

課題番号5

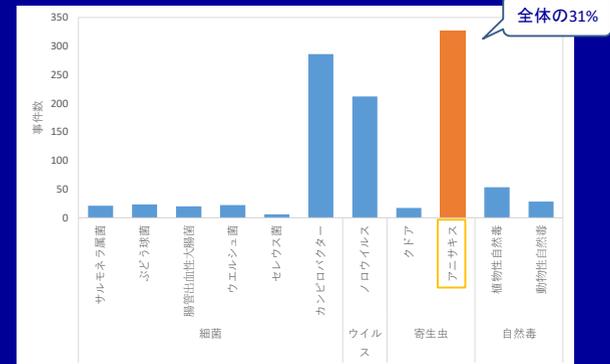
## 本県に流通する水産食品の アニサキスによる汚染状況調査

衛生化学部

○ 高山清子 木下和昭 恒益知宏  
松川浩子 落合克紀

1

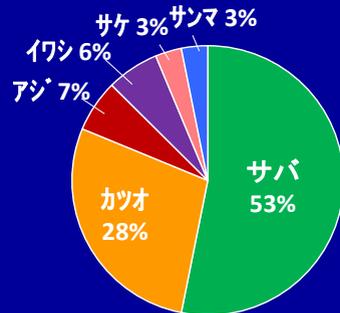
## 病因物質別食中毒(国内)



病因物質別食中毒発生状況(国内、令和元年)  
(資料:厚生労働省 食中毒統計資料)

2

## 魚種別アニサキス食中毒(県内)



魚種別アニサキス食中毒発生状況(県内)  
(平成25年~令和元年、原因不明食品を除く事件数 n=64)  
(資料:厚生労働省 食中毒統計資料)

3

## アニサキス症

消化管アニサキス症

関与  
劇症型

アニサキスアレルギー

- ・生きている虫体が消化管へ進入
- ・刺身等の生魚が原因食品
- ・加熱・冷凍で予防

- ・アニサキス抗原によるアレルギー反応
- ・虫体の生死は問わない。  
→加熱・冷凍で予防ができない。



アニサキス  
(写真:厚生労働省HP)

4

## 現状・課題

\* アニサキスアレルギーに関する報告が少なく不明な点が多い。

「青魚によるアレルギー」



「魚類に寄生しているアニサキスに対するアレルギー」

身近な食品にアニサキスアレルギーのリスクが潜んでいる。

5

## 調査研究の目的・方法

### 【目的】

水産食品のアニサキスによる汚染状況調査

### 【方法】

- 1 リアルタイムPCRによるアニサキス遺伝子の検出
- 2 LC-MS/MS※によるアニサキス抗原の検出

※ 液体クロマトグラフ質量分析計

6

## 進捗報告

7

## アニサキス虫体の採取

### 採取したアニサキス虫体

採取日	魚種	数 (匹)	産地	採取した アニサキス(隻)
令和3年6月1日	サバ	3	長崎県	27
	アジ	2	長崎県	64
	イワシ	5	高知県	19
令和4年3月10日	サバ	9	愛媛県	0
令和4年3月18日	サバ	3	三重県	72
	アジ	6	宮崎県	0
令和4年3月22日	サバ	6	三重県	216
	計	34		398

8

## アニサキスの採取



サバの内臓に付着する多数のアニサキス

9

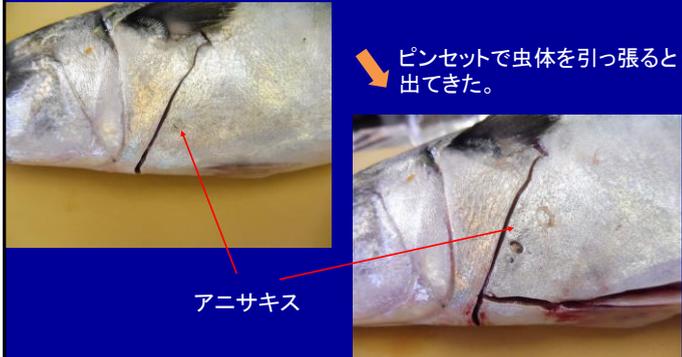
## 採取したアニサキス



サバ6匹から採取したアニサキス

10

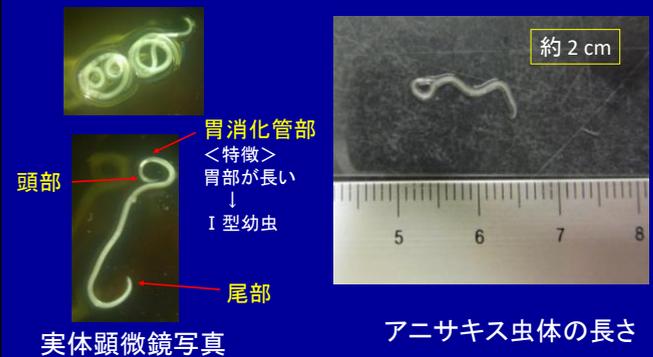
## アニサキスの筋肉への移行



サバの筋肉を通過し表面に出てきたアニサキス

11

## 形態観察



12

## アニサキス虫体の保存



1隻ずつ生理食塩水中で冷凍保存

13

## *Anisakis simplex*コントロールDNAの探索

【方法】 アニサキスアレルギーに関与

冷凍保存している虫体を半分に切断し、DNAを抽出  
Dneasy Blood & Tissue Kit (キアゲン)

↓

DNA濃度測定

↓

PCR・アガロースゲル電気泳動確認

↑  
*A. Simplex*に特異的なプライマー

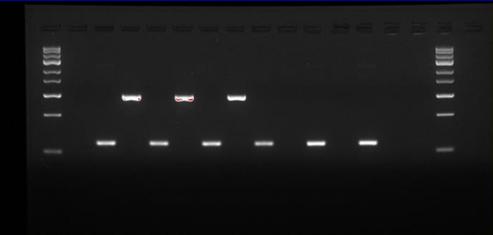


14

## *A. simplex*コントロールDNAの検出

サバ由来    アジ由来    イワシ由来

1    ②    ③    ④    5    6



アニサキス虫体から抽出したDNAのPCR後のアガロース電気泳動写真

*A. simplex*のコントロールDNAを得た。  
DNA濃度 0.1~0.3 µg/mL

15

## リアルタイムPCRによる*A. simplex* DNAの検出

【予備試験】  
サバ 2g + アニサキス虫体1隻

↓

乳鉢で十分にすりつぶす

↓

試料200 mgからDNA抽出  
NucleoSpin Food (MACHERY-NAGEL)

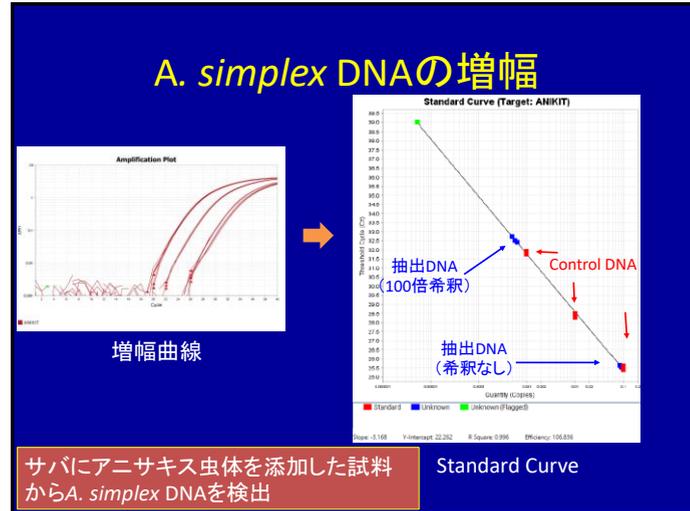
↓

リアルタイムPCR  
(*A. simplex*に特異的なTaqManMGBプローブ)

リアルタイムPCR



16



17

## 今後の計画

18

### 計画 1: 水産食品の粉末化

リアルタイムPCR、LC-MS/MS分析の試料は微量

↓

試料の均一化が重要

↓

水産食品の粉末化を検討

19



20

## 検査対象の水産食品



缶詰 11

その他の水産食品 16

21

## 計画 2: 水産食品からの *A. simplex* DNAの検出

【方法】

粉末にした水産食品 (27試料) 200 mg



DNA抽出

NucleoSpin Food (MACHERY-NAGEL)



リアルタイムPCR



リアルタイムPCR

22

## 計画3: アニサキス抗原検出法の開発

【方法】

リコンビナントタンパク (*Ani s 1*) の入手  
*A. simplex* アレルゲン



タンパク質分析前処理  
(消化キット: waters)



測定するペプチドの選択  
(Skyline software)



LC-MS/MS



LC-MS/MS

23

## まとめ

### 1 進捗状況

- ① アニサキス虫体の採取
- ② *A. simplex* のコントロールDNAの探索
- ③ リアルタイムPCRによる *A. simplex* DNAの検出

### 2 今後の計画

- ① 水産食品の粉末化
- ② 水産食品からの *A. simplex* DNAの検出
- ③ アニサキス抗原検出法の開発

24