

## 健康危機事案を想定した模擬訓練結果(2021年度)

松永 尚子, 吉村 裕紀, 松尾 広伸, 山口 恵里果, 谷口 香織, 辻村 和也

### Training Results of Assuming Food Poisoning Outbreak (2021)

Naoko MATSUNAGA, Hiroki YOSHIMURA, Hironobu MATSUO, Erika YAMAGUCHI,  
Kaori TANIGUCHI and Kazunari TSUJIMURA

キーワード:健康危機管理、食中毒、テトラミン、TLC、LC-MS/MS

Key words: health crisis management, food poisoning, tetramine, TLC, LC-MS/MS

#### はじめに

近年の健康危機は、健康食品事件や残留農薬の含まれた食品の流通、生物毒など多様で高度な対応を要するものに変容してきている。このような健康危機事案に的確に対応するため、地方衛生研究所の位置づけについては「地域保健対策の推進に関する基本的な指針(1994年12月1日厚生省告示第374号)」の中で、「地方衛生研究所は、地域における健康危機管理の科学的・技術的中核となる機関として機能の充実強化を図ること、他地方衛生研究所等の関係機関と連携体制の構築を図ること」とされている。

こうした状況を踏まえて、地方衛生研究所全国協議会九州支部(以下、九地研と略)では、2006年2月に「九州ブロック地方衛生研究所広域連携マニュアル」を策定し、情報の共有、試験検査・技術研修の相互支援等広域連携を行い、地域保健総合推進事業の一環として九地研会員で毎年原因不明の健康危機事案を想定した毒性物質の定性・定量検査の模擬訓練を実施している。

当センター生活化学科でも本訓練に参加し健康危機管理における理化学検査体制の強化を図っている。本報告では、2021年度の実施内容と当センターの結果について報告する。

#### 実施方法

##### 1 実施期間

2021年11月1日～11月26日

##### 2 検体

事務局より送付された液体約50 g

##### 3 実施体制

模擬訓練の進行調整役として訓練責任者を配置し、実施要領に従い演習を行った。

##### 4 シナリオ概要

家族5人が昼食時に庭先でブイヤベース(地中海風寄せ鍋)と焼きそばの調理を行い飲食した。家族のうち大人3人が食後約30分から次々と、気分不良、頭痛、めまい、おう吐、下痢などの症状を呈し、病院を受診した。病院の医師が食中毒と判断し、保健所に通報し、保健所から地衛研に検査依頼がなされたという設定であった。また、原因物質のために必要と思われる情報については適宜質問し追加情報を入手した。

##### 5 原因物質の探索および特定

###### (1) 候補物質の選定

喫食状況、患者症状、発症時間などの健康被害の特徴と除草剤散布の状況から、原因物質候補を選定し、その試験法等について情報収集を行った。

###### (2) 定性分析

(1)で選定した物質の含有を確認するために、薄層クロマトグラフィー(TLC)、高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析装置(LC-MS/MS)を用いた定性分析を実施した。また、選定された候補物質以外の物質についても、LC-MS/MSを用いて探索し

た。LC-MS/MSとして、アジレントテクノロジー株式会社製1290 Infinity LC/6460を使用した。

(3) 定量分析

(2)の定性分析で確認された物質について、LC-MS/MSを用いた定量分析を実施した。

(4) 毒性量の推定、検証

候補物質の毒性量について、定量分析の結果から算出した含有量と毒性に関する文献等の情報と比較検討した。

6 模擬訓練事業結果検討会

模擬訓練後に結果検討会がWEB開催され、他機関との結果比較や演習時の課題等情報の共有を行った。

結果と考察

1 原因物質の探索および特定

(1) 候補物質の選定

原因物質候補として、巻貝の有毒成分であるテトラミン、ジャガイモの有毒成分であるソラニン、ツキヨタケの有毒成分であるイルジンS、および庭先で調理していることから農薬を選定した。

(2) 定性分析

検体2 gを採取しメタノール20 mLを加えて振とう(300回/分、15分間)し、遠心分離(2500 rpm、15分間)後、ろ過した。上清を分取し必要に応じ窒素パーズで濃縮し試料溶液とした。

テトラミンのTLCによる分析は食品衛生検査指針等<sup>1,2,3)</sup>を参考に表1の条件で行った。その結果、テトラミン標準液(テトラメチルアンモニウムクロリド(テトラミン))(和光純薬工業(株),特級)をメタノールで適宜希釈して調製)と同一の位置に検出した(図1)。また、LC-MS/MSのm/z 50~1000のMS2スキャン分析の結果、検体抽出液からテトラミン標準液と同じm/z74のピークを確認し(図2)、MRM分析(定量イオン74.1 59.1)において、保持時間:約3.1分もテトラミン標準液と一致していることを確認した(図3)。

一方、その他の候補物質であるソラニン、イルジンSおよびその他「農薬」等原因物質になりうる物質はいずれの分析でも含有が確認できなかった。

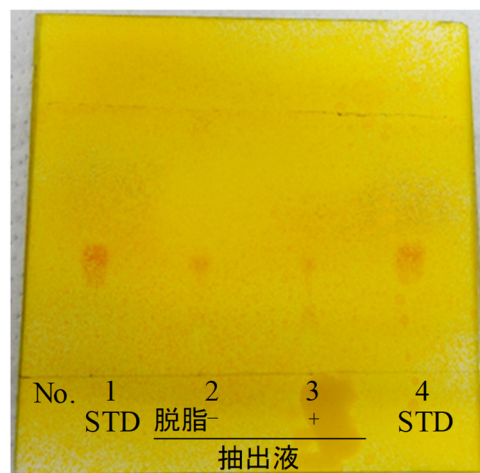
以上のことから、原因物質をテトラミンと断定した。

(3) テトラミンの定量分析

食品衛生検査指針<sup>1)</sup>の「テトラミン」の試験法を参考に、定量用試料(n=3)、テトラミン標準液添加試料(n=2、試料中濃度5 ng/g)、ブラ

表1 TLC測定条件

薄層板	セルロースプレート 10×10 アビセルSF(フナコシ薬品(株)製)
展開溶媒	1-ブタノール/酢酸/水(4/1/5、v/v/v)
滴下量	各10 μL
呈色	ドラージェンドルフ試薬



No1,4: テトラミン標準溶液(500 ppm)(NO.1: R<sub>f</sub>=0.41, No.4: R<sub>f</sub>=0.42)、No.2: メタノール抽出液、R<sub>f</sub>=0.40、3: メタノール抽出液(ヘキサン抽出による脱脂あり)、R<sub>f</sub>=0.41、各スポット量:10 μL

図1 テトラミンのTLC結果

表2 LC-MS/MS分析条件

機器	アジレント・テクノロジー株式会社製 Agilent 1290 Infinity LC + 6460
LC条件	
分析カラム	Allure PFP Propyl, 5 μm, 2.1×150 mm (RESTEK製)
移動相	A液:0.1%ギ酸 B液:ギ酸/ 1Mギ酸アンモニウム/MeOH(0.1/2/100) B10%(0-5 min) →B90%(5-10 min) →B90%(10-15 min) →B10%(15-20 min)
カラム温度	40
流速	0.2 mL/min
注入量	1 μL
MS/MS条件	
イオン化法	Agilent Jet Stream-ESI (+)
測定モード	MRM
キャピラリー電圧	4000 V
イオン源温度	350
測定イオン	74.1>59.1(定量イオン) 74.1>58.2(定性イオン)

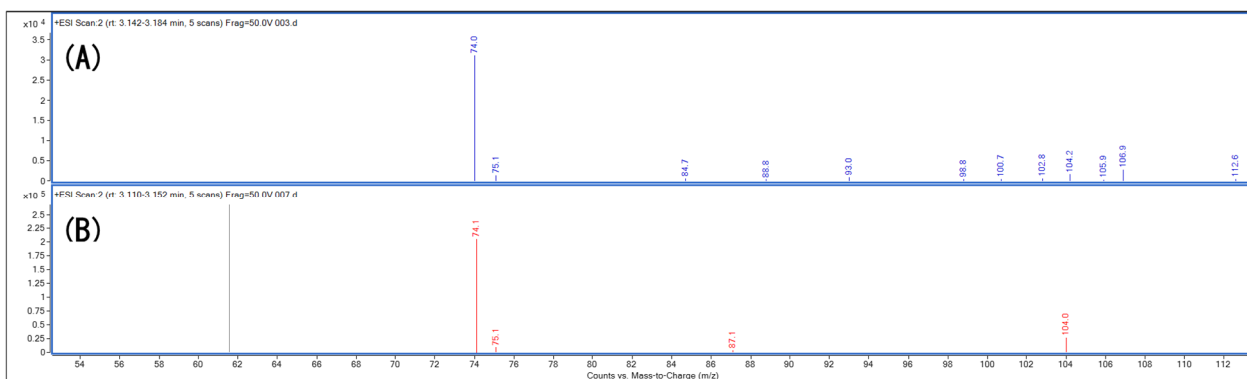


図2 (A)テトラミン標準液(500 ng/mL)および(B)検体抽出液のマススペクトル

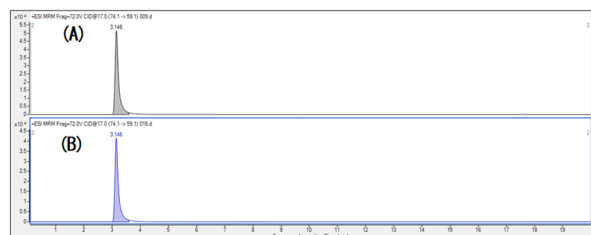


図3 (A)テトラミン標準液(50 ng/mL)および(B)検体抽出液のMRMクロマトグラム

シナリオ試料として市販のピヤベース類似品を用いて図4のとおり各試料溶液を調製した。定量に用いたLC/MS/MS条件は表2に示す。MRM条件は、74.1 59.1を定量イオンとし、74.1 58.2のトランジションを確認イオンとした。検量線を図5に示す。1-50 ng/mLの範囲で決定係数0.9990の良好な直線が得られた。定量の結果、検体抽出液中のテトラミン濃度は502-508  $\mu\text{g/g}$  (平均504  $\mu\text{g/g}$  (n=3)、添加回収率は51.4-90.8% (n=2)であった。シナリオの喫食量、文献<sup>4),5)</sup>より試料中濃度は妥当であると判断した。

(4) 模擬訓練事業結果検討会

結果検討会は、2022年2月25日にWEB開催された。模擬訓練事務局の結果報告書によると、食中毒の原因はピヤベースで使用した「チョウセンボラ」が有毒部位の唾液腺を除去されずに調理されたことによるものであり、原因物質は有毒成分であるテトラミン、検体中のテトラミン添加量は500  $\mu\text{g/g}$ であった。当センターの結果が原因物質としてテトラミンと断定し、定量結果の真度が100.8%であることから、定性、定量いずれにおいても当センターの試験法が妥当であることが確認できた。

まとめ

本訓練では、シナリオから原因物質を推定し情報

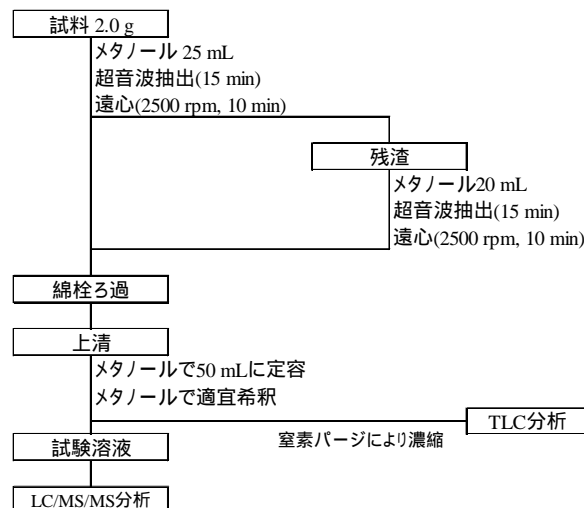


図4 試験溶液の調製法(定量分析およびTLC分析)

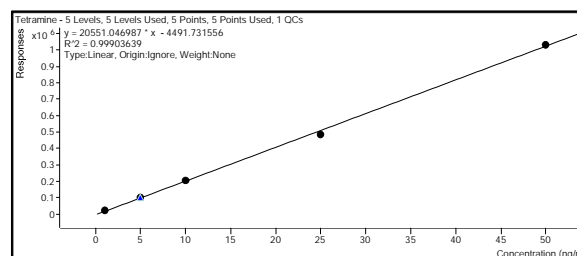


図5 テトラミンの検量線(1-50 ng/mL)

収集、協議を繰り返しながら、複数の分析方法による定性、定量分析するという健康危機管理における検査体制を確認することができた。今後も幅広い視野を持って情報収集力と分析技術の向上に努め検査体制強化を図るとともに、九州ブロックの関係機関と連携・協力体制を維持していきたい。

参考文献

- 1) 食品衛生検査指針(理化学編) 2015, 848-852, 公益社団法人日本食品衛生協会, 東京(2015).
- 2) 数田行雄, 他: 巻貝唾液腺の毒成分について, 山口衛公研業報, 10, 30-31(1989).

- 3) 下井俊子, 他:化学物質及び自然毒による食中毒等事件例(平成21年), 東京健安研セ年報, **61**, 267-271 (2010).
- 4) 新藤哲也, 他:イオンクロマトグラフィーによる巻貝(軟体動物)中テトラミンの分析及び調理による消長, 食品衛生学雑誌, **41**, 11-16 (2000).
- 5) 西川徹, 他: チョウセンボラの喫食によるテトラミン食中毒事例, 長崎県環境保健研究センター所報, **55**, 118-120 (2009).