

平成 28 年度・衛生研究所研究費事業報告

鮮魚での *Kudoa* 属寄生状況調査及び

鮮魚・ヒト糞便検体からの *Kudoa hexapunctata* 遺伝子検出法の検討

(計画年度：平成 28 年度)

研究代表者

食品微生物担当

星野梢\*

共同研究者

食品微生物担当

大阪美紗

門脇奈津子

榊田希

大塚佳代子

目的

平成 23 年、ヒラメに寄生する粘液胞子虫の *Kudoa septempunctata* (以下, *K. s*) が食中毒起因物質と定められた。一方で、ヒラメの喫食がないにも関わらず、クドア食中毒と類似する事例が散見している。これらの事例のうち、残品の刺身や便検体から *Kudoa hexapunctata* (以下, *K. h*) や *Kudoa iwatai* が検出された報告もあることから、*K. s* 以外の粘液胞子虫によるヒトへの病原性が疑われている。

粘液胞子虫は魚類の寄生虫であり、且つ国内における鮮魚の生食が食習慣として定着していることから、粘液胞子虫による健康被害を疑う事例は今後も認められると推察される。そこで、粘液胞子虫の検出報告がある鮮魚を中心に *Kudoa* 属汚染実態調査を行った。また、多くの食中毒調査において、患者便検体から検査を行う機会が多いことから、便検体からの *K. h* 遺伝子を検出する方法についても検討を行ったので、報告する。

成果概要

1 市販鮮魚での *Kudoa* 属寄生状況調査

平成 28 年 5 月～29 年 2 月に流通した鮮魚 165 検体について調査を行った。*Kudoa* 属 18S rDNA をターゲットとした real time PCR 法によるスクリーニング検査で陽性を示したのは 11 検体、そのうち顕微鏡検査で胞子を確認できたのは 9 検体であった。種の同定を行うために *Kudoa* 属 28S rDNA の領域を増幅し、BLAST 検索を行った結果、メジマグロ 7 検体から *K. h*、スズキ 1 検体から *Kudoa thyrsites* を検出した。別のスズキ 1 検体から 4 極囊の胞子を有する粘液胞子虫を確認したが、同定には至らなかった。クドア食中毒の発生が多い春～秋に流通した鮮魚からの検出率が高かった。

2 *Kudoa* 属胞子からの遺伝子検出法の検出感度

*K. s* 及び *K. h* の胞子を蒸留水 100  $\mu$ L あたり  $1.5 \times 10^6 \sim 10^1$  個に調製した。前述の寄生状況調査と同様にスクリーニング検査及び BLAST 検索を行った。いずれの胞子も

$10^3$  個以上であればスクリーニング陽性を示し、種を同定することができた。

3 ヒト便検体に *Kudoa* 属胞子を添加した検体からの遺伝子検出法の検出感度

ヒト便検体(食中毒細菌、ノロウイルス及び粘液胞子虫は不検出) 0.3g に *K. s* の胞子を  $7.3 \times 10^6 \sim 10^1$  個及び *K. h* の胞子を  $7.3 \times 10^6 \sim 10^1$  個添加した。前述と同様に検査した結果、いずれの胞子も  $10^3$  個以上であればスクリーニング陽性を示し、種を同定することができた。

4 クドア食中毒事例での遺伝子検出法の導入

平成 28 年 5 月、県内でヒラメを原因食品とするクドア食中毒が発生した。患者便 4 検体及び従事者便 3 検体、残品 2 検体(ヒラメ及びマグロ)について、検討した遺伝子検出法により粘液胞子虫の検査を行った。その結果、患者便 1 検体及びヒラメがスクリーニング陽性を示した。この 2 検体の遺伝子解析を実施した結果、ヒラメは *K. s* と同定できたが、患者便から抽出した DNA は種の同定ができなかった。原因として、患者便の 18S rDNA コピー数は 4.3 コピー数/0.3g と少なく、十分に 28S rDNA の増幅ができなかったためと考えられた。

展望

便検体からの *K. s* 及び *K. h* 遺伝子検出法に関して、検出感度を高めるなどのさらなる検討を要する。そして、ヒラメ以外の鮮魚の関与を疑う有症事例に対処するため、今後も継続的に鮮魚の寄生状況調査を実施することにより、病因物質不明食中毒事例の減少に繋がることと期待される。

公表等

第 37 回日本食品微生物学会学術総会(東京)

\*現 朝霞保健所