

THE CHEMICAL TIMES

2020 No.3 (通巻257号)
ISSN 0285-2446

特集

食品衛生検査の理化学分析

02 食品中残留農薬分析の概要
～知っておきたいいくつかのこと～

明治薬科大学 永山 敏廣

06 食品中に残留する動物用医薬品の規制と分析法

大妻女子大学 堀江 正一

14 カビ毒分析の最近の動向～フザリウムカビ毒の分析

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

食品研究部門 食品安全研究領域 食品化学ハザードユニット 中川 博之

トピックス

20 乱用薬物スクリーニングキット
Status DS10及びDRIVEN-FLOWの性能

東海大学医学部総合診療学系救命救急医学 斉藤 剛 他



KANTO CHEMICAL CO., INC.

食品中残留農薬分析の概要 ～知っておきたいいくつかのこと～

Some focus points for pesticide residue analysis in food

永山 敏廣 Nagayama Toshihiro (Specially Appointed Professor)

明治薬科大学 特任教授
Meiji Pharmaceutical University

キーワード … 残留農薬分析、実態調査、摂取量調査

01 はじめに

食品は多種多様な成分の集合体であり、分析に際し、夾雑物となつて妨害する。食品中残留農薬分析では、微量の農薬を膨大な量の妨害成分の中から検出しなければならない。一方、食品に残留する農薬は多種多様で、水溶性物質も脂溶性物質も、酸性物質も塩基性物質もあるなど様々な性質を有しており、ひとつの操作ですべての農薬に適切に対応することは極めて困難である。

残留農薬分析は、多くの場合、不特定の農薬を対象とする。分析途中で分解する不安定な農薬もある。一方、対象食品は多岐にわたり、夾雑物の種類も様々である。これらは食品中の残留農薬を分析するときの困難さの原因のひとつとなっている。他方、近年の分析機器の発達はめざましく、自動化が進み、優れた技術等をもたなくても、また、食品分析にGLP(Good Laboratory Practice:優良試験所規範)が導入されたことで、特に多くの基本的な知識を有しなくても、マニュアル通りに操作することで、ほとんど誤りのない結果が導き出せる。

しかし、測定対象とする農薬と極めて類似した挙動を示す夾雑物が多い。さらに、同様の性質を有する農薬も少なからずある。確実に捉えて正しく定量するためには、誤認することのないように十分な留意を払わなければならない。得られた結果値の正誤判断、評価には、確かな技術と知識なくしては正しく取り組むことは難しい。

02 残留農薬分析の目的と分析要件

食品中の残留農薬分析の目的には、実態調査、摂取量調査、農薬施用時の作物残留性試験や市販食品の法適合判断試験などがあり、それぞれに定量限界、正確さなどに適切な要件がある。

我が国では、地方公共団体等により市販食品中の残留農薬実

態調査が広く行われており、これら結果をまとめ、厚生労働省が平成6年度以降の国産品、輸入品における残留状況を公表している¹⁾。実態調査では、残留状況を正しく把握するため、より低レベルまでの正確な分析値が求められる。

摂取量調査は、地方公共団体等の独自調査の他、厚生労働省が調査を進め、平成3年度以降の状況を公表している²⁾。調理加工後の試料を分析することが多く、加熱に伴う成分変化や濃縮等により分析が難しいことも多い。正しく摂取状況を把握するためには、実態調査と同様に、より低レベルまでの正確な分析値が求められる。実際に、近年の公表結果を見ると、定量限界が調査初期に比較してより低レベルとなっており、対ADI(Acceptable Daily Intake:許容一日摂取量)比の割合が小さいところまで提示されるようになった。

農薬取締法に基づく作物残留性試験では、登録にかかわる農薬の残留濃度・減衰速度等を評価するため、対象農薬原体のみならず、その代謝生成物の正確な分析値が求められる。測定部位は、作物及び家畜等の生体中で農薬が移動する部位であれば、非可食部も分析対象となる。これらの結果を参照して食品衛生法に基づく残留基準が規定される。

食品衛生法第11条に基づく基準には、不検出基準、本基準、暫定基準及び一律基準などが設定されており、不検出基準における検出限界値は0.00005~0.1ppm、残留基準値は0.0001ppm未満~100ppm以上の範囲にわたる³⁾。また、100ppm以上の基準値が設定されている農薬であっても、基準が設定されていない食品には一律基準0.01ppmが適用される。法適合は、得られた分析値とこれら検出限界値や基準値との比較により判断されるため、法適合判断試験では、基準値付近における正確な分析値が求められる。

03

分析法の概要

「試料調製(サンプリング)」、「抽出」、「精製」、「測定(定性・定量)」、「確認」、「結果の確定」から構成される。

試料調製は、通常「対象全体を代表する検体を採取するように努めること」とされる。このとき、分析部位は目的により決定される。実態調査及び摂取量調査では調査対象部位、作物残留試験では当該作物の可食部及び施用農薬の移行先など⁴⁾、法適合判断試験では法で規定された部位⁵⁾である。なお、この法にかかわる試験では、最近、りんごの分析部位が花落ちや芯を含む全果に改正された(平成30年2月28日厚生労働省告示第38号)。また、カカオ豆が外皮を除去したものに(平成30年9月21日薬生食基発0921第3号)、みかんが果実全体、びわ、もも、すいか、メロン類果実及びびまわうりが果梗を除く全果に(2018年12月26日厚生労働省 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会議事録資料10「農産物の検体部位および基準値適用部位の見直しについて」、令和元年9月20日薬生食基発0920第6号「残留農薬等の分析に係る検体の留意事項について」)改正された。国際基準に照らし変更されるもので、基準見直し時に順次改正されるため、しばらくは外皮を含むまたは果皮等を除去したものと全果等の両方の部位が検体として混在する。

抽出は、対象物質を十分溶解し、対象食品部位全体から取り出す手法を用いることが求められる。乾いて堅い試料の場合は、水を加えて膨潤させ、抽出溶媒が中まで浸透しやすくする。固形油脂の場合は、内部からも抽出するために、当該油脂を溶解することが望まれている。また、農薬の種類によっては、揮散、酸化、酵素分解や代謝分解等を受けやすいものもあり、安定剤の添加や速やかな分析操作が必要な場合がある。揮散性が高いときなどは、ディーン・スターク蒸留装置や水蒸気蒸留装置、密閉型抽出装置が利用される。他に、夾雑物の抽出を抑える透析膜法や抽出率を向上させる高速溶媒抽出(ASE:Accelerated Solvent Extraction)法を利用する例も見られる。なお、抽出方法を変更することは、試料のパラッキの影響、抽出効率、測定対象物質の安定性等に影響を及ぼす可能性がある。試料量、抽出溶媒の種類と量、抽出操作等の変更は、分析操作中の損失を確認する添加回収試験では評価できないため、十分な注意が必要である。

精製は、分析対象以外の物質を極力取り除くことが求められる。最近広く用いられる多成分一斉分析では、多様な性質の物質を一括して対象とするため、夾雑物類似の性質を有する物質も多くあり、粗い精製となりやすい。取り残した夾雑成分は、測定時に偽検出による誤認、マトリックス効果等による定量への影響を生じさせることも多い。

測定は、確実な定性と高精度な定量が求められる。確実に目的物質であることを確認し、その物質のみを正しく定量する。特に十二分な精製が成されないときには注意する。定量性を向上させるため、内標準物質やサロゲートを利用する方法、カラムスイッチング、パーミアントラップやポストカラムの各システムを利用して測定する方法もある。かつての測定機器として、ガスク

ロマトグラフでは電子捕獲型検出器(ECD:Electron Capture Detector)、炎光光度型検出器(FPD:Flame Photometric Detector)や高感度窒素・リン検出器(NPD:Nitrogen Phosphorus Detector)、アルカリ熱イオン化検出器(FTD:Flame Thermionic Detector)など、高速液体クロマトグラフでは紫外吸収検出器(UV:Ultra Violet Detector)や蛍光検出器(FL:Fluorescence detector)などの選択性検出器を用いて測定されたが、近年はタンデム型質量分析計(MS/MS:tandem Mass Spectrometer)の利用が多い。

確認、結果の確定は、間違いなく測定対象物質を捉え、当該物質のみを正しく定量したことを確認し、結果とする。特に、自動分析により判断する際は、クロマトグラムの確認や、検量線の形状や大きさ、直線性などに異常がないか留意する。

04

分析法の現状

食品中の残留農薬分析手法は、分析目的により若干の違いが見られる。

新規に開発された農薬の農薬取締法に基づく作物残留性試験では、当該農薬に適するようそれぞれ個別に検討、開発された分析法が用いられる。この分析手法は、その農薬の開発に即した方法であり、実態調査等にそのまま用いられることは少ない。一般的に詳細な手法は公開されていないが、概要が農薬抄録⁶⁾及び農動薬部会報告⁷⁾に載せられている。

残留実態や基準遵守を確認するために現在広く用いられる分析法は、厚生労働省から公示された試験法が多く、告示試験法及び通知試験法がある。

告示試験法は、官報に告示された試験法で、食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生労働省告示第370号)⁸⁾第1食品A食品一般の成分規格(以下「食品規格」という。)の5項で不検出とされる農薬等、及び6、7項に示される本基準、暫定基準で不検出の基準を有する農薬等の分析に用いる試験法として、対農薬6通り、対動物医薬品15通りの計21通り規定されている⁹⁾。いずれも農薬等ごとの個別試験法であり、それぞれに検出限界¹⁰⁾が提示され、これら値以上を検出したときは、食品衛生法違反となる。ここに示される検出限界は、「適切な正確さを持って定量できることが確認された分析対象化合物の最低量又は濃度」と定義され、定量性のない値である分析化学上の意味とは異なる行政的な用語として用いられている。なお、検出限界以上の測定値が得られ分析値を求める際には、検出限界より1桁多く求め、その多く求めた1桁について四捨五入する。本試験法には「同等以上の性能を有すると認められる試験法」も規定され、その妥当性は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成19年11月15日付け食安発第1115001号・平成22年12月24日 食安発1224第1号で一部改正)(以下「妥当性評価ガイドライン」という。)により評価する。

通知試験法は、食品規格の6、7及び9項に示されるいわゆる本基準、暫定基準等が設けられている農薬等の分析に用いる試験

法として示されている。本試験法は、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」(平成17年1月24日食安発第0124001号「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」別添)¹¹⁾として示されている。2020年4月1日現在、農産物を対象とした4通り、畜水産物を対象とした7通りの計11通りのGC-MSまたはLC-MS/MS等を用いた一斉試験法、農産物にかかわる232通り、畜水産物にかかわる75通り、畜産物にかかわる18通り、水産物にかかわる3通り、そしてはちみつにかかわる1通りの計329通りの選択性検出器を装着したGC、LCまたはLC-MS/MS等を用いた個別試験法が提示されている。個別試験法は、有機リン系農薬、有機塩素系農薬やピレスロイド系農薬などの類似の性質を有するグループをまとめて分析する方法、分解しやすい農薬、揮散しやすい農薬、代謝物を測定する農薬等が対象となっている。なお、本試験法の5.分析上の留意事項の(1)に、ここに規定する試験法以外の方法による場合は、「同等又はそれ以上の性能を有すると認められる試験法」で実施するとされ、その妥当性は、告示試験法と同様「妥当性評価ガイドライン」により評価する。

近年発出される公示試験法は、従前に比較して記載が簡略化されており、一般的な器具や装置などは省略され、ろ過助剤の使用も必須の場合を除き特に記載されていないなど、実施に際し、分析機関の実情に合わせて措置できるように配慮されている(ただし、ポジティブリスト化以前に発出された試験法は比較的詳細に記載されている。)。試験法の性能に影響を及ぼさない範囲で、記載のない操作(例:抽出操作の吸引過時にケイソウ土を使用するなど)も実施できる。試験法には、分析手法の他、留意事項が示され、当該試験法に特化した注意点が示されている。全体にかかわる注意点については、総則や事務連絡¹²⁾としてまとめて示されている。この中で、「分析値は、基準値より1けた多く求め、その多く求めた1けたについて四捨五入する。」、「カラムへの負荷、注入は数回に分けて行うことが望ましい。特に、流出、溶出溶媒の注入は、少量ずつ数回注入してカラム器壁等を洗浄する。また、カラムからの流出、溶出は、一定の速度で行うことが望ましい。」、「検量線作成時に原点は含めない。また、定量は、作成した検量線の濃度範囲内で行う。」ことなどが示されている。また、公示試験法等、官公庁から発出される文書には商品名等は使用できない。そのため、精製カラムなどには一般名が用いられており、実際に何を使用すべきか判然としないことが多い。そこで、これら試験法開発時に用いた具体的なカラムの種類を、別途「事務連絡」で発出している¹³⁾。

一方、新たな試験法の開発等に際して参考として、公示分析法が未整備の農薬等の残留実態把握の試験に用いられた試験法が示されている¹⁴⁾。2020年4月1日現在、農産物を対象に46通り、畜産物を対象に11通りの計57通りの個別試験法である。

他に、成書や学術誌等に記載の方法が知られる。近年は、公示試験法が逐次改訂されることもあって新たな成書はほとんど刊行されていないが、最近刊の一つとして、衛生試験法・注解2020¹⁵⁾がある。農薬については、一斉分析法としてガスクロマト

グラフィー/質量分析法及び高速液体クロマトグラフィー/質量分析法、その他グループ・個別試験法として有機塩素系農薬、有機リン系農薬、カルバメート系農薬、ジチオカルバメート系農薬、ピレスロイド系農薬、臭化メチル及びクロルピクリンの各分析法が、また、ELISAによるスクリーニング試験も示されている。動物用医薬品については、合成抗菌剤のHPLCによる分析法の他、抗生物質のバイオアッセイによるスクリーニング試験も示されている。ELISAなどの比較的新しい手法やバイオアッセイなどの公示されていない実務に役立つ試験法と共に、それぞれの試験法に関連した詳細な解説が記されている。

05 基準遵守判断と妥当性評価

基準遵守判断に用いる試験法は、現在、妥当性評価ガイドラインにより選択性、真度、精度等の妥当性が評価され、評価基準を満たす試験法を用いることが規定されている。

公示試験法の開発における検討結果をまとめた「(参考)発出した試験法の検討結果」、「(参考)農薬等の一斉試験法の妥当性評価試験結果」が、それぞれの試験法を操作する際の参考として、2020年4月1日現在、告示試験法8通り、通知法のうち、対農産物28通り、対農産物・畜水産物8通り、対畜水産物38通り、対畜水産・はちみつ1通り、対畜産物12通り、対水産物1通りの計97通りの告示・通知個別試験法について提示されている¹⁶⁾。

通知試験法のうち、近年広く用いられている一斉試験法については、妥当性評価ガイドラインに準じて評価した結果が公表されている¹⁶⁾。2020年4月1日現在、GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)、LC-MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)、LC/MSによる農薬等の一斉試験法II(農産物)(平成31年1月)、LC-MSによる農薬等の一斉試験法I(茶:溶媒抽出法)、LC/MSによる農薬等の一斉試験法II(畜水産物)及びLC/MSによる農薬等の一斉試験法III(畜水産物)の妥当性評価試験結果が示されている。

06 おわりに

結果報告の前に、目的成分を正しく捉える分析法を用いているか、定量・検出限界は適切に確保されているか、操作中の損失はなかったか、分析中にコンタミネーションはなかったか、誤認はないか、当該分析に関する情報は記録・保管されているか、などを確認したい。

食品中の残留農薬分析手法は、比較的難しい手法の一つである。近年の科学技術の向上に伴い分析の自動化が進み、分析担当者の基礎的な知識、技術が見えにくくなってきている。正しい結果は、経験に裏打ちされた技術と共に、広い知識を礎にすることで導かれる。本稿がその一助となれば幸いに思う。

参考文献

- 1) 厚生労働省, 令和元年 12 月 25 日「平成 28 年度 食品中の残留農薬等検査結果について」 https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_08633.html (参照 2020-4-15) .
- 2) 厚生労働省, 「平成 29 年度 食品中の残留農薬等の一日摂取量調査結果」 <https://www.mhlw.go.jp/content/000500686.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 3) 食品・食品添加物等規格基準 (抄) 令和 2 年 1 月 1 日現在 (公益社団法人 日本食品衛生学会, 東京, 2020) pp.28-182.
- 4) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC), 「農薬の登録申請において提出すべき資料について」 http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/6278/6278_2nd.pdf (参照 2020-4-15) .
- 5) 厚生労働省, 「食品、添加物等の規格基準」第 1 食品の部 A 食品一般の成分規格の 5 の (2)」 <https://www.mhlw.go.jp/content/000358849.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 6) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC), 「農薬抄録」 <http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/index.html> (参照 2020-4-15) .
- 7) 厚生労働省, 「薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会報告」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/bukaihoukoku.html (参照 2020-4-15) .
- 8) 厚生労働省, 「食品、添加物等の規格基準」 https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=78334000&dataType=0 (参照 2020-4-15) .
- 9) 厚生労働省, 「食品、添加物等の規格基準 (昭和 34 年厚生省告示第 370 号) -抄-」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/591228-1.html (参照 2020-4-15) .
- 10) 厚生労働省, 平成 29 年 7 月 19 日生食発 0719 第 2 号「食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」別紙 2 <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenbu/0000190493.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 11) 厚生労働省, 「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/zanryu3/siken.html (参照 2020-4-15) .
- 12) 厚生労働省, 平成 30 年 9 月 11 日事務連絡「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法に係る分析上の留意事項の一部改正について」(別添) <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000352251.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 13) 厚生労働省, 平成 30 年 9 月 11 日事務連絡「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法に係る分析上の留意事項の一部改正について」(別紙) <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000352251.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 14) 厚生労働省, 「(参考) 農産物または畜水産物おける残留試験で用いた試験法」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/zanryu3/siken.html (参照 2020-4-15) .
- 15) 公益社団法人日本薬学会編, 衛生試験法・注解 2020 (金原出版, 東京, 2020) pp.449-504.
- 16) 厚生労働省, 「(参考) 発出した試験法の検討結果」, 「(参考) 農薬等の一斉試験法の妥当性評価試験結果」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/zanryu3/siken.html (参照 2020-4-15) .

食品中に残留する動物用医薬品の規制と分析法

Regulation and Analytical methods for residual veterinary drugs in livestock products

堀江 正一 Masakazu Horie

大妻女子大学 家政学部
Faculty of Home Economics, Otsuma Women's University

キーワード ... 動物用医薬品, 飼料添加物, 食品分析

01 はじめに

動物用医薬品とは、医薬品のうち専ら動物に使用されるものである。今日の畜産業においては、畜産動物の疾病の治療や予防を目的に数多くの動物用医薬品が用いられ、畜産物の安定供給に大きく貢献している。しかし、一方では使用した薬剤の畜産物への残留が食品衛生上懸念されている。更に、薬剤耐性菌出現への影響も大きな問題となっており、これら薬剤の適切な使用が求められている(図1)。本稿では、畜産食品中に残留する動物用医薬品の規制及び分析法を紹介する。なお、既に畜産食品中に残留する動物用医薬品の規制や分析法については総説、解説、成書^{1)~7)}があるので参照されたい。

02 動物用医薬品及び飼料添加物

牛、豚などの畜産動物は生き物であり、生理に反した過密飼育下では病気にかかり易くなっている。従って、高い生産性を得るためには畜産動物を疾病から守る必要があり、このために用いられる薬剤を「動物用医薬品」と呼ぶ。動物用医薬品は、医薬品医療機器等法(薬機法、旧薬事法)により規制されており、使用目的により抗菌性物質、ホルモン剤及び寄生虫用剤の3つに分類される。

一方、治療を目的としたものではなく、飼料効率の改善や成長促進を目的に飼料に混ぜて用いられる薬剤を「飼料添加物」と呼び、「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律(飼料安全法)」により規制されている。一般に動物用医薬品は短期間、高用量投与で用いられるが、飼料添加物は疾病の治療を目的としたものではないことから、長期間、低用量投与されている。

食品中に残留する動物用医薬品の分析

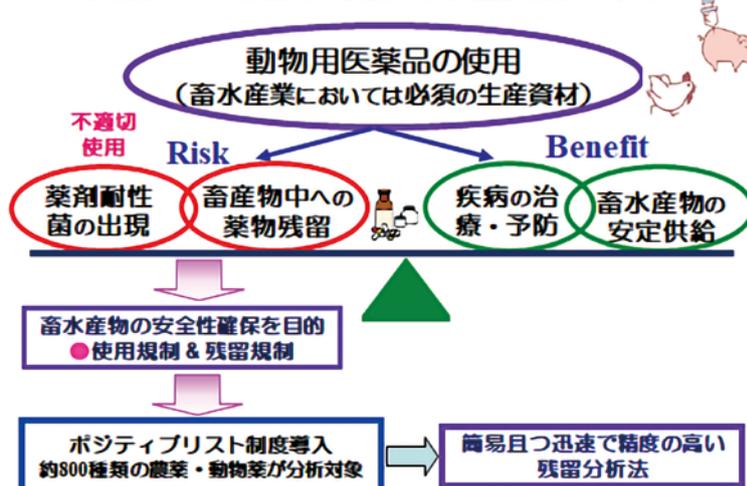


図1 動物用医薬品使用によるリスクとベネフィット

2.1 抗菌性物質(抗生物質と合成抗菌剤)

微生物の発育を阻害する物質であり、グラム陽性菌、グラム陰性菌、マイコプラズマなどの細菌による感染症の治療薬として用いられている。抗菌性物質は、更に微生物が作る抗生物質と化学的合成品である合成抗菌剤(サルファ剤、キノロン剤など)に大別される。

2.2 ホルモン剤

ホルモン剤は、肉牛の成長促進や肉質改善を目的として利用されている。米国、カナダ、オーストラリアなどでは、エストラジオール、プロゲステロンなどの天然型と、ゼラノール、トレンボロンなど合成型が肥育用ホルモン剤として用いられている。一方、EUでは肥育目的でのホルモン剤の使用を1988年に禁止しており、翌年の1989年からは肥育ホルモン剤を使用した牛肉などの輸入も禁止し、現在に至っている。日本では過去にエストラジオールとプロゲステロンが肥育目的に使用された経緯があるが、今日では使用されていない。

2.3 寄生虫用剤

線虫、回虫や吸虫などの寄生虫による畜産動物の被害も大きく、これを治療するため用いられる医薬品を寄生虫用剤と言う。イベルメクチンはマクロライド系の抗生物質であるが細菌に対する抗菌作用はほとんどなく、強い駆虫作用を示す薬剤である。イベルメクチンは、動物用医薬品の中で国際的に最も汎用されている薬剤であり、2015年にノーベル賞を受賞した大村智博士が開発した、ヒト用としても汎用されている薬剤である。

03

食品衛生法による残留規制

平成18(2006)年、残留基準値が設定されていない農薬・動物用医薬品を含む食品の流通を禁止する「ポジティブリスト制度」が導入された。ポジティブリスト制度とは、原則使用を禁止した上で、使用を認める物質をリスト化する制度である。国が規格基準を定めた物質についてのみ使用可能、すなわち安全性を評価して安全性が担保された物質でなければ使用できない制度である。一方、ネガティブリスト制度とは、使用を原則認めた上で、使用を制限する物質をリスト化する制度である(図2)。ネガティブリスト制度では、生鮮食品のみが対象食品であったが、ポジティブリスト制度導入により、加工食品も含むすべての食品が対象となった。なお、残留基準が定められていないものについては一律基準として0.01ppmを超える食品の販売が禁止された。

ポジティブリスト制度が導入された当初は、従来の残留基準が継続されたものが41品目(本基準)であり、それまで国内登録がなく残留基準値が設定されていなかったものや、一部の食品にしか基準値がなかったもの等、758品目については、暫定基準が設定された。暫定基準は、食品安全基本法第11条3「人の健康に悪影響が及ぶことを防止し、又は抑制するため緊急を要する場合で、あらかじめ食品健康影響評価を行ういとまがないとき」の場合は、暫定的な基準であってもこれを設定し、規制を開始することが食品の安全性確保につながるとの観点から、導入されている。暫定基準は、コーデックス基準があるものは、原則としてコーデックス基準を参照し、ないものは欧米等の基準値等を参照し設定されている。この暫定基準について、国内外における使用実態等を踏まえて、順次本基準への移行が進められている(図3)。

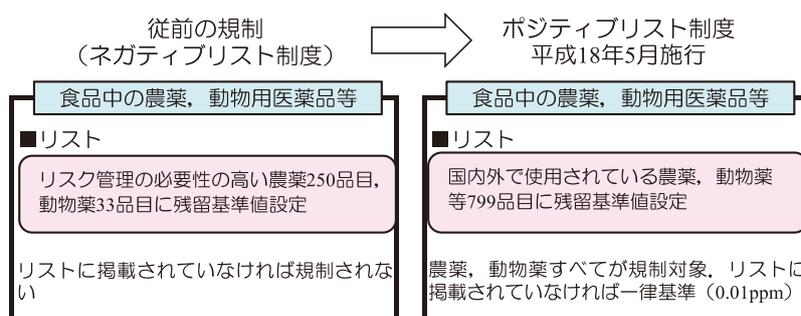
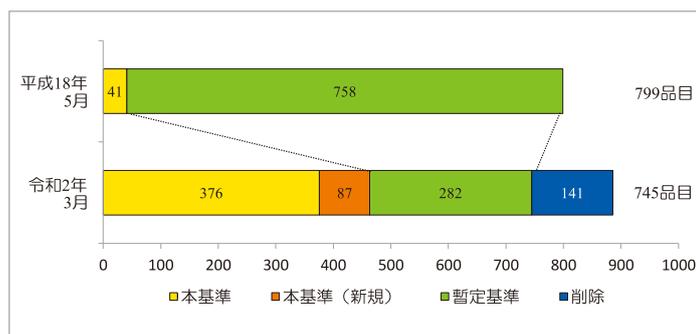


図2 食品中の農薬、動物用医薬品等のポジティブリスト制度



ポジティブリスト制度導入後に新規に残留基準を設定した項目数87品目、削除した項目数141品目

図3 ポジティブリスト施行後の農薬等の残留基準の見直し状況

04 生産段階における規制

我が国では、畜産動物に用いられる動物用医薬品が、生産される畜産物中に残留することがないように薬機法により使用が規制されている。すなわち、抗生物質、ホルモン剤など、生体への作用の強いもの、病原菌に対して耐性を生じ易いものなどは薬機法により「要指示医薬品」として指定され、使用に当たっては獣医師の処方せんの交付又は指示が必要とされている。更に、動物用医薬品の中でも使用頻度の高い薬剤は「動物用医薬品の使用の規制に関する省令」により、使用対象動物、用法、用量、使用禁止期間等の使用基準が定められ、畜産物中に薬剤が残留しないように規制されている(図4)。

また、安全性の高い畜産物を生産するためには、飼料が安全でなければならない。そこで、飼料に関する法規制として飼料安全法がある。本法により、抗菌性物質やビタミン、ミネラルなどが「飼料添加物」として定められている。2020年4月現在、指定飼料添加物の中に11品目の抗生物質と6品目の合成抗菌剤が含まれている。これらの抗菌性物質に関しては、畜産物中への残留を防止するため、添加できる対象飼料(例えば、豚用ではほ乳期用と子豚期用がある)、添加濃度、休薬期間などが定められ、動物

用医薬品と同様に生産される畜産物に薬剤が残留することがないように規制されている。

この様に我が国では畜産物中に動物用医薬品等の薬剤が基準を超えて残留することがないように、生産段階から流通・消費段階に至るまで規制が行なわれている(図4)。

05 残留基準値設定プロセス

動物用医薬品の残留基準値設定に当たっては、動物を用いた急性毒性試験、慢性毒性試験、発癌性試験や変異原性試験、更に微生物(腸内常在細菌叢)に対する影響や生体内運命(吸収、分布、代謝、排泄)等の様々な安全性に関する情報が用いられている。これらの試験データを基に許容一日摂取量(Acceptable Daily Intake:以下、ADI)を設定し、日本人の平均的な畜産食品の一日摂取量から試算される理論最大摂取量がADIを超えることがないように残留基準値が設定されている(図5)。ADIは、各種毒性試験結果を基に動物が一生涯にわたって毎日食べても、何ら影響の出ない最大の摂取量(無毒性量:NOAEL)を求め、これを根拠にヒトが生涯にわたり毎日摂取し続けても危害を受けない量として算出される。すなわち、動物実験で得られた

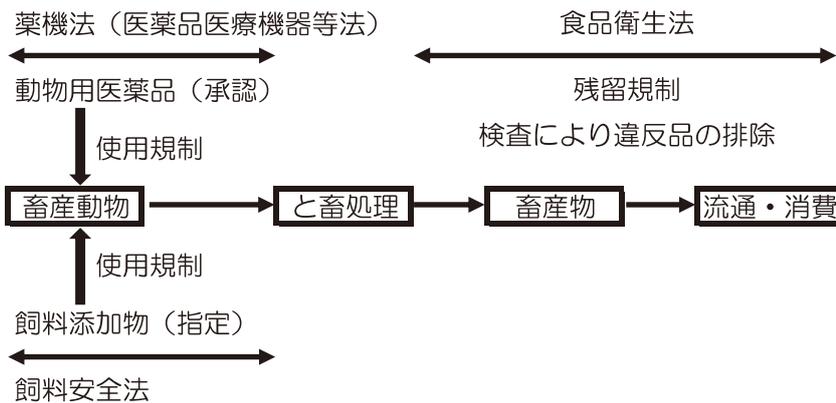


図4 畜産物の生産段階及び流通・消費段階における規制

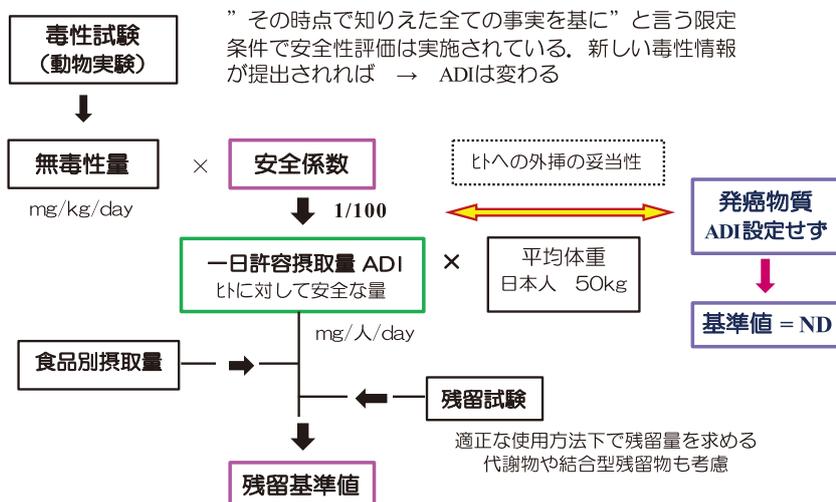


図5 残留基準値の設定プロセス

NOAELをヒトに外挿するため、安全係数(不確定係数)として多くの場合1/100をかけて算出される。なお、通常用いられている安全係数(1/100)は、ヒトと実験動物の種差の相違による影響(1/10)と、ヒトにおいても個人差があり、感受性が異なることから、固体差による影響(1/10)を考慮したものである。

なお、遺伝子障害性発がん物質等については、ADIを設定できず、原則使用禁止措置がとられている。このような物質に対しては、畜産物の安全性を確保する目的から「食品に含有されるものであってはならない」と食品衛生法により規制されている(表1)。

表1 食品において不検出とされる動物用医薬品一覧

動物用医薬品	装置	検出限界 (定量限界) ppm	成分規格
イプロニダゾール	寄生虫用剤	LC-MS/MS	0.0001 不検出基準
オラキンドックス	合成抗菌剤	LC-MS/MS	0.001 不検出基準
カルバドックス	合成抗菌剤	LC-MS/MS	0.001 不検出基準
クロラムフェニコール	抗生物質	LC-MS/MS	0.0005 不検出基準
ジエチルスチルベストロール	ホルモン剤	LC-MS/MS	0.0005 不検出基準
ジメトリダゾール	寄生虫用剤	LC-MS/MS	0.0002 不検出基準
ニトロフラゾン	合成抗菌剤	LC-MS	0.001 不検出基準
ニトロフラントイン	合成抗菌剤	LC-MS/MS	0.001 不検出基準
フラゾリドン	合成抗菌剤	LC-MS/MS	0.001 不検出基準
フララタドン	合成抗菌剤	LC-MS/MS	0.001 不検出基準
マラカイトグリーン	合成抗菌剤	LC-MS/MS	0.002 不検出基準
メトロニダゾール	寄生虫用剤	LC-MS/MS	0.0001 不検出基準
ロニダゾール	寄生虫用剤	LC-MS/MS	0.0002 不検出基準
クレンプテロール	ホルモン剤	LC-MS/MS	0.00005 一部不検出
酢酸トレンボロン(α 及び β)	ホルモン剤	LC-MS	0.002 一部不検出
酢酸メレンゲステオール	ホルモン剤	LC-MS/MS	0.001 一部不検出
デキサメタゾン	ホルモン剤	LC-MS/MS	0.0003 一部不検出
プロチゾラム	食欲不振改善剤	LC-MS/MS	0.001 一部不検出

(2020年4月現在)

06

残留分析法

食品中に残留する動物用医薬品の分析法として、①高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、高速液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS)、②微生物学的試験法及び③酵素免疫測定法(ELISA:Enzyme-linked immunosorbent assay)等を挙げることができる⁹⁾⁻¹⁰⁾。

6.1 理化学的試験法

畜産物中には、タンパク質、脂質、炭水化物など多くの食品成分が含まれており、分析対象である動物用医薬品はごく微量である。そこで、畜産物中に含まれる分析対象薬剤を効率よく抽出

し、夾雑成分を除去する前処理法の確立と、微量の薬剤を選択的に且つ高感度に検出する測定法が必要である(図6)。

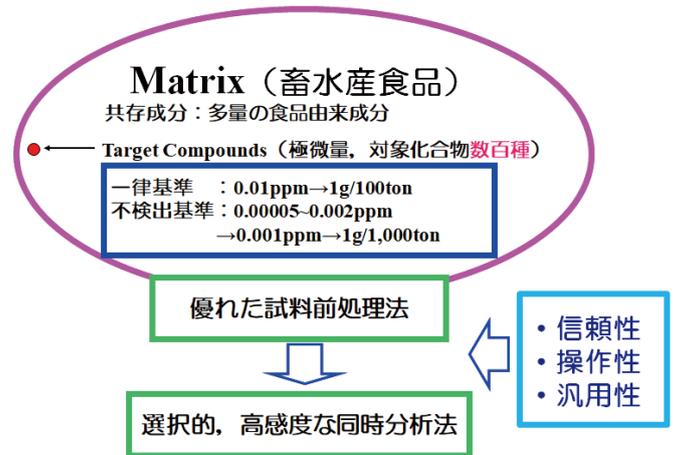


図6 畜産食品中の動物用医薬品の分析法

6.1.1 HPLC及びLC-MS/MSを用いた分析法

分析機器の中では、HPLCに関する技術の進歩が目ざましく、UV検出器や蛍光検出器を用いたHPLC法が多用されてきた。最近では検出器に質量分析計(MS)を用いたタンデム型的高速液体クロマトグラフ/質量分析計(LC-MS/MS)が最も汎用とされている。

HPLCの発展に伴い、様々な原理の検出器が開発されてきた。しかし、実用性の高いものとしては、UVや蛍光検出器などに限定されてくる。蛍光検出器は選択性が高く検出感度も優れているが、分析対象化合物が発蛍光性を有する薬剤に限定される。キノロン系抗菌剤は発蛍光性の物質が多いことから、蛍光検出器を用いた分析法が有効である¹¹⁾。しかし、動物用医薬品の多くは発蛍光性ではなく、汎用性の高いUV検出器が残留分析に多用されてきた。しかし、UV検出器は選択性及び定性能力に欠ける面があり、分析試料が夾雑成分の多い肝臓、腎臓では分析困難となる場合が多い。また、アミノグリコシド系抗生物質の様にUV吸収や蛍光吸収のない成分をどのように分析するかも重要な課題となる。このような場合、検出感度及び選択性の向上を目的に蛍光ラベル化等の誘導体化法が有効である。しかし、誘導体化は操作が煩雑であり、日常検査法としては好ましい方法とは言えない。そこで今日では、UV吸収や蛍光吸収のない化合物に対しては誘導体化することなく、高感度且つ選択的に検出可能であり、更に一度に多くの成分が検出可能であるLC-MS/MSによる分析法が最も有用な方法として評価されており、日本や米国等で公定法として多用されている⁹⁾⁻¹⁰⁾。

6.1.2 LC-MS/MS法の課題(イオン化に及ぼすマトリックスの影響)

LC-MSのイオン化では、目的化合物が試料中の共存成分(マトリックス成分)と共に溶出されると、イオン化の過程で「イオンサ

プレッション(イオン化抑制)]または「イオンエンハンスメント(イオン化促進)」と呼ばれる現象が生じ易い。このことがLC-MSの定量性において最も問題とされている現象である。本現象を解決する手段として、安定同位体標識内部標準品を用いる方法がある。しかし、安定同位体標識内部標準品のない化合物がほとんどである。そこで、前処理法によりマトリックスによる影響が見られない程度までクリーンアップして試験溶液を調製するか、あるいは調製した試験溶液に標準品を添加して作成した「マトリックス検量線(標準添加法)」の利用が有効とされている。

6.1.3 告示試験法、通知試験法

国が示す公定試験法の中には官報に「告示」として掲載される「告示試験法」と、厚生労働省主管課長等から「通知」として示される「通知試験法」がある。現在、残留基準値が設定されている農薬・動物用医薬品等の分析法は通知試験法「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」¹⁰⁾に収載されている。2020年4月現在、10通りの一斉試験法、329通りの個別試験法が収載されている。本通知試験法の中で、動物用医薬品、飼料添加物に関するものとして、3通り

の一斉試験法と62通りの個別試験法が示されている(表2)。一斉試験法は、いずれもHPLCによるとしているが、分析手法としてはLC-MS/MSを想定したものである。それぞれの分析対象薬剤は、一斉試験法I=102成分、II=65成分、III=30成分となっている。個別試験法においては、かつてはHPLC法が汎用されてきたが、最近ではLC-MS/MSが用いられてきている。一方、「不検出」項目については、通知ではなく告示の中で試験法が示されており、動物用医薬品を分析対象とした試験法は13通りあり、殆どがLC-MS/MSを採用している(表1)。

6.1.4 分析法の妥当性評価

信頼性のある分析結果を得るためには、用いる試験法の妥当性を確認することが必要となる。分析法の妥当性確認とは、試験に用いる分析法が意図した目的に合っていることを科学的に立証し、判定の誤りの確率が基準で取り決めた許容範囲内であることを確認することを言う。分析法の妥当性を評価する重要なパラメーターとして次のものが挙げられる。

(1) 真度(回収率)

表2 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法

第1章 総則
1.用語
2.装置
3.試薬・試液
4.試料採取
5.分析上の留意事項
第2章 一斉試験法
(1) GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)
(2) LC/MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)
(3) LC/MSによる農薬等の一斉試験法II(農産物)
(4) GC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)
(5) LC/MSによる農薬等の一斉試験法I(畜水産物)
(6) LC/MSによる農薬等の一斉試験法II(畜水産物)
(7) LC/MSによる農薬等の一斉試験法III(畜水産物)
(8) HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法I(畜水産物)
(9) HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法II(畜水産物)
(10) HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法III(畜水産物)
第3章 個別試験法
・329の試験法 (農薬類:267試験法, 動物用医薬品類:62試験法)

参考 食品、添加物等の規格基準(告示第370号)に規定する試験法
・「不検出」項目に関する23試験法

表3 試験法の妥当性評価ガイドライン

●選択性：妨害ピークの許容範囲

定量限界と基準値の関係	妨害ピークの許容範囲
定量限界 ≤ 基準値 1/3	< 基準値ピークの 1/10
定量限界 > 基準値 1/3	< 定量限界ピークの 1/3
不検出	< 定量限界ピークの 1/3

●真度及び精度の目標値

濃度 (ppm)	試行回数(回)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
≤0.001	5	70~120	30>	35>
0.001<~≤0.01	5	70~120	25>	30>
0.01<~≤0.1	5	70~120	15>	20>
0.1<	5	70~120	10>	15>

- (2) 精度(併行精度、室内精度、室間精度)
- (3) 感度(検出限界、定量限界)
- (4) 選択性(特異性)
- (5) 直線性
- (6) 操作性、頑健性

通知及び告示試験法については、当該試験法と同等以上の性能を有すると認められる試験法によっても試験することが可能であり、「同等以上の性能」を判断するガイドラインが「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(食安発1224第1号、平成22年12月24日)として示されている(表3)。

6.2 微生物学的試験法

微生物学的試験法とは、抗生物質が有する微生物の増殖を抑制する作用(抗菌作用)を利用した分析法であり、阻止円の有無及びその大きさを観測することにより、試料中の抗菌性物質の有無とその量を測ることができる。日常検査法としては、1994年に示された「畜産食品中の残留抗生物質簡易検査法及び分別推定法」が汎用されている。本検査法の概略は、試料5gをクエン酸・アセトン緩衝液20mLでホモジナイズ抽出し、その上清を試験溶液としている(図7)。検出には多くの抗生物質に対して感受性を示す3菌株、*Bacillus subtilis* ATCC 6633、*Kocuria rhizophila* ATCC 9341 (*Micrococcus luteus* ATCC 9341)、*Bacillus mycoides* ATCC 11778を採用している。現在、動物用に約210品目の薬剤がリスト化されているが、半数近くの115品目が抗菌性物質である。したがって、抗菌活性を指標とする微生物学的試験法は、動物用医薬品の残留の有無をチェックする有用な試験法である。しかし、微生物学的試験法は、残留薬物の特定が困難であり、感度的にも基準値レベルで検出されない薬剤が多いことが課題と言える。従って、抗菌活性の強い薬剤の残留の有無をチェックするスクリーニング、あるいは畜産農家で使用している薬剤の残留を検査する試験法としては有用と考える。

一方、米国やEUにおいても、食品中に残留する抗生物質の



図7 微生物学的試験法(簡易検査法)の概要

分析には微生物学的試験法が用いられている。米国では、STOP (Swab test on premises)法、CAST (Calf Antibiotic and

Sulfa Test)法及びFAST (Fast Antimicrobial Screen Test)法と呼ばれるスクリーニング法が用いられている。STOP法は、牛や豚の腎臓組織中に直接綿棒を一定時間挿入して組織液を綿棒に浸潤させた後にその綿棒を測定用培地上に置き、29℃、18時間前後培養して阻止円の有無を確認する方法である。CAST法及びFAST法は、STOP法を改良したものであり、試験菌にはSTOP法と異なり*Bacillus megaterium* ATCC 9885が用いられている⁹⁾。なお現在では、7種類の検査用平板を用いた方法により残留抗菌性物質の検査が実施されている。一方、EUでは、ドイツで開発された4-Plate法が残留抗菌性物質のスクリーニング法として多用されている。試験菌には*Bacillus subtilis* ATCC 6633の代わりに*Bacillus subtilis* BGAと*Kocuria rhizophila* ATCC 9341を採用している¹²⁾。

6.3 酵素免疫測定法(ELISA)

免疫反応(抗原抗体反応)を利用して、微量物質の検出・定量を行う生化学的手法で、Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)と呼ばれている。ELISAキットシリーズとして、抗菌性物質は約40種類、ホルモン剤は約20種類のキットが市販されている。ELISA法は、測定対象物質に対して特異的な抗体を使用していることから、残留動物用医薬品のモニタリングを目的とした多成分一斉分析には不向きな手法である。しかし、畜産農家で実際に使用している薬剤の残留チェックや、特定された検査項目の高感度且つ特異的検査には有用と言える。ELISA法は国内では公定法として採用されていないが、米国農務省食品安全検査局で編纂している検査法にはスクリーニング法等として9試験法が記載されている⁹⁾。

07 輸入食品の安全性確保

我が国の食料自給率は年々低下の一途を辿っており、カロリーベースで63%(2018年度)を輸入品に依存している。このことから輸入食品の安全性確保も極めて重要である。輸入食品の検査は、全国に32カ所ある検疫所で行われている。2018年度には約248万件の輸入届出があり、その中でモニタリング検査及び命令検査併せて約20.7万件(検査率8.3%)が検査され、この中で780件(届出件数の0.03%)が法違反となっている。

ポジティブリスト制度が導入される前から2019年度まで食品衛生法違反(全件及び動物用医薬品の違反件数)状況を図8に示した。導入前に比べて、導入後の平成18(2006)年度は違反件数が約500件増加しており、動物用医薬品の違反件数も倍増している。割合で見ると、導入前の動物用医薬品の違反率は5~6%であったが、2006年度には16.1%と倍増している。しかし、違反件数は年々減少しており、2019年度は約2%となっている。違反項目を見ると、表4に示す通り、90%以上が抗菌性物質であり、その中でクロラムフェニコール、フラゾリドン、エンロフロキサシンで、違反全体の約2/3を占めている^{13)、14)}。

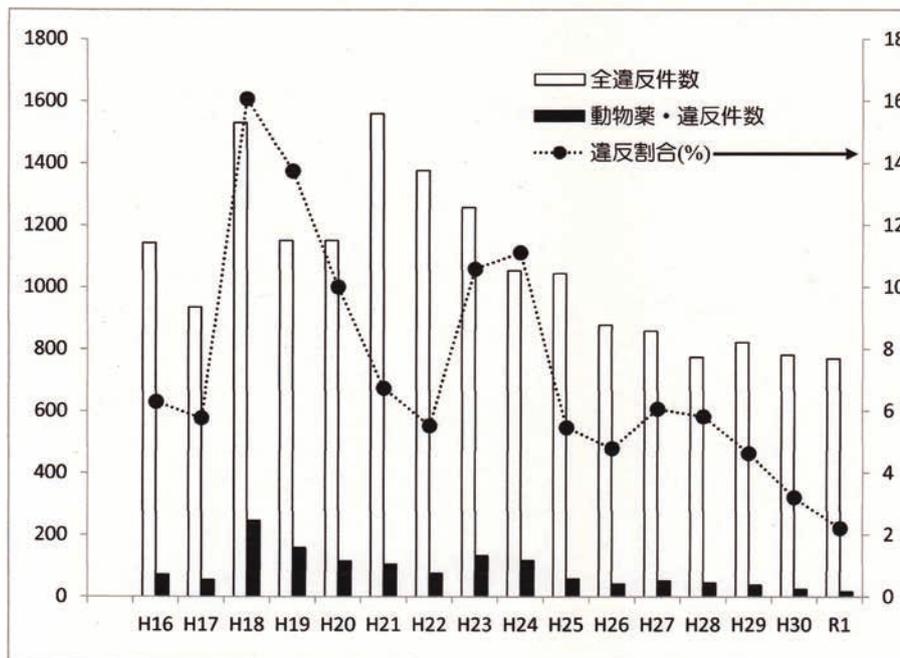


図8 輸入食品の食品衛生法違反事例

表4 検疫所における動物用医薬品の違反検数、違反項目の推移(平成16年度～令和元年度)

動物用医薬品		基準	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	R1	合計	
抗生物質	クロラムフェニコール	○	1	3	112	74	31	20	27	13	17	9	7	12	8	3	4	2	343	
	オキシテトラサイクリン	△	10	9	10	4	2	3		1	2	7	4	1	1	6	1	1	62	
	クロルテトラサイクリン	△	4	6	3			5	2	2	1	1	1						25	
	テトラサイクリン	△	16	14	4	6	2	1			1						1		45	
	ストレプトマイシン	△	6	1		1									1			1	10	
	ベンジルペニシリン	△								1										1
	抗生物質	△	10																	10
	ラサロシド	△	1							2	1									4
合成抗菌剤	フラゾリドン(AOZ)	○			62	32	39	20	21	22	12	11	16	17	11	10	7	4	284	
	フラルタドン(AMOZ)	○			4	7	19	2											32	
	ニトロフラントイン(AHD)	○			3		2												5	
	セミカルバジト(SEM)	○			21	10													31	
	エンロフロキサシン	△	16	8			4	4	6	83	23	21	11	16	16	14	10	10	242	
	シプロフロキサシン	△	5	3		1													9	
	オフロキサシン	△								2	2								4	
	オキシリン酸	△	1								1								2	
	スルファジミジン	△	1																1	
	スルファジアジン	△					2			1			1	1	6	3	2		16	
	スルファメトキサゾール	△					10	4	1	4	3	1							23	
	スルファジメトキシ	△			5					1					1				7	
	マラカイトグリーン	○		10	22	23	3	8	7	2	1	1	1	1	1				79	
	寄生虫用剤	イベルメクチン*								2			1							3
寄生虫用剤	ナイカルバジン		1											4		1			6	
食欲不振改善	プロチゾラム												1						1	
繁殖用剤	クレンブテロール	○				1	38	7	1										47	
抗酸化剤	エトキシキン										54	5		1					60	
年間違反検数合計			72	54	246	158	115	105	76	133	117	57	42	52	45	38	25	17	1,352	

○：不検出基準、△：不含有基準、但し基準設定されている場合は基準を超えてはならない。

*イベルメクチンはマクロライド系抗生物質に属するが、抗菌活性は弱く、駆虫効果に優れていることから寄生虫用剤に分類。

08

薬剤耐性菌の問題

抗生物質は人類及び家畜類と細菌の闘いに素晴らしい成果を上げてきた。しかし、1942年にペニシリンが医薬品として使用され始めた数年後には耐性を示す黄色ブドウ球菌が出現した。その後、薬剤耐性菌治療の切り札として開発されたメチシリンに耐性を示す黄色ブドウ球菌(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌:MRSA)が出現し、1980年代以降、院内感染症の元凶のように恐れられている。MRSAの出現は、感染症の治療あるいは予防対策に抗菌性物質を乱用し続けたことが原因とされている。このように、抗生物質開発の歴史は薬剤耐性菌との闘いの歴史とも言える¹⁵⁾。

1969年、イギリスでは動物の耐性菌がヒトに感染する可能性があることから、「ヒト用抗生物質を家畜の発育促進を目的とした飼料に添加して使うべきではない」とするスワン報告がなされた。米国・疾病管理センター(CDC)のホルムバーク博士らも、抗生物質の効かない耐性サルモネラ菌に汚染された肉を食べたヒトに治療困難な腸の病気が発生したと報告している¹⁶⁾。このような経緯から、EUでは、1999年にヒト用抗生物質の飼料への使用全面禁止を議決し、2006年から施行しており、米国でも飼料への添加を禁止とする取り組みが進められている¹⁷⁾。

我が国においても薬剤耐性菌出現を抑制する観点から、ヒトの医療上重要な抗菌性物質製剤であるフルオロキノロン剤などについては、他の抗菌性物質製剤が無効な場合のみ使用するなどのリスク管理措置が取られている。さらに、飼料添加物に用いられてきた抗生物質、バージニアマイシン、硫酸コリスチン、リン酸タイロシンやオキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリンについても、薬剤耐性菌の拡がりを抑制するため、2018から2019年にかけて飼料添加物としての指定が取り消されている。

09

おわりに

食品に含まれる動物用医薬品については、リスク評価を経た上で、残留基準が設定され、ヒトに対する健康被害が生じることがないように法的規制がとられている。ポジティブリスト制度導入により、200種以上の動物用医薬品が分析対象化合物となった。このことから、網羅的に数多くの薬剤が分析可能な方法が有用と言える。微生物学的試験法は、残留する抗菌性物質の有無を目視で確認できる長所を有している。しかし、残留する薬剤が特定できない点や、抗菌性の弱い薬剤は残留レベルで検出できないと言う欠点がある。現在、HPLCの検出器にタンデム型質量分析計が直結したLC-MS/MSが畜産物食品中に残留する動物用医薬品の検出法として最も有効な手法と思われる。

参考文献

- 1) M. Murayama, *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **51**(6), 360-362 (2010).
- 2) M. Horie, *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **51**(6), 363-372 (2010).
- 3) J. Wang, J.D. MacNeil, J.F. Kay, Ed, *Chemical Analysis of Antibiotic Residues in Food*, John Wiley & Sons, Inc., (2011).
- 4) M. Bacanlı, N. Başaran, *Food Chem. Toxicol.*, **125**, 462-466 (2019).
- 5) S. Bogialli, A. Di Corcia, *Anal Bioanal Chem.* **395**(4), 947-966, (2009).
- 6) 厚生労働省監修, 食品衛生検査指針, 動物用医薬品・飼料添加物編, (公社)日本食品衛生協会 (2003) .
- 7) 堀江正一、モダンメディア、**61**(5), 140-147 (2015).
- 8) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook (http://www.fsis.usda.gov/science/microbiological_lab_guidebook/) (参照 2020-5-21).
- 9) FSIS Chemistry Laboratory Guidebook (http://www.fsis.usda.gov/Science/Chemistry_Lab_Guidebook/index.asp) (参照 2020-5-21).
- 10) 厚生労働省, 「食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について(平成17年1月24日食安発第0124001号)」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/index.html (参照 2020-5-20).
- 11) M. Horie, K. Saito, N. Nose, N. Nakazawa, *J Chromatogr B Biomed Appl.* **653**(1), 69-76 (1994).
- 12) D. Currie, L. Lynas, D. G. Kennedy, J. McCaughey, *Food Addit Contamin.*, **15**(6), 651-660 (1998).
- 13) 厚生労働省, 輸入食品監視指導・統計情報: http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/yunyu_kanshi/index.html (参照 2020-5-21).
- 14) M. Yamamoto, M. Toda, T. Sugita, K. Tanaka, C. Uneyama, K. Morikawa, *Bull.Natl.Inst.Health Sci.*, **127**, 84-92 (2009).
- 15) H. Karaki, *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **46**(5), J283-285 (2005).
- 16) S. D. Holmberg, M. T. Osterholm, K. A. Senger, M. L. Cohen, *N. Engl. J. Med.*, **311**(10), 617-22 (1984).
- 17) Federal Register/Vol. 75, No. 124/Tuesday, June 29, 2010/Notices, 37450-37451. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2010-06-29/pdf/2010-15289.pdf> (参照 2020-5-21).

かび毒分析の最近の動向 ～フザリウムかび毒の分析

State of the art in the analysis of Fusarium mycotoxins

中川 博之 Hiroyuki Nakagawa (Principal researcher)

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門 食品安全研究領域 食品化学ハザードユニット 上級研究員
National Agriculture and Food Research Organization (NARO), Food Research Institute, Food Safety Division, Chemical Hazard Laboratory

キーワード …… フザリウム、LC-MS、モディファイドマイコトキシン

01 かび毒とは

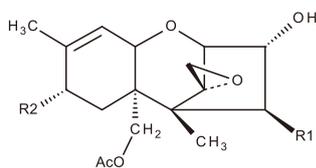
かび毒(マイコトキシン)とはかびの二次代謝産物(生命現象に直接関係のない生産物)の中で、ヒトや家畜に発がん性、変異原性、腎・肝障害性などの毒性を示す物質の総称である。ヒトや家畜がかびによって産生されたかび毒を含有した食物を摂取して起こる中毒をマイコトキシコーシスというが、その原因は化学物質であるかび毒であり、かびによる感染(真菌症、マイコシス)とは全く別のものである。一般にかびは加熱加工によって死滅するが、かび毒は熱に対して安定なものが多く食品中に残留するため、これらの汚染を受けた食品を摂取することにより被害が発生する。これまでに数多くのかび毒が発見・報告されているが、中毒事例があるのはそのうちのごく一部である¹⁾。主要なかび毒産生菌としてどのようなかびが存在し、その対策やかび毒分析法としてどのような技術があるかに関しては、各種文献を参照されたい^{1), 2)}。ここでは国内における汚染事例が多く、糖誘導体(マス

グドマイコトキシン、およびモディファイドマイコトキシン(後述)の発見により注目されているフザリウムかび毒の分析の最新情報について、筆者らが実施した研究を中心に紹介する。

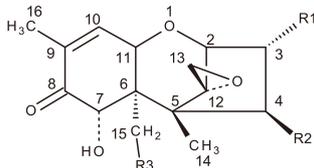
02 フザリウム属とかび毒

赤かび病は麦類やトウモロコシ等の主要作物の植物病原菌として知られるフザリウム属によって引き起こされる難防除病害である^{3), 4)}。温帯地域に位置するわが国では麦の生育期に降雨が多く、赤かび病が発生しやすい。フザリウム属は農作物の栽培中に圃場で感染し収量や品質低下を引き起こすが、その一部はかび毒を産生することが知られている。トリコテセン系かび毒と呼ばれる一連の化合物(構造によりタイプA、タイプBに分類される)(図1)やゼアラレノン(ZEN, 図2)がその代表例として知られている。中でもタイプBトリコテセン(C-8位にケトン基をもつ)の1つであるデオキシニバレノール(DON, 図1)は世界各地で汚染

タイプAトリコテセン



タイプBトリコテセン



	R ₁	R ₂	R ₃
T-2トキシシン(T-2)	OAc	COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	ニバレノール(NIV)
HT-2トキシシン(HT-2)	OH	COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	デオキシニバレノール(DON)
ジアセトキシスシルペノール(DAS)	OAc	H	フザレノン-X(FUX)
モノアセトキシスシルペノール(MAS)	OH	H	3-アセチルデオキシニバレノール
ネオソラニオール(NES)	OAc	OH	15-アセチルデオキシニバレノール

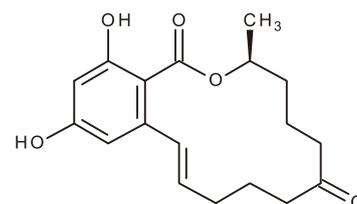


図2 ゼアラレノン(ZEN)

図1 トリコテセン系かび毒

が発生することから、多くの国で基準値が設定されている²⁾。わが国では2002年に小麦中のDONについて 1.1mg/kgの暫定基準値が設定された⁵⁾。アジア諸国では、DONとともにもう一つのタイプトリコテセンであるニバレノール(NIV, 図1)の汚染が多く報告されている²⁾。このような背景からわが国では2008年に麦類におけるDON, NIV汚染低減のための指針が策定されている⁶⁾。ZENに関してはわが国では食品における基準値は設定されていないが、家畜飼料については1mg/kgの暫定許容値が農林水産省により設定されている⁷⁾。

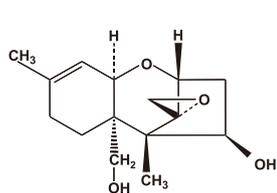
03

麦汚染主要フザリウムかび毒一斉分析法の開発と妥当性確認

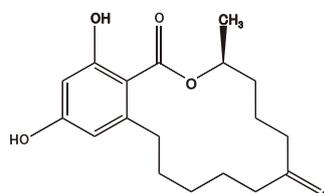
農林水産省では国産麦についてDON, NIV(平成14年度から)およびZEN(平成17年度から)の汚染実態調査を実施しているが、当初はこれら3種のかび毒を一斉分析可能な分析手法がなかった。また、FAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)では2001年にT-2トキシシン(T-2)およびHT-2トキシシン(HT-2)(図1)についてグループの暫定最大耐容一日摂取量(PMTDI)を0.06 μ g/kg体重と設定していたため⁸⁾、国内でも汚染調査の是非が議論されていた。そこで筆者らは、麦を汚染する主要フザリウムかび毒であるDON, NIV, T-2, HT-2, ZENの5種について、高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析(LC-MS/MS)法による一斉分析法の開発を行った⁹⁾。LC-MS/MS法によるかび毒分析においては、農作物や食品から溶媒による抽

出操作を行う際の抽出効率のばらつきや、イオンソース部における夾雑成分によるイオン化への影響(マトリックス効果)がしばしば問題視される²⁾。本手法ではトリコテセン系かび毒(DON, NIV, T-2, HT-2)にはベルカロール(VEL)、ZENにはゼアララノン(ZAN)(VEL, ZANの構造をそれぞれ図3に示す)を内部標準物質として使用することで、これらの変動要因の影響を低減できていると考えられる。内部標準物質となる化合物は構造や物理化学的挙動が目的化合物と類似していることが望ましい。最も有効な内部標準物質は安定同位体標識したそれぞれのかび毒試薬であるが、そのような安定同位体標識試薬はとても高価である。そこで本手法では分析法にかかるコスト面も考慮して内部標準物質としてVEL, ZANを使用した。

分析手順の概要は以下のとおりである⁹⁾。各種かび毒を添加した小麦粉末試料(小麦、大麦)に内部標準物質を添加し、12時間以上(他者による報告では、かび毒試薬添加後から抽出実施までのインターバルを30-60分程度の短時間に設定しているケースが多い。添加したかび毒を十分に農作物試料に吸着させるためには、このインターバルを長く設定すべきであると筆者は考えている)冷暗所で保存した後にアセトニトリル/水混合液を用いて酢酸存在条件下で抽出した。遠心分離後、得られた上清をC₁₈カラムおよび多機能カラムに順次通して精製を行い、得られた試験溶液について溶媒交換を行った後、LC-MS/MSにより分析を行った。結果の一例として、DON(40 μ g/kg)、NIV(40 μ g/kg)、ZEN(8 μ g/kg)、T-2(8 μ g/kg)、HT-2(8 μ g/kg)を添加した小麦粉末を分析した際のLC-MS/MSクロマトグラムを示す(図4)。



ベルカロール (VEL)



ゼアララノン (ZAN)

図3 ベルカロール(VEL)とゼアララノン(ZAN)の構造

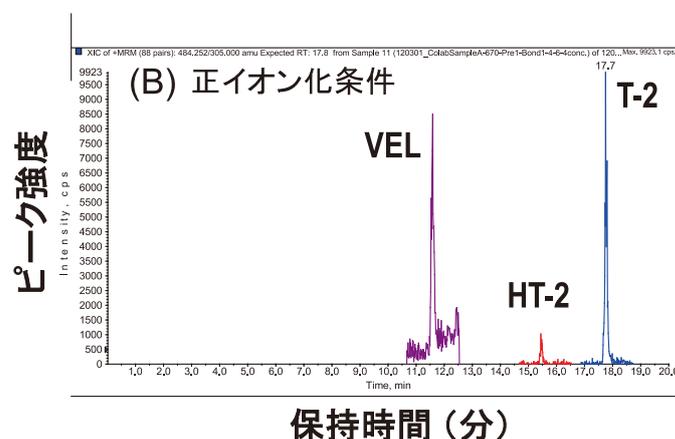
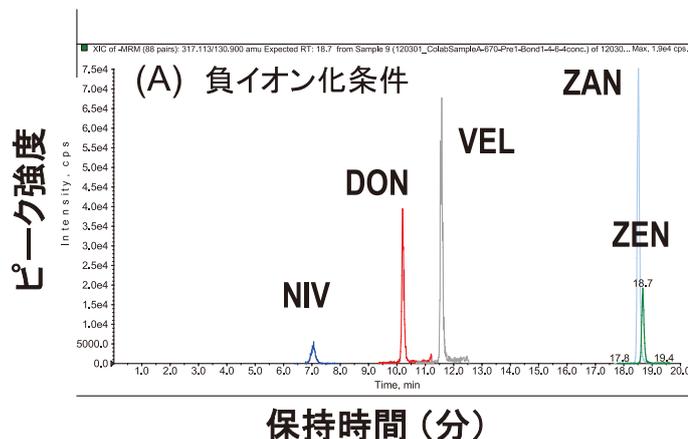


図4 かび毒添加小麦粉末を分析した際のLC-MS/MSクロマトグラム

DON、NIV、ZENは負イオン化条件、T-2、HT-2は正イオン化条件でそれぞれ良好に検出されている。いずれのかび毒も試験溶液の注入後20分以内にピークが確認され、LCカラムの平衡化時間も含めると1分析当たり30分程度で連続分析が可能であった。

開発した分析手法について、AOACインターナショナルの「試験室間共同試験のガイドライン」¹⁰⁾を参照して室間共同試験による妥当性確認を実施した⁹⁾。12機関に本分析手法を提供し、かび毒添加麦(小麦・大麦)を用いた添加回収試験を行った。外れ値検定を行った後の有効なデータから、併行相対標準偏差(RSD_i)と室間再現相対標準偏差(RSD_R)を算出し、その値からHorRat(Horwitz ratio)値を評価した(HorRat <2であれば、分析値の室間再現精度は許容範囲内とみなされる)。その結果、小麦および大麦に含まれる40~1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の濃度レベルのDON分析において本手法の妥当性が確認された。同様な手順により、小麦および大麦に含まれるNIV(40~1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の濃度レベル)、ZEN(8~1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の濃度レベル)、T-2(8~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の濃度レベル)、HT-2(8~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の濃度レベル)のそれぞれの分析について本手法の妥当性が確認された。さらに、自然汚染試料として配付したT-2含有小麦試料(メーカーによる付与値111.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)についてもHorRat <2が確認された。したがって、本手法はかび毒添加試料だけではなく自然汚染試料の分析にも有効であることが確認された⁹⁾。

LC-MS/MS法によるかび毒一斉分析については多くの手法が報告されているが、主要フザリウムかび毒5種(DON、NIV、T-2、HT-2、ZEN)を一斉分析可能で、室間共同試験によるフルバリデーションレベル(有効試験室数8以上)で妥当性確認がなされた分析手法は本手法が国内外を通じて最初の例である⁹⁾。内部標準物質による補正を取り入れており、大麦も分析対象にできることから、国産麦におけるフザリウムかび毒汚染を把握する上でも実用的な手法であるといえる。本分析手法は農林水産省による国内麦かび毒汚染のサーベイランスにも採用されており、調査結果は報告書として公開されている¹¹⁾。

04 新規かび毒誘導体の探索

フザリウム属のような植物病原菌がDONのようなかび毒を産

生する理由の一つとして、感染時に植物体内(穀類等)への菌糸の侵入をより容易にするためであることが挙げられる¹²⁾。一方、植物は外来異物の減毒機構として配糖化やマロニル化等の修飾反応をして液胞の中に蓄積することが知られている。かび毒のような生体外異物は植物体内においてはPhase I, II, IIIの3段階の代謝機構により減毒化されるといわれており¹³⁾、これらのPhase IIの段階(conjugation)で産生される誘導体(主に配糖体)はマスキドマイコキシンと呼ばれている¹⁴⁾。マスキドマイコキシンは分子量や物理化学的性質が元の化合物とは異なるため従来の分析法では検出できないが、腸内細菌等によって加水分解されてかび毒を遊離するため¹⁴⁾、潜在ハザードとして注目されている。

フザリウム属は複数種のかび毒を産生する(図1,2)が、代表的なマスキドマイコキシンとしてはDONおよびZEN由来のDON-3-グルコシド(DONGlc)やZEN-14-グルコシド(ZENGLc)(図5)が知られている。フザリウム属が植物(農作物)に感染するような状況下では、DONやZEN以外のかび毒に関しても減毒化(配糖化)される可能性があるかと予想された。そこで筆者らは新規マスキドマイコキシンの探索を試みた。本研究を実施する際に課題となったのが分析試料の入手であった。分析試料としては「フザリウム属が植物(栽培中のもの)に感染し比較的高濃度でかび毒汚染が起こる条件」で調製された農作物が望ましいと考えられた。農研機構ではフザリウム属を感染させた麦類を栽培可能な実験圃場を有しており、当時農林水産省リスク管理型委託プロジェクトの研究でDONおよびNIVによる高濃度汚染を受けた麦を栽培していたため、この玄麦を分析試料とした。入手した玄麦を粉砕した分析試料の抽出物(水/アセトニトリル/酢酸混合溶液で粉末試料を抽出し、遠心分離により得られた溶液を精製用カラムに通して夾雑物質を除去したもの)について、高速液体クロマトグラフィー・高分解能質量分析(LC-HRMS)法による分析を行った。その結果、新規マスキドマイコキシンとしてNIV-グルコシド(NIVGLc)、さらにNIVの前駆体であるフザレノン-X(FUX, 図1)の配糖体であるFUX-グルコシド(FUXGLc)を検出した(図6)¹⁵⁾。DON、NIV、FUXはいずれもタイプBトリコテセンであったことから、次に筆者らはタイプAトリコテセン(図1参照)由来のマスキドマイコキシンの探索を試みた¹⁶⁾。分析試料として、代表的なタイプAトリコテセンであるT-2とHT-2を高濃度含有する精度管理用自然汚染トウモロコシ粉末試料を米国から購入した。入手したトウモロコシ粉末試料について上記と同様な手法を用いて

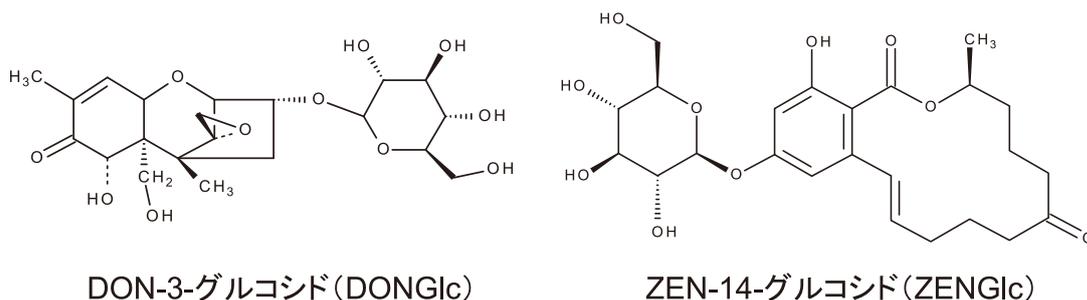
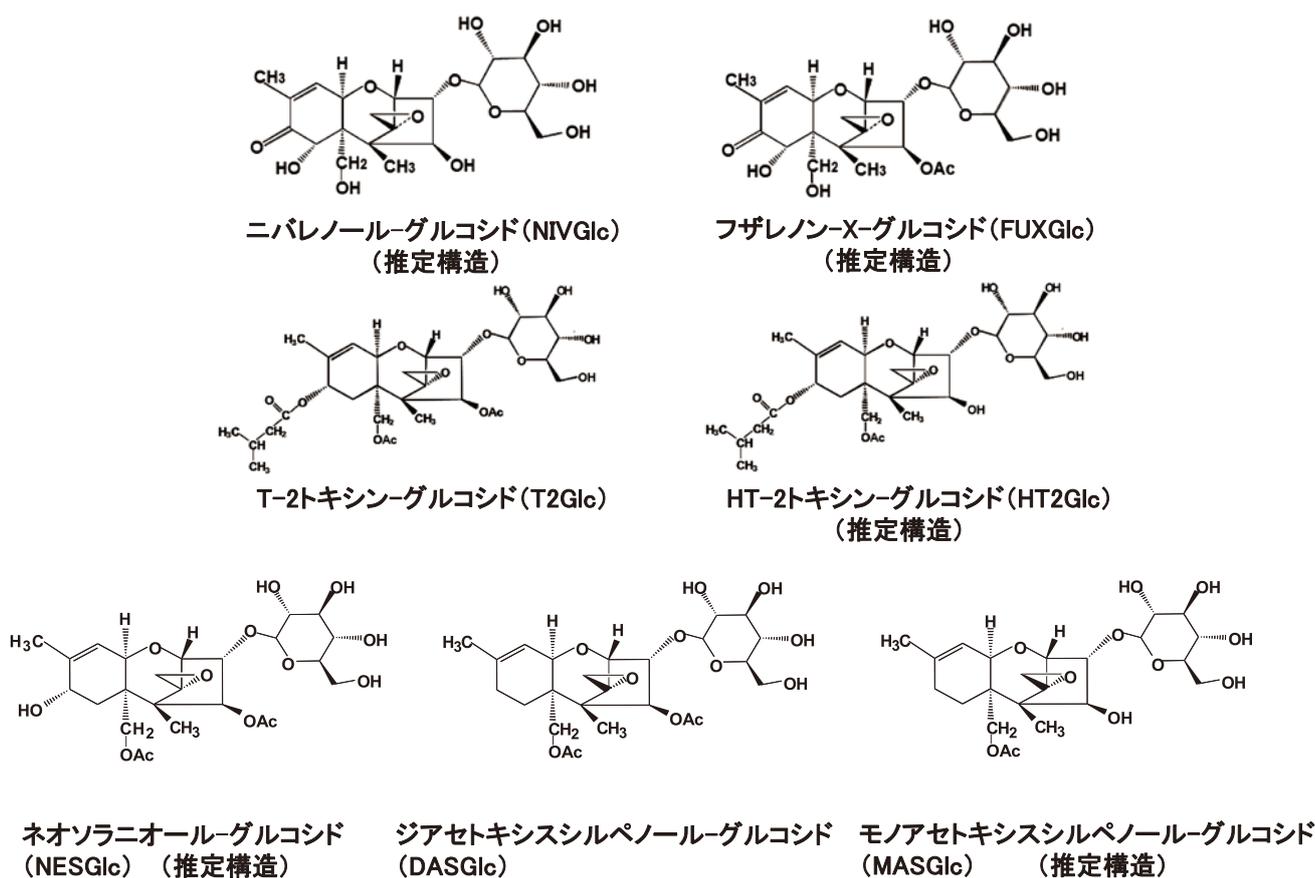
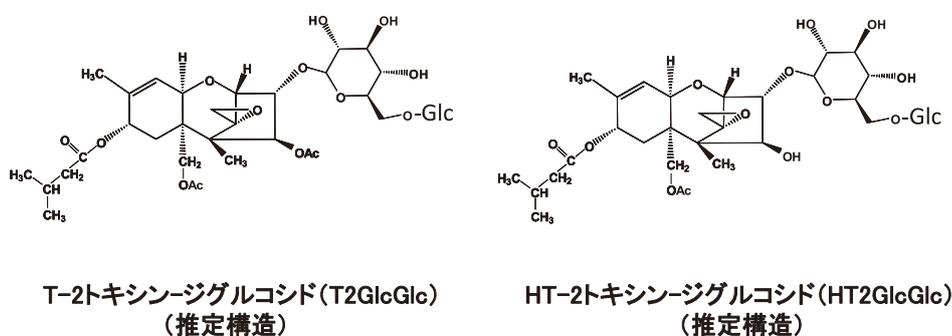


図5 代表的なマスキドマイコキシン

図6 筆者らが検出したマスクドマイコトキシン(モノ-β-D-グルコシド)¹⁵⁻¹⁸⁾図7 筆者らが検出したマスクドマイコトキシン(ジ-β-D-グルコシド)¹⁸⁾

分析を行ったところ、T-2-β-D-グルコシド(T2Glc)とHT-2-β-D-グルコシド(HT2Glc)がそれぞれ検出された(図6)¹⁶⁾。同トウモロコシ粉末試料においては、さらに別のタイプAトリコテセンであるネオソラニオール(NES, 図1)、ジアセトキシシルペノール(DAS, 図1)、モノアセトキシシルペノール(MAS, 図1)についてもβ-D-グルコシドを検出した(図6)^{17, 18)}。これらの発見により、マスクドマイコトキシンがDONやZENのような特定のかび毒に対してのみではなく、他のトリコテセン系かび毒についても広く存在することが明らかにされた。T2Glc、HT2Glcについて筆者らはさらにβ-D-グルコースが付加したT-2-β-D-ジグルコシド(T2GlcGlc)とHT-2-β-D-ジグルコシド(HT2GlcGlc)も検出した(図7)¹⁸⁾。

これらのマスクドマイコトキシンはいずれも試薬標品が入手できない化合物であったため、検量線を用いた定量分析ができなかった。そこで、各試料中に共存するDONGlc/DONの割合を調べた(DONGlcとDONは試薬標品が市販されている)ところ、前者の汚染小麦試料では重量比で15%程度、後者の精度管理用自然汚染トウモロコシ粉末試料ではモル比で6%程度がβ-D-グルコシル化されていることがわかった^{15, 16)}。各種トリコテセン系かび毒における構造の類似性から、NIV、FUX、T-2、HT-2、NES、DAS等についても同等程度の割合でβ-D-グルコシル化が起きているのではないかと当時推定していたが、その後の研究によりタイプAトリコテセンの方がタイプBトリコテセンよりもβ-D-グルコシル化



図8 フモニシンとその糖誘導体

される傾向が低いことが示唆された¹⁹⁾。

一方、トウモロコシ中のフモニシン(フザリウム属が産生する、トリコセセン系かび毒やZENとは異なる一群のかび毒)は熱処理等によりその一部が分子内のアミノ基を介してグルコースと共有結合することが報告されている(図8)。米国の研究者らによりフモニシンB₁(FB₁)由来のグルコース誘導体として、*N*-(1-Deoxy-**D**-fructosyl) fumonisin B₁ (NDfrc-FB₁)が同定されている²⁰⁾。そこで筆者らはフモニシンB₂(FB₂)、フモニシンB₃(FB₃)について同様な誘導体があるかLC-HRMSによる探索を行い、NDfrc-FB₂、NDfrc-FB₃を新たに検出した(図8)²¹⁾。これらはフモニシンと糖が結合した化合物であるためマスクドマイコトキシンと混同されがちであるが、植物体内における減毒機構(conjugation)¹⁴⁾ではなく、化学的な反応で生成するものである。このため、本来の定義によれば区別されるべきである。このような経緯から最近ではマスクドマイコトキシンを含めたかび毒誘導体に対してモディファイド(modified:修飾された)マイコトキシンという名称を使うことが提案されている²²⁾。

欧州食品安全機関(EFSA)は2014年にかび毒のヒトへの暴露量を評価する際にはこれらの誘導体による暴露も勘案することが適切であるとしており、その根拠としてその多くが生体内で加水分解されて元のかび毒を遊離するためであるとしている²³⁾。DONやZENのグルコシドとサルフェート誘導体(DONGlc、ZENGLc、およびZENS)が、ヒトの大腸の細菌叢によって効果的に加水分解されたという報告もある²⁴⁾。今後モディファイドマイコトキシンがわが国でPMTDIへ算入されるか否かは不明であるが、食品安全委員会でも継続審議中である²⁵⁾、²⁶⁾。各種かび毒の適切なリスク評価に資することを目標として、今後もかび毒分析の研究に熱意をもって日々取り組みたいと考えている。

05 おわりに

ここで紹介したデータの一部は、農林水産省委託プロジェクト研究「生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発」および「食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト」の一環として実施した研究の成果である。関係各位に深謝申し上げる。かび毒の配糖化は植物の減毒機構(conjugation)によって起こるものである。ヒトや動物の体内で異物が代謝や誘導化することにより減毒化されるように、植物が独自にこのような減毒機構を持っていることは学術的にも興味深い。かび毒減毒機構の詳細な知見を得ることで麦やトウモロコシの赤かび病抵抗性品種の選抜や育種にも利用できる可能性があることから、農業分野での応用も期待されると考えている。上記にも述べたが、危害要因物質の定量的な議論の上でやはり試薬標品の供給がカギとなる。私の記憶が正しければ、関東化学にはRomer Labs社のかび毒試薬製品の国内販売ラインをいち早く整備して頂いた。この場を借りて心より御礼申し上げますと同時に、今後もかび毒研究分野へのご理解とご協力をお願いしたい。

参考文献

- 1) Food and agriculture organization of the United Nations (FAO) : FAO Food and nutrition papers 81: Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003, Rome, FAO (2004): Available at: <http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e00.HTM> (参 照 2020-5-21).
- 2) 食品工業NEO 食品工業におけるカビ汚染対策, 食品工業編集部編, (光琳, 2010).
- 3) 中島 隆 Mycotoxins **55**(1),43-47 (2005).
- 4) 湊 啓子 北獣会誌 **56**(11),609-614 (2012).
- 5) 厚生労働省:「小麦中のデオキシニバレノールに係る暫定的な基準値の設定について」,平成 14 年 5 月 21 日,食発第 0521001 号 (2002) Available from: <https://www.ffcr.or.jp/tsuuchi/2002/05/ODA129A07813D14349256DF6000BC432.html> (参 照 2020-5-21).
- 6) 農林水産省消費・安全局,生産局:「麦類のデオキシニバレノール・ニバレノール汚染低減のための指針」,平成 20 年 12 月 (2008) Available from: https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidoku/pdf/sisin.pdf (参 照 2020-5-21).
- 7) 農林水産省消費・安全局:「飼料中のゼアラレノンの暫定許容値の改正について」,平成 22 年 10 月 6 日,消安第 5365 号 (2010) Available from: http://www.famic.go.jp/ffis/feed/tuti/22_5365.html (参 照 2020-5-21).
- 8) T-2 and HT-2 in WHO FOOD ADDITIVES SERIES: 47 Safety evaluation of certain mycotoxins in food, www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je06.htm (参 照 2020-5-21).
- 9) Nakagawa H et al (2014): Harmonized collaborative validation of a simultaneous and multiple determination method for nivalenol, deoxynivalenol, T-2 toxin, HT-2 toxin, and zearalenone in wheat and barley by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Analytical and Bioanalytical Techniques* 2014 S6, doi: 10.4172/2155-9872.S6-002
- 10) AOAC international (2005). Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. Official methods of analysis of AOAC international. 18 ed.
- 11) 食品の安全性に関するサーベイランス・モニタリングの結果【有害化学物質】, https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/survei/result.html (参 照 2020-5-21).
- 12) M. J. Boenisch, W. Schäfer, *BMC Plant Biology*, **11**, 110 (2011).
- 13) J. Coleman, M. Blake-Kalff, E. Davies, *Trends in Plant Science*, **2**(4), 144-151 (1997).
- 14) F. Berthiller, C. Crews, C. Dall'Asta, S. De Saeger, G. Haesaert, P. Karlovsky, I. P. Oswald, W. Seefelder, G. Speijers, J. Stroka, *Molecular Nutrition and Food Research*, **57**(1), 165-186 (2013).
- 15) H. Nakagawa, K. Ohmichi, S. Sakamoto, Y. Sago, M. Kushiro, H. Nagashima, M. Yoshida, T. Nakajima, *Food Additives and Contaminants Part A*, **28**(11), 1447-1456 (2011).
- 16) H. Nakagawa, S. Sakamoto, Y. Sago, M. Kushiro, H. Nagashima, *World Mycotoxin Journal*, **5**(3), 271-280 (2012).
- 17) H. Nakagawa, S. Sakamoto, Y. Sago, M. Kushiro, H. Nagashima, *Food Additives and Contaminants Part A*, **30**(8), 1407-1414 (2013).
- 18) H. Nakagawa, S. Sakamoto, Y. Sago, H. Nagashima, *Toxins*, **5**(3), 590-604 (2013).
- 19) H. Nakagawa, Y. Matsuo, S. McCormick, C. W. Lim, *Journal of AOAC International*, **101**(3), 658-666 (2018).
- 20) S. M. Poling, R. D. Plattner, D. Weisleder, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(5), 1318-1324 (2002).
- 21) Y. Matsuo, K. Takahara, Y. Sago, M. Kushiro, H. Nagashima, H. Nakagawa, *Toxins*, **7**(9), 3700-3714 (2015).
- 22) M. Rychlik, H.-U. Humpf, D. Marko, S. Dänicke, A. Mally, F. Berthiller, H. Klaffke, N. Lorenz, *Mycotoxin Research*, **30**(4), 197-205 (2014).
- 23) EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Scientific Opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal* 2014;12(12): 3916, 107 pp. (2014). doi:10.2903/j.efsa.2014.3916
- 24) A. Dall'Erta, M. Cirlini, M. Dall'Asta, D. Del Rio, G. Galaverna, C. Dall'Asta. Masked mycotoxins are effectively hydrolyzed by human colonic microbiota releasing their aglycones. *Chemical Research in Toxicology*, **26**(3), 305-312 (2013).
- 25) <http://www.fsc.go.jp/fsciis/meetingMaterial/show/kai20190325ks1>
- 26) 小西良子 カビと生活 **12**(1),41-44 (2019).

乱用薬物スクリーニングキット Status DS10及びDRIVEN-FLOWの性能

Evaluating the efficiency of Status DS10 and DRIVEN-FLOW
for urinary drug screening kits.

◆ 齊藤 剛 Takeshi Saito (Associate Professor)

東海大学医学部総合診療学系救命救急医学 准教授
Department of Emergency and Critical Care Medicine,
Tokai University School of Medicine

◆ 奈女良 昭 Akira Namera (Associate Professor)

広島大学大学院医歯薬保健学研究科法医学 准教授
Department of Forensic Medicine,
Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University

◆ 守田 誠司 Seiji Morita (Professor)

東海大学医学部総合診療学系救命救急医学 教授
Department of Emergency and Critical Care Medicine,
Tokai University School of Medicine

◆ 中川 儀英 Yoshihide Nakagawa (Professor)

東海大学医学部総合診療学系救命救急医学 教授
Department of Emergency and Critical Care Medicine,
Tokai University School of Medicine

キーワード

●●● Status DS10、DRIVEN-FLOW、Urinary drug screening kits、Drug of Abuse

01 | はじめに

薬物の乱用は、社会生活の乱れにつながるため、世界的に取締が行われている。本邦では、覚醒剤取締法、麻薬及び向精神薬取締法、大麻取締法などで規制されているが、その中でも覚醒剤による事案が最も多く、著名人が関わる報道も後を絶たない。また、危険ドラッグと呼ばれ構造の一部を次々と変えて規制をかわしながら販売された薬物が、乱用による救急搬送や事故、更に死亡者まで出したことで、一時期社会的な問題となったことも記憶に新しい。最近では、睡眠薬を使用した犯罪の発生も世界的に増加しており、時代の移り変わりと共に新たな乱用薬物の出現や乱用形態の変化がみられる。

これら乱用薬物使用の有無は、尿中の薬物を免疫学的な手法によってスクリーニングするのが世界的なスタンスである。この免疫学的なスクリーニングは1次検査の位置づけであり、陽性となった検体は機器分析によって確認検査が行われる。東海大学医学部付属病院高度救命救急センターにおけるTriage DOAの実施は、主に急性薬物中毒症例の中毒起因化合物や意識障害の原因を解明する目的である。また、同大学内の法医学では、剖検時の死因究明の一環として種々の乱用薬物スクリーニングキットが用いられている。

昨年来、関東化学から新規尿中乱用薬物スクリーニングキットのStatus DS (以下、DS)シリーズ [Princeton BioMeditech Corp.製]、DRIVEN-FLOW (以下、DF)シリーズ [Alfa Scientific Designs Inc.製] が販売された。今回、これらの製品評価を行ったところキットの特性についてある程度の知見が得られたため対象化合物に関する説明を加えながら概説する。

02 | キットの種類とスクリーニング項目

DSに於いてはDS8、DS10の2種類、DFに於いては、IV M6、M7-II、M8-Zと3種類のバリエーションがある。各キットでスクリーニング可能な項目を表1、2にまとめた。各化合物のカットオフ濃度とは、試料中に含まれる化合物が陽性を呈する最低濃度である。各化合物に関する概略を以下にまとめた。なお、前述した5種類の製品のうち、DS8は覚醒剤項目がアンフェタミンのみのため実施していない。

2.1 メタンフェタミン (MET)

覚醒剤のことである。化学合成によって製造されるが、光学異性体が存在する。右旋性 (dextrorotatory) のものを "D"、"d"、(+)、"R"、左旋性 (levorotatory) のものを "L"、"l"、(-)、"S" と表現するが、各メーカーによって表記はさまざまである。覚醒剤としては効果が強いD-(d-)体が使われる。摂取方法は、静脈内注射、経口摂取、炙りによる吸引などが知られている。乱用によって中枢神経の興奮、多幸感、食欲の減退、気力が高まった感覚が得られる。また、血圧の上昇、不整脈の出現、不安、妄想、幻覚、精神異常と思われる行動、最終的にはうつ状態や極度の疲労に陥る。効果は通常2~4時間程度、半減期は9~24時間である。メタンフェタミンは、主に未変化体のまま尿中に排泄されるが、一部体内で脱メチル化されアンフェタミンとなって尿中に排泄される。従って、アンフェタミンの存在はメタンフェタミンの使用を裏付ける。通常、3~5日間は尿中から検出されるが尿のpHにより異なる。

本邦で乱用される覚醒剤はD-(d-)メタンフェタミンであるが、海外ではD-(d-)アンフェタミンが主流な地域もある。また、本邦に

表1 Status DSでスクリーニング可能な化合物とカットオフ濃度

略称	スクリーニング項目	化合物	カットオフ濃度 (ng/mL)	DS8	DS10
MET	覚醒剤	D-Methamphetamine	1,000	—	○
AMP	覚醒剤	D-Amphetamine	1,000	○	○
BZO	ベンゾジアゼピン系	Oxazepam	300	○	○
BAR	バルビツール酸系	Secobarbital	300	○	○
TCA	三環系抗うつ薬	Nortriptyline	1,000	○	○
OPI	モルヒネ系麻薬	Codeine/Morphine	300	○	○
COC	コカイン系麻薬	Benzoylcegonine	300	○	○
THC	大麻	11-nor- Δ^9 -THC-9-COOH	50	○	○
PCP	フェンシクリジン系麻薬	Phencyclidine	25	○	○
MTD	メサドン系麻薬	Methadone	300	—	○

表2 DRIVEN-FLOWでスクリーニング可能な化合物とカットオフ濃度

略称	スクリーニング項目	化合物	カットオフ濃度 (ng/mL)	IV M6	M7-II	M8-Z
MET500	覚醒剤	d-Methamphetamine	500	○	○	○
BZD	ベンゾジアゼピン系	Oxazepam	300	○	○	○
ZOL	ゾルピデム	Zolpidem	50	-	-	○
BAR	バルビツール酸系	Secobarbital	200	○	○	○
TCA	三環系抗うつ薬	Nortriptyline	1,000	○	○	○
MOR	モルヒネ系麻薬	Morphine/Codeine	300	-	○	○
COC	コカイン系麻薬	Benzoylcegonine	300	○	○	○
THC	大麻	11-nor- Δ^9 -THC-9-COOH	50	○	○	○

於いては、覚醒剤取締法によって所持、使用をはじめ試薬レベルの輸入も禁止されている。構造が類似するエフェドリン類は、覚醒剤原料として規制されている。

2.2 アンフェタミン(AMP)

強力な交感神経興奮性作用を有し治療薬として適応のある化合物である。摂取方法や作用はメタンフェタミンと同じであるが、本邦ではメタンフェタミンの代謝物として確認されることが多

い。実際のメタンフェタミン乱用例に於いても様々な濃度でアンフェタミンが検出される。アンフェタミンは、主に尿中に未変化体及び水酸化と脱アミノ化された類似体が排泄される。

本邦に於いては、覚醒剤取締法によってメタンフェタミンと同様に取り締まられている。

2.3 ベンゾジアゼピン(BZO/BZD)

最も広く処方されている中枢神経抑制剤であり、抗不安、鎮静、

抗痙攣、睡眠作用を目的として使われる。主に経口摂取されるが一部注射薬としても使われ身体、精神的な依存は低い。しかし、中毒状態では、眠気、筋弛緩を誘発しアルコールに酔ったような状態になる。長期間の乱用では、遅発性の運動異常(顔面、手足、体幹筋肉の不随意運動)が生じる。過量摂取では、昏睡や致死的となることもある。退薬症候として不安、不眠、震え、譫妄、痙攣が生じる。ベンゾジアゼピンの効果は4~8時間継続する。化合物によって吸収と代謝速度が異なるため効果時間も様々である。主に尿中に未変化体あるいはグルクロン酸抱合された代謝物が排泄される。不活性代謝物は、摂取後1~2日間検出される。

本邦では、原末等は麻薬及び向精神薬取締法で扱われる。治療目的で処方された薬剤の服用はこの対象にあたらない。

2.4 ゾルピデム(ZOL)

非ベンゾジアゼピン系に分類される睡眠導入剤である。摂取後は極めて短時間で睡眠状態になり作用時間も短い。ベンゾジアゼピン系より筋弛緩作用が弱いとされているが健忘の副作用が多く報告されている。このような特性から犯罪に用いられることも多い。麻薬及び向精神薬取締法における第3種向精神薬として取り扱われている。

2.5 バルビツール酸(BAR)

構造的にバルビツール酸の派生物であり、睡眠薬に分類され中枢神経を鎮静化する。乱用は通常、錠剤の経口摂取であり眠気、不明瞭な発言、過敏な反応が出現する。長期間の乱用は、禁断と発作を生じる。急性中毒では呼吸の衰弱、意識の消失、死をもたらす。バルビツール酸とアルコールの併用は特に危険である。短時間作用のペントバルビタールやセコバルビタールは少なくとも3~6時間効果が持続する。長時間作用型は10~20時間持続する。尿中には短時間型で4~6日間、長時間型で30日間検出される。短時間作用型は代謝物として長時間型は主に未変化体が検出される。

本邦では、原末等は麻薬及び向精神薬取締法で扱われる。治療目的で処方された薬剤の服用はこの対象にあたらない。

2.6 三環系抗うつ薬(TCA)

三環系抗うつ薬は、臨床的に憂鬱な状態の患者へ処方される。TCAには大きく分けて2種類ある。三級アミンのアミトリプチリン、イミプラミン、トリミプラミン、ドキシペピンはセロトニン濃度を増加し、不眠に対して処方される。二級アミンのノルトリプチリン、デシプラミン、プロトリプチリンはノルエピネフリン濃度を増加し、過度の疲れ、引きこもり、不活性のような症状に対して処方される。TCAの乱用は昏睡、呼吸の抑制、痙攣、血圧の異常、過高熱、心毒性を惹起する。TCAの摂取後は、尿中に代謝物を主として10日間程度排泄される。

2.7 モルヒネ(OPI/MOR)

モルヒネの他にコデインやジヒドロコデインはモルヒネの派生的な化合物でありオピエイトと呼ばれる。オピエイトの乱用によって多幸感、呼吸の低下、昏睡に陥る。モルヒネは、オピエイトの原

型であり、乱用後は、モルヒネ-3-グルクロニド、未変化体、その他の代謝物となり尿中へ排泄される。ヘロインはモルヒネ、コデインへと代謝されて尿中へ排泄されるが、ごく一部が未変化体のまま尿中へ排泄される。

本邦では、これらの化合物は、麻薬及び向精神薬取締法で所持や使用も禁止されている。一方、市販の感冒薬にも含まれるコデインやジヒドロコデインは少量のため規制対象外である。

2.8 コカイン(COC)

植物のコカの葉から抽出される化合物であり、強い中枢神経刺激作用と局所麻酔作用がある。乱用によって多幸感、大胆さ、気力の高まりを認め、心拍数の増加、瞳孔の拡張、震え、発汗を伴う。喫煙、静脈内投与、経鼻、経口摂取によって乱用され半減期は0.5~1.5時間である。代謝物のベンゾイルエクゴニンの半減期は5~8時間であるがコカインの乱用後24~60時間程度は尿中から検出される。

本邦では、麻薬及び向精神薬取締法で所持や使用も禁止されている。

2.9 大麻(THC)

大麻草に含まれる化学成分は数多くあるが全てをカンナビノイドと総称している。その中で最も活性の高い成分が Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC)である。摂取あるいは喫煙すると多幸感が得られる。乱用者は短時間の記憶障害を生ずる。時間的な混乱や不安あるいは譫妄の惹起、長期間の乱用によって行動異常が伴う事もある。喫煙後、THCの効果は20~30分後に最高に達し、90~120分間持続する。THCの代謝物は喫煙後数時間以内に尿中から検出され、3~10日間確認できる。尿中の主な代謝物は、11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THC-COOH)であり、THCは痕跡程度しか排泄されない。

本邦では、大麻取締法で所持、栽培、譲り受け、譲り渡しが禁止されている。また、業として大麻の栽培や譲り渡しを行った際は、麻薬特例法が適応される。一方、大麻の使用が直接禁止されていない点で検査結果の取り扱いに困ることがある。

2.10 フェンシクリジン(PCP)

アリルシクロヘキシルアミンであり獣医が麻酔薬として使う。PCP、エンジェルダスト、ラブポット等と呼ばれ幻覚剤として不法に使用されている。乱用によって、嗜眠、多幸感、運動失調、眼振、昏睡が誘発される。PCPの類似物の幾つかは同様の薬理効果を持ち、特にケタミンは本邦に於いてもストリートドラッグとして使用された経緯から麻薬に指定された。フェンシクリジンは、喫煙、経口、経皮から容易に吸収され肝臓で代謝され、少なくとも2つの活性代謝物、4-phenyl-4-piperidino-cyclohexanol、1-(1-phenylcyclohexyl)-4-hydroxypiperideneとなることが明らかで、これらはグルクロン酸抱合されて尿中に排泄される。約10%が未変化体として尿中に排泄される。

本邦では、麻薬及び向精神薬取締法で所持や使用も禁止されている。

2.11 メサドン (MTD)

モルヒネの薬理学的な特性を多く有するオピオイド系合成鎮痛薬である。本邦ではメサペインとして販売されている。ヘロイン依存者の管理に用いられ乱用は一般的に少ない。モルヒネと異なるが、反復の摂取によって薬物が蓄積されたように鎮静が生ずる。過量摂取は昏睡、筋弛緩、呼吸の抑制、皮膚の冷感、縮瞳、血圧低下、昏睡、循環器系が衰弱する。アメリカに於いて、過量摂取による死亡例は入手が可能な都市部で増加している。麻薬に関する単一条約で規制されている。

03 キットにおける反応原理と判定方法

各キットに実際に必要な尿量を表3に示す。各キットは、固相クロマトグラフ膜免疫法の原理で行われるが、試料中の抗原抗体反応に基づいて結果が現れる。

表3 各キットにおける必要尿量

キット名称	必要尿量 (μL)
Status DS10	220
DRIVEN-FLOW IV M6	350
DRIVEN-FLOW M7	130
DRIVEN-FLOW M7-II	130
DRIVEN-FLOW M8-Z	170

各キットに必要な量の尿が滴下されるとテストストリップ上を展開する。途中、ストリップ上にはカットオフ濃度に設定された金コロイド抗体(色付の抗体)が塗布されている。展開された尿がこの抗体部分を通過する際、尿中に薬物が存在すると各薬物に特異的な抗原抗体反応を起こす。尿中の薬物がカットオフ濃度以上の時は、塗布された抗体の全てが抗原抗体反応する。

もし薬物が存在しない時は金コロイド抗体の全て、カットオフ濃度以下であれば未反応の抗体が尿と共にストリップ上を展開する。更に展開した尿は、ストリップ上に塗布された薬物と抗原抗体反応するため各化合物の判定部分に赤紫色のバンドが出現する。(陰性判定)

カットオフ濃度以上の薬物が存在すると先に色付の抗体が全て抗原抗体反応を完了しているため判定部分では抗原抗体反応は惹起しない。従って、カットオフ濃度以上の試料では、バンドが出現しない。(陽性判定)

04 実際の手順

1. 各キットをパッケージから取り出す。DF IV M6は試料滴下窓の透明なカバーを外す。
2. 各キットのパッケージ内の専用スポイトを用い試料尿を試料

滴下窓に滴下する。DS10は各窓に各3滴滴下する。DF IV M6はスポイトのやや上部の浮き上がったラインまで試料を吸引して全量を滴下窓に滴下する。DF M7-IIは滴下窓に3滴、DF M8-Zは滴下窓に4滴滴下する。(DF M7-IIとDF M8-Zは試料滴下後、下部のスライダーを押し上げることで展開が早まる。)

3. 滴下後、5分から10分の間にコントロール(C)の横にバンドが出現していることを確認する。
4. 検査対象化合物横のバンド出現の有無を確認して判定する。

05 判定方法

図1、2に判定結果の図示と実際例のスクリーニング結果を示した。

5.1 陰性

コントロール(C)位置に赤紫色のバンドが出現していることを確認する。各化合物の位置に赤紫色のバンドが出現していることを確認する。試料滴下後、DS10では5分～10分以内に判定する。DF IV M6に於いては5分～7分の間に判定する。さらに、DF M7-II、DF M8-Zに於いては、スライダーを閉めて内圧を上昇させることで金コロイド凝集の制御と移動速度を上げることが可能となる設計であり、早ければ1分後～3分後にはバンドが確認でき、2時間以内であれば判定時間経過後も結果が保たれることがメーカーより保証されている。実際には判定を行った翌日においても十分にバンドが確認できたが本来の所定時間で判定するのが望ましい。出現するバンドの色調が薄くても肉眼的に確認できれば陰性であるがカットオフ濃度以下の化合物が存在する可能性もある。

5.2 陽性

コントロール(C)位置に赤紫色のバンドが出現していることを確認する。各化合物の位置にバンドが出現していないことを確認する。陽性の結果は、カットオフ濃度以上の化合物が含まれていることを意味する。

5.3 無効

通常、コントロール(C)位置に赤紫色のバンドが出現するが、ここにバンドが出現しない時はその検査が無効となる。他の新たなパネルを使い再度検査を実施することが推奨される。

5.4 注意点

各キットには各項目で交差反応を示す化合物濃度が開示されている。取扱説明書に掲載されていない化合物のカットオフ濃度に関しては今のところ不明確である。試料中にマスキング剤として漂白剤やミョウバンが含まれると正しく判定されない。また、尿のpHが3.5以下あるいは11以上の時は正しく判定されないため新たな尿を使い判定することが望ましい。テスト結果が陽性の際は、試料中にカットオフ濃度以上の化合物が含まれる可能性を意

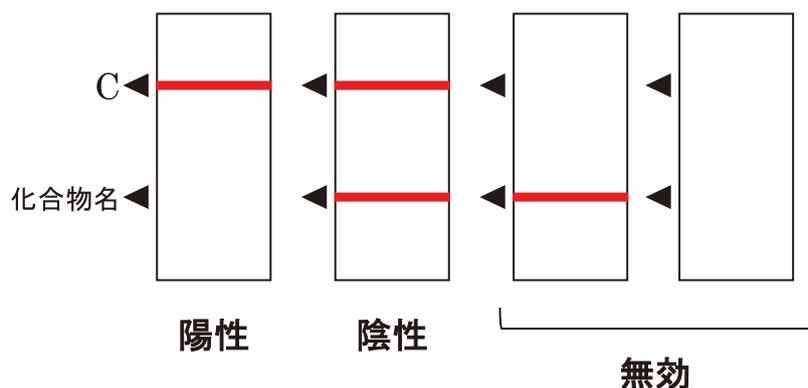


図1 スクリーニング結果の判定

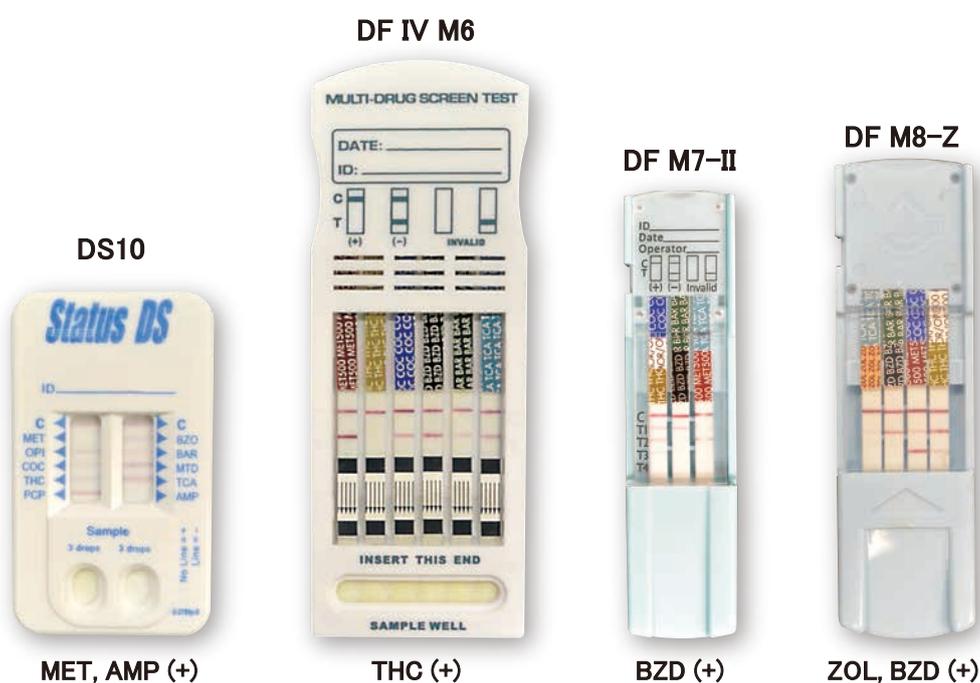


図2 DS10及びDFを用いた実際例のスクリーニング結果

味するが偽陽性の可能性もあるため機器分析で確認する必要がある。DS10及びDFに於いては試料滴下後5～10分以内及び5～7分以内に判定を行う。

これまで多くの施設が乱用薬物スクリーニングキットTriage DOAを使用してきたが、このキットはバンドが出現した時に陽性と判定される¹⁾。DS10やDFとは判定方法が異なるので注意が必要である。

06 カットオフ濃度(カットオフ値)とは

陽性と判断される濃度のことであり多くの乱用薬物のスクリーニングキットに導入されている。検査機関によってカットオフ濃度

が異なるが^{2, 3)}、代表的なカットオフ濃度は、米国のSAMHSA (薬物乱用・精神衛生サービス局: Substance Abuse and Mental Health Services Administration)が設定している濃度である²⁾。SAMHSAは、米国の政府機関のアメリカ合衆国保健福祉省 (United States Department of Health and Human Services, HHS)に含まれる一部局である。通常、このカットオフ濃度以上で陽性となった検体は2次検査の機器分析で確認が行われる。機器分析は主に質量分析計が用いられるが、機器分析によるカットオフ濃度は更に低濃度となる。DS10とDFで設定されている代表的な化合物のカットオフ濃度を表4に提示する。また、DS10とDF以外のスクリーニングキットのカットオフ濃度も様々である⁴⁾。

表4 Status DS10とDRIVEN-FLOWのカットオフ濃度

項目	化合物名	Status DS10 (ng/mL)		DRIVEN-FLOW (ng/mL)
		MET	AMP	MET
覚せい剤		MET	AMP	MET
	D-アンフェタミン	>100,000	1,000	85,000
	D-メタンフェタミン	1,000	>100,000	500
	MDA	>100,000	2,000	50,000
	MDMA	1,000	>100,000	-
ベンゾジアゼピン系		BZO		BZD
	アルプラゾラム	100,000		300
	プロマゼパム	1,250		500
	クロナゼパム	30,000		500
	ジアゼパム	10,000		200
	ロラゼパム	2,500		550
	ニトラゼパム	100,000		250
	トリアゾラム	>100,000		300
バルビツール酸系		BAR		BAR
	アモバルビタール	5,000		2,000
	バルビタール	1,500		1,500
	ペントバルビタール	2,000		250
	フェノバルビタール	5,000		2,200
	セコバルビタール	300		200
三環系抗うつ薬		TCA		TCA
	アミトリプチリン	800		1,000
	イミプラミン	1,000		800
	ノルトリプチリン	1,000		1,000
	プロマジン	5,000		15,000
	トリミプラミン	3,000		2,000
モルヒネ		OPI		MOR
	コデイン	300		300
	モルヒネ	300		300
コカイン		COC		COC
	ベンゾイルエクゴニン	300		300
大麻		THC		THC
	11-nor- Δ^9 -THC-9-COOH	50		50
	Δ^9 -THC	>100,000		10,000
フェンシクリジン系		PCP		-
	フェンシクリジン	25		-
メサドン		MTD		-
	メサドン	300		-

07 偽陽性と偽陰性

偽陽性とは、目的化合物とは別の化合物が交差反応することで陽性を示すことであるが、その交差反応を惹起する原因は、主に構造の一部が目的化合物と類似するためである。一方、原理上は尿中薬物濃度がカットオフ値以下の時は陽性を示さず陰性という結果になるが、濃度に関わらず目的化合物の存在を確認する目的からすると偽陰性といえる。もちろん、カットオフ値を基準とした観点からは、その濃度以下で陰性を示すことはキットとしては正しい結果である。アルコールや乱用薬物の取り締まり目的の場合は、取り締まる濃度基準を設けているためカットオフ値以下は陰性判定としても問題はないが、検視や救急の現場としては、カットオフ値以下の目的化合物の存在自体が重要になることもあるため、陰性結果(ここでは偽陰性)は簡単に無視できない。特に覚醒剤に於いては、DS8のようなアンフェタミンのみに特化したキットでは主たる化合物のメタンフェタミンが捉えられないため、覚醒剤を摂取していたか否かの判断では偽陰性となる確率を高めてしまう。よって、メタンフェタミンが捉えられるDS10やDFシリーズの方が本邦では実用的である。

08 実際例における比較

東海大学医学部付属病院高度救命救急センターへ急性薬物中毒で搬送された症例の中でTriage DOAを実施し陽性となった症例の尿をDS10及びDFに適用した。更に液体クロマトグラフ質量分析計及びガスクロマトグラフ質量分析計を用いて尿中の薬物成分の分析を行い陽性となった起因化合物の解析を行った。本テーマを実施するにあたり東海大学医学部臨床研究審査委員会の承認(19R-125)を受けた。

8.1 アンフェタミン(AMP)とメタンフェタミン(MET)

SAMHSAのAMPとMETのカットオフ濃度は、500ng/mLである。DS10は、AMPとMETが独立した項目でありカットオフ濃度はD-AMPとD-MET共に1,000ng/mLであるが、表4に記載のとおりそれぞれに対するD-METとD-AMPのカットオフ濃度は100,000ng/mL以上と、各々の特異性は高い。一方、DFの項目はMETのみであるがd-METのカットオフ濃度はSAMHSAと同じ500ng/mLである。なお、d-AMPでも交差反応を示すが85,000ng/mL以上とかなり高濃度である(表4)。実際に筆者らが覚醒剤乱用者の尿を試料としてDS10及びDFでテストしてみたところ両キット共遜色ない結果が得られた。DS10では覚醒剤乱用者尿中に、代謝物AMPの割合が多ければMET、AMPどちらも陽性となり使用の裏付けが容易となるが、METのみ陽性の場合もあった。一方、DS8の項目はAMPのみでカットオフ濃度も1,000ng/mLであったことからテストした試料の中でAMP陽性を示した検体は限られた。しかし、軽度の腐敗に於いてもAMPが陽性となる可能性もあるため注意を要する。

METおよびAMPの構造類似化合物として3,4-メチレンジオ

キシアンフェタミン(MDA)や3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン(MDMA)が麻薬として取り扱われている。これらに対するカットオフ濃度は、DS10のMETで各々>100,000ng/mL、1,000ng/mLである。従って、MDMA乱用者は、尿中のMDMAがMETに対して陽性反応を示す。同様にDFに於いてMDAのカットオフ濃度は50,000ng/mLとあまりにも高濃度であり実用的な濃度とは言えない。MDMAに関してはシングルタイプのDF MDMAテストにおいてMDMAのカットオフ濃度はSAMHSAと同じ500ng/mL、MDAは2,000ng/mLに設定されており、d-MET、d-AMPは共に100,000ng/mL以上まで交差反応を示さないことが確認されているためこちらの方が実用的である。

8.2 腐敗性アミンによる影響

DS10、DF共に対象試料は新鮮尿とされているが、法医学領域ではしばしば死後時間が経過した試料を扱うことがある。死後、時間経過と共に尿中にはフェネチルアミンなどの腐敗性アミンが産生する。それらはアンフェタミンと類似した構造を持っているため、このような尿をTriage DOAでスクリーニングするとAMPが陽性となることが知られている。参考としてTriage DOAのAMP項目のカットオフ濃度は、METで1,000ng/mL、AMPで650ng/mLである。しかし、実際の覚醒剤による陽性と区別ができないため機器分析が必要となる。そこでフェネチルアミンの標準品試薬をブランク尿に添加してDS10とDFに適用したところDS10では低濃度ではAMPのみ、高濃度ではAMPとMETが偽陽性を示した。一方、DFではフェネチルアミンに対して陽性を示さなかった。実際の腐敗尿を用いて確認したところ同様の結果が得られた。DS10に於いてAMPとMETが共に陽性を示した際は、覚醒剤による陽性と識別するために機器分析が必要と思われる。

8.3 ベンゾジアゼピン系化合物(BZO/BZD)

DS10とDF共にオキサゼパムのカットオフ濃度300ng/mLが基準となっているが他の化合物のカットオフ濃度はキットにより異なる。表4に各キットにおけるカットオフ濃度を記載したがDS10の方がDFよりカットオフ濃度が高めに設定されている。しかし、実際の急性薬物中毒症例の検体を用いて各キットでテストしたところ遜色ない結果が得られた。更にDS10はエチゾラム(商品名:デパス)と交差反応を示すがDFは交差反応を示さない点があるためカットオフ濃度だけで簡単に製品評価は行えない。

8.4 ゾルピデム(ZOL)

DF M8-Zのみゾルピデム(商品名:マイスリー)に対応している。ゾルピデムの代謝物に対しても交差反応を示すため、デートレイブドラッグとして使われた際にも迅速なスクリーニングが行えると思われる。

8.5 バルビツール酸(BAR)

DS10のカットオフ濃度がDFよりやや高めだが実際の中毒症例に応用したところ両キットは遜色ない結果を示した。また、両キット共フェニトイン(商品名:アレビアチン)に対して偽陽性を示した。

8.6 三環系抗うつ薬 (TCA)

ほぼ同じようなカットオフ濃度に設定されている。両キット共、非定型抗精神病薬のクエチアピン(商品名:セロクエル)に対して交差反応を示した。この偽陽性はこれまでに幾つか報告されている⁵⁾。同様にセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬(SNRI)と言われる抗うつ薬のミルナシプラン(商品名:トレドミン)に対しても交差反応を示した。

8.7 モルヒネ(OPI/MOR)

本邦では、モルヒネやヘロインの乱用によって陽性となることは極めて稀である。多くは風邪薬に含まれるコデインやジヒドロコデイン摂取後に陽性を示すことが多い。Triage DOAでは、OPIが陽性を示す。同様にDS8、DS10、DF M7-II、DF M8-Zに於いてもOPIまたはMORが陽性となるがDF M6はオピエイトの項目がない。

8.8 大麻、コカイン、フェンシクリジン、メサドン

近年、本邦に於いて大麻所持や栽培による取り締まりが散見される。同様にコカインの乱用による摘発も報告されているが、実際に検出される症例は覚醒剤に比べ少ない。大麻やコカインは、体内における代謝が早い主要代謝物のTHC-COOHやベンゾイルエクゴニンが反応対象化合物となる。Triageに於いてTHCが陽性となった実際の症例に対してもDS10、DF共にTHCが陽性を示し尿中からもTHC-COOHを確認し有効性が示された。

フェンシクリジンに関しては、危険ドラッグが乱用された時期に陽性を示した類似物質が出回ったが危険ドラッグの取り締まり以降の検出事例は今のところない。また、メサドンに対してもこれまでに検出した事例はなかった。

09 | おわりに

本稿では新規尿中乱用薬物スクリーニングキットのDS10とDFの評価を行った結果について概説した。DS10に於いてはエチゾラムを含めより多くのベンゾジアゼピン系化合物と交差反応を示した。DFは全体的に展開も早く腐敗アミンに対して影響を受けない。またDF M8-Zに於いては非ベンゾジアゼピン系のゾルピデムが加えられ実際の試料に対して交差反応を示すことが確認できた。これまでに長期間に渡り利用されていたTriage DOAと比較してもこれらのキットは十分に利用できるキットであり今後の利用現場に対して有意義な結果をもたらすと期待している。

参考文献

- 1) 山本理絵, 齊藤 剛, 青木弘道, 飯塚進一, 秋枝一基, 猪口貞樹, 日救急医学会誌 **25** (12), 865-873 (2014).
- 2) Federal Register/vol. 80, No. 94/Friday, May 15, 2015/Notices, 28101-28151, <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2015-05-15/pdf/2015-11524.pdf> (参照 2020-5-20).
- 3) The European Workplace Drug Testing Society, European Laboratory Guidelines for Legally Defensible Workplace Drug Testing (www.ewdts.org/data/uploads/documents/ewdtsguidelines.pdf#search=%27drugs+cutoff+concentration+europe%27) (参照 2020-5-20).
- 4) M. D. Krasowski, A. F. Pizon, M. G. Siam, S. Giannoutsos, M. Iyer, S. Ekins, *BMC Emergency Med.* 9:5 (2009).
- 5) M. A. Cerullo, A. A. Albertz, J. N. Bell, R. M. Anthenelli, M. P. DelBello, *Am. J. Psychiatry* **165**(7), 919-920 (2008).

キーワード解説

ポジティブリスト制度

平成15年の食品衛生法改正に基づき、食品中に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品(農薬等)について、一定の量を超えて農薬等が残留する食品の販売等を原則禁止するというポジティブリスト制度が5月29日から施行されました。

残留農薬等に関するポジティブリスト制度では、原則、すべての農薬等について、残留基準(一律基準を含む)を設定し、基準を超えて食品中に残留する場合、その食品の販売等の禁止を行うこととしたものです。
(厚生労働省HP 参照)

LC/MS

液体クロマトグラフ(LC)と質量分析計(MS)を接続した装置です。LCは、液体を移動相として用いるクロマトグラフの総称で、混合物試料の成分分離に用いられます。MSは、イオン源でイオン化された(イオンになった)分子や原子(原子団)を、真空中に保たれた分析部で質量分離し、検出器に衝突したイオンの量を電流値に変換し、質量電荷比(m/z)として検出する分析装置です。
(液クロ武の巻 参照)

食の安全を守るのは 分析試薬

幅広い食品検査ニーズに対応する試薬ラインナップ



試薬・溶媒

超高純度試薬
(Primepure®, Ultrapur)
クロマト溶媒(GC用, LC用)
残留農薬試験用試薬 など



標準物質・標準品

農薬類
動物用医薬品
貝毒, カビ毒, 天然物,
食品添加物, 脂肪酸,
器具・容器包装 など



クロマトグラフィー 消耗品・前処理剤

カラム(HPLC用, GC用)
- Mightysil
- Silver column KANTO
その他消耗品
(シリンジ, フィルター, シリカゲル,
固相抽出カラム など)



微生物培養 関連製品

培地
標準菌株
検査室消耗品 など

※無断転載および複製を禁じます。