

アニサキス汚染実態調査およびリスク低減策の
評価に関する研究
(令和元年～3年度)

国立医薬品食品衛生研究所

大西貴弘

国立感染症研究所

杉山 広

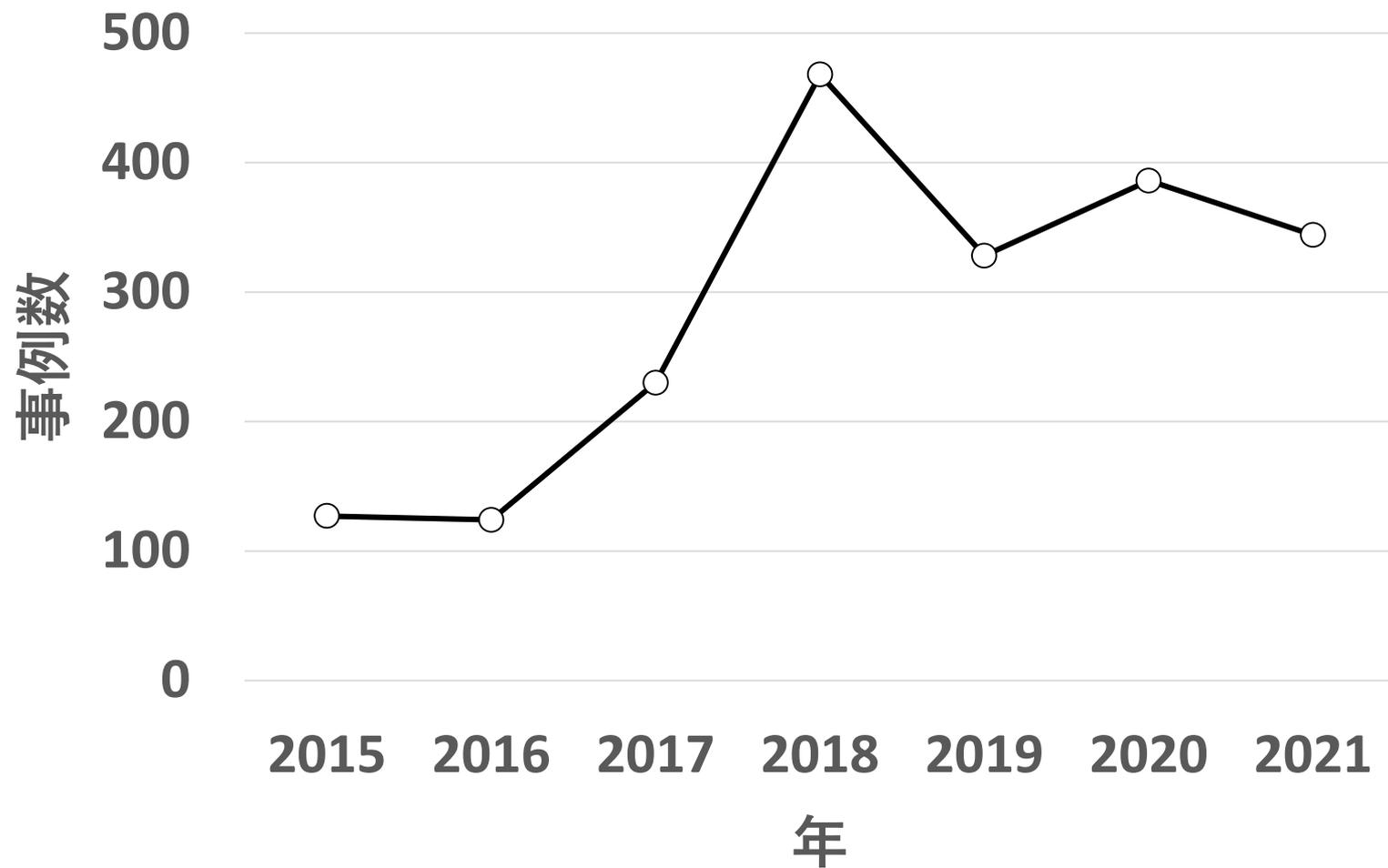
アニサキス食中毒

- *Anisakis simplex*が原因寄生虫
- サバ、アジ、イカ、イワシ
- 喫食後2～8時間で発症
- 腹部の激痛、悪心、嘔吐
- 最も事件数の多い食中毒

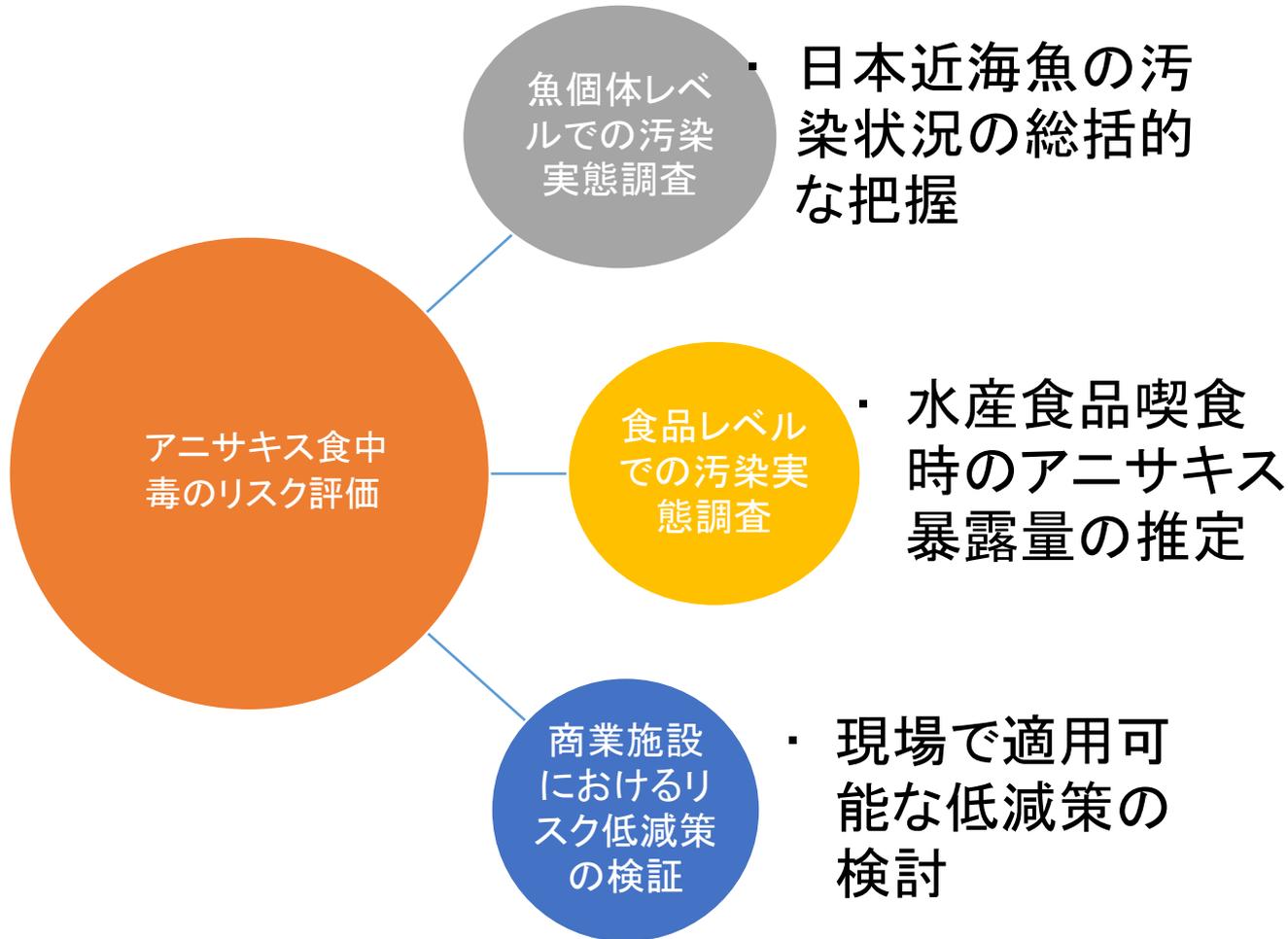


日本では年間2000～3000件発生との推計も

アニサキス食中毒 事例数の推移



研究目的



以上の結果を総合し、アニサキス食中毒リスクを検討する

個別課題

- 1) **アニサキス迅速検査法の確立**
- 2) アニサキスによる日本近海魚の汚染状況の調査
- 3) すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査
- 4) 大型商業施設で実施されるリスク低減策の科学的検証

アニサキス迅速検査法の確立

1. *Anisakis simplex* 同胞種

- *A. simplex sensu stricto*
- *A. pegreffii*
- *A. berlandi*
- Hybrid (*A.s.* × *A.p.*)

食中毒の原因として重要

形態学的な判別も難しい

同胞種は遺伝学的に近縁

わずかなSNPsを検出しなければならない

2. PCR法の開発

SNPsを検出可能なPCR法を応用

供試検体	迅速検査法の結果				
	<i>A. simplex</i>	<i>A. pegreffii</i>	<i>A. berlandi</i>	Hybrid	Negative
<i>A. simplex</i>	66	0	0	0	0
<i>A. pegreffii</i>	0	64	0	0	0
<i>A. berlandi</i>	0	0	3	0	0
Hybrid	0	0	0	14	0
<i>A. typica</i>	0	0	0	0	13
<i>A. physeteris</i>	0	0	0	0	28
<i>Pseudoterranova azarasi</i>	0	0	0	0	14

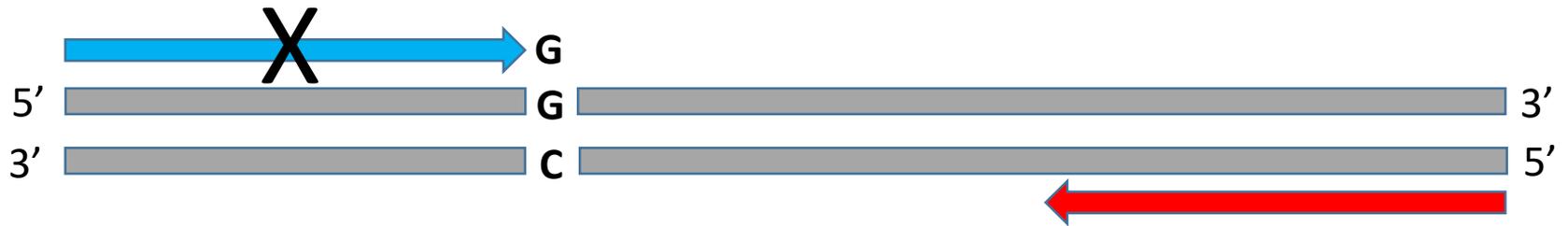
同胞種特異的な同定法の確立

これまで2日間を要していた同定

を2時間に短縮

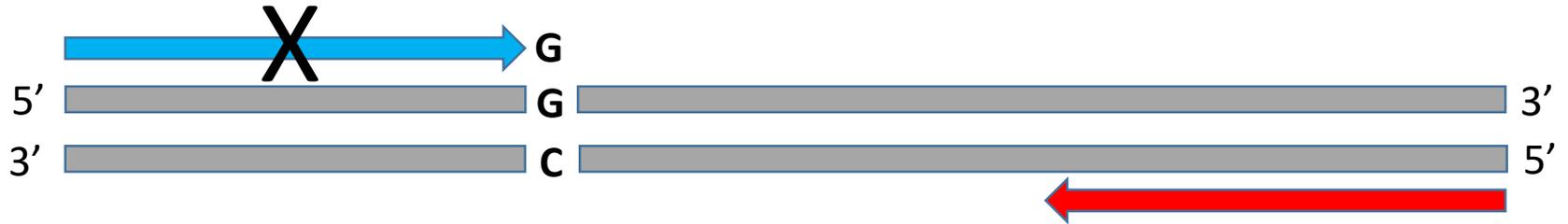
Arms法の原理

プライマーの真ん中にミスマッチがあってもPCR反応は進んでしまう

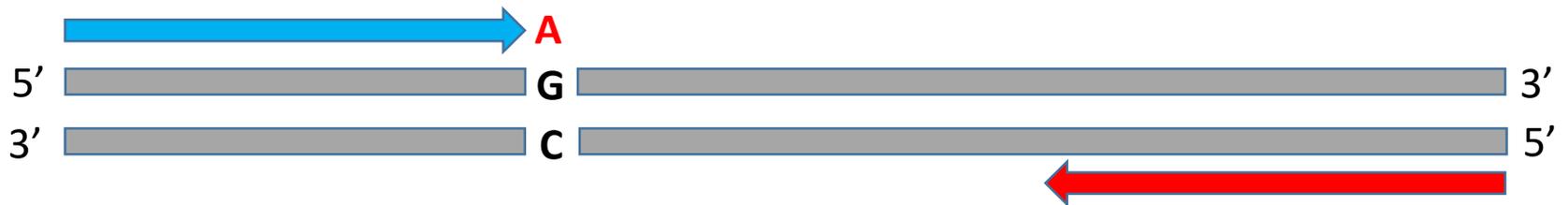


Arms法の原理

プライマーの真ん中にミスマッチがあってもPCR反応は進んでしまう

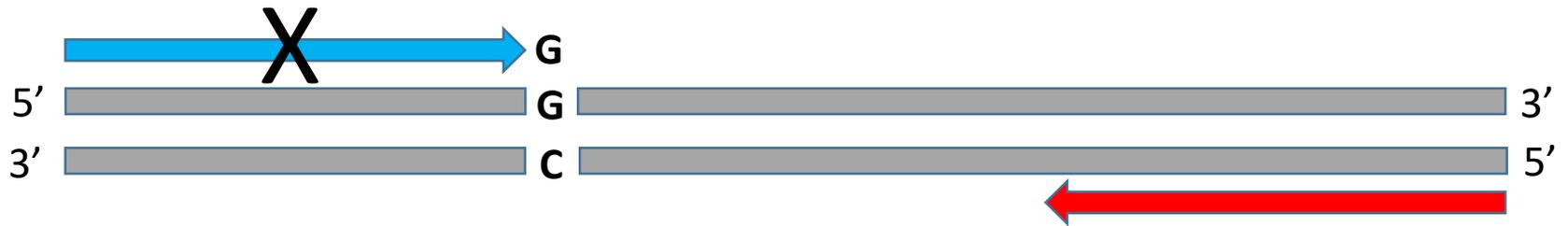


3' 末端にミスマッチがあるとPCR反応が阻害される

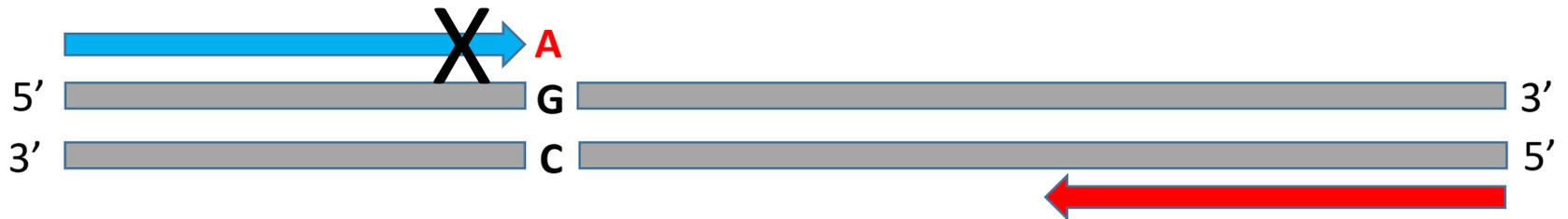


Arms法の原理

プライマーの真ん中にミスマッチがあってもPCR反応は進んでしまう



3' 末端にミスマッチがあるとPCR反応が阻害される



3'末端から3塩基5'側に人為的にミスマッチを作るとさらに阻害される

アニサキス迅速検査法の確立

360

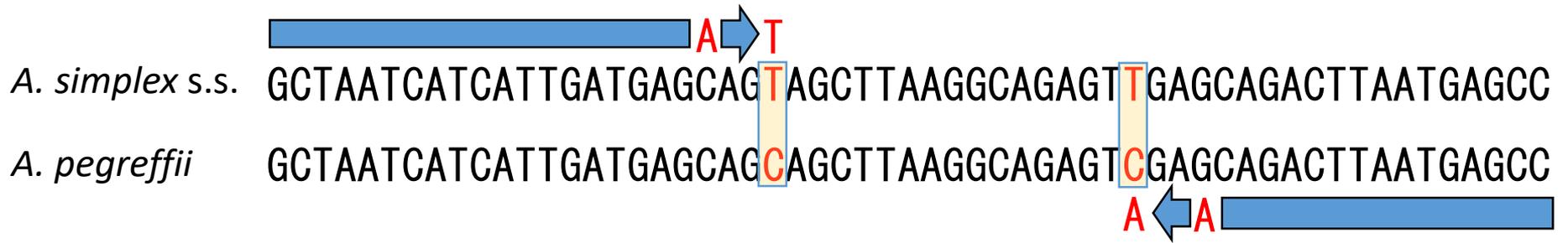
A. simplex s.s. GCTAATCATCATTGATGAGCAGTAGCTTAAGGCAGAGTTGAGCAGACTTAATGAGCC

A. pegreffii GCTAATCATCATTGATGAGCAGCAGCTTAAGGCAGAGTCGAGCAGACTTAATGAGCC

360

rDNAのITS領域

アニサキス迅速検査法の確立

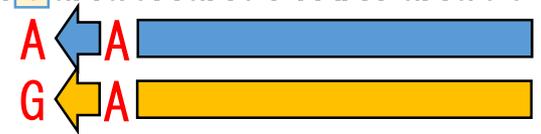


アニサキス迅速検査法の確立



A. simplex s.s. GCTAATCATCATTGATGAGCAGTAGCTTAAGGCAGAGTTGAGCAGACTTAATGAGCC

A. pegreffii GCTAATCATCATTGATGAGCAGCAGCTTAAGGCAGAGTCGAGCAGACTTAATGAGCC



アニサキス迅速検査法の確立

1. *Anisakis simplex* 同胞種

- *A. simplex sensu stricto*
- *A. pegreffii*
- *A. berlandi*
- Hybrid (*A.s.* × *A.p.*)

食中毒の原因として重要

形態学的な判別も難しい

同胞種は遺伝学的に近縁

わずかなSNPsを検出しなければならない

2. PCR法の開発 ⇒ SNPsを検出可能なPCR法を応用

供試検体	迅速検査法の結果				
	<i>A. simplex</i>	<i>A. pegreffii</i>	<i>A. berlandi</i>	Hybrid	Negative
<i>A. simplex</i>	66	0	0	0	0
<i>A. pegreffii</i>	0	64	0	0	0
<i>A. berlandi</i>	0	0	3	0	0
Hybrid	0	0	0	14	0
<i>A. typica</i>	0	0	0	0	13
<i>A. physeteris</i>	0	0	0	0	28
<i>Pseudoterranova azarasi</i>	0	0	0	0	14

同胞種特異的な同定法の確立
これまで2日間を要していた同定
を2時間に短縮

個別課題

- 1) アニサキス迅速検査法の確立
- 2) アニサキスによる日本近海魚の汚染状況の調査**
- 3) すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査
- 4) 大型商業施設で実施されるリスク低減策の科学的検証

アニサキス検査法

ガラス板で切り身を挟み透過光で観察



ガラス板を外し、ピンセットで身をほぐしながら観察



ブラックライト下で観察



検出した虫体は一匹ずつDNA抽出する



アニサキス検査法

ガラス板で切り身を挟み透過光で観察



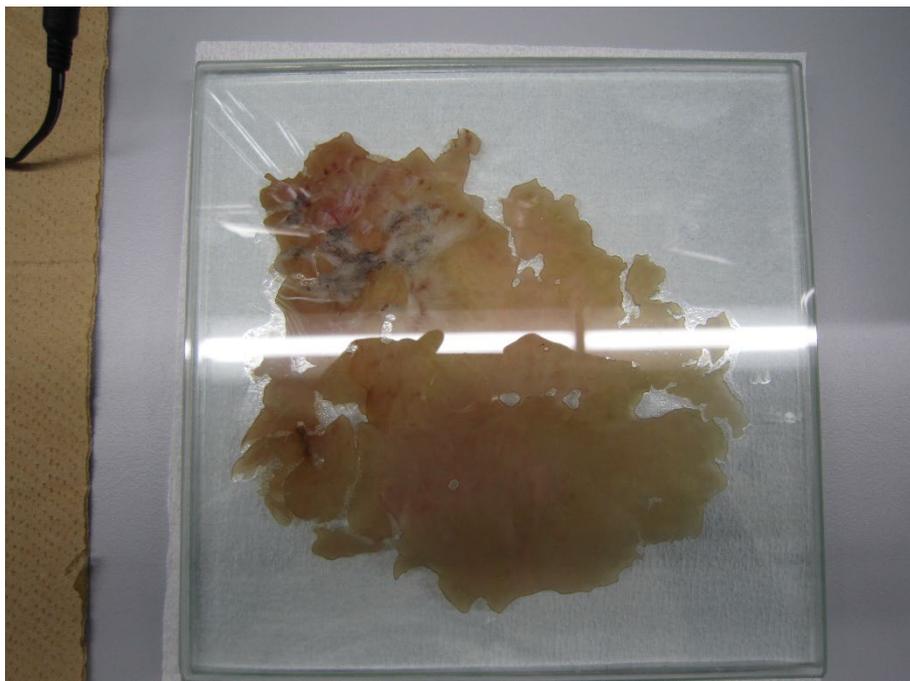
ガラス板を外し、ピンセットで身をほぐしながら観察



ブラックライト下で観察



検出した虫体は一匹ずつDNA抽出する



アニサキス検査法

ガラス板で切り身を挟み透過光で観察



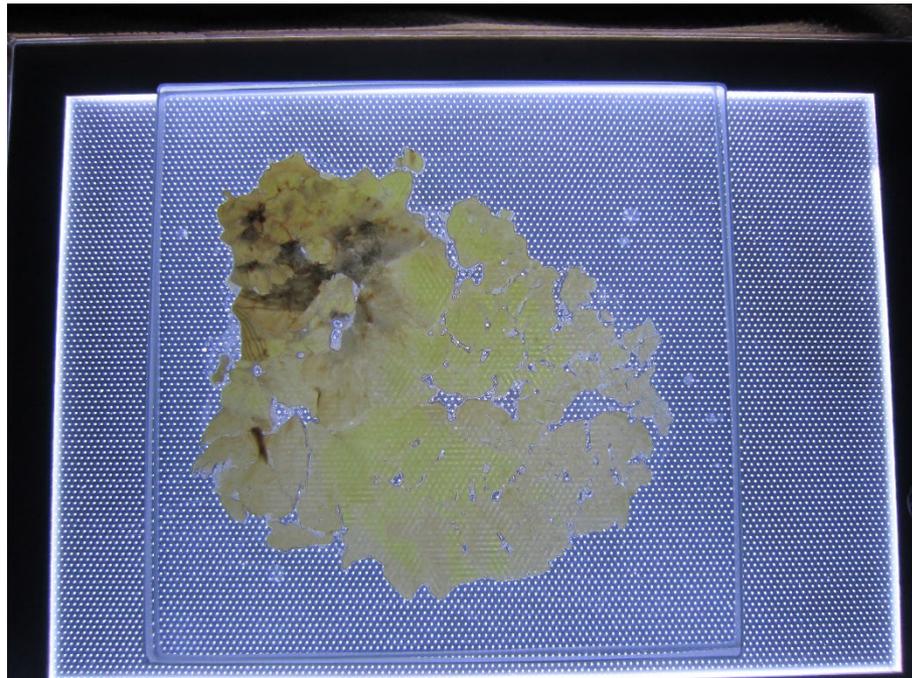
ガラス板を外し、ピンセットで身をほぐしながら観察



ブラックライト下で観察



検出した虫体は一匹ずつDNA抽出する



アニサキス検査法

ガラス板で切り身を挟み透過光で観察



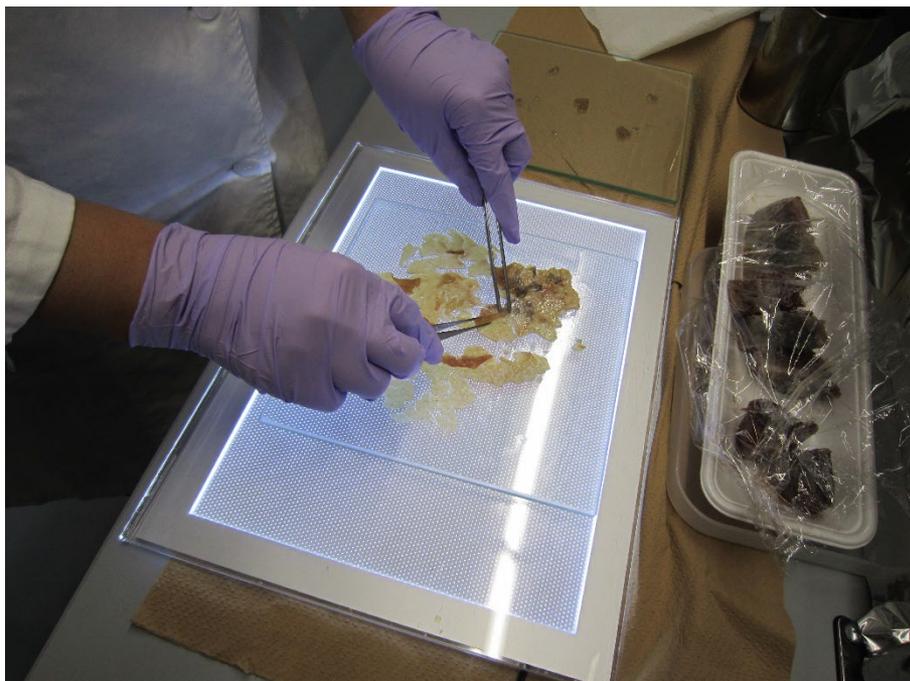
ガラス板を外し、ピンセットで身をほぐしながら観察



ブラックライト下で観察



検出した虫体は一匹ずつDNA抽出する



アニサキス検査法

ガラス板で切り身を挟み透過光で観察



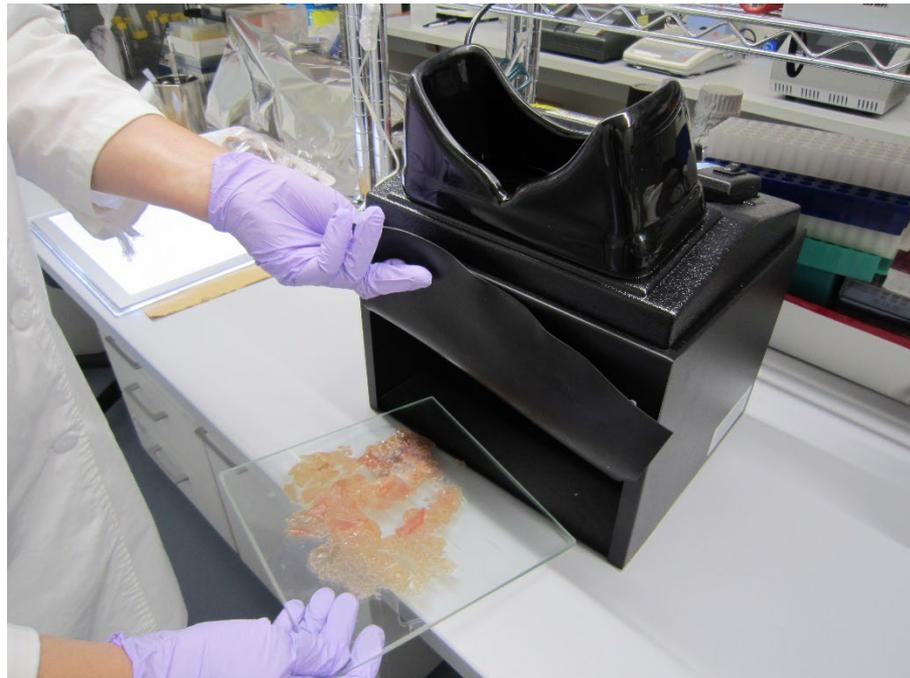
ガラス板を外し、ピンセットで身をほぐしながら観察



ブラックライト下で観察



検出した虫体は一匹ずつDNA抽出する



アニサキス検査法

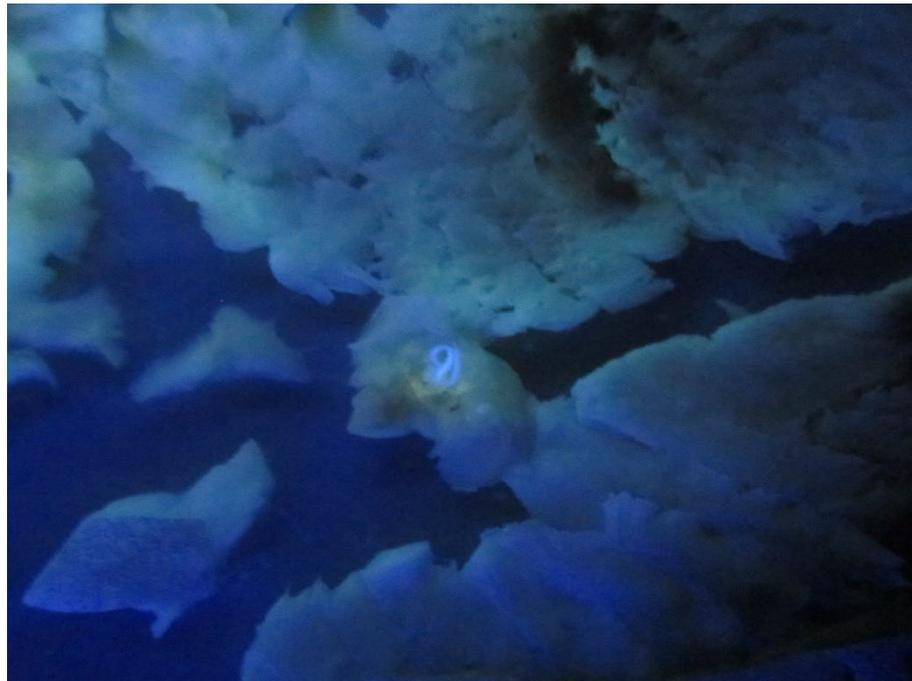


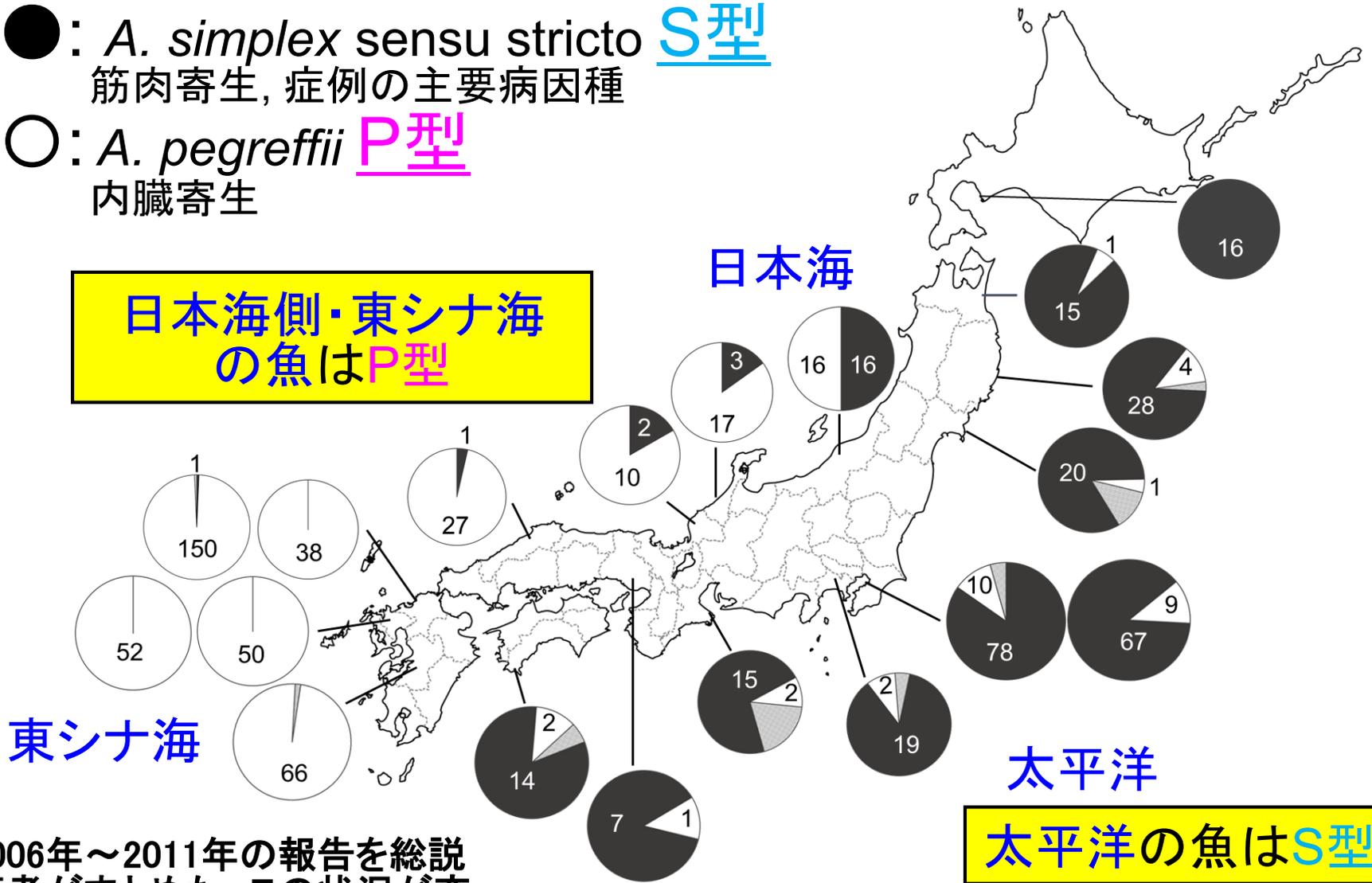
図. 日本近海産マサバにおけるアニサキスの寄生状況（本研究の背景情報）

●: *A. simplex sensu stricto* **S型**
 筋肉寄生, 症例の主要病因種

○: *A. pegreffii* **P型**
 内臓寄生

日本海側・東シナ海
 の魚はP型

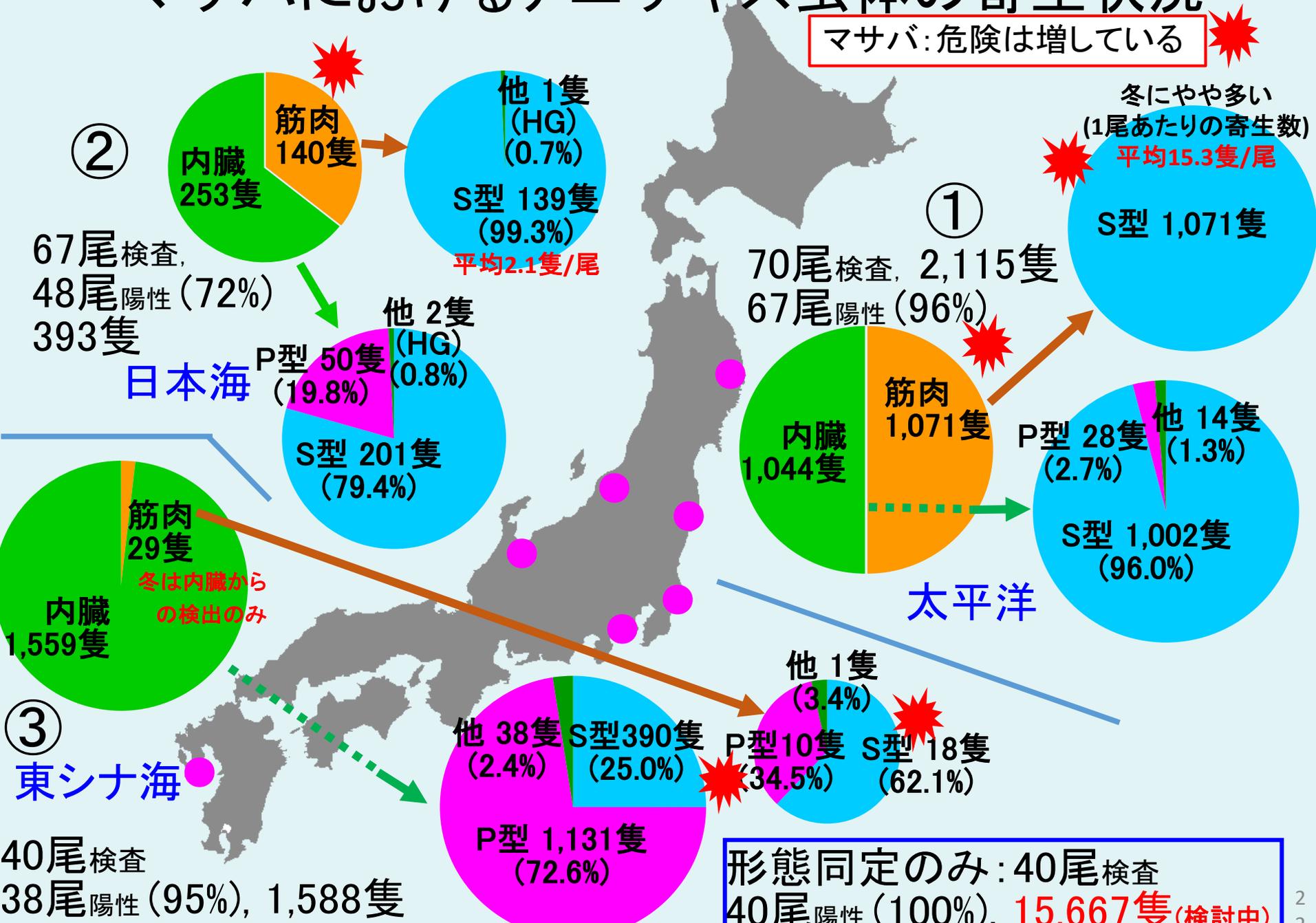
太平洋の魚はS型



2006年～2011年の報告を総説
 著者がまとめた. この状況が変
 わりつつあることの検証を目的
 に, 本調査を実施した.

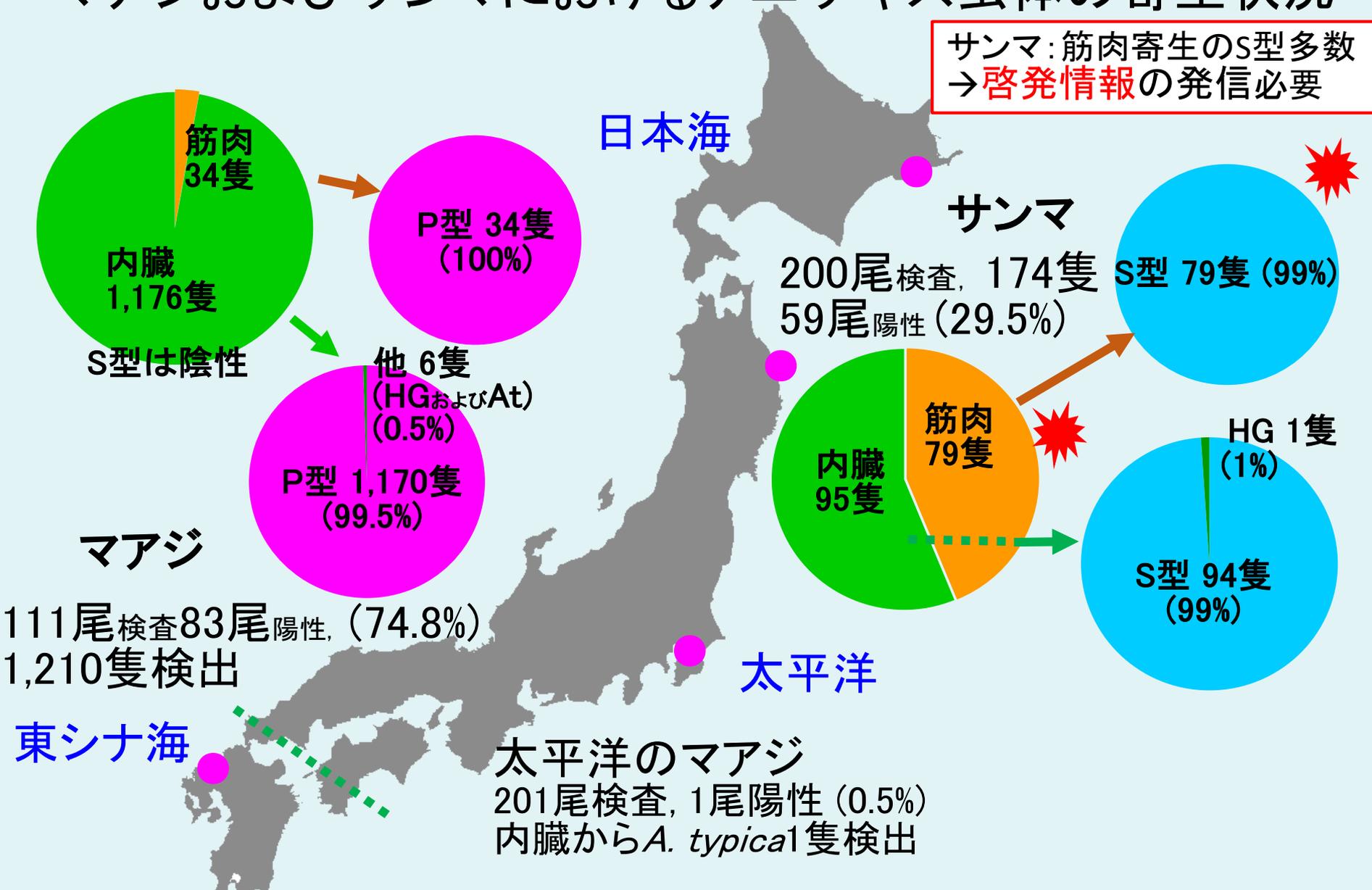
マサバにおけるアニサキス虫体の寄生状況

マサバ:危険は増している



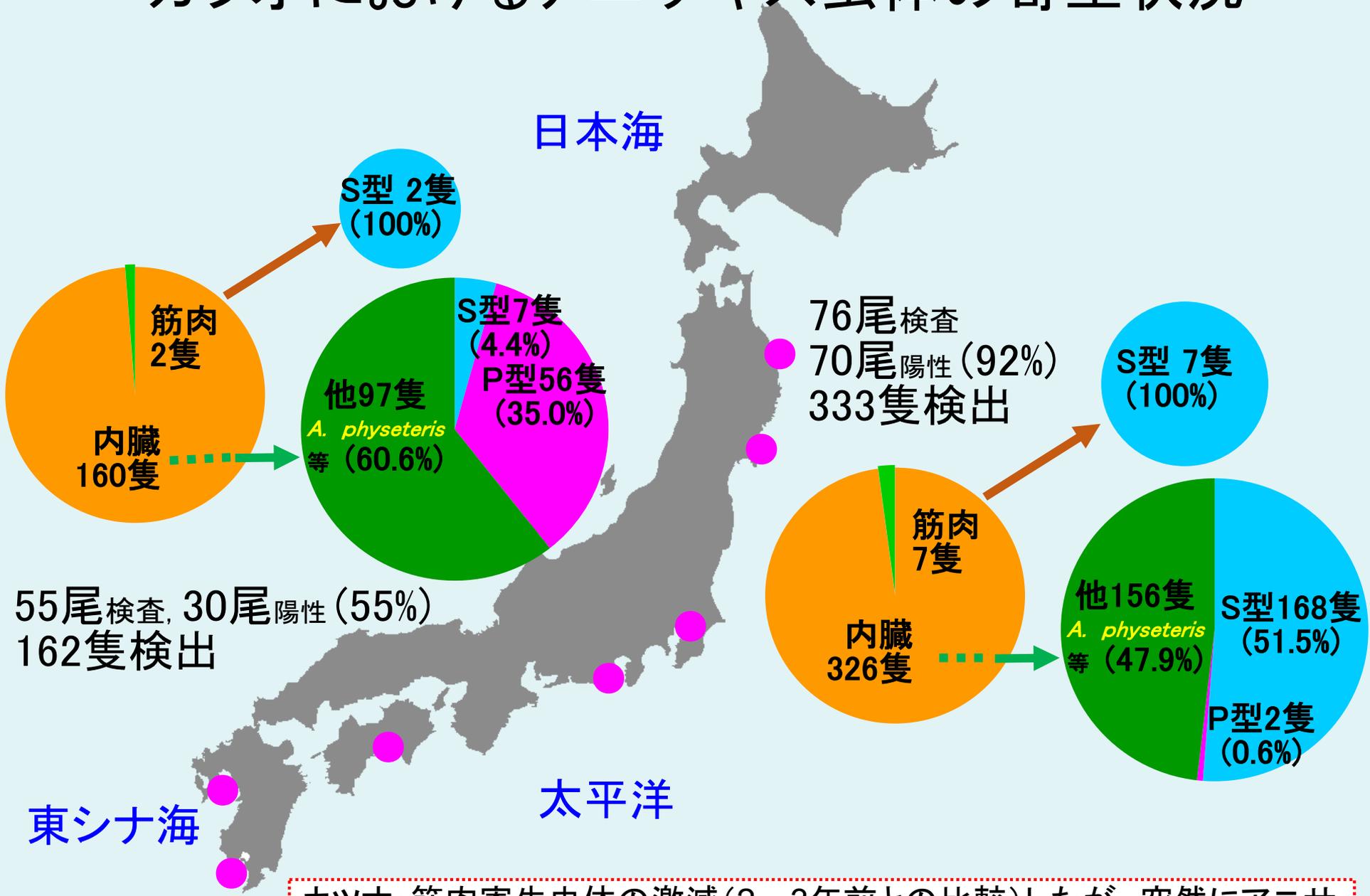
マアジおよびサンマにおけるアニサキス虫体の寄生状況

サンマ: 筋肉寄生のS型多数
→ 啓発情報の発信必要



マアジ: 筋肉寄生は少なく他種の青魚より安全な印象。一方、マアジが確実な原因の事例報告がある, Watahiki M. et al., 2021 → 継続的な警戒は必要

カツオにおけるアニサキス虫体の寄生状況



カツオ: 筋肉寄生虫体の激減(2~3年前との比較)したが、突然にアニサキス食中毒の主要病原魚種になり得ることから、継続的な調査は必要.

個別課題

- 1) アニサキス迅速検査法の確立
- 2) アニサキスによる日本近海魚の汚染状況の調査
- 3) すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査**
- 4) 大型商業施設で実施されるリスク低減策の科学的検証

鮮

加熱
調理用

自然環境下での成長段階で、寄生虫がつく場合があります。ご家庭で調理・お召し上がる際には、再度ご確認ください。



2 466084 003210

6084

(税込)

298円
321円

真さば 切身

保存方法 4℃以下
消費期限

20.12.11

目的

すぐに喫食可能なサバ加工品

- 加工品は内臓が取り除かれ、目視検査が行われている
- 加工品の製造工程は、調理施設や家庭での調理方法とほぼ同じ
- 加工品の汚染状況からアニサキス食中毒リスクを推計できる



RTEにおけるアニサキス汚染状況を調査

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

1. サバの汚染状況

	検体数	陽性検体数	陽性率	アニサキス数(生)	総アニサキス数 (生+死)	検体100gあたりの 生アニサキス数	検体100gあたりの 総アニサキス数
シメサバ	215	138	64%	3	709	0.001	3.5
刺身	33	3	9%	0	13	0.0	0.3
切り身	448	244	54%	919	3170	0.5	1.8

陽性検体のみに
着目すると

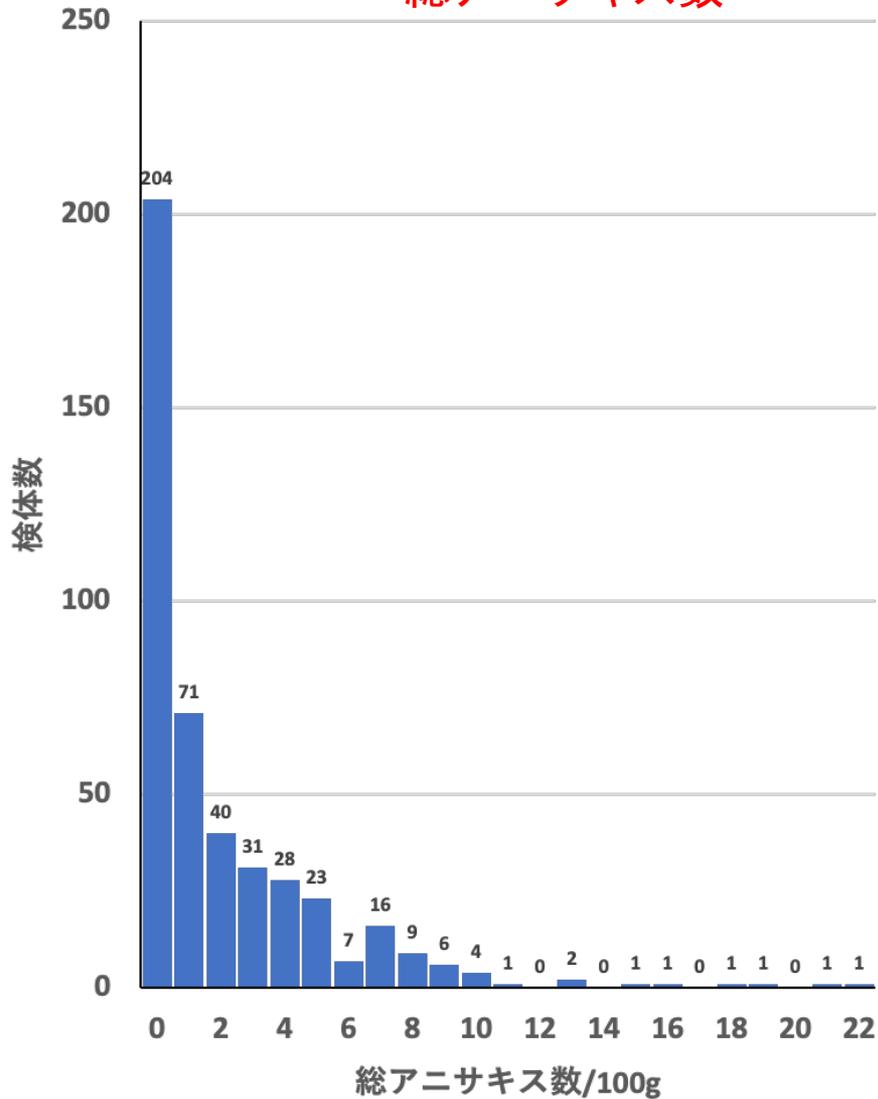


- 加工品として流通しているシメサバ、刺身は比較的安全。おそらく冷凍処理がされているのではないかと考えられた。
- 切り身からは生アニサキスが多数検出された

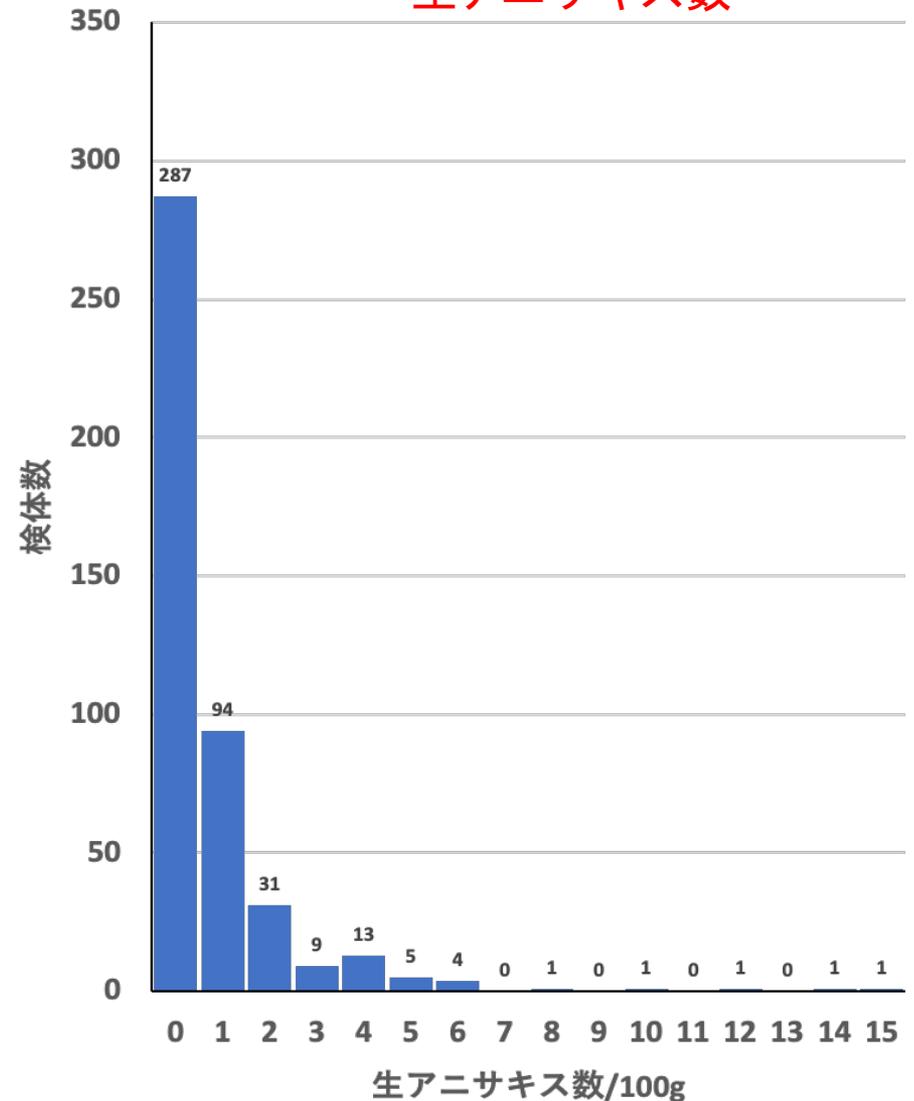
	検体100gあたりの 生アニサキス数	検体100gあたりの 総アニサキス数
シメサバ	0.02	5.6
刺身	0.0	5.2
切り身	0.9	3.1

検出されたアニサキス数の分布

総アニサキス数



生アニサキス数



すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

2.地域別のサバの汚染状況

	検体数	陽性検体数	陽性率	検体100gあたりの 総アニサキス数	陽性検体100gあたりの 総アニサキス数
切り身 (太平洋)	234	158	68%	2.3	3.1
切り身 (日本海)	130	41	32%	0.9	3.4
切り身 (北日本)	50	36	72%	2.1	2.9
切り身 (九州地方)	29	7	24%	0.3	2.7

- 日本海および九州地方のサバは陽性率、検体100gあたりのアニサキス数が他の地域より低い
- 陽性検体だけに着目すると地域間の差はなくなる

産地に関わらず冷凍、加熱調理の徹底が必要

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

マサバとゴマサバの比較



ゴマサバ

マサバ

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

マサバとゴマサバの比較

	検体数	陽性検体数	陽性率	総アニサキス数 (生+死)	アニサキス数 (生)	生アニサキス数 /100g	総アニサキス数 /100g
マサバ	391	234	60%	3105	911	0.6	2.0
ゴマサバ	57	10	18%	65	8	0.0	0.3

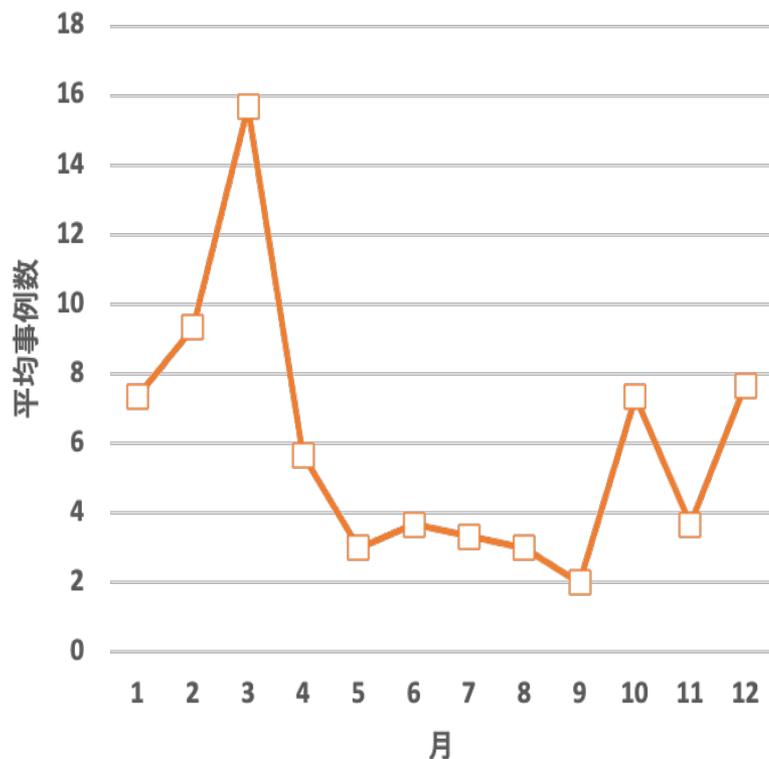
- サバとしてマサバとゴマサバが一般小売店で販売されている
- 消費者もマサバとゴマサバを区別せずに購入することが多いと思われる

ゴマサバはマサバに比べて陽性率、アニサキス数ともに低かった

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

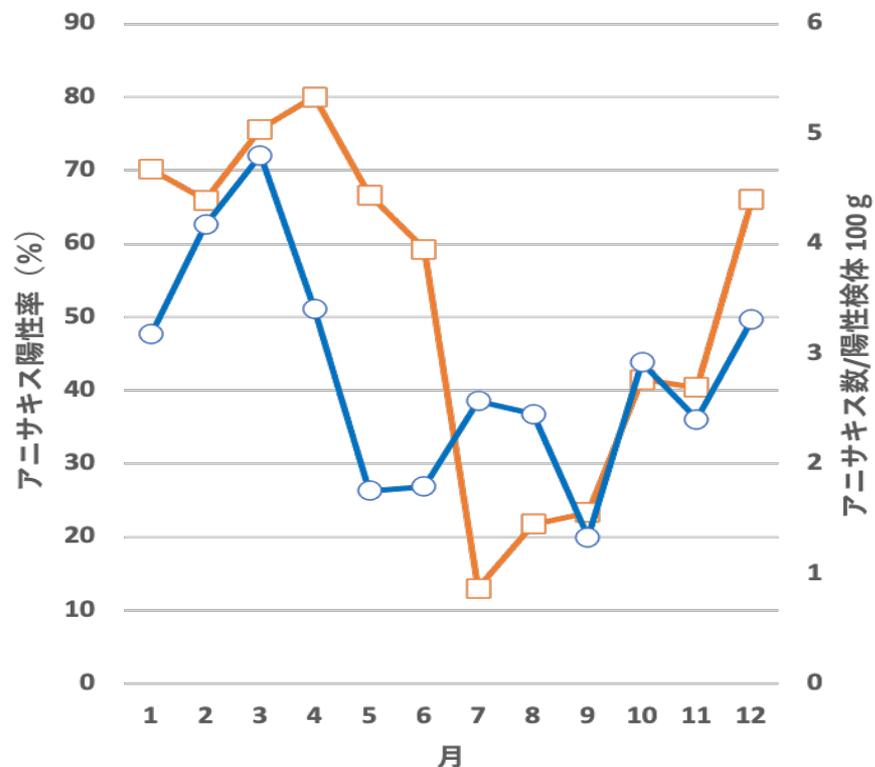
3. サバと関連した食中毒事例の季節性

サバと関連した事例の月別平均事例数
(2019～2021年)



□ サバと関連したアニサキス食中毒の平均事例数

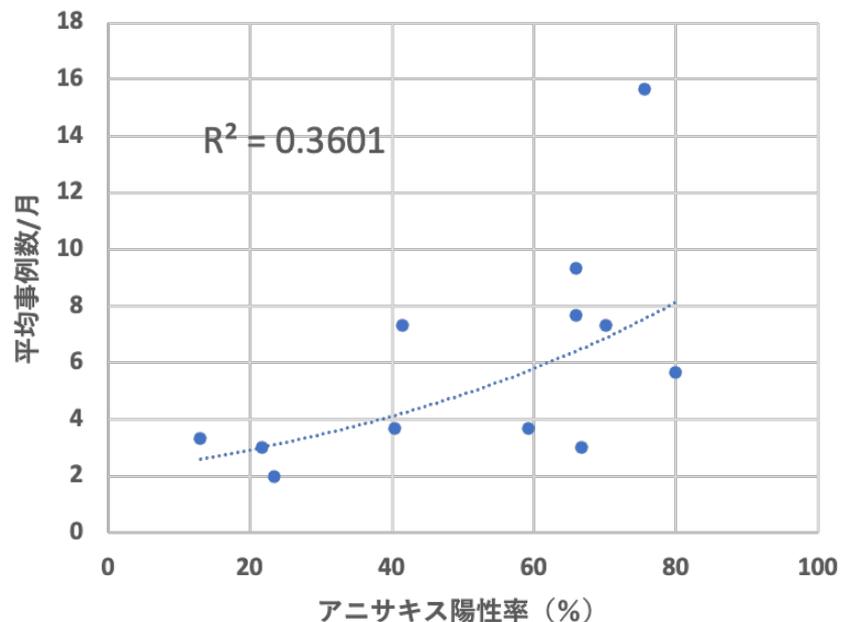
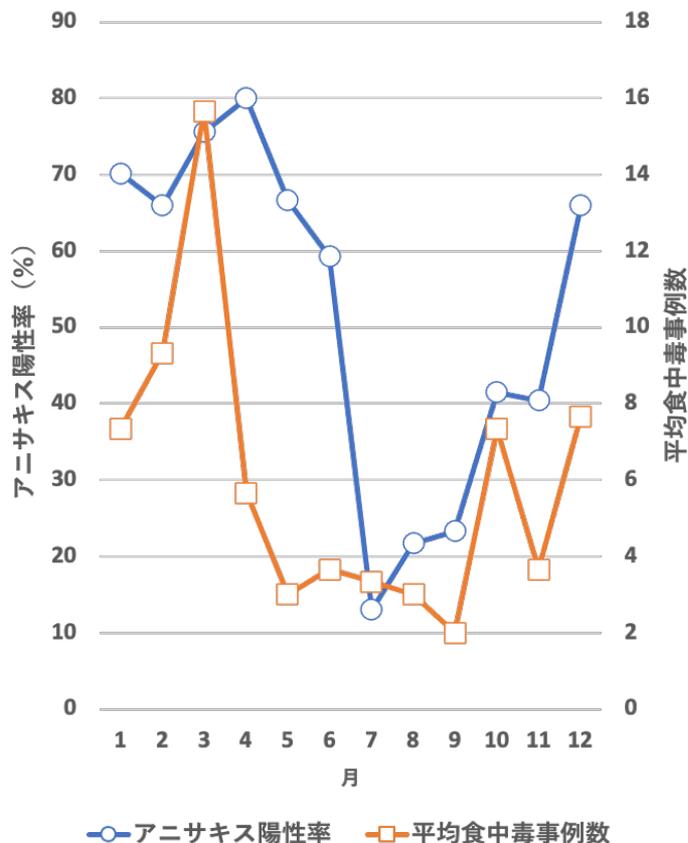
サバの汚染状況
(2019～2021年)



□ アニサキス陽性率 ○ アニサキス数/陽性検体100g

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

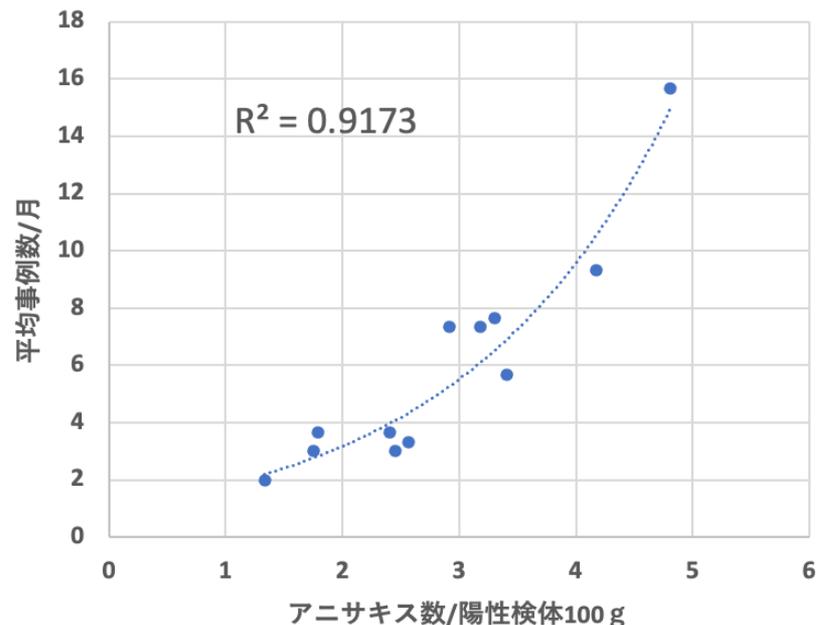
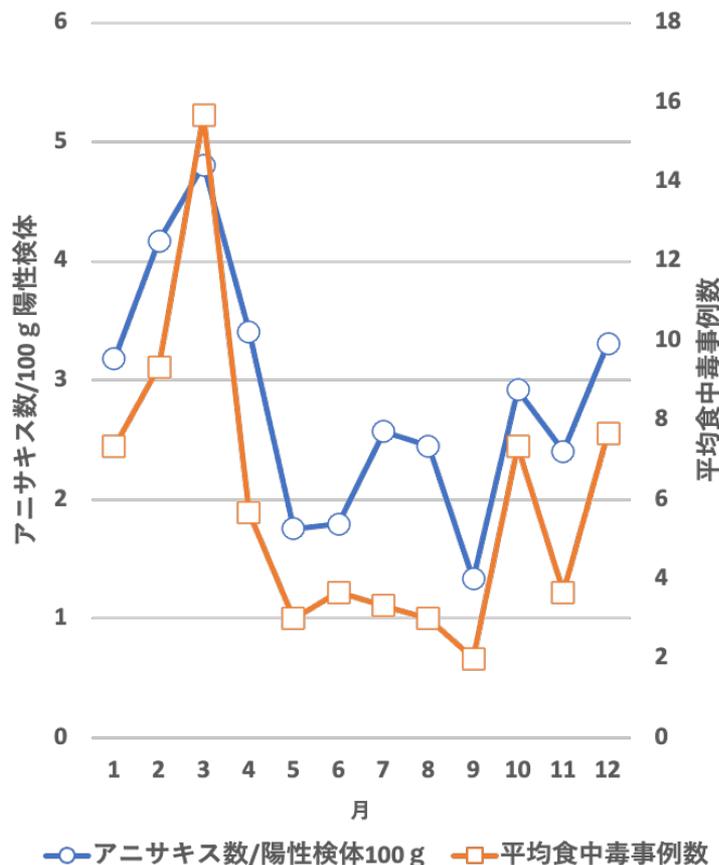
3. サバと関連した食中毒事例の季節性



サバにおけるアニサキス陽性率と月別平均事例数との相関は低い

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

3. サバと関連した食中毒事例の季節性

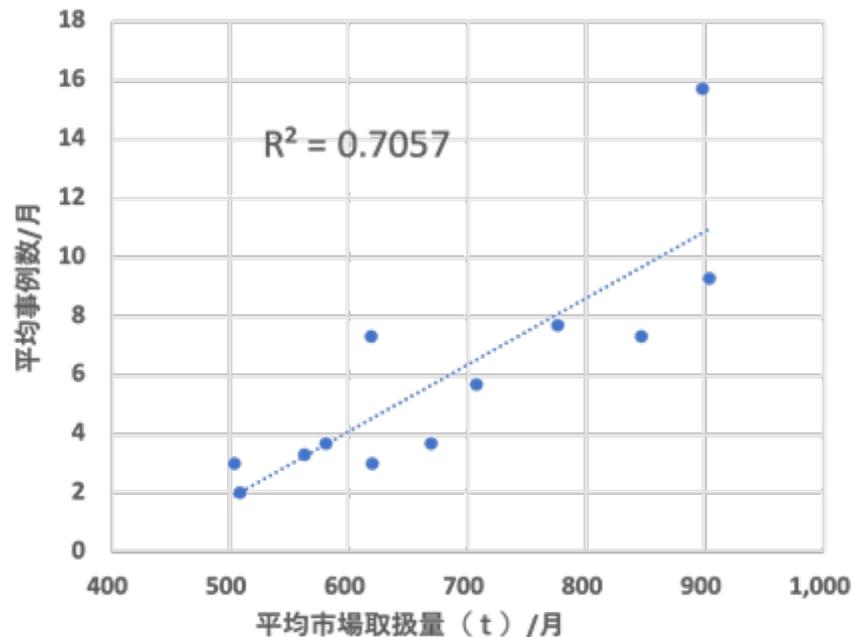
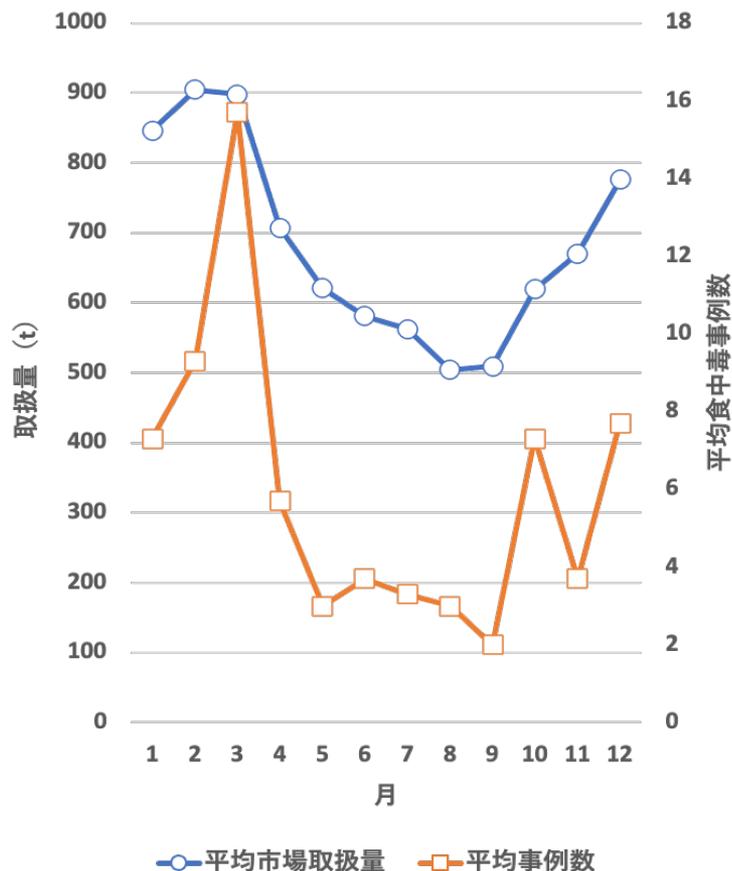


陽性検体中のアニサキス数と月別平均事例数との相関は高い

アニサキス食中毒は用量依存性に発生する可能性

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

3. サバと関連した食中毒事例の季節性



サバの市場取扱量と月別平均事例数との間には緩い相関がみられた

すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査

4. サバ以外の汚染状況

	検体数	陽性検体数	陽性率	アニサキス数(生)	総アニサキス数 (生+死)	検体100gあたりの 生アニサキス数	検体100gあたりの 総アニサキス数
サーモン	453	0	0%	0	0	0.0	0.0
サンマ	101	9	9%	0	10	0.0	0.1
アジ	397	3	1%	3	3	0.0	0.0
イワシ	133	2	2%	1	2	0.0	0.0
カツオ	418	0	0%	0	0	0.0	0.0

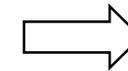
陽性率は低く、アニサキス数も低い

加工品として流通しているこれらの食品は比較的安全と思われる

食品加工過程における汚染低減

サンマにおけるアニサキスの筋肉内寄生

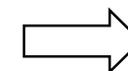
	陽性率%	虫体数/検体
個体	18	0.4
刺身（食品）	9	0.1



食品で大きく減少

サバにおけるアニサキスの筋肉内寄生

	陽性率%	虫体数/検体
日本海（個体）	39	2.0
日本海（食品）	32	3.3
九州（個体）	19	0.7
九州（食品）	24	1.4
太平洋（個体）	84	15.3
太平洋（食品）	79	11.6
刺身（食品）	9	0.4



切り身では大きな変化はない

刺身では大きく減少

生食を前提として販売されている食品は汚染の減少が確認された

個別課題

- 1) アニサキス迅速検査法の確立
- 2) アニサキスによる日本近海魚の汚染状況の調査
- 3) すぐに喫食可能な水産食品におけるアニサキス汚染状況の調査
- 4) **大型商業施設で実施されるリスク低減策の科学的検証**

大型商業施設で実施されるリスク低減策の科学的検証

背景 アニサキスが原因物質の食中毒は、2018年以降、食中毒統計において最多の事件数を誇る。中でも福島県では、2018年に58件のアニサキス食中毒が発生し、うち33件がカツオを原因食品とした。このため県内の大型商業施設では、

販売前の生食用カツオの自主検査に取り組み、目視による内臓の検査を徹底すれば、アニサキス食中毒の原因となるカツオを特定・排除できると仮定して、本食中毒のリスク低減に努めてきた。この検査法の有用性に関して、科学的検証を試みた。

材料と方法 1. 商業施設で内臓表面の目視検査。予備試験では、目視検査陰性の内臓からも、消化法で虫体が検出されたため、新たに**目視検査法**を構築し、それを徹底した本試験を実施した。
2. 商業施設での目視検査後に、カツオの内臓・

筋肉を福島衛研に搬入し、消化法により虫体が検出されるかを確認した。

3. 検出虫体の分子同定で検出虫体の種類を判定した(総てアニサキスであることの確認)。

4. 検定により目視検査の有効性を検証した。

結果

群	商業施設 (尾)		福島衛研 (尾)		消化法で検出された虫体の総数 (福島衛研)
	目視検査	目視(+)	目視(+)	消化(+)	
予備試験	14	0	3	14	40
本試験	10	9	NE	10	113

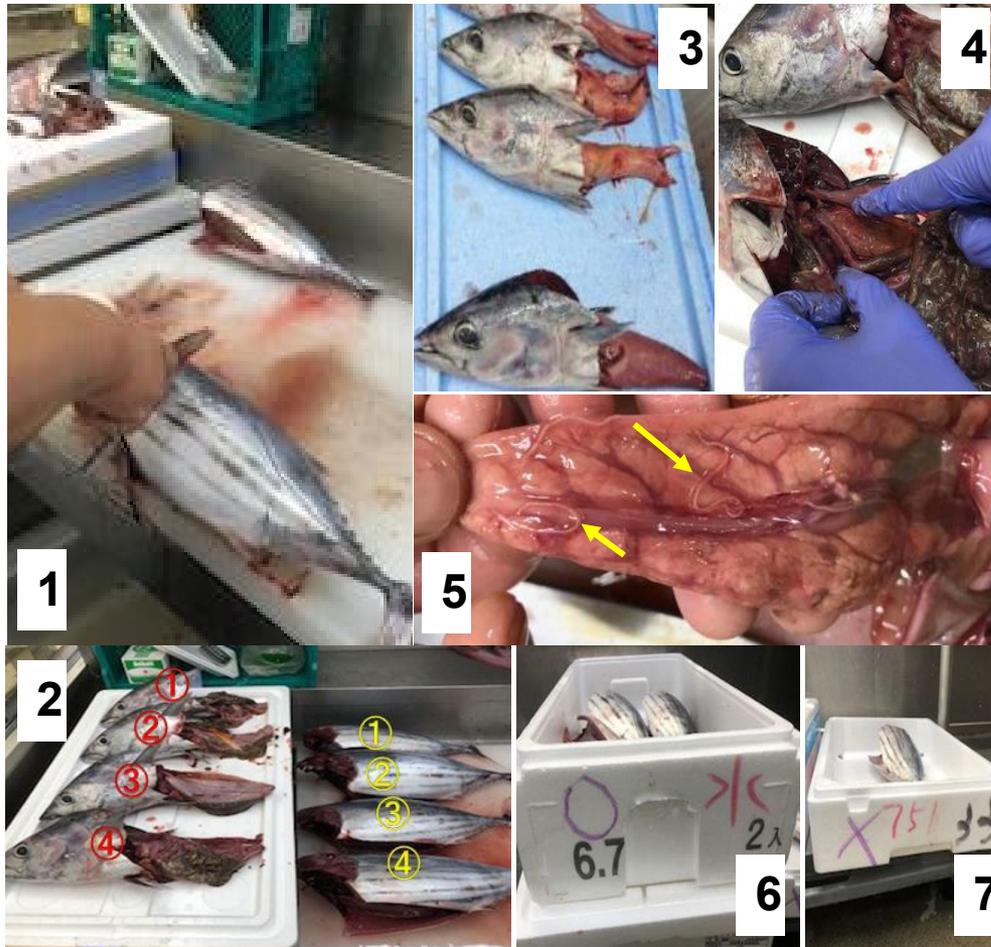
考察

1. 商業施設が実施した目視検査(本試験)は、検定により虫体検出に有効と判定された(次項参照)。
2. このような自主検査を導入したことも成果として、この商業施設では生食用カツオが原因のアニサキス食中毒は2019年以降、全く発

生していない(2018年は3事例が発生)。

3. 当該商業施設では、この目視検査の指導者を定め、解体担当者に対する講習を継続している。e-ラーニングの資料も整備し、いつでも誰でも学習することが可能である。

写真 1. 大型商業施設でのカツオの解体と虫体の検出



2. 頭部に内臓を付着させ(左), 胴体部(右, 食用部, まな板の上)と分離する.
3. 頭部と頭部に付着した内臓の拡大図.
4. 内臓表面の **目視検査** で虫体を検出する.
5. 内臓表面(肝臓)に付着する虫体(矢印).
6. 内臓表面の虫体が陰性のカツオの胴体部は, ○印の容器に一時保管され, 背身が刺身やたきとして調理されて, 非加熱用として販売される.
7. 内臓表面に虫体が陽性のカツオの胴体部は, ×印の容器に一時保管され, 竜田揚げなどの加熱商品に調理されて販売される.

アニサキス幼虫の寄生がランダムに発生すると判断する場合に比べて(帰無仮説を0.5)、大型商業施設で実施する徹底的な目視検査により、カツオの内臓(表面)に寄生するアニサキス幼虫が統計的に有意に検出されることが検証された(**一標本母比率検定**で**90%**)。

表. 一標本母比率検定による目視検査有効性の検証結果

検定の種類	観測		観測値- 検定値 ^a	漸近標準 誤差	有意		95%信頼区間	
	成功数	試行 比率			片側p値	両側p値	下限	上限
正答率A = 1.00 正確2項	9	10 0.900	0.400	0.095	0.011	0.021	0.555	0.997

^a 検定値 = .5

研究全体の成果

- *A. simplex* 同胞種の迅速検査法を確立した
- 日本海産のサバおよびサンマの筋肉に*A. simplex sensu stricto*の寄生が見られた
- 冷凍処理が行われていない切り身が流通しており、生きているアニサキスが多量に検出された
- 日本海や九州地方産のサバは、アニサキスの陽性率は低いが、陽性検体におけるアニサキス数は低くなかった
- サバと関連したアニサキス食中毒事例数の季節変化は、アニサキス陽性サバにおけるアニサキス数と相関した
- 大型商業施設で行われている目視検査は、アニサキス食中毒を予防する上で、有用であることが示唆された