

2011/12 年インフルエンザシーズンにおける河川中のタミフルおよびタミフル代謝物濃度について

大阪産業大学工学部 正会員 ○高浪 龍平、谷口 省吾、林 新太郎、尾崎 博明

1 はじめに

近年、環境水中から医薬品類および身体ケア製品由来物質（PPCPs）が検出されており、抗生物質や抗ウイルス剤に関しては環境中に残留することによる耐性菌の発生が懸念されている。インフルエンザに代表される流行性疾患に対する治療薬は、流行時において大量に使用される特徴があるため、それらの環境中挙動を把握することが重要である。

本研究では、昨年に引き続き大阪府東部における河川中の抗インフルエンザウイルス薬濃度について調査を実施し、Oseltamivir Phosphate（医薬品名タミフル、以下、OP）および OP の代謝物である Oseltamivir Carboxylate（以下、OC）の調査結果について 2010/11 年インフルエンザシーズンと比較し検討を行った。

2 調査および分析方法

2.1 調査方法

試料の採水は 2011 年 11 月 4 日、12 月 6 日、2012 年 1 月 10 日、1 月 27 日、2 月 10 日および 2 月 22 日に実施し、寝屋川上流部の地点（住道大橋）にて採水を行った。

2.2 分析方法

試料 100ml をガラス繊維ろ紙（GF/F）を用いてろ過し、ろ過残渣はメタノールを用いて超音波抽出した。これをろ液と混合し、アスコルビン酸で pH3.5 に調整した。標準添加法および内部標準法による測定のため、調整後の試料に適宜 OP、OC の標準物質およびラベリ化体物質（OP-d₃、OC-d₃）を添加後、固相抽出を行った。固相は Oasis MCX（充填剤量 500mg）を用い、メタノールおよび 1%酢酸含有精製水でコンディショニングを行った後、試料を 1ml/min の流速で通水した。通水後、1%酢酸含有精製水およびメタノールで固相を洗浄し、16%アンモニア水含有メタノール溶液で溶出した。溶出液は 40℃加熱、窒素気流下で 0.5ml まで濃縮し、メタノールで 1ml に定容した。

分析は LC/MS/MS を用いた。LC は Waters 製 ACQUITY UPLC を用い、分析カラムは Waters 製 ACQUITY UPLC BEH HILIC（2.1×100mm、1.7μm）を用いた。表 1 に示す条件で分析し、移動相はアセトニトリルの割合が 95%から 50%になるようにグラジエントさせた。流量は 0.7ml/min でカラムオーブンの温度は 30℃とした。MS/MS は Waters 製 ACQUITY TQD を用い、ESI+モードにてイオン化させ MRM モードにて測定を行った。MS/MS の分析条件および検出限界、定量限界を表 2 に示す。

表 1 LC の分析条件

注入量	1.0 μl			
移動相	(A) 10mM 酢酸アンモニウム +5%アセトニトリル水溶液			
	(B) 10mM 酢酸アンモニウム +95%アセトニトリル水溶液			
移動相 条件	Time (min)	Flow Rate (ml/min)	A (%)	B (%)
	0	0.7	0	100
	0.5	0.7	0	100
	4.5	0.7	20	80
	5.5	0.7	50	50

表 2 MS/MS の分析条件および
検出限界・定量限界

イオン化法		ESI positive
測定方法		MRM
モニター イオン (M/Z)	OP	313.14 > 225.14
	OP-d ₃	316.14 > 228.14
	OC	285.10 > 197.10
	OC-d ₃	288.10 > 200.10
検出限界 (ng/l)	OP	0.75
	OC	7.5
定量限界 (ng/l)	OP	2.5
	OC	25.0

キーワード タミフル、タミフル代謝物、インフルエンザ、寝屋川、耐性菌、PPCPs

連絡先 〒574-8530 大阪府大東市中垣内 3-1-1 TEL 072-875-3001 E-mail r-nami@cnt.osaka-sandai.ac.jp

3 測定結果および考察

2011年11月4日、12月6日に採水した試料からはOPおよびOCが検出されなかった。OPおよびOCが検出された2012年1月10日、1月27日、2月10日および2月22日の測定濃度およびラベル化体の平均回収率を表3に示す。2012年2月10日の試料においてOPおよびOC濃度が最も高く、それぞれ170ng/l、475ng/lであった。また、OP-d₃およびOC-d₃の平均回収率はそれぞれ79.7%、72.3%と高い回収率が得られ、十分な測定を行うことができた。

図1、図2は2010/11年および2011/12年インフルエンザシーズンにおけるOPおよびOC濃度と大阪府下で発生したインフルエンザ患者数を示したものである。インフルエンザは両シーズンともに第4週（1月末）ごろを中心に流行しており、今シーズンは昨シーズンに比べ患者数が2倍程度多く、大流行していた。なお、今シーズンにおける大阪府下の患者数は過去10年で最も多く、新型インフルエンザ流行時よりも多かった。OPおよびOC濃度の推移は、両シーズンともに患者数の推移に3週間程度遅れ、ほぼ同様の挙動を示した。OPおよびOC濃度は、患者数が2倍となった今シーズンにおいても昨シーズンと同程度となり、大きな差はみられなかった。この原因として、タミフル以外のインフルエンザの治療薬（リレンザ・イナビル）が多く使用されるようになり、今シーズンにおいてタミフルの使用割合が低下したため、OPおよびOCの濃度が昨シーズンと同程度になったと推測される。

以上より、寝屋川において昨シーズンと同様に抗インフルエンザウイルス薬のOPおよびOCが検出された。OPおよびOC濃度は、シーズン中において患者数の推移と同様の挙動を示したが、シーズン別では今シーズンにおいて、患者数の増大による濃度の増加がみられなかった。このことより、インフルエンザ治療薬の使用においては多様化が進んでおり、耐性菌発生等のリスクは低くなりつつあるといえる。

【資料提供】 1) 大阪府感染症情報センター：感染症発生動向調査報告

なお、本研究の一部は文部科学省私立大学学術研究高度化推進事業「産学連携推進事業」（平成19年度～平成23年度）の一環として行ったものである。

表3 OPおよびOCの測定濃度、平均回収率

	OP	OC
1月10日測定濃度 (ng/l)	N. D.	45
1月27日測定濃度 (ng/l)	55	179
2月10日測定濃度 (ng/l)	170	475
2月22日測定濃度 (ng/l)	109	275
平均回収率 (%)	79.7	72.3

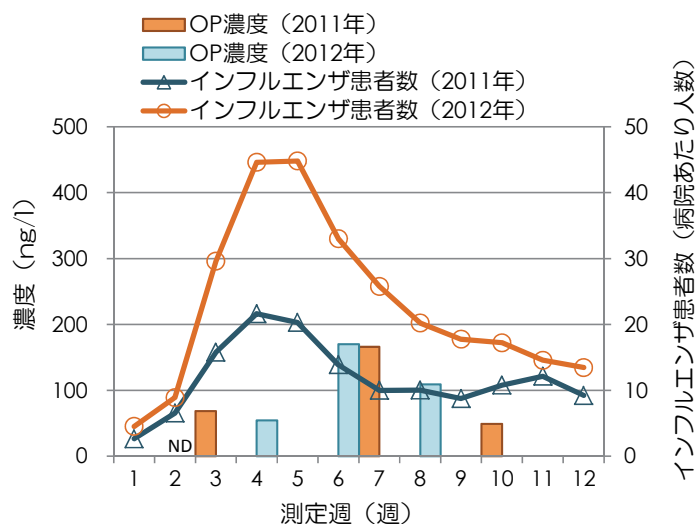


図1 2010/11年および2011/12年インフルエンザシーズンにおけるOP濃度と大阪府のインフルエンザ患者発生数¹⁾

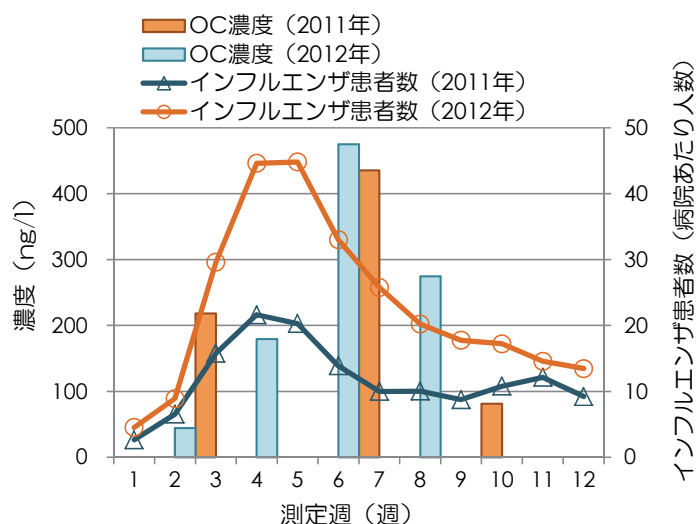


図2 2010/11年および2011/12年インフルエンザシーズンにおけるOC濃度と大阪府のインフルエンザ患者発生数¹⁾