

生食用鮮魚介類等におけるヒスタミン産生菌に関する調査（第2報）

Study of histamine producing bacteria in fresh seafoods to eat raw (The 2nd. report)

宮崎 麻由 中居 真代 有田 富和
那須 務 渡邊 節 沖村 容子
Mayu MIYAZAKI, Masayo NAKAI, Tomikazu ARITA
Tsutomu NASU, Setsu WATANABE, Yoko OKIMURA

平成21年度の調査で生食用鮮魚介類等から分離した代表的なヒスタミン産生菌である *Morganella morganii* および *Klebsiella oxytoca* について、発育至適温度を確認するとともに大型魚が流通する際に凍結と融解が何度も繰り返されると仮定した凍結融解実験を行った。*M.morganii* および *K.oxytoca* の培養温度と菌数、および培養温度とヒスタミン産生量、さらに細菌数とヒスタミン産生量には大きな関連性があり、0℃から25℃の間では25℃に近いほどより短時間で細菌数およびヒスタミン産生量が増加する傾向があった。また、凍結保存していても融解する回数の増加に伴い再び菌が増殖して、ヒスタミンが産生されることを確認した。

キーワード：ヒスタミン；ヒスタミン産生菌；鮮魚介類

Key words : Histamine ; Histamine producing bacteria ; Fresh seafoods

1 はじめに

魚介類を摂食する機会の多い我が国では、ヒスタミンによる食中毒は年間数例～数十例発生し¹⁾、さらに1件あたりの患者数が他の食中毒と比較して多く、大規模な食中毒になることもあるため問題となっている。例えば、宮城県で平成21年に発生した2件のヒスタミンによる食中毒事件のうち、1件は患者数が100名を超えるものであったが²⁾、その理由としてヒスタミンは加熱によっても減少しないため一般的な加熱による食中毒予防対策が有効ではないことがあげられる。

我々は平成21年度に、県内に流通する刺身用マグロなど生食用鮮魚介類等のヒスタミン産生菌による汚染の実態を知るために調査を行った。その結果、78件中22件(28%)から *M.morganii* をはじめとするヒスタミン産生菌12菌種を分離し、生食用生鮮魚介類に高率にヒスタミン産生菌が存在することを確認した³⁾。

また、ヒスタミンによる食中毒の主な原因食品となる大型赤身魚は水揚げ、解体、加工、流通、販売等の流通過程で凍結融解が繰り返されることでヒスタミン産生菌に汚染される機会が多いと考えられているが⁴⁾、これまで、市販される鮮魚の保存温度とヒスタミン産生量やヒスタミン産生菌に関する報告はあるが^{5)~8)}、実際の食品から分離されたヒスタミン産生菌を用いた魚介類の流通から加工までの一連の過程を想定した実験はなされていない。そこで今回、平成21年の調査で分離したヒスタミン産生菌の発育至適温度を特定し、その条件下で凍結融解を繰り返した場合のヒスタミン産生菌の増殖とヒスタミン産生量を測定したので報告する。

2 方法

2.1 発育至適条件の検討とヒスタミン産生量の測定
平成21年の調査で検出された代表的なヒスタミン産生菌である *M.morganii* と *K.oxytoca* を指標菌とし、Histidine Broth に各々最終濃度 10^3 cfu/ml になるように調整し、0℃から25℃まで5℃間隔で培養した。細菌数は経時的に混積平板培養法によって測定し、また、ヒスタミン産生量はキット(チェックカラーHistamine:キッコーマン)を用いて測定した。

2.2 凍結融解実験
0.3%Agar と 10%Glycerine を加えた HistidineBroth を調製し、*M.morganii* と *K.oxytoca* をそれぞれ最終濃度が 10^9 cfu/ml になるように添加した。この培養液をヒスタミン産生菌で汚染された魚介類のモデルとした。2.1 で得られた発育至適条件および一般的な加工室の室温と処理時間から、培養温度を25℃、培養時間を1時間と設定した。さらに食品の保管・流通時の温度を-80℃と仮定して、培養と凍結を50回繰り返した。このサイクルを5回繰り返すごとに、2.1と同様の方法で菌数とヒスタミン産生量を測定した。

3 結果

3.1 発育至適条件及びヒスタミン産生量
細菌数の測定において、*M.morganii* と *K.oxytoca* の両菌とも0℃ではほとんど増加は認められなかったが、室温に近い25℃培養では6時間から増加がみられ、12時間から24時間にかけて最大値に達した。また、10℃の低温であっても約48時間後から増加し、1週間後には両菌とも 10^8 cfu/ml 以上と25℃培養とほぼ同じレベル

に達した（図 1）。

ヒスタミン産生は *M.morganii* では 10℃以上，*K.oxytoca* では 5℃以上の各培養温度でみられ，その産生量は菌数の増加と共に増加する傾向を示した。*M.morganii* は各培養温度のうち 25℃で最も早く最高値に達し，12 時間後から 24 時間までの間に 10³mg/L レベルに達した。一方，*K.oxytoca* は低温である 5℃でも 1 週間後からヒスタミンの産生が認められ，2 週間後には 25℃の場合と同様の 10³mg/L レベルに達した（図 2）。

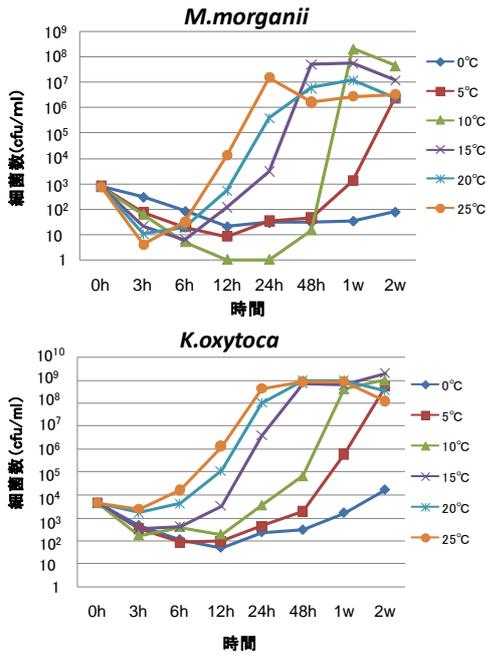


図 1 温度別経時変化（細菌数）

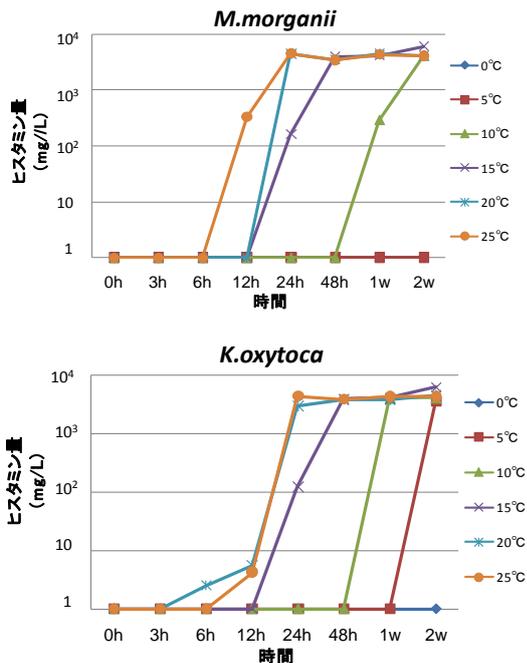


図 2 温度別経時変化（ヒスタミン産生量）

3.2 凍結融解実験

細菌数は，両菌ともに凍結融解を繰り返すことによって一旦減少した後，緩やかな上昇に転じた（図 3）。また，ヒスタミン産生量は培養時間の累積に伴って増加し，*K.oxytoca* は約 35 回で 1,000mg/L (100ppm) を超えた。それに対し *M.morganii* は 40 回以上でヒスタミンの産生が始まり，その産生量は最高でも 100mg/L レベルにとどまった（図 4）。

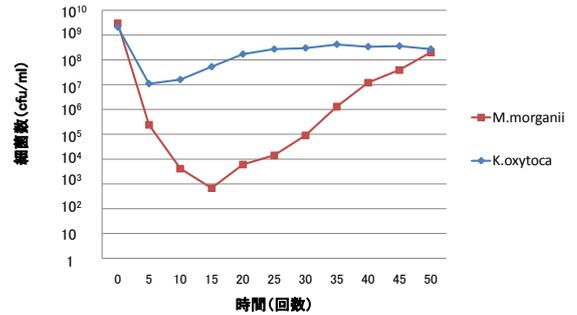


図 3 凍結融解実験（細菌数）

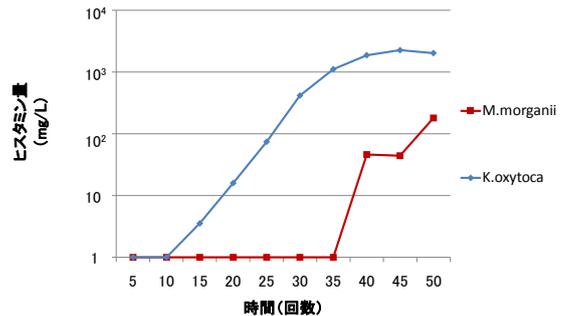


図 4 凍結融解実験（ヒスタミン産生量）

4 考察

代表的なヒスタミン産生菌であり，我々が実際に生食用鮮魚介類から分離した *M.morganii* および *K.oxytoca* は，培養温度と細菌数，培養温度とヒスタミン産生量，さらに細菌数とヒスタミン産生量に大きな関連性があり，特に培養温度が 25℃に近いほど，細菌数とヒスタミン産生量の両者とも短時間で増加する傾向にあった。また，ヒスタミンの生成には 10⁷cfu/g 以上のヒスタミン産生菌の存在が必要であることが報告されている^{9)~11)}。本実験における 25℃培養の *K.oxytoca* ではそれらと同様に 10⁶~10⁸ cfu/ml で顕著なヒスタミンの産生を示したが，さらに 10⁴~10⁶ cfu/ml でもヒスタミンの産生が認められた。*M.morganii* ではさらに少ない 10~10⁴cfu/ml でもヒスタミンの産生が認められた。このことは，*M.morganii* と *K.oxytoca* の両菌とも室温程度で容易に増殖してヒスタミンを産生した結果であり，環境常在菌である他のヒスタミン産生菌でも同様の結果が得

られると推察されることから、魚介類の室温での処理はヒスタミン産生のリスクが高いことを強く示している。

次に、処理や流通過程を想定した菌液の凍結と解凍を繰り返すモデル実験では、*M.morganii*と*K.oxytoca*では細菌数とヒスタミン産生量の経時的変化で異なる挙動を示し、*M.morganii*では培養回数を重ねてもヒスタミンの産生量は*K.oxytoca*に及ばなかった。これは凍結と融解の繰り返しに対する両菌株の耐性の違いに起因すると考えられる。しかし*K.oxytoca*は、一般的にヒスタミンによる食中毒が発生すると言われる1,000mg/L(100ppm)を超える産生量を示したこと、さらに我々の第一報の結果のように実際の生鮮魚介類には複数種のヒスタミン産生細菌が付着していたことを考慮すると、生鮮魚介類の処理や流通過程を重ねることによってヒスタミンによる食中毒が発生するリスクがより高くなると考えられる。ヒスタミンの食中毒の主な原因食品は大型の赤身魚が圧倒的に多く、その代表的なマグロは遠洋で漁獲され、解体、流通するまでの間に多くの加工施設や加工工程を必要とするため、その間の温度や衛生管理の徹底が重要である。

ヒスタミンによる食中毒の防止は、家庭においても生食用であることを過信せずに、鮮魚介類は低温保存し早めに摂食する等、十分注意することが必要である。また藤井らは、ヒスタミンによる食中毒は一般的に化学物質の食中毒やその他の食中毒に分類されているがその防止には他の食中毒と同様に微生物制御という観点が非常に重要である¹²⁾としているが、我々の結果もこのことを強く支持するものである。

5 参考文献

- 1) 平成22年食中毒発生状況：厚生労働省食中毒統計
- 2) 宮城県環境生活部食と暮らしの安全推進課：平成21年宮城県食中毒事件録，10-12（2010）
- 3) 宮崎麻由，平本都香，山口友美，有田富和，加藤浩之，那須務，渡邊節，沖村容子，御代田恭子：宮城県保健環境センター年報，**28**，36-38（2010）
- 4) 伊達佳美，古川一郎，相川勝弘，浅井良夫，尾上洋一：神奈川県衛生研究所研究報告，**38**，19-22（2008）
- 5) 鮫島陽人，鶴木隆文，下野かおり，間世田春作：鹿児島県工業技術センター研究報告，**14**，35-38（2000）
- 6) 新井輝義，池内容子，岸本泰子，石崎直人，柴田幹良，観公子，下井俊子，牛山博文，立田真弓，白石典太，甲斐明美，矢野一好：東京都健康安全研究センター研究年報，**58**，別冊（2007）
- 7) Kim SH,Field KG,Morrissey MT,Price RJ,Wei CI,An H:J Food Prot,**64**(7),1035-1044(2001)
- 8) Tsai YH,Kung HF Lee TM,Lin GT,Hwang DF:J Food Prot,**67**(2),407-412(2004)
- 9) H Yamanaka,K Shiomi,T Kikuchi,M Okuzumi: Bull Japan Soc of Sci Fish,**50**(4),695-701（1984）
- 10) M Okuzumi,S Okuda,M Awano: Bull Japan Soc of Sci Fish,**48**,99-804（1982）
- 11) H Yamanaka,K Shiomi,T Kikuchi,M Okuzumi: Bull Japan Soc of Sci Fish,**48**,685-689（1982）
- 12) 藤井建夫：ヒスタミン食中毒の現状と対策（2009）