

資料2-1

生食用生鮮食品を共通食とする 病因物質不明有症事例を巡る経緯

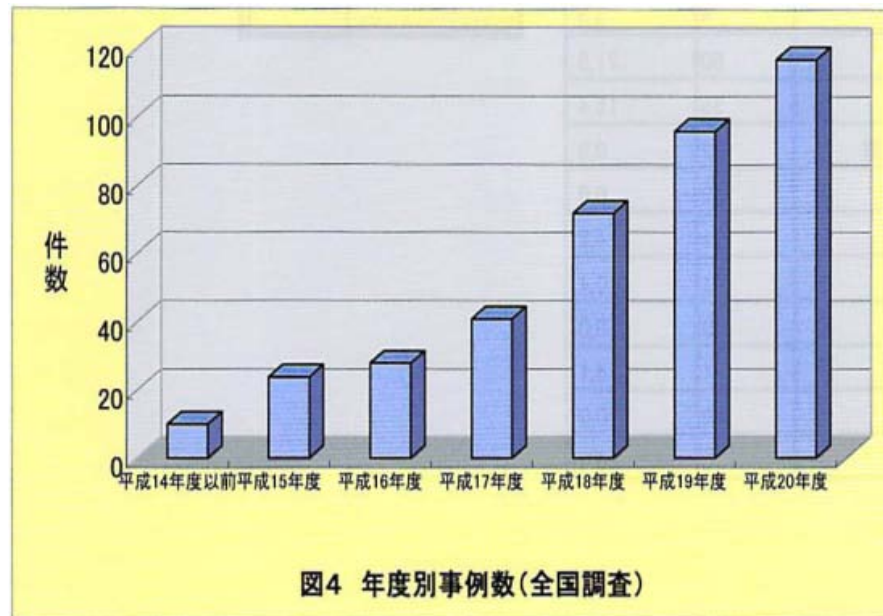
平成23年4月25日

厚生労働省医薬食品局食品安全部
監視安全課

一部マスコミで報道
謎の食中毒
短時間で発症、回復
飲食店、保健所困惑

自治体 食品衛生監視員の気づき

食中毒にならない有症苦情の増加



食中毒等調査に係る病因物質不明事例の 情報及び検体提供の協力依頼 ①

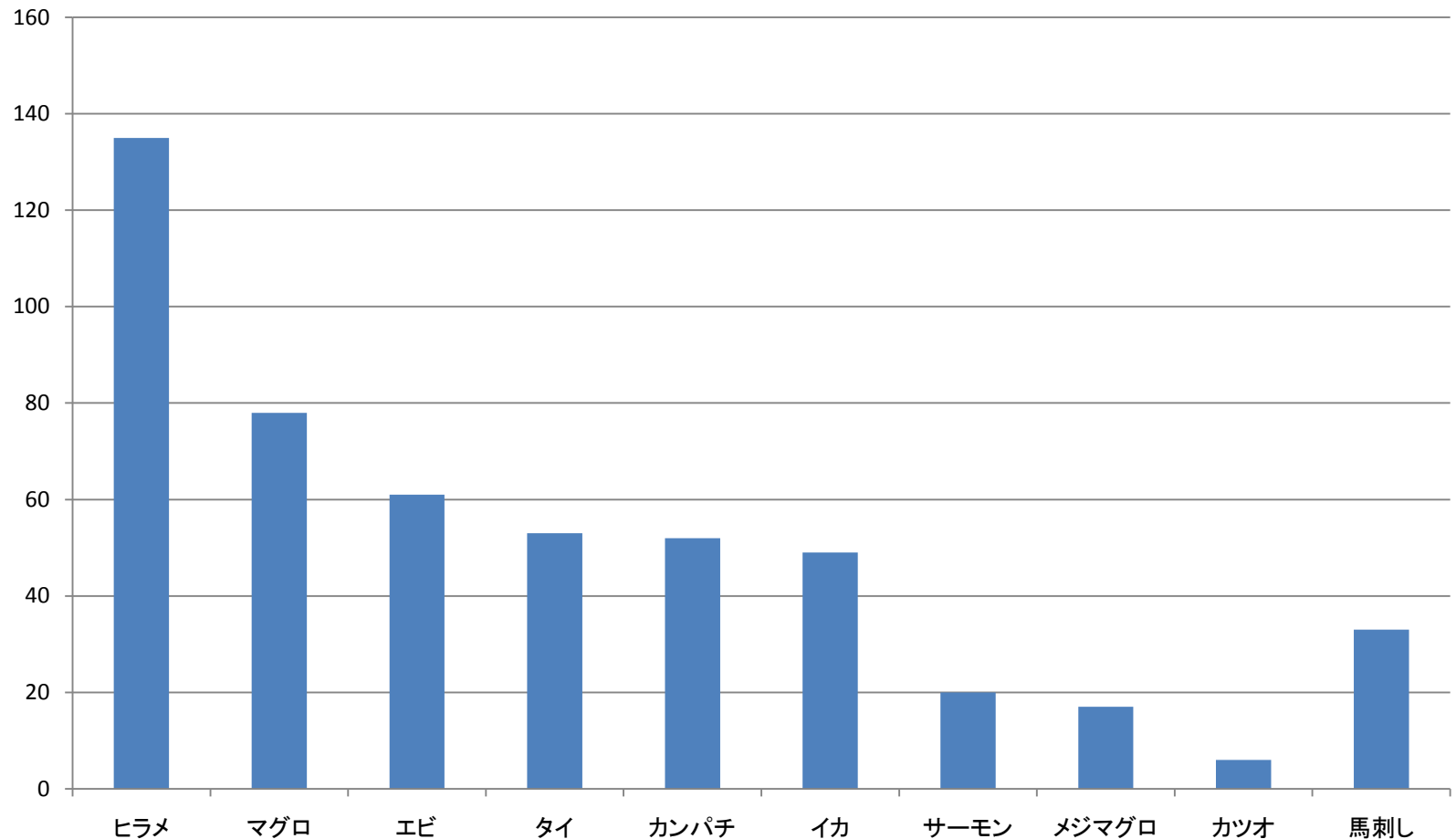
平成21年7月30日付け事務連絡にて全国の
都道府県等あてに情報及び検体提供を依頼

◎ 病因物質不明有症例定義

一過性の下痢、嘔気および嘔吐を主症状とする集団発生であり、既知の病原物質が検出されない、あるいは検出されても症状等と合致しない有症例。

原因不明食中毒等事例中の 推定原因生食用食品の頻度

(平成21年6月～平成23年3月発生事例 198件)



注) 自治体からの報告を集計したもの

A県で発生した食中毒事件

発生日 平成22年10月5日

発生場所 A県他8県

特定の養殖ヒラメを喫食

摂取した者534名 患者113名

症状 1～9時間後に下痢、吐気、嘔吐等
同様の食中毒症状を発症

ヒラメ喫食による原因不明食中毒等の 推定原因物質

年度	提供 サンプル	実験項目	判明したこと
平成 20年度	市場流通 ヒラメ	寄生虫 一般生菌数 <i>Streptococcus parauberis</i>	新種の寄生虫 (<i>Kudoa septempunctata</i>) を発見
平成 21年度	冷凍検体	マリントキシン レクチン 網羅的DNA解析 Kudoa属の検出	陰性 陰性 Kudoa属 が有意に検出 事例の83%から検出
平成 22年度	冷蔵検体 クドア感染 ヒラメ	実験動物および培養 細胞での毒性評価系 リアルタイムPCRの確立	クドア孢子に 嘔吐毒性 下痢原性があった。

食中毒等事例からのクドア検出結果

A県事例のクドア孢子数の分布 (n=74)

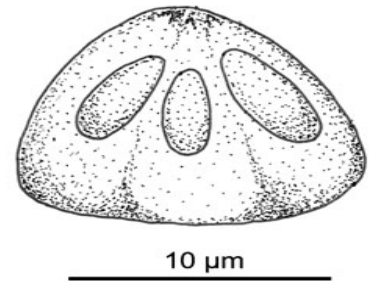
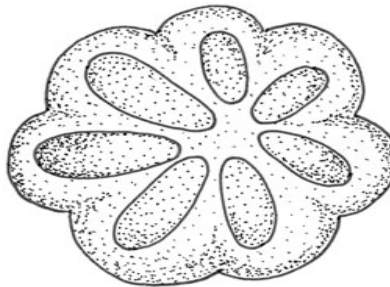
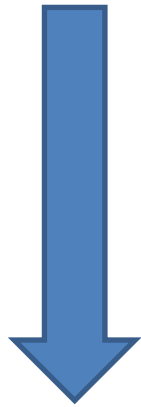
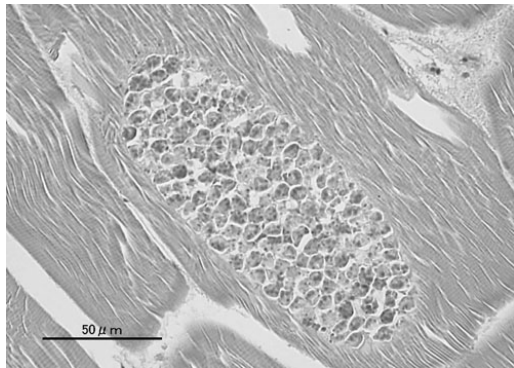
クドア孢子数	個数	全検体に占める比率
$>10^7$	0	0.0
10^6-10^7	19	25.7
10^5-10^6	9	12.2
10^4-10^5	8	10.8
10^3-10^4	2	2.7
$<10^3$	36	48.6

A県事例以外のクドア孢子数の分布 (n=46)

クドア孢子数	個数	全検体に占める比率
$>10^7$	6	13.0
10^6-10^7	16	34.8
10^5-10^6	6	13.0
10^4-10^5	1	2.2
10^3-10^4	0	0.0
$<10^3$	17	37.0

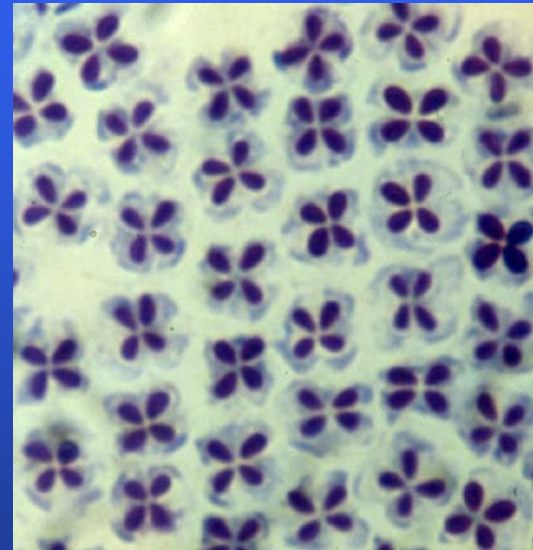
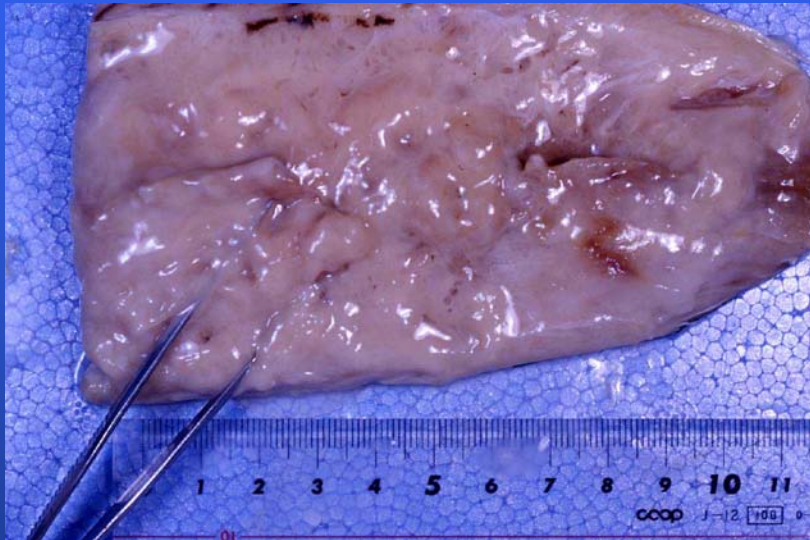
まとめ

- 食中毒等事例ヒラメから高い確率でクドアが検出されている。
- 嘔吐毒性、下痢原性が実験動物で検証されている。



クドアが含まれるヒラメと本原因不明食中毒等とは相関性が高く、クドアが推定原因物質の可能性が高いと考えられた。

クドア属粘液胞子虫について

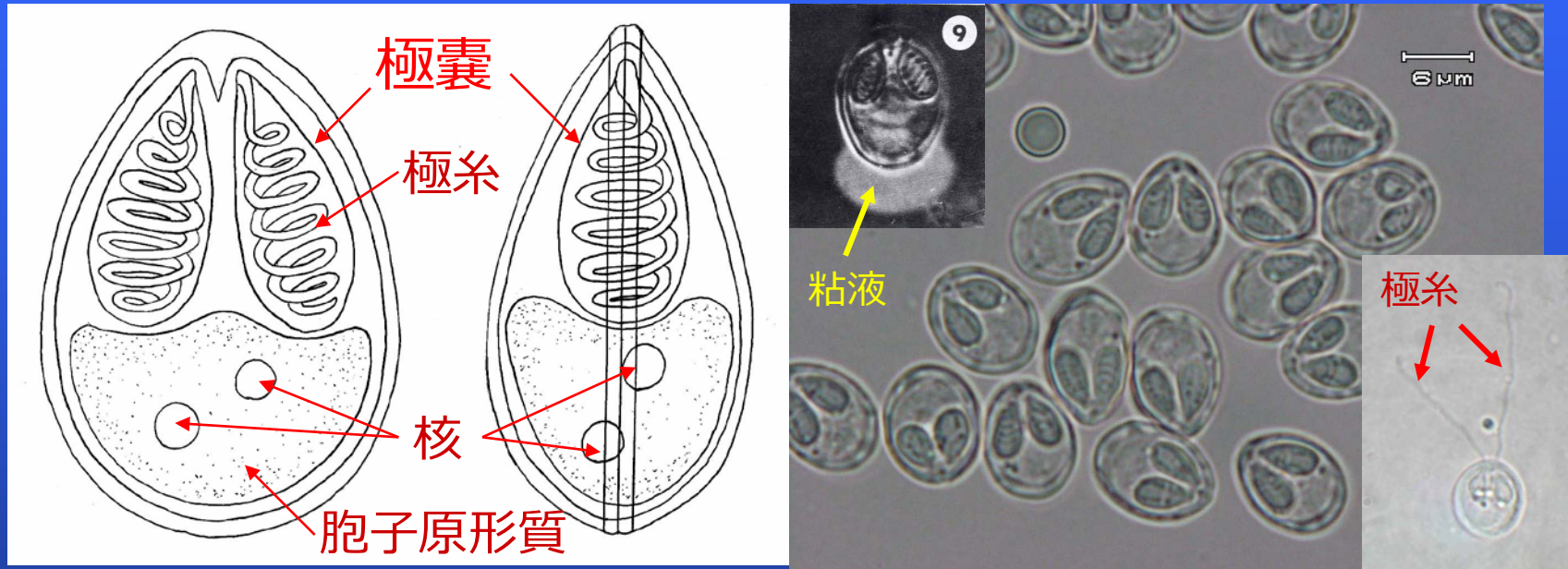


横山 博

(東京大学大学院農学生命科学研究科)

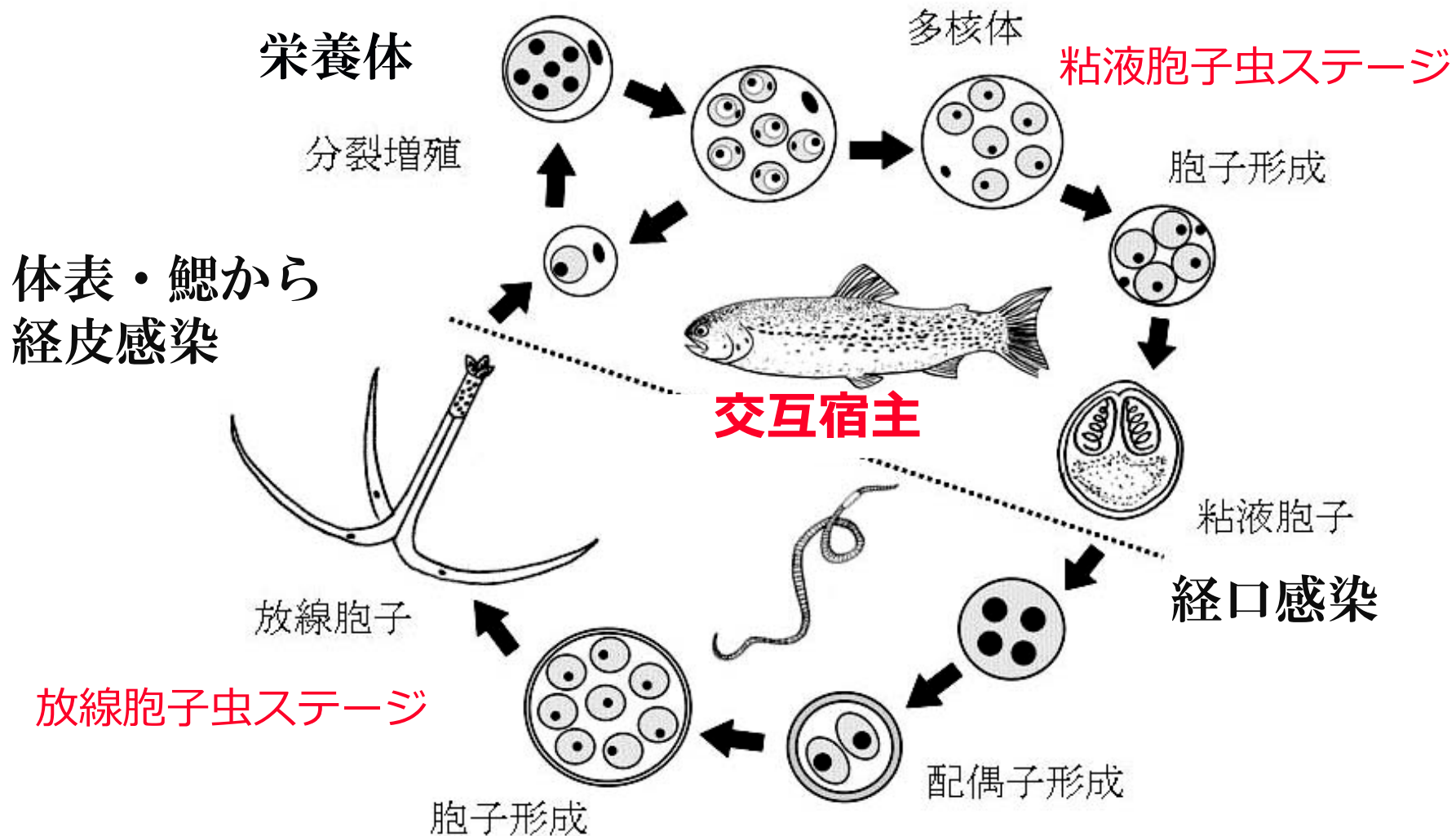
2011年4月25日、於 厚生労働省

粘液胞子虫とは

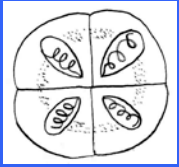


- 極嚢を有する孢子（約10μm）を多数形成する寄生虫
- 原虫ではなく、刺胞動物に近い後生動物（ミクソゾア門）
- 2000種類以上記載されており、ほとんどすべて魚類寄生性
- 人間には寄生しないので、公衆衛生上は無害とされてきた

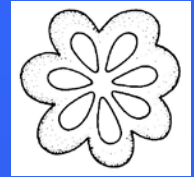
生活環



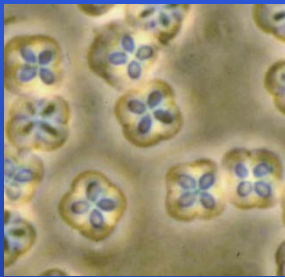
環形動物（淡水種はイトミミズ、海産種はゴカイ等）が介在



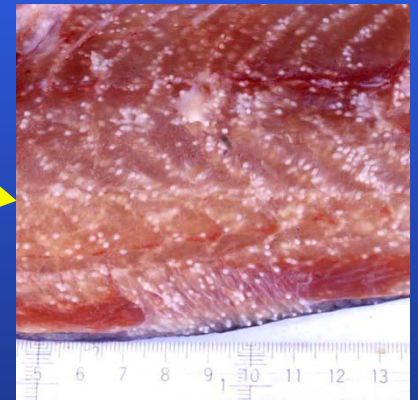
クドアについて



- 極嚢 4 個以上のクドア属粘液胞子虫。
- 多くは海産魚の筋肉に寄生して商品価値を落とす。



→ *K. amamiensis* (ブリ等)
→ 白い米粒状のシスト



→ *K. thyrsites* (ヒラメ等)
→ ジェリーミート



→ *K. septempunctata* (ヒラメ)
→ 肉眼的には無症状

ひらめ喫食と発症に関する疫学調査 資料2-4

国立感染症研究所 感染症情報センター 八幡裕一郎

FETP 11期 豊川貴生、中村奈緒美

- 背景：
 - 原因不明食中毒：これまで疫学的調査→限界多数→精度低
 - 2010年10月特定の養殖ヒラメの事例発生、調査精度比較的高い事例
 - 目的：発症リスク推定、喫食量と発症の関連、発症量の推定
- 対象：
 - 症例定義：2010年10月5日～9日に特定の養殖ヒラメを喫食後、下痢または嘔吐を呈した者
 - 対照：特定の養殖ヒラメを喫食し、2010年10月5日～9日に下痢または嘔吐を呈していない者
- 方法：
 - 調査方法：A県、B市の保健所より調査票を配布、回収
 - 統計解析：Spearmanの順位相関係数、ロジスティック回帰分析（ゼロセルがある場合には全てのセルに1を加算して算出）、発症喫食量の推定（モンテカルロシミュレーションで喫食量[g]とクドアの汚染度[個/g]をそれぞれランダムに抽出して乗算を10万回実施した分布より75パーセンタイル値を閾値として算出）

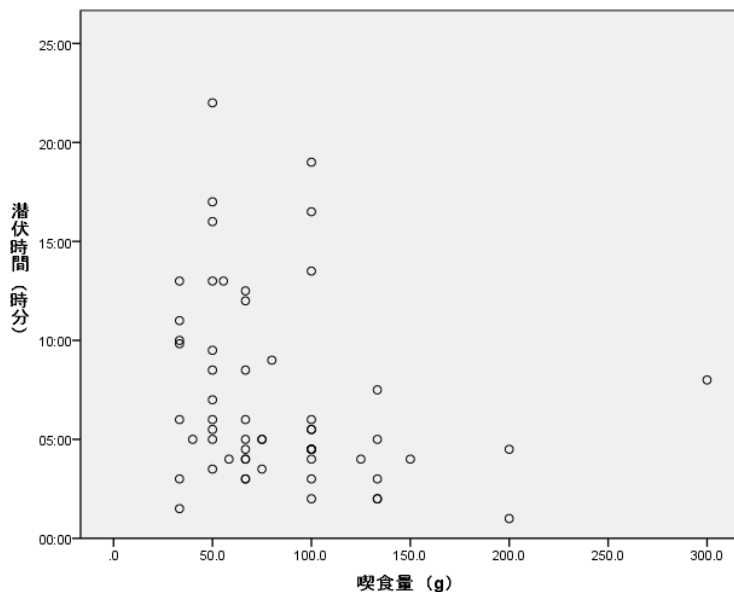
対象者の属性

	症例		対照		合計	
	人	%	人	%	人	%
性別 男	23/96	24.0%	73/96	76.0%		
女	36/135	26.7%	99/135	73.3%		
治療中疾患あり	23/59	39.0%	51/167	30.5%	74/226	32.7%
アレルギーあり	3/59	5.1%	13/167	7.8%	16/226	7.1%
保管方法冷蔵	28/58	48.3%	109/171	63.7%	137/229	59.8%

発症者の症状・喫食量

			中央値	範囲	
	人	%			
発症者	59/233	25.3%	年齢 発症者	62.0歳	13.0 - 90.0歳
発熱	11/56	19.6%	(非発症者	60.5歳	1.0 - 91.0歳)
嘔吐	34/59	57.6%	潜伏期	5.0時間	1.0 - 22.0時間
下痢	47/59	79.7%	24時間下痢回数	3.0回	1.0 - 20.0回
腹痛	25/59	42.4%	喫食量 発症者	66.7g	33.3 - 300.0g
			(非発症者	77.5g	20.0 - 300.0g)

ひらめ喫食量(g)と潜伏時間



$r=-0.341$

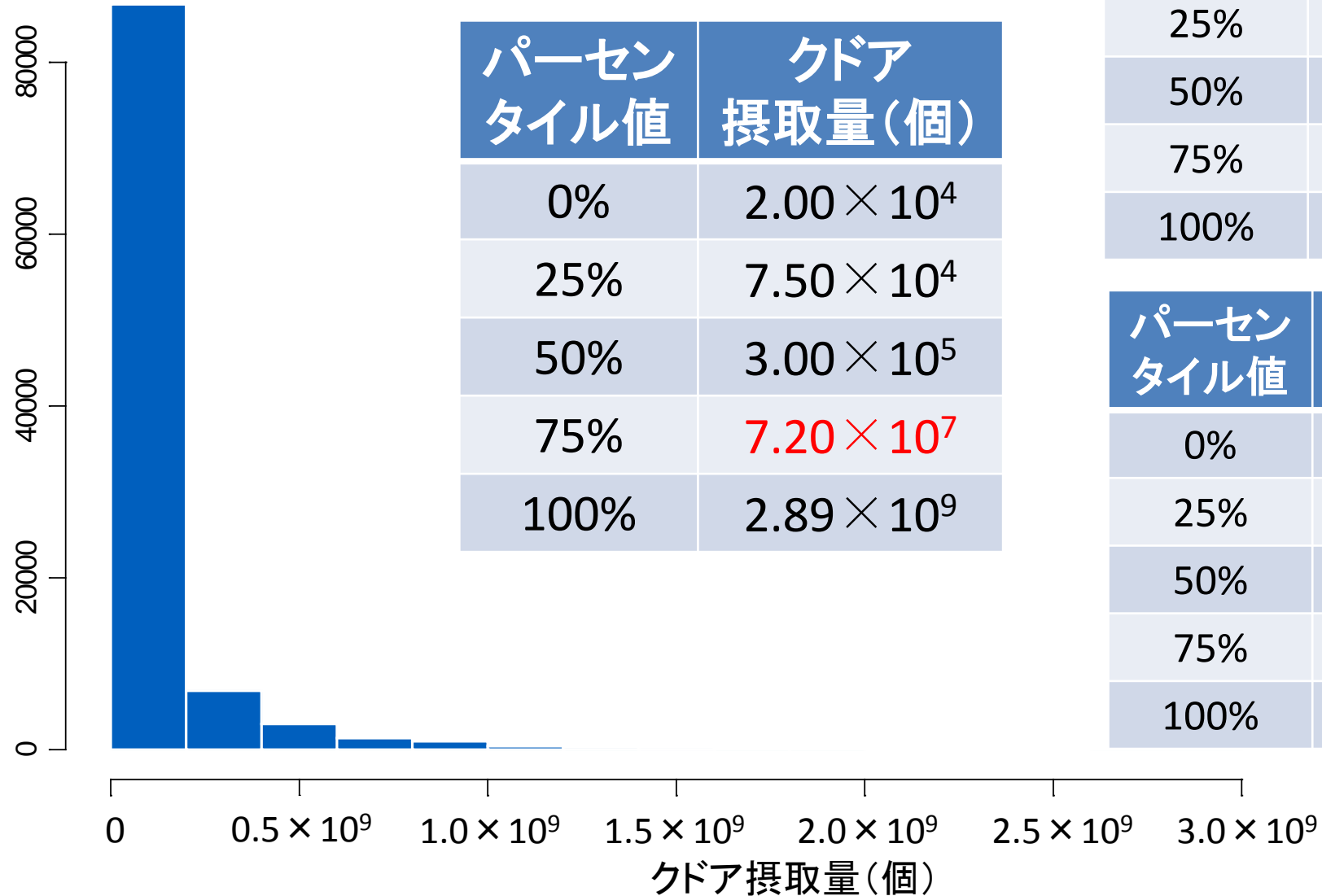
$p=0.009$

r : Spearmanの相関係数

発症と健康状態及び喫食方法

	症例		対照		合計	
	人	%	人	%	OR	95%CI
通院・治療中の疾患あり	23/59	39.0%	51/167	30.5%	1.45	0.78-2.70
アレルギーあり	3/59	5.1%	13/167	7.8%	0.64	0.17-2.31
調理法・生	59/59	100.0%	156/174	89.7%	7.26	0.95-55.44
調味料・景品同封ポン酢	36/59	61.0%	70/174	40.2%	2.33	1.27-4.26
調味料・自宅ポン酢	0/59	0.0%	14/174	8.0%	0.73	0.18-1.38

発症に繋がるクドア摂取量(個)



パーセン タイル値	クドア 摂取量(個)
0%	2.00×10^4
25%	7.50×10^4
50%	3.00×10^5
75%	7.20×10^7
100%	2.89×10^9

パーセン タイル値	ひらめ 摂取量(g)
0%	20.00
25%	50.00
50%	66.67
75%	100.00
100%	300.00

パーセン タイル値	汚染度 (個/g)
0%	1.00×10^3
25%	1.00×10^3
50%	4.50×10^3
75%	1.07×10^6
100%	9.63×10^6

スunksに対する嘔吐毒性

スunksは嘔吐する実験動物として、
各種嘔吐モデルに使用されている

精製クドアをスunksの胃内に直接投与

投与後20～30分で嘔
吐を開始する



1回の投与で3回以上
の嘔吐を繰り返す

- ヒラメを食べるように訓練したスunksに自由摂食させても嘔吐は起こる
- クドアの容量依存的に嘔吐を起こす確率が上昇する
- 凍結したクドアでは嘔吐を起こさない

乳のみマウスに対する下痢毒性

乳のみマウスの胃内に精製クドアを直接投与

投与後1.5時間

- 腸管に液体貯留が認められる

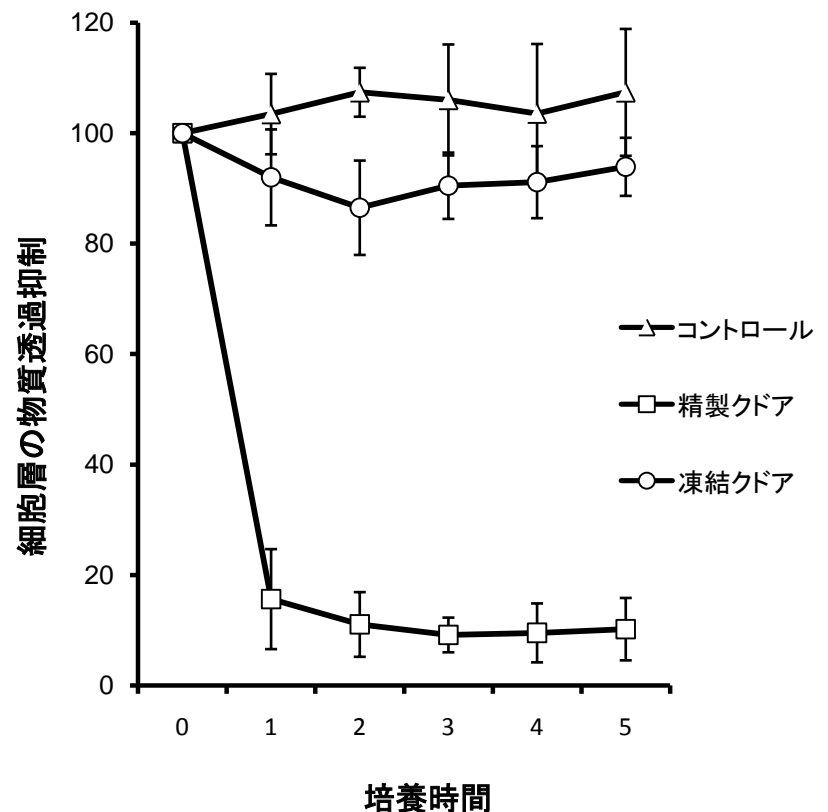
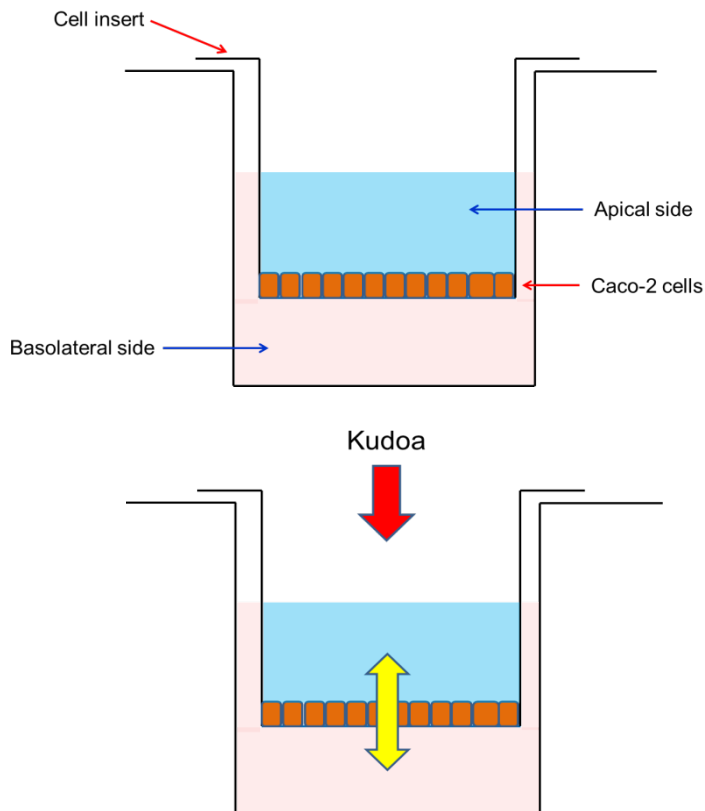
投与後4時間

- 下痢として排出される
- 液体貯留は解消される

ヒト細胞に対する毒性

Caco-2細胞は下痢症状のモデルとして使用されている

精製クダア接種時のCaco-2細胞層の物質透過抑制を測定



毒性評価に用いられた実験系とその結果

	スunks	乳のみマウス	ヒト腸管細胞
毒性症状	嘔吐	腸管の水分貯留	細胞層の物質透過抑制
クドア含有 ヒラメホモジネイト	毒性あり ($4 \times 10^7/g$ 以上)	毒性あり ($5 \times 10^7/g$ 以上)	毒性あり ($10^5/g$ 以上)
クドア非含有 ヒラメホモジネイト	毒性なし	毒性なし	毒性なし
精製クドア	毒性あり ($6 \times 10^7/g$ 以上)	毒性あり ($5 \times 10^7/g$ 以上)	毒性あり ($10^5/g$ 以上)

馬肉喫食による原因不明食中毒 ＜原因病原体の調査研究＞

- ・馬肉を共通食とする有症事例の検査
→馬肉から細菌、ウイルスが検出されない
- ・獣医学領域では
→家畜の筋肉(喫食)部分に寄生虫

平成21年度：
通販流通馬肉・有症事例馬肉検査

ウシ・ブタ・ヒツジ・ヤギ・ウマ
住肉胞子虫：*Sarcocystis*属

- ・ウシ寄生*S. cruzi*のシストに毒性タンパク質
→ウサギに下痢、血圧低下、死亡



Sarcocystis fayeri

馬肉に寄生する住肉胞子虫 *Sarcocystis fayeri*

人には寄生しない

腸粘膜上皮細胞に侵入
次世代形成



終宿主



スポロシスト

環境に拡散

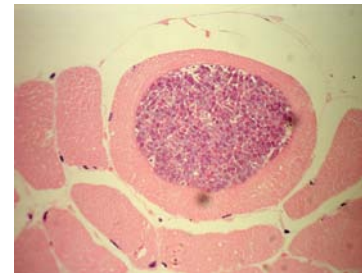
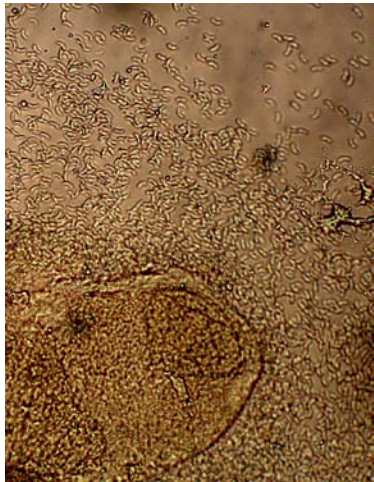
中間宿主



シスト



ブラディソイト



酸・ペプシン耐性
(胃を通過)

有症苦情事例の疫学解析

Case	Odds ratio	Interval estimation (CI)
1	13.29	0.44 – 399.70
2	5.65	1.03 – 31.07
3	27.44	1.25 – 601.50
4	8.85	0.46 – 172.00
5	53.14	6.68 – 422.66
6	37.63	1.93 – 733.00

市場流通馬肉のシスト検査

区分	検体数	陽性数	感染率 (%)	シスト数 (/cm ²)
全体	33	29	88	5.7
外国産	26	26	100	6.1
日本産	7	3	43	2

有症苦情事例馬肉のシスト検査

事例番号	シスト(/cm ²)		ブラディゾイト換算数
	大	小	
1	0	420	4,536,000
2	0	210	2,268,000
3	0	209	2,257,200
4	0	159	1,717,200
5	45	0	9,450,000
6	0	150	1,620,000
7	13	122	4,047,600
8	0	101	1,090,800
9	43	0	9,030,000

平均ブラディゾイト数	210,000	10,800	4,001,867
------------	---------	--------	-----------

推定喫食ブラディゾイト数
(最少シスト数 × 喫食馬肉量)
 101 × 10,800 × 24 (g)
 = **26,179,200**

馬肉中住肉胞子虫 *S. fayeri*の毒性

	ウサギ毒性試験
	腸管ループ試験*
シスト含有馬肉ホモジネート	腫脹、液体貯留
シスト非含有馬肉ホモジネート	陰性
シスト	腫脹、液体貯留
ブラディゾイト	腫脹、液体貯留

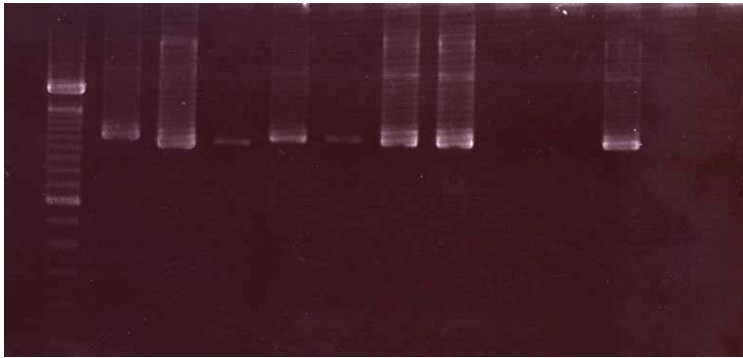
*腸管ループ試験: 腸管を結紮、ループを作り、その中に直接検査材料を注入する。腸管毒性、とくに下痢原性を証明する試験。

*S. fayeri*シストのタンパク質分析

- ・*S. cruzi*と同様、15 KDaタンパク質あり
- ・ウサギに下痢、血性下痢、死亡を誘導

Sarcocystis による食用馬肉の汚染 実態調査

- ① 馬肉中の *Sarcocystis* の種あるいは株は何かを遺伝子レベルで特定する (定性的PCR)
- ② 特定された *Sarcocystis* の汚染の程度を定量的に調べる (定量PCR)



① 食用馬肉からの *Sarcocystis* DNA の検出

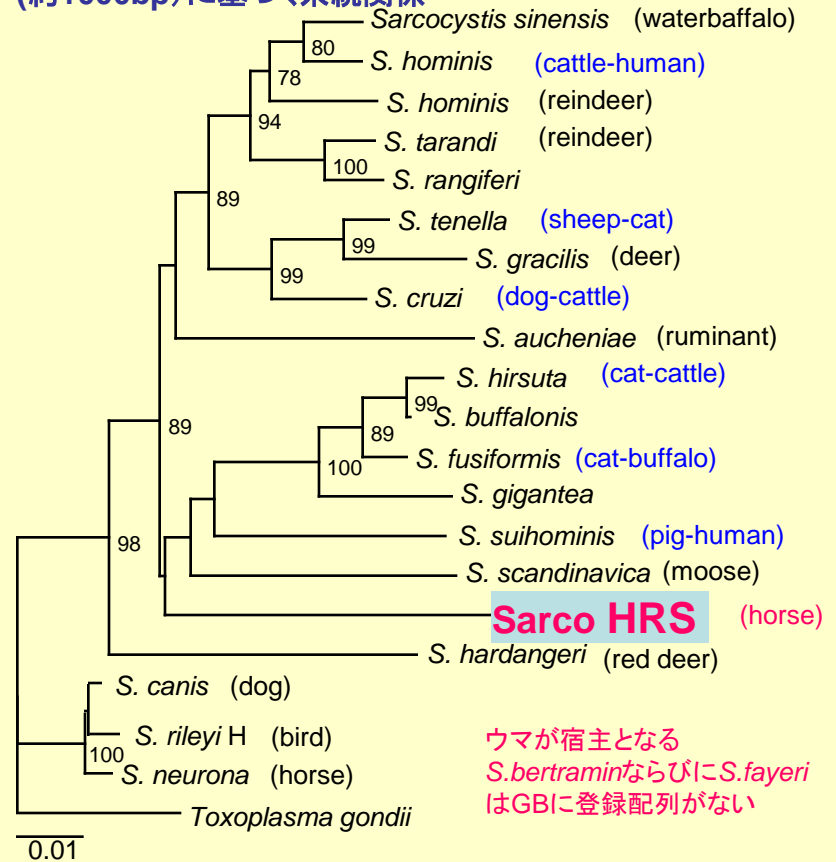
方法: *Sarcocystis* 属の 18SrRNA 遺伝子 (高変異領域) を部分増幅する PCR



増幅 DNA 産物のシーケンス解読

資料 2-7

① *Sarcocystis* の 18SrRNA 遺伝子の塩基配列 (約 1000bp) に基づく系統関係



- ・喫食馬肉および市販流通品からの PCR 産物のシーケンスは一致した。
- ・シーケンスは既知の *Sarcocystis* と一致せず、馬肉株特異的と考えられた (以後、このシーケンスを症例タイプと表現)

②国内と畜および輸入馬肉における *Sarcocystis* (症例タイプ) 汚染調査結果

検体	検体数	検出量: 最少 — 最大 (単位: コピー数/g肉重量)		備考
食中毒喫食残品	2	1.2 x10 ⁶ — 6.6 x10 ⁶		H県事例残品
検体採取地	検体数	陽性数	最少 — 最大	備考
国産品(A県)	5	0	非検出 — 1.7 x10 ⁵	
国産品(B県)	5	0	非検出 — 1.7 x10 ⁵	
国産品(C県)	6	0	非検出 — 4.1 x10 ⁵	
国産品(D県)	5	0	非検出 — 1.7 x10 ⁴	
国産品(E県)	5	0	非検出 — 8.3 x10 ⁴	
国産品(F県)	5	0	非検出 — 1.7 x10 ⁴	
国産品(G県)	10	1	非検出 — 5.0 x10 ⁶	1検体の5DNA試料中の1試料が+
輸入品	9	7	非検出 — 5.0 x10 ⁷	輸入業者は3社
計	50	8		

* ここでの陽性数とは喫食残品検出最少量を上回った試料数とした。

* 1検体につき5ヶ所の検査で最低1ヶ所陽性であれば、その検体を陽性とした。

* 検出限界は1.7 x10³/gと算出(1コピー/μ l x100 μ l x5/0.3g)

- ・輸入肉では、残品と同程度あるいはそれ以上の検出量が多い。検出量は同一検体内でばらつく。輸入業者間で肉汚染の程度に差があるか？
- ・国内の検体はおしなべて低汚染。高い検出量の場合も肉全体で見れば部位は極めて限局的。

クダアの検査法

資料2-8

➤ 食中毒の原因究明のための検査法

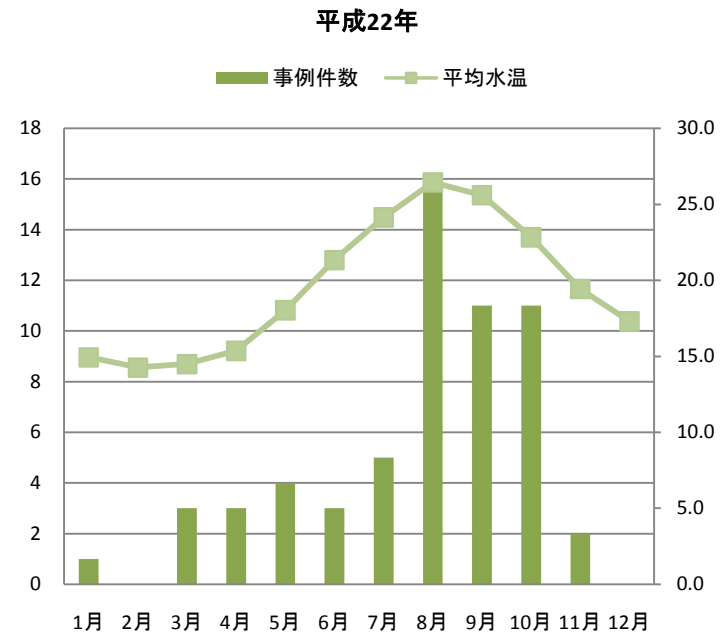
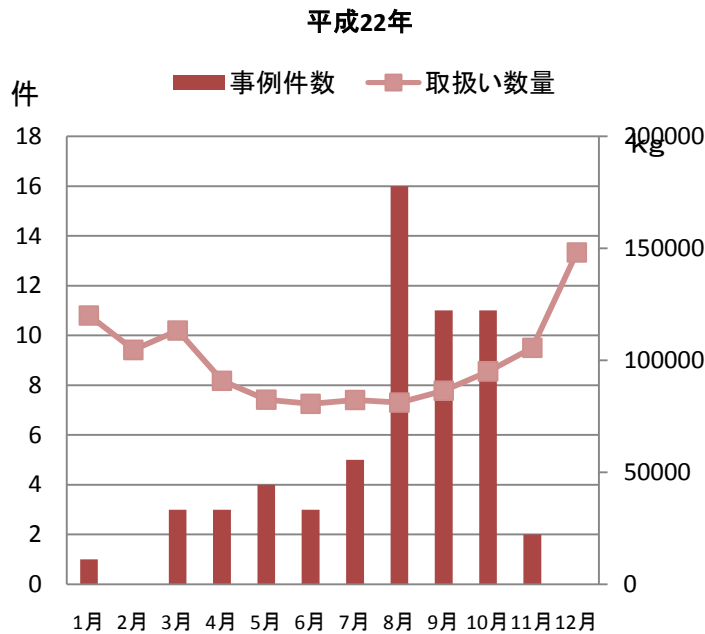
- DNAを用いた定量リアルタイムPCR ーテンプレートを配布する予定
- 顕微鏡所見でクダア胞子を確認する

➤ 養殖場でのモニタリングのための検査法

- ヒラメに寄生する3種類のクダアを区別できるPCR
- スクリーニングで用いられる鰓蓋裏の筋肉を用いた簡易診断法（顕微鏡検）

予防対策（疫学的観点から）

- ヒラメ喫食による食中毒事例が夏季に多いことから季節性がある。



- 取扱い量との相関は認められなかった
- 水温との相関性が考えられる

- クドアは低温では毒性が弱い可能性が考えられる

予防対策(実験的観点から)

	スunks	乳のみマウス	ヒト腸管培養細胞 (Caco-2)
冷蔵(4°C-10°C)	日数とともに毒性減少	日数とともに毒性減少 [約1週間で失活]	
用量依存性	あり (10 ⁶ クドア孢子/ 一匹以下は発症せず)	あり(10 ⁵ クドア孢子/ 一匹以下は発症せず)	10 ⁵ クドア孢子以下は 毒性反応なし
冷凍(-80°C、2時間以上)		失活	
冷凍(-30°C、1日)		失活	
pH		pH4-8 処理で毒性変化なし	
冷凍(-20°C、4時間以上)			失活
タタあと氷漬け			失活の可能性あり
加熱(75°C 5分)		失活	

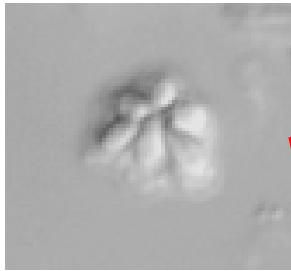
まとめ

- 冷凍、加熱ではグダアの毒性がなくなるが、現実にはすぐわないので、そのほかの方法も検討した。
- 養殖場での管理—グダアフリーヒラメの育成
低温環境での飼育
- 氷詰めでの保存が、良好な結果が得られているが、さらに再現性や検証が必要である。

養殖場での検査法

資料2-9

東京大学大学院農学生命科学研究科
横山 博



ヒラメの筋肉に寄生する粘液胞子虫	極囊数
<i>Kudoa septempunctata</i> (食中毒の原因)	6~7
<i>Kudoa thyrsites</i> (ジェリーミートの原因)	4
<i>Kudoa lateolabracis</i> (ジェリーミートの原因)	

→3種類を識別して診断する必要がある。

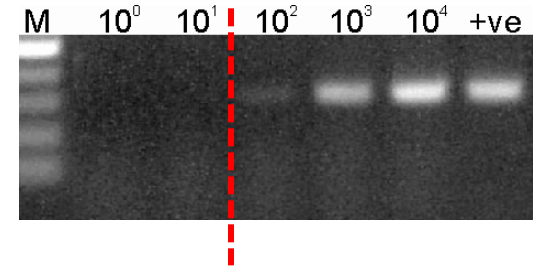
● 形態的には極囊の数で区別できるが、孢子形成前の段階(種苗の時期)では検出できない。

● 18S rDNAに基づくPCR法では3種類とも陽性に判定してしまう危険性がある。

PCR法による検出

種類	28S rDNAに基づくPCRプライマー
<i>K. septempunctata</i>	KSF1: 5'-gtg tgt gat cag act tga tat g-3' KSR2: 5'-aag cca aaa ctg ctg gcc att t-3'
<i>K. thyrsites</i>	KTOF1: 5'-gtg tgt gac tgg ata gag ttg a-3' KTOR1: 5'-ccc caa gtt aat ttg tta atc a-3'
<i>K. lateolabracis</i>	KLF1: 5'-act gga tag tga gtg gtg tcg a-3' KLR1: 5'-cca aat acg aat act tgg gtg t-3'

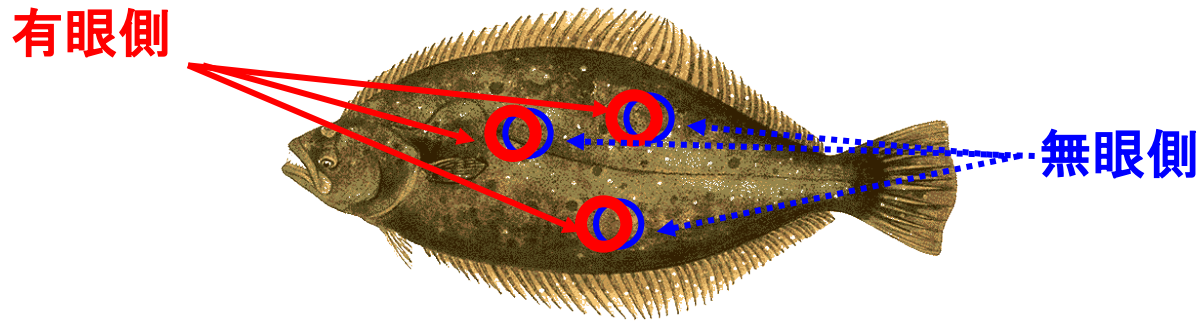
K. septempunctata の
希釈系列



100 plasmids/tube

	長 所	短 所	検出限界 (孢子/g)
顕微鏡検査	胞子の形態で識別 容易	感染初期には検出不可能	20000
PCR検査	全発育段階で検出 可能、種特異的で 高感度	時間・コストがかかる	240

実際のヒラメの診断法



(1) 孢子密度の測定 (有眼側、無眼側から各3箇所)の孢子密度)

0.5 gの肉片をメッシュろ過して精製後、顕微鏡で孢子密度(孢子数/g)を測定
→体側筋肉の部位別で大きな片寄りはない。

(2) 3種類のPCR検査

有眼側中央部の肉片からDNA抽出し、PCR検査
→顕微鏡検査(1, 3)よりも検出感度は高い。

(3) 簡易診断法

鰓蓋裏の筋肉を綿棒で採取して顕微鏡検査
→寄生の有無だけなら、(1)の方法と検出率は変わらない。



養殖現場におけるヒラメの診断法

	診 断 法		
	PCR法	体側筋肉の 胞子密度測定	鰓蓋の簡易検査
種苗導入時	種苗のサンプル検査 (極小魚はプールして) ↓ 陰性のロットのみ購入	—	—
養殖期間	定期的にサンプリング してモニタリング →	PCR法と並行して行 うか、PCR陽性の魚 についてのみ測定	—
出荷前	確定診断 ←	簡易検査陽性の魚 のみ測定 ←	一次検査により、 スクリーニング

- 養殖期間中に感染が起きないように防除する給水処理法(ろ過、殺菌処理等)の検討
- 養殖期間中または出荷前に軽度感染が確認された場合の基準値の設定

I. 馬肉試料の保存

- 1) と殺後数時間で分析の場合、4°C保存
- 2) 数時間以上の場合、凍結保存

II. 馬肉からのザルコDNA抽出

- 1) 肉試料よりカミソリで1cm×1cm×0.5cm程度に切り出す。
- 2) パラフィルム上でカミソリを用いて肉をミンチ状になるまで切断する。
- 3) 1.5ml遠心管に試料を入れ重量0.3gに調整。
- 4) TEバッファーを加え、1mlにメスアップする。
- 5) 30秒間激しく攪拌し、3,000回転で数秒間遠心。
- 6) 上清200μlを新しい1.5ml遠心管に試料を入れ、QIAamp DNA Mini Kit (キアゲン)を用いてDNA精製し、最終100μlのAEに溶出する。



Ⅲ. PCR

1) 定性PCR (18SrRNA gene内 の1,100bpを増幅)

温度条件

94°C, 3min

94°C, 30sec

60°C, 30sec

72°C, 1min

72°C, 5min

35 -40
cycles

プライマー: 18S1F 5'-GGATAACCGTGGTAATTCTATG
18S11R 5'-TCCTATGTCTGGACCTGGTGAG

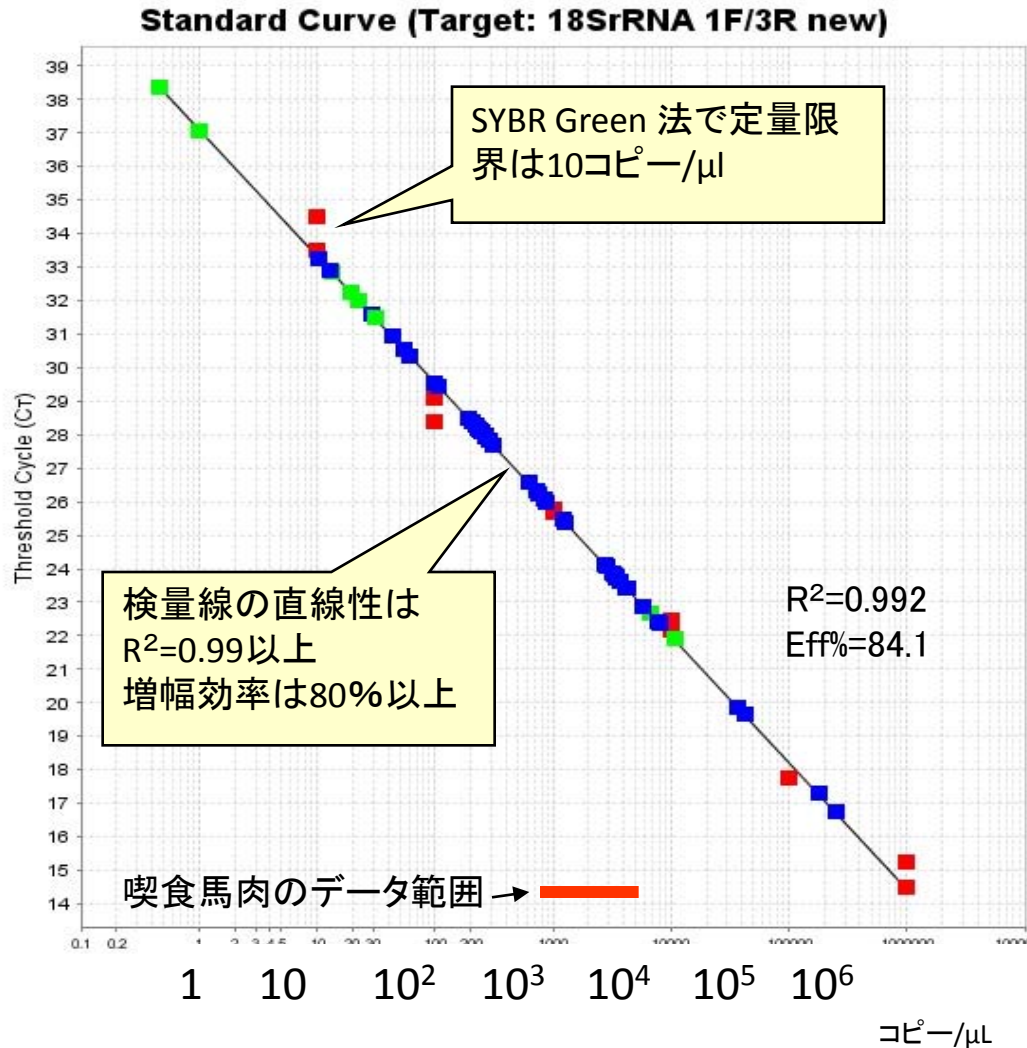
18S1F →

<i>S. gracilis</i>	AATACTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGTA-AATATCCTTT-TTCGCA-----AGGAAAAGGATAGTG
<i>S. hardangeri</i>	AATTTTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCACAATACCATTTCTTCTTC-----GGAAGAAGGGTAGTG
<i>S. buffalonis</i>	-AATATACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTATATTATGTCACCTTTACGGTGG---ATGATA---TAGTAGTG
<i>S. hirsuta</i>	-AATATACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTATATTATGTCACCTAACGGTGG---ATGATAATATAGTAGTG
<i>S. gigantea</i>	-TTT-TACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTGTATAATCATATTTATT-----ATGATTGTACAGTAGTG
<i>S. aucheniae</i>	-AAATACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATATCTCTTCACTTTATT-----GTGAAAGGGATAGTG
<i>S. rileyi</i>	---TTTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-CATACCTCTTCCTC-----GTGGAAGGGTAGTG
<i>S. tenella</i>	AAGTCTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATATCCTTTTTCGCAA-----GGAAGAGGATAGTG
<i>S. fusiformis</i>	-ATAATACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTATATCACTC-----GGGGGTATAGTAGTG
<i>S. scandinavica</i>	AATACTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTATATTCCTT-----GAGGATATAGTAGTG
<i>S. sinensis</i>	--CTCTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTATACCTT-----AACGGTATAGTAGTG
<i>S. hominis</i>	--TGATACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTATACCTT-----AAGGGTATAGTAGTG
<i>S. rangiferi</i>	-TAGGTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-GATACTATACCTCTAC-----GGTATAGTAGTG
<i>S. tarandi</i>	-TAGGTACTACATGGATAACCGTGGTAATTCTATGGCTAATACATGCGCA-AATACTATACCTCTACT-----ACGGTATAGTAGTG
<i>S. suihominis</i>	-----CTAATACATGCGCA-AATACTATGTCGTTCCCTCTCTTTATGGGAGGGTGGTGATATAGTAGTG

***** * **

可変部

2) 定量PCR



- ・喫食検体の検出量からみて、定量PCRの感度は現状で問題ないか？
- ・より特異性を保証するにはTaqMan PCRを選択

・スタンダード用DNA

18SrRNA の1F/11Rプライマー
増幅したPCR産物をプラスミドに
組み込んだもの

・PCR条件

98°C、10min
2 step PCR
98°C、5sec.
62°C、30sec.
40 cycles

・プライマーセット

Sarco HRS 1F/3R(症例タイプ
特異的プライマー)

1F: 5' -GATACAGAACCAATAGGGACATCAC
3R: 5' -ACTACCGTCGAAAGCTGATAGG

濃度 100nM、140bpを増幅

試薬・装置

- ・Power SYBR Green
- PCR master Mix (ABI)
- ・Step One Plus (ABI)

馬肉部位別のシスト数

部位番号	部位	馬記号(シスト/cm ²)*						
		A	B	C	D	E	F	G
1	ビンタ	0	0.2	0	0	1.4	0	0
2	タテガミ	0	0	0	0	0	0	0
3	ネック	0	12.8	3.8	0.7	0.8	0	0
4	肩ロース	0.3	7.5	3.3	0.5	8.2	0	0
5	ウデ	0.5	3.4	18.2	2	6.8	0	0
6	前バラ	1.6	5	26	1	10	0	0
7	ロース	0.5	1	3	3.5	2.7	0	0
8	後バラ	2.6	2.3	8.7	8.4	2	0	0
9	ヒレ	0.2	7.3	10	1	12	0	0
10	ラム	0.3	0.8	15	1.5	0.5	0	0
11	天丸	2.9	8	13.7	1	14	0	0
12	内モモ	0	1.5	22	1	7	0	0
13	イチボ	1.6	2.7	6.3	3.5	2	0	0
14	外モモ	5	3.5	8	1.2	1.2	0	0
15	フタエゴ	9	1	3.3	1.7	1	0	0
16	カクマク	4	4.7	9.4	2	2	0	0
17	ヒレ下り	2.8	7.7	2	1	4.4	0	0
18	心臓	0	0	0	0	0	0	0
19	肝臓	0	0	0	0	0	0	0
20	心根	0	0	0	0	0	0	0
21	タン	1	4.7	2.7	0.8	13	0	0
平均シスト数		1.5	3.5	7.4	1.5	3.6	0	0

*5カ所の平均

有症事例馬肉のシスト数

- ・45 ~ 420シスト/cm²
- ・推定摂取ブラディゾイト:26,179,200
- 大シストなら126(5.3/cm²)
- 小シストなら2,424(101/cm²)

シスト分布の特徴

- ・喫食部位の多くにはシストが存在。
- ・基本的にはシスト数は少ない。
- ・ところどころに高濃度寄生する。

シスト含有馬肉の冷凍処理

	ブラディゾイト染色法	ペプシン処理後のブラディゾイト ト 確認法
冷蔵	長期間生存	長期間生存
冷凍:-20℃		48時間で失活
冷凍:-22℃	18時間で失活	
冷凍:-30℃	18時間で失活	36時間で失活
冷凍:-35℃		24時間で失活
冷凍:-40℃		18時間で失活
冷凍:-60℃		12時間で失活
冷凍:-80℃	3時間で失活	
冷凍:液体窒素		1時間で失活
急速凍結:-30℃		18時間で失活

冷凍処理によるシスト毒性失活

住肉胞子虫のシストは、冷蔵状態では健全
胃内の酸・タンパク分解酵素に強い耐性を示す



一定の時間冷凍処理を行うとシスト壁が障害を受ける



障害を受けたシスト壁が胃で破壊される
ブラディゾイトも死滅する



シスト由来の毒性タンパク質も失活する

馬肉制御法の指針

- ・馬肉中のシスト数は少ないものが多い。時に高濃度の寄生あり
 - 迅速スクリーニングにより、生食禁止ロットを摘発
 - 高濃度シスト寄生馬肉は、一定時間の冷凍処理を行う
 - -20°C 、48時間の保持。同等の効果のある低温保持

- ・シストの分布数は少ないが、多くの喫食部位に寄生がある
- ・外国産馬肉のシスト寄生頻度が高いが国産馬肉にも寄生あり
 - 全頭のロット検査が望ましい