

腐敗甘薯中毒事例におけるサツマイモからの イポメアマロンの検出

石井択径¹⁾ 別府 成¹⁾ 中西あゆみ²⁾ 森木 啓¹⁾
安田 研¹⁾ 田原則雄¹⁾ 山中典子^{3)†}

- 1) 鹿児島県鹿児島中央家畜保健衛生所 (〒899-2201 日置市東市来町湯田1678)
2) 鹿児島県始良家畜保健衛生所 (〒899-5241 始良市加治木町木田1641-1)
3) ㈱農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所 (〒305-0856 つくば市観音台3-1-5)

(2011年9月15日受付・2011年12月27日受理)

要 約

繁殖雌牛200頭を飼養する黒毛和種牛繁殖農場で、腐敗したサツマイモを給与された妊娠牛45頭中30頭が呼吸器症状と下痢を呈し、2頭が死亡した。死亡牛は、肉眼的に肺のうっ血と水腫、間質の肥厚、肝臓表面の出血斑が、組織学的に肺血管周囲のリンパ球集簇が認められた。また、発症牛の血清検査成績から、肝機能低下が示唆された。死亡牛の主要臓器から有意な細菌及びウイルスは検出されなかった。給与されたサツマイモからは、*Fusarium*属菌様の菌糸と胞子が検出された。また、サツマイモ抽出物の薄層クロマトグラフィーにより、イポメアマロンが検出された。以上のことから本症例については腐敗甘薯中毒が強く疑われた。薄層クロマトグラフィーは、特殊な測定機器が不要であり、腐敗甘薯中毒の迅速な診断に有用であると考えられた。

—キーワード：イポメアマロン，中毒，薄層クロマトグラフィー。

----- 日獣会誌 65, 355～359 (2012)

サツマイモ (*Ipomoea batatas*) は、甘薯黒斑病菌 (*Ceratocystis fimbriata*) や *Fusarium solani* などの真菌による感染や、害虫や物理・化学的刺激による傷害によってストレスを受けると、ファイトアレキシンと呼ばれる生理活性物質を生成する [1-8]。サツマイモの産生するファイトアレキシンには、肝臓毒性を示すイポメアマロン [2, 6] や呼吸器症状を引き起こす4-イポメアノール [1, 2, 7, 8] などが知られており、家畜がこれらを摂取することで中毒が発生する [1, 2, 8]。中毒の診断上、毒物の検出が重要であるが、サツマイモ生成ファイトアレキシンの標準物質は入手困難であり、国内の腐敗甘薯中毒 (又は疑い) 事例において、給与したサツマイモからファイトアレキシンが検出されたという報告は見当たらない。今回、腐敗甘薯中毒が疑われた事例において、給与したサツマイモからイポメアマロンが検出され、実施した検出法が中毒の迅速診断に有用であると考えられたため報告する。

発 生 概 要

繁殖雌牛200頭、子牛120頭を飼養する黒毛和種牛繁殖農場において、購入した家畜飼料用サツマイモカットくずを給与されていた妊娠牛が呼吸器症状、下痢、発疹を呈し、2頭が死亡する事例が発生した。2010年10月7日に、妊娠牛群45頭中20頭が、鼻汁、呼吸速拍、泡沫性流涎、水様性下痢、食欲不振、沈うつを呈し、1頭が死亡した。翌8日には、同群の別の10頭が、前日発症した牛の症状に加えて、外陰部の腫脹及び充血、粘液漏出を呈し、大腿部内側の親指大発疹や眼粘膜充血を呈する牛も認められた。9日には新たに1頭が死亡した。サツマイモの給与を中止し、放牧区を変更したところ、以後死亡はなく、死亡牛2頭を除く発症牛はすべて食欲が回復し、同年10月下旬には治癒した。妊娠牛群以外の繁殖雌牛に発症は認められなかった。未受胎の繁殖雌牛の飼養形態は、1日2～4時間の昼間放牧と舎飼いであ

† 連絡責任者：山中典子 (㈱農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所病態研究領域)

〒305-0856 つくば市観音台3-1-5 ☎029-838-7823 FAX 029-838-7825 E-mail : yamamaya@affrc.go.jp

表1 発症期及び回復期の血清生化学検査成績

発症牛 No.	AST*(U/l)		γ -GTP**(U/l)		CK*(U/l)		TP**(g/dl)		A/G		BUN*(mg/dl)		Cre(mg/dl)	
	pre ¹⁾	post ²⁾	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
1	175	59	25	17	1484	74	9.8	6.8	0.81	0.89	32.1	11.5	2.29	1.13
2	96	54	17	14	600	87	7.8	7.0	1.05	1.06	11.8	9.0	1.18	1.17
3	61	54	18	19	251	151	8.1	8.5	0.72	0.63	15.4	7.0	1.47	0.87
4	93	46	20	20	368	55	7.2	7.1	1.06	0.97	13.8	6.7	1.50	1.37
5	103	70	34	29	842	96	7.3	6.6	0.92	1.00	14.0	10.7	1.10	1.12
6	99	63	20	20	492	87	7.7	7.4	0.88	0.90	17.9	13.6	1.13	1.21
7	114	53	39	33	1741	97	7.8	7.1	0.95	0.97	12.8	8.8	1.12	1.26
8	80	47	23	18	920	77	8.9	7.5	0.85	0.83	24.1	7.5	1.64	1.16
9	78	65	23	22	920	90	7.8	7.9	0.95	0.93	10.5	8.9	0.76	0.97
10	118	61	22	18	1135	143	7.2	7.1	0.85	0.87	15.6	10.3	1.01	1.14
平均	102	57	24	21	875	96	8.0	7.3	0.90	0.90	16.8	9.4	1.32	1.14

* 発症期測定値が、回復期に比べて有意に高い項目 ($P<0.01$)

** 発症期測定値が、回復期に比べて有意に高い項目 ($P<0.05$)

1) pre: 発症期 2) post: 回復期



図1 発症時に給与されていたサツマイモ

り、妊娠牛群は、夜間も屋外の給餌・運動場で飼養されていた。繁殖雌牛は、イタリアンライグラス、野草、ソルゴーの各乾草と米ヌカを混合した自家製TMRを1日1頭あたりおよそ4kg給与されていた。また、放牧区の生草はイタリアンライグラスであった。2010年9月上旬から、サツマイモカットくずを毎日300kg購入し、1日間天日乾燥させた後、TMRに加えて各頭1.5kg給与していた。妊娠牛群のいた放牧区は、有毒植物は認められなかったが、他の放牧区に比べて草量が少なかった。発症以前に給与されていたサツマイモは、外見や臭気に異常が認められなかったが、発症時給与していたサツマイモ(図1)は、表面と表層に近い実質の一部が黒褐色に変色し、全体が湿潤して強い発酵臭を放っていた。

材料及び方法

10月9日に死亡した牛(死亡牛)について病理解剖を実施し、大脳、脊髄、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、腸間膜リンパ節の各臓器を用いて病理組織学的検査と、細

菌学的検査として、5%綿羊血液加トリプチックソイ寒天培地とDHL寒天培地を用いた好気培養、チョコレート寒天培地を用いた微好気培養、5%綿羊血液加GAM寒天培地を用いた嫌気培養を実施した。ウイルス学的検査は、肺乳剤を用いて、牛RSウイルス(BRSV)、牛コロナウイルス(BCV)、牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルス(BVDV)について、それぞれOberstら[9]、Tsunemitsuら[10]及びVilcekら[11]の報告にあるプライマーを用いて、RT-PCRを実施した。妊娠2~9カ月齢の発症牛10頭(No.1~10)について、10月9日(発症期)と10月27日(回復期)の2回採血し、血清生化学検査(表1)を実施した。一般生化学的検査項目について、生化学自動分析装置(日立自動分析装置7070、(株)日立ハイテクノロジーズ、東京)を用いて測定した。血清フィロエリスリン定性[12]のため、血清を励起波長425nmで蛍光スキャンし、ピークの有無を確認した。血清生化学検査測定値の発症期と回復期の差について、ウィルコクソンの符号付順位と検定を実施した。妊娠牛群が飼養されていた放牧区と転牧後牧区の生草中の硝酸態窒素濃度を、反射式光度計(RQフレックスプラス、メルク株、東京)を用いて測定した。発症時に給与されていたサツマイモは、変色した部分を用いてサブロー寒天培地で培養後、スライド培養法にて真菌形態を観察した。また、サツマイモの断面にEhrlich試薬(1%*p*-dimethylaminobenzaldehyde(DABA)の10%塩酸エタノール溶液)又は9%塩化鉄(III)水溶液を滴下し、呈色反応を観察した。サツマイモからのイボメアマロン検出は、Akazawa[13]、Catalanoら[14]及び島ら[4]の方法に準じて実施した。高性能薄層クロマトグラフィー法(HPTLC)用の試料を調整(図2)し、HPTLCは、薄層板としてシリカゲル60ガラスプレート(HPTLC-glassplate Silicagel 60 10×10cm, Merck,

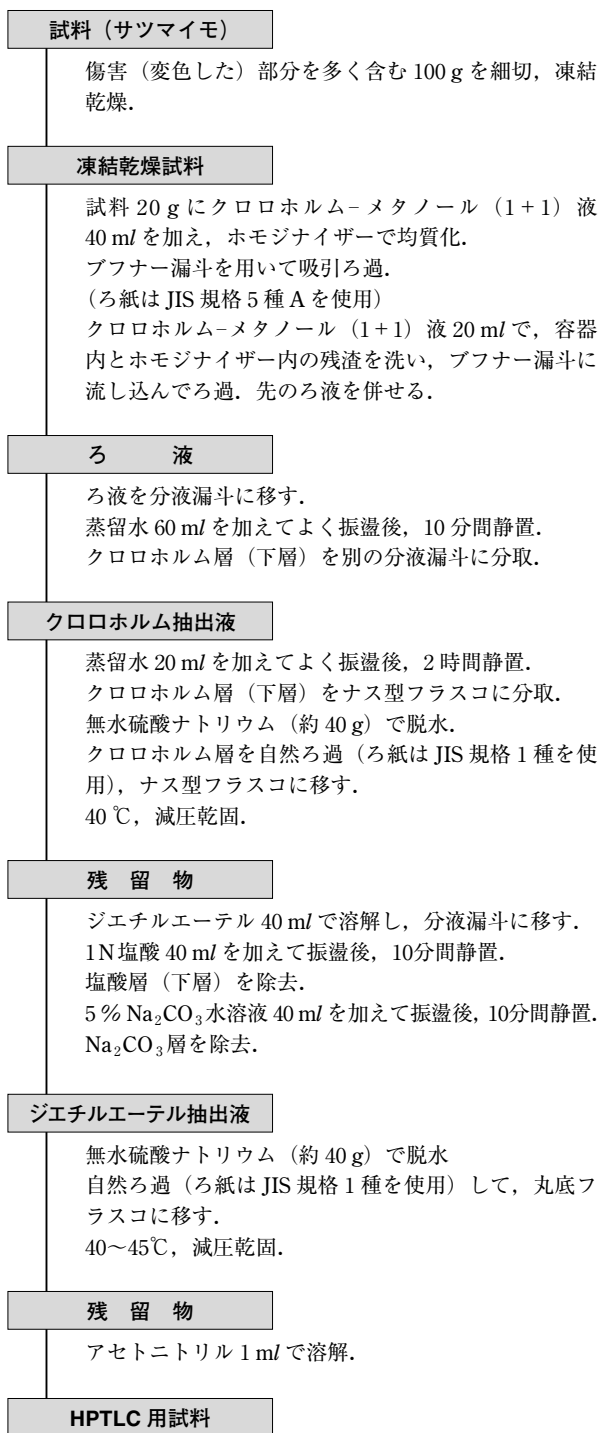


図2 サツマイモ中イボメアマロン定性のための試料調整法

Germany) を, 展開溶媒としてヘキサン-酢酸エチル (8+2) を, 発色試薬として Ehrlich 試薬 (5% DABA, 塩酸-エタノール (1+1) 溶液) を用いて飽和法で実施した. 発色した薄層板上スポットについて, 鹿児島大学農学部から供与されたイボメアマロン精製品 [4] とサツマイモからの抽出物との R_f 値及び色調を比較した.

成 績

死亡牛の解剖所見として, 肺全葉にわたるうっ血と水

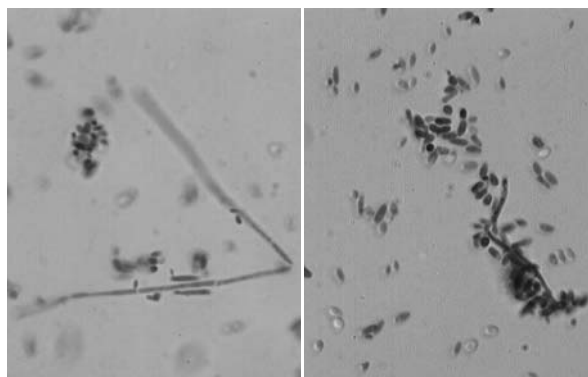


図3 給与サツマイモから分離された *Fusarium* 属様菌糸及び胞子

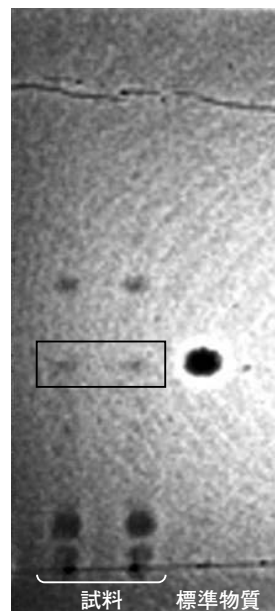


図4 HPTLC によるイボメアマロン定性

腫及び間質の肥厚, 肝臓表面の出血斑, 心外膜と心耳の出血が認められた. 病理組織学的検査では, 肺の充血と血管周囲のリンパ球集簇, 肝臓の充血が認められた. 細菌学的検査で有意菌は分離されなかった. 肺乳剤の RT-PCR で, BRSV, BCV, BVDV は検出されなかった. 発症牛の発症期における血清生化学的検査 (表 1) では, AST 及び CK の各測定値平均が 102U/l 及び 875U/l と高く, γ -GTP が軽度上昇していた. また, AST, γ -GTP, CK, TP, BUN の各測定値が回復期と比べて有意に高かった (AST・CK・BUN: $P < 0.01$, γ -GTP・TP: $P < 0.05$). 発症牛 10 頭の血清フィロエリスリン定性試験では, 発症期の全頭で標準物質と同一の蛍光波長を有する小ピークが認められ, 回復期では 1 頭を除いてピークは消失していた. 生草の硝酸態窒素濃度は, 放牧区と転牧後牧区ともに, 原物中濃度として 57mg/kg 未満であった. サツマイモの真菌培養では,

Fusarium 属菌様の菌糸と孢子 (図3) が認められた。サツマイモ断面の呈色反応では、Ehrlich 試薬によって表層の一部が赤く、9%塩化鉄 (Ⅲ) 水溶液により実質が一様に緑色を呈した。HPTLC によるイポメアマロンの検出では、標準物質と同じ相対移動距離 (R_f 値 = 0.43-0.45) に淡桃橙色～淡赤紫色を呈するスポットが確認 (図4) された。

考 察

発生概況と検査成績から、感染症の可能性は低く、発症時に給与されたサツマイモが含有していたイポメアマロンによって、死亡牛の肝臓出血及び発症牛の肝機能障害が引き起こされたと考えられた。また、妊娠牛群の呼吸器症状及び死亡牛の肺病変は、今回検査していないが、腐敗サツマイモの4-イポメアノールなどイポメアマロン以外のファイトアレキシンによるものと考えられた。以上から、腐敗甘薯中毒が強く疑われた。

妊娠牛群で認められた外陰部腫脹、眼粘膜充血及び発疹については、放牧区で生草を採食していたこと、肝機能障害が認められたこと、さらに発症前後のフィロエリスリンの消長から肝性光線過敏症の関与が疑われた。牛の肝性光線過敏症は、淡色及び有色皮膚のどちらでも報告されており [15]、今回黒毛和種において軽度の症状を見たものと考えられる。外陰部からの粘液漏出の原因については、エストロゲンを測定していないため、発情徴候であったかは不明であった。

サツマイモにファイトアレキシンが生成された原因として、*Fusarium* 属菌の関与 [2] が示唆された。発症の原因と思われるサツマイモが、農場の繁殖雌牛全頭に給与されていたにも関わらず、妊娠牛群だけが発症した原因として、放牧区の草量不足により当該牛群でサツマイモ摂取量が多くなった可能性や妊娠による肝機能の潜在的低下などの影響が考えられたが、特定できなかった。

サツマイモが Ehrlich 試薬によって赤く呈色したことから、フラノテルペン類ファイトアレキシン [3, 4] の存在が示唆されたが、腐敗サツマイモ中には、イポメアマロン以外にも Ehrlich 試薬によって呈色する物質が含まれている [13]。そこで、抽出操作をおこない、HPTLC によってイポメアマロンを証明した。さらに、9%塩化鉄 (Ⅲ) 水溶液による呈色反応から、傷害されたサツマイモの代表的生成物であるポリフェノール [4] の存在が示唆された。

サツマイモに生成されるファイトアレキシンの検出法として、イポメアマロンについては薄層クロマトグラフィー法 [4-6, 13] やガスクロマトグラフィー (GC) 法 [4, 5, 14] が、4-イポメアノールについては、GC 法 [7] が報告されているが、いずれの方法においても標準物質

が必要である。イポメアマロン標準品は、国内では市販されていないが、サツマイモの品質に関する研究 [4, 5] をおこなっている鹿児島大学農学部より恵与していただいた精製品を標準物質として使用した。また、今回実施したイポメアマロンの HPTLC は、特殊な測定機器を使用せずにサツマイモ中のファイトアレキシンの存在を証明できるため、腐敗甘薯中毒の迅速な診断に有用であると考えられた。なお、薄層板上のイポメアマロンは、Ehrlich 試薬噴霧後、乾燥すると褪色するため、発色直後から注意深く観察する必要がある。

イポメアマロン精製品を供与くださった国立大学法人鹿児島大学農学部生物資源化学科生命機能科学講座の菅沼俊彦先生に深謝する。

引用文献

- [1] Beier RC, Nigg HN : Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas*), Foodborne disease handbook, Hui YH, et al eds, 2nd ed, 118-122, Marcel Dekker, Inc., New York (2001)
- [2] Woolfe JA : Toxic and anti-nutritional factors, Sweet Potato an untapped food resource, 188-218, Cambridge University Press, Cambridge (1992)
- [3] 鈴木直治, 瓜谷郁三 : 甘薯褐変組織内及び周辺に現れるエールリヒ氏アルデヒド試薬による反応陽性成分について, 日本植物病理学会報, 16, 54-56 (1952)
- [4] 島 佳久, 永浜伴紀, 菅沼俊彦, 北原兼文 : サツマイモの傷害と保存条件による品質変化, 特にイポメアマロンの生成, 熱帯農業, 40, 204-212 (1996)
- [5] 島 佳久, 永浜伴紀, 菅沼俊彦, 北原兼文 : 機械的傷害によるサツマイモの内生フラノテルペン誘導因子の検索, 日本農芸化学会誌, 71, 1265-1272 (1997)
- [6] Akazawa T, Wada K : Analytical study of ipomeamarone & chlorogenic acid alterations in sweet potato roots infected by *Ceratocystis fimbriata*, Plant Physiol, 36, 139-144 (1961)
- [7] Boyd MR, Wilson BJ : Isolation and characterization of 4-ipomeanol, a lung-toxic furanoterpenoid produced by sweet potatoes (*Ipomoea batatas*), J Agric. Food Chem, 20, 428-430 (1972)
- [8] Doster AR, Mitchell FE, Farrell RL, Wilson BJ : Effects of 4-ipomeanol, a product from mold-damaged sweet potatoes, on the bovine lung, Vet Pathol, 15, 367-375 (1978)
- [9] Oberst RD, Hays MP, Hennessy KJ, Stine LC, Evermann JF, Kelling CL : Identifying bovine respiratory syncytial virus by reverse transcription-polymerase chain reaction and oligonucleotide hybridizations, J Clin Microbiol, 31, 1237-1240 (1993)
- [10] Tsunemitsu H, Smith DR, Saif LJ : Experimental inoculation of adult dairy cows with bovine coronavirus and detection of coronavirus in feces by RT-PCR, Arch Virol, 144, 167-175 (1999)
- [11] Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ : Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three

- genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, Arch Virol, 136, 309-323 (1994)
- [12] Scheie E, Ryste EV, Flaoyen A : Measurement of phylloerythrin (phytoporphyrin) in plasma or serum and skin from sheep photosensitised after ingestion of *Nartheceium ossifragum*, New Zeal Vet J, 51, 99-103 (2003)
- [13] Akazawa T : Chromatographic isolation of pure ipomeamarone and reinvestigation on its chemical properties, Arch Biochem Biophys, 90, 82-89 (1960)
- [14] Catalano EA, Hasling VC, Dupuy HP, Constantin RJ : Ipomeamarone in blemished and diseased sweet potatoes (*Ipomoea batatas*), J Agr Food Chem, 25, 94-96 (1976)
- [15] Glenn BL, Monlux AW, Panciera RJ : A hepatogenous photosensitivity disease of cattle, Vet pathol, 1, 469-484 (1964)

Detection of Ipomeamarone in Feed Sweet Potatoes on the Poisoning by Moldy Sweet Potatoes

Takumichi ISHII*, Akira BEPPU, Ayumi NAKANISHI, Hiraku MORIKI, Ken YASUDA, Norio TABARA and Noriko YAMANAKA†

* Kagoshima Central Livestock Hygiene Service Center, 1678 Yuda, Higashiichiki, Hioki, 899-2201, Japan

SUMMARY

A herd of 200 Japanese black breeding cows were fed moldy sweet potatoes. Among the herd, 30 of 45 pregnant cows showed respiratory syndrome and diarrhea, and 2 of them died. Necropsy of the dead cow revealed the presence of pulmonary grossly lesions, congestive edema, and the presence of liver ecchymosis. Microscopic observation showed pulmonary perivascular cuffing of lymphocytes. Blood biochemical data showed signs of liver dysfunction. No significant bacterium or virus was detected in the principal organs. *Fusarium* spp. -like hyphae and spores were observed in the culture media of the sweet potato sample. Ipomeamarone was detected in an extract of the sweet potato by thin layer chromatography (TLC). These observations strongly suggested that this case was caused by moldy sweet potato. TLC method is useful for quick diagnosis of moldy sweet potato poisoning without any special measuring instruments.

—Key words : ipomeamarone, poisoning, thin layer chromatography.

† Correspondence to : Noriko YAMANAKA (National Institute of Animal Health)

3-1-5 Kannondai, Tsukuba, 305-0856, Japan

TEL 029-838-7823 FAX 029-838-7825 E-mail : yamamaya@affrc.go.jp

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 65, 355 ~ 359 (2012)