

2015/16 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

大阪産業大学人間環境学部 正会員 ○高浪 龍平

大阪産業大学工学部 正会員 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存在することによって生じる薬剤耐性化の助長が懸念されている。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、大阪府東部における河川水中の抗インフルエンザウイルス薬濃度について、引き続き調査を実施し、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、2014/15 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

試料は表 3 に示す 2016 年 1 月から 3 月において、寝屋川の住道大橋で採取したグラブサンプルを用いた。また、大阪府下のインフルエンザ流行指数は大阪府感染症情報センター¹⁾から情報を得た。

2.2 分析方法

試料 400ml をガラス繊維ろ紙（GF/F）を用いてろ過し、ろ過残渣の超音波抽出メタノール液をろ液と混合後、アスコルビン酸で pH3 に調整した。これを 100ml ずつ分注し、4 つの同一試料について標準添加法による測定を行った。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、固相抽出を行った。固相は Oasis MCX plus を 2 個直列に接続したもの（充填剤総量 450mg）を用いた。固相をメタノール 10ml でコンディショニングし、2%ギ酸含有精製水 10ml 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、2%ギ酸含有精製水 10ml およびメタノール 10ml で固相を洗浄し、5%アンモニア水含有メタノール水溶液 3ml（体積比 1:1）および 5%アンモニア水含有メタノール溶液 3ml で溶出した。溶出の際、固相を逆転し逆方向へ送液し溶出した。溶出液は 40℃に加熱し、窒素気流下で 0.5ml まで濃縮後、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 CORTECS UPLC HILIC（2.1×100mm、1.6 μm）を用いた。MS/MS は Waters 製 ACQUITY TQD を用い、ESI+モードによりイオン化し、

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、薬剤耐性化、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.due@ge.osaka-sandai.ac.jp

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	0.5	0	100
	0.5	0.5	0	100
	3.5	0.5	30	70
	6.5	0.5	30	70

表 2 MS/MS の分析条件および検出限界・定量下限

イオン化法		ESI positive
測定方法		MRM
モニター イオン (M/Z)	OP	313.1 > 225.1
	OP-d ₃	316.1 > 228.1
	OC	285.1 > 197.1
	OC-d ₃	288.1 > 200.1
検出限界 (ng/l)	OP	0.75
	OC	7.5
定量下限 (ng/l)	OP	2.5
	OC	25.0

MRM モードで測定を行った。それぞれの分析条件を表1、表2に示す。

3 測定結果および考察

測定により得られた値は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。なお、ラベル化体の平均回収率はそれぞれ 106%、102%と高い回収が得られた。

表3は、2015/16年シーズンにおけるOPおよびOC濃度とOC/OP比を示している。2016年1月5日および22日を除くすべての試料からOPおよびOCが検出され、それぞれの濃度は最高で289ng/lおよび585ng/lであった。なお、OPおよびOC濃度は過去5シーズンで最も高濃度であった。OC/OP比の値は2前後であった。体外に排出されるOC/OP比の値は4程度²⁾であるため、服用しなかったタミフルの下水への廃棄や下水処理過程における汚泥への吸脱着等によりOP濃度が高くなったと推測される。図1、図2は、2015/16年および2014/15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ている。今シーズンにおけるインフルエンザの流行は過去5シーズンで2番目に大きな流行となり、第6週(2月中旬)をピークとし、例年よりも1か月以上遅れた点が特徴的であった。OPおよびOC濃度の時間的変化は、両シーズンともにインフルエンザ流行の時間的変化と比べて2週間程度の遅れがあるものの同様の推移を示した。これより、排出されたOPおよびOCは、下水処理施設において十分に処理されず環境中に放出されていることが改めて確認された。

イナビルに代表される新薬の登場によりタミフルの供給割合は減少していたものの昨シーズンより増加に転じており、この影響が今シーズンの高濃度検出をもたらしたと考えられる。このため、ウイルスの耐性化リスクを把握するためには引き続きモニタリングを実施することが重要である。

表3 2015/16年シーズンのOPおよびOC濃度とOC/OP比

採取日(週)	OP濃度 (ng/l)	OC濃度 (ng/l)	OC/OP比
1月5日(1)	N.D.	N.D.	—
1月22日(3)	N.D.	N.D.	—
2月5日(5)	118	230	1.9
2月19日(7)	223	505	2.3
3月4日(9)	289	585	2.0
3月22日(12)	125	273	2.2

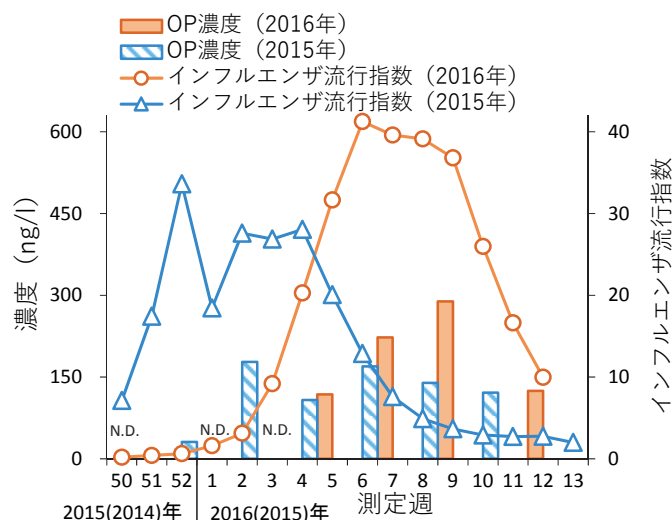


図1 2015/16年および2014/15年インフルエンザシーズンにおけるOP濃度とインフルエンザ流行指数¹⁾

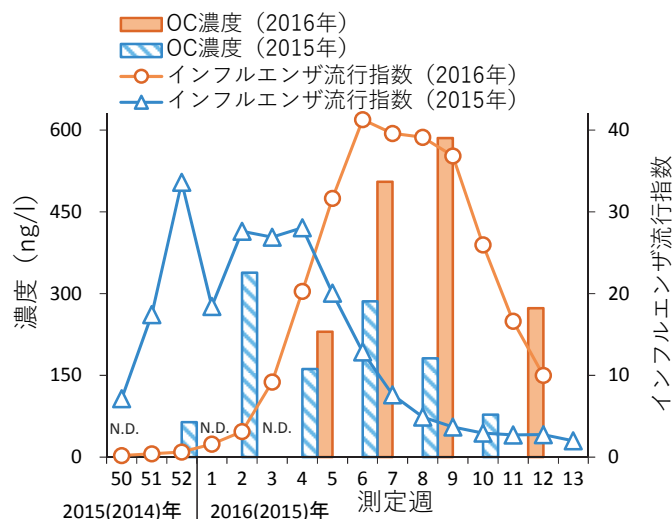


図2 2015/16年および2014/15年インフルエンザシーズンにおけるOC濃度とインフルエンザ流行指数¹⁾

【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

【参考文献】2) 中外製薬(株)：医薬品インタビューフォーム「タミフル」(改定第27版)、2015

なお、本研究はJSPS科研費15K21513および文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成事業の一環として行ったものである。