



下痢性貝毒の検査法と国内外の基準値

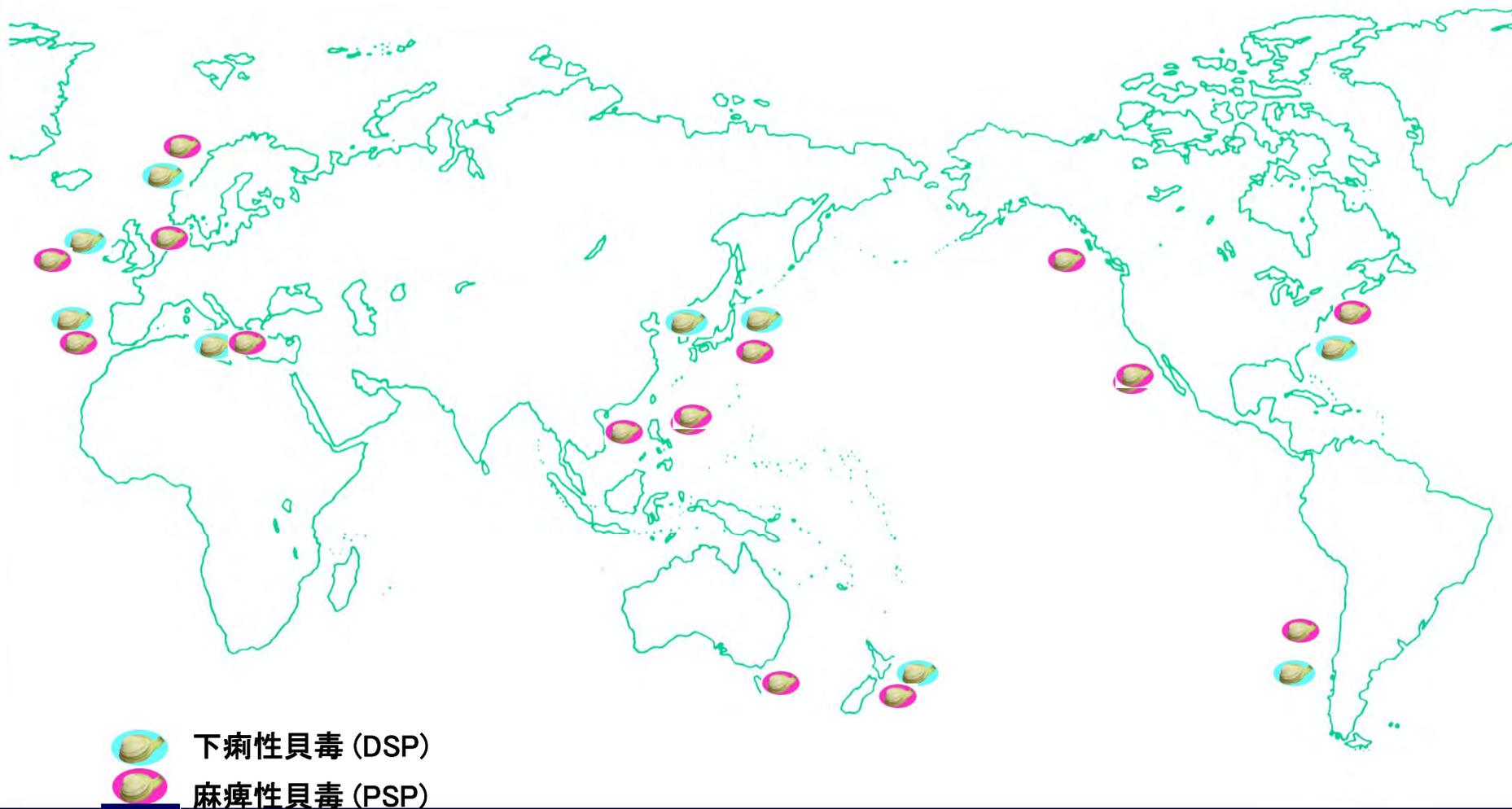


独立行政法人 水産総合研究センター
中央水産研究所
水産物応用研究開発センター
衛生管理グループ
鈴木敏之

内容

- 二枚貝が毒化する仕組みとわが国の貝毒監視体制
- マウス毒性試験と機器分析法
- 下痢性貝毒の毒成分について
- 下痢性貝毒の国際的な基準値について

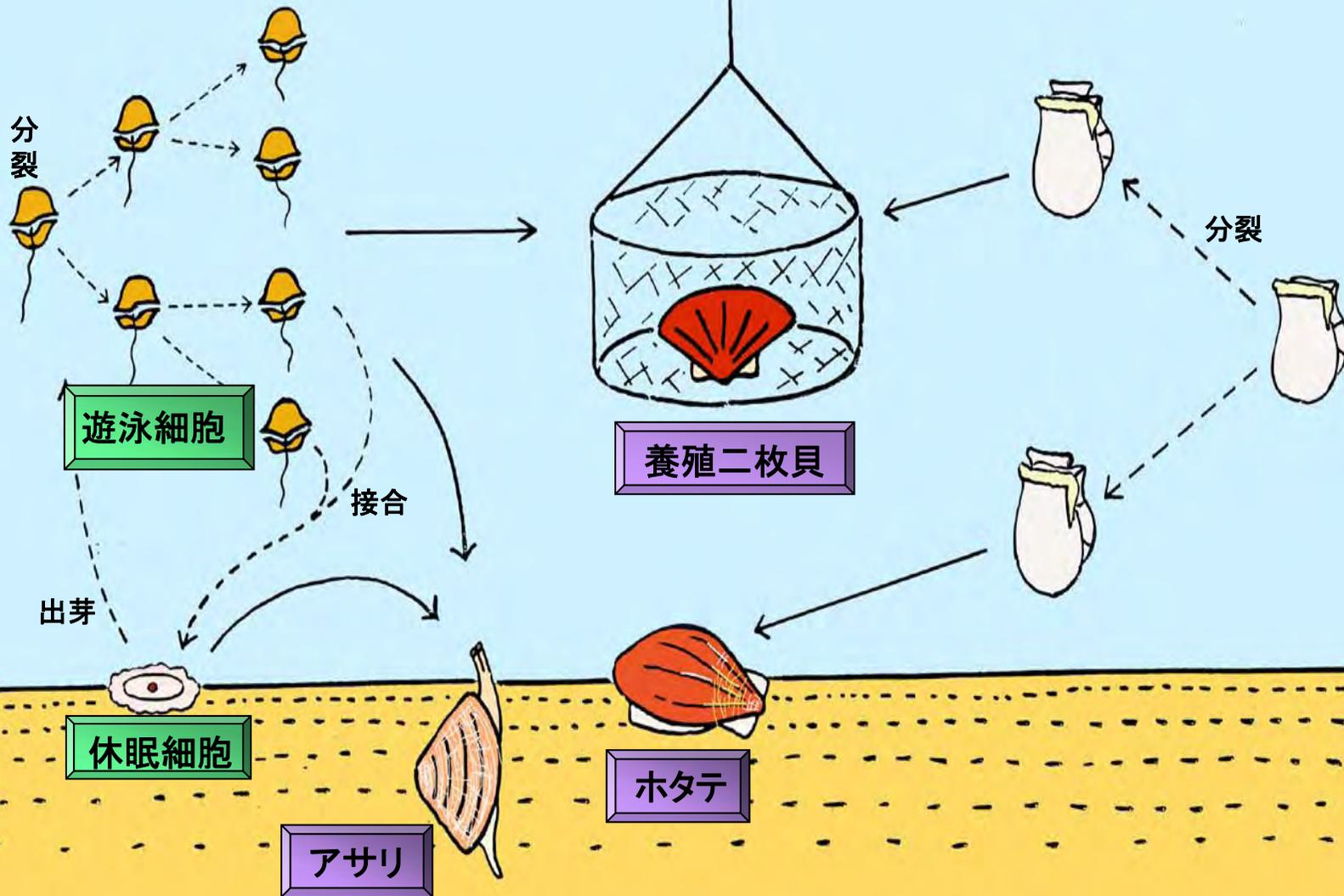
主要な貝毒による食中毒の発生状況



二枚貝類が毒化する仕組み

麻痺性貝毒のプランクトン

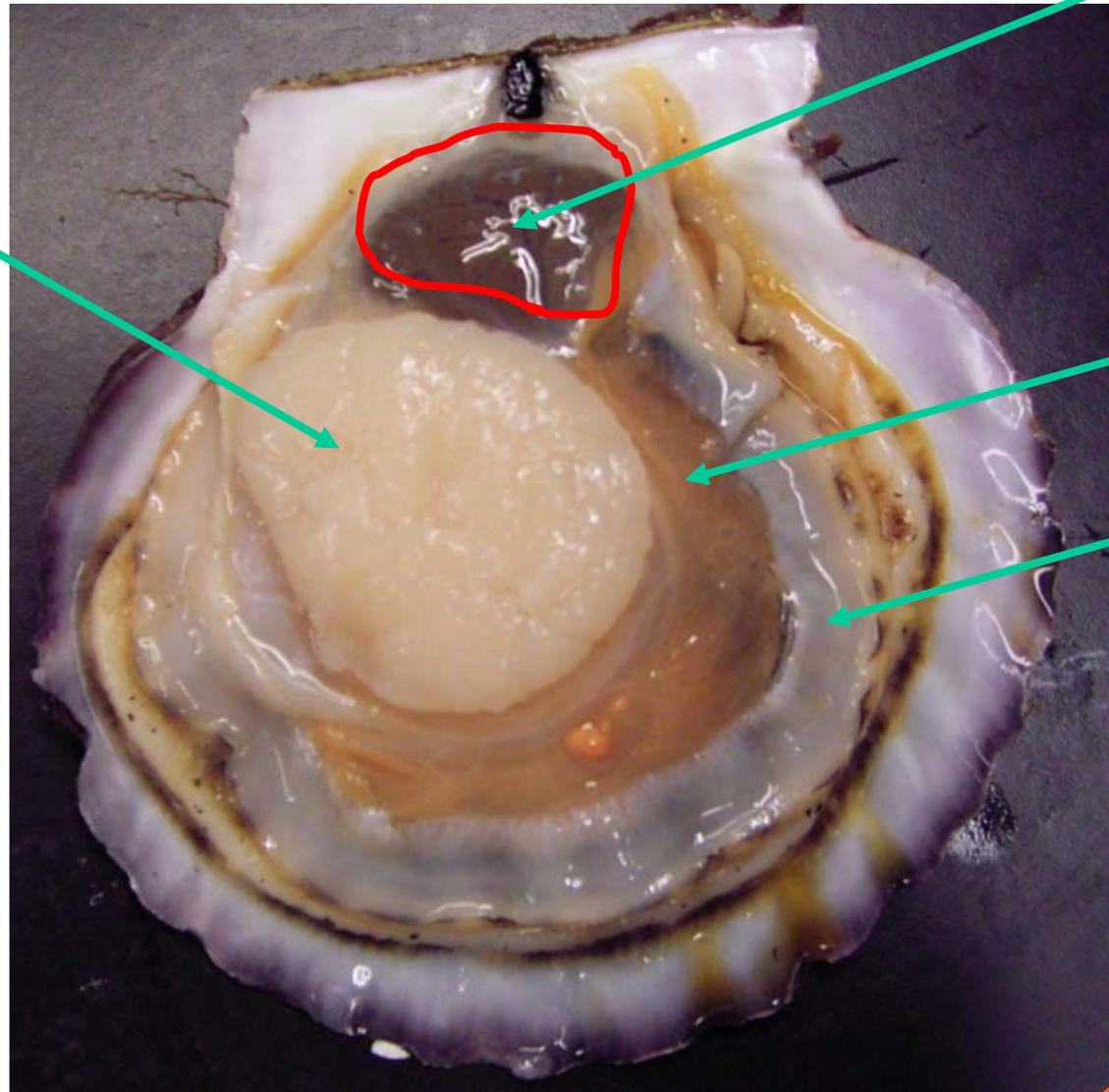
下痢性貝毒のプランクトン



毒が蓄積される部位

中腸腺に毒は蓄積する

貝柱



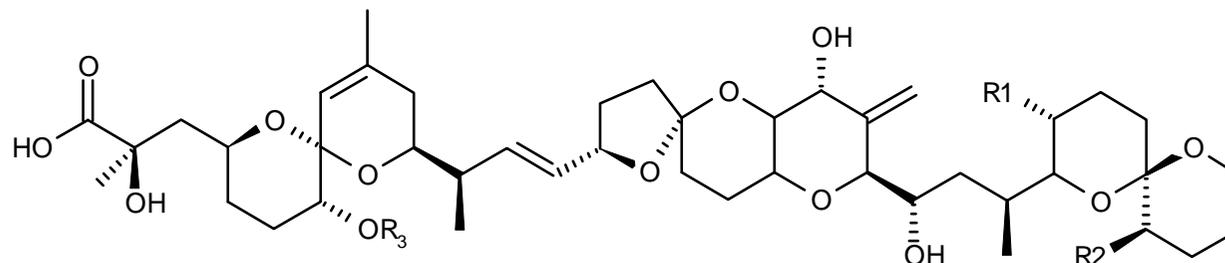
鰓

外套膜

下痢性貝中毒
(Diarrhetic Shellfish Poisoning)



Dinophysis spp.



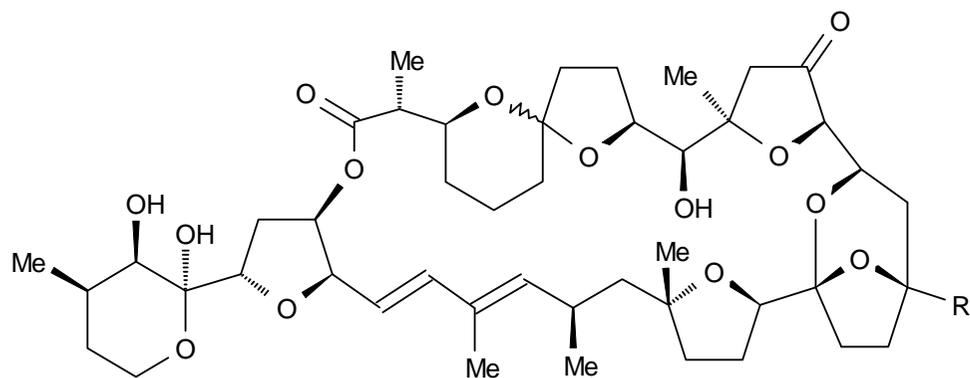
	R1	R2	R3
Okadaic acid	CH ₃	H	H
Dinophysistoxin-1	CH ₃	CH ₃	H
Dinophysistoxin-3	CH ₃	CH ₃	acyl (palmitoyl)

オカダ酸群

症状:

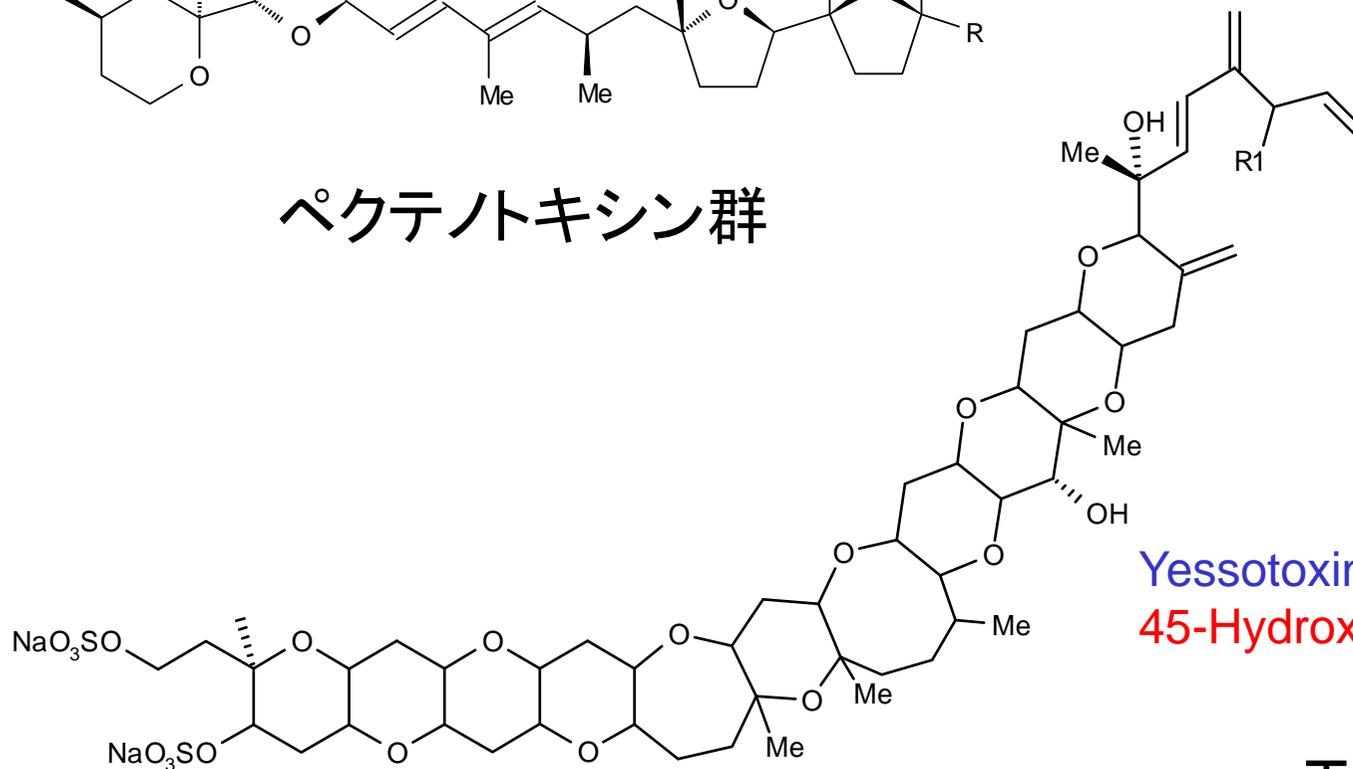
下痢(92%)、吐き気やおう吐(80%)、腹痛(50%)、発熱なし

マウス毒性試験で検出されるその他の化合物



	R1	C7
Pectenotoxin-1	CH ₂ OH	R
Pectenotoxin-2	CH ₃	R
Pectenotoxin-3	CHO	R
Pectenotoxin-6	COOH	R

ペクテノキシン群



	R1
Yessotoxin	H
45-Hydroxy-yessotoxin	OH

エツトキシン群

安心・安全な水産物の提供のための監視体制

生産海域



プランクトンモニタリング

毒化予知

各県の水産試験場など

食用二枚貝



貝毒監視

公定法(マウス毒性試験)による検査

自主規制

3週連続基準値を下回った場合に再出荷

流通

食品衛生法

消費者

食中毒の予防

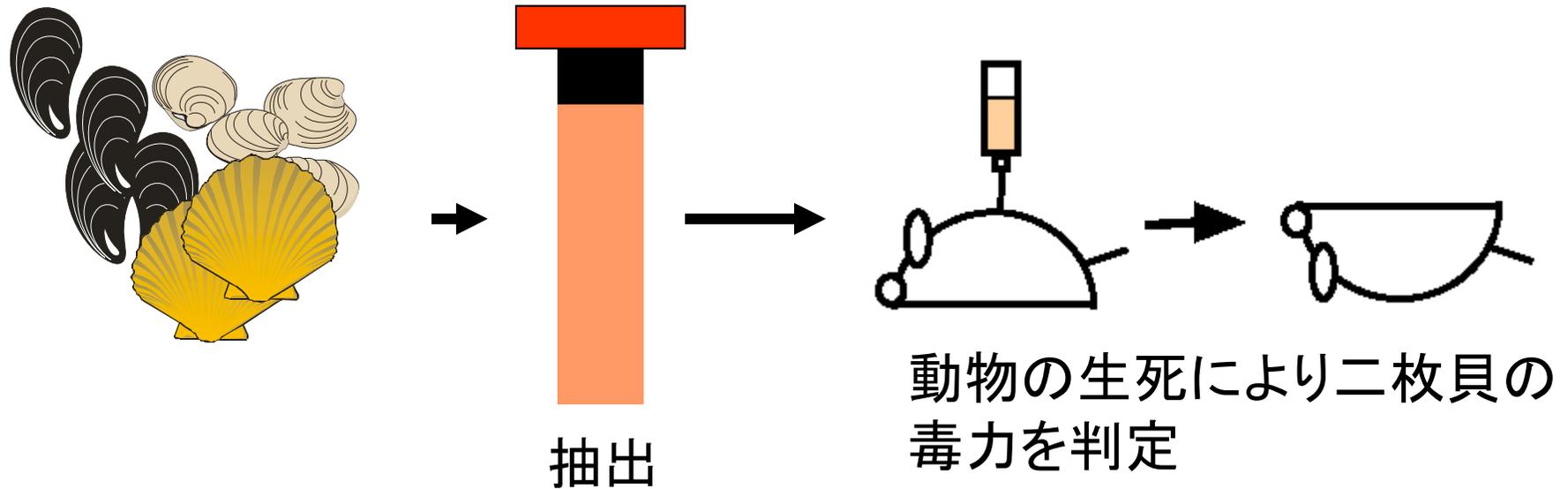
貝毒による貝類の出荷自主規制状況

平成23	延べ規制日数
下痢性貝毒	941
麻痺性貝毒	2855
合計	3796

内容

- 二枚貝が毒化する仕組みとわが国の貝毒監視体制
- マウス毒性試験と機器分析法
- 下痢性貝毒の毒成分について
- 下痢性貝毒の国際的な基準値について

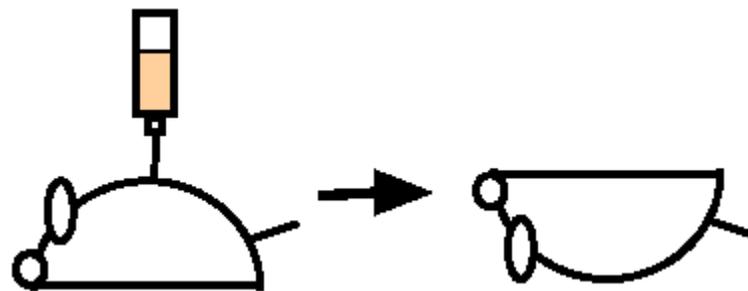
マウス毒性試験とは？



マウス毒性試験とは？

下痢性貝毒

1MU: 体重16–20gのマウスを24時間で殺す毒量



ホタテガイ中腸腺のLC-MSクロマトグラム

LC-MS condition

Column: Hypersil-BDS-C8

(150 mm x 2 mm i.d)

Flow rate: 0.2 mL/min

Mobile phase: A water, B 95% MeCN

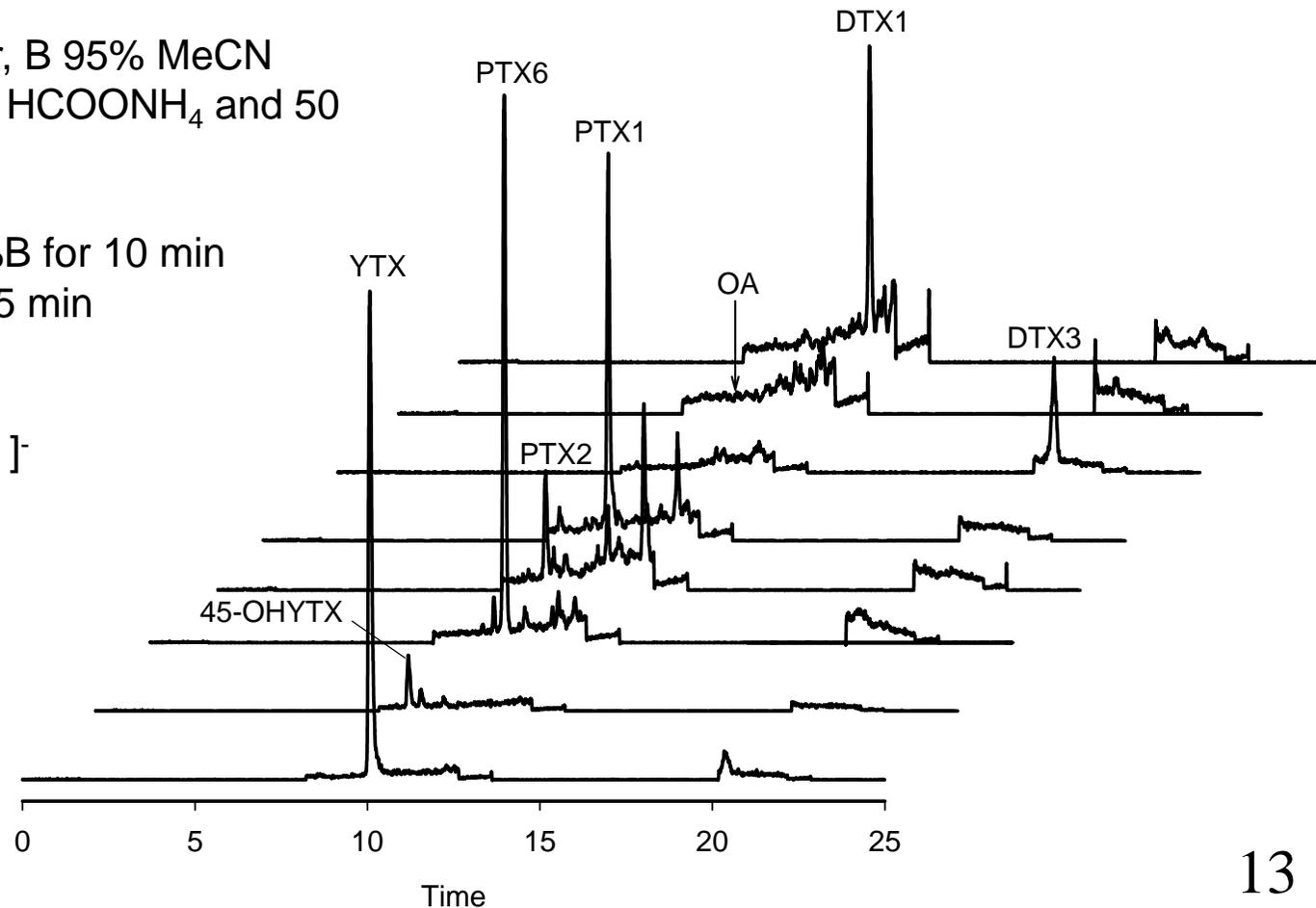
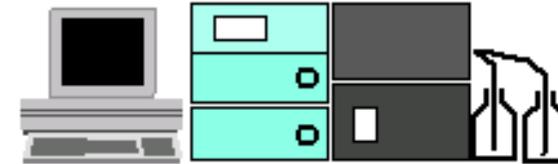
both containing 2 mM HCOONH₄ and 50 mM HCOOH

Step 1: 20 % B 100%B for 10 min

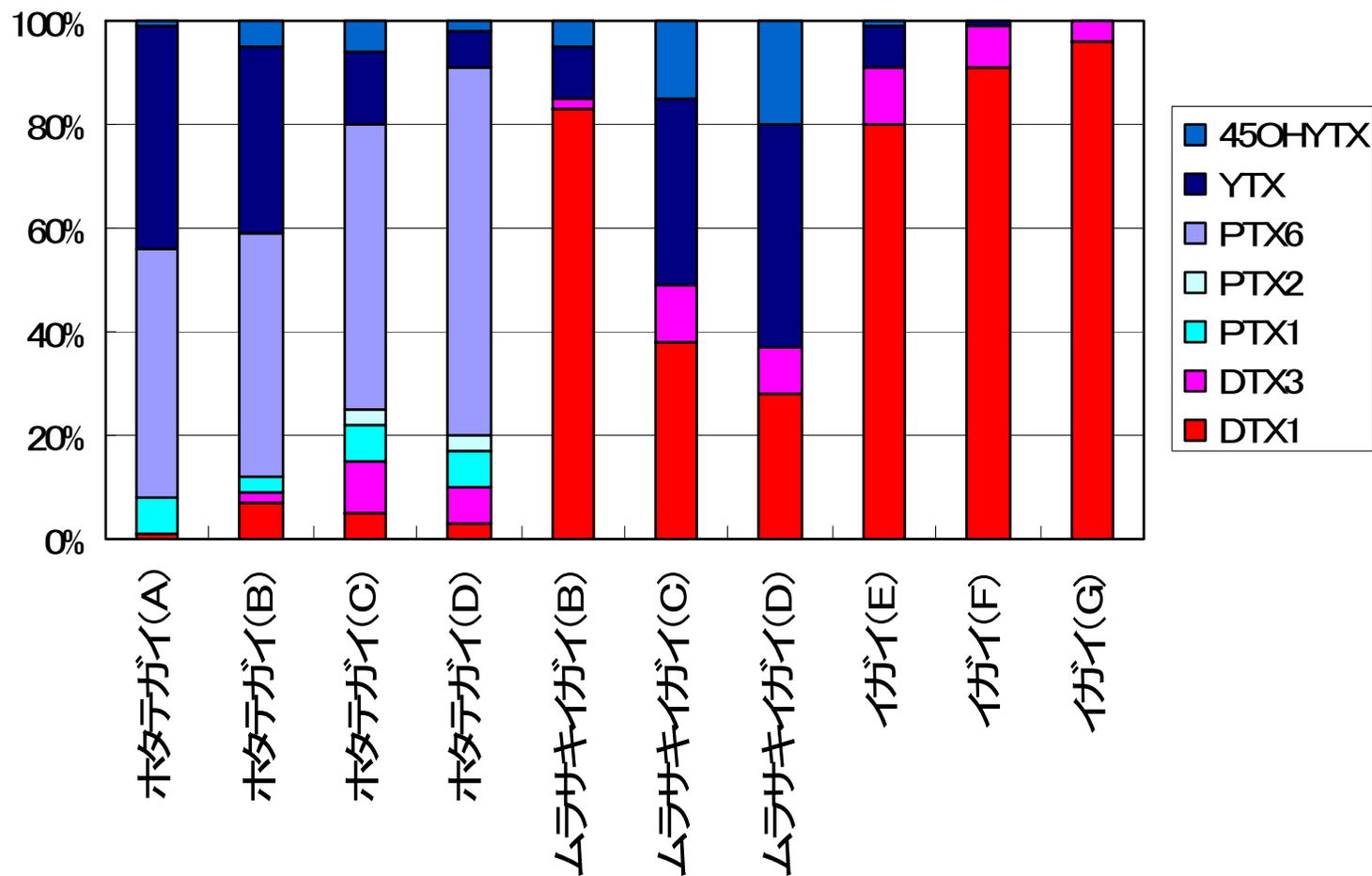
Step 2: 100 % B for 15 min

Detection

[M-H]⁻ [M+HCOOH-H]⁻



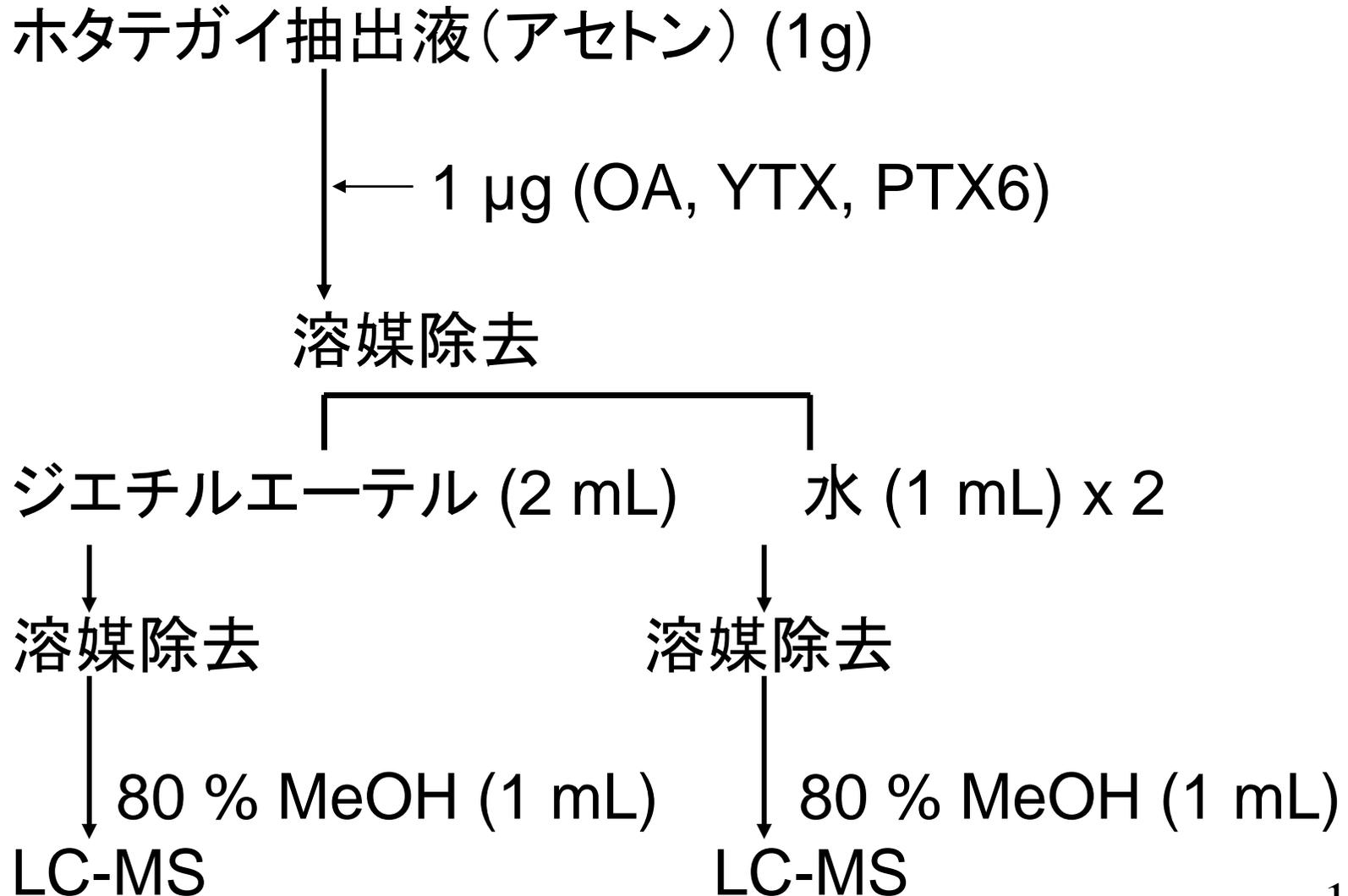
国内主要海域の下痢性貝毒の組成



公定法マウス毒性試験の利点と欠点

	利点	欠点
マウス毒性試験	<ul style="list-style-type: none">・マウスに対して致死毒性のある毒成分を一括して検出可能・高額機器を使用しない・検査法としては単純明快	<ul style="list-style-type: none">・検出感度・精度が悪い・偽陽性反応(遊離脂肪酸等)・偽陰性反応・毒性物質の同定が困難・分析時間が長い・動物の管理や実験に習熟を要する・CODEXの分析法性能基準を満たしていない
機器分析	<ul style="list-style-type: none">・検出感度・精度が高い・各成分ごとの定性・定量分析が可能・検査時間が短い・多数検体の処理が可能	<ul style="list-style-type: none">・規制対象とする標準毒が必要・未知毒の検出ができない

マウス毒性試験による下痢性貝毒3群の検出



下痢性貝毒3群の回収率

	ジエチル エーテル (%)	水 (%)	回収率 (%)
OA	100	ND	95
YTX	45	55	82
PTX6	61	39	81

内容

- 二枚貝が毒化する仕組みとわが国の貝毒監視体制
- マウス毒性試験と機器分析法
- 下痢性貝毒の毒成分について
- 下痢性貝毒の国際的な基準値について

下痢性貝毒, 脂溶性貝毒の毒性

	マウス 腹腔内 投与	マウス 経口投与	毒性
OA/ DTXs	○	○	下痢, 発ガンプロモーター作用 PP2A 阻害
PTXs (ヒト中毒事例なし)	○		アクチン重合阻害 細胞毒性 肝臓毒性
YTXs (ヒト中毒事例なし)	○		E-cadherin fragmentation

オカダ酸群を経口投与したマウスの腸管

TABLE IV. Diarrhoeagenicity of diarrhetic shellfish toxins in suckling mouse tests.

Sample	Dose (MU/mouse)				
	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4
OA	-	-	+	+	+
DTX1	-	-	+	+	+
DTX3	-	+	+	+	+
PTX1	-	-	-	-	-

+, FAR > 0.09; -, FAR < 0.09

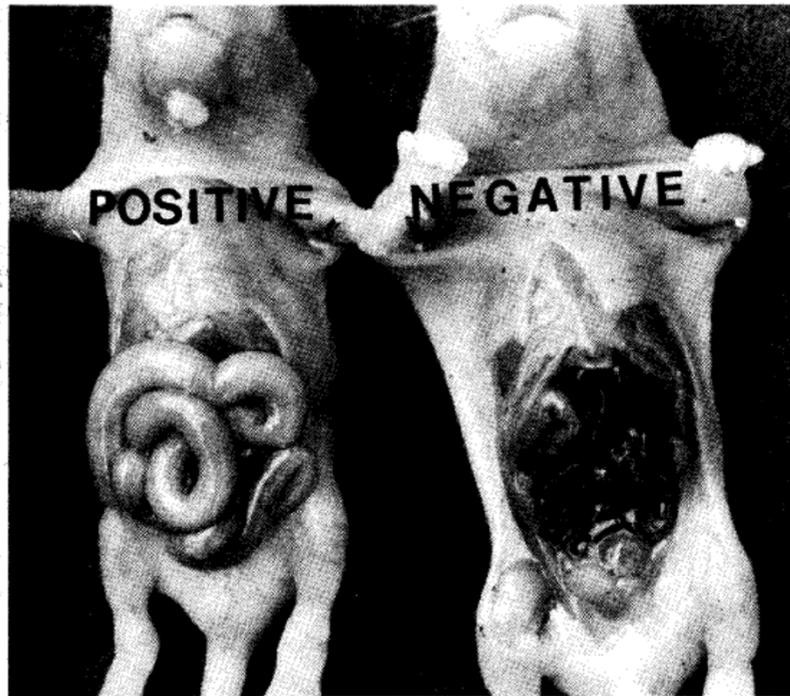
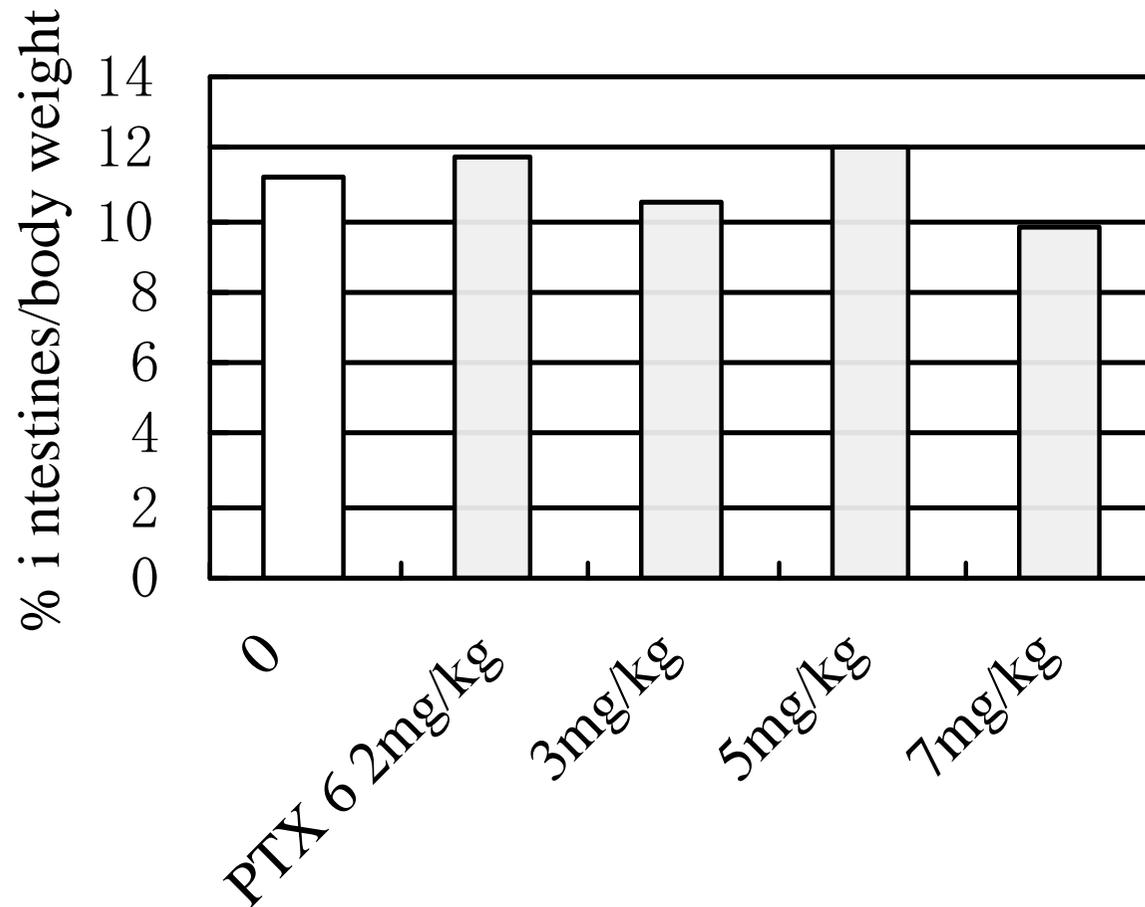


FIG. 1. Fluid accumulation in suckling mouse intestine caused by administration of DST (p.o.).

左 オカダ酸群投与区
右 コントロール

Hamano et al.,
Toxic Dinoflagellates, p. 383 (1985)

ペクテノキシンを経口投与したマウス腸管重量



Ito et al., *Toxicol*, 51, 707-716 (2008)

内容

- 二枚貝が毒化する仕組みとわが国の貝毒監視体制
- マウス毒性試験と機器分析法
- 下痢性貝毒の毒成分について
- 下痢性貝毒の国際的な基準値について

下痢性貝毒の許容量

	Japan (MU/g)	EU (mg/kg)	USA (mg/kg)	CODEX* (mg/kg)
オカダ酸群		0.16	0.16	0.16
エツトキシ ン群	0.05MU/g	1	-	-
ペクテノキ シン群	OA 0.2 mg/kg YTX 0.1 mg/kg PTX 0.23 mg/kg	0.16	-	-

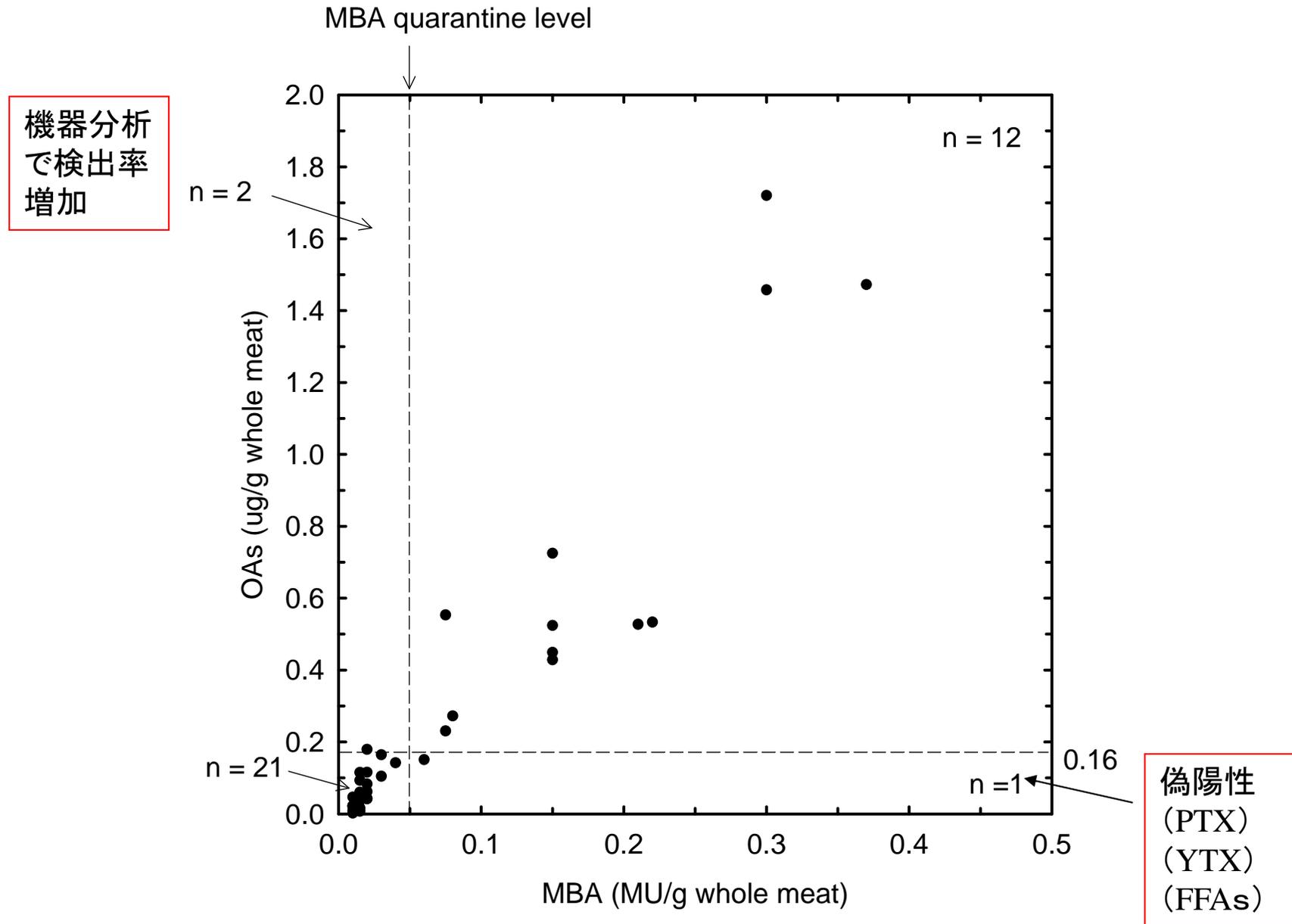
* 2008年にノルウェー(トロンハイム)で開催されたCODEX第29回魚類・水産製品部会において、各種貝毒の食品中の許容量

* オーストラリア, ニュージーランド, 韓国等はオカダ酸群のみを規制対象としている

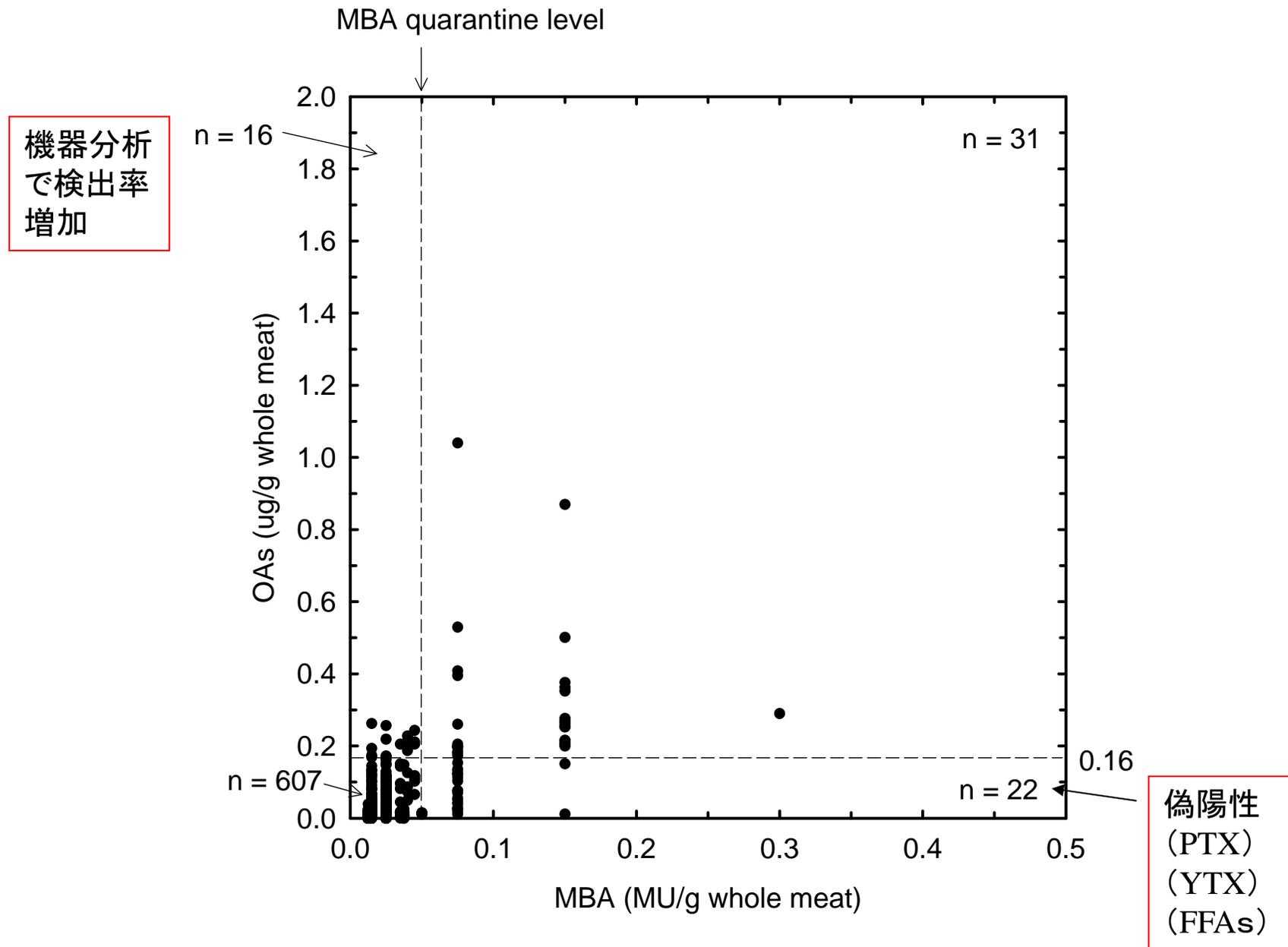
マウス毒性試験の基準値0.05MU/g と国際基準値 0.16mg OA equ/kg の関連性

- ・ 基準値 0.05 MU/g
10MU程度で発症 0.05MU/g の場合二枚貝200
グラムを食べた場合に発症
- ・ OA類縁体 DTX1のマウス腹腔内投与のLD₅₀値
160 ug/kg b.w (OA LD₅₀ 200-225 ug/kg b.w)
1 MU = 3.2 ug → 0.16 ug/g (mg/kg)

LC-MS (Total OA and DTXs) vs MBA (Mussels *M. coruscus*, n=36)



LC-MS (Total OA and DTXs) vs MBA (Scallops *P. yessoensis*, n=676)



CODEX等の国際機関により規制対象 として指定されている貝毒

	化合物
麻痺性貝毒	サキシトキシン群
下痢性貝毒	オカダ酸群ほか
記憶喪失性貝毒	ドウモイ酸
神経性貝毒	ブレベトキシン群
新規下痢性貝毒	アザスピロ酸群

LC-MS/MSによるDA,AZA,BTXの一斉分析

LC conditions

Column: Hypersil-BDS-C8

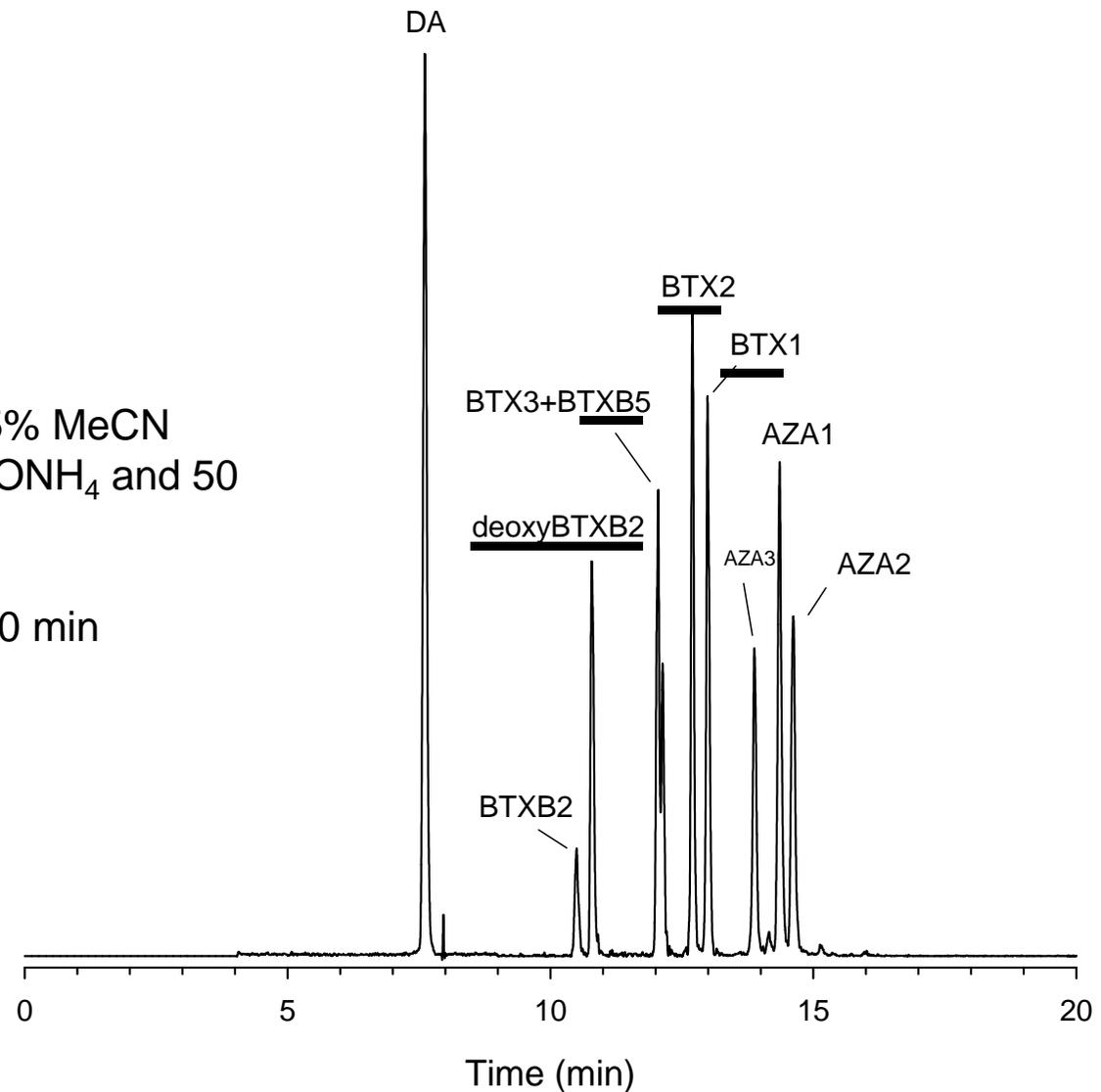
(50 mm x 2.1 mm i.d)

Flow rate: 0.2 mL/min

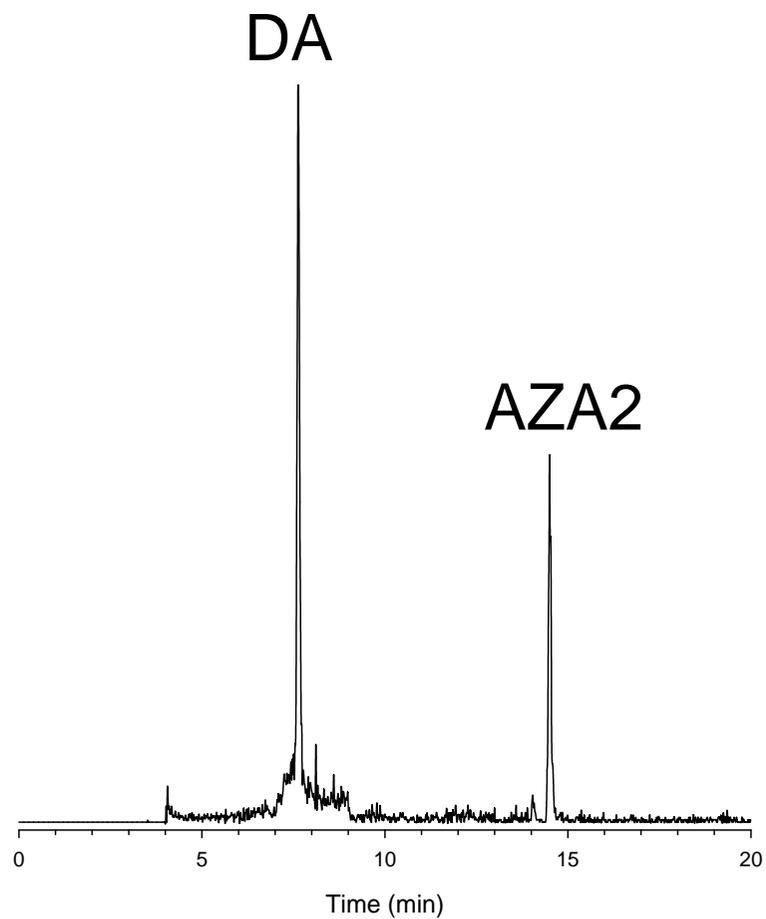
Mobile phase: A water, B 95% MeCN
both containing 2 mM HCOONH₄ and 50
mM HCOOH

Step 1: 5 % B 100%B for 10 min

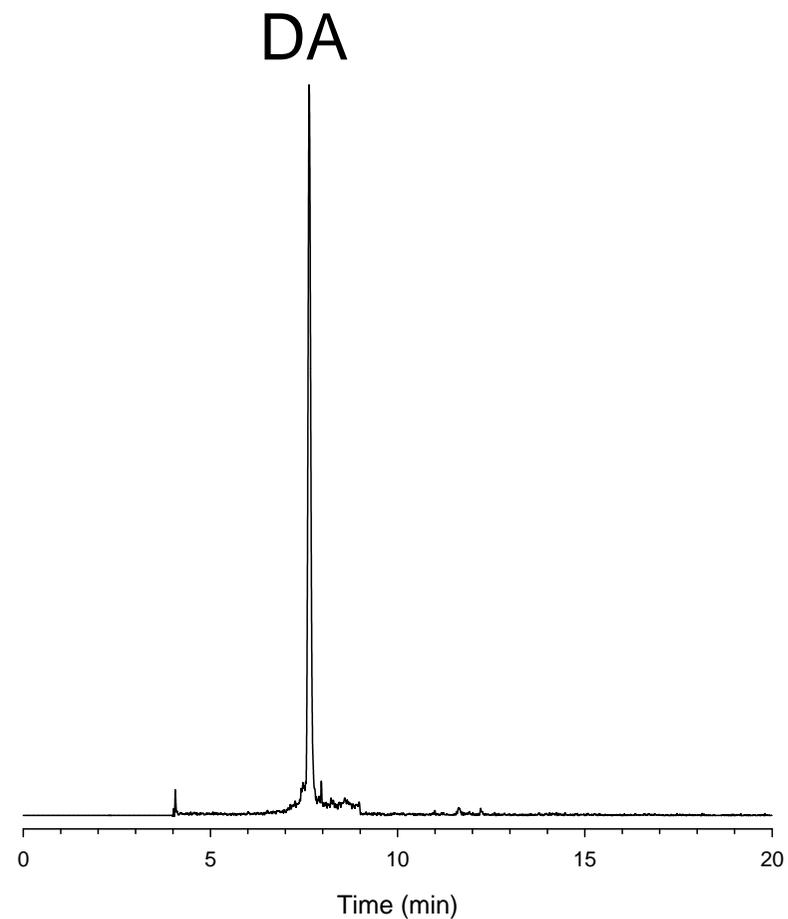
Step 2: 100 % B for 10 min



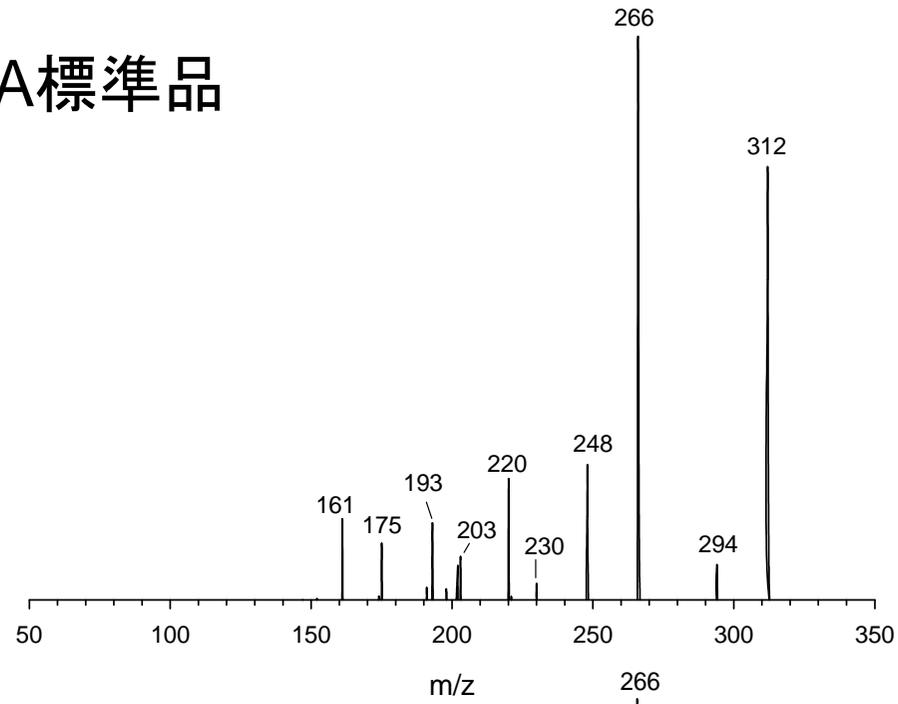
ムラサキイガイ A



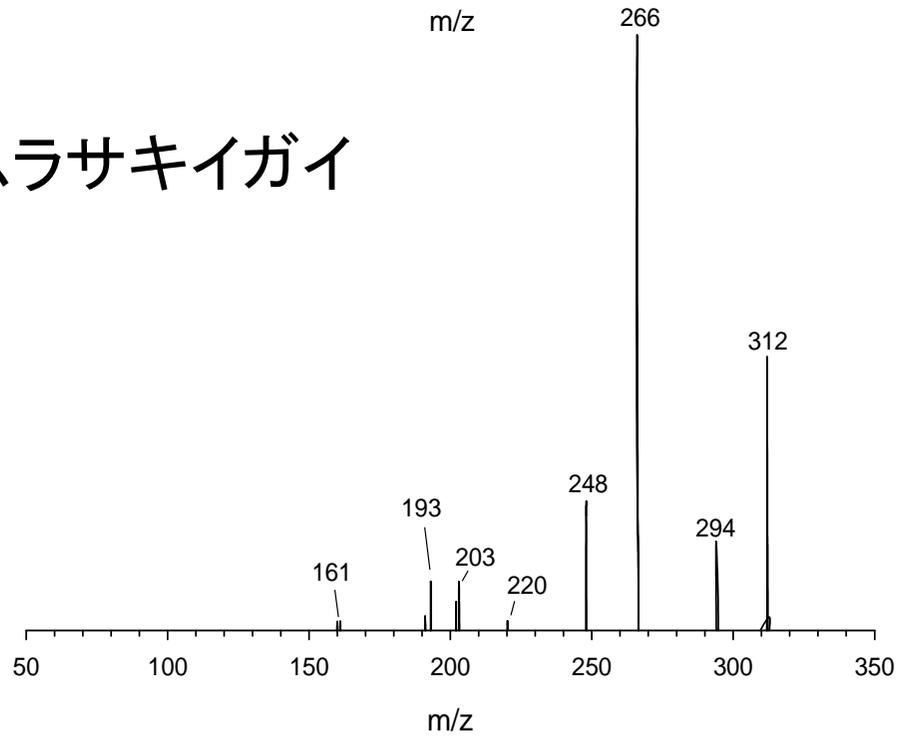
ムラサキイガイ B



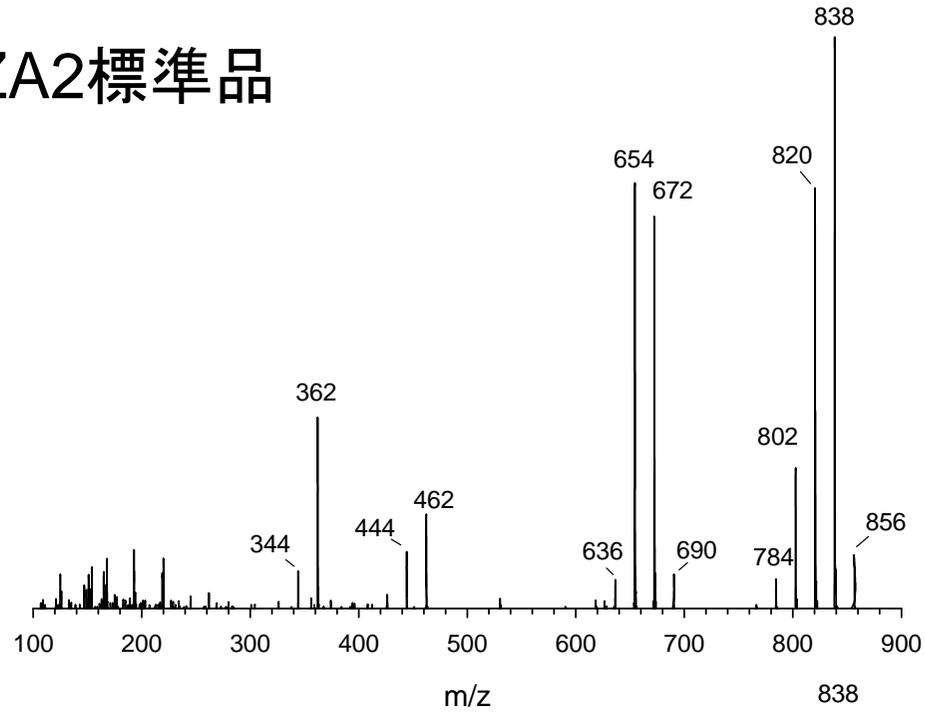
DA標準品



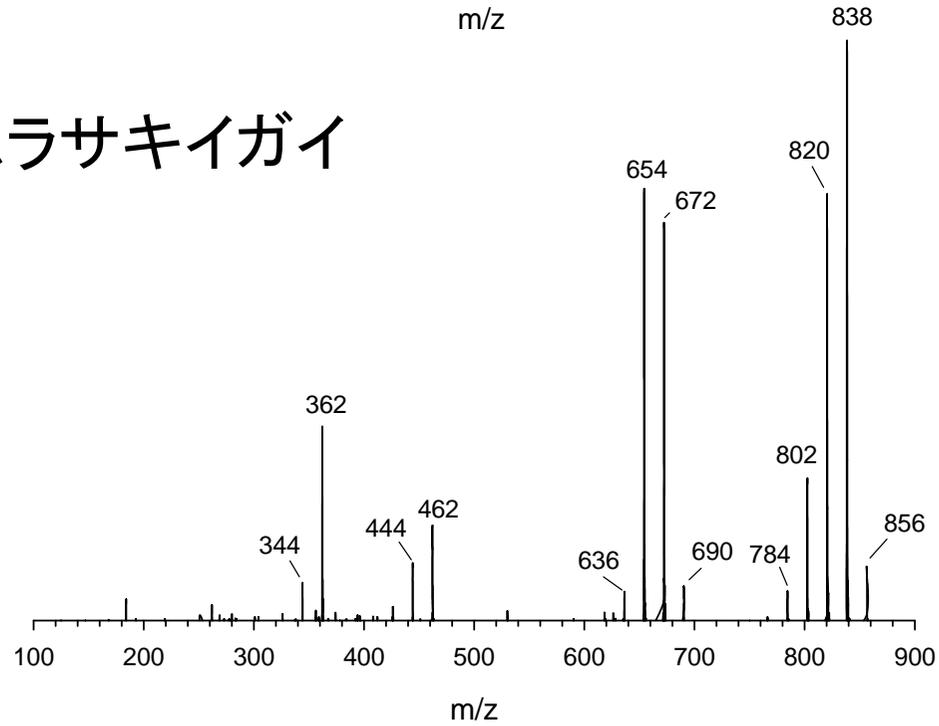
ムラサキイガイ



AZA2標準品



ムラサキイガイ



二枚貝(507検体)の新規貝毒による汚染状況 (H20)

	DA	AZA1	AZA2	AZA3
(+)検体数	87	8	93	4
陽性率(%)	17.2	1.6	18.3	0.8
毒量範囲 (ng/g 可食部)	2.6-213.0 (16.7)	0.06-0.23 (0.10)	0.05-2.25 (0.28)	0.03-0.04 (0.04)
基準値 (ng/g 可食部)	20000	160	160	160

まとめ

- ・ わが国では、適切な監視体制により貝毒を原因とする食中毒は防止されている
- ・ 多くの国は、貝毒検査に機器分析法を導入する方向で動いており、わが国としても機器分析の導入に向けた準備が必要になっている
- ・ 機器分析法を導入した場合には、オカダ酸群陽性検体の検出率は増加し、二枚貝の安全性は向上する
- ・ 下痢性貝毒マウス毒性試験で検出される化合物(ペクテトキシン群やエツトキシン群)や毒(アザスピロ酸群)のリスク評価は？