

クワズイモによる食中毒の発生と PCR法による検査について

衛生化学部

○高山清子 前田智子 西村幸江

上原直美 鈴木郷 木下和昭

竹原瑛梨奈 野口辰美

クワズイモとはずがら

	クワズイモ (<i>Alocasia odora</i>)	ハスイモ(はずがら) (<i>Colocasia esculenta</i>)
生育地	四国南部、九州南部～ 琉球、中国(南部、台 湾)、インドシナ、インド	四国、九州、沖縄、東南 アジア
草丈	1 m以上	3 m
葉色	緑色	淡緑色
塊根	棒状で太い	小さい

クワズイモ食中毒

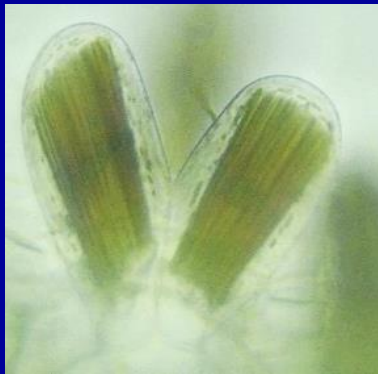


クワズイモ

病因物質
シュウ酸カルシウム
 $(\text{COO})_2\text{Ca}$
水に不溶

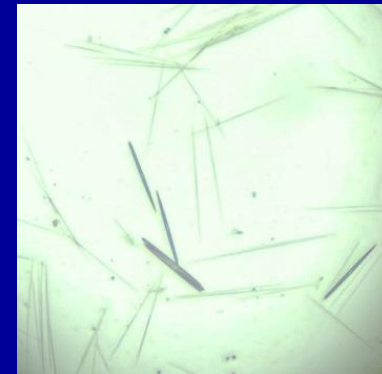


光学顕微鏡観察



束晶細胞 (×400)

物理的刺激



針状結晶 (×400)

クワズイモによる食中毒発生状況

本県におけるクワズイモ食中毒

	発生場所	摂食者数 (人)	患者数 (人)
平成28年	川南町	1	1
平成29年	延岡市	2	1
	宮崎市	1	1
令和元年	都農町	2	2

平成21～30年

全国 13件 (うち本県 3件)

(資料)厚生労働省「食中毒統計調査」

光学顕微鏡による針状結晶の観察



(× 100)

針状結晶
(束晶細胞)



(× 100)



(× 400)

食中毒検体



(× 400)

はすがら

調査研究の目的

検討事項

- 1 シュウ酸カルシウムの定量
- 2 シュウ酸カルシウム結晶の観察
- 3 PCR法によるクワズイモの鑑別

対象

- 令和元年度クワズイモ食中毒検体
 - ①喫食味噌汁の残り
 - ②味噌汁具材に使用した茎の残り
- クワズイモ(葉柄)
- はすがら(葉柄)
- サトイモ(塊茎)



方 法

1-1 シュウ酸の定量

可溶性シュウ酸 + 不溶性シュウ酸 = 総シュウ酸
(シュウ酸カルシウム)

総シュウ酸

試料 (1 g) + 10%塩酸

↓
ホモジナイズ



↓
加温 (100°C)

↓
ホモジナイズ

↓
中和

↓
50 mLに定容

↓
ろ過 (ろ紙、フィルター)

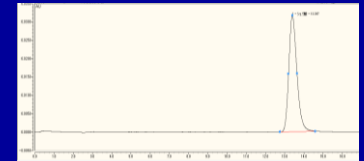
約4時間

可溶性シュウ酸

- ・10%塩酸→水
- ・中和なし



イオンクロマトグラフィー
約8時間



小坂ら：宮崎県衛生環境研究所年報, 11, 77-80 (1999)

森岡ら：宮崎県衛生環境研究所年報, 20, 91-93 (2008)

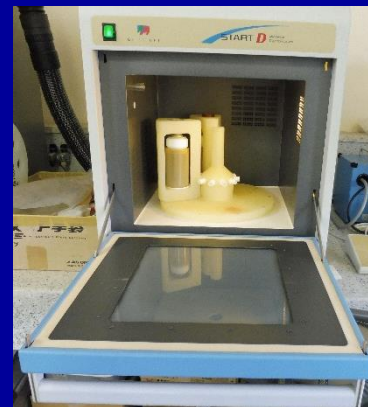
1-2 カルシウムイオンの定量

試料の分解

マイクロ波試料前処理装置



約1時間30分



マイクロ波試料前処理装置

カルシウムイオンの定量

ICP発光分光分析法



約1時間

結果



ICP発光分光分析装置

2 クワズイモ、はすがらの シュウ酸カルシウム結晶の観察

観察試料の調製

大きさ 約 5 mm × 5 mm

厚さ 約 0.5 mm



1N - NaOH水溶液に浸漬後
純水で洗浄

光学顕微鏡観察

(倍率100倍、3切片、3視野)

束晶細胞数、集晶細胞数の計測



光学顕微鏡

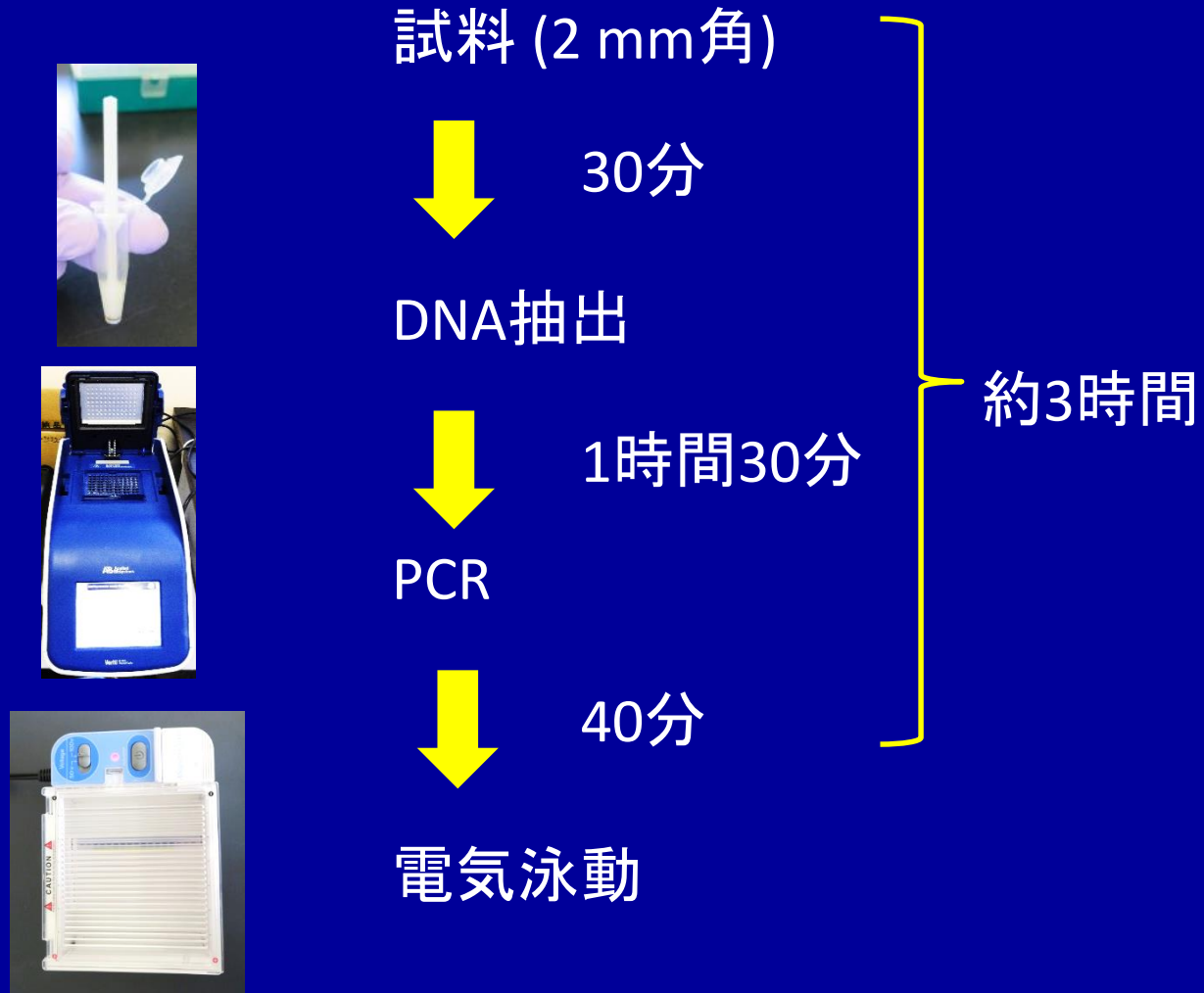


束晶細胞 (×400)
(針状結晶)



集晶細胞 (×400)

3 PCR法によるクワズイモの鑑別



結 果

シュウ酸カルシウムの定量

各試料のシュウ酸、カルシウム及びシュウ酸カルシウム濃度

試料	総シュウ酸 ($\mu\text{mol/g}$)	可溶性シュウ酸 ($\mu\text{mol/g}$)	不溶性シュウ酸 ($\mu\text{mol/g}$)	カルシウム ($\mu\text{mol/g}$)	シュウ酸カルシウム ($\mu\text{g/g}$)
クワズイモ	37.3	11.2	26.1	39.4	3.34×10^3
はすがら	30.6	8.19	22.4	35.2	2.87×10^3
サトイモ	7.15	7.00	0.150	4.42	19.2

不溶性シュウ酸 = 総シュウ酸 - 可溶性シュウ酸

シュウ酸カルシウム濃度 ($\mu\text{g/g}$)

= 不溶性シュウ酸モル濃度 ($\mu\text{mol/g}$) \times シュウ酸カルシウム分子量 (128)

束晶細胞数と集晶細胞数

クワズイモ及びはすがらの束晶細胞数と集晶細胞数

試料	束晶細胞数 (個/一視野)	集晶細胞数 (個/一視野)
クワズイモ	31 ± 12	59 ± 9
はすがら	8 ± 4	602 ± 104



クワズイモ(×100)

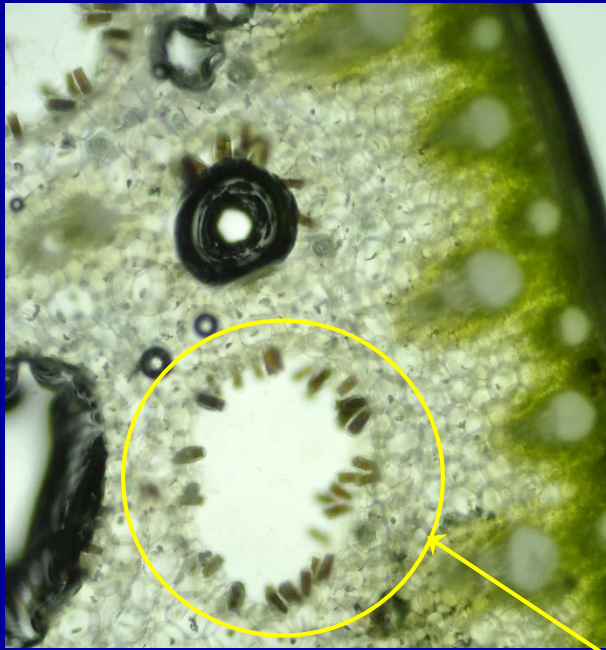
束晶細胞

集晶細胞

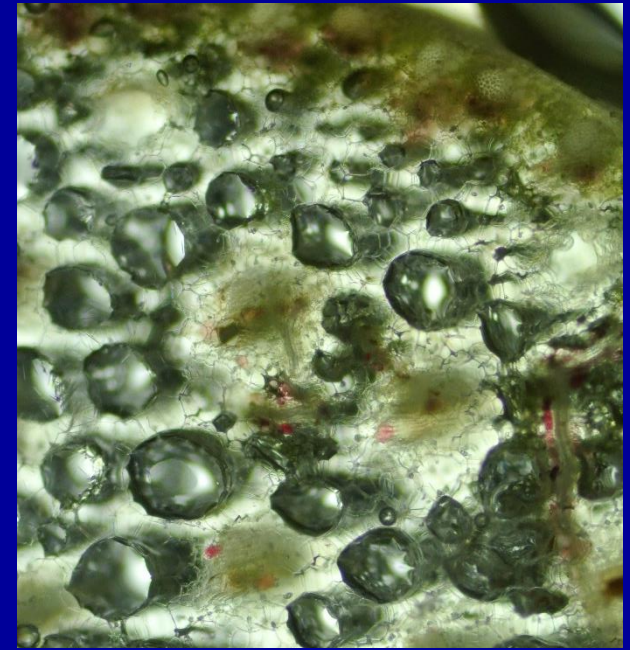


はすがら(×100)

束晶細胞の分布



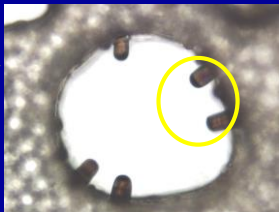
クワズイモ(×40)



はすがら(×40)

束晶細胞

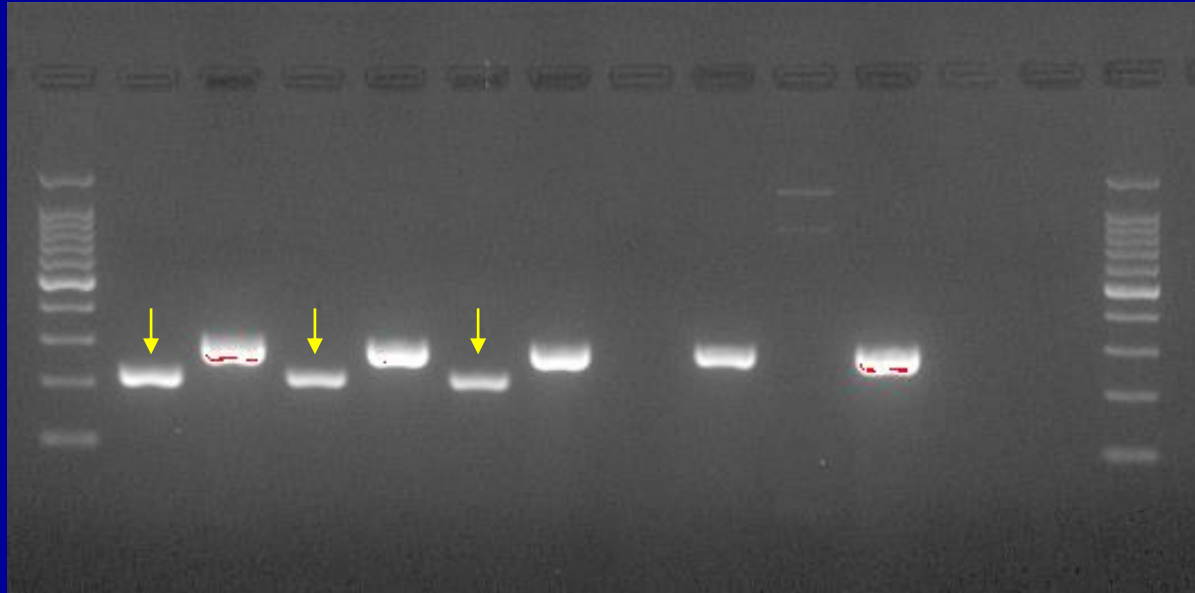
柔組織から通気組織へ
突出した形で存在



(×100)

PCR法によるクワズイモの鑑別

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



葉緑体 254 bp →
クワズイモ 219 bp →

PCR産物のアガロースゲル電気泳動

- Lane 2, 3 : 喫食味噌汁
- Lane 4, 5 : 味噌汁具材に使用した茎
- Lane 6, 7 : クワズイモ
- Lane 8, 9 : はすがら
- Lane 10, 11 : サトイモ
- Lane 12, 13 : 滅菌水

クワズイモ検出用プライマー
Lane 2, 4, 6, 8, 10, 12

葉緑体検出用プライマー
Lane 3, 5, 7, 9, 11, 13

まとめ

分析法	特徴
イオンクロマトグラフィー分析 (シュウ酸カルシウム濃度)	物質の特定ができる。 クワズイモとはすがらの濃度差はない。 時間がかかる(約12時間)。
葉柄の顕微鏡観察 (シュウ酸カルシウム結晶)	クワズイモははすがらに比べ 束晶細胞が多い。 植物組織が必要。 短時間分析(約30分)
PCR	クワズイモの植物種を鑑別。 加熱、加工食品、微量の検体で 検査可能。 短時間分析(約3時間)

クワズイモ食中毒発生時の分析

検体搬入

分析法

① 顕微鏡観察

針状結晶の確認
検体量: 5 mm角

30分

結果

針状結晶が病因
である。

② PCR

植物種鑑定
検体量: 2 mm角

3時間

検体はクワズイモ
である。

③ イオンクロマトグラフィー、ICP

シュウ酸カルシウムの同定、定量
検体量: 10 g程度

12時間

針状結晶はシュウ酸
カルシウムである。

速報