

1996～2001年におけるサケ・マス類からのアニサキス 型 幼虫の検出状況

鈴木 淳^{*1}, 村田 理恵^{*1}, 三宅 啓文^{*3}, 澤田 靖^{*4}
大濱 幸恵^{*4}, 佃 博之^{*4}, 丸山 文一^{*4}
諸角 聖^{*2}, 村田 似和夫^{*1}

Detection Rate on the Larvae of *Anisakis simplex* from Salmon (*Oncorhynchus* spp.) Retailed in Tokyo during 1996-2001

Jun SUZUKI^{*1}, Rie MURATA^{*1}, Hirofumi MIYAKE^{*2}, Yasushi SAWADA^{*3}
Yukie OHAMA^{*4}, Hiroyuki TSUKUDA^{*4}, Bunichi MARUYAMA^{*4}
Satoshi MOROZUMI^{*2} and Iwao MURATA^{*1}

Keywords: アニサキス *Anisakis simplex*, アニサキス症 anisakiasis, サケ・マス類 *Oncorhynchus* spp., 検出率 detection rate, 低真空走査型電子顕微鏡 low-vacuum SEM

緒 言

アニサキス症はアニサキス亜科幼虫が人体内で胃や腸などに穿入し、胃腸炎などの症状を引き起こす幼虫移行症で、1998年までに石倉ら¹⁾により報告された症例の累計は3万人以上である。現在、アニサキス亜科幼虫の中で人体に感染するものとして、*Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Contracaecum oscuratum*及び*Hysterothylacium aduncum*の4種が知られている。アニサキス症の多くは*Anisakis simplex*の第3期幼虫、すなわちアニサキス 型幼虫で、全症例の87.5%を占め、9.6%は虫種同定がされていないと石倉ら¹⁾は報告している。これまでアニサキスの感染原因は九州などの西日本及び関東周辺ではサバ、イワシ及びアジなどの魚介類の生食によるものが多く、一方、北海道の場合ではタラ、ホッケ及びサケの生食によるものが多いと報告され²⁻⁴⁾、原因食に地域差が認められていた。近年、鮮魚、活魚などの低温・広域流通の発達と養殖技術の発展によりサケ・マス類の流通量と取引額は増加傾向にあり⁵⁾、都内においてもそれらの生食が原因とされるアニサキス症が発生している。

そこで1996～2001年6月までの5年間にわたり、都内に流通している国産及び輸入サケ・マス類からのアニサキス 型幼虫(以下アニサキスとする)の検出状況について調査したのでその結果を報告する。

材料及び方法

1. 被検サケ・マス類:

1996～2001年の5年間に都内で流通し、冷蔵または冷凍保存された輸入及び国産サケ・マス類合計187検体についてアニサキス寄生状況を調査した。その内訳は以下の通りである。なお、サケ・マス類の名称は商品名を避け、和名で統一表記した。

(1)輸入サケ・マス類: 原産国はアメリカ, カナダ, ノルウェー, チリ及びニュージーランドの5カ国で、計69検体の輸入品を対象とした。魚種は天然シロザケ(3検体), 天然マスノスケ(18検体), 養殖マスノスケ(10検体), 天然ギンザケ(4検体), 養殖ギンザケ(9検体), 天然ベニザケ(17検体), 養殖タイセイヨウサケ(8検体)の7種である。調査は1996～1997年の2年間にわたり実施した。なお、輸入サケ・マス類は全て内臓が取り除かれているドレス, セミドレス及びフィレーの状態、冷蔵または冷凍されていた。

(2)国産サケ・マス類: 産地は北海道, 青森県, 秋田県, 岩手県, 宮城県及び新潟県。魚種は天然シロザケ(50検体), 天然カラフトマス(34検体), 天然サクラマス(34検体)の3種、計118検体を対象とした。調査は1999～2001年の3年間にわたり実施した。なお、国産のサケ・マス類は、全て冷蔵保存され、内臓までついたラウンドの状態のものであった。

*1 東京都立衛生研究所微生物部細菌第2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

*2 同微生物部

*3 同理化学部医薬品研究科

*4 東京都食品環境指導センター

2. サケ・マス類からのアニサキスの検出方法：

被検サケ・マス類を腹部、背部筋肉及び内臓部に切り分け、腹部及び背部筋肉は虫体を傷つけないように手作業で筋肉を少しずつぎり潰して精査し、虫体を1隻ずつ摘出した。また、内臓表面に寄生している虫体は視認によりピンセットで1隻ずつ摘出した。

3. アニサキスの同定法：

(1)光学顕微鏡による観察：サケ・マス類より摘出した虫体をラクトフェノール液（グリセリン：フェノール：乳酸：蒸留水 = 2 : 1 : 1 : 1）で透過処理した後検鏡し、頭部、胃部及び尾部の形態学的特徴より虫種の同定を行った。

(2)低真空走査型電子顕微鏡（LV-SEM）による観察：サケ・マス類より摘出した虫体を2.5%グルタルアルデヒドで化学固定をした後、両面カーボンテープでシールしたLV-SEM専用冷却ホルダー（日本電子ハイテック(株)）上に接着させた。次に、試料を液体窒素で約40秒間凍結した後、速やかにLV-SEM（JSM-5600LV 日本電子(株)）内の試料ステージに装着し、真空度20～30 Paに減圧した。完全に試料の氷を昇華させた後、加速電圧15 kV、倍率500～1,000倍でアニサキスの頭端部及び尾端部の微細構造を観察した。

結果及び考察

1. 輸入サケ・マス類のアニサキスの寄生状況

輸入サケ・マス類におけるアニサキス寄生率は表1に示したように、アメリカ産の天然サケ・マス類で79%（22/28）であった。さらに、アメリカ産、特にアラスカで水揚げされたシロザケとベニザケのアニサキス寄生率がそれぞれ100%及び90%で1尾当たりの平均寄生数もそれぞれ11, 17隻であり、他産地と比較して多いことが明らかとなった。しかし今回調査した輸入サケ・マス類69例中29例が冷凍されたものであったため、摘出した全てのアニサキスが死滅していた。アニサキスは24時間以上、-20℃以下の

冷凍で死滅⁶⁾することが明らかにされており、今回の調査結果はそれを裏付けるものであった。また、養殖輸入サケ・マス類27例ではアニサキスの寄生は全く認められず、1995年に成田空港検疫所で行われた輸入サケ・マス類のアニサキス寄生調査結果⁷⁾とも一致した。以上のことから、輸入サケ・マス類を生食用として用いる場合、養殖したものか冷凍したものを選択することがアニサキス感染予防のためには望ましいと考えられた。

2. 国産サケ・マス類のアニサキスの寄生状況

国産サケ・マス類の産地別、魚種別のアニサキス寄生状況の結果を表2に示した。

一般にサケと呼ばれているシロザケにおいては産地の違いや市場に流通する時季に関係なくアニサキスが92%（46/50）と高率に寄生していた。一方、サクラマスのアニサキス寄生率は74%（25/34）でシロザケと比較して大きな差が認められなかったが、1尾当たりのアニサキス寄生数はシロザケ（平均17隻）と比較して平均3隻と少ない傾向が認められた。また、カラフトマスに関しては、アニサキス寄生率が35%（12/34）、1尾当たりの寄生数が1隻と低い値であった。したがって、国産サケ・マス類の生食によりアニサキスに感染する危険性はシロザケの方がカラフトマスやサクラマスよりも高いことが判明した。輸入サケ・マス類は全て内臓が取り除かれたものであったため内臓及び筋肉部位の寄生率の差は求められなかった。しかし、国産サケ・マス類の内臓を含めた検査により、アニサキスは内臓表面ではなく、生食にも用いられる筋肉部の中でも脂がのっている腹部筋肉に80～90%と高率に寄生していることが明らかになった。

イカをのぞき、タラ、サバ及びイワシなど多くの魚介類では、アニサキスは内臓に寄生していることが多いため、これまで魚の鮮度がよい状態で内臓を取り除けば、生食した場合でも比較的安全であると考えられる傾向があった。しかし、サケ・マス類では流通の段階において、すでにアニサ

表1 輸入サケ・マス類の魚種別・原産国別アニサキス型幼虫寄生状況（1996-1997）

魚種名	原産国	検体数	陽性率（陽性数）	平均寄生数/尾	最大寄生数/尾
シロザケ（天然）	アメリカ（アラスカ）	3（尾）	100%（3/3）	11（隻）	30（隻）
マスノスケ（天然）	アメリカ（カルフォルニア）	7	71（5/7）	9	48
〃	アメリカ（アラスカ）	3	67（2/3）	7	20
〃	アメリカ（詳細不明）	3	67（2/3）	2	3
〃	カナダ	5	20（1/5）	<1	3
マスノスケ（養殖）	アメリカ（カルフォルニア）	1	0（0/1）	0	0
〃	カナダ	3	0（0/3）	0	0
〃	ノルウェー	4	0（0/4）	0	0
〃	ニュージーランド	2	0（0/2）	0	0
ギンザケ（天然）	アメリカ（詳細不明）	2	50（1/2）	<1	1
〃	カナダ	2	0（0/2）	0	0
ギンザケ（養殖）	チリ	9	0（0/9）	0	0
ベニザケ（天然）	アメリカ（アラスカ）	10	90（9/10）	17	40
〃	カナダ	7	14（1/7）	<1	1
タイセイヨウサケ（養殖）	ノルウェー	8	0（0/8）	0	0

表2 国産サケ・マス類の魚種別・産地別アニサキス 型幼虫の寄生状況 (1999-2001)

魚種名	産地	検体数	陽性率(陽性数)	平均寄生数/尾	最大寄生数/尾
シロザケ(トキシラズ*)	北海道	14(尾)	79%(11/14)	13(隻)	33(隻)
"	青森県	4	100(4/4)	9	21
"	岩手県	3	100(3/3)	8	10
"	宮城県	2	50(1/2)	1	2
シロザケ(秋ザケ)	北海道	10	100(10/10)	11	20
"	青森県	3	100(3/3)	16	20
"	岩手県	13	100(13/13)	33	161
"	新潟県	1	100(1/1)	5	5
サクラマス	北海道	15	60(9/15)	2	7
"	青森県	4	100(4/4)	4	5
"	秋田県	4	75(3/4)	3	4
"	岩手県	10	90(9/10)	4	18
"	宮城県	1	0(0/1)	0	0
カラフトマス	北海道	15	80(12/15)	3	11
"	青森県	6	0(0/6)	0	0
"	秋田県	7	0(0/7)	0	0
"	岩手県	6	0(0/6)	0	0

*: トキシラズとは主に沿海州に母川をもつシロザケで、5~7月頃に三陸や北海道太平洋側で漁獲されたもの。

キスの多くが筋肉中に認められることから、特に天然シロザケの生食には十分な注意が必要であると思われた。

オランダではアニサキス感染防止の観点から、生食によりアニサキス症になる危険性の高い魚介類は24時間以上、-20以下で冷凍しなければならないという法律が施行されている。我が国では国民性として魚介類の生食を好むため、他の諸外国と比較してアニサキス症の発生率が高いと報告されている⁸⁾。したがって、生食用魚介類の冷凍処理がアニサキス感染防止に有効であると周知させることが必要であると考えられた。

3. アニサキスの同定へのLV-SEMの有用性

従来、アニサキスは虫体をラクトフェノールなどにより透過処理し、光学顕微鏡を用いて頭部、尾部及び胃部の特徴を観察することにより同定されていた。今回、サケ・マス類より抽出したアニサキスの光学顕微鏡による顕微鏡写真を図1に示した。他のアニサキス亜科幼線虫と鑑別同定を行うためには、胃部盲嚢の有無及び形状と頭端部及び尾端部の微細構造を確認することが必要である。しかし、光学顕微鏡による検鏡では胃部の観察は可能であったが、頭端部及び尾端部の表面微細構造の観察及び確認は困難であった。

一方、LV-SEMを用いた場合は、図2に示したようにアニサキスを2.5%グルタルアルデヒドで化学固定をした後、1時間以内にアニサキスの頭部の穿歯及び感覚乳頭、尾部の尾端小棘などアニサキスの同定に必要な微細表面構造を観察・確認することができた。体長が15~20mmのアニサキスでも電子顕微鏡による低倍率での観察により本虫の微細形態を確認することが可能である。さらに、LV-SEMは従来必要とされた試料の臨界点乾燥、蒸着処理などの観察のための前準備を必要としないため、微細形態に

よる虫種観別には迅速かつ有用であると考えられた。

ま と め

近年、低温・広域流通の発達によりサケ・マス類の生食を原因としたアニサキス症が増加傾向にある。今回のアニサキス寄生状況の調査から、輸入サケ・マス類において、アラスカ産の天然シロザケとベニザケではアニサキスの寄生率が90%以上であった。しかし、冷凍したのちから抽出されたアニサキスは全て死滅しており、さらに養殖したのちからは全くアニサキスが検出されなかった。国産サケ・マス類においては、シロザケから92%と高率にアニサキスが検出され、また、アニサキスはその80~90%が通常食する筋肉部に寄生していた。

以上のことから、アニサキス症を予防するには、危険性の高い魚介類を把握し、該当する魚介類を生食する場合には24時間以上、-20以下の冷凍処理の必要性を指導していくことが安全性の確保に必要であると考えられた。

また、LV-SEMは従来行っていた試料の臨界点乾燥や蒸着処理などの前処理を必要としないため、微細形態によるアニサキスの同定を迅速に行うことが可能である。

文 献

- 1) 石倉肇, 高橋秀史, 八木欣平, 他: *Clinical Parasitology*, 9, 41-46, 1998.
- 2) 花牟禮康生, 花牟禮文太郎, 山下行博, 他: *Clinical Parasitology*, 6, 182-185, 1995.
- 3) 飯野治彦, 下河辺正行, 城降一郎, 他: *Clinical Parasitology*, 8, 107-109, 1997.
- 4) 荒木潤, 唐沢洋一, 若尾弘美, 他: *Clinical Parasitology*, 8, 103-106, 1997.

- 5) 藤田紘一郎, 村田以和夫, 影井昇, 篠永徹: 食品寄生虫ハンドブック, 18-22, 1997, サイエンスフォーラム, 東京.
 6) 村田以和夫, 宮沢貞雄, 國守利, 他: 東京衛研年報, 38, 13-21, 1987.

- 7) 新妻淳, 樋口修一, 納田紀子, 他: 食品衛生研究, 46, 51-59, 1996.
 8) 高橋秀史, 石倉肇, 河合薫子, 他: *Clinical Parasitology*, 8, 93-98, 1997.

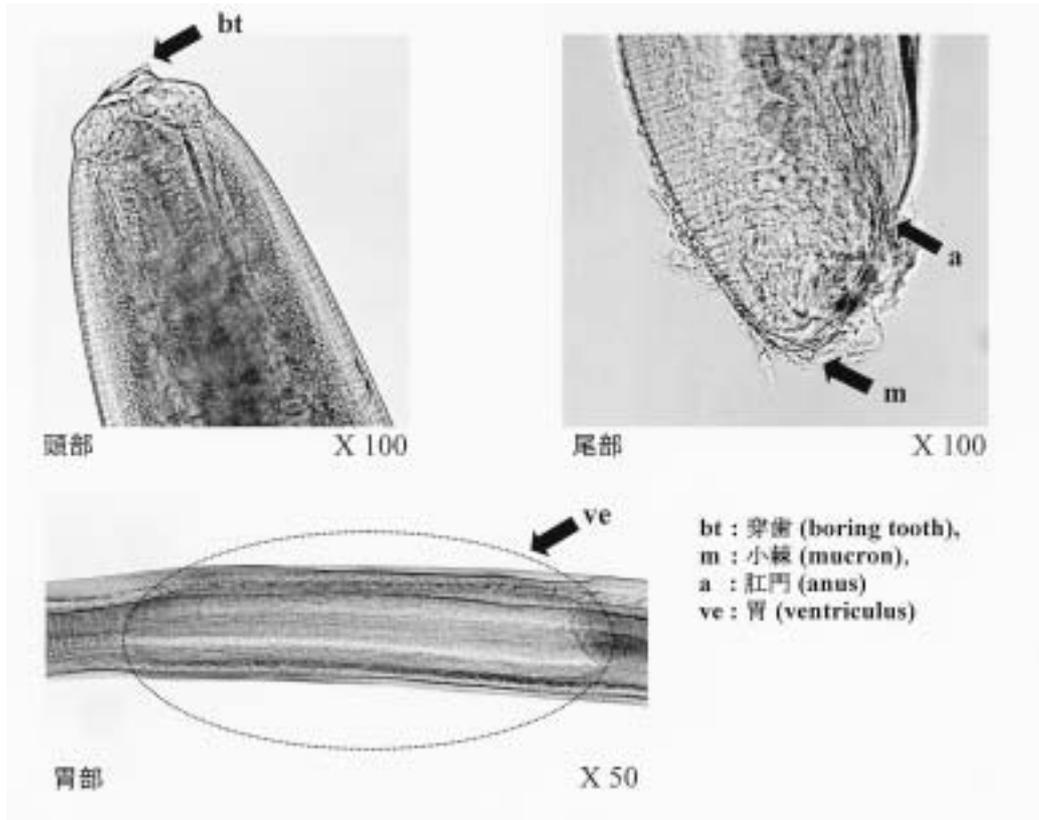


図1. 光学顕微鏡によるアニサキス 型幼虫の頭端部, 尾端部及び胃部の観察

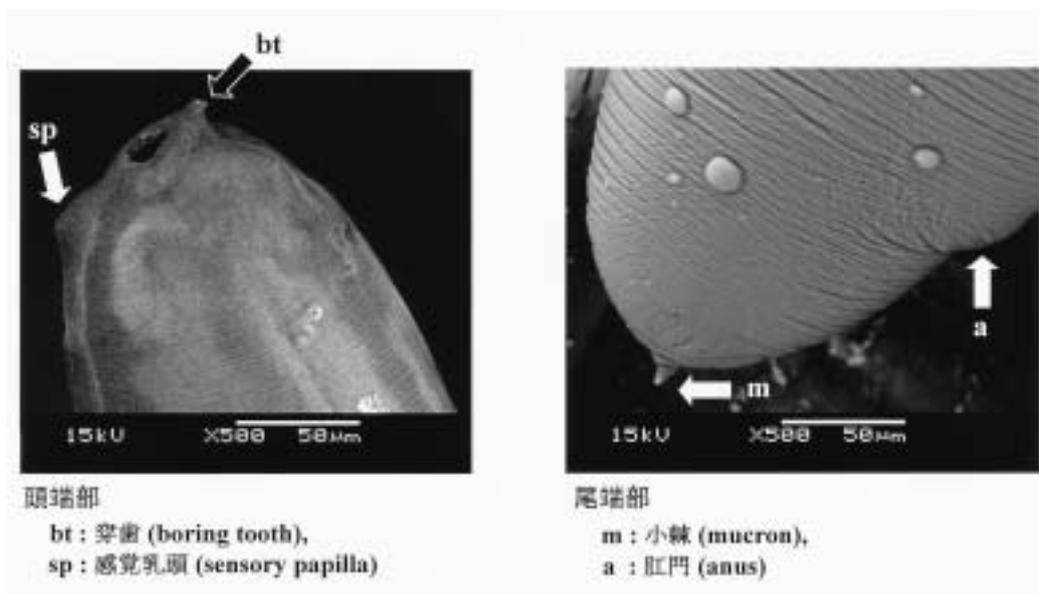


図2. LV-SEMによるアニサキス 型幼虫の頭端部及び尾端部の観察