppmを設定している⁸⁾。そのほかにも欧州やカナダ、オーストラリア・ニュージーランドなどでもHm濃度基準が定められているが、本稿では省略する。これについては優れた文献^{44,45)}が存在するので参照されたい。

食中毒を防ぐポイントは原因菌を「つけない」、「増やさない」、「殺す」であるが、Hm食中毒に関しては「増やさない」が最も重要である。これは先に述べたとおり、Hm生成菌は自然に魚肉を汚染しており、菌が死んでもHDCは単独でHmを生成するためである。したがって、現状最も有効な手法は低温管理の徹底である。*P. phosphoreum*, *P. kishitanii*, *M. psychrotolerans*などのHm生成菌は4℃の低温貯蔵においてもHmを生成するが、中温域に比べてHm蓄積の速度を低下させることは可能である。また、適切な低温域においてはこれらの菌によりHmが産生されずとも、食中毒を発症するHm濃度に達するまでには数日間を必要とする^{29,48)}。ただし、海洋性の低温性Hm生成菌は生菌数が $10^8 \sim 10^9$ CFU/gに達した場合でも腐敗臭を発しない場合があるため注意が必要である²⁰⁾。

魚肉におけるHm蓄積を防ぐためのさまざまな研究が存在する。PhuvasateとSuは、*E. aerogenes*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*および*P. hauseri*に対するセラミックタイル、ステンレススチール、サーモン、マグロの表面（または表皮）における電解水の殺菌効果を示した³⁹⁾。また、電解水で水を調製し保存に用いると、24時間後のマグロ表皮上の*E. aerogenes*と*M. morganii*の生菌数がそれぞれ2.4, 3.5 log CFU/cm²減少したと報告している³⁹⁾。このようなHm生成菌を減少させる手法と低温管理の併用は、ヒスタミンの蓄積リスクを大幅に減少させる方法として有効と考えられる。また、HDCの発現が酸性環境下で誘導されることに着目した研究も存在する⁴⁾。これは、リン酸三ナトリウムにより魚肉のpHをアルカリ側に上げることでHm生成菌のHDC産生を抑制するものである。7%リン酸三ナトリウムとともに真空包装したマグロとシイラを10℃で4日間保存した結果、コントロールに比べて有意にHm濃度が低下した。一方、生菌数はリン酸三ナトリウム処理により変化はなかった。このように、魚肉のpHはHm蓄積に重要な要素であり、pHコントロールによってHm蓄積量の低減が可能となる場合もある。

魚醬油におけるHm制御法については複数の報告がある。第一に発酵スターターの利用である。里見は、HDC遺伝子を保有しない*T. halophilus* NBRC12172を発酵スターターとすることによって魚醬油モロミ中のHm生成

*T. halophilus*の発育とHm蓄積が阻害されることを見だし、有用な発酵スターターによる魚醤油モロミのpH低下の促進とスターター株が優占種となることによるHm生成株の発育阻害が大きな理由と考察した⁴⁴⁾。またこの時の発酵スターター株とHm生成株の存在比率は1,000倍以上が好ましいとされており、魚醤油モロミ中の初発Hm生成菌数を減少させる必要性も指摘している。これに関し、魚醤油モロミにスクロースを添加する手法⁴⁷⁾と初発Hm生成菌数を減少させるための衛生管理により魚醤油発酵中のHm蓄積を阻害できた事例が存在する⁴⁴⁾。そのほか、ペントナイトにより魚醤油中のHmを除去する方法⁴⁶⁾や、Hm分解菌による手法^{57,58)}も報告されている。

Hm食中毒を予防するためには、魚肉におけるHm生成菌の発育特性について知ることが重要である。しかし、さまざまな種類のHm生成菌が水産物の各保存条件でどのように発育するかを実際に確かめるには膨大な時間を必要とする。そのようなときには予測微生物学の手法を用いることは有効であり、保存条件や加工処理条件の設定までの時間が短縮される。デンマーク工科大学のDalgaard博士らが中心となって開発したFSSP (Food Spoilage and Safety Predictor, <http://fssp.food.dtu.dk>) システムは、彼らの報告^{16,17)}を基に作成した予測モデルを利用して*M. morgani*や*M. psychrotolerans*の発育とHm生成を模擬的に推定することを可能としている。このソフトウェアでは、温度やCO₂濃度、塩分濃度、pHを変更したときの魚肉におけるこれらHm生成菌の発育とHm生成量の予測が可能である。しかし、最終的には自ら実製品におけるHm生成菌の発育とHm蓄積量を調べることが重要であることは言うまでもない。そのほかの予測微生物データベースには有名なComBase (<https://www.combase.cc/>) などがあるが、筆者の知る限りHm制御に直接的に利用できる有用なデータはいまだなく、今後、そのデータベースの構築が期待されるところである。

6. ま と め

Hm食中毒は化学性食中毒に分類されるが、その制御は一般的な細菌性食中毒の予防法と同様の考え方を適用しなければならない。Hm生成菌は多数存在し、なかには4℃の低温下で発育しHmを生成するものも存在する。また、HDCは凍結解凍後にも活性を保持するため、酵素単独でもHmが生成してしまう。さらに、Hmは通常の調理加工工程では除去が困難である。そのため、フードチェーン全体でHm生成菌を発育させないための低温管理の徹底が重要であり、加工用の原料であっても生鮮品と同等の鮮度管理を行うことが望ましい。加工食品を原因食品としたHm食中毒は大規模化しやすい。したがって、水産物に携わる者たちがHm食中毒の特徴や原因となる細菌、注意すべき点をよく知ることが本食中毒

の予防につながるものと考えられる。

文 献

- 1) 栗津 薫, 高取 聡, 柿本幸子, 野村千枝, 昌山 敦, 山口瑞香, 柿本 葉, 梶村計志: 大阪府におけるヒスタミン検査事例について. 食衛誌, **58**, 43-48 (2017).
- 2) Bermejo, A., Mondaca, M. A., Roeckel, M., Marti, M. C.: Growth and characterization of the histamine-forming bacteria of jack mackerel (*Trachurus symmetricus*). J. Food Process. Pres., **26**, 401-414 (2003).
- 3) Bjornsdottir-Butler, K., Bowers, J. C., Benner, R. A. Jr.: Prevalence and characterization of high histamine-producing bacteria in gulf of Mexico fish species. J. Food Prot., **78**, 1335-1342 (2015).
- 4) Bjornsdottir-Butler, K., Green, D. P., Bolton, G. E., McClellan-Green, P. D.: Control of histamine-producing bacteria and histamine formation in fish muscle by trisodium phosphate. J. Food Sci., **80**, 1253-1258 (2015).
- 5) Bjornsdottir-Butler, K., McCarthy, S. A., Dunlap, P. V., Benner, R. A. Jr.: *Photobacterium angustum* and *Photobacterium kishitanii*, psychrotrophic high-level histamine-producing bacteria indigenous to tuna. Appl. Environ. Microbiol., **82**, 2167-2176 (2016).
- 6) Bjornsdottir-Butler, K., Bencsath, F. A., McCarthy, S., Benner, R. A. Jr.: Heat resistance of histidine decarboxylase from gram-negative histamine-producing bacteria in seafood. J. Food Prot., **80**, 1273-1279 (2017).
- 7) Bjornsdottir-Butler, K., Abraham, A., Harper, A., Dunlap, P. V., Benner, R. A. Jr.: Biogenic amine production by and phylogenetic analysis of 23 *Photobacterium* species. J. Food Prot., **81**, 1264-1274 (2018).
- 8) Codex Alimentarius Commission, CODEX STAN CXS 302-2011. Standard for fish sauce. CODEX, Rome, Italy (2011).
- 9) Coton, M., Romano, A., Spano, G., Ziegler, K., Vetrana, C., Desmarais, C., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Coton, E.: Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider. Food Microbiol., **27**, 1078-1085 (2010).
- 10) D'Aloia, A., Vizzardi, E., Pina, P. D., Bugatti, S., Magro, F. D., Raddino, R., Curnis, A., Cas, L. D.: A scombroid poisoning causing a life-threatening acute pulmonary edema and coronary syndrome in a young healthy patient. Cardiovasc. Toxicol., **11**, 280-283 (2011).
- 11) de las Rivas, B., Rodríguez, H., Carrascosa, A. V., Muñoz, R.: Molecular cloning and functional characterization of a histidine decarboxylase from *Staphylococcus capitis*. J. Appl. Microbiol., **104**, 194-203 (2008).
- 12) Diaz, M., del Rio, B., Sanchez-Llana, E., Ladero, V., Redruello, B., Fernández, M., Martín, M. C., Alvarez, M. A.: Histamine-producing *Lactobacillus parabuchneri* strains isolated from grated cheese can form biofilms on stainless steel. Food Microbiol., **59**, 85-91 (2016).
- 13) Emborg, J., Laursen, B. G., Dalgaard, P.: Significant histamine formation in tuna (*Thunnus albacares*) at 2°C — effect of vacuum- and modified atmosphere-packaging on psychrotolerant bacteria. Int. J. Food Microbiol., **101**, 263-279 (2005).

- 14) Emborg, J., Dalgaard, P.: Formation of histamine and biogenic amines in cold-smoked tuna: an investigation of psychrotolerant bacteria from samples implicated in cases of histamine fish poisoning. *J. Food Prot.*, **69**, 897–906 (2006).
- 15) Emborg, J., Dalgaard, P., Ahrens, P.: *Morganella psychrotolerans* sp. nov., a histamine-producing bacterium isolated from various seafoods. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **56**, 2473–2479 (2006).
- 16) Emborg, J., Dalgaard, P.: Modelling the effect of temperature, carbon dioxide, water activity and pH on growth and histamine formation by *Morganella psychrotolerans*. *Int. J. Food Microbiol.*, **128**, 226–233 (2008).
- 17) Emborg, J. and Dalgaard, P.: Growth, inactivation and histamine formation of *Morganella psychrotolerans* and *Morganella morganii* – development and evaluation of predictive models. *Int. J. Food Microbiol.*, **128**, 234–243 (2008).
- 18) Enache, E., Kataoka, A., Black, D. G., Weddig, L., Hayman, M., Bjornsdottir-Butler, K.: Heat resistance of histamine-producing bacteria in irradiated tuna loins. *J. Food Prot.*, **76**, 1608–1614 (2013).
- 19) Ferrario, C., Borgo, F., de las Rivas, B., Muñoz, R., Ricci, G., Fortina, M. G.: Sequencing, characterization, and gene expression analysis of the histidine decarboxylase gene cluster of *Morganella morganii*. *Curr. Microbiol.*, **68**, 404–411 (2014).
- 20) 藤井建夫: アレルギー様食中毒. 日食微誌, **23**, 61–71 (2006).
- 21) 藤井建夫: ヒスタミン・プロブレム—アレルギー様食中毒の「原因物質」について—. Sunatec e-Magazine, **90**, 090, 一般財団法人 食品分析開発センター SUNATEC, 三重県 (2013). URL: <http://www.mac.or.jp/mail/130901/01.shtml>.
- 22) 福田 翼, 古下 学, 芝恒 男: 鮮魚の35℃培養公定法による生菌数と20℃細菌培養法による生菌数の比較. 水産大学校研究報告, **60**, 183–188 (2012).
- 23) Hungerford, J. M.: Scombroid poisoning: a review. *Toxicol.*, **56**, 231–243 (2010).
- 24) 井部明広: アレルギー様食中毒. 食品安全性セミナー1 食中毒. 細貝祐太郎, 松本昌雄編, p. 215–227, 中央法規出版, 東京 (2001).
- 25) Joosten, H. M. L. J. and Northolt, M. D.: Detection, growth, and amine-producing capacity of Lactobacilli in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2356–2359 (1989).
- 26) 観 公子, 牛山博文, 新藤哲也, 斉藤和夫: イワシの蒲焼きによるヒスタミン食中毒. 東京衛研年報, **52**, 163–166 (2001).
- 27) Kanki, M., Yoda, T., Ishibashi, M., Tsukamoto, T.: *Photobacterium phosphoreum* caused a histamine fish poisoning incident. *Int. J. Food Microbiol.*, **92**, 79–87 (2004).
- 28) Kanki, M., Yoda, T., Tshkamoto, T., Baba, E.: Histidine decarboxylases and their role in accumulation of histamine in tuna and dried saury. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 1467–1473 (2007).
- 29) 加藤莉子, 王 迪, 山木将悟, 川合祐史, 山崎浩司: 低温性ヒスタミン生成菌 *Morganella psychrotolerans* の水産食品における分布とヒスタミン生成能. 日食微誌, **34**, 158–165 (2017).
- 30) Kim, S.-H., An, H., Wei, C.-I., Visessanguan, W., Benjakul, S., Morrissey, M. T., Su, Y.-C., Pitta, T. P.: Molecular detection of a histamine former, *Morganella morganii*, in albacore, mackerel, sardine, and a processing plant. *J. Food Sci.*, **68**, 453–457 (2003).
- 31) Kimura, B., Takahashi, H., Hokimoto, S., Fujii, T.: Induction of the histidine decarboxylase genes of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* (formally *P. histaminum*) at low pH. *J. Appl. Microbiol.*, **107**, 485–497 (2009).
- 32) Lee, Y.-C., Kung, H.-F., Wu, C.-H., Hsu, H.-M., Chen, H.-C., Huang, T.-C., Tsai, Y.-H.: Determination of histamine in milkfish stick implicated in food-borne poisoning. *J. Food Drug Anal.*, **24**, 63–71 (2016).
- 33) Lin, C.-H., Kung, H.-F., Huang, Y.-L., Huang, C.-Y., Su, Y.-C., Tsai, Y.-H.: Histamine production by *Raoultella ornithinolytica* in canned tuna meat at various storage temperatures. *Food Cont.*, **25**, 723–727 (2012).
- 34) 水嶋好清, 坂本裕美子, 廣地 敬, 竹下紀子, 小金澤望, 伊藤はるみ, 三觜 雄: 学校給食におけるヒスタミン食中毒事件の原因調査. 札幌市衛研年報, **37**, 52–55 (2010).
- 35) 中里光男, 小林千種, 山嶋祐希子, 立石恭也, 川合由華, 安田和男: 魚醤油中の揮発性塩基窒素及び不揮発性アミン類の分析. 東京都衛研年報, **53**, 95–100 (2002).
- 36) Nei, D.: Evaluation of non-bacterial factors contributing to histamine accumulation in fish fillets. *Food Cont.*, **35**, 142–145 (2014).
- 37) 小熊哲哉: 醤油と味噌の微生物. モダンメディア, **61**, 298–304 (2015).
- 38) 大谷典生, 浅野 直, 望月俊明, 椎野泰和, 青木光広, 石松伸一: カジキマグロの照焼きによる集団ヒスタミン中毒. 日救急医学会誌, **15**, 636–640 (2004).
- 39) Phuvasate, S., Su, Y.-C.: Effects of electrolyzed oxidizing water and ice treatments on reducing histamine-producing bacteria on fish skin and food contact surface. *Food Cont.*, **21**, 286–291 (2010).
- 40) 坂口守彦: 4.5 魚介類のエキス. 最新 水産ハンドブック. 島 一雄, 關 文威, 前田昌調, 木村伸吾, 佐伯宏樹, 桜本和美, 末永芳美, 長野 章, 森永 勤, 八木信行, 山中英明 編. p. 379–390, 講談社, 東京 (2012).
- 41) Sánchez-Guerrero, I. M., Vidal, J. B., Escudero, A. I.: Scombroid fish poisoning: a potentially life-threatening allergic-like reaction. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **100**, 433–434 (1997).
- 42) Satomi, M., Kimura, B., Mizoi, M., Sato, T., Fujii, T.: *Tetragenococcus muriaticus* sp. nov., a new moderately halophilic lactic acid bacterium isolated from fermented squid liver sauce. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **47**, 832–836 (1997).
- 43) Satomi, M., Furushita, M., Oikawa, H., Yoshikawa-Takahashi, M., Yano, Y.: Analysis of a 30 kbp plasmid encoding histidine decarboxylase gene in *Tetragenococcus halophilus* isolated from fish sauce. *Int. J. Food Microbiol.*, **126**, 202–209 (2008).
- 44) Satomi, M.: Effect of histamine-producing bacteria on fermented fishery products. *Food Sci. Tech. Res.*, **22**, 1–21 (2016).

- 45) Satomi, M.: Scombroid (histamine) poisoning associated with seafood. *Seafood Safety and Quality*. Bari, Md. L., Yamazaki, K. (eds.), p. 224–260, CRC Press, Boca Raton (2018).
- 46) 小善圭一, 森 真由美, 原田恭行, 横井健二, 里見正隆, 船津保浩: ベントナイトによる魚醤油中のヒスタミン低減. *日食科工誌*, **59**, 17–21 (2012).
- 47) Shozen, K., Satomi, M., Yano, Y., Yoshida, M., Fukui, Y., Takano, T., Funatsu, Y.: Effect of sucrose and halophilic lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophilus* on chemical characteristics and microbial proliferation during fish sauce fermentation. *J. Food Safety*, **32**, 389–398 (2012).
- 48) Torido, Y., Takahashi, H., Kuda, T., Kimura, B.: Analysis of the growth of histamine-producing bacteria and histamine accumulation in fish during storage at low temperature. *Food Cont.*, **26**, 174–177 (2012).
- 49) Torido, Y., Ohshima, C., Takahashi, H., Miya, S., Iwakawa, A., Kuda, T., Kimura, B.: Distribution of psychrophilic and mesophilic histamine-producing bacteria in retailed fish in Japan. *Food Cont.*, **46**, 338–342 (2014).
- 50) Trip, H., Mulder, N. L., Rattray, F. P., Lolkema, J. S.: HdcB, a novel enzyme catalyzing maturation of pyruvoyl-dependent histidine decarboxylase. *Mol. Microbiol.*, **79**, 861–871 (2011).
- 51) Tsai, Y.-H., Lin, C.-Y., Chien, L.-T., See, T.-M., Wie, C.-I., Hwang, D.-F.: Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. *Food Chem.*, **98**, 64–70 (2006).
- 52) U.S. Food and Drug Administration, CPG Sec. 540.525. Decomposition and histamine raw, frozen tuna and mahi-mahi; canned tuna; and related species. FDA, MD, USA (2005). URL: <https://www.fda.gov/iceci/compliancemanuals/compliancepolicyguidancemanual/ucm074506.htm>
- 53) U.S. Food and Drug Administration, Fish and fishery products hazards and controls guidance—Fourth edition. FDA, MD, USA (2011). URL: <https://www.fda.gov/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/seafood/ucm2018426.htm#Downloads>
- 54) Yokoi, K., Harada, Y., Shozen, K., Satomi, M., Taketo, A., Kodaira, K.: Characterization of the histidine decarboxylase gene of *Staphylococcus epidermidis* TYH1 coded on the staphylococcal cassette chromosome. *Gene*, **477**, 32–41 (2011).
- 55) Yongsawatdigul, J., Choi, Y. J., Udomporn, S.: Biogenic amines formation in fish sauce prepared from fresh and temperature-abused Indian anchovy (*Stolephorus indicus*). *J. Food Sci.*, **69**, 312–319 (2004).
- 56) Yoshizawa, S., Wada, M., Kita-Tsukamoto, K., Yokota, A., Kogure, K.: *Photobacterium aquimaris* sp. nov., a luminous marine bacterium isolated from seawater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **59**, 1438–1442 (2009).
- 57) Zaman, M. Z., Bakar, F. A., Selamat, J., Bakar, J.: Occurrence of biogenic amines and amines degrading bacteria in fish sauce. *Czech J. Food Sci.*, **28**, 440–449 (2010).
- 58) Zaman, M. Z., Bakar, F. A., Selamat, J., Bakar, J., Ang, S. S., Chong, C. Y.: Degradation of histamine by the halotolerant *Staphylococcus carnosus* FS19 isolate obtained from fish sauce. *Food Cont.*, **40**, 58–63 (2014).