

健康危機事案を想定した模擬訓練結果(2022年度)

山口 恵里果, 松永 尚子, 松尾 広伸, 出口 雄也, 谷口 香織, 辻村 和也

Results of Simulated Training for A Food Poisoning Outbreak Case (2022)

Erika YAMAGUCHI, Naoko MATSUNAGA, Hironobu MATSUO, Yuya DEGUCHI, Kaori TANIGUCHI and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 健康危機管理、食中毒、ジェルピン、ベラトラミン、TLC、LC-MS/MS

Key words: health crisis management, food poisoning, jervine, veratramine, 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」という。)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、2022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

2022年11月1日～11月17日

2 検体

事務局より送付された液体約40 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

Aの家族およびAの職場の同僚(大人7名、子供3名)が、A宅にてホームパーティーを行った。調理はA宅のキッチンで行い、使用された食材は、職場の同僚BとCが海釣りで獲った白身魚、DとEが山登りに出掛けて採った山菜、AとFが自宅にストックしていた食材およびスーパーで購入したものである。提供された料理のうち、山菜を使用したグリーンスムージーを喫食した大人5名が、めまい、おう吐、下痢、手足のしびれなどの症状を呈し、医療機関を受診した。病院の医師が食中毒と判断し、保健所に通報したのち、保健所から当センター生活化学科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。

表1 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	ZORBAX Eclipse Plus C18, 3.5 μm, 2.1×150 mm(アジレント・テクノロジー株式 会社製)
移動相	A液:0.1%ギ酸 0.25 mMギ酸アンモニウ ム含有水溶液 B液: .1%ギ酸 0.25 mM ギ酸アンモニウム含有メタノール溶液 <グラジエント条件> B 10%(0-5 min) →B 90%(5-10 min) →B 90%(10-15 min) →B 10%(15-20 min)
カラム温度	40
流速	0.4 mL/min
注入量	3 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	<ジェルピン> 426.2>109.1(定量イオン) 426.2>114.1(定性イオン) <ペラトラミン> 410.2>84.1(定量イオン) 410.2>295.2(定性イオン)

表2 TLC 分析条件

薄層板	HPTLC Silica gel 60 F ₂₅₄ 10 × 10 cm (メルク社)
展開溶媒	クロロホルム/メタノール(4/1/5, v/v/v)
滴下量	STD: 10 μL、サンプル: 図4参照
呈色	紫外線照射(254 nm)

(2) 定性分析

(1)で選定した物質の含有の確認、およびその他の原因となりうる物質の探索を目的として、高速液体クロマトグラフ - タンデム質量分析装置(LC-MS/MS)によるMS2スキャン分析およびMRM分析(表1)、薄

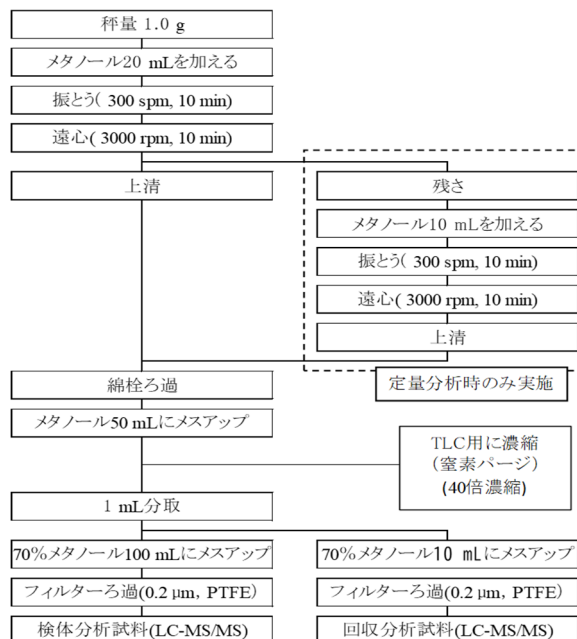


図1 分析試料の調製法

層クロマトグラフィー(TLC)(表2)を実施した。

LC-MS/MSによる分析は山口ら¹⁾、TLCは佐藤ら²⁾に準じて行った。分析試料の調製を図1に示す。候補物質の中で標準品を所有しているものについては、標準液の分析を同時に行った。

(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MRM分析(試行回数n=3)を実施した。各分析試料の調製方法を図1に示す。また、分析条件は表1の条件で実施した。

(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既報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事務局(福岡県保健環境研究所)にて開催され、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、パイケイソウ類の有毒成分であるジェルピンおよびペラトラミン等のペラトルムアルカロイド、トリカプト類の有毒成分であるアコニチン

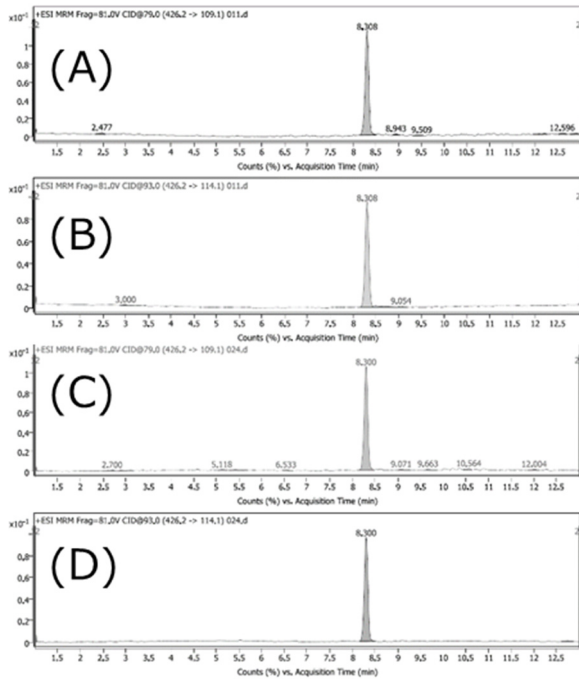


図2 ジェルピンのクロマトグラム
(A)標準液定量イオン (B)標準液確認イオン
(C)試験溶液定量イオン (D)試験溶液確認イオン

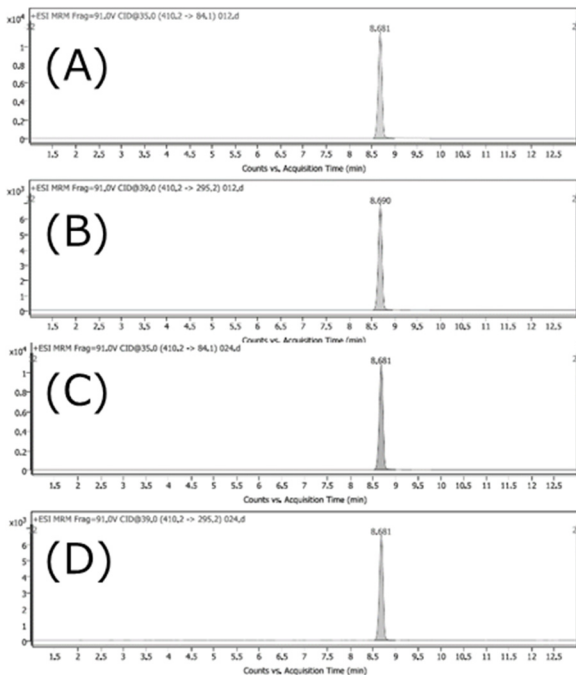


図3 ベラトラミンのクロマトグラム
(A)標準液定量イオン (B)標準液確認イオン
(C)試験溶液定量イオン (D)試験溶液確認イオン

に代表されるアコニチン系アルカロイド、福寿草の有毒成分であるシマリ、アドニキシンおよび野菜の残留農薬が選定された。

(2) 定性分析

LC-MS/MSによるMRM分析の結果、検体分析

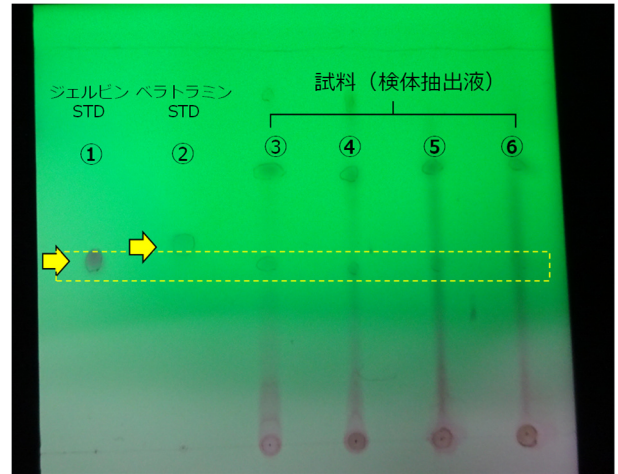


図4 ジェルピンおよびベラトラミンのTLC結果

ジェルピンSTD (100 ppm)、ベラトラミン(100 ppm)、

~ TLC分析試料(滴下量 :20 µL :40 µL :60 µL :80 µL)

試料からジェルピンおよびベラトラミン標準品と保持時間、複数の測定イオンの強度比が一致するピークを8.3分および8.6分付近に確認した(図2および図3)。

また、TLC分析の結果、検体分析試料からジェルピン標準溶液(100 ppm)と同位置付近(Rf値:約0.48)にスポットが確認された(図4)。一方、ベラトラミン標準溶液(100 ppm)と同位置付近(Rf値:約0.50)にスポットは確認されなかった。その他の候補物質はその他の分析結果から確認できなかった。

これらの結果から、バイケイソウの有毒成分であるジェルピンおよびベラトラミン(ベラトラムアルカロイド)が中毒原因物質である可能性が高いと判断し、この2成分について定量分析を実施した。

(3) ジェルピンおよびベラトラミンの定量分析

LC-MS/MSのMRM分析によって、ジェルピン、ベラトラミンの定量分析(n=3)を実施した。併せて、今回の検体に近い組成の市販のグリーンスムーズを用いて、添加回収試験(n=3、疑似検体中の各成分の濃度が10 µg/gになるように添加)も実施した。

結果、ジェルピンおよびベラトラミンともに、絶対検量線で1~200 ng/mLの範囲で良好な直線性(ジェルピン:決定係数0.9990、ベラトラミン:決定係数0.9993)が得られた(図5)。この検量線を用い算出した検体中のジェルピン濃度および

まとめ

本訓練では、シナリオから原因物質を推定し情報収集、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) 山口奈穂, 他: LC/MS/MSによる植物性自然毒の一斉分析法の開発, 熊本県保健環境科学研究所報, **47**, 48-55(2017).
- 2) 佐藤正幸, 他: 有毒植物バイケイソウ調理品中のジェルピン及び11-デオキシジェルピン残留量, 道衛研所報, **62**, 49-54(2012).
- 3) 藤井正文, 他: バイケイソウ中毒の1例, 総合病院医学雑誌, **4**, 40-42 (2016).

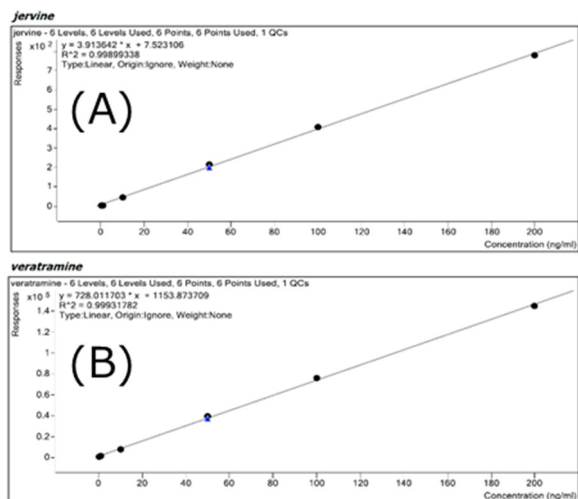


図5 検量線(1-200 ng/mL)
(A)ジェルピン (B)ベラトラミン

ベラトラミン濃度はそれぞれ19.0 $\mu\text{g/g}$ ($n=3$ 平均) 48.5 $\mu\text{g/g}$ ($n=3$)であった。また、同時に実施した添加回収試験はジェルピンで97.2% ($n=3$ 平均)、ベラトラミンで97.1% ($n=3$)と良好であった。

(4) 毒性量の推定、検証

定量分析の結果およびグリーンスムージーの喫食量から、患者のジェルピンおよびベラトラミンの総摂取量はおよそ12 mgであったと算出した。過去の報告³⁾において、ベラトラムアルカロイドの致死量は20 mgと推定されている。よって、今回、ベラトラムアルカロイドの内、ジェルピンおよびベラトラミンだけの摂取量推定であるが、患者は少なくともベラトラムアルカロイド致死量の半分相当を摂取していると考えられることから、本事例は、ベラトラムアルカロイド摂取により中毒症状を引き起こした可能性は非常に高いと判断された。

2. 模擬訓練事業結果検討会

結果検討会での報告によると、食中毒の原因はバイケイソウに含まれるジェルピンおよびベラトラミンであり、検体中濃度はそれぞれ20 $\mu\text{g/g}$ 、50 $\mu\text{g/g}$ であった。当センターの結果が原因物質を両者と判断しており、定量の真度がそれぞれ95.0%、97.0%であったことから、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を確認できた。