

沖縄県における化学物質と自然毒による食中毒および苦情事例 —2011年度—

佐久川さつき・古謝あゆ子・國仲奈津子・真保栄陽子・松田聖子*

Food Poisoning and Consumer Complaint Cases Caused by Chemicals and Natural Toxins in Okinawa Prefecture in FY 2011

Satsuki SAKUGAWA, Ayuko KOJA, Natsuko KUNINAKA, Yoko MAHOE and Seiko MATSUDA*

要旨：沖縄県において、2011年度に発生した化学物質と自然毒による食中毒および苦情事例のうち、当研究所に検査依頼のあったシガテラ1事例およびオレンジジュースの苦情相談1事例についてまとめた。シガテラ事例は、知人から譲り受けた魚を煮付調理し、家族らと複数回喫食したところ、男性1名、女性2名がドライアイスセンセーション、下痢、しびれ等の症状を呈した。残っていた魚煮付けの筋肉から CTX1B, 52-*epi*-54-deoxyCTX1B および 54-deoxyCTX1B が検出された。オレンジジュースの事例は、家族4名が居酒屋で食事をし、注文したオレンジジュースを1歳男児に飲ませた直後に顔面紅潮、腹および背中に赤色大型の斑点が出現し、気分の高揚が見られたものである。男児に提供したとされる紙パック入りオレンジジュースおよび飲み残したオレンジジュースからエタノールが0.25%~0.74%検出された。

Key words: 食中毒, シガテラ, CTX1B, 52-*epi*-54-deoxyCTX1B, 54-deoxyCTX1B, オレンジジュース, エタノール

I はじめに

化学物質または自然毒による食中毒および苦情事例の調査について、理化学的試験または生物学的試験が必要な場合、管轄保健所長から検査依頼を受けて、当所が原因物質の検索を実施している。2011年度はシガテラが原因と推定される1事例およびオレンジジュースの苦情相談に関する検査依頼があったので、その概要を報告する。

II 方法と結果

事例の概要は検査依頼のあった保健所による調査報告書から、分析方法と結果は当研究所の検査報告書からまとめた。

1. ミーバイ煮付けによるシガテラ

(1) 概要

発生日 平成23年8月15日

発生場所 宮古島市

摂食者数 6人

患者数 3人

死亡者数 0人

原因食品 ミーバイの煮付け

原因物質 シガトキシン

原因施設 家庭

症 状 ドライアイスセンセーション、下痢（水様性～軟便）、舌および四肢のしびれ、しびれによる歩行困難

8月21日午前9時50分頃、宮古島市内の総合病院より、男性1名（62歳）のシガテラ食中毒疑いの届出が管轄保健所にあった。

男性は、8月初旬に知人が釣った魚（黒っぽいミーバイ、体重約5kg）を譲り受け、約5日間冷凍保管し、8月11日から14日の間に2回に分けて、煮付け調理し、家族ら合計6名で摂食した。

この男性は、11日から15日までの毎日、魚の煮付けを摂食し、15日の夜に下痢、しびれの症状を呈した。複数の医療機関にかかり、20日に受診した総合病院から食中毒疑いの届出がされた。

管轄保健所の聞き取り調査により、摂食者6名中女性2名が下痢（水様性又は軟便程度）、しびれなど発症していたことが判明した。この発症者のうち1名は11日及び14日の夕食時に摂食し、残りの1名は12日の朝食及び15日の昼食に少量摂食した。非発症者3名は、14日の夕食時のみに少量摂食した。

* 現所属：沖縄県福祉保健部薬務疾病対策課

(2) 検体

患者男性宅に残っていた魚の煮付け4かけら(総重量72.1g)を筋肉(51.6g)、皮(10g)および骨(10.5g)に分け、筋肉全てを均一化して分析に供した。

(3) 原因物質の検索

1) シガテラ毒の分析

シガテラ毒(CTXs)検査の公定法は食品衛生検査指針理化学編¹⁾記載のマウス毒性試験法であるが、本法に必要とされる筋肉量(240g程度)に達しなかったため、都市エリア産学官連携促進事業マリンバイオ産業創出事業による研究で開発した方法により分析を行った。

a. 標準品

CTXs標準品はCTX1B, CTX3C, 51-hydroxyCTX3C, CTX4B, 52-*epi*-54-deoxyCTX1B, 54-deoxyCTX1B, 2-hydroxyCTX3C, 2,3-dihydroxyCTX3Cの合計8成分を用いた。前者3成分は化学合成されたもので、後者5成分は天然試料から得られ、各種スペクトル解析により同定されたものである。

b. 抽出

検体量を5gとし、公定法に規定する溶媒量を少量化して実施した。均一化した筋肉5gをポリプロピレン(PP)製50mL遠沈管に測りとり、アセトン15mLを加え、ホモジナイズ(3分間, 5000rpm以下)し、遠心分離(3分間, 3000rpm, 10℃)を行い、アセトン層を濃縮用100mLナス型フラスコに移し替えた。PP遠沈管内の残渣にアセトン15mLを加え、再度抽出した。アセトン層を濃縮用ナス型フラスコに合わせて、5mL以下になるまで減圧濃縮した。濃縮液を10mL共栓付ガラス試験管に移し、ナス型フラスコに付着した油分を総量5mLのジエチルエーテルで洗いながら濃縮液と合わせ、穏やかに数回、転倒混和した。静置後、エーテル層を新しい10mL共栓付ガラス試験管に分取した。残った水層にジエチルエーテル5mLを加え、再度、転倒混和した。エーテル層を1回目の抽出液と合わせ、窒素ガス気流下(40℃以下)で乾固した。エーテル抽出物に90%メタノール1.5mL、ヘキサン3mLを加え、振とうし、液-液分配を行った。下層の含水メタノール層をパスツールピペットにより、4mLバイアルに移し、窒素ガス気流下で乾固した。

c. 精製

抽出物を酢酸エチル-メタノール混液(9:1)2mLに溶解し、あらかじめ同溶媒8mLで平衡化したInertSep FL-PR(500mg, GLサイエンス(株)製)に通過させ、同溶媒2mLで洗浄した。流出画分(4mL)は窒素ガス気流下(40℃)で溶媒を除去した。残渣をアセトニトリル3mLに溶解後、あらかじめメタノール3mL、アセトニトリル3mLで平衡化した

InertSep PSA(200mg, GLサイエンス(株)製)に注入し、次いでアセトニトリル3mL、メタノール3mLで順次溶出した画分を得た(溶出順にa1, a2, bとする)。各画分を窒素ガス気流下で乾固後、メタノール1mLに溶解し、LC-MS/MS用試験液とした。なお、アセトニトリル画分のa1, a2は、CTX4AやCTX3Cなど低極性CTXsの確認用であり、メタノール画分bは高極性CTXs分析用とした。

d. 分析条件

装置 Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS
 カラム ZORBAX Eclipse Plus C18(2.1×50mm, 1.8μm)
 流速 0.4 mL/min
 注入量 5 μL
 移動相 A液 5 mM ギ酸アンモニウム-0.1%ギ酸
 B液 メタノール
 グラジエント 78%B(0 min)→88%B(10 min)→88%B(14 min)
 イオン化モード ESI, positive (Agilent Jet Stream electrospray ionization)

ドライガス流速および温度 10 L/min, 300 °C
 ネブライザーガス圧力 50 psi
 シースガス流速および温度 11 L/min, 400 °C
 キャピラリー電圧 5000 V
 ノズル電圧 1000 V
 フラグメンター電圧 350 V
 コリジョンエネルギー 40 eV
 モニターイオン $[M+Na]^+ \rightarrow [M+Na]^+$

2) 魚種の同定

外部形態観察が困難であったため、ミトコンドリア(mtDNA)の16SリボゾームRNA(rRNA)後半領域の遺伝子を解析した²⁾。

(4) 分析結果

1) CTXsの検査結果

CTX1B 0.66 ng/g 検出
 52-*epi*-54-deoxyCTX1B 0.12 ng/g 検出
 54-deoxyCTX1B 検出(定性のみ)

2) 魚種の同定

決定した塩基配列をGenBank/EMBL/DDBJデータベース(<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>)に登録されているバラハタ(DQ06319)と比較した結果、完全に一致した。

(5) 考察

食品衛生検査指針理化学編¹⁾によると、マウス毒性値として0.025 MU/g以上は食用不適とされる。1 MUはCTX1Bが7 ng, 52-*epi*-54-deoxyCTX1Bが14 ngに相当することから、分析結果から検体のマウス毒性値に換算するとCTX1Bとし

て約0.09 MU/g, 52-*epi*-54-deoxyCTX1Bは約0.01 MU/g, 合計約0.1 MU/gとなる。CTX1Bのヒトに対する最小発症量は10 MU (70 ng) であり³⁾。今回の検体のマウス毒性試験換算値0.09 MU/gから最小発症摂取量を推定すると、約110 gとなる。発症者3名のうち、医療機関を受診した男性の摂食量は、不明であるが、魚の煮付けを毎日摂食しており、食べ残しとして送付された検体量(筋肉約50 g)から勘案すると、この患者は約110 g以上摂食したと思われる。

2. オレンジジュースの関与が疑われる体調不良

(1) 概要

発生日 平成24年2月5日

発生場所 石垣市

摂食者数 1人

患者数 1人

死亡者数 0人

原因食品 不明

原因物質 不明

原因施設 飲食店

症状 顔面紅潮, 赤色斑点, 気分高揚

2月5日(日), 家族4人(父, 母, 女兒, 男児(1歳))で居酒屋へ行った際、手羽先肉, ひらやーち, 鮭おにぎりを食した後、オレンジジュースを男児に飲ませた。直後に顔面が紅潮し、腹と背中に赤く大きな斑点ができ、気分の高揚が見られた。母親がオレンジジュースにお酒の臭いを感じたため店員に確認をしたが、お酒がオレンジジュースへ混入していることはないと思うと回答を受けた。病院を受診し、ジュースと尿の薬物検査を実施した結果は陰性であった。今回、男児が初めて口にされた食材は無く、食物アレルギーは考えにくいとのことだった。翌日には症状は改善された。母親よりこのオレンジジュースについて保健所へ苦情相談があり、当所で測定することとなった。

(2) 検体

オレンジジュース1 男児に提供したとされる紙パック入りオレンジジュース。

オレンジジュース2 男児が飲み残したオレンジジュース。警察署保管。

オレンジジュース3 男児が飲み残したオレンジジュース。届出者保管。

尿 病院受診時の男児の尿。

検体は採取した日から当所へ搬入されるまでに4~8日間経過していた。また、オレンジジュース2及び3はオレンジジュース1と比較して色が薄く、氷が解けたこ

とによるジュースの希釈が考えられた。

(3) 分析方法

検体に含まれるアルコール(エタノール)の定量を目的とした。オレンジジュース1~3は500倍希釈、尿は10倍希釈したものを試験液とした。内標準として1-プロパノールを試験液に対し100 ppmとなるように添加し、GC-FIDにて分析を行った。測定条件は以下のとおりである。

カラム	DB-FFAP (30 m×0.25 mm×0.25 μm)
オープン	35℃ (5分保持), 35-200℃ (20℃/分), 200℃ (2分保持)
キャリアガス	ヘリウム
流圧	20.31 psi
インジェクタ量	1 μL (スプリットレス)
インジェクタ温度	250℃
検出器	FID 250℃

(4) 分析結果

オレンジジュース1 0.25% (定量限界0.05%)

オレンジジュース2 0.74% (定量限界0.05%)

オレンジジュース3 0.51% (定量限界0.05%)

尿 検出されず (定量限界0.001%)

(5) 考察

食品衛生法では清涼飲料水の酒精分は1容量%未満であることが定められている。オレンジジュース検体は全て1%未満であった。また、日本農林規格(JAS法)において、オレンジジュースのエタノール量は3 g/kg以下であることが定められている。重量換算の結果、飲み残しであるオレンジジュース2及び3ともJAS法で定められたエタノール量より高い値(5.92, 4.21 g/kg)であった。オレンジジュース1については基準値以下(1.95 g/kg)であったため、男児に提供された時点におけるアルコール量が高かったかどうかは断定できなかった。

III 参考文献

- 1) 佐竹真幸 (2005) シガテラ. 厚生労働省監修. 食品衛生検査指針理化学編 2005, 社団法人日本食品衛生協会, 東京都, pp. 691-695.
- 2) Ishizaki, S., Yokoyama, Y., Oshiro, N., Teruya, N., Nagashima, Y., Shiomi, K., Watabe, S. (2006) Molecular identification of pufferfish species using PCR amplification and restriction analysis of a segment of the 16S rRNA gene. *Comp. Biochem. Physiol. D*, 1: 139-144.
- 3) 安元健 (1980) シガテラ. 医学の歩み, 112: 888-892.