

課題番号7

本県流通の水産食品の ヒスタミン産生菌汚染状況調査

衛生化学部

○恒益知宏 高山清子
松川浩子¹⁾ 黒木麻衣 落合克紀²⁾

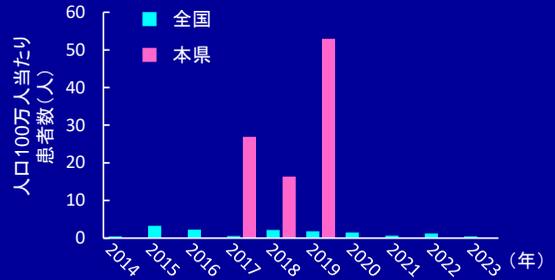
微生物部

福留智子 引地恵一 成田 翼

1)現 都城食肉衛生検査所 2)現 環境管理課

1

過去10年間のヒスタミン(Hm) 食中毒患者数



参照: 厚生労働省, 食中毒 4. 食中毒統計・調査結果。
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/index.html

2

本県におけるHm食中毒の 原因魚種と原因菌種

原因魚種

2017～2019年 シイラ(鮮魚)

原因菌種

2017年 *Raoultella planticola*

2018、2019年 *Photobacterium damsela*

シイラの加工段階における温度管理の不備が原因

参照: 上原直美, 保田和里, 前田智子 他. 鮮魚中のヒスタミン産生菌に与える温度管理の影響について. 宮崎県衛生環境研究所年報 2019:31-69-71.

3

水産加工品によるHm食中毒(全国)

年	自治体	品名	分類
2020	東京都区部	きつねうどん(だしパック)	だし
2018	札幌市	さんまの干物	干物
	鹿児島県	サバの干物	
2017	岡崎市	さばみりん干し	干物
2016	東京都区部	イナダの一夜干し	
2015	埼玉県	さんま一夜干し	干物
	東京都区部	ぶりのいしる漬干し焼き	
2012	和歌山県	うるめいわし丸干し	干物
	東京都区部	魚の天日干し	
2010	北九州市	いわし丸干し	干物
	青森県	さば水煮(缶詰)	
2008	神奈川県	クロカワカジキ味付き	冷凍食品

参照: 厚生労働省, 食中毒 4. 食中毒統計・調査結果。
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/index.html

4

目的

1 本県に流通する水産食品※
のHm産生菌汚染状況

※シイラ(鮮魚)及び水産加工品

2 保管条件や加工技術の
Hm産生能への影響

本県に流通する水産食品を原因とする
Hm食中毒の予防のための知見とする

5

1 本県に流通する水産食品の Hm産生菌汚染状況

6

対象

- 鮮魚
- シイラ（内臓）・・・20尾（県内漁港）
 - ・本県の過去のHm食中毒における原因魚種
 - ・内臓未処理の鮮魚では高濃度にHm蓄積
- 水産加工品
- 缶詰、冷凍食品・・・検体数 多
 - ・過去にHm食中毒の原因となっているものの、Hm産生菌汚染状況の調査事例が少ない
 - 干物・・・検体数 少
 - ・過去にHm食中毒の原因となっており、Hm産生菌汚染状況の調査事例が多い

方法

- 対象
- 鮮魚：シイラ（内臓）・・・20尾（県内漁港）
 - 加工品：缶詰など・・・24品目
- 方法
- 試料採取
 - Histidine Broth 増菌培養 (30°C、24hr)
 - Niven's gar Hm産生菌の分離 (30°C、24hr)
 - PCR Hm産生菌特異的遺伝子の検出
 - シーケンサー Hm産生菌の推定

7

8

結果

鮮魚	検体数	菌種(検出数)	検出率(%)
シイラ(内臓)	20	<i>P. damsela</i> (18) <i>Enterobacter aerogenes</i> (2)	100

水産加工品	検体数	菌種(検出数)	検出率(%)
缶詰	11	検出しない	0
冷凍食品	8	検出しない	0
干物(サバ)	2	<i>R. planticola</i> (1)	50
干物(アジ)	2	検出しない	0
だし(煮干)	1	検出しない	0

9

水産加工品 原材料魚種

水産加工品	検体数	サバ	アジ	イワシ	ブリ
缶詰	11	10		1	
冷凍食品	8	6	1		1
干物	4	2	2		
だし(煮干)	1		1		

10

2 保管条件や加工技術のHm産生能への影響

↓
Hm蓄積抑制効果を有する方法の検討

11

Hm蓄積抑制効果に関する研究

Hm産生菌の増殖抑制

- 温度管理（上原ら，2019. 当研究所）
- 食塩濃度（山本ら，1991. 当研究所）
- 精油（保ら，2017. 鹿児島県水産技術開発センター）

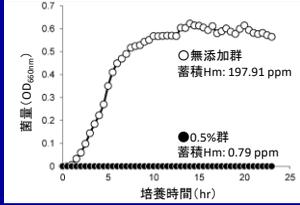
▶ 精油のHm食中毒リスク低減化への有用性

12

柑橘精油の抗菌活性: 先行研究

菌種: Hm産生菌 *Photobacterium angustum*
精油: 柑橘精油 (文旦)

培養条件: 30°C、23hr



菌の増殖抑制効果
→ 有り

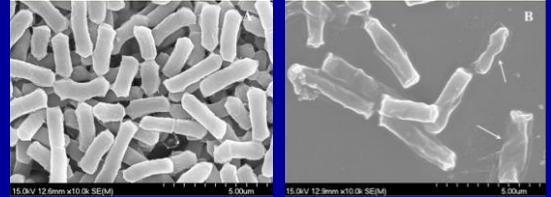
Hm蓄積抑制効果
→ 有り (99.6%)

参照: 保聖子, 里見正隆, 舊谷亜由美 他. うるめいわし丸干における柑橘精油添加によるヒスタミン蓄積抑制効果について. 日本水産学会誌 2017; 83(5): 769-776.

13

柑橘精油の抗菌活性: 作用機序

菌種: *Escherichia coli* (※Hm産生菌もGram陰性)
精油: 柑橘精油 (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*)



未処理

処理済 (膜傷害活性)

参照: Ze-Hua Li, Ming Cai, Yuan-Shuai Liu et al., Antibacterial Activity and Mechanisms of Essential Oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*. Molecules 2019; 24: 1577.

14

柑橘精油の抗菌活性調査: 対象

菌種: Hm産生菌 *P. damsela*

- 本県の過去のHm食中毒における原因菌
- 本調査において最も検出されたHm産生菌

精油: 柑橘精油 (へべす及び日向夏)

- 本県特産柑橘類
- 県内にて購入可能 (食品添加物使用可)

15

柑橘精油の抗菌活性調査: 方法

対象 菌種: Hm産生菌 *P. damsela* (本調査で分離した株)
精油: 柑橘精油 (へべす及び日向夏)

- 0.5% L-His塩酸塩・1.5% NaCl含有TSB培地 5 mL
- 10⁸ cfu/mL菌液を10 μL接種 (2.0 × 10⁵ cfu/mL)

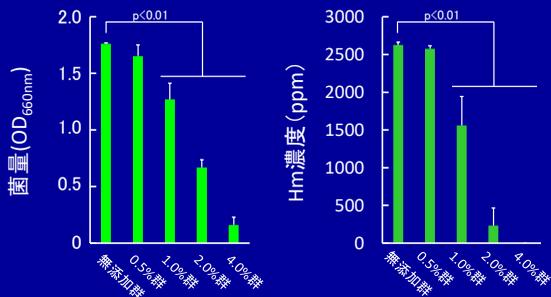
方法

- 各柑橘精油を0.5、1.0、2.0、4.0%となるよう添加
- 30°C、23hr 振とう培養
- 菌量 (紫外可視分光光度計)・Hm濃度 (LC-MS/MS)

参照: 保聖子, 里見正隆, 舊谷亜由美 他. うるめいわし丸干における柑橘精油添加によるヒスタミン蓄積抑制効果について. 日本水産学会誌 2017; 83(5): 769-776.

16

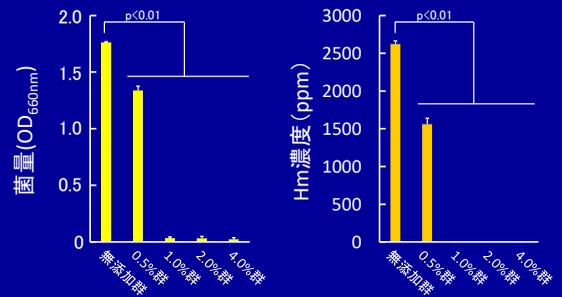
へべす精油の抗菌活性



▶ *P. damsela*に対し、濃度依存性の抗菌活性を有する

17

日向夏精油の抗菌活性



▶ *P. damsela*に対し、濃度依存性の抗菌活性を有する

18

考察

19

鮮魚のHm産生菌汚染状況

鮮魚(シイラ)	検体数	菌種(検出数)	検出率(%)
既報	4	<i>Klebsiella</i> spp. (2) <i>Morganella morganii</i> (2)	100
本調査	20	<i>P. damsela</i> (18) <i>E. aerogenes</i> (2)	100

- ▶ シイラの検体全てからHm産生菌が検出
- ▶ 本県のHm食中毒事例と魚種及び菌種が一致

参照: 新井輝義, 池内容子, 岸本泰子 他. 卸売市場で流通する鮮魚, 魚介類加工品及び浸け水のヒスタミン生成菌汚染状況. 東京都健康安全研究センター研究年報 2007;58:245-250.

20

水産加工品のHm産生菌汚染状況

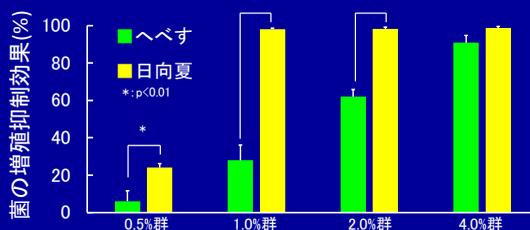
水産加工品	検体数	菌種(検出数)
缶詰	11	検出しない
冷凍食品	8	検出しない

- ▶ 製造過程においてHm産生菌が除去
- ▶ Hm食中毒リスクが低い

21

菌の増殖抑制効果: へべすvs日向夏

$$\text{効果(\%)} = [(\text{無添加群} - \text{投与群}) / \text{無添加群}] \times 100$$

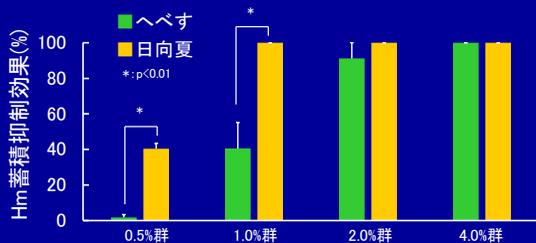


▶ 抗*P. damsela*活性: へべす < 日向夏

22

Hm蓄積抑制効果: へべすvs日向夏

$$\text{効果(\%)} = [(\text{無添加群} - \text{投与群}) / \text{無添加群}] \times 100$$



▶ Hm食中毒リスクの低減化に柑橘精油の添加が有用である可能性が示唆される

23

柑橘精油の抗菌活性

	菌種	柑橘精油	Hm蓄積抑制効果
既報	<i>P. angustum</i>	文旦	有り
本調査	<i>P. damsela</i>	へべす・日向夏	有り

▶ Hm産生菌と柑橘精油の種類の組合せの調査が必要

参照: 保聖子, 里見正隆, 菅谷亜由美 他. うるめい丸干における柑橘精油添加によるヒスタミン蓄積抑制効果について. 日本水産学会誌 2017;83(5):769-776.

24

まとめ

1 本県に流通する水産食品のHm産生菌汚染状況

— シイラ(内臓)から*P. damsela*が高頻度で検出された

— 本県のHm食中毒事例と魚種及び菌種が一致

2 保管条件や加工技術のHm産生能への影響

— 本県特産柑橘類へべす及び日向夏の精油にHm食中毒リスクを低減化させる可能性があることが示唆された

— Hm産生菌と柑橘精油の種類のを調査する必要がある