

演題番号：4

演題名：HPLCによる血液を用いた殺鼠剤中毒試験法の検討

発表者名：○柿田徹也、玉代勢旦子

発表者所属：中央食肉衛生検査所

### 1. はじめに

豚の殺鼠剤中毒は、農場での誤食が主な原因であり、経口摂取された殺鼠剤は胃で吸収されると約97%が血中タンパク質と結合し、肝臓で凝固因子の産生を阻害し、全身の出血を引き起こす。ラットへの投与試験において、投与24時間後に残留濃度が血清中で最大となり、48時間後には残留濃度が1/3~1/4に減少し、72時間で出血傾向となることが報告されている。よって、と畜検査で見られる際には残留濃度が非常に低いことが推察されるため、最も残留濃度が高い血清を用いて試験することが重要である。そこで今回血液を用いた殺鼠剤中毒試験法を検討したので報告する。

### 2. 材料及び方法

- (1) 対象物質：ワルファリン(WRF)、クマテトラリル(CTR)、ブロマジオロン(BDR)、ダイファシノン(DIP)
- (2) 試料：平成27年12月4日(30頭)及び12月15日(20頭)に一般畜として管内と畜場に搬入された豚の心残血を採材日毎に混合、均一化して使用した。
- (3) 標準原液：各標準物質をメタノールにて溶解し、標準原液としたものをアセトニトリル(ACN)：DW=4：6で段階希釈し、検量線用及び添加溶液として使用した。
- (4) 装置及び測定条件
  - ア 分析カラム：Puresil C18 5・m 4.6×150mm(Waters社製)
  - イ 検出器：WRF、CTR、BDRは蛍光検出器、DIPは紫外分光光度型検出器
  - ウ カラム温度：WRF、CTR、BDRは30℃、DIPは40℃
  - エ 測定波長：WRF、CTRは励起波長310nm、蛍光波長390nm、BDRは励起波長265nm、蛍光波長400nm、DIPは285nm
  - オ 移動相：WRF、CTRはACN：pH7.4リン酸緩衝液=20：80、BDRはACN：pH7.4リン酸緩衝液=40：60、CTRはACN：pH7.0リン酸一ナトリウム水溶液=50：50
- (5) 試験方法：血液1gを3000回転15分間遠心分離後、上清を採取しACN1mlを加えvortex後、3000回転15分間遠心分離した。上清をナスフラスコに移し、40℃以下で濃縮乾固を行い、ACN：DW(4：6)1mlで溶解した。30秒間超音波抽出後、0.25・mフィルターによりろ過し、その10μlをHPLC分析に供した。
- (6) 評価の方法：添加回収試験により、回収率70~120%、S/N≥10となる最低濃度を定量下限値とした。さらに妥当性評価ガイドラインに準じて定量下限値濃度で添加回収試験を実施し、選択性、真度、併行精度、室内精度を評価した。

### 3. 結果及び考察

定量下限値は、WRF0.02ppm、CTR0.01ppm、BDR0.04ppm、DIP0.14ppmであった。また、妥当性評価試験では全ての項目において目標値に適合していたことから、今回開発した試験法は、と畜検査において殺鼠剤中毒の試験法として使用可能であると考えられた。今後はマニュアル等を整備し、実用化に向けて取り組みたい。