
短報

オキシテトラサイクリンの消長に影響する要因について

寺西 大

Influential Factors of Titer Decrement in Oxytetracycline

Hiroshi TERANISHI

はじめに

抗生素質は、ヒトの感染症の治療ばかりでなく、家畜の生産性向上の為、現在非常に広く利用されており、その生体時における代謝・排泄のメカニズム及び消長動態については、かなり良く研究されているが、家畜が薬剤の残留したまま屠殺された場合、屠体中におけるその後の薬剤の消長については殆ど調査されていない。したがって、食肉が流通している間の薬剤濃度の変動は不明である。また、食品検査における信頼性確保(GLP)が法制化されるにあたり、検体中の薬剤の変動に関するデータが必要とされていた。従来、抗生素質の検査は抗菌活性を応用したマイクロバイオアッセイによる定性的な検査が公定法¹⁾であったが、平成8年7月より平成7年12月26日付厚生省告示第218号に基づくオキシテトラサイクリン(OTC)の高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を使用した定量分析が導入された。このことにより成分規格が設定され、一定量の残留が容認されるようになった。今後、抗生素質の化学分析による定量試験は対象が順次増加することが見込まれている。GLPでは、分析試験については試薬管理から分析手順の確認に至るまで、項目ごとに非常に細かい規定があるが、検体の保存条件や検査のタイミングについては詳細な規定はない。以上のことから、包括的な意味での信頼性確保を言うならば分析に関するもののみでなく、検体中にお

ける検査対象物質の消長動態について把握したうえで、保存条件等検体の取り扱いに関する規定が必要である。そこで、家畜に汎用される抗生素質の1つであるOTC濃度の検体中の変動を想定し、試験管内における基礎的な検討を行ったので報告する。

材料及び方法

OTC 標準品：高速液体クロマトグラフ用オキシテラサイクリン塩酸塩標準品（和光純薬）を使用した。

OTC 標準溶液：オキシテラサイクリン10.0 mg(力値)に相当する塩酸オキシテラサイクリン標準品を少量の0.1M 塩酸に溶解した後、精製水を加えて10mlとした。

1M イミダゾール緩衝液：イミダゾール（試薬特級 和光純薬）68.08g、酢酸マグネシウム（試薬特級 和光純薬）10.72g、EDTA 2Na（試薬特級 和光純薬）0.37gを約800mlの精製水に溶解し、酢酸（試薬特級 和光純薬）を加えてpHを7.2に調整後、さらに精製水を加えて1,000mlとした。

測定装置：pH メーターは pH METER D-21（堀場製作所）を使用した。HPLC は HP1100 SERIES 及び蛍光検出器は1046A (HEWLETT PACKARD) を使用した。

OTC の食肉中での消長を検討する目的で、屠殺後の時間経過に伴うウシ筋肉中におけるpHの変動²⁾を考慮し、0.1M リン酸緩衝液³⁾を用いて5.7, 6.1, 6.3, 6.5, 6.9及び7.3までの6段階のpHを設定した。また、一般的に食肉が流通する場合や、食肉が検体として保存されるときの条件と考えられる-25, 4, 10及び25°Cまでの4段階の温度群を設定した。これらの条件下でのOTCの消長を公定法の検量線の中間濃度であり力価定量の信頼性が高いと考えられる0.4μg/mlの初期添加量で1, 3, 7及び14日目の時間経過時に測定した。なお、測定は、平成7年12月26日付厚生省告示218号に準拠して行った。

HPLC 測定条件：カラムは YMC Pack ODS-AM AM-312 6mmID × 150mm (YMC)，移動相は1M イミダゾール緩衝液：メタノール (77:23)，流速1.0ml/min，測定波長 励起380nm, 蛍光520nm，カラム温度40°Cで行った。

統計解析：実験はそれぞれの条件で3検体ずつを使用して3回繰り返し行い、各条件下で得られたデータは、一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合に、測定時に調製した標準溶液を対照として Dunnett の多重比較検定⁴⁾を行って、どのポイントで平均値の有意な差が認められたかを検討した。統計解析には Windows上で作動する SPSS Ver. 11.0J を使用した。

神奈川県衛生研究所 食品獣疫部

〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

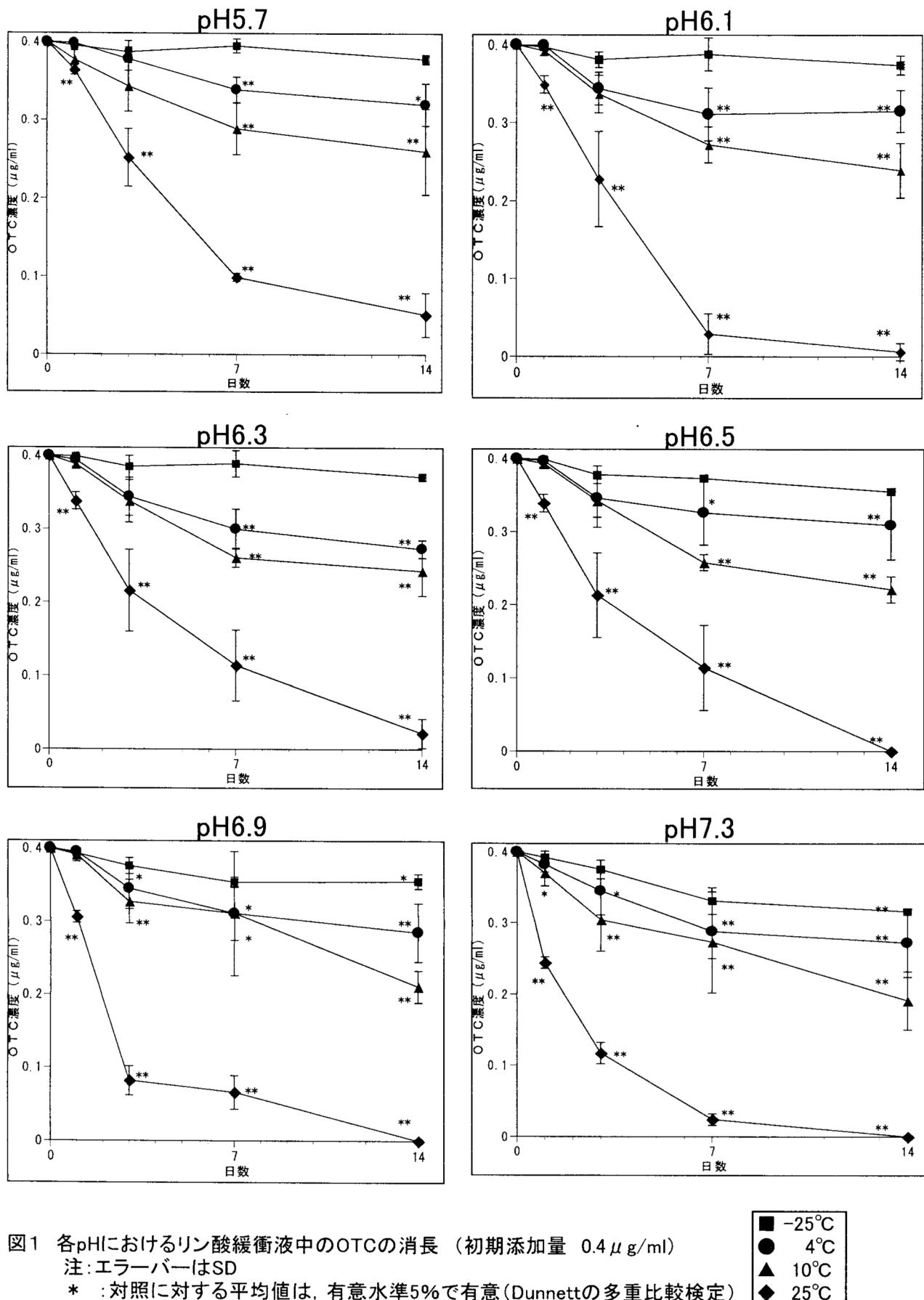
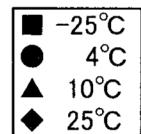


図1 各pHにおけるリン酸緩衝液中のOTCの消長（初期添加量 0.4 μg/ml）

注: エラーバーはSD

*: 対照に対する平均値は、有意水準5%で有意(Dunnettの多重比較検定)

**: 対照に対する平均値は、有意水準1%で有意



結果及び考察

設定した温度条件下では、OTCはpHが高くなるにつれ、残存力価の低下が早まることが確認された。また、設定温度が高いほど残存力価の低下が早まることが判明した(図1)。

各pH条件で経過日数ごとに一元配置分散分析を行ったところ、すべての条件下において有意水準1%で有意となった。対照の標準溶液と各温度群の平均値が、どのポイントで有意な差が認められるかを検証するためにDunnettの多重比較検定を行った結果、pH5.7の場合、経過1日目及び3日目では-25~10°Cの温度群まで有意差を認めなかつたが、25°Cの温度群では1日目からすでに有意水準1%で有意差が認められた。7日目以降4°C及び10°Cも有意水準1%で有意差が認められた。14日間の保存期間すべてで有意差を認めなかつたのは、-25°Cの温度群のみであった。pH6.1の場合にも1日目及び3日目では-25~10°Cの温度群まで有意差を認めなかつたが、25°Cの温度群では1日目からすでに有意水準1%で有意差が認められた。pH5.7の場合と同様に14日間の保存期間すべてで有意差を認めなかつたのは、-25°Cの温度群のみであった。pH6.3及び6.5の条件でも有意差出現のパターンは同様であった。ただし、pHが高くなるにつれ残存力価の低下が早まる傾向が認められた。pH6.9では、1日目では-25°C~10°Cの温度群で有意差を認めなかつたが、3日目において4°Cの温度群で有意水準5%で有意な差が検出された。10°Cでは有意水準1%で有意差が認められた。7日目も同様であったが、10°Cの温度群での有意水準は5%であった。-25°Cでは7日目まで有意差は認められなかつたが、14日目には有意水準5%で有意差が認められた。25°Cの温度群ではすべての保存期間で有意水準1%で有意であった。pH7.3の場合には1日経過後に有意差を認めない温度群は-25°C及び4°Cのみであり、3日目からは4°Cにおいても有意差が認められた。-25°Cでは

7日目まで有意差が認められなかつたが、14日目では有意水準1%で有意差が認められた。

以上のことをまとめると、Dunnettの多重比較検定によりpH5.7~6.5までの各群では-25°Cの温度群では14日目まで有意差を認めなかつた。4°C及び10°Cでは、3日目まで有意差が認められなかつた。25°Cでは1日目からすでに有意差が認められた。また、pH6.9及びpH7.3の各群では-25°Cの温度群では7日目まで有意な差を認めなかつたが14日目には有意差が認められた。4°Cの温度群では3日目以降有意差が認められた。25°Cでは1日目からすでに有意差が認められた。

したがって、検体中のOTCの減少はpHや、保存温度条件の影響を強く受けることから、定量試験は出来る限り速やかに行う必要があり、この結果を食肉等の検体にそのまま当てはめることはできないが、ほぼ同様な減少パターンが認められると仮定するならば、保存は-25°Cで行い、pHの条件によっては7日目以降に有意差が認められることを考慮し、可及的速やかに定量試験を実施する必要があると思われた。

今後は、残留物質本体ばかりでなく、その中間代謝産物の毒性調査や定量も視野に入れた検討も必要と考えられる。

(平成14年7月24日受理)

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課：畜産物中の残留物質検査法 第1集, (1977)
- 2) 佐藤 信監修：食品の熟成, 555-559, 光琳, (1984)
- 3) 泉 美治, 中川八郎, 三輪谷俊夫：生物化学実験のてびき, 2タンパク質の分離・分析法, 101, 化学同人, (1985)
- 4) Jerrord H. Zar : Biostatistical Analysis, Third edition, 220-222, Prentice Hall, (1996)