

ブが一体になったスワブ培地一体型がある。基本的に培養時間は従来通りであるが、発色試薬によってコロニーを発色させて短時間で判定可能としている商品もある。大腸菌群用には従来のデソキシコレート寒天培地と、後述の酵素基質を含有した培地がある。大腸菌群以外の特定微生物の検出用に、培地の組成（炭素源、窒素源、生育必須因子や薬剤の有無）や pH を工夫し、目的とする微生物以外は生育できないように調整された選択培地も他種類存在する。ただし、選択培地の選択圧は一般的にそれほど強くなく、使用する際は誤判定に注意を要する。市販されている簡易培地を表 2 にまとめた。以下で代表的な製品について簡単に説明する。

・フィルム培地

3M 社によって開発されたペトリフィルムに代表される乾式培地システムである。2 枚のフィルムの上に液状化した試料を滴下し、付属のスプレッターで押してゲル化させてから培養する。非常にコンパクトで培養に場所をとらず、操作も簡単である。ペトリフィルムは生菌数測定用（AC プレート）をはじめ 7 種類が市販されており、一部食品の検査において AOAC の承認を得ている。サニ太君は不織布付きのフィルム培地である。あらかじめ滅菌水で不織布を湿らせておくことにより、スタンプ方式でも使用できる点を特徴とする。

・スタンプ培地

表面付着微生物の測定用に開発された培地である。培地表面を検査対象箇所押しつけてサンプリングし、培養を行う。通常、表面付着微生物をサンプリングするにはスワブとサンプル調整のための希釈液が必要であるが、スタンプ培地ではこれらが不要となる。ただし、培地成分が検査対象箇所に付着するので、サンプリング後にふき取るなどの対処が必要となる。細菌では、コロニーを計測しやすいように従来よりも接触面積の大きな培地（25 または 36 cm²）が主流になりつつある。

・スワブ培地一体型

あらゆる検査対象箇所でのサンプリングを可能とするためスワブが一体化された培地である。スタンプ培地は平面のサンプリングしかできないが、スワブ培地一体型は曲面や凹凸のある場所、狭い隙間など、サンプリング場所を問わず使用できる。

（3）スパイラルプレーター

試料を寒天平板培地へ塗抹するために用いる自動摂取装置である。一定速度で回転するターンテーブル上に寒天平板培地を設置し、培地内側から外側へと水平に移動する塗抹ノズルより試料を培地へ吐出させる。結果的に試料はらせん状に、外周ほど低密度で塗抹される。コロニーが出現したら、計測可能な程度に分離した部分のコロニー数をカウントし、換算表から菌数を算出する。このスパイラルプレーティング法のメリットは、希釈することなく 100 ~ 400,000CFU/ml までのコロニー数が計測できる点にある。従って、やっかいな試料の希釈操作を大幅に減らすことができ、作業効率が大幅に向上する。処理検体数は機種による違いがあるものの、毎時 60 ~ 120 検体である。本法は AOAC の公定法として採用されており、わが国でも食品衛生検査指針¹⁾に収載された信頼性の高い方法である。

（4）自動コロニーカウンター

肉眼で行っていたコロニー計測を自動で行う装置である。寒天平板培地上に形成されたコロニーを CCD カメラによってコンピューターに取り込み、画像解析技術によってその数を計測する。処理能力は機器により多少異なるが、培地あたり 2,000CFU 程度まで計測でき、一枚当たり数秒で計測が完了する。上位機種はカラー画像解析が可能であり、これにより発色酵素基質を利用した培地での特定菌種の計測も可能である。また、前述のスパイラルプレーターで摂取された培地への対応ソフトや、報告書作成ソフトなど、アプリケーションも充実している。

（5）コロニー染色法

培養によって形成されたコロニーを染色することで判別しやすくし、標準的な培養時間

より短時間でのコロニー計測を可能にする方法。マイクロステインは、培養を終えたメンブレンフィルターに直接滴下して使用する。その後乾燥させ、青色に染まったコロニーを10～20倍の拡大鏡下で計測する。培養時間は、従来法の1/2～1/4にまで短縮できる。

2. 新しい原理に基づいた微生物検査方法

微生物をコロニーとしてではなく、生理・生物化学的な測定原理に基づいて検出する新たな方法について述べる。本検査法は培養することなく、あるいは、従来法よりかなり短時間の培養で微生物を検出することができ、真の意味での迅速測定法といえる。特に前者は培養可能な微生物だけにしか焦点を当ててこなかったこれまでの微生物学の世界において画期的な検査法であり、培養条件のミスマッチのため生きているものの培養不可能な(Viable but nonculturable:VNC)微生物の存在など、培養法にまつわる問題点が浮き彫りになりつつある。2) これら新しい原理に基づいた微生物検査装置を表9.3にまとめた。以下、各検査方法について概説する。

(1) インピーダンス法

微生物は増殖の過程でたんぱく質や炭水化物などの高分子を敷かし、有機酸やアミノ酸などのイオン化した化合物に分解する。これらイオン化合物がある一定の濃度に達すると、その環境にごくわずかな電気的変化が生じる。この電気的変化を、インピーダンス(電気抵抗)、コンダクタンス(電気伝導度)、あるいはキャパシタンス(静電容量)という概念で検地する方法がインピーダンス法である。電気的変化が生じるまでの時間は初発菌数や菌の増殖性と反比例するので、両者の検量線から試料中の菌数を推定することができる。実際の操作は、電極が装着された専用セルへ培地と試料を添加、システムを構築する培養装置にセットして培養を開始するだけである。測定器が培養に伴う電気的変化の経時的な自動モニタリングを自動で実施する。一般的に電気的変化が十分に検出可能なレベルの代謝活性を与える微生物数は 10^5 cell/ml以上である。

本検査法は基本的に培養の工程を含むが、従来のコロニーを計測する方法に比べると培養時間を短縮することができる。培養開始後は測定結果のプリントアウトまでが完全に自動化されており、装置は高価であるがランニングコストは安価である。また、選択培地を組み合わせることによって特定の微生物を検出することもできる。

(2) 蛍光染色法

本測定法は環境微生物学の分野で一般的に行われている微生物検査法である。自然環境中には数多くの培養できない微生物が存在しているが、それらを培養することなく検出するために微生物を蛍光染色して検出を可能にしている。蛍光染色には蛍光染色剤が用いられているが、これは微生物中の標的分子と結合する蛍光物質、あるいは、生きた微生物の膜を介して微生物内に取り込まれ微生物由来の酵素で切断されて蛍光を発する試薬、の総称である。蛍光染色された微生物は、蛍光顕微鏡などを使って検出することができる。研究用途では様々な蛍光染色剤が利用されているが、製品化されているのは微生物が有するエステラーゼの作用で蛍光染色するケムスキャン RDI、及び D カウントである。これらは、いずれも培養をすることなく微生物を検出できる。ケムスキャン RDI はメンブレンフィルターで試料をろ過し、メンブレンフィルター上の微生物を蛍光染色した後にレーザーキャナを用いて計測を行う。蛍光染色は30分以内、レーザーキャニングは3分以内で完了する。結果はイメージ画像としてモニター画面に表示できるほか、蛍光を発するポイント数を自動計測させることもできる。D カウントは蛍光染色法とフローサイトメトリー法を組み合わせた方法であり、液状試料を連続的に測定することが可能である。

(3) ATP (Adenosine triphosphate) 法

一昨年、昨年と述べたので省略する。

3. 微生物同定法の簡易・迅速・自動化

微生物の同定は、検査対象微生物の分類学的な位置づけを属・種レベルで決めていく作

業である。従来は、たとえば細菌の場合、*Bergey's manual of systematic bacteriology* などの系統だったマニュアルに従って行われてきた。最近では分子生物学の発展に伴い、16s リボソーム DNA (rDNA) の塩基配列による分類基準が主流になりつつある。しかし、これら標準法はいずれも専門的な知識、機材、そして煩雑な作業が必要で、さらに、結果を得るのに非常に時間がかかっていた。そこで、同定作業中で特に煩雑であった生化学試験をコンパクトにしたテストパネルや、分子生物学の技術を応用した自動化機器が製品化されている。これら同定用の簡易・迅速・自動化機器を表4にまとめる。

(1) 生化学的性状による分類

炭水化物、有機酸、アミノ酸などの資化性や、増殖に伴う pH の変化を読みとり、その判定結果のパターンから同定を行う。アピシリーズが最も歴史が古く、その後に出てきた同様のキットは基本的にはこれを模倣したものといえる。細菌の同定に必要な基質類を1枚のパネルプレートに納め、複雑な細菌同定システムを簡易化・標準化することに成功している。現在では、600種類以上の細菌の同定が行えるよう数々のパネルが用意されている。使用するに先立って、試料から微生物を単離する必要がある。その後、培養を行って所定濃度の菌液を調整し、パネルに接種する。4時間または24時間培養した後、判定を行う。

アピは主に臨床微生物の同定に利用されているが、より広範な微生物種を取り扱う必要がある環境微生物学での使用に重点が置かれているのがバイオログシステムである。1菌株の同定に96穴マイクロプレート1枚を使用し、95種類もの炭素源の資化性から得られる膨大なデータパターンから同定を行う点の特徴である。微生物の増殖は、発色試薬テトラゾリウムバイオレットの赤紫の発色により判断する。操作手順としては、単離した微生物の所定濃度の菌液を作成し、96穴マイクロプレートに接種する。4～24時間培養した後、リーダーにて読みとりを行う。現在

1,400種類以上の微生物種がデータベースに登録されている。

(2) 分子生物学的分類

リボプリンターシステムは分子生物学の技術を応用した世界で初めての同定検査システムである。原理は、リボソーム RNA (rRNA) 遺伝子領域における多型性を利用した遺伝子フィンガープリント解析である。検査対象微生物の DNA を制限酵素で切断後、断片を電気泳動で分離、メンブレンに転写する。その後、rRNA 遺伝子領域を検出する標識 DNA プロンプをハイブリダイズさせ、泳動パターンを得る。このパターンは、デジタル化されたイメージとしてコンピューターに保存された後、リボプリンターシステムのアルゴリズムによって標準化され、リボプリントパターンが作成される。このパターンを既存のデータベース及び、顧客独自で構築したデータベースと比較することによって、同定を行う。身近な例では、警察の捜査手法として採用されている DNA 鑑定と類似の技術である。DNA 鑑定では *Homo sapiens* という同種の人間をさらに細かく個々の人間まで識別して犯人を特定するわけだが、リボプリンターシステムも属・種を越えた株レベルでの同定が可能である。従って、単純な属・種レベルの同定だけでなく、たとえば汚染源の特定などで威力を発揮する。操作手順は、はじめに試料から微生物を単離、調整した菌液を熱処理して菌を不活化し、システムに投入するだけである。それ以後の操作は装置内で自動的に行われ、同定結果が8時間で得られる。現在、約3,000以上のリボプリントパターンがデータベースに登録されており、定期的なアップグレードも行われる。

4. 特定微生物検査法の簡易・迅速・自動化

特定微生物検査の目的は、試料中にターゲットとする特定の微生物が存在するか、あるいは検査対象微生物がターゲットとする特定の微生物なのか、を調べることにある。標準法では数ステップの作業が必要であり、煩雑な作業と専門知識が必要とされ、時間を要する検査であった。ところが近年の大型化・深

刻化する食中毒事件を背景に、食中毒菌を検査対象とする簡易・迅速な検出キットが数多く製品化されてきている。これらは測定原理で分類すると、酵素基質を利用する方法、免疫学的検査法、及び遺伝学的検査法に分けられる。しかし、同じ原理であっても個々の製品によって、特異性、感度、制度、簡便性、迅速性など、諸性能が異なっている。紙面の都合上それぞれについての説明は避け、個々では測定原理を紹介するにとどめる。使用を検討する際は、これらの点に注意して情報を収集し、比較する必要がある。

(1) 酵素基質を利用する方法

測定対象とする微生物固有の酵素が明らかでない場合、酵素活性の存在はその微生物存在の証となる。酵素活性の検出は、基質として発色あるいは蛍光基質、すなわち、分解前では無色あるいは無蛍光であるが酵素分解を受けると発色あるいは蛍光を示す物質、を用いると容易になる。この酵素基質を利用する方法として最も一般化されているのは、上水試験方法で公定法として採用され⁴⁾、食品衛生検査指針追補Ⅱ⁵⁾にも収載された大腸菌・大腸菌群の検査法である。大腸菌群は固有の酵素としてβ-ガラクトシダーゼを生産する。o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド(ONPG)はβ-ガラクトシダーゼの発色基質であり、酵素分解されると黄色に発色する。一方、大腸菌は固有の酵素としてβ-グルクロニダーゼを生産する。4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド(4-MUG)はβ-グルクロニダーゼの蛍光基質であり、酵素分解されると蛍光物質となる。従って、これら酵素基質を含有した培地で試料を培養すると、黄色の発色で大腸菌群を、蛍光で大腸菌を検出できる。ただし、腸管出血性大腸菌 O157:H7 はβ-グルクロニダーゼを産出せず、本法では検出できない。従来では、大腸菌・大腸菌群の検出には推定・確定・完全試験の3ステップの操作が必要(大腸菌は厳密にはIMViC反応の4ステップの操作がさらに必要)であったが、両者を1回の培養で同時に検出できる点で非常に有用であり幅広く利用されてい

る。前述の簡易培地にも利用されている例が多い。一方、培地に添加しないタイプの製品を表5中にまとめた。

(2) 免疫学的検査法

測定対象とする微生物固有の物質を抗原・抗体反応によって検出し、対象微生物の存在を確認する検査法である。検出法によってさらに細かく分類され感度もそれぞれ異なるが、いずれも試験前の前培養により増菌させる必要がある。各検出法の代表的な製品を表5に示すとともに、測定原理を以下で簡単に紹介する。

・免疫凝集法

抗体を結合させ感作させたラテックス粒子は、抗原が存在すると抗原・抗体反応により凝集する。この性質を利用したのが免疫凝集(ラテックス凝集)法である。操作手順は、感作ラテックスをスライド凝集反応板に塗布し、菌体と混ぜるだけである。凝集反応は肉眼で判定でき簡便性に優れるが、感度は一般的に $10^5 \sim 10^6$ CUF/ml程度である。

・酵素免疫測定(Enzyme immunoassay:EIA)法

酵素標識された抗体を用い、抗原に結合した抗体の量を酵素活性により定量する方法である。酵素活性を発色・蛍光・発光などで検出する方法があるが、感度の高さは発光・蛍光・発色の順である。酵素免疫測定法は、さらに競合法、間接法、直説法、サンドイッチ法などに分けられる。操作段階が多くやや煩雑であるが、感度は他の免疫学的検査法より優れており $10^3 \sim 10^4$ CFU/ml程度である。

(3) 遺伝学的検査法

微生物遺伝子の塩基配列上の特徴を利用し、特定の微生物を検出する方法である。DNAプローブ法とPCR(Polymerase chain reaction)法があるが、いずれも免疫学的試験法と同様に増菌培養が必要である。各方法の代表的な製品を表5に示すと共に、測定原理を以下で簡単に紹介する。

・DNAプローブ法

測定対象とする微生物に固有の塩基配列を、これに相補的な標識DNAプローブをハイブリダイズさせて検出する方法である。試

料中の微生物からリボソーム RNA (rRNA) を抽出し、DNA プローブをハイブリダイズさせる。ハイブリダイズした DNA プローブを、標識酵素が発する発色・蛍光・発光などで検出する。

・ PCR (Polymerase chain reaction) 法

測定対象とする微生物に特異的な DNA 領域をはさみこむように設計された二つのプライマーを使用し、試料中の微生物から抽出した DNA を鋳型として PCR 反応を行う。反応産物を電気泳動により分画し、目的とするサイズの断片の有無で特定の微生物の存在を確認する。原理的には1個の微生物から検出できるが、試料中の不純物などの影響により PCR 反応が阻害されるため、現在のところ他方と同様に増菌培養が必要である。死菌・生菌に関わらず反応してしまうことや、PCR 反応後に電気泳動を行わねばならず、操作が煩雑であること、などが問題点として挙げられる。しかし最近、PCR 産物の増幅量をリアルタイムでモニタリングできるリアルタイム PCR 装置が普及しつつある。これを用いれば電気泳動のステップを省略できるだけでなく、微生物の定量も可能になるなど、本法の実用性が大幅に向上すると期待される。

D. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

図1 培養法の作業工程と支援機器類の導入

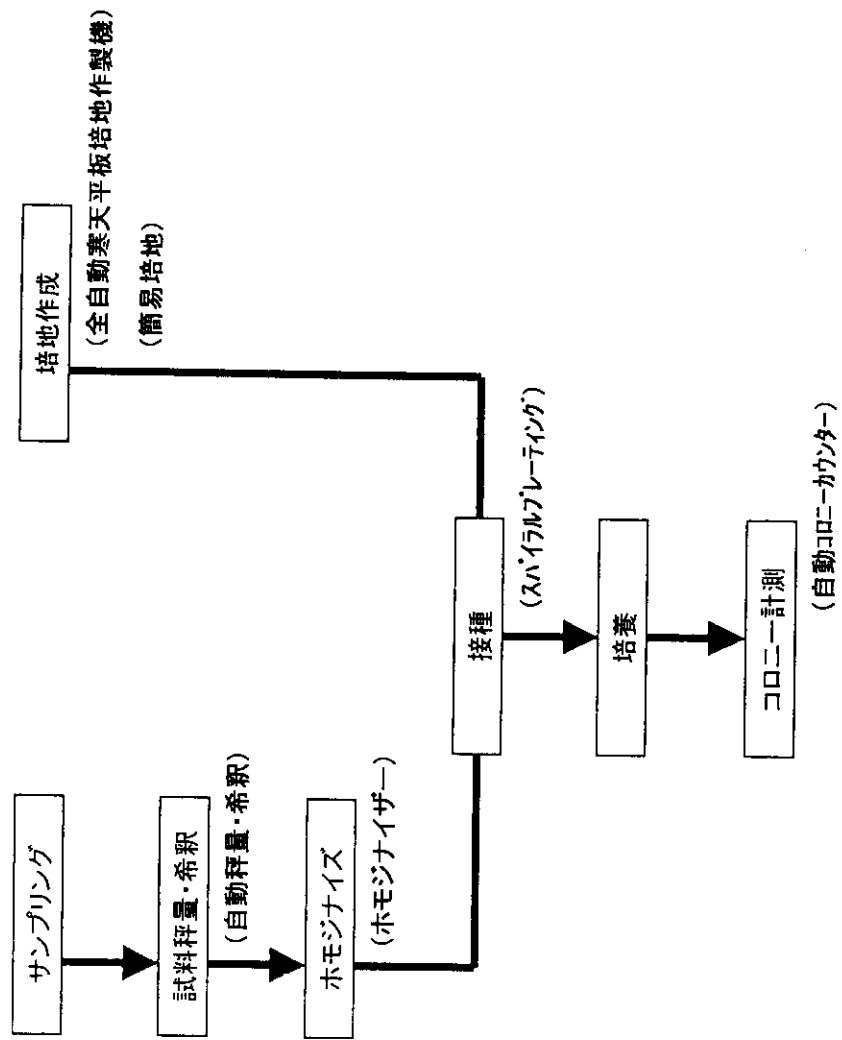


表1 培養法の支援器具・装置

用途	原理	具体例		装置価格 (万円)
		取扱い会社	製品名	
試料秤量・希釈	自動秤量・希釈	ゲンゼ産業	システムダイユーター	69.8
		エルメックス	Pro-media DT-II	69.8
固形試料の液状化	ホモジナイザー	ゲンゼ産業	マシキーター	28
		エルメックス	Pro-media SH-IIM	29.8
		オルガノ	ストマッカー400	36
		ゲンゼ産業	チノシステム	150～
培地作成	全自動寒天平板培地作製	ゲンゼ産業	スパイラルプレーター-WASP	298
		ゲンゼ産業	スパイラルプレーター-EDDY JET	220
試料塗布	スパイラルプレティング	エルメックス	iSac(アイザック)	390
		日水製薬	NeQCS(ネクス)-V2.2	390
		ゲンゼ産業	カウンターマット・フロッジュ	190～
		システムサイエンス	Proto COL	320～
コロニー計測	自動コロニーカウンター	システムサイエンス	コロニーアライザー CA-11D	350
		ゲンゼ産業	HGMF	-
メンブレンフィルター	疎水性格子入りメンブレンフィルター	日本ミリポア	マイクロステイン	-
検出	染色法			-

表2 簡易培地一覧

具体例		対象菌種	特徴	検査コスト (円/検体)	
取扱い会社	製品名				
フィルム培地	スリーエム	生菌数測定(ACプレート)*、大腸菌群数測定(CCプレート)**、E.coliおよび大腸菌群数測定(ECプレート)**、カビ・酵母測定(YMプレート)、黄色ブドウ球菌迅速測定(RSAプレート)、腸内細菌菌群数測定(EBプレート)、大腸菌群数迅速測定(RCCプレート)		95~250	
	チッソ	一般生菌*、大腸菌群**、真菌	不織布付き フィルム培地	90~185	
スタンプ培地	日研生物医学研究所	一般細菌、大腸菌群**、黄色ブドウ球菌、MRSA		180~220	
	日水製薬	一般細菌、大腸菌群**、大腸菌・大腸菌群***、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、セレウス、真菌	接触面積 10cm ²	150~170	
	栄研器材	クリーンスタンプ	一般細菌、ブドウ球菌、MRSA、緑膿菌、真菌	25 は接触面積 25cm ²	150~230
		クリーンスタンプ 25			
	デンカ生研	べたんチエック	一般細菌、大腸菌群**、大腸菌・大腸菌群***、ブドウ球菌、緑膿菌、カンジダ、真菌、腸炎ビブリオ、セレウス菌、サルモネラ、MRSA	25 は接触面積 25cm ²	150~180
		べたんチエック 25			
	グンゼ産業	DD チェッカー	一般細菌、大腸菌群**、大腸菌・大腸菌群***、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、サルモネラ、セレウス菌、真菌、緑膿菌、MRSA		150~230
		コンタ外スライト	一般細菌、真菌、腸内細菌	接触面積 25cm ²	
	日研生物医学研究所	パイキヤッチ 36	一般細菌、大腸菌群**、黄色ブドウ球菌、MRSA	接触面積 36cm ²	150~190
		BD ロックプレート	一般細菌、大腸菌群**、黄色ブドウ球菌、ビブリオ、真菌	接触面積 25cm ²	120
極東製薬工業	メルク・ジャパン	一般細菌、大腸菌群**、大腸菌・大腸菌群***、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、カビ・酵母、O157	接触面積 25cm ²	125~170	
	メディスタンプ	一般細菌、大腸菌群**、ブドウ球菌	接触面積 20cm ²	150	
スワブ型培地	イス・アール・エル	大腸菌群**、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ		300	
	ビー・エム・エル	大腸菌・大腸菌群***、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ		220	
極東製薬工業	ST チェーブ	大腸菌・大腸菌群***、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、緑膿菌、MRSA		240~260	

*:コロニー発色含有

**：デソキシコレート寒天培地

***: 酵素基質含有培地

表3 新しい原理に基づく微生物検査方法

方法	具体例		装置価格 (万円)	検査コスト (円/検体)
	取扱い会社	製品名		
インピーダンス法	グンゼ産業	ラビット・システム	620～	7
蛍光染色法	日本バイオメュー	ハクメーター	1,200(64 検体用)	170～
	グンゼ産業	ケムスキャン RDI	2,950～	1,200～
		D カウント	3,150～	200～

表4 簡易・迅速な微生物同定用試薬と自動化機器

原理	具体例		操作	装置価格 (万円)	検査コスト (円/検体)
	取扱い会社	製品名			
生化学性状	日本バイオメュー	7ピ マニュアルキット	マニュアル	-	410～2,900
		ミニアピ	オート	450	720～1,080
	日水製薬	ID テスト	マニュアル	-	290～800
分子生物学的分類	日本ハクトン・テイキンソ	BBL CRYSTAL	マニュアル	-	800～1300
	グンゼ産業(株)	バイオグシステム	オート	110～	1,200
	宝酒造	リポアプリンター	オート	2,100	6,500

表5 特定微生物検出法の簡易・迅速・自動化

検出法	取扱い会社	製品例	対象菌種	検査コスト (円/検体)	
免疫学的方法	関東化学	サルモネラ・ラテックステスト	サルモネラ	500	
		O157 ラテックステスト"UNI"	O157	120	
	ゲンゼ産業	セロバク O157	O157	調査中	
		F-スタ7印、サルモネラ、カンピロ	サルモネラ、黄色ブドウ球菌、キャンピロバクタ	60~400	
	デンカ生研	E. coli O157-F、O26-F、O111-F	一、O157、O26、O111		
		サルモネラ 1-2 テスト	サルモネラ	調査中	
	アズマックス	テックシリーズ	サルモネラ、リステリア、O157	730~1,600	
		ルジフェール BH、	黄色ブドウ球菌	900	
	キッコーマン	ルジフェールサルモネラ	サルモネラ		
		セチーカンパニー	黄色ブドウ球菌、キャンピロバクター、サルモネラ、緑膿菌、O157 セレウス菌、リステリア	750~2,400	
	イムノクロマト法	東洋ビーネット	調査中	O157	1,400
		日本バイオメリュー	ミニバイス	サルモネラ、リステリア、キャンピロバクター、O157	約 1,000
		アスカ純薬	Now アスカ大腸菌 O157	O157	880、1,000
		キッコーマン	リヒールサルモネラ	サルモネラ、O157	1,950
リヒール O157				1,950	
ゲンゼ産業		VIP システム	サルモネラ、リステリア、O157	調査中	
		パスステック 157	O157	調査中	
日東電工		チェックコリア O157	O157	調査中	
		Biocard EHEC Test	O157	1,000	
メルク・ジャパン		シングルパス E.coli O157:H7	O157	1,250	
	栄研器材	核さんテスト サルモネラ、	サルモネラ、黄色ブドウ球菌	約 800	
アズマックス		核さんテスト 黄色ブドウ球菌			
	DNA フローブ法	GTS アッセイ	大腸菌、サルモネラ、リステリア、 キャンピロバクター、黄色ブドウ球菌	1,300~2,200	
PCR 法		特殊細菌検出用 Primer Set	サルモネラ、ポツリヌス菌、腸炎ピブリオ、ウエル シュ菌、黄色ブドウ球菌、毒素原性大腸菌、腸管 出血性大腸菌、赤痢菌および腸管侵入性大腸 菌、コレラ菌		

分担研究報告書

マリントキシン等水産食品の安全性確保に関する研究

分担研究者 大島 泰克 東北大学大学院農学研究科教授

水産物の安全性確保と輸出入の円滑化を目指し、マリントキシンをはじめ、早急な対策が求められている水産食品の安全性に関する諸問題について、以下の調査研究を実施した。

二枚貝の自然毒による汚染については、北海道から沖縄に至るほぼ全国で発生している麻痺性貝毒について、二枚貝の生物試験法（マウス毒性試験）の精度管理法について検討した。また、毒の強さと多様性からこれまで化学的分析法が困難であったシガトキシン類について、現行のマウス毒性試験法に代わり得る方法として、感度と特異性に優れた液体クロマトグラフィー/質量分析検出法 (LC/MS) の適用を検討した。さらに、1999年6月から10月にかけて、千葉や大阪の小学校・保育所などで発生した下痢を主症状とする食中毒の原因となった南大西洋産のイボダイ科魚類ホシゴマシズについて、脂質の解析を行い、原因を明らかにした。最後に、散發的ではあるが重篤の症状を伴うアオブダイによる食中毒に関しては、2000年に発生した、原因魚種は異なるものの、症状の類似した食中毒について疫学調査を実施するとともに、毒の性状について検討を加えた。

1. 麻痺性貝毒生物試験法（マウス毒性試験）の精度管理に関する研究

(1) 研究目的

北海道から沖縄にいたる日本各地で麻痺性貝毒による二枚貝の毒化が起きている。食中毒予防の見地から、生産地においてはマウス毒性試験による二枚貝中の検査が行われており、その結果をもとに出荷規制等の処置がとられている。現行の方法（昭和55年厚生省乳肉衛生課長通知「貝毒の検査法等について」、食品衛生検査指針1989年版に記載）は国際的に採用されているA.O.A.C. (Association of Official Analytical

Chemists) 法に準拠しており、二枚貝から希塩酸で加熱抽出して得た検液をマウスに腹腔内投与し、その死亡時間から毒量を割り出す方法である。A.O.A.C.法では、サキシトキシン (STX) の標準溶液を使って毒性試験に用いたマウス群の感受性を補正し（標準化）、STX 相当量（マイクログラム単位）で毒力を表示し、多くの国では80 μ gSTX相当/100gを規制値とされている。日本では標準液の供給がないためにマウス単位のまま表示し、上記の値とほぼ同等な4 MU/gを規制値として採用している。マウスの感受性による差を少なくするために、毒性試験に使用するマウスの系群及び性（ddY系、雄）を定めているが、必ずしも国

際標準とは合致しない。

標準毒の導入によるマウス毒性試験の標準化を急ぐ必要があるが、欧米で使用されている STX は平成7年に施行された「化学兵器の禁止及び特定物質の規制等に関する法律」に抵触することから、その使用が制限されることとなった。われわれはこの毒の代替となる標準毒について検討し、デカルバモイルサキシトキシン (dcSTX) がマウスに対して STX と同様の毒性を発現し、新しい標準毒となりうることを示している。

一方、食品衛生検査に施設にGLPが導入され、検査の精度管理が求められているが、動物を使用する検査について管理の基本となる標準品の入手が困難なことから、設定されていない。貝毒標準品に関しては、海外ではカナダの海洋科学研究所（国立研究協議会所属）から下痢性貝毒のオカダ酸、記憶喪失性貝毒のドウモイ酸を含むムラサキガイ凍結乾燥品が分析標準として市販されているが、麻痺性貝毒の標準あるいはその研究は皆無である。

本研究は毒化二枚貝から標準品を調製し、麻痺性貝毒生物試験の精度管理に使用できるかどうか、検討することを目的とした。また、毒性試験の結果を比較する上で標準化することが必須であるので、dcSTX の標準毒としての有効性に関する情報も収集することにした。

約1年を要する研究であるので、本報告では標準毒、標準品の調製と設定した実験プロトコール及び初期に発生した問題点を中心に報告し、全体的な結果の取りまとめは次年度に行う。

(2) 研究計画

有毒ホタテガイを均質化し、小型の容器に入れた標準品を調製し、複数の研究機関に配布する。同時に、dcSTX の希酢酸溶液を調製し、これも小口の包装に分けて配布し、使用するマウスの標準化に供する。各協力機関は月に1回、1年間、毒性試験を実施し、結果の評価を行うとともに、精度管理としての問題点を探る。適宜、マウス毒性試験に使用した抽出液中の毒含量をより誤差の小さいHPLCで分析し、マウス毒性試験の結果と比較する。標準品、標準毒とも-20℃で冷凍保存するが、この間の毒の安定性を、同じくHPLCを使って検証する。

なお、この研究に協力する機関は財団法人日本冷凍食品検査協会仙台検査所、同札幌検査所、同神戸検査所、同福岡検査所と仙台市市場検査所の計5機関である。

(3) 実験のデザインと試料の調製

A. 標準毒 (dcSTX) の調製

A.O.A.C. 法に準拠したマウスの標準化に用いる標準毒 (dcSTX) 溶液を調製した。無駄を省くために、100 μ g/ml で供給されるFDAの STX 標準溶液と異なり、1回の試験でほぼ使い切る液量を凍結した希釈溶液として配布することにした。また、マウスの感受性に合わせ、致死時間が5分から7分に収まるよう、適宜希釈できるだけの濃度が必要となる。

具体的には、ラン藻を大量培養して得た麻痺性貝毒成分 C1, C2 から化学変換により調製し、NMR により95%以上の純度を

有することを確認したdcSTX 原液 (8.88 mM) を0.1M酢酸で希釈し、3.55 μ Mの溶液1 Lを作成した。これを7 ml および32 ml 容ポリプロピレン広口容器にそれぞれ4.5 ml, 23 ml ずつ分注した。作成した本数はそれぞれ100本と20本である。これとは別にHPLC による試験のために、0.5 ml ずつオートサンプラー用1 ml 容ガラス容器 50 本に分注した。各試験機関に配布するまでは-40℃で保存した。

この標準溶液 (TUDC63000) はFDAの配布するSTX2塩酸塩に換算すると0.569 μ g/ml 相当の活性を有する。また、東北大学でマウスを使って実際に測定した毒性は3.32 MU/ml であった。

B. 精度管理用標準品 (有毒ホタテガイ磨砕物) の調製

抽出からマウス毒性試験まで、試験法の精度管理を行うためには標準試料をもつ必要がある。その形状として様々なタイプが考えられるが、均質であること、毒が安定であることに加えて、出来るだけ試験試料に近いことが要求される。そこで、有毒ホタテガイのホモジェネートを調製し、凍結保存することにした。経験的には1年以上の凍結保存期間では麻痺性貝毒が安定に保たれることが予想されるが、安定性を実際に調べることもこの研究の主眼とすることにした。なお、標準品の製法がこの程度に簡便であれば、定期的に調製して更新することも考慮に入れて、この形状を選択している。

具体的には、平成12年に岩手県大船渡湾で採集した種々の毒力を有するホタテガイ

のむき身全体を電動ミンサーで細切混和し、これに高毒力の同地産ホタテガイ中腸腺を加えて毒力を調整した。規制値である4 MU/g 付近となることを目標とし、マウス毒性試験を行いながらそのレベルを調整した。また、代表的な数サンプルを採取し、抽出後 HPLC 分析に供し、均質性を確かめてから、広口褐色プラスチック容器に約120 g ずつ入れ、配布まで-40℃で凍結保存した。製造数は108本である。

配布前に予備的に測定した毒力及びHPLC分析結果を図1-1に示す。本試料にはGTX1-GTX4, neoSTX, STXが含まれている。中性付近で互変異性する11位に硫酸エステルを有するエピマーの比率はほぼ平衡化到達点に近い値であり、この観点からは安定した組成であった。HPLC 分析から計算した毒力 (11.7 MU/g) がマウス毒性試験の結果 (6.81 MU/g) を大きく上回っているが、抽出物中の不純物の影響で、毒性試験の結果が低く出る、予想された結果である。

C. 精度管理試験のプロトコール

I. 各研究機関への配布物

dcSTX 標準溶液 23 ml 入り 2本
7 ml 入り10本
ホタテガイ標準試料 120 g 入り10本

II. dcSTX標準液によるマウス試験の標準化

① 研究機関の基準CF値の測定

A.O.A.C. 法に従い、5~7分の範囲内に

致死時間がおさまる3希釈濃度で試験し、平均値を求める。使用するマウスの数は、1濃度10匹以上とする。配布した23 ml容 deSTX 溶液を室温又は冷蔵庫で解凍する。溶液7 mlを取り、蒸留水7 mlを加え、希釈溶液を調製する。pH試験紙を用いて、この希釈溶液がpH 4以下であることを確認する。各1 mlを機関で使用するマウス群10匹に腹腔内投与し、致死時間を測定する。致死時間の中央値が5分から7分の範囲に入ることを確認する。また、Sommerの表から毒力を計算し、希釈液量を0.5mlずつ変化させた2つの希釈検液の致死時間が5分から7分の範囲に入ると予想される新たな希釈度を設定する。通常、原液に対して6.5 ml, 7.5 mlの蒸留水による希釈で、所定の毒力溶液が得られることが予想されるが、1度7 ml + 7 mlの希釈液の結果で確かめてから実施すると失敗が無い。同様に10匹のマウスに腹腔内投与して、致死時間を求める。結果的に中央値が5分から7分の範囲からはずれた場合は、新たに原液を解凍し、異なる3濃度の希釈液のマウス致死時間の中央値が5分から7分の範囲に入るまで実験を続ける。

各希釈液についてSommerの表から毒力(MU/ml)を求める。

希釈液のSTX相当濃度($\mu\text{g/ml}$)を毒力(MU/ml)で割り、Conversion Factor (CF値, $\mu\text{g/MU}$)を求める。7 ml + 7 mlの希釈の場合、STX相当濃度は $0.569/2 = 0.285 \mu\text{g/ml}$ である。

3濃度の投与によって求めたCF値の平均をとり、各機関の基準CF値とする。

② 試験実施時のCF値のチェック

毎月、以下のような方法でCF値のチェックを行う。配布した約7 mlのdeSTX 棟準溶液を毎月使用時に解凍して、①で求めたCF値を参考にして中央致死時間が5~7分になる希釈溶液を1段階調製する(例:6 ml + 6 ml)。これを5匹のマウスに投与し、致死時間を測定し中央致死時間を求めCF値を算出する。①で求めた基準CF値と比較し、数値のずれが20%以内であることを確認する。もし、20%以上の差があるときは、5匹のマウスを追加して10匹の群とし、さらに10匹の第2群に同一希釈液を投与し、第1群と第2群の平均CF値を算出する。これでも20%以上の差があるときは①をはじめから行い、CF値を変更する。

マウスに投与した希釈液の残りは所定の容器に入れ、 -20°C で凍結保存し、問題が生じたときのHPLC分析に備える。

III. 標準品の毒性試験

月に1回、標準品の抽出毒性試験を実施する。A.O.A.C.法に準拠して、巻末に示す方法に従って毒力を求める。また、同時に行うI-②の標準化試験によってCF値の変動が $\pm 20\%$ 以内であれば、基準のCF値①を用いてSTX相当の毒力を計算する。この結果が基準の毒力 $1.22 \mu\text{g/g}$ の $\pm 20\%$ の範囲に入っていれば、手技が正しく行われていると判断する。CF値を変更する必要が生じた場合は新たに求めたCF値をもとにSTX相当の毒力を求める。

マウス毒性試験に用いた抽出液5 mlを所定の容器に入れ、 -20°C で凍結保存して、HPLC分析に備える。

基準の毒力からはずれた値が出た場合は、HPLC分析により毒含量を測定し、抽出を含む検液調製操作に問題があったか、マウス毒性試験に問題があったかの判断を行う。

(3) 結果

精度管理の方法としての総合評価は次年度に取りまとめるので、ここでは、各試験機関のCF値と初期に発生した毒性試験における希釈度の問題についてのみ記す。

I. 各試験機関のCF値

表1-1 に各機関で測定したCF値をまとめて示す。比較的良く一致した値が得られていることから、ddY系、雄の指定により、マウスの感受性が比較的統一されて測定されていることを示している。

II. ホタテガイ抽出液の希釈度による毒力の相異とその対策

初期段階で、各試験機関によって、標品のマウス毒力が標準化した後も大きく異なる現象が見られた。結果を解析すると、抽出液を大きく希釈して試験した場合に高い毒力を示す傾向が見られた。図1-2 に希釈度と毒力の関係を示す。いずれも致死時間が5分から7分の範囲に入る、A.O.A.C.法に従った結果である。非常に良い相関が認められ、単に実験の誤差ではなく、現象として認識する必要がある。マウスの致死時間は不純物によって遅延すること、即ち、実際より毒力が低く見積もられることが知られている。検液の毒力を見た場合、この

影響が希釈によって弱められるため、希釈率が高いにも関わらずほぼ同じ致死時間を与えるため、結果的に試料1g当たりの毒力が高くなるものと思われる。この現象は実試料にA.O.A.C.法を適用する限り避けられないが、標品を使った精度管理を実施する場合は大きな問題となる。そこで、致死時間の中央値が5分から7分の範囲に入る限り、希釈度2を統一して使用するよう各試験機関に指示することにした。

2. シガトキシンのLC/MSによる検出定量に関する研究

研究協力者 安元 健
財団法人日本食品分析
センター多摩研究所

(1) 研究目的

シガトキシン (CTX) とその類縁体は、13個のエーテル環が連結した構造 (ポリエーテル構造) を有し、海藻付着生の渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* によって生産される。これらの毒は食物連鎖を介して多数の藻食魚や肉食魚へと移行・蓄積し、毒化魚を食したヒトの中毒を招く (シガテラ)。自然毒食中毒としては、最大の発生件数を示す。原因渦鞭毛藻が局地的な分布を示すために、魚の毒性には著しい地域差と個体差があり、毒含量が低いことと相俟って毒化個体の検出は極めて困難である。

毒の本体は、ウツボの内臓から抽出・精製されたCTXであろうと推定されていたが、我々はCTXの構造を決定した後、調査を拡大し、多数の類縁体の存在を明らかにしてきた。これらの毒の検出・定量には、抽出物のマウス腹腔内注射法が用いられているが、非特異性と煩雑さのために高精度の機器分析法の開発が求められていた。本研究では、近年普及の著しい液体クロマトグラフィー・質量分析装置 (LC/MS) を用いて高精度のCTX分析法を開発することを目的とした。

(2) 研究結果

A. CTX類縁体の構造決定

LC/MS分析を実施するためには、毒の化学構造 (少なくとも分子量) と分析カラムにおける保持時間を知る必要がある。そこで、毒性の強いウツボの内臓の毒を精査しているタヒチのルイ・マラルデ研究所と共同研究を行い、微量成分を含めた全成分の構造決定を行った。いずれの成分も10 μ g以下の微量であったが、LC/MS, FABMS, FABMS/MSを駆使する新手法を開発することによって、新規16成分と既知7成分を含む全23成分の構造を決定した。渦鞭毛藻 *G. toxicus* が生産する成分CTX3Cと基本骨格を共有する成分を図2-1に、CTX4Aと基本骨格を共有する成分を図2-2に示す。ただし、スペースの都合で、54-エピCTXと52,54-エピCTXの構造は掲載していない。

B. LC/MSの条件設定

分析の条件を次のように設定した。

分離カラム、Capcellpak C18 VG120
5 μ m, 1.5 x 250mm; 移動相、
MeOH/MeCN/H₂O (8:1:1); 流速、0.1
ml/min; カラム温度、40 $^{\circ}$ C; モニ
ターイオン、[M+H]⁺; 試料注入量、2
 μ l。

この条件で全成分を30分以内に分離することが可能であった。ただし、2 muの分子量の差を区別するには、注意を要した。また、脱水によって容易に18 mu小さい成分が生じるので、真の[M+H]⁺イオンとの区別にも注意が必要であった。標準試料

が少ないので、最小検出量は確定できなかった。しかし、CTXと同じく電荷を有しないポリエーテル化合物のペクテノトキシン類の最小検出量が、一回の注入では約80 pgであったので、ほぼ同等の感度であろうと推定した。

C. 試料の前処理

タヒチで中毒患者の食べ残した試料の分析結果から、最小中毒量は約10 MUであろうと推定した。この値はCTXに換算すると70 ngに相当する。一度に食べる量を200 gと仮定すると、 $70 \text{ ng}/200 \text{ g} = 350 \text{ pg/g}$ の濃度のCTXを検出・定量する必要がある。自動分析装置の試料管には100 μl の液量を必要とし、その4 μl を注入するとすれば、最小検出量80 pgの25倍 = 2 ngのCTXが必要であり、試料の約6 gの抽出が必要となる。更に、CTXが単独で存在することはなく、3成分以上が共存するので全成分を検出するには、約3倍量 = 18 gの試料の抽出が必要となる。実際に20 gのウツボ筋肉を3種類のカートリッジカラム (Sep-Pak Silica, Sep-Pak florisol, Sep-Pak C18) で連続して処理し、得られた抽出物を100 μl の溶媒 (MeOH) に溶解したが、低温貯蔵中に沈殿を生じ、分析に困難があった。前処理法については、更に検討を続行する予定である。

D. 実試料の分析

マウス毒性試験で有毒と判定されたウツボとナンヨウブダイの筋肉それぞれ50 gから得られたアセトン抽出物をタヒチよ

り入手し、上記の3段階の前処理を行って250 μl のメタノール溶液とし、LC/MS分析を行った。その結果、ウツボ筋肉からはCTX3C, 49-エピCTX3C (主成分), 2,3-dihydroxyCTX3C, CTX4A, CTX4Bが検出された。他の成分は検出されなかった。ナンヨウブダイ筋肉では、残さ量が多くてベースラインが大きく乱れており、既知成分の検出は不可能であった。

(3) 考察

LC/MSは、他の分析法に比べてはるかに高い感度を有するにもかかわらず、中毒を起こすCTX量が非常に低いために、検出・定量には困難がみられた。前処理法のさらなる改善が必要であった。バックグラウンドによる妨害を除去する方法としては、近年普及しつつあるイオントラップ型のLC/MSの使用も視野にいれる必要がある。

3. 食中毒を起こした南大西洋産イボダイ科魚類の脂質特性と急性毒性

研究協力者 藤本健四郎
東北大学大学院農学研究科

(1) 研究目的

前年度の研究により、下痢を主症状とした食中毒を起こした南大西洋産のイボダイ科魚類 *Stromateus stellatus* (ホシゴマシズ) の筋肉にはジアシルグリセリルエーテル (DAGE) がトリアシルグリセロール (TAG) とともに主要脂質としてはほぼ等量ずつ含まれ、ワックスエステル (WE) は含まれていないこと、また、DAGEは *in vitro* では膵臓リパーゼの作用を受けにくく、また、WEよりマウスに対する急性毒性が強いことが明らかになった。本年においては、*Stromateus stellatus* のDAGEの性状をより明らかにするため、従来はアルカリケン化後、アルキル鎖および脂肪酸組成が分析されていたのに対し、DAGEを加水分解することなくそのままの分子としてHPLCで分析し、構造を質量分析で解析した。さらに、食中毒の本体がDAGEなのか、あるいはその加水分解物の毒性がより強いのか明らかにするため、DAGEの加水分解物の急性毒性をDAGEと比較した。

(2) 研究方法

A. *Stromateus stellatus* の筋肉に含まれるジアシルグリセリルエーテル(DAGE)の分子種組成

1999年アルゼンチン沖の南大西洋で漁獲された *Stromateus stellatus* の筋肉から Bligh-Dyer 法で脂質を抽出し、5%の水を添加したフロリジルカラムを使用し、ヘキサン/エーテル (95:5, v/v) でDAGEをTAGから単離した。DAGEの分子種組成は示差屈折計 (RI)を検出器とするHPLCで分析し、さらに各ピークの同定は質量分析により行った。HPLCの条件は次の通りである。

カラム：Inertsil ODS-2 (5 μ m, 250 x 4.6 mm, 昭和電工), 35°C

移動相：ジクロロメタン：アセトニトリル (35:65, v/v)

流速：1ml/min

検出：示差屈折検出器 - Shodex RI-71 (昭和電工)

カラムを通った移動相が示差屈折計を通過したところで、0.2 M 酢酸アンモニウムを含むクロロホルム/メタノール (1:1v/v) を 1.0 ml/minで混合し、Mariner ESI/TOF-MS (PerSeptive Biosystems) に導入して、spray 電圧 4000 V、ノズル温度 150°C、陽イオンモードでマススペクトルを測定した。

B. DAGE およびその加水分解物のマウス急性毒性

DAGEはAと同様、*Stromateus stellatus* の筋肉からBligh-Dyer法で抽出し、フロリジルカラムで単離した。グリセリルエーテル (GE) は、DAGEのKOHケン化により調製し、薄層クロマトグラフィーで純度を

確認した。

モノアシルグリセリルエーテル (MAGE) は、DAGE を 1,3-特異性微生物リパーゼ Lipozyme RMIM (*Rhizomucor miehei*, Novo Nordisk) で加水分解し、ヘキサン抽出物を調製用薄層クロマトグラフィー [Kiesel-gel 60, ヘキサン/ジエチルエーテル (7:3, v/v)] で展開した後、MAGE に相当するスポットを掻き取り、ジエチルエーテルで抽出した。

4 週齢 ICR 雄マウスを使用し、24 時間絶食後、DAGE, MAGE および GE を単回、強制経口投与し急性毒性を比較した。DAGE については、TAG と共存すると加水分解が促進されることから、TAG との等量混合物も投与した。投与量は、体重の 1/40 を標準とし、この投与でマウスが死亡した場合は、1/80, 1/160, 1/320 と順次、投与量を減らして検討した。投与後は市販の固形餌料を投与し、体重の変化、糞便や症状の観察および死亡例数を調べた。

(3) 結果および考察

A. *Stromateus stellatus* の筋肉に含まれるジアシルグリセリルエーテル (DAGE) の分子種組成

図3-1 に *Stromateus stellatus* の筋肉から抽出した DAGE の高速液体クロマトグラムを示した。図3-1-A は示差屈折計で検出したものであり、不完全な分離を含めて 16 本のピークが観察された。質量分析による総イオン量からのクロマトグラムでは 18 本のピークが示された。そのマススペクトルからは、図3-2 に示したように 2 個

のエステル結合した酸素とグリセロール骨格炭素の間で開裂したフラグメントイオンが観察され、分子イオンピーク (M+1) と合わせて個々の DAGE の分子構造を決定することができた。ただし、本結果からだけでは、脂肪酸の sn-2, 3 の結合位置を特定することはできなかった。

表3-1に DAGE の分子種組成を示した。主成分はアルキル鎖に 16:0、アシル基に 2 モルの 18:1 (脂肪酸分析からオレイン酸) をもつ分子種で 22 % を占め、ついでアルキル鎖に 14:0、アシル基に 2 モルの 18:1 を持つ分子およびアルキル鎖に 16:0、アシル基に 18:1 および 22:1 を持つ分子がともに 12 % 含まれていた。20:5 や 22:6 などの高度不飽和脂肪酸を含む分子も存在したが、その場合は他の脂肪酸はモノエン酸または飽和酸であった。

B. DAGE およびその加水分解物のマウス急性毒性

表3-2 に DAGE およびその加水分解物のマウス急性毒性を示した。DAGE の LD₅₀ は体重の約 1/40 であったが、ケン化により得られた GE の LD₅₀ は 1/320 と極めて毒性が強かった。また、片方の脂肪酸がはずれた MAGE は、経口投与後のマウスの症状、すなわち体重減少、下痢、肛門からの脂質の漏れなどから強い毒性が観察されたが、体重の 1/160 でも 6 匹中 1 匹が死亡したに過ぎず、LD₅₀ を求めることができなかった。

これらの結果から、DAGE の加水分解物である GE は、DAGE に比較して強い毒性を示すことが明らかになった。また、

DAGE + TAG の混合物の毒性は、DAGE としては 2 倍に相当する DAGE 単独投与より強かった。*Stromateus stellatus* の筋肉には GE 自身はほとんど含まれない。*in vitro* の膵臓リパーゼによる消化実験において、DAGE 単独での加水分解は極めて起こりにくかったが、TAG が共存すると DAGE の加水分解が促進された。このために、DAGE + GE の毒性が DAGE より強かったものと推定される。また、*Stromateus stellatus* の筋肉にはほぼ等量の DAGE と TAG が存在するので、このことも中毒発生の原因の一つと考えられる。

今後は、DAGE の毒性発現機構についての検討が必要である。

(3) 研究発表

1. 佐藤剛・徐還淑・遠藤泰志・藤本健四郎 (2000) イボダイ科魚類 *Stromateus stellatus* に含まれる脂質の毒性、平成 12 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p.830.
2. Endo, Y., Tagiri-Endo, M., Seo, H.-W. and Fujimoto, K. (2001) Identification and quantification of molecular species of diacyl glyceryl ether by reversed-phase high-performance liquid chromatography with refractive index detection and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 911, 39-45

4. パリトキシンまたはパリトキシン様物質による食中毒の調査

研究協力者 野口玉雄
長崎大学水産学部

(1) 研究目的

2000年10月30日～11月4日にかけて、高知県で採捕されたハタ科魚類（地方名：クエ）の喫食により高知市および土佐市で筋肉痛、激しい腰痛、ミオグロビン尿症などを主徴とするアオブダイ中毒¹⁾に酷似した集団食中毒が発生した。高知県ではアオブダイ食中毒事例が1983年より5例発生している。

これまでのアオブダイ中毒患者のほとんどは、おおむね食後数時間から10数時間で発症し、主な症状は麻痺、筋肉痛、歩行困難、胸部の圧迫感、呼吸困難、痙攣、衰弱などで、しばしばミオグロビン尿症を伴う。回復には数日から数週間かかり、最悪の場合、死に至ることもあり、その致死時間は十数時間から数日間と広範囲である。中毒原因物質は長い間不明であったが、我々は1987年猛毒パリトキシン (PTX) と推定した²⁾。

本研究では、高知県で発生したハタ科魚類による集団食中毒について疫学調査を行うとともに、中毒原因食品ハタ科魚類の毒の性状を検討した。さらに、2001年1月20日に三重県で発生したブダイ科魚類（地方名：イガミ）の喫食によるアオブダイ毒様食中毒について、同様に疫学調査を行うとともに、同時期同海域において採捕された