

イワシの蒲焼きによるヒスタミン食中毒

観 公 子^{*}, 牛 山 博 文^{*}, 新 藤 哲 也^{*}, 斉 藤 和 夫^{*}

Outbreak of Histamine Poisoning Due to Ingestion of Broiled Sardine

Kimiko KAN^{*}, Hirofumi USHIYAMA^{*}, Tetsuya SHINDO^{*} and Kazuo SAITO^{*}

Keywords: ヒスタミン histamine, 食中毒 food-poisoning, イワシ蒲焼き broiled sardine, 調査 survey

緒 言

東京都において、マグロ、アジ、イワシなど赤身の魚によるヒスタミンが原因とされる食中毒及び有症苦情が、ここ数年連続して発生している^{1,2)}。平成12年においても2件のヒスタミン食中毒及び有症苦情が発生した。

その中で喫食者427名中127名が発症した大規模のヒスタミン食中毒について報告し、その分析結果から若干の知見が得られたので食中毒原因究明の一助として報告する。

事件の概要

平成12年10月、東京都内の会社の社員食堂で調理された昼の給食を喫食した社員427名のうち127名が、喫食20~30分後から吐き気、嘔吐、顔面紅潮及びじんましん等の食中毒症状を呈した。当該会社から管轄保健所に通報があり、また、患者が受診した病院の医師からも食中毒の届出があった。

保健所の調査の結果、共通食であるイワシの蒲焼きが原因食品と疑われ、患者の症状からヒスタミンによる食中毒が疑われた。社員食堂に残っていたイワシの蒲焼き及び調理前の原材料等5検体を分析したところヒスタミンが15~170 mg%検出され、原因食品はイワシの蒲焼き、原因物質はヒスタミンであると判断された。これにより当該社員食堂は食品衛生法第4条〔不衛生食品等の販売等の禁止〕³⁾の違反により7日間の営業停止処分を受けた。同時に、原材料の冷凍イワシの製造元は食品衛生法第4条違反により回収命令が出された。

ヒスタミンは遊離ヒスチジンを多く含有する魚等にモルガン菌等の脱炭酸酵素を産生する菌が増殖し、ヒスチジンからヒスタミンを生成することが解明されている⁴⁻⁶⁾。このヒスタミンの汚染源を究明するため、イワシの蒲焼きの原材料となった流通経路の冷凍イワシについても分析を行った。

また、ヒスタミン以外の不揮発性腐敗アミンのうち、チラミンは片頭痛の原因物質となりその他のアミンもヒスタミンの作用を増強するといわれている⁷⁾。そのためヒスタ

ミンのほか、チラミン、カダベリン、スベルミジン及びブトレシンについても同時に分析した。

実験方法

1. 試料 社員食堂に保管されていた残品165検体（イワシの開きに片栗粉をまぶし、揚げて調理したものの58検体及び調理前のイワシの開き107検体）、参考品72検体（すでに包装を開封したイワシの開き43検体及び未開封品29検体）、及び販売元に冷凍保管されていたイワシの開き36検体、イワシドレス〔頭及び内臓を除去したもの〕45検体、合計318検体を試料とした。

これらの試料の検体数には、中毒発生時に搬入されたイワシの蒲焼き1検体及び原材料の4検体が含まれる。

2. 試薬 1) 不揮発性腐敗アミン混合標準溶液：ヒスタミン二塩酸塩、カダベリン二塩酸塩、スベルミジン、チラミン塩酸塩及びブトレシン二塩酸塩を適宜秤取し、0.5 mol/L塩酸溶液に溶解して、各々1,000 ppmの標準原液を作製した。更に、各標準原液を0.5 mol/L塩酸溶液を用いて、ヒスタミン250 ppm、チラミン50 ppm、カダベリン10 ppm、スベルミジン10 ppm及びブトレシン10 ppmとなるように希釈、混合したものを混合標準溶液とした。

2) 内部標準溶液：1,6-ジアミノヘキサン二塩酸塩を0.5 mol/L塩酸溶液に溶解し、10 ppmとしたものを内部標準溶液とした。

その他の試薬は特級品及び高速液体クロマトグラフ(HPLC)用を用いた。

3. 装置 HPLC：ポンプLC-10ATVP、蛍光検出器RF-10AXL（株式会社島津製作所製）

4. ヒスタミン及び不揮発性腐敗アミンの定性・定量 不揮発性腐敗アミンの定性及び定量は衛生試験法・注解⁴⁾に準じて行った。操作の概要を図1に示した。なお、検体中の含量は5 mg%以上を数値化した。

TLC条件：薄層板；Kieselgel60(Merck社製)、展開溶媒；アセトン-28%アンモニア水(9:1)、発色；I) 0.01%フルオレスカミン/アセトン溶液(UV365 nm照射

* 東京都立衛生研究所生活科学部食品研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

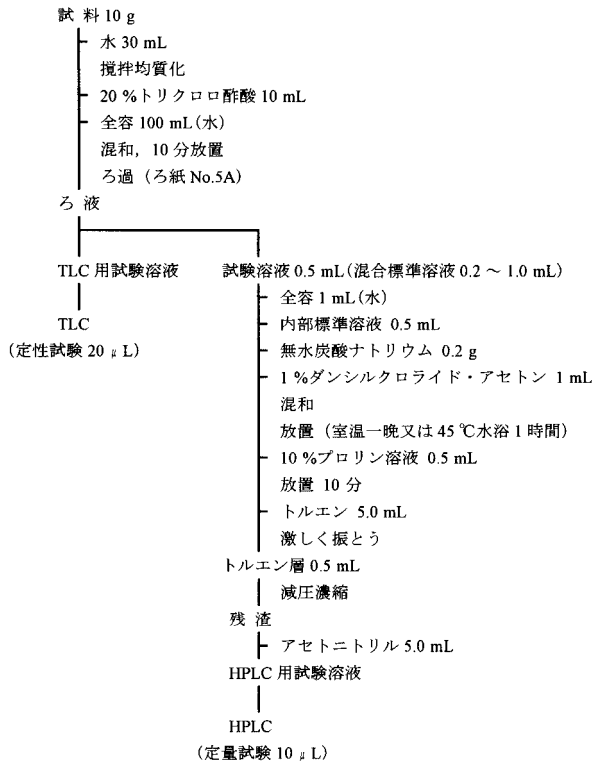


図1. 不揮発性腐敗アミンの分析法

黄色蛍光スポット), II) 0.1%ニンヒドリン/アセトン溶液 (加熱 赤紫色スポット)

HPLC条件: カラム; Inertsil ODS-80A(5 μm, 250 mm × 4.6 mm.i.d.) (ジーエルサイエンス社製), 温度; 40℃, 移動相; アセトニトリル-水 (62:38), 流速; 1.5 mL/min, 検出; 蛍光検出器 (励起波長325 nm, 蛍光波長525 nm)

結果及び考察

1. ヒスタミンの含量

1) 社員食堂の残品中のヒスタミン含量 不揮発性腐敗ア

ミンの検査結果を表1に示した.

社員食堂に残っていた検体を, 現場の状況から次のように1. ~ 6. にグループ分けし, それぞれについて個別に分析した. グループは, 1. イワシ調理済み, 2. 調理済みと同時に解凍した調理前のイワシの開き, 3. 調理済みの翌日に解凍したイワシの開き, 4., 5. 及び6. 未開封のイワシの開きをロット別にそれぞれ, , とした.

まず, これらの試料について不揮発性腐敗アミンの定性分析をTLCで行い, 陽性となった検体はHPLCで定量し, 各アミンの含量を求めた.

その結果, ヒスタミンはグループ1. では, 58検体中42検体 (以後42/58の様に記す) から9~360 mg%, 2. は105/107から8~470 mg%, 3. は34/43から24~430 mg%, 4. は10/10から11~460 mg%, 5. は9/10から17~460 mg%, 6. は4/9から20~310 mg%検出された.

社員食堂の全検体のヒスタミン含有濃度について, 各濃度別の検出割合を図2に示した.

ヒスタミンによる最少中毒量は100 mg%といわれている^{4,5,7)}ため, 今回の事件におけるヒスタミンによる発症量を推定した. すなわち, 今回の結果からヒスタミン含量が100 mg%以上の検体数の割合は34%であった. また, 全喫食者427名に対して発症者数は127名であり, 全喫食者に対する発症者割合は30%であった.

これらの結果から, 全検体のうち, ヒスタミン含量が100 mg%以上の検体の割合, 及び発症者数の割合が共に約30%であったことから, 本食中毒による最少発症濃度は約100 mg%と推定され, 今回の事例においても過去のデータと一致した.

また 本事例における患者のイワシ喫食量は蒲焼き2枚, 約100 gであることから, ヒスタミンによる食中毒の最少発症摂取量は100 mgであると推察された.

2) 販売元の参考品中のヒスタミン含量 ヒスタミンがど

表1. ヒスタミン及び不揮発性腐敗アミンの分析結果

検体グループ	検体数	検出量 (mg%)					
		ヒスタミン	カダベリン	チラミン	プトレシン	スベルミジン	
社員食堂	1. イワシ調理済み	58	9~360 (42)	5~21 (15)	5~9 (5)	6 (1)	-
	2. イワシ開き	107	8~470 (105)	5~32 (80)	5~8 (10)	-	-
	3. イワシ開き	43	24~430 (34)	5~28 (31)	6~7 (4)	5 (1)	-
	4. イワシ開き	10	11~460 (10)	5~23 (9)	-	-	-
	5. イワシ開き	10	17~460 (9)	7~20 (7)	-	-	-
	6. イワシ開き	9	20~310 (4)	7~13 (4)	-	-	-
販売元	7. イワシ開き	11	-	-	-	-	-
	8. イワシ開き	15	-	-	-	-	-
	9. イワシ開き	10	-	-	-	-	-
	10. イワシドレス	20	-	-	-	-	-
	11. イワシドレス	25	5~340 (23)	5~26 (21)	6~8 (2)	-	-
合計	318	(227)	(167)	(21)	(2)		

- : 5 mg%未満, 4~11は未開封品, ()内の数字は検出検体数

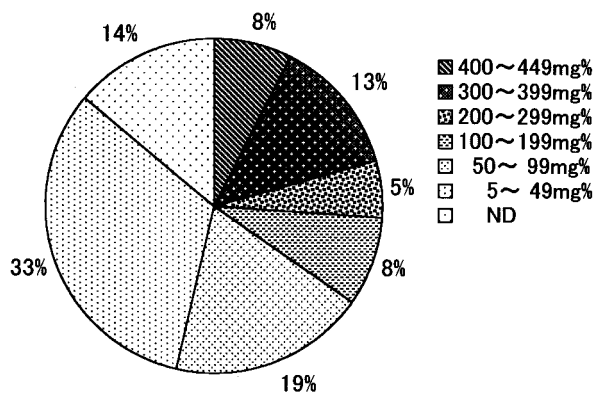


図2. 社員食堂全検体のヒスタミン濃度別における検体数の割合

ここで生成されたのかを調査するため、販売元の参考品を、以下のように7.~11.にグループ分けし、それぞれについて個別に分析した。グループはロット別に分類し、7.イワシ開き, 8.イワシ開き, 9.イワシ開き, 10.イワシドレス, 11.イワシドレスとした。

社員食堂残品と同様に分析した結果、ヒスタミンがグループ11.は23/25から5~340 mg%検出され、7., 8., 9.及び10.はいずれからも検出されなかった。

2. ヒスタミン以外の不揮発性腐敗アミンの含量

不揮発性腐敗アミンはカダベリン, チラミン, プトレシン及びスペルミジンについて分析した。

その結果、カダベリンがグループ1.は15/58から5~21 mg%, 2.は80/107から5~32 mg%, 3.は31/43から5~28 mg%, 4.は9/10から5~23 mg%, 5.は7/10から7~20 mg%, 6.は4/9から7~13 mg%, 11.は21/25から5~26 mg%検出された。グループ7.~10.はいずれからも検出されなかった。

また、チラミンがグループ1.は5/58から5~9 mg%, 2.は10/107から5~8 mg%, 3.は4/43から6~7 mg%, 11.は2/25から6~8 mg%検出された。グループ4.~10.はいずれからも検出されなかった。

また、プトレシンがグループ1.は1/58から6 mg%, 3.は1/43から5 mg%検出された。グループ2.及び4.~11.はいずれからも検出されなかった。

なお、スペルミジンはグループ1.~11.のいずれからも検出されなかった。

高濃度のヒスタミンが検出された試料からは不揮発性腐敗アミンのいずれかが検出され、ヒスタミン含量に比例してアミン含量も多い傾向が見られた。

3. ヒスタミン生成過程の推定

近年、多くの魚介類が輸入されており、現地の不衛生な取り扱いによりヒスタミンを原因とする食中毒が発生している⁸⁾。今回の事例では、調査によると、中毒原因となった原材料のイワシは新潟沖で漁獲され、鳥取県の境港市に搬入された。その後、船から水揚げ後氷入り海水にて1.5時間かけてイワシ工場に搬入、室温で30分かけて氷入り食

塩水等で魚の洗浄、断頭及び開き作業を行った。これらは籠に入れて室温22℃で1.5時間かけて冷凍車で他の作業所まで運搬され、-3~0℃の冷蔵庫に搬入、1~2時間かけて吸水シートで脱水し、-30℃で急速冷凍した。その後23℃の製品保管庫内で真空包装、箱詰めし出荷した。ただし、冷蔵庫、冷凍庫及び加工室内の温度管理簿はなかった。

表1より、当該社員食堂の未開封の検体(4.~6.)及び販売元の検体(未開封, 11.)は同一パックに入っているにも関わらず、ヒスタミン等の不揮発性腐敗アミンの検出されたもの、検出されなかったものやその濃度の多いもの、少ないものが混在していた。もし、これら両施設において、衛生管理が悪かったと仮定すると、同一パック内の試料全てからヒスタミン等が検出されると考えられる。

そこで、ヒスタミンが生成した場所は漁船の水揚げから真空包装する前の過程の可能性が疑われる。

ヒスタミンはヒスチジン脱炭酸酵素を有する細菌の増殖で遊離ヒスチジンから生成されるが、その中には0℃で増殖するものもある。藤井⁵⁾により、9月から冬を通し5月までは低温好塩性のヒスタミン生成菌が付着しているとの報告もある。本事例では10月に発生していることから、低温でヒスタミンを生成する菌に汚染されていたことも考えられる。これらのことから、冷蔵施設に保管し、外見上、鮮度の低下が認められなくてもヒスタミン中毒を起こす可能性があるため、市販赤身魚加工品については行政検査等による監視が必要であると考えられる。

まとめ

平成12年10月に、都内の社員食堂で喫食者427名中127名の患者を出したヒスタミン様食中毒が発生した。検査の結果、ヒスタミンが15~170 mg%検出され、食中毒原因物質はヒスタミン、原因食品はイワシの蒲焼きであった。

当該施設のイワシ蒲焼き残品等及び販売元の参考品318検体についてヒスタミン等不揮発性腐敗アミンの分析を行ったところ、227検体から最高470 mg%のヒスタミンが検出された。

分析データを解析したところ、イワシの水揚げから真空包装されるまでの過程において衛生管理が十分でなく、この過程でヒスタミンが生成されたものと考えられる。

また、ヒスタミン食中毒の最低発症濃度は100 mg%であり、最低発症摂取量は100 mgと推察された。

本事例及び文献から100 mg%がヒスタミン食中毒の最低発症濃度と考えられるが、年齢、人種等によりヒスタミン感受性の異なることから、100 mg%以下の濃度でも発症することも危惧される。FDA/EPAの規則・指針では500 ppm(50 mg%)が有毒とされ、50 ppm(5 mg%)を違反として措置が執られている^{5,9)}。そこで今後、5 mg%以上のヒスタミンが検出された魚介類については食中毒発現に関わらず監視指導の対象にすべきであると考えられる。

文 献

- 1) 牛山博文, 観公子, 新藤哲也, 他: 東京衛研年報, 50, 175-178, 1999.
- 2) 牛山博文, 観公子, 新藤哲也, 他: 東京衛研年報, 51, 166-169, 2000.
- 3) 厚生省生活衛生局: 食品衛生小六法, 平成13年版, 2-3, 2000, 新日本法規出版, 東京.
- 4) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解2000, 172-175, 2000, 金原出版, 東京.
- 5) 藤井建夫: 微生物制御の基礎知識, 150-168, 1997, 中央法規出版, 東京.
- 6) Karmas, E., Mietz, J. L.: *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 11, 333, 1978.
- 7) 寺田安一: 腐敗中毒, 80, 1971, 建帛社, 東京.
- 8) 観公子, 牛山博文, 新藤哲也, 他: 食品衛生学雑誌, 41(2), 116-121, 2000.
- 9) 対米輸出水産食品の取扱いについて 厚生省生活衛生局 乳肉衛生課事務連絡, 平成9年12月17日.