肝蛭駆除剤(トリブロムサラン、オキシクロザニドおよびブロムフェノホス)の乳牛への投与後の血漿中濃度および乳汁への移行

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	藤沼,賢司 竹葉,和江 鎌田,国広
発行元	[日本食品衛生学会]
巻/号	47巻6号
掲載ページ	p. 249-253
発行年月	2006年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

報　文

肝蛭駆除剤（トリブロムサラン，オキシクロザニドおよびブロムフェノホス）の乳牛への投与後の血漿中濃度および乳汁への移行

（平成18年3月29日受理）

藤沼賢司*,†　竹葉和江*　鎌田国広*

Concentration in Plasma and Excretion in Milk of Lactating Cows after Oral Administration of Tribromsalan, Oxyclozanide and Bromofenofos

Kenji FUJINUMA†, Kazue TAKEBA and Kunihiro KAMATA

(Tokyo Metropolitan Institute of Public Health:
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan;
† Corresponding author)

The fasciolicides tribromsalan (TBS), oxyclozanide (OCZ) and bromofenofos (BFF) were orally administered to three lactating cows. The concentrations of TBS, OCZ and the BFF metabolite dephosphate bromofenofos (DBFF) in plasma, and the excretion of these compounds in milk were determined by high-performance liquid chromatography.

In plasma, the concentrations of TBS, OCZ and DBFF reached maximum at about 1.0 day and the compounds remained detectable until 5.7, 7.4 and 15.1 days after administration, respectively. The detection limits of these compounds in plasma were 10, 2 and 2 ppb, respectively.

In milk, the concentrations of TBS, OCZ and DBFF reached maximum at about 24 hours and the compounds remained detectable until 30-47, 30-47 and 78-119 hours after administration, respectively. The detection limits of these compounds in milk were 5, 1 and 1 ppb, respectively.

The residence times of TBS and BFF were very close to the withdrawal times of the fasciolicides.

(Received March 29, 2006)

Key words: 肝蛭 liver fluke; 肝蛭駆除剤 fasciolicide; トリブロムサラン tribromsalan; オキシクロザニド oxyclozanide; ブロムフェノホス bromofenofos; 脱リン酸ブロムフェノホス dephosphate bromofenofos; 血漿 plasma; 乳 milk

はじめに

肝蛭症は，吸虫の1種である肝蛭（カンテツ，*Fasciola*属）の肝臓内寄生によってひき起こされる疾病で，牛，羊，ヒトなどのすべての哺乳動物に感染する人獣共通感染症で世界に広く分布している[1]．わが国では家畜衛生の向上や飼育環境の変化から牛の肝蛭寄生率は年々低下している．牛に肝蛭が感染あるいは寄生しても，通常，重篤な症状が現れることは少ないが，食欲不振，下痢，痩削などの症状が見られる．特に，乳牛の場合はさらに乳量，乳質の低下などの症状が見られ[2]，経済的な損失が大きいことから種々の対策がとられている．

肝蛭症の予防，治療には駆除薬の投与が行われ，現代の畜産にとって動物用医薬品の使用は不可欠のものになっている．しかし，その一方で，食品衛生上の弊害として，投与薬剤の食品への移行あるいは残留が懸念されている．

現在わが国で使用されている肝蛭駆除剤は，ビチオノール，ブロムフェノホス，オキシクロザニド，トリブロムサラン，ニトロキシニルおよびトリクラベンダゾールの6剤である．

著者らは，これまでに動物用医薬品の残留実態調査で肝蛭駆除剤のニトロキシニル[3]，ブロムフェノホスの代謝物である脱リン酸ブロムフェノホス[4]が生乳および牛乳中から検出された事例を報告してきた．

そこで今回，肝蛭駆除剤の生乳あるいは牛乳への残留原因を把握するため，トリブロムサラン，オキシクロザニドおよびブロムフェノホスの3薬剤について乳牛に投与し，血漿および乳汁中への移行，残留を追跡調査したところ，若干の知見を得たので報告する．

† 連絡先
* 東京都健康安全研究センター：〒169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

Table 1. Withdrawal Time, Dosage and Administration Route of Fasciolicides

Fasciolicides	Withdrawal time		Dosage (mg/kg)	Route
	Cows (days)	Milk (hr)		
Tribromsalan	6	48	15–30	Oral
Oxyclozanide	14	96	10*	Oral
Bromofenofos	21	120	12	Oral

*Up to 3.4 g per cow

実験方法

1. 投与薬剤

次の市販動物用医薬品を用いた.

1) トリブロムサラン

品名: トリブロムサラン純末“デラファックゴールド”

製造元: フジタ製薬株式会社

性状: 純末

2) オキシクロザニド

品名: オキシクロザニド経口投与剤“カンパス”

製造元: フジタ製薬株式会社

性状: オキシクロザニド 3.4%含有懸濁水剤

3) ブロムフェノホス

品名: ブロムフェノホス“アセジスト細粒”

製造元: 川崎三鷹製薬株式会社

性状: 細粒, ブロムフェノホスとして 0.24 g/g

なお, 投与薬剤について動物用医薬品用具要覧[5]で規定されている牛, 牛乳の休薬期間, 用量および用法を Table 1 に示した. オキシクロザニドの用量は, 体重 1 kg 当たり, 10 mg であるが, 1 頭当たりの上限が 3.4 g と決められている.

2. 実験動物

健康状態の良好な体重 482～763 kg のホルスタイン種の乳牛 4 頭を用いた.

3. 投与方法および投与量

1 薬剤の投与試験に 3 頭の乳牛を用いた. 市販動物用医薬品に記載されている用法および用量に従い, 薬剤を水溶液または懸濁液としビール瓶で強制的に経口投与を行った. 3 薬剤の投与実験には同一乳牛を用い, 各薬剤は 3 週間間隔で投与を行った. なお, ブロムフェノホスの投与実験には, 実験開始前に No. C の乳牛の乳汁の出が悪くなったため, 新たな No. D の乳牛を用いた.

投与実験に用いた乳牛の実験開始時の体重および体重 1 kg 当たりの投与量を Table 2 に示した.

トリブロムサランの投与量は, 体重 1 kg 当たり, 平均 30.0 mg で, 用量に記載されている量の上限となる量を投与した.

オキシクロザニドの場合は, 1 頭当たり, 上限量の 3.40 g を投与し, 体重 1 kg 当たりの投与量は, 4.46～5.89 mg であった.

Table 2. Dosages of Fasciolicides

Fasciolicides	Cow indentity	Body weight (kg)	Dosage (mg/kg)
Tribromsalan	A	635	30.0
	B	580	30.0
	C	762	29.9
	Average	659	30.0
Oxyclozanide	A	642	5.30 (3.40 g/cow)
	B	577	5.89 (3.40 g/cow)
	C	763	4.46 (3.40 g/cow)
	Average	661	5.14 (3.40 g/cow)
Bromofenofos	A	617	11.7
	B	573	11.7
	D	482	12.0
	Average	557	11.8

ブロムフェノホスの場合の投与量は, 体重 1 kg 当たり, 平均 11.8 mg で, 用量記載の量のほぼ上限となる量を投与した.

4. 血漿および乳汁の採取

薬剤を乳牛に投与後, 18 日間, 経日的に, 血液および乳汁を採取した.

薬剤投与は 10 時に行った. 採血は薬剤投与日は 16 時 30 分, 翌日以降は 9 時 30 分の 1 日に 1 回行った. また, 採乳は薬剤投与日は 18 時, 翌日以降は 9 時と 18 時の 1 日に 2 回行った.

血液はヘパリン処理し, 遠心分離後, 血漿成分を分画した. 血漿, 乳汁は分析時まで凍結保存した.

5. 分析方法

投与後の血漿および乳汁中の薬剤の分析は, 著者らの方法[6]に準じて行った.

すなわち, 試料より, アセトニトリルで抽出し, ヘキサンで脱脂後, ジクロロメタンを加え水層を分離した後, ジクロロメタン層を分取した. ジクロロメタンを留去した後, C18 カートリッジカラム (Bond Elute C18, 500 mg/3 mL) によりクリーンアップしたものを HPLC 用の試料溶液とした.

HPLC の分析条件を Table 3 に示した. カラムは, ODS 系を用いた. 移動相は, pH 3.0 になるように調整したアセトニトリル, 0.05 mol/L リン酸カリウム混液を用い, 薬剤が 15 分前後に溶出するようにその混合比を調整した.

検出器は, トリブロムサランの場合は, UV 検出器, オキシクロザニド, 脱リン酸ブロムフェノホスの場合は, ECD 検出器を用いた.

なお, 本法によるトリブロムサラン, オキシクロザニドおよび脱リン酸ブロムフェノホスのそれぞれの定量下限値は, 血漿の場合 10, 2, 2 ppb, 乳汁の場合 5, 1, 1 ppb であった.

Table 3. HPLC Conditions for the Determination of Fasciolicides in Plasma and Milk

Column	:	Kaseisorb LC ODS-300-5, 4.6 mm i.d.×250 mm
Mobile phase	:	Tribromsalan　CH_3CN·0.05 mol/L KH_2PO_4=70 : 30, pH 3.0
		Oxyclozanide　CH_3CN·0.05 mol/L KH_2PO_4=55 : 45, pH 3.0
		Dephosphate bromophenophos　CH_3CN·0.05 mol/L KH_2PO_4=60 : 40, pH 3.0
Flow rate	:	1.0 mL/min
Column temp.	:	40℃
Detection	:	Tribromsalan　UV 280 nm
		Oxyclozanide and dephosphate bromofenofos
		ECD　Detector 1: 0.20 V
		Detector 2: 0.55 V
		Guard cell: 0.60 V

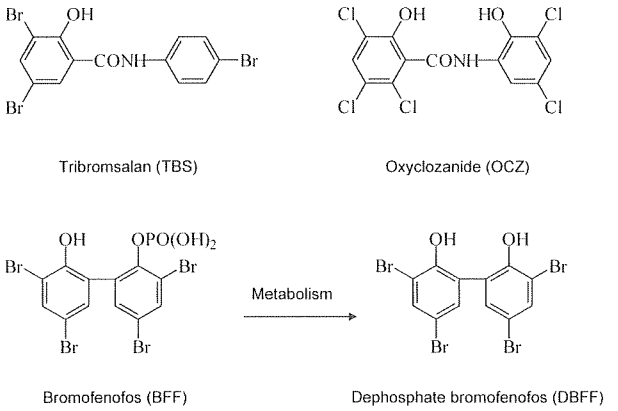

Fig. 1. Structures of fasciolicides

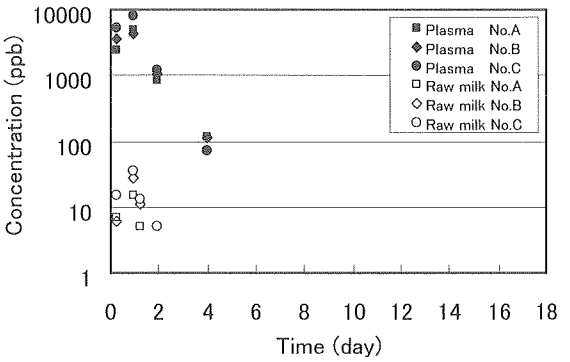

Fig. 2. Concentrations of tribromsalan in plasma and raw milk samples of three cows after oral administration of tribromsalan

After administration, blood samples were collected at 0, 1, 2, 4, 7, 11, 15 and 18 days and milk samples were collected twice every day for 18 days. Tribromsalan in plasma was not detected on the 7th day.

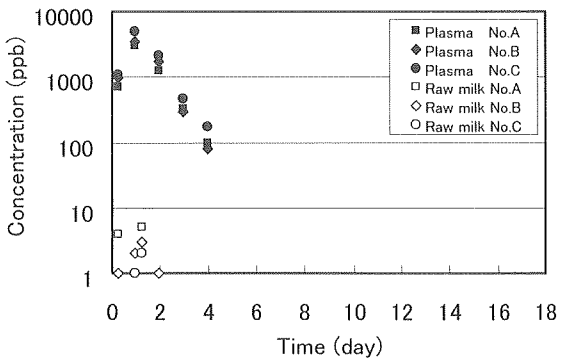

Fig. 3. Concentrations of oxyclozanide in plasma and raw milk samples of three cows after oral administration of oxyclozanide

After administration, blood samples were collected at 0, 1, 2, 3, 4, 7, 11 , 14 and 18 days and milk samples were collected twice every day for 18 days. Oxyclozanide in plasma was not detected on the 7th day.

6. HPLC 分析用標準品

1) トリブロムサラン：東京化成工業株式会社製
2) オキシクロザニド：Dr. Ehrenstorfer GmbH 製
3) 脱リン酸ブロムフェノホス：農林水産省動物医薬品検査所からの分与品

結果および考察

トリブロムサラン，オキシクロザニド，ブロムフェノホスおよびブロムフェノホスの代謝物である脱リン酸ブロムフェノホスの構造式を Fig. 1 に示した．

ブロムフェノホスは，投与後，直ちに脱リン酸ブロムフェノホスに代謝されることが報告されているため[7]，代謝物である脱リン酸ブロムフェノホスを測定対象とした．

1. 投与薬剤の血漿および乳汁中の濃度推移

1) トリブロムサラン

トリブロムサランの血漿および乳汁中の濃度推移を Fig. 2 に示した．なお，縦軸の濃度は，対数で示した．

血漿中のトリブロムサラン濃度は，投与後約 24 時間で最大となり，平均値 5,700 ppb であった．その後は，指数関数的に減少し，投与後 4 日目まで検出され，次の採取日の 7 日目には検出されなかった．

乳汁中のトリブロムサラン濃度は，多少ばらつきはあるものの，投与後，ほぼ 24 時間で最大となり，その濃度は，15～35 ppb であった．2 日目に 1 頭から 5 ppb のトリブロムサランが検出されたが，3 日目以降は検出されなかった．

2) オキシクロザニド

オキシクロザニドの血漿および乳汁中の濃度推移を Fig. 3 に示した．

血漿中のオキシクロザニド濃度は，投与後約 24 時間で最大となり，平均値 3,800 ppb であった．その後は指数

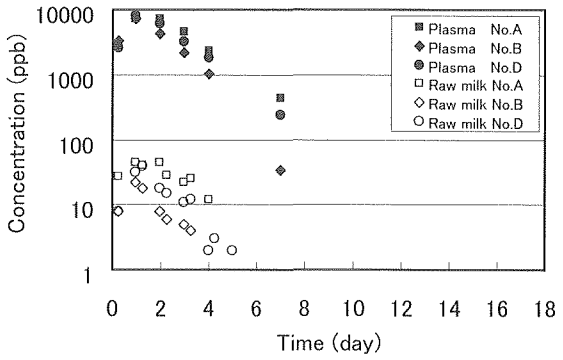

Fig. 4. Concentrations of dephosphate bromophenophos in plasma and raw milk samples of three cows after oral administration of bromophenophos

After administration, blood samples were collected at 0, 1, 2, 3, 4, 7, 15 and 18 days and milk samples were collected twice every day for 18 days. Dephosphate bromophenophos in plasma was not detected on the 15th day.

関数的に減少し，投与後4日目まで検出され，次の採取日の7日目には検出されなかった．

乳汁中のオキシクロザニド濃度は最大でも5 ppbと，極めて低かった．また，3日目以降は検出されなかった．

3) 脱リン酸ブロムフェノホス

脱リン酸ブロムフェノホスの血漿および乳汁中の濃度推移をFig. 4に示した．

血漿中の脱リン酸ブロムフェノホスの濃度は，先の2薬剤と同様，投与後約24時間で最大となり，平均7,500 ppbであった．その後は指数関数的に減少し，投与後7日目まで検出され，次の採取日の15日目には検出されなかった．

乳汁中の脱リン酸ブロムフェノホスは，5日目に1頭から検出されたが，6日目以降は検出されなかった．

2. 投与薬剤の血漿および乳汁中の残留期間

今回の投与試験によって得られた結果を基に，トリブロムサラン，オキシクロザニドおよび脱リン酸ブロムフェノホスの血漿および乳汁中の残留期間を算出し，Table 4に示した．

血漿中の残留期間は，濃度推移の各グラフ(Fig. 2～4)において，3薬剤とも薬剤の消失相においてほぼ直線性が認められたことから，濃度の対数と投与後の時間との回帰式を求め，定量下限値に達するまでの時間を算出し，これを残留期間として3頭の平均値で示した．

一方，乳汁中の残留期間は，検出量が少なく回帰式を求めることができなかったため，それぞれの薬剤の最終の検出時間を残留期間とした．

その結果，Table 4に示すようにいずれの薬剤も，血漿中の残留期間は牛の休薬期間内にあり，また，乳汁中の残留期間は牛乳の休薬期間内にあった．しかし，牛乳の休薬期間が48時間と定められているトリブロムサランは，乳汁から30～47時間まで検出され，また，牛乳の休薬期間が120時間と定められているブロムフェノホスは，脱リン酸ブロムフェノホスが乳汁から78～119時間まで検出された．このように乳汁中の残留期間には個体差があり，さらに，牛乳の休薬期間に非常に近い場合が認められ，用量に対する休薬期間の設定に余裕がない薬剤があることが分かった．

著者らは，肝蛭駆除剤の残留実態調査で生乳および牛乳中からの脱リン酸ブロムフェノホスの検出事例を報告してきたが，今回の投与実験結果から，薬剤の過剰使用あるいは休薬期間の不履行などがその残留原因として考えられた．

したがって，生乳および牛乳中への薬剤の移行，残留を防止するためには，生産者が用法，用量を遵守し，十分な休薬期間を置くことが重要である．さらに安全な生乳および牛乳の供給確保には，残留実態調査を継続的に実施し，監視指導を行っていくことも大切であると考える．

ま と め

家畜の感染症の予防，治療あるいは成長促進を目的に，各種の動物用医薬品が使用され，投与薬剤の食品への移行あるいは残留が食品衛生上の問題として懸念されている．

畜産食品の安全性を確保するために，すでに約30種類の動物用医薬品について食品中の残留基準値が設定されている．平成18年5月には，すべての動物用医薬品に食品中の暫定基準値が設定（いわゆるポジティブリスト制度導入）される予定となっている[8]．

今回，著者らは，乳牛に肝蛭駆除剤として使用されているトリブロムサラン，オキシクロザニドおよびブロムフェノホスについて，東京都農林総合研究センター（旧 東京都畜産試験場）との研究協力により，投与試験を行い，こ

Table 4. Duration of Excretion and Detection Limits of Tribromsalan, Oxyclozanide and Bromofenofos in Plasma and Milk

Fasciolicides	Cows	Plasma		Milk		
	Withdrawal time (days)	Excretion duration (days)	Detection limit (ppb)	Withdrawal time (hr)	Excretion duration (hr)	Detection limit (ppb)
Tribromsalan	6	5.7	10	48	30–47	5
Oxyclozanide	14	7.4	2	96	30–47	1
Bromofenofos	21	15.1*	2*	120	78–119*	1*

*As dephosphate bromofenofos

れらの薬剤の血漿中および乳汁への移行，残留について調査を行った．

その結果，血漿中のトリブロムサラン，オキシクロザニドおよびブロムフェノホス（代謝物である脱リン酸ブロムフェノホスを測定）は，ほぼ24時間後に最大濃度に達した後，指数関数的に減少した．また，乳汁中の3薬剤についても，血漿とほぼ同様の傾向を示した．さらに，トリブロムサランおよびブロムフェノホスについては，休薬期間と実際の残留期間の差が極めて小さいことが明らかになった．

謝　辞

本研究は，東京都健康安全研究センターと東京都農林総合研究センターとの研究協力により実施されたものである．ここに，関係の方々に深謝いたします．また，動物用医薬品の投与，血液，乳汁試料の採取，調製にご協力いただいた大久保光行氏，冨田恭正氏に深謝いたします．

文　献

1) Miyazaki, I., Toh, Y., "Jinchiku Kyotsu Kiseichu Sho", Fukuoka, Kyushu Daigaku Shuppankai, 1988, p. 243–253. (ISBN 4-87378-200-7)
2) 農林省家畜衛生試験場監修“カラー版・ウシの病気”東京，(社)家の光協会，1978, p. 142–150. (ISBN 2061-51214-0301)
3) Takeba, K., Matsumoto, M., Determination of nitroxynil in cow milk by reversed-phase high-performance liquid chromatography with dual-electrode coulometric detection. J. Chromatogr., **596**, 67–71 (1992).
4) Takeba, K., Itoh, T., Matsumoto, M., Determination of dephosphate bromofenofos in milk by liquid chromatography with electrochemical detection. J. AOAC Int., **77**, 904–908 (1994).
5) 日本動物薬事協会編“動物用医薬品用具要覧1994年版”東京，(社)日本動物薬事協会，1994，p. 214–223.
6) Takeba, K., Itoh, T., Matsumoto, M., Simultaneous determination of five fasciolicides in milk by liquid chromatography with electrochemical detection. J. AOAC Int., **79**, 848–852 (1996).
7) de Boer, H. B., Kleinepier, J. F., Method for the determination of the anti-liverfluke compound Ph. 1882 in milk after the treatment of cattle against distomatosis. Neth. Milk Dairy J., **23**, 163–167 (1969).
8) 厚生労働省医薬局長通知（医薬発第0530001号）(2003)“食品衛生法等の一部を改正する法律（平成15年法律第55号）および健康増進法の一部を改正する法律（平成15年法律第56号）の施行について”平成15年5月30日．