

表3. ナナホシクドアの系統分類 (2013年3月18日受領検体)

ID	cox1遺伝子型	1-rRNA遺伝子型	由来	サンプル名	クドア(1g当り)	PCR(コピー数)	備考
1	1	1	韓国産	Y-10	4.2×10^5	3.96×10^7	韓国産・成魚
2	1	1	韓国産	Y-15	1.3×10^5	1.1×10^5	韓国産・成魚
3	1	1	韓国産	YC-17	1.0×10^5	1.8×10^7	韓国産・成魚
4	1	1	韓国産	66168525①	1.0×10^4	2.3×10^7	韓国産・成魚
5	1	1	韓国産	66167159①	4.8×10^3	5.3×10^7	韓国産・成魚
6	1	1	韓国産	66162909①	1.7×10^6	2.1×10^8	韓国産・成魚
7	1	1	韓国産	66162909②	2.35×10^6	1.99×10^9	韓国産・成魚
8	1	1	食中毒事例	09-04(K)	8.05×10^8		東京事例(韓国産・成魚)
9	1	1	食中毒事例	09-17-08(K)	3.5×10^6		福井事例(韓国産・成魚)
10	1	1	食中毒事例	2012.3.2(K)	1.60×10^6		千葉事例(韓国産・成魚)
11	1	1	食中毒事例	2011.12.22北九州	1.40×10^7		
12	2	2	食中毒事例	2011.10.14広島	1.0×10^7		韓国産・成魚
13	1	1	食中毒事例	10-08	7.66×10^8		広島事例(韓国産・成魚)
14	1	1	食中毒事例	09-17-05	4.35×10^6		福井事例(おそらく韓国産・成魚)
15	1	1	食中毒事例	倉敷①	2.2×10^6		
16	2	2	食中毒事例	高松①			香川県事例 天然
17	1	1	食中毒事例	2013.2.22天然ヒラメ(大分市)1	6.6×10^6		
18	1	1	食中毒事例	2013.2.22天然ヒラメ(大分市)2	6.6×10^6		
0904	1	1	食中毒事例	0904(全ゲノム解読中)			韓国産・成魚
19	1	1	養殖所	えひめ3-5	9.63×10^6		えひめ養殖所A
20	1	1	養殖所	えひめ6	3.78×10^6		えひめ養殖所A
21	1	1	養殖所	えひめ27-1	5.13×10^6		えひめ養殖所A
22	2	2	養殖所	11.3.2-2	1.60×10^7		大分県養殖所A
23	1	1	養殖所	2011.4.26-6	7.79×10^6		大分県養殖所A
24	2	2	養殖所	2011.3.8-7	1.04×10^7		大分県養殖所A
25	1	1	養殖所	2013.1.30大分ヒラメ9	1.0×10^7		大分県養殖所B
26	2	2	養殖所	2013.1.30大分ヒラメ13	1.0×10^7		大分県養殖所B
27	1	1	養殖所	2011.12.13 No2	3.0×10^6		えひめ養殖所B
201204	2	2	養殖所	201204(全ゲノム解読中)			

表 4. 大分養殖場のナナホシクドアの系統分類 (2013 年 7 月 5 日受領検体)

ID	cox1遺伝子型	t-rRNA遺伝子型	Y	M	D	lot
1	1	1	2011	01	18	3
2	1	1	2011	02	16	4
3	2	2	2011	03	02	2
4	1	1	2011	03	02	8
5	1	1	2011	03	02	10
6	2	2	2011	03	08	7
7	2	2	2011	04	05	3
8	2	2	2011	04	06	6
9	2	2	2011	04	12	2
10	2	2	2011	04	12	8
11	1	1	2011	04	12	12
12	1	1	2011	04	12	15
13	2	2	2011	04	12	21
14	2	2	2011	04	12	27
15	2	2	2011	04	18	1
16	2	2	2011	04	18	10
17	1	1	2011	04	26	8
18	1	1	2011	04	26	16
19	2	2	2011	05	17	1
20	2	2	2011	05	27	5
21	2	2	2011	05	27	8
22	2	2	2011	05	27	10
23	2	2	2011	06	06	3
24	2	2	2011	06	08	2
25	2	2	2011	06	08	4
26	1	1	2011	06	15	15
27	1	1	2011	06	22	8
28	2	2	2011	06	28	5
29	1	1	2011	06	29	4
30	2	2	2011	07	05	10
31	2	2	2011	07	12	2
32	1	1	2011	07	12	9
33	1	1	2011	08	01	2
34	2	2	2011	08	09	4
35	1	1	2011	08	24	4
36	2	2	2011	08	30	2
43	1	1	2011	10	12	
38	2	2	2011	11	02	4
39	1	1	2011	11	16	2
40	2	2	2012	03	28	5
41	1	1	2012	07	26	
42	2	2	2012	09	26	
37	1	1	2012	10	12	
44	1	1	2012	10	31	1
45	2	2	2012	11	28	1
46	2	2	2013	02	06	3

赤字はtubeの表記優先(送付書類とは異なる)

表 5. 韓国産のナナホシクドアの系統分類 (2013年11月1日受領検体)

サンプルNo.	kudoa 量	cox1遺伝子型	l-rRNA遺伝子型
Y-10	4.20×10^5	1	1
Y-11	1.40×10^5	1	1
Y-14	0.50×10^4	1	1
661629090-1	1.74×10^6	1	1
Y-15	1.23×10^5	1	1
66167159	0.48×10^4	2	1
66168525	0.93×10^4	1	1
YC-17	4.10×10^4	1	1
661682018	0.64×10^4	1	1
66185653-3	1.54×10^6	1	1
66195146-1	1.08×10^5	1	1
66195627-1	3.44×10^4	1	1
66198538-2	7.97×10^4	1	1
66198716	1.72×10^4	1	1
66199796-1	6.43×10^4	1	1
66200104-3	1.16×10^5	1	1

表 6. 愛媛事例のナナホシクドアの系統分類 (2013年11月1日受領検体)

サンプル No.	kudoa 量	食中毒症状	cox1遺伝子型	l-rRNA遺伝子型
1-2	5.83×10^6	有症	1	2
2-2	2.78×10^6	有症	2	2
2-3	2.20×10^6	有症	1	1
3-3	1.48×10^6	有症	2	2
3-4	1.80×10^6	有症	2	2
3-5	9.63×10^6	有症	1	1
6	3.78×10^6	有症	1	1
7	2.00×10^4	有症	1	1
8	3.78×10^6	有症	2	2
9	1.43×10^6	有症	2	2
10	7.20×10^5	有症	2	2
15-2	4.62×10^5	無症	1	1
16-1	7.03×10^4	無症	2	2
16-4	7.64×10^5	無症	1	1
17-1	9.49×10^4	無症	2	2
172	1.24×10^6	無症	mixed	2
17-6	2.29×10^5	無症	2	2
19-1	8.50×10^5	無症	2	2
19-2	4.73×10^4	無症	1	1
19-3	1.38×10^5	無症	2	2
21-2	1.27×10^6	無症	2	2
21-3	4.63×10^6	無症	2	2
22-1	1.36×10^4	無症	mixed	2
25-5	6.19×10^4	無症	2	2
27-1	5.13×10^6	無症	1	1
27-2	3.75×10^4	無症	1	1

図1. ナナホシクドア検体0904のミトコンドリアゲノム

(A) *K. septempunctata* ミトコンドリアの遺伝子。(B) 解読RNAのミトコンドリアゲノムへのマッピング。横軸はゲノム配列での位置、縦軸はマップされた解読配列の深さ。大小サブユニットリボソームRNAの遺伝子は、豊富なRNA量から明確に認識できる。

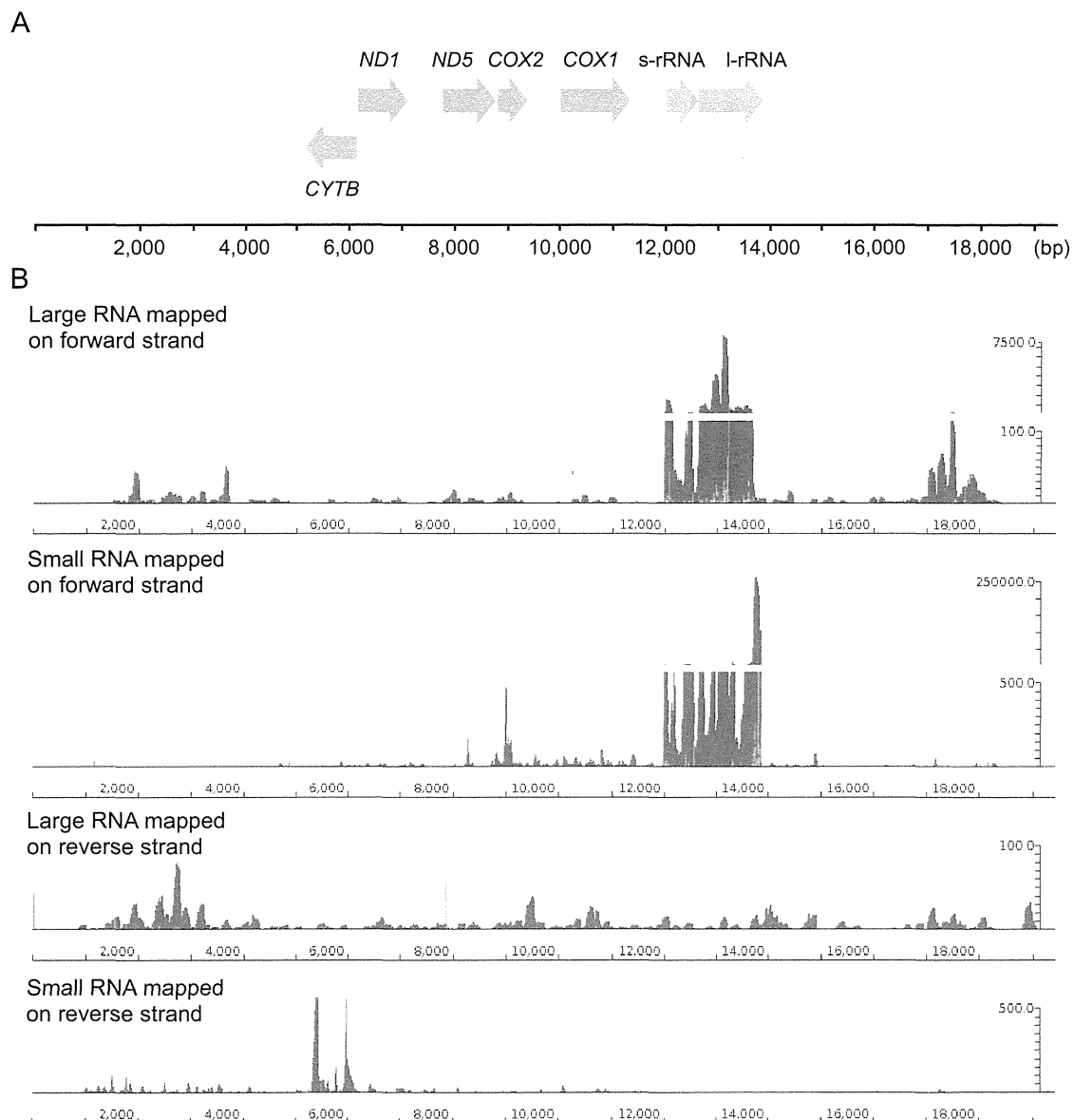


図2. ナナホシクドア検体0904と検体201204のミトコンドリアゲノム配列の比較

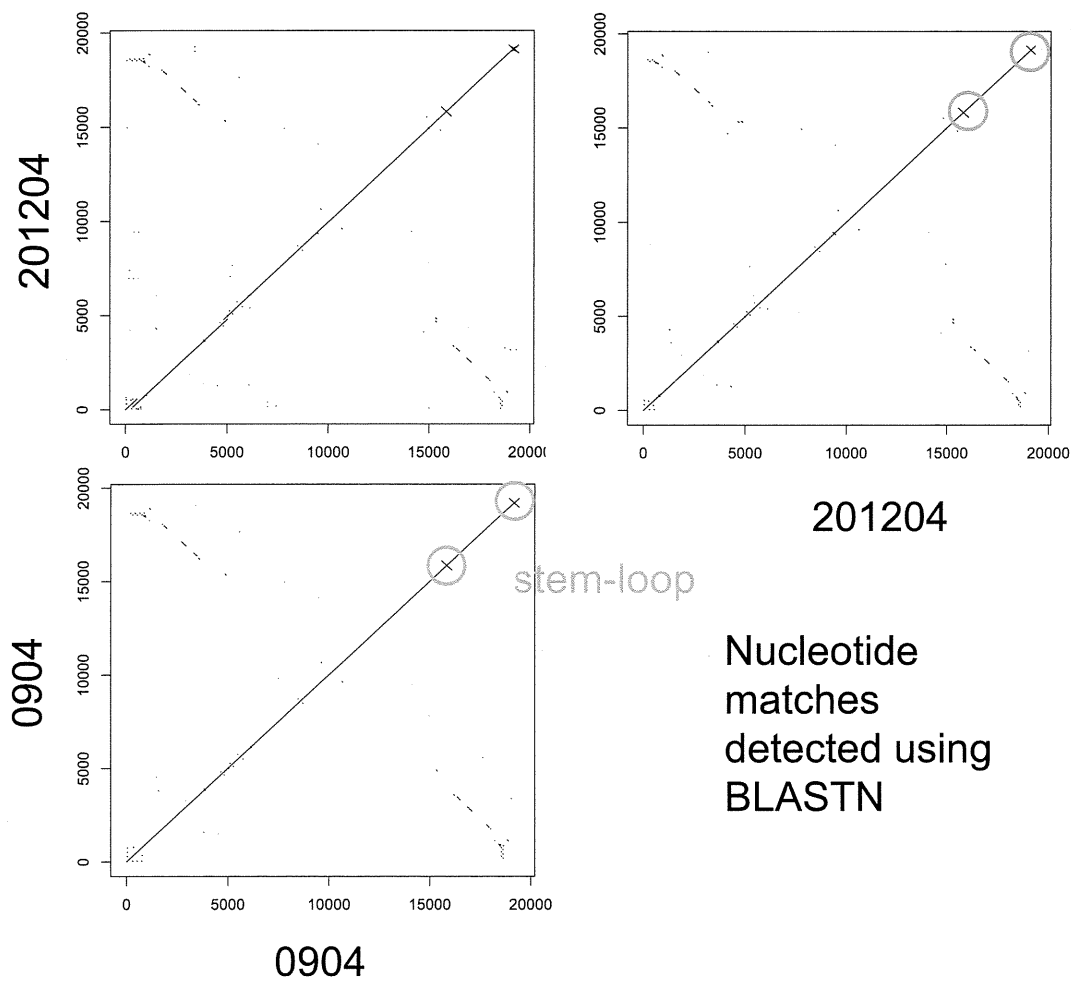


図 3. ナナホシクドアと *K. neothunni* のミトコンドリアゲノム比較

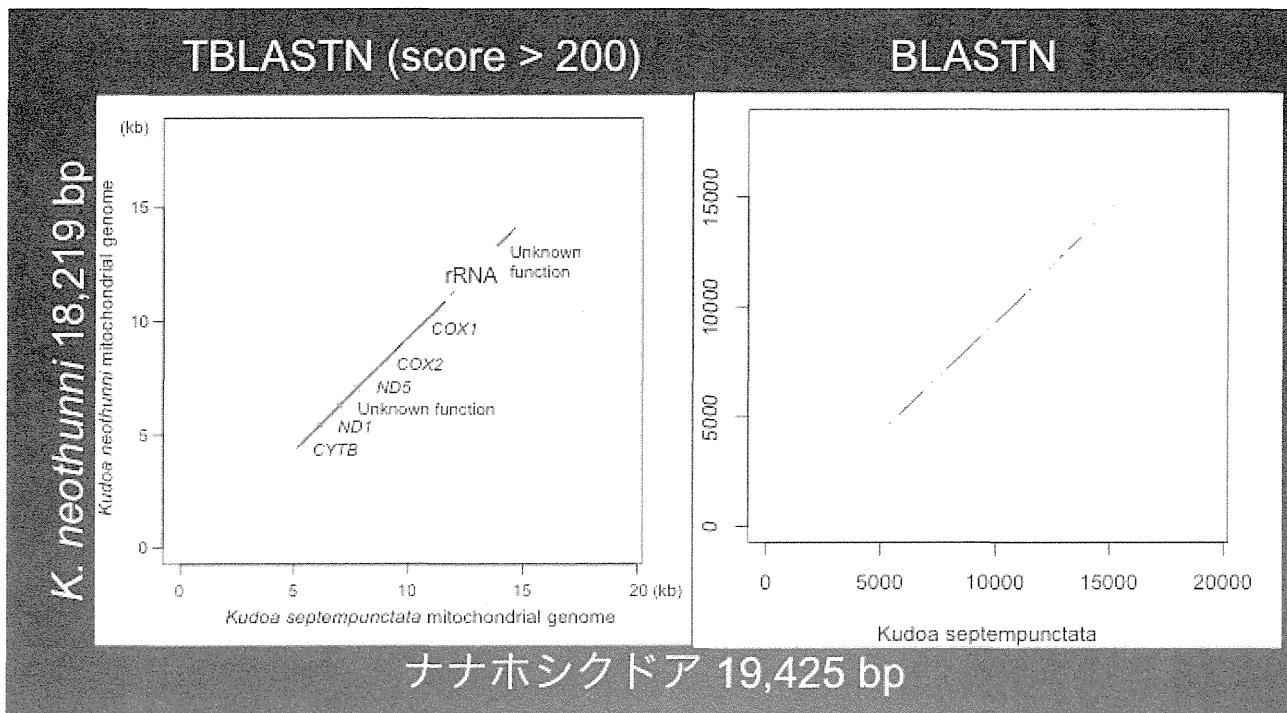


図4. ミトコンドリア遺伝子に基づくクダアの系統推定

ミトコンドリアの5つのタンパク遺伝子による後生動物の系統樹。系統樹中のそれぞれの枝について、事後確率が記号で示されている。粘液胞子虫の左右相称動物への帰属が強く支持されている。渦虫類と緩歩動物の写真はバイオサイエンスデータベースセンターより転載。

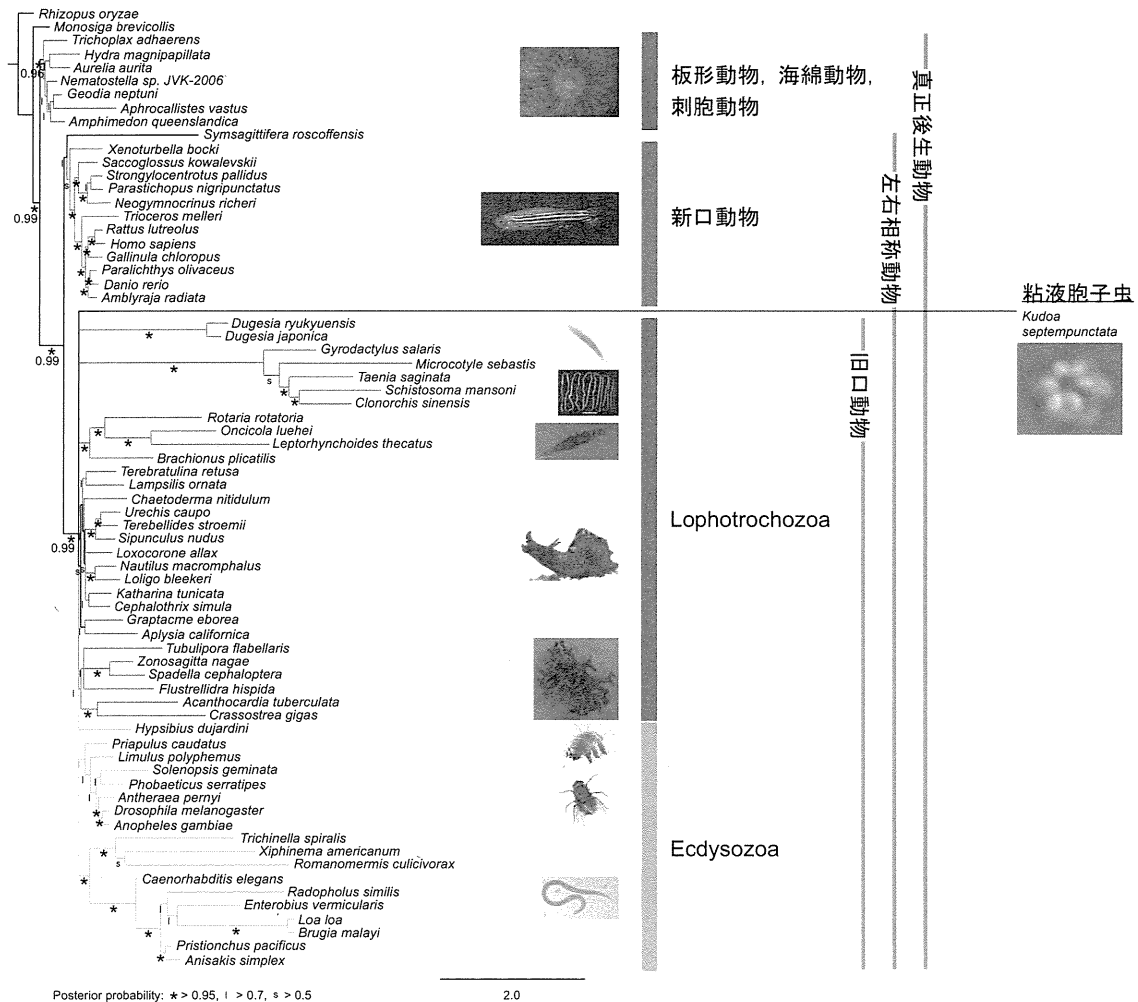


図5. ミトコンドリア遺伝子に基づくクドア3種の系統推定

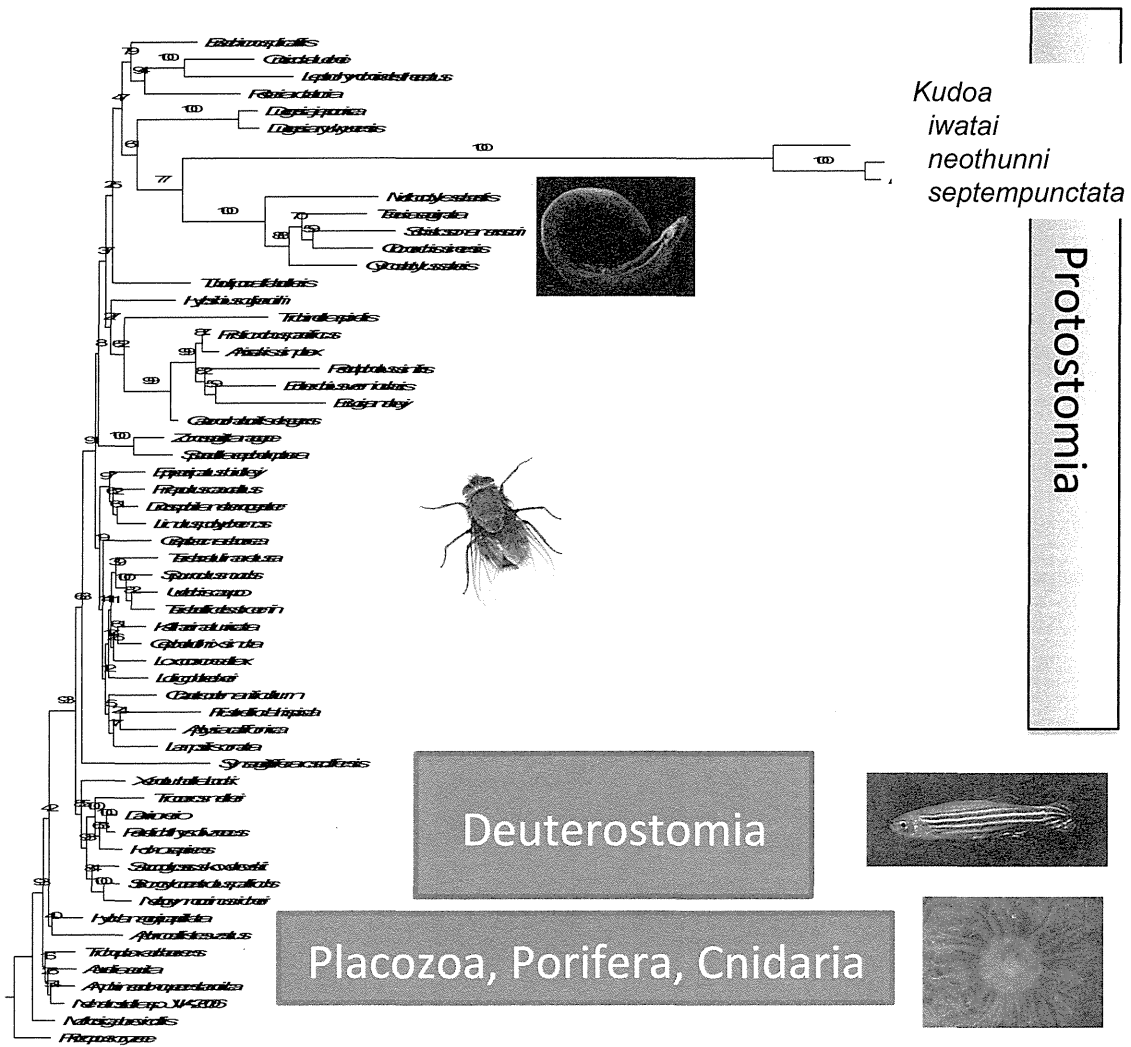


図6. ナナホシクドア (検体201204) の *Nco*I についての制限酵素地図

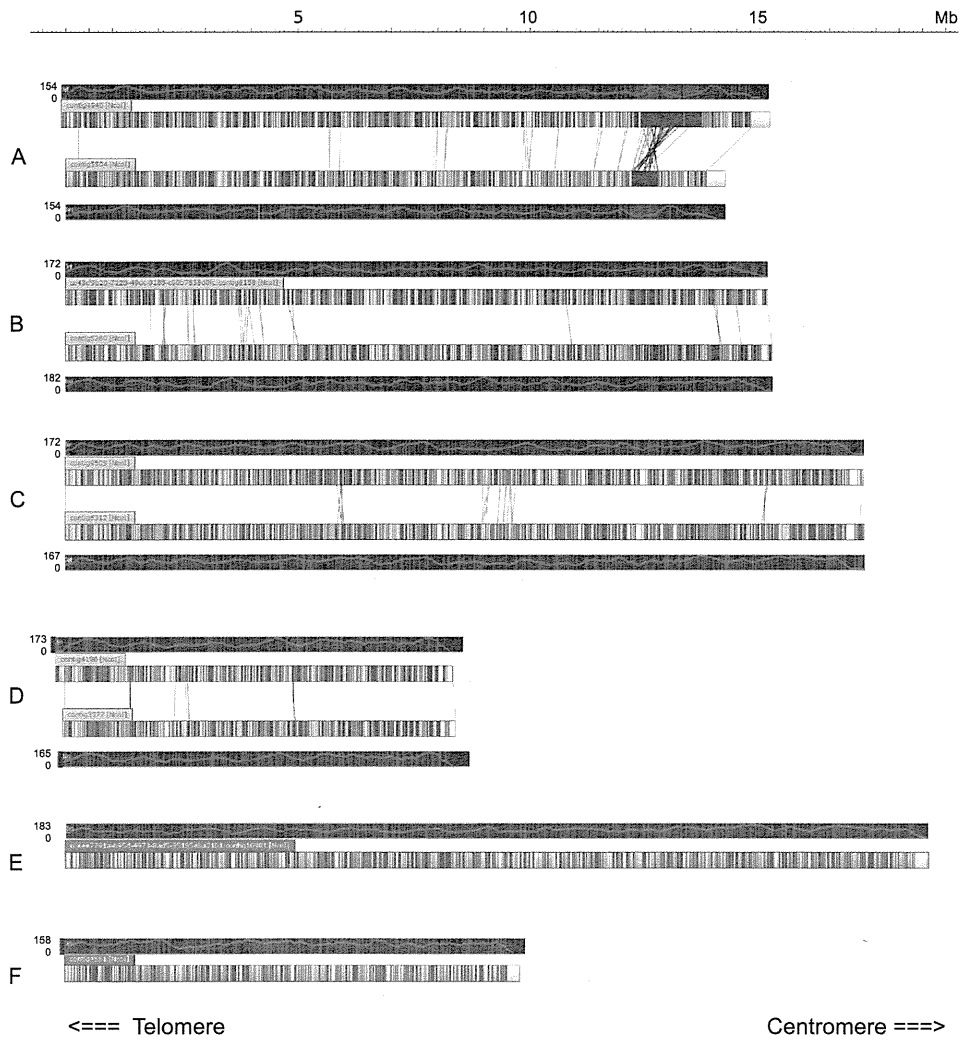


図 7. *cox1*, *1-rRNA* 核酸配列の多型

```

                20                40                60                80
cox1-1 TATGGCAAAG AAGGTCTGAT TTCCTCAGTC TCTTGCCTAG GAGTTCAGG CTATCTAGTC TAGGCACACC ATATGTTAC 80
cox1-2 TATGGCAAAG AAGGTCTGAT TTCCTCAGTC TCTTGCCTAG GAGTTCAGG CTAGCTAGTC TAGGCACACC ATATGTTAC 80
                100                120                140                160
cox1-1 TGTAGACTTG GAGCTAGAAG TGAAACTGCT TTTCTCTCT GGTACTATGG CTATTGCAGT TCCTACTGGC GTAAAAGTCT 160
cox1-2 TGTAGATTGG GAGCTAGAAG TGAAACTGCT TTTCTCTCT GGTACCATGG CTATTGCAGT TCCTACTGGC GTAAAAGTCT 160
                180                200                220                240
cox1-1 ACAGTTGAAT GGTGAGTGT AGGCTCTGGTA GCCTAGATAC TCTCCAAACC TTCCTTCCTC TTCCTTTGTT TCTCGCCACT 240
cox1-2 ACAGTTGAAT GGTGAGTGT AGGCTCTGGTA GCCTAGATAC TCTCCAAACC TTCCTTCCTC TTCCTTTGTT TCTCGCCACT 240
                260                280                300                320
cox1-1 TTTATAGGTG GAGGTTTAA AGGAATCATG CTTTCTCTT CTACAGCAGA TGTTTTGTTA CACGACACCT ATTTCTAGT 320
cox1-2 TTTATAGGTG GAGGTTTAA AGGAATCATG CTTTCTCTT CTACAGCAGA TGTTTTGTTA CACGACACCT ATTTCTAGT 320
                340                360                380                400
cox1-1 GGCTCATTTT CACCAGGTA TGGCTATAGC AGCCTTTTTA GCCTTTGCTT GTGGAGTACA CTGGTTAGGA ATGATGAGTC 400
cox1-2 GGCTCATTTT CACCAGGTA TGGCTATAGC AGCCTTTTTA GCCTTTACTT GTGGAGTACA CTGGTTAGGA ATGATGAGTC 400
                420                440                460                480
cox1-1 ATGGTGGAGC AATTATACT TTTACTATTG CTACCATGAC TATTTTCCTT CCTTTGTACG GAGCAGGTCT TTGTGGAATC 480
cox1-2 ATGGTGGAGC AATTATACT TTTACTATTG CTACCATGAC TATTTTCCTT CCTTTGTACG GAGCAGGTCT TTGTGGAATC 480

cox1-1 CCTAGA 486
cox1-2 CCTAGA 486

```

```

                20                40                60                80
1-rRNA-1 GTTCCAACAA GTCCATGAAA CTCTGTCTTT ATTAGGTTTC CAGGAGTTTT TGCCTGGAGT TGCGAATAAA GCTTATGAGG 80
1-rRNA-2 GTTCCAACAA GTCCATGAAA CTCTGTCTTT ATTAGGTTTC CAGGAGTTTT TGCCTGGAGT TGCGAATAAA GCTTATGAGG 80
                100                120                140                160
1-rRNA-1 ATTTTGCCTT TTAAGTTGGG CGTAAAATGC CCTCTGAAAA GTAAGCTTTT TGGAAAATTC TAAGCAACTA GATCAGGTTT 160
1-rRNA-2 ATTTTGCCTT TTAAGTTGGG CGTAAAATGC CCTCTGAAAA GTAAGCTTTT TGGAAAATTC TAAGCAACTA GATCAGGTTT 160
                180                200                220                240
1-rRNA-1 TCTACGAACT GGAAAAATAT TCCTCTTTTT CACTTTATGT CCTGATTGGA CTAGAGTGAA AGTGGACTTG TTTTCTGCA 240
1-rRNA-2 TCTACGAACT GGAAAAATAT TCCTCTTTTT CACTTTATGT CCTGATTGGA CTAGAGTGAA AGTGGACTTG TTTTCTGCA 240
                260                280                300                320
1-rRNA-1 CCTGTTCCGT AAGGGAAAAG GTGAACTAGG CGTAGCCTTG AGGAAAACCA GGTGAGCAAC TAATTCCTTC CTAGGCTTAA 320
1-rRNA-2 CCTGTTCCGT AAGGGAAAAG GTGAACTAGG CGTAGCCTTG AGGAAAACCA GGTGAGCAAC TAATTCCTTC CTAGGCTTAA 320
                340                360                380                400
1-rRNA-1 GACCAGCTAA ACCTCGTCAT AGTCTTGAAT TTCCTTGGAT CAGCTCGTCC TCTTTTTAGT AGAACCACC ATTTTTCTG 400
1-rRNA-2 GACCAGCTAA ACCTCGTCAT AGTCTTGAAT TTCCTTGGAT CAGCTCGTCC TCTTTTTAGT AGAACCACC ATTTTTCTG 400
                420                440                460                480
1-rRNA-1 GTGAGGAAAA GGTGGGTTG AGTATCGAGC TTGTGAGACT CTTTAAATTT CCTTTCCTGT TAGAGGTTAG CTGAGTTGTC 480
1-rRNA-2 GTGAGGAAAA GGTGGGTTG AGTATCGAGC TTGTGAGACT CTTTAAATTT CCTTTCCTGT TAGAGGTTAG CTGAGTTGTC 480

1-rRNA-1 CATAAAGTC 489
1-rRNA-2 CATAAAGTC 489

```

総合研究（分担）報告書

ヒラメの喫食に関連した原因不明食中毒の疫学的検討

八幡 裕一郎

平成 23～25 年度 厚生労働科学研究補助金（食品の安全確保推進研究事業）

生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒の発症機構の解明

研究代表者 大西 貴弘（国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部）

総合研究（分担）報告書

ヒラメ喫食に関連した原因不明食中毒の疫学的検討

研究分担者 八幡 裕一郎（国立感染症研究所感染症疫学センター）

平成 10 年頃より西日本を中心にヒラメを喫食と下痢または嘔吐を呈する食中毒が報告されるようになった。本研究は 1 年目にベースラインデータの収集（地域、産地、季節等の検討のため）、臨床像の検討として症状、潜伏期、症例定義等の検討、発症のリスク因子、予防因子の検討を行った。2 年目は *K. septempunctata* が寄生したヒラメを喫食した食中毒の 1) 発生状況の季節性（ベースラインデータの収集）、2) 発症に至るクドアの摂取量の検討を行った。3 年目は *K. septempunctata* に汚染されたヒラメの喫食による発病とその要因の関連について検討を目的とした。ベースラインデータ、発生状況の季節性、臨床像、発病要因等の検討は原因不明食中毒として厚生労働省に報告された事例で、標準調査票を用いて調査した事例より検討した。季節性は 9 月前後がピークになる可能性が考えられた。ヒラメに寄生している *K. septempunctata* の孢子数とヒラメの喫食により発症との関連が示唆された。*K. septempunctata* が寄生したヒラメの喫食による下痢または嘔吐の発病との関連はヒラメの個体の重量とヒラメの喫食量が発病と関連した。*K. septempunctata* 摂取量の中央値がこれまで報告した発病の閾値の推定値と同程度であった。生産の段階で *K. septempunctata* に寄生している場合に生食用ヒラメの出荷を控えるような食中毒予防策の実施が重要である。

A. 研究目的

平成 10 年頃より西日本を中心にヒラメを喫食で下痢または嘔吐を呈する食中毒の報告がなされるようになった。ヒラメを喫食し、原因不明の食中毒は *Kudoa septempunctata* に汚染されたヒラメを喫食することで発生する可能性が高いことが報告されてきた。平成 22 年の秋に西日本で懸賞品として送付されたヒラメを喫食し、

約 100 人の食中毒患者が発生し、原因が *K. septempunctata* に汚染されたヒラメであることが報告された。これによりヒラメを喫食し、発生する食中毒の原因が *K. septempunctata* であることが確実となった。

一方、疫学的な検討は十分な情報は収集されておらず、ヒラメが *K. septempunctata* に汚染が発生する時期の有無、臨床像、発病の要因及び摂

取量についての解析は十分に行われていなかった。

本研究は1年目に *K. septempunctata* が寄生したヒラメを喫食した食中毒の1) 発生状況把握として地域、産地、季節等の検討のためのベータスラインデータの収集、2) 臨床像の検討として症状、潜伏期、症例定義等の検討、3) 発症のリスク因子、予防因子の検討を目的とした。2年目はクドアが寄生したヒラメを喫食した食中毒に関して1) 発生状況把握として季節等の検討(ベータスラインデータの検討)、2) 発症に至るクドアの摂取量に関する検討を目的とした。3年目は *K. septempunctata* に汚染されたヒラメの喫食による発病とその要因の関連について検討を目的とした。

B. 研究方法

方法は発生状況の把握として原因不明食中毒として自治体から厚生労働省へ報告された食中毒速報の情報を収集し、発生の分布を検討した。臨床像の検討はヒラメを喫食しクドアの寄生が確認された事例について標準的な調査票を作成し、自治体での調査した情報をもとにした。症例はヒラメを喫食し、何らかの消化器症状(下痢、腹痛、嘔吐、嘔気など)を呈した者とし、症例定義を検討することとした。発症時間は消化器症状のうち症状を呈する割合の高い症状を症例定義の候補として検討することとした。潜伏期等の分布については事例ごとに検討することとした。

喫食量と発症の両反応関係の検討は Spearman の相関係数を算出した。クドアが寄生したヒラメの喫食と発症との関連はオッズ比を算出し、ロット別による調整オッズ比と Mantel-Haenszel カイ二乗検定を行った。

発症に至るクドアの摂取量は2011年6月から12月までに発生したクドアに関連する食中毒事例で、事例が発生した自治体から厚生労働省に提供された原因食品であるヒラメの喫食量(g)、*K. septempunctata*、ヒラメ1gあたりのクドアの孢子数、ヒラメの身の喫食量(g)よりヒラメを喫食した際に摂取した孢子数を算出し、喫食した孢子数の中央値、範囲(最小値、最大値)よりクドアの孢子摂取量の算出を行った。

研究デザインは地域相関研究で行った。

利用したデータは平成24年度に厚生労働省医薬食品局食品安全部食中毒被害情報室に自治体から報告されたヒラメを提供し、食中毒として報告された事例とした。症例定義はヒラメを喫食し、24時間以内に下痢または嘔吐の消化器症状を呈した者とした。

事例のうち、患者のヒラメの喫食量、ヒラメの1gあたりの *K. septempunctata* の孢子数の情報が揃った12事例を利用した。

利用した情報は事例毎の発症率、ヒラメの個体の重量(Kg)(ヒラメ重量)、ヒラメ喫食量(g)、ヒラメの *K. septempunctata* 孢子数とした。解析方

法は発症に関連する要因の検討を相関係数及び重回帰分析を行った。

研究デザインは地域相関研究とし、*K. septempunctata* に汚染されたヒラメを喫食することで発症に関連する要因は相関係数を算出し、相関係数が0.200以上の項目は多重共線性の可能性も検討し、重回帰分析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は食品衛生法により自治体から厚生労働省へ報告された情報を利用し、個人情報扱っていないため、倫理面の配慮は行われている。

C. 研究結果

2009年6月から2012年12月までのクドアの食中毒発生報告件数は2009年及び2011年が9月にピークがあり、2010年が8月にピークがあり、2012年が6月にピークがあった。各年の食中毒発生報告件数は2010年が18件(9月)で最も多く、次いで2009年(9月)及び2011年(8月)が14件、2012年が11件(6月)であった。(図1)。発生場所は西日本を中心に発生していた(図2)。

検討に利用した事例の対象者は対照群の性別が女で56.5%(13/23)、男で43.5%(11/18)であった(表1)。症例が喫食量と潜伏期の相関係数は $r=-0.531$ であった(表2)。仕入れ別での相関係数は -0.866 であった。ヒラメの仕入れ別の発症の調整オッズ比は22.7(95%信頼区間:2.3-221.3)で、Mantel-Haenszel カイ二乗検定が

$P<0.001$ で有意であった(表3)。

ヒラメの喫食量と孢子数は有意な相関($r=0.093$, $P=0.773$)がなかった。ヒラメ1gあたりに寄生した*K. septempunctata*の孢子数と最小値(9.4×10^5 個/g)、中央値(1.1×10^7 個/g)、最大値(2.0×10^8 個/g)とヒラメの喫食量(10g~90g)よりクドアの摂取量を推定し、過去に算出した閾値(7.2×10^7 個)と比較をした。クドアの汚染が中央値以上であればクドアの摂取量は閾値を超えていた。クドアのヒラメ1gあたりの孢子数が最小値であれば、ヒラメの喫食が76.6g以上でないと閾値を超えなかった。

解析で利用した12事例の発症率は中央値が72.5%(範囲:37.1-100.0%)であった(表4)。ヒラメの重量は中央値が1.2kg(範囲:0.8-1.5kg)であった。ヒラメの喫食量は中央値が25.1g(範囲:11.3-88.0g)であった。1gあたりの*K. septempunctata*の孢子数は対数をとった値で、中央値は 1.2×10^7 個/g(範囲: 9.4×10^5 - 5.8×10^7)であった。*K. septempunctata*孢子摂取数は1gあたりの*K. septempunctata*の孢子数とヒラメの喫食量を乗じ対数を取った値とした。*K. septempunctata*孢子摂取数の中央値は 2.4×10^7 個(中央値: 4.9×10^7 - 3.1×10^9 個)であった。

発症率とヒラメの重量($r=-0.611$, $P=0.035$)及び発症率とヒラメの喫食量($r=0.394$, $P=0.205$)は相関係数が0.300以上であった(表5)。そのうち、発症率とヒラメの重量は有意な相関

であった。

発症率と関連する要因としてヒラメの個体重量、ヒラメの喫食量、*K. septempunctata* 孢子数について重回帰分析を行った(表6)。重回帰分析はモデル1としてヒラメ重量、対数をとった*K. septempunctata* 孢子数、ヒラメ喫食量を独立変数とした。モデル2をヒラメ重量、ヒラメ喫食量を独立変数とした。モデル1では、 R^2 は0.446で、 $P=0.173$ であった。発症率をヒラメの個体重量、*K. septempunctata* 孢子数、ヒラメの喫食量として重回帰分析を行った。回帰係数はヒラメの重量が-43.3($P=0.075$)、*K. septempunctata* 孢子数が0.3($P=0.975$)、ヒラメの喫食量が0.2($P=0.336$)であった。

モデル2では、 R^2 が0.446で、 $P=0.070$ であった。発症率をヒラメの個体重量、ヒラメの喫食量として重回帰分析を行った。回帰係数はヒラメの重量が-43.3($P=0.058$)、ヒラメの喫食量が0.2($P=0.305$)であった。

D. 考察

K. septempunctata が寄生したヒラメの流通は2009年及び2011年が9月にピークであり、2010年が8月にピークであった。*K. septempunctata* に汚染されたヒラメは9月を中心にピークとなり流通している可能性が考えられた。

性別、年齢、治療中の疾患の有無、アレルギーの有無での症例発生に差はなかった。宿主側の要因による発症は考えられなかった。

症例定義に合致した症例からの潜伏期は中央値が5.0時間で、範囲が1.8-8.0時間であった。従来の食中毒調査では、症例が何らかの症状が出た場合を発症時間と定義しており、この方法で算出した潜伏期は中央値が5.0時間で範囲が1.8-15.0時間であった。このうち、潜伏期が15.0時間であった症例の症状は発熱のみであり、本研究で設定した症例定義に合致しなかった。このような者を除くと潜伏期は正規分布が仮定できた。本研究で採用した症例定義を採用した消化器疾患を呈した時刻を発症時刻とすることが妥当であると考えられた。従って、ヒラメにクドアが寄生していた場合の症例定義は消化器症状のみに絞ることが適切であると考えられた。

喫食量と潜伏期を検討したところ、相関係数が-0.531で、喫食量が多いと潜伏期間が短くなっていた。クドアによる汚染度については検討出来なかったが、クドアの汚染量が多いと症状を早く呈することが考えられた。

仕入れ日別に喫食と発症割合の差を比較したところ、仕入れ日が違う事で喫食者の発症に差があることが考えられた。汚染は個体による差があることが考えられ、クドアに汚染度が高いヒラメの個体を喫食した場合には有意に発症し、汚染度の低いヒラメを喫食した場合は有意な発症はないと考えられた。従って、個体の汚染が発症の因子となる事が考えられた。汚染度の低いヒラメの流通をすることがクドアによる汚染の発生を予防する

要因であると考えられた。

相関分析及び重回帰分析で、ヒラメの重量が増加すると発症率が減少し、ヒラメの個体の重量及びヒラメの喫食量が発症率と関連があった。ヒラメは成魚になるまでに3年程度かかる。養殖のヒラメは養殖開始から10ヶ月程度で出荷される。そのため、養殖されたヒラメは成魚になる前に出荷されている可能性が考えられ、ヒラメの個体そのものの免疫の状況などによる違いにより、個体の重量が増加すると発症率が減少する可能性が考えられた。一方で、本研究は地域相関研究であるため、交絡因子やバイアスに関する制御ができていない可能性がある。今後、個々の人を対象にしたヒラメの個体の重量、ヒラメの喫食量及び*K. septempunctata*の摂取量との関連を検討する必要がある。

ヒラメ喫食量と下痢あるいは嘔吐の症状を呈することとの関連は有意ではなかったが相関係数が0.394で中程度の関連がみられた。ヒラメが*K. septempunctata*に汚染されている量が異なっただとしても、ヒラメの喫食量が増加することで*K. septempunctata*の摂取量が発病する閾値を超える事になるため関連が見られた可能性が考えられた。一方、*K. septempunctata*の汚染量は発症率との相関係数が-0.023で、関連がみられなかったことから*K. septempunctata*によりヒラメが汚染された孢子数よりはむしろヒラメの喫食量が下痢あるいは嘔吐を発症するための寄与が高い可能性が

考えられた。本研究は地域相関研究であるために個人の状況の情報が得られないため、今後個人の状況を加味した検討ができる研究デザインでの検討が今後の課題である。

K. septempunctata 孢子の摂取量は中央値が 2.4×10^8 個（範囲： 4.9×10^7 - 3.1×10^9 個）であった。これまで、2010年に発生したアウトブレイク事例で推定された発病をきたす閾値の 7.2×10^7 と同程度のオーダーであることが考えられた。従って、本研究は地域相関研究ではあるが、バイアスや交絡因子の可能性は少ないことが考えられた。

今後の対策として、ヒラメの*K. septempunctata*の孢子数が少ないあるいはクドアが存在しないような養殖ヒラメの生産または出荷が重要であると考えられた。ヒラメに*K. septempunctata*が寄生を防ぐあるいは寄生している孢子数を少ない値で維持する対策は、例えば大分県のようなヒラメの種苗の時点でのスクリーニングや養殖業者から出荷前の段階でのスクリーニングなどを行い、十分な品質管理をすることで、生食用のヒラメの喫食による食中毒事例の発生を予防できることが考えられた。

E. 結論

*K. septempunctata*が寄生したヒラメの流通は9月前後がピークである可能性が考えられた。*K. septempunctata*に汚染されたヒラメ喫食による下痢または嘔吐の発病との関連を検討し、

ヒラメの個体の重量とヒラメの喫食量が発病と関連し、*K. septempunctata*の摂取量がこれまで報告した発病の閾値の推定値と同程度であった。このことから10の7乗オーダーでの摂取が*K. septempunctata*による下痢あるいは嘔吐の少なくともいずれかの消化器症状を呈することが示唆された。生産の段階で*K. septempunctata*に寄生しているヒラメの生食用出荷を控えるような食中毒予防策の実施が重要である。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表
論文発表

1. Jun-ichi Takanashi, Hiromichi Taneichi, Takako Misaki, Yuichiro Yahata, Akihisa Okumura, Yoh-ichi Ishida, Toshio Miyawaki, Nobuhiko Okabe, Tetsutaro Sata, and Masashi Mizuguchi. Clinical and Radiological Features of Encephalopathy during 2011 E. coli O111 Outbreak in Japan. NEUROLOGY (in press).
2. Yoichi Kamata, Morihiro Saito, Daisuke Irikura, Yuichiro Yahata, Takahiro Ohnishi, Tomoaki Bessho, Takashi Inui, Maiko Watanabe, and Yoshiko Sugita-Konishi. A Toxin Isolated from *Sarcocystis fayeri* in Raw Horsemeat May Be Responsible for Food Poisoning.

Journal of Food Protection (in press).

3. 大西 真, 黒田 誠, 八幡 裕一郎. ゲノムから見た感染症 網羅的ゲノム解析によるヒラメ喫食に関連する嘔吐下痢症の原因物質の探索. NEUROINFECTION. 2012;17(1): 35-41.

学会発表

1. Yuichiro Yahata, Tomimasa Sunagawa, Fumiko Kasuga, Kiyosu Taniguchi, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe. Risk factors for sporadic shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infections in Japan. 141st American Public Health Association Annual Meeting (Boston, USA, 2-6 November, 2013)
2. Yuichiro Yahata, Takahiro Ohnishi, Yoshiko Sugita-Konishi, Takao Toyokawa, Naomi Nakamura, Kiyosu Taniguchi, Nobuhiko Okabe. *Kudoa septempunctata* caused outbreak in humans with raw flounder ingestion. IMED 2013 (Vienna, 15-18 February, 2013)
3. Yuichiro Yahata, Takako Misaki, Masami Nagira, Yuki Tada, K. Taniguchi, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe. Epidemiological analysis of a large restaurant-associated outbreak of hemolytic uremic syndrome and encephalopathy caused by *Escherichia coli* O111 in Japan. IMED 2013 (Vienna, 15-18 February,

- 2013)
4. Takako Misaki, Yuichiro Yahata, Masami Nagira, Yuki Tada, Kiyosu Taniguchi, Kazunori Oishi, Nobuhiko Okabe. Early detection of severe complications with *Escherichia coli* O111 in a large outbreak in Japan. IMED 2013 (Vienna, Austria, 15-18 February, 2013)
5. Masami Nagira, Takako Misaki, Yuichiro Yahata, Kiyosu Taniguchi, Yuki Tada, Nobuhiko Okabe. Enterohemorrhagic *E. Coli* O111

outbreak associated with raw beef consumption in a barbecue restaurant chain, Japan. VTEC 2012 (8th International Symposium, Amsterdam, 6-9 May, 2012)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

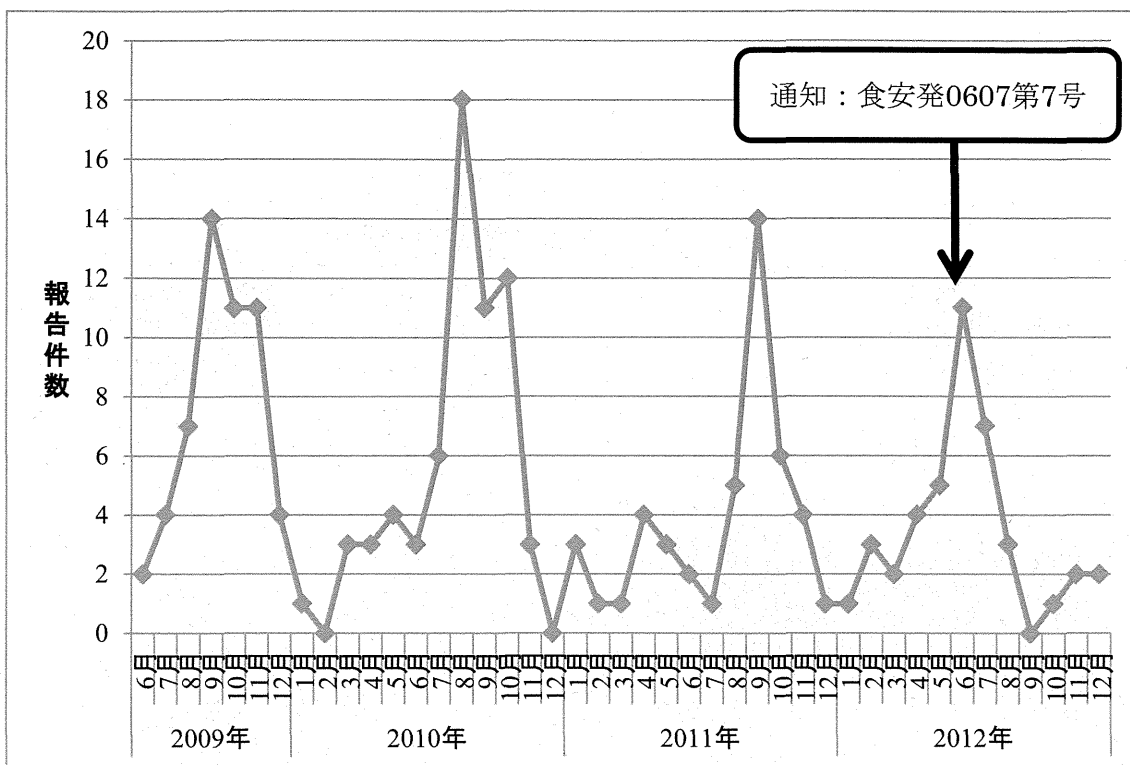


図1. 年別クダア関連の食中毒報告数(2009年6月～2012年12月)

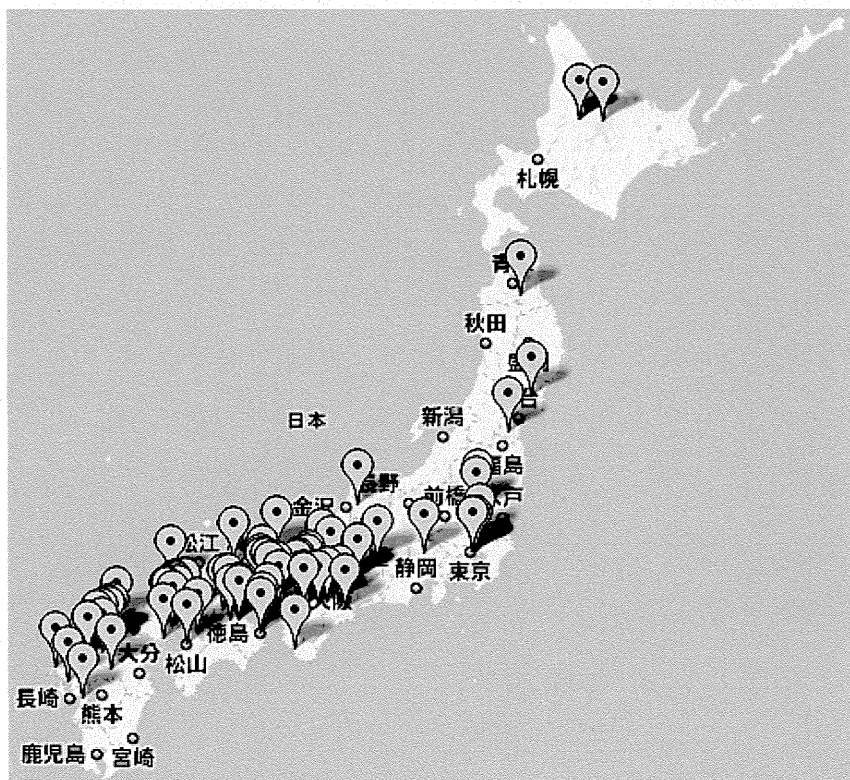


図2. ヒラメ喫食後の原因不明食中毒発生場所(2011年4月-2012年2月)