

# 自然毒等による食中毒及び有症苦情の検査事例について (2017～2019)

【化学衛生室】

田邊 奈都子、米澤友紀子<sup>1)</sup>、福田 武史<sup>2)</sup>

## 1 はじめに

化学物質及び自然毒(以下、「自然毒等」という。)による食中毒は、細菌性又はウイルス性食中毒と比較して発生件数は少ないものの、原因となる自然毒等の種類は多く、症状が重篤化して死に至ることもある。そのため、被害拡大防止及び患者の早期治療等の観点から、迅速な原因物質の特定が求められる。

鳥取県内において2017年から2019年の3年間で発生した自然毒等による食中毒及び有症苦情事例のうち、当所で検査したものは6件であった。検査項目の内訳は、ふぐ毒(テトロドトキシン、以下、「TTX」という。)3件、不揮発性腐敗アミン類(ヒスタミン、プトレシン、カダベリン、スペルミジン及びチラミン)2件、ポテトグリコアルカロイド( $\alpha$ -ソラニン)1件であった。本報では、今後の食中毒等検査の参考にするために、これら検査事例について報告する。

## 2 ふぐ毒の検査事例

### 2.1 事例概要

事例1: 2017年3月、知人からもらった魚を自宅で調理し昼と夜に分け喫食した1名が、同日午後8時頃に嘔吐、めまい、足のふらつき等の症状を呈し、翌日医療機関を受診した。

事例2: 2018年2月、県内の飲食店で提供されたふぐを含む寿司を喫食した1名が、喫食直後に舌と口に痺れを発症し医療機関を受診。発症から約1時間後には症状は回復した。

事例3: 2018年12月、ふぐと思われる魚を自宅で調理し夕食に喫食した1名が、翌日しびれを発症し医療機関を受診した。受診後に症状が悪化し意識不明となったが、その後症状は回復した。

### 2.2 試料

事例1では発症3日後の患者尿1件、事例2では患者尿1件及び血液1件並びにふぐ身の同一ロット品1件、事例3では患者尿2件(発症翌日及び2日後採取)について検査を実施した。

## 2.3 検査方法

事例1及び事例2ではふぐ身の抽出液、血液試料及び尿試料の精製をC18カラム及びHILICカラムを用いる方法(図1)<sup>1)</sup>により行った。

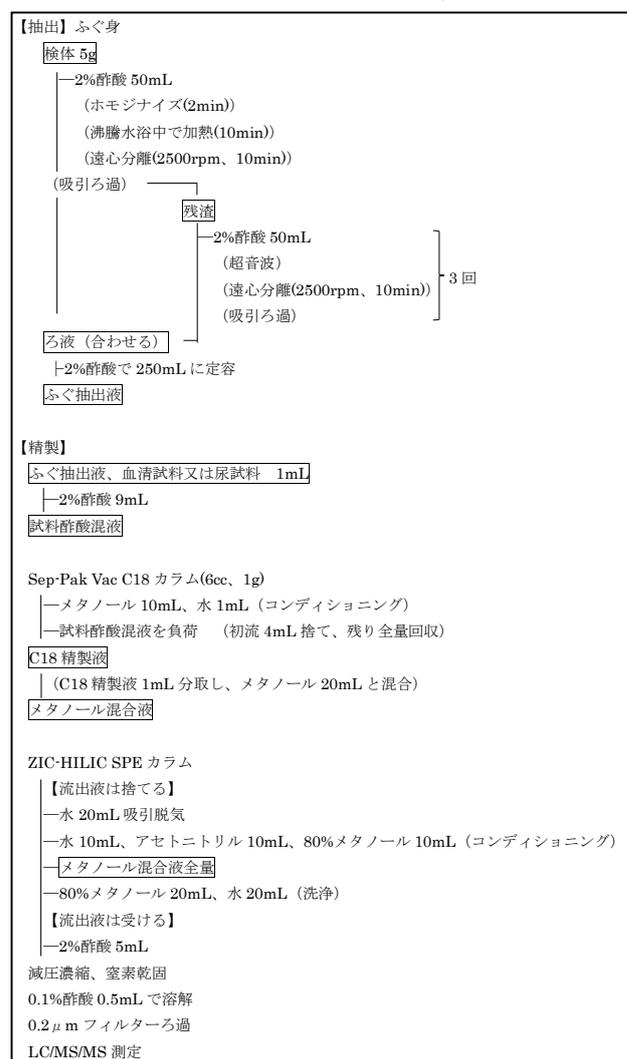


図1 事例1及び事例2におけるTTX前処理操作方法(ふぐ身からの抽出とふぐ抽出液、尿試料及び血液試料のC18カラム及びHILICカラムによる精製)

1) 鳥取県環境立県推進課 2) 鳥取県くらしの安心推進課

事例3では尿試料の精製に C18 カラム及び小型固相カラム (Mono Spin Amide) を用いる方法 (図2)<sup>2)</sup> により行い、いずれも LC/MS/MS で測定した (表1)<sup>3)</sup>。

小型固相カラムを使用する方法は従来の HILIC カラムを使用する方法と比較して作業時間が短いため、2018年に試験法の改良を行ったものである。

<p>【C18 精製】</p> <p>Sep Pac Vac C18 カラム(6cc,1g)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>—メタノール 10mL、水 10mL (コンディショニング)</li> <li>—尿試料 2mL+2%酢酸 8mL 混合液</li> </ul> <p>C18 精製液</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>—(C18 精製液 1mL 分取しアセトニトリル 9mL と混合)</li> <li>—アセトニトリル混合液</li> </ul> <p>【精製・濃縮】</p> <p>MonoSpin Amido type S</p> <p>【通過液は捨てる】</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>—水 200 <math>\mu</math>L、アセトニトリル 200 <math>\mu</math>L (コンディショニング)</li> <li>—アセトニトリル混合液 750 <math>\mu</math>L } 2回</li> <li>(遠心分離 (4000rpm、1min))</li> <li>—アセトニトリル 500 <math>\mu</math>L</li> <li>(遠心分離 (4000rpm、1min))</li> </ul> <p>【通過液は受ける】</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>—0.1%酢酸 300 <math>\mu</math>L</li> <li>(遠心分離 (4000rpm、1min))</li> </ul> <p>0.2 <math>\mu</math>m フィルターろ過</p> <p>LCMS/MS 測定</p>
---

図2 事例3における TTX 前処理操作方法 (C18 カラム及び小型固相カラムによる尿試料の精製)

表1 TTX 測定条件 (LC/MS/MS 法)

装置	LC:島津製作所 Nexera MS:AB SCIEX QTRAP5500
分析カラム	X Bridge Amide (2.1×150mm,3.5 $\mu$ m)
移動相	A : 0.1% 酢酸溶液 B : アセトニトリル Isocratic Flow A:B=4:6
流速	0.2 mL/min
カラム温度	40°C
注入量	3 $\mu$ L
測定時間	20min
イオン化方法	ESI(Positive)
測定モード	MRM
Q1	m/z 320.1
Q3	定量イオン m/z 162.0 定性イオン m/z 302.0

## 2.4 結果及び考察

TTX の検査結果を表2に示す。

事例1及び事例3では喫食残品や調理済残品がなく、ふぐの鑑別ができない事例であったが、患者尿から TTX が検出されたことから、原因究明の一助となった。

事例2では中毒症状の消失後に採取された患者尿

試料から TTX が検出された。また、ふぐ身から検出された TTX 量はマウスユニットに換算すると 15MU/g となり (10MU/g=2.2  $\mu$ g/g から算出)、無毒とされる 10MU/g をわずかに上回った。飲食店への聞き取りにより、提供されたふぐは宮城県産コモンフグであった。コモンフグは、一部海域 (宮城県雄勝浦湾等) で漁獲されたものを除いて筋肉は可食部とされているが<sup>4)</sup>、近年の調査において東北沿岸産のコモンフグの筋肉部位から TTX が検出されたとの報告がある<sup>5)</sup>。

表2 TTX の検査結果

事例	検体名	結果
1	患者尿	21 ng/mL
2	患者尿	1 ng/mL
	患者血液	<0.5 ng/mL
	ふぐ身	3.3 $\mu$ g/g
3	患者尿 1	27 ng/mL
	患者尿 2	29 ng/mL

## 3 不揮発性腐敗アミン類の検査事例

### 3.1 事案概要

事例4：2019年2月、宅配業者から配達されたぶりを自宅で調理し夕食に喫食した2名のうち1名が喫食直後に動悸、全身発赤・発疹、後に寒気の症状を呈し医療機関を受診した。喫食者のもう1名は、ひとくち口に含んだ際に苦みを感じ吐き出したため、症状はなかった。

事例5：2019年12月、給食施設において調理されたさわらのオムレツを11名で喫食した際、そのうちの2名が「直後に舌にピリピリとした刺激を感じた」と給食施設から保健所に申し出があった。その他の9名は味に違和感を感じず、また喫食した全員に発疹等の他の症状は認められなかったが、ヒスタミンを原因物質として疑い検査を実施した。

### 3.2 試料

事例4では調理済残品1件 (無症状喫食者がひとくち口に含んだ残り) と宅配業者に保管されていたぶりの切り身4件について検査を実施した。

事例5では喫食として保管されていたさわらのオムレツ5切れと原材料のさわらの切り身9切れについて検査を実施した。オムレツは5切れの試料をそれぞれ8等分し、そこから各1片ずつ取った5片を均一化し1検体とし、2検体分試験を実施した。原材料のさわらの一切れ当たりの重量は約2~5g程度であった。

### 3.3 検査方法

衛生試験法・注解<sup>6)</sup>及び既報<sup>7)</sup>に従って HPLC で測定した。前処理方法の詳細は図 3、測定方法の詳細は表 3 に示す。事例 5 のさわらの切り身は供試可能な量が少なく、引用した試験方法に定める供試量 (5g) を確保できなかったため、検量線の下限濃度を下げることにより、当該試験方法における定量下限を確保した。

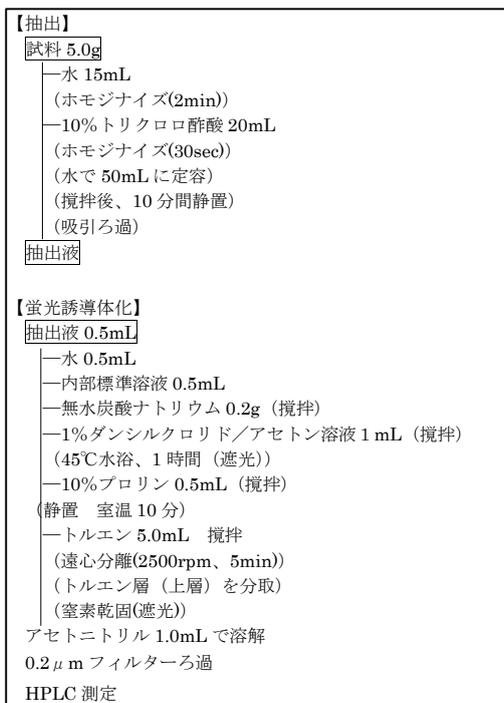


図 3 不揮発性腐敗アミン類前処理方法

表 3 不揮発性腐敗アミン類測定条件 (HPLC 法)

装置	島津製作所 LC-20A
分析カラム	TSK GEL ODS80TS (4.6×250mm,5um)
移動相	アセトニトリル：水=6：4
流速	1.3 mL/min
カラム温度	40°C
注入量	10 μL
測定時間	75min
測定波長	励起波長 325nm、蛍光波長 525nm

### 3.4 結果及び考察

不揮発性腐敗アミン類の検査結果を表 4 に示す。

不揮発性腐敗アミン類による食中毒はヒスタミン 100mg/100g 程度の摂取で発症するとされている<sup>7)</sup>。ヒスタミン以外の不揮発性腐敗アミン類は腐敗の指標となる。

事例 4 では、調理済残品から食中毒発症量を上回るヒスタミンが検出された。また、ぶりの切り身については 4 件中 1 件でのみ食中毒発症量程度のヒスタミンが検出された。

事例 5 では、プトレシン、スペルミジンについて定量下限値以上の値が検出された検体もあったが、食中毒症状の主体であるヒスタミンはいずれも定量下限未満であった。

表 4 不揮発性腐敗アミンの検査結果

事例	検体名	結果 (mg/100g)				
		ヒスタミン	プトレシン	カダベリン	スペルミジン	チラミン
4	調理済残品	940	2.4	36	0.9	<2
	ぶりの切り身 1	<5	<0.4	<0.4	0.7	<2
	ぶりの切り身 2	<5	<0.4	<0.4	0.7	<2
	ぶりの切り身 3	<5	<0.4	<0.4	0.8	<2
	ぶりの切り身 4	100	<0.4	0.6	0.7	<2
5	オムレツ 1	<5	0.9	<0.4	0.4	<2
	オムレツ 2	<5	0.9	<0.4	<0.4	<2
	さわらの切り身 1	<5	<0.4	<0.4	<0.4	<2
	さわらの切り身 2	<5	<0.4	<0.4	<0.4	<2
	さわらの切り身 3	<5	<0.4	<0.4	<0.4	<2
	さわらの切り身 4	<5	<0.4	<0.4	<0.4	<2
	さわらの切り身 5	<5	<0.4	<0.4	0.5	<2
	さわらの切り身 6	<5	<0.4	<0.4	0.5	<2
	さわらの切り身 7	<5	<0.4	<0.4	0.8	<2
	さわらの切り身 8	<5	<0.4	<0.4	0.5	<2
さわらの切り身 9	<5	<0.4	<0.4	0.5	<2	

## 4 ポテトグリコアルカロイドの検査事例

### 4.1 事案概要

事例6：2018年7月、県内の福祉作業所で昼食にまかないを食べた施設利用者及び職員18名が同日午後4時ごろから嘔吐、吐き気、気分不良の症状を訴えていると保健所に申し出があった。原材料の残品の生ジャガイモが一部緑色であったことが確認され、ポテトグリコアルカロイドによる食中毒疑いとして検査を実施した。

まかないはジャガイモを使用したグラタン及びサラダなどがバイキング形式で提供されており、各個人の喫食内容及び喫食量は不明であった。

### 4.2 検体

事例6では喫食残品2件(グラタン及びサラダ)及び原材料残品のジャガイモについて検査を実施した。ジャガイモは含まれるポテトグリコアルカロイドの個体差が大きいことが想定されたため、1)小ぶりの緑色のもの2個、2)小ぶりのもの2個、3)大きめのもの1個の3検体に分けて検査を実施した。

### 4.3 検査方法

衛生試験法・注解<sup>7)</sup>及び既報<sup>8)</sup>を基に、一部試験方法を変更し、LC/MS/MSで測定した。変更内容は試験時間短縮のため精製後の試験液の溶媒留去工程を省略し、また回収率向上のためカラム洗浄に使用するメタノール濃度を変更した。

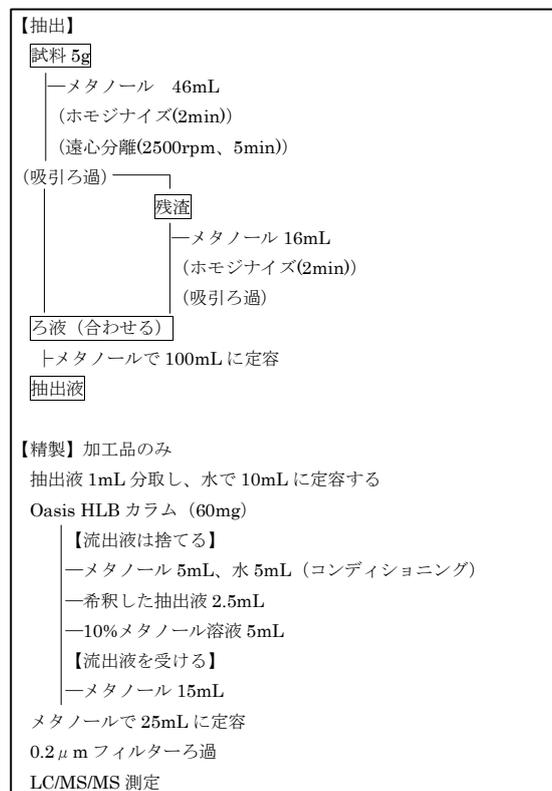


図4 ポテトグリコアルカロイド前処理方法

なお、本事例については、 $\alpha$ -チャコニンの標準品を保有していなかったことから、 $\alpha$ -ソラニンのみ定量試験を実施した。

前処理方法の詳細は図4、測定方法の詳細は表5に示す。

表5 ポテトグリコアルカロイド測定条件 (LC/MS/MS法)

装置	LC:島津製作所 Nexera MS:AB SCIEX QTRAP5500	
分析カラム	X Bridge Amide (2.1×150mm,3.5µm)	
移動相	A:0.02%ギ酸溶液 B:アセトニトリル Isocratic Flow A:B=7:3	
流速	0.2 mL/min	
カラム温度	40°C	
注入量	5µL	
測定時間	20min	
イオン化方法	ESI(Positive)	
測定モード	MRM	
$\alpha$ -ソラニン	Q1	m/z 868.3
	Q3	定量イオン m/z 398.2 定性イオン m/z 722.2、706.6、98.1
$\alpha$ -チャコニン	Q1	m/z 853.0
	Q3	m/z 71.0、98.0

### 4.4 結果及び考察

$\alpha$ -ソラニンの検査結果を表6に示す。

ポテトグリコアルカロイドの食中毒は体重50kgの大人で50mg程度の摂取により発症するとされている<sup>7)</sup>。また、試験品から $\alpha$ -ソラニンと同程度の $\alpha$ -チャコニンのピークが確認された。一般的なじゃがいもでは $\alpha$ -チャコニンは $\alpha$ -ソラニンの0.7~2倍程度含まれているとの報告がある<sup>8)</sup>。検出された $\alpha$ -ソラニン量の2倍程度のポテトグリコアルカロイドが含まれていたと仮定すると、含有量の高い部分を多量に喫食した者で発症する可能性のある量であった。

表6  $\alpha$ -ソラニンの検査結果

事例	検体名	結果 (mg/kg)
6	グラタン	15
	サラダ	40
	ジャガイモ1)	150
	ジャガイモ2)	39
	ジャガイモ3)	4.3

## 5 まとめ

2017年から2019年に当所に対応した自然毒等による食中毒及び有症苦情に関する検査事例について取りまとめた。今回まとめた事例以外にも食中毒の

原因となる自然毒等の成分は多く存在し、それらを原因とする食中毒発生時には、当所を含む地方衛生研究所に病因物質判定のための検査対応が求められる。当所は、既存試験法の技術の維持・改良に努めるとともに、検査対応可能な成分の拡充を行っていきたい。また、自然毒等の標準品の確保や管理も、試験体制の整備に向けて一つの課題である。

## 6 参考文献

- (1) 立野幸治他：山口県環境保健センター所報，第 50 号 (2007)
- (2) Takeshi Saito, et al. : Chromatographia, 77, 687-693 (2014)
- (3) 矢野昌弘他：神戸市環境保健研究所報，39, 48-53(2011)
- (4) 厚生省環境衛生局長通知：フグの衛生確保について(昭和 58 年環乳第 59 号)
- (5) 佐藤繁：厚生労働省科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「マリントキシンのリスク管理に関する研究」平成 27 年度分担研究報告書(2016)
- (6) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2015，東京，金原出版，2015，p205-279 (ISBN 978-4-307-47043-8)
- (7) 観 公子他：食品衛生学雑誌, vol. 46, No. 3, 127-132 (2005)
- (8) 西川徹他：長崎県衛生公害研究所報，52, 84-86 (2006)