

患者糞便からフグ毒様マウス致死が認められた一事例

石村 勝之 萱島 隆之 平崎 和孝* 松本 勝

はじめに

平成 15 年 11 月、広島市内においてボツリヌス症の可能性が疑われた患者の緊急入院があり、本市安佐南保健センターにボツリヌス菌の検査依頼があった。当所生物科学部で患者糞便および血清についてマウス接種試験を行ったところ、糞便についてマウス致死毒性が認められた。しかし、この致死毒性について若干の検討を加えた結果、その原因物質がフグ毒である可能性が示唆されたので報告する。

方 法

1 供試材料

検査には、市内某病院において男性患者より 2 病日に採取された糞便および血清を試験に用いた。

2 糞便処理方法

マウス接種試験に供するため、患者糞便をゼラチン希釈液により 5 倍希釈し、それを下記の処理を行った。

(1) 原液

5 倍希釈液を 12,000 rpm, 20 分間遠心分離し上清を原液とした。

(2) 加熱

原液を 100℃, 10 分間煮沸処理し、検液とした。

(3) 酸処理

原液を 2N HCl および 2N 酢酸と等量混合し、30 分間処理後中和し、検液とした。

(4) アルカリ処理

原液を 2N NaOH と等量混合し、30 分間処理後中和し、検液とした。

(5) 分画

原液を Centricon Plus-20(ミリポア社)により分画遠心し、得られた分子量 5000 以下の分画を検液とした。

(6) ボツリヌス抗毒素中和

原液を等量のボツリヌス抗毒素血清で中和後、検液とした。

3 ボツリヌス菌培養検査

0.2%可溶性でんぷん, 0.3%グルコース加クックドミート培地に糞便を接種し、無処理, 60℃, 15 分加熱および 80℃, 30 分加熱後、30℃, 5 日間嫌気培養した遠心上清を検液とした。

表 マウス接種試験結果

処理方法	結果(斃死時間)
血清	生存
原液	斃死(9 分)
加熱(100℃, 10 分)	斃死(21 分)
酸処理(塩酸)	生存
酸処理(酢酸)	斃死(38 分)
アルカリ処理(NaOH)	斃死(120 分以上)
分画(MW: <5000)	斃死(15 分)
ボツリヌス抗毒素中和	斃死(10 分)
培養(無処理)	生存
培養(60℃ 加熱)	生存
培養(80℃ 加熱)	生存

15 分加熱および 80℃, 30 分加熱後、30℃, 5 日間嫌気培養した遠心上清を検液とした。

4 マウス接種試験

血清および上記により糞便を調製した各試験液 0.1 ml あるいは 0.2 ml を 2 匹の ddy 系雄マウスの腹腔内に接種し、5 日間斃死の有無・症状を観察した。

結 果

1 マウス接種試験結果

各試験検液のマウス試験結果を表に示した。

患者糞便原液では、約 10 分で呼吸麻痺を伴ったマウスの斃死が認められた。しかし、死亡時間が分単位と短く、加熱やボツリヌス毒素抗血清の中和でもマウス斃死を認めること、嫌気培養液上清の試験においても陰性であったことから、ボツリヌス毒素の可能性は否定的であった。しかし、マウスの神経症状から、フグ毒(テトロドトキシン)の可能性¹⁾も考えられ、酸、アルカリ、および分画処理を行った結果、その毒性の消長はフグ毒の性状と矛盾しなかった。

文 献

- 1) 石村勝之 他: フグ中毒患者尿の検査材料としての有用性, 広島市衛生研究所年報, 15, 87~89(1996)

*: 現 経済局中央卸売市場食肉市場