

ドクサバフグによる食中毒事例 — LC/MS/MSによる尿中のテトロドトキシンの分析 —

高宮真美・古田和美*¹・中村秋香・麻岡文代*²・
宅間範雄・西森一誠・福永和俊*³

Food poisoning case by *Lagocephalus lunaris* — Analysis of Tetrodotoxin in Urine by LC/MS/MS —

Masami TAKAMIYA, Fumiyo ASAOKA*¹, Akika NAKAMURA, Kazumi FURUTA*²
Norio TAKUMA, Kazuo NISHIMORI and Kazutoshi FUKUNAGA*³

【要旨】平成20年8月、ドクサバフグを喫食したことによるテトロドトキシン食中毒事例が2日連続して発生した。

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC/MS/MS)を用いて患者尿の分析を行った結果、重症患者尿からテトロドトキシン0.32 μ g/mlを検出した。また、フグ残品(皮、筋肉、生殖腺、内臓)のマウス試験により、皮から80MU/g、筋肉から220MU/g、生殖腺から1,900MU/g、内臓から170MU/gのふぐ毒を検出した。

高知県水産試験場、高知県須崎福祉保健所と連携し、迅速な検体確保、分析、形態的鑑定を行い、ドクサバフグによる食中毒防止の啓発を行った。

Key words : 自然毒、食中毒事例、ドクサバフグ、尿、テトロドトキシン、LC/MS/MS、
natural poison, food poisoning case, *Lagocephalus lunaris*, urine, tetrodotoxin,
LC/MS/MS

I はじめに

フグに含まれるテトロドトキシンは、強力な神経毒で神経細胞や筋細胞に存在しているナトリウムチャンネルを抑制することにより、神経や筋肉を麻痺させる。

高知県では、平成10年から平成19年までの10年間でフグを原因とする食中毒事例が5件発生している。

平成20年8月、フグによる食中毒事例が2日連続して2例発生し、患者尿及び患者宅のフグ残品の皮・筋肉・生殖腺・内臓についてテトロドトキシンの分析を行ったので報告する。

II 食中毒事例の概要

〔事例1〕

平成20年8月中旬、重症患者が営む定置網にかかった体長約40cmのフグの身と肝臓(約10cm)を2cm程度に切り調理、昼食に5名が喫食、3名が発症した。

重症患者は50歳代の男性で、肝臓2切れ、身3切れを喫食しており、約2時間後に手指・口唇の痺れ、脱力感を呈し、瞳孔散大、救急車内で呼吸停止状態となり病院に搬送された。

約72時間後に意識を取り戻し、8日後に退院した。

肝臓1切れ、身1切れを喫食した2名は軽症、肝臓を喫食していない2名は発症していない。

〔事例2〕

事例1の翌日発生。患者は50歳代の男性、湾内市場付近で釣った体長約40cmの魚を調理し、夕食に筋肉のみを全て一人で喫食した。喫食後約6時間で口唇

*1 現高知県環境対策課

*2 現高知県中央東福祉保健所

*3 現高知市食肉衛生検査所

の痺れ、四肢の筋力低下、発言障害を呈し病院に搬送されたが、意識不明の状態となった。

約60時間後に意識を取り戻し、3日後に退院した。

III 調査及び分析の方法

事例1及び2の患者尿については、秦野ら¹⁾の方法に準拠し、事例1のフグ残品については、公定法²⁾のマウス毒性試験法を用いて分析を行った。

また、フグ残品の種名は高知県水産試験場で1次的に鑑定し、国立科学博物館において形態的な特徴に基づいて確定した。

1. 試料

- (1)食中毒患者の尿
- (2)事例1の食品残品(筋肉、皮、生殖腺、内臓)

2. 試薬等

[尿]

テトロドトキシン：和光純薬工業株式会社製
メタノール：和光純薬工業株式会社製 HPLC 用
アセトニトリル：関東化学株式会社製 HPLC 用
エタノール：和光純薬工業株式会社製 HPLC 用
酢酸：和光純薬工業株式会社製 試薬特級
ギ酸：和光純薬工業株式会社製 HPLC 用
グラファイトカーボンパウダー：GL Sciences 社製
Sep-Pak Vac C₁₈：Waters 社製 50mg/1cc

[フグ残品]

酢酸：和光純薬工業株式会社製 試薬特級
マウス：日本エスエルシー株式会社製 4週齢、ddY系、雄、体重19~20g

3. 装置及び測定条件

3.1. 高速液体クロマトグラフ

装置：Waters 社製 LC2795
カラム：Atlantis HILIC Silica(Waters 社製)
(150mm×2.1mm i.d.×3µm)
ガードカラム使用
カラム温度：40℃
移動相：0.1%ギ酸：アセトニトリル=6：4
流量：0.2ml/min
注入量：5µl
測定時間8分

3.2. タンデム型質量分析計

装置：JASCO International 社製 Micromass
Quattro Ultima™ Pt

測定法：MRM 法

イオン化：ESI (+)

イオンソース温度：100℃

検出器電圧：650V

テトロドトキシンの分析条件：500µg/lの標準液をシリンジポンプを用いて直接MS装置に導入することにより最適条件を求めて分析した。

プリカーサーイオン：320

プロダクトイオン：162,302

リテンションタイム：2.5分

4. 試験溶液の調製

患者尿からの試験溶液は図1に従って調製した。

事例1のフグ残品については、筋肉、皮、生殖腺、内臓に分けて採取し、それぞれにつき公定法どおり調整した。

[尿]

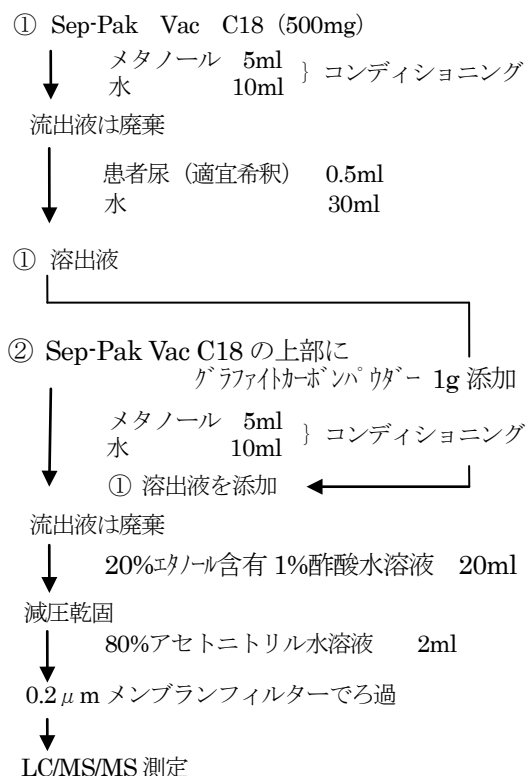


図1 試験溶液の調製

IV 結果及び考察

1. 患者尿

秦野ら¹⁾の報告より、早期の尿からはテトロドトキシンの検出が可能であることから、事例1は当所への食中毒事件発生の通報と同時に、尿採取の依頼を須崎福祉保健所に行い、発症約3時間半後の尿を採取した。

事例2は夜間に発症しており、約10時間後に採取した。

事例1の重症患者尿からは、0.32 μg/mlのテトロドトキシンを検出した。軽症の2名からは痕跡程度検出した。事例2の患者尿は採取量が多くテトロドトキシンを痕跡程度検出した。

表1 患者尿中のテトロドトキシシ量

		検体採取量	結果
事例1	患者尿1	22ml	0.32 μg/ml
	患者尿2	50ml	痕跡
	患者尿3	115ml	痕跡
事例2	患者尿4	200ml以上	痕跡

定量限界 0.03mg/L

代表的なテトロドトキシシのMRMクロマトグラムを図2に示した。

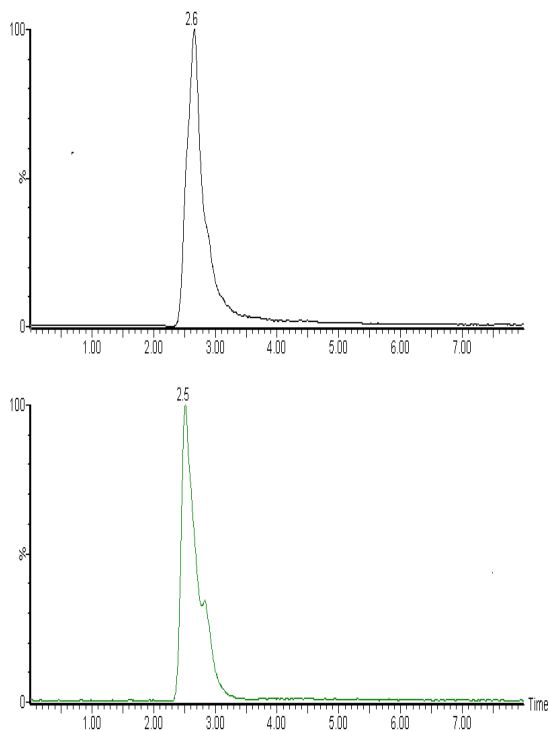


図2 テトロドトキシシのMRMクロマトグラム
上段：重症患者尿 下段：標準物質

2. フグ残品の部位別フグ毒量

事例1の患者宅のフグ残品について、可能な限りの検体確保を須崎福祉保健所に依頼した。

水産試験場職員立会のもと、残品から筋肉・皮・生殖腺・内臓を採取、筋肉から220MU/g、皮から80MU/g、生殖腺から1,900MU/g、内臓から170MU/gのフグ毒が検出された。

フグ毒のヒトにおける最少致死量は10,000MU(テトロドトキシシ約2mg相当)³⁾とされている。

筋肉からは220MU/gの毒力が検出されており、一切れ15gの身を3切れ摂取すると最小致死量に近い量のテトロドトキシシを摂取したこととなる。

表2 事例1のフグ残品1gあたりの毒力

	検体採取量	結果
筋肉	4.36g	220MU
皮	3.70g	80MU
生殖腺	3.40g	1,900MU
内臓	19.51g	170MU

3. フグの鑑定

事例1のフグ残品について水産試験場へ鑑定を依頼した結果、外見上背側の小さな棘の分布が背鰭近くまで達していたことや、軟X線写真撮影の結果、前頭骨が紡錘状に肥大・石灰化していたことなどから、ドクサバフグに該当すると推測された。しかし、脊椎骨数など種名を確定するための情報が不足していたことから、須崎福祉保健所を通じて国立科学博物館に鑑定を依頼、種名はドクサバフグと確定された。

ドクサバフグは、主に東シナ海からインド洋、南アフリカに分布するとされるが、静岡県、山口県、鳥取県、長崎県、鹿児島県の沿岸での記録もある⁴⁾。卵巣は猛毒で筋肉、皮、精巢、肝臓、腸、胆嚢、脾臓、腎臓は強毒である。

高知県近海で採取したドクサバフグによる食中毒が連続して発生したため、県では発生日の翌日からドクサバフグの特徴を掲載したリーフレットを作成し、市場、釣り具店等への配布やマスコミ、ホームページによりフグ食中毒防止の啓発を行った。

なお、事例2は、フグ残品を確保することができなかったことから、後日、聞き取り及び図鑑との照合により、ドクサバフグと推定した。

V まとめ

平成20年8月、ドクサバフグによる食中毒事例が2日連続で発生した。

重症患者尿から $0.32 \mu\text{g/ml}$ のテトロドトキシン、フグ残品の筋肉から 220MU/g、皮から 80MU/g、生殖器から 1,900MU/g、内臓から 170MU/g のフグ毒が検出された。

高知県では、家庭でサバフグを調理し食する習慣があり、今回の事例はドクサバフグを食用可能なフグを誤食した事例であった。関係機関が密に連携をとることにより、患者尿及びフグ残品の検体確保、テトロドトキシンの分析、ドクサバフグの鑑定を迅速に行うことができ、発生翌日には啓発を行い被害の拡大防止を図ることができた。

謝辞

検体の確保等について高知県須崎福祉保健所、高知市保健所の皆様に、魚種の同定について高知県水産試験場、国立科学博物館の皆様にご協力いただいたことを深く感謝いたします。

文献

- 1) 秦野真澄ら：「LC/MS/MSによる尿中のテトロドトキシンの分析」,愛媛県立衛生環境研究所報, 8, 17-20 (2005)
- 2) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針 理化学編2005, 661-666, 社団法人日本食品衛生協会 (2005)
- 3) 日本薬学会：衛生試験法・注解2005, 278-285, 金原出版株式会社 (2005)
- 4) 山田梅芳ら：東シナ海・黄海の魚類誌, 1239-1241, 東海大学出版会 (2007)