フグ喫食患者における血清中のテトロドトキシン分析

[はじめに]

# 環境センター１ 、衛生薬業センター2、鳥栖保健福祉事務所 3

〇志岐 寿子１、森脇 尚乃 2、坂元 俊介１、大窪 かおり2、吉村 博文3

平成 30 年 3 月にフグの喫食による食中毒患者が発生し、血清中のテトロドトキシン（TTX） について、保健福祉事務所から検査依頼があった。試料は医療機関において数時間毎に採血 されたもので、LC/MS/MS を用いて検査するとともに、キャピラリー電気泳動－タンデム型 質量分析計（CE/MS/MS）による測定についても検討したので報告する。

[LC/MS/MS フグ喫食患者の血清中 TTX 分析]

試料は、喫食後 2.5、10、15、20、24 及び 36 時間に採取された血清 6 検体で、各血清 1.5ｍL に 0.1%酢酸 3.5ｍL をポリプロピレン製遠沈管に採取し、100℃で 5 分加熱後、

3,500rpm で 10 分遠心分離した。上清を 3,000 分画のフィルタで 10,000rpm で 20 分間限外 ろ過を行い試験溶液とし、LC/MS/MS で測定を行った。

その結果、喫食経過 2.5 時間後の濃度が 12.7ng/mL と最も高く、時間の経過とともに TTX 濃度の減衰が観察された。約 15 時間後までは速やかに減衰する傾向にあったが、20 時間以降は緩やかな減衰が見られている。

[CE/MS/MS による血清中 TTX 分析の検討]

健常者の血清を用いて血清中濃度が 10,50ng/mL となるように TTX を添加し、添加回収 試験を実施した。方法は、血清 0.4mL を 3000 分画のフィルタ 10,000rpm、20 分間限外ろ 過を行い試験溶液とし、CE/MS/MS で測定を行った。 その結果、検量線については、相関係数は 0.997 を超え良好な直線性を示した。また 標準溶液 50ng/mL の 3 回繰り返し測定では、相対標準偏差は 4%であった。ピーク感度は S/N が 10 以上で十分に測定可能であった。また、回収率は約 100％であった。

［考 察］

今回の事例は、患者の回復が遅いため血中 TTX 濃度が減少しているかを確認したいとの 依頼内容であったが、搬入されたサンプルは数 mL と試験に余裕のあるものではなく、微量 の試料にも対応した分析法を準備することも重要であると思われた。今回検討した CE/MS/MS 法は、前処理を限外ろ過のみとすることが可能で、少量の検体でも測定ができる 点では有用である。今回、TTX の検量線は LC/MS/MS で 0.5～100ppb、CE/MS/MS で 10～100ppb の範囲で作成し試験に供した。検量線については、LC/MS/MS では更なる低濃度化が可能で ある一方、CE/MS/MS では現在の条件下で低濃度化は困難であると考えられた。TTX は血清濃 度 100ng/mL を超えると致死的で、25～100ng/mL 付近で中毒症状を呈すると言われており 1)、 喫食直後等の高濃度検体には CE/MS/MS による迅速分析を、回復期等の低濃度検体には LC/MS/MS による高感度分析を選択することも考えられる。一般的に、フグ喫食患者におけ る TTX の分析を実施する場合、生体中の尿、血液、喫食残品等の検体は、検査機関が分析に 必要な量を確保できない場合も考えられ、今後も検討を継続したい。

[参考文献] １）鈴木修，屋敷幹雄，薬毒物分析実践ハンドブック，じほう(2002)