

2012/13 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の物質（PPCPs）が検出されており、これらの挙動を把握することが求められている。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り、これらが一時的に高濃度で環境中に存在する場合に耐性ウイルスの発生が危惧される。

本研究では、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、2011/12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2013年1月10日、1月30日、2月12日、2月26日および3月18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300ml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。抽出液とろ液を混合し、アスコルビン酸でpH3.5に調整した。これを100mlずつ分注し、3つの同一試料を用いた標準添加法による測定を行った。このため各試料に適宜OP、OCの標準物質およびラベル化体物質（OP-d₃、OC-d₃）を添加後、図1に示す固相抽出を行った。固相はOasis MCX（充填剤量500mg）を用いた。固相をメタノールでコンディショニングし、1%酢酸含有精製水で平衡化を行った後、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。試料を1μl注入し、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モードで測定を行った。MS/MSの分析条件および検出限界を表1に示す。

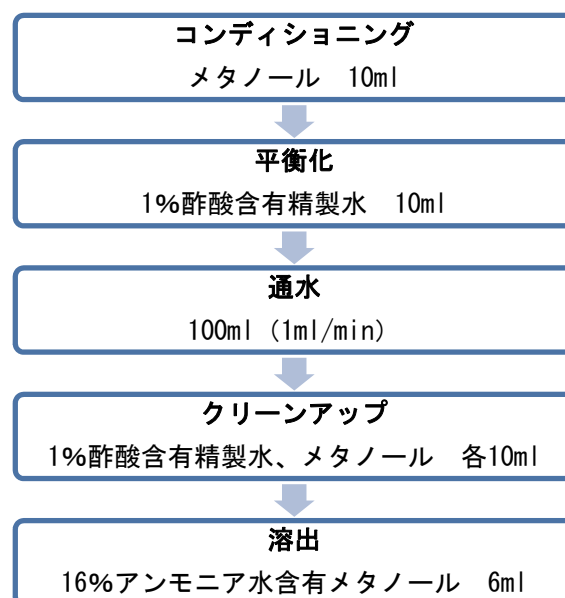


図1 固相抽出方法

表1 MS/MSの分析条件および検出限界

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

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、耐性ウイルス、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

測定により得られた値は添加したラベル化体による補正を行った後、標準添加法により濃度を算出した。OP および OC 濃度、OC/OP 比とラベル化体の平均回収率を表 2 に示す。2013 年 1 月 10 日の試料において OP が検出下限値以下であったが、それ以外では OP および OC が検出された。OP および OC の濃度は最高で 167ng/l および 299ng/l であった。また、ラベル化体の平均回収率はそれぞれ 96.2%、93.1%と高い回収が得られた。

図 2、図 3 は、2012/13 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 濃度と大阪府下全域のインフルエンザ流行指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 5 週（1 月末）ごろを中心に流行しており、今シーズンは大阪府下において過去 10 年で最も流行した昨シーズンに比べ、インフルエンザ流行指数は半分程度であった。

OP および OC 濃度の時間的変化は、両シーズンともに山型の推移を示した。この推移はインフルエンザ流行指数の時間的変化と一致せず、数週間遅れた推移となった。OP の濃度は、今シーズンと昨シーズンに大きな差はみられず、2 倍程度の差となった流行指数との関連がみられなかった。これは、OP および OC 濃度比 (OC/OP 比、すべてのタミフルが服用された場合の理論値は 3.8) が 2013 年 2 月 12 日と 2 月 26 日において低く、下水処理過程における吸脱着や服用しなかったタミフルの下水への廃棄等により OP のみが異常に高くなったことが原因と推測される。

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 濃度の時間的変化は、シーズン中の流行指数の時間的変化に少し遅れるものの同様の推移を示した。一方、シーズン別の OP 濃度と流行指数においては関連が見られなかった。また、昨シーズンに比べ今シーズンは OC 濃度が低く、タミフル耐性ウイルスの発生リスクは低かったものと考えられる。

【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戦略的研究基盤形成事業（平成 24 年度～平成 28 年度）の一環として行ったものである。

表 2 OP および OC 濃度、OC/OP 比と平均回収率

採水日 (2013 年)	OP 濃度 (ng/l)	OC 濃度 (ng/l)	OC/OP 比
1 月 10 日	N. D.	68	—
1 月 30 日	52	161	3.1
2 月 12 日	167	299	1.8
2 月 26 日	150	262	1.7
3 月 18 日	43	115	2.7
平均回収率 (%)	96.2	93.1	

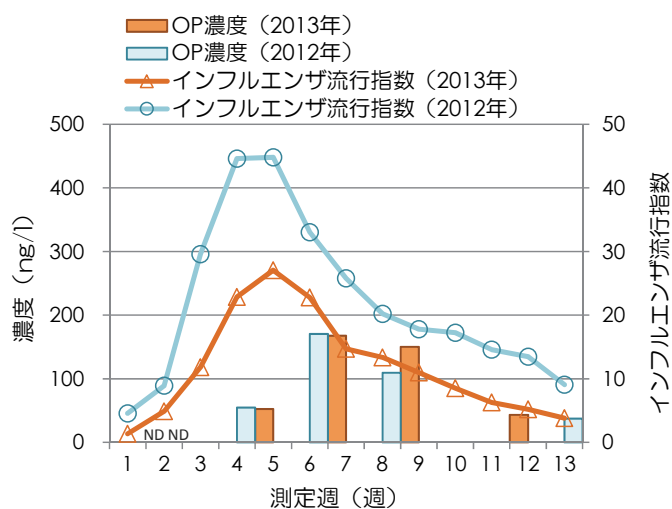


図 2 2012/13 年および 2011/12 年インフルエンザシーズンにおける OP 濃度とインフルエンザ流行指数¹⁾

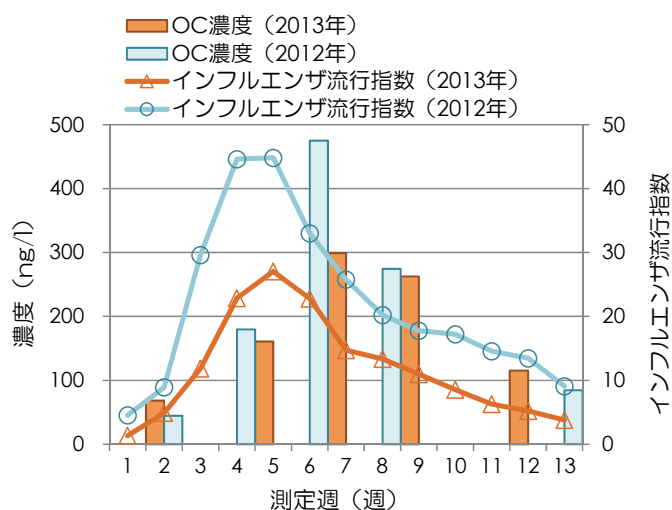


図 3 2012/13 年および 2011/12 年インフルエンザシーズンにおける OC 濃度とインフルエンザ流行指数¹⁾