

Kudoa septempunctata の顕微鏡検査事例について

高橋 史恵

Microscopy example of *Kudoa septempunctata*

Fumie TAKAHASHI

キーワード：*Kudoa septempunctata* ヒラメ

平成 23 年 6 月 8 日に「生食用生鮮食品による原因物質不明有症事例についての提言」¹⁾ が厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会にておこなわれ、寄生虫である *Kudoa septempunctata* (以下 *Kudoa*)、*Sarcocystis fayeri* が食中毒の原因物質に追加となり、それぞれの検査法の暫定法²⁾ が示された。

このような中、次の事例が発生した。

平成 23 年 8 月 24 日に飲食店を利用した 2 グループ 25 名のうち 5 名が下痢、吐き気等の食中毒症状を呈しており、有症者には共通してヒラメ刺身が提供されていた。このため *Kudoa* が原因物質と考えられたことから、食材 (鯛 (湯引き) 刺身、ヒラメ刺身) について *Kudoa* の検査を実施し、顕微鏡検査下にて *Kudoa* 胞子を観察した事例を経験したので報告する。

検査方法

平成 23 年 7 月 11 日付けで通知があった暫定法に従い検査を実施した。

刺身 2 ヶ所から合計 0.5 g を秤量、採取した。検体は PBS 3 ml を入れた滅菌シャーレ上にて 200 μ m (ナイロンメッシュ目開き、72GG-224) のメッシュに通し、ピンセットにて検体を潰しながらろ過をおこなった。更に 100 μ m (BD Falcon セルストナー) のメッシュを使用して残渣等を除去した。採取した検体を遠心 (1500rpm、10 分間、10°C) 後、上清を捨て、PBS0.5ml を加え懸濁し、トリパンブルー染色液 (和光純薬)

とろ過液を混合した検体を、血球計算盤に滴下し、光学顕微鏡にて観察し、*Kudoa* 胞子をカウントし、1 グラムあたりの量を換算した。なお、*Kudoa* 胞子数が多くなかったことから希釈はおこなわなかった。

また、リアルタイム PCR 法による定量も同時に実施した。暫定法に従いヒラメから DNA を抽出し、定量を行った。DNA 抽出には QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN 社製)、リアルタイム PCR には TaqMan Universal Master Mix (ABI 社製) を用いた。機器は 7300 リアルタイム PCR システム (ABI 社製) を使用し、反応条件は 95°C10 分の初期変性後、95°C15 秒、60°C1 分を 45 サイクルとした。

結果

検査は 6 回おこなった。血球計算盤 4 区画での平均値は次のとおりであった。

1:4.0 2:4.0 3:5.0 4:4.0 5:52.0 6:52.5

4 回が定量限界以下 (定量限界値=5) を示し、2 回が 52 個 (1.04×10^6)/g と結果にばらつきがみられた。このため、国立医薬品食品衛生研究所微生物部第四室の大西貴弘先生に冷凍した検体 (ヒラメ刺身) を送付し、再検査を依頼したところ、結果は次のとおりであった。

1: 定量限界以下、2: 2.5×10^5 、3: 1.9×10^5 、4: 1.0×10^5 、5: 定量限界以下

リアルタイム PCR 法による検査結果は、 6.44×10^{10} コピー/g でスクリーニング陽性であった。

鯛について同様に検査をおこなったところ、顕

顕微鏡検査法、リアルタイムPCR法ともに陰性であった。

考 察

- 1) 特殊な機器が必要ではなく、暫定法に示された血球計算盤やフィルターなどを揃えておくことで、簡便ですぐにできる検査方法であった。
- 2) 顕微鏡検査は、定量限界値以下と、 $1.04 \times 10^6/g$ の 2 グループの結果が得られ、*Kudoa* 胞子の感染量にバラツキがみられたが、国立医薬品食品研究所での検査結果も同様な傾向を示したことから、採取部位によってはグドア胞子数が均一となっていない可能性があり、より多くの部位を検査することが重要と考えられた。
- 3) 鯛について顕微鏡検査では陰性、リアルタイムPCR法では 10^5 コピー/g とスクリーニング陰性ではあったもののグドア属遺伝子が検出されたことから、当所では 2 法を併用して検査を実施する予定である。

謝 辞

国立医薬品食品研究所の大西貴弘先生には検査およびご指導いただき、厚く御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部: 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
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長: *Kudoa septempunctata* の検査法について (暫定版). 平成23年7月11日