

MDクリニックダイエットと思われる製品の分析結果について —形態観察と成分分析によるセンナの確認—

鈴木 郁雄^a, 坂本 美穂^a, 門井 秀郎^a, 岸本 清子^a, 斎藤 友里^a,
渡邊 あい子^a, 金井 千恵子^b, 中嶋 順一^a, 荒金 真佐子^a, 坂本 義光^c,
守安 貴子^a, 中江 大^d

MDクリニックダイエットと呼ばれるダイエット薬が、若い女性を中心に関心を集めている。この製品はインターネットから容易に入手することが可能であり、製品を服用したことが原因と疑われる健康被害が多発している。重篤な例として、これらの製品との因果関係を否定できない死亡も報告されている。平成24年度、当センターに搬入された検体は、外観・性状がMDクリニックダイエットと酷似しており、これについて、LC-PDA, LC-MS, GC-MS等を用いて成分分析を行った。その結果、従来の製品から検出事例のある成分、ビサコジル、ヒドロクロロチアジド、シブトラミン、フルオキセチン、フロセミド、甲状腺末、チロキシンを検出したほか、これまでの類似製品では検出事例のないセンノシドA及びセンノシドBを検出した。一方、植物由来成分の含有が疑われる製剤については、実体顕微鏡及び走査型電子顕微鏡を用いて検査を行った。その結果、1つの製剤においてセンナ様植物片を検出した。今回の成分分析から、実体顕微鏡及び走査型電子顕微鏡を用いた検査は、植物由来成分の確認方法として有用であることがわかった。また、外観・性状が同じであっても従来製品と異なる成分が検出されていることから、含有成分が異なる可能性を考慮して検査する必要性が明らかになった。

キーワード：センナ様植物片、走査型電子顕微鏡、医薬品成分、MDクリニックダイエット、健康被害

はじめに

MDクリニックダイエットとは、痩身を目的としてタイの病院が処方した薬と称して販売されており、ホスピタルダイエットとも呼ばれている。現在はインターネットの普及に伴い、主に個人輸入代行サイトを通じて取引されており、身長や体重等から購入者に見合った処方を選択する仕組みになっている。簡単に購入することができる反面、過去の事例において下剤、食欲抑制剤、抗うつ剤、甲状腺末等の成分や、日本では承認されていない医薬品成分を含んでいることもあったため、安易に使用すると思わぬ健康被害を被る可能性がある。

こうしたMDクリニックダイエット等の製品による健康被害が疑われる事例は、平成14年に香川県で初めて報告されてから現在に至るまで、各衛生研究所から複数報告されている¹⁾。重篤な例では、意識障害やこれらの製品との因果関係を否定できない死亡も見られており、特に若い女性を中心とした健康被害が多発している。当センターでは、このような製品による健康被害が疑われる場合、その原因を特定するため、迅速に成分分析を行っている。

平成24年度にMDクリニックダイエットと思われる製品9製剤を分析した結果、2製剤の中から、このような製品と

しては初めて、センナの成分であるセンノシドA、センノシドB及びセンナ様植物片を検出した。また、これら以外の製剤からも医薬品成分を検出した。本報では、これらの分析結果をまとめて報告する。

実験方法

1. 試料

平成24年7月、救急搬送された女性が服用していた7種類の錠剤と2種類のカプセル剤の9製剤（表1）。これらは製品名の記載はなかったが、外観・性状がこれまでの報道資料やインターネットの個人輸入サイト等に掲載されているMDクリニックダイエットと酷似していた。

2. 標準品及び試薬

センノシドA、センノシドBは松浦工業社製、ビサコジルはエスエス製薬社製、ヒドロクロロチアジドはMSD社製、シブトラミン塩酸塩はTOCRIS社製、フルオキセチン塩酸塩はLKT Laboratories社製、フロセミドは協和発酵社製、日本薬局方甲状腺チラージン末はあすか製薬社製、3,3',5-Triiodo-L-thyronine（以下、T3）、DL-Thyroxine（以下、T4）はSIGMA社製を用いた。

^a 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部医薬品研究科

169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部医薬品研究科（当時）

^c 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部生体影響研究科

^d 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部

0.1%ギ酸含有アセトニトリル、ギ酸はLC/MS用、その他の試薬についてはHPLC用または特級を用いた。

3. 装置

フォトダイオードアレイ検出器付液体クロマトグラフ(LC-PDA)：ACQUITY UPLC (Waters社製), ACQUITY UPLC H-Class (Waters社製), 紫外可視検出器付液体クロマトグラフ(LC-UV)：Gulliver Series (日本分光社製), 質量分析計付液体クロマトグラフ(LC-MS)：ACQUITY UPLC/ACQUITY TQD (Waters社製), 質量分析計付ガスクロマトグラフ(GC-MS)：7890A/7693/5975C (Agilent社製), 実体顕微鏡：LEICA S8 APO (Leica社製), 電子顕微鏡：卓上顕微鏡 Miniscope TM-1000 低真空走査型(日立ハイテクノロジーズ社製)

4. 試料溶液、標準溶液の調製

1) 定性用試料溶液の調製

1錠を粉碎又は1カプセルの内容物を取り出し、90%メタノール15 mLを加え、超音波照射、振とうをそれぞれ10分間行った。その後、90%メタノールで20 mLにし、孔径0.20 μmのポリテトラフルオロエチレン(以下、PTFE)製メンブランフィルターでろ過したものをLC-PDA用及びGC-MS用試料溶液とした。ただし、製剤①、④、⑤については、植物由来成分の含有が疑われたため、調製に用いる90%メタノールを1/2量に減らし、同様に処理した。LC-MS用の試料溶液は適宜濃縮又はメタノールで希釈した。

2) 定量用試料溶液の調製

1錠に水5 mLを加え、超音波照射を15分間行った後、メタノール30 mLを加え、振とうを15分間行った。その後、メタノールで50 mLにメスアップし、遠心分離(3,000 rpm, 10分間)を行った上澄液を、孔径0.20 μm又は0.45 μmのPTFE製メンブランフィルターでろ過し、試料溶液とした。ただし、製剤①については定性分析の結果より、センノシドA及びセンノシドBを含有していたため、70%メタノールで抽出を行った。

3) 標準溶液の調製

標準溶液は、標準品をメタノールで溶解させ、各分析機器で使用する濃度に調製した。ただし、センノシドA及びセンノシドBについては70%メタノールで溶解させた。

5. 含有成分の定性と定量

1) 測定方法

試料溶液と標準溶液について、LC-PDA, LC-MS, GC-MSを用いて定性分析を行った。同時に甲状腺末含有の有無を調べるため、光学顕微鏡にて甲状腺組織の確認を行った²⁾。また、甲状腺末を確認したものについては裏輪ら³⁾の方法に従って、LC-PDA, LC-MSでチログロブリン型T3及びチログロブリン型T4の確認を行った。更に、製剤内部の性状から植物由来成分の含有が懸念されたものについては実体顕微鏡と走査型電子顕微鏡による検査を行った。

定量分析は、LC-PDA及びLC-UVを用いて行った。

2) 定性分析

(1) LC/PDA

カラム：ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1×150 mm, 1.8 μm, Waters社製), 移動相：(A) 5 mMヘキサンスルホン酸ナトリウム含有アセトニトリル/水/リン酸(100:900:1), (B) 5 mMヘキサンスルホン酸ナトリウム含有アセトニトリル/水/リン酸(900:100:1), グラジェント条件：(A), (0 min→0.5 min: 91.5%) → (10 min→12.25 min: 5.3%), カラム温度：50°C, 流速：0.4 mL/min, 検出波長：210-450 nm, 注入量：1 μL

(2) LC/MS

カラム：ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1×150 mm, 1.8 μm, Waters社製), 移動相：(A) 5 mMギ酸アンモニウム(ギ酸でpH 3.0): 0.1%ギ酸含有アセトニトリル(95:5), (B) 0.1%ギ酸含有アセトニトリル, グラジェント条件：(A), (0 min→0.5 min: 91.5%) → (10 min→12.25 min: 5.3%), カラム温度：50°C, 流速：0.4 mL/min, 注入量：1~10 μL, イオン化法：ESI (+) 及び (-), ソース温度：150°C, ガス流量：N₂, 800 L/hr, デソルベーション温度：400°C, コーンガス流量：N₂, 20 L/hr, コーン電圧：20~95 V, マスレンジ：*m/z* 50~650 (T4のみ*m/z* 200~1,000)

(3) GC/MS

カラム：HP-5MS (30 m×0.25 mm, 0.25 μm, Agilent社製), 注入法：スプリットレス, 注入口温度：200°C, 注入量：1 μL, カラム温度：80°C (1 min) → 10°C/min → 310°C (12 min), キャリアーガス：He, ガス流量：1.0 mL/min, イオン化法：EI法, イオン化電圧：70 eV, インターフェース温度：250°C, イオン源温度：230°C

3) 定量分析

(1) センノシドA, センノシドB

カラム：ACQUITY UPLC BEH Shield RP18 (2.1×150 mm, 1.7 μm, Waters社製), 移動相：(A) 5 mMギ酸アンモニウム(ギ酸でpH 3.0): 0.1%ギ酸含有アセトニトリル(95:5), (B) 0.1%ギ酸含有アセトニトリル, (A) : (B) = 85:15 (センノシドA), (A) : (B) = 87.5:12.5 (センノシドB), カラム温度：50°C, 流速：0.4 mL/min, 検出波長：265 nm, 注入量：2 μL

(2) ピサコジル

カラム：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6×150 mm, 5.0 μm, Nacalai Teikoku社製), 移動相：(A) 10 mMラウリル硫酸ナトリウム含有アセトニトリル/水/リン酸(100:900:1), (B) 10 mMラウリル硫酸ナトリウム含有アセトニトリル/水/リン酸(900:100:1), (A) : (B) = 50:50, カラム温度：40°C, 流速：1.0 mL/min, 検出波長：260 nm, 注入量：5 μL

(3) ヒドロクロロチアジド, シブトラミン, フルオキセチン, フロセミド

カラム：CAPCELL PAK C₁₈ MG II (6.0×250 mm, 5.0

μm, 資生堂社製), 移動相:(A) 5 mMヘキサンスルホン酸ナトリウム含有アセトニトリル/水/リン酸(100:900:1), (B) 5 mMヘキサンスルホン酸ナトリウム含有アセトニトリル/水/リン酸(900:100:1), (A):(B)=50:50(フルオキセチン, シブトラミン), (A):(B)=70:30(ヒドロクロロチアジド), (A):(B)=30:70(フロセミド), カラム温度:40°C, 流速:1.0 mL/min, 検出波長:220 nm(フルオキセチン, シブトラミン), 270 nm(ヒドロクロロチアジド), 272 nm(フロセミド), 注入量:10 μL

結果及び考察

1. 検出した医薬品成分

製剤の外観, 性状, 検出した成分及び含有量について, 表1に示した.

製剤①: LC-PDAで得られたUVスペクトルについてライブラリー検索を行ったところ, 下剤の成分であるセンノシドA, センノシドB及びビサコジルの含有が示唆された. また, GC-MSで得られたMSスペクトルについてライブラリー検索を行ったところ, ビサコジルの含有が示唆された. そこで, 標準溶液をLC-PDA, GC-MS, LC-MSにより分析したところ, 上記の3成分の含有が確認できた. 以下, 同様に各製剤から検出した成分の確認を行った.

製剤②: LC-PDA, GC-MSによるスクリーニングでは成分を検出しなかったが, 光学顕微鏡により, 甲状腺組織を確認した. また, そのままの状態ではLC-PDA, LC-MSにより検出できない甲状腺ホルモンのチログロブリン型T3及びチログロブリン型T4については, 酵素処理を行うことで, T3及びT4として確認した.

製剤③, 製剤④, 製剤⑧, 製剤⑨: LC-PDA, LC-MSにより, 製剤③からT4, 製剤④と製剤⑧から利尿剤の成分であるヒドロクロロチアジド, 製剤⑨から同じく利尿剤の成分であるフロセミドを確認した.

製剤⑤: LC-PDA, LC-MS, GC-MSにより, ビサコジルを確認した. また, LC-PDAにより, センノシドA及びセンノシドBを微量検出した.

製剤⑥, 製剤⑦: LC-PDA, LC-MS, GC-MSにより, それぞれ, 食欲抑制剤の成分であるシブトラミン, 抗うつ剤の成分であるフルオキセチンを確認した. なお, これらの医薬品成分は国内では未承認である.

以上の結果より, 製剤①及び製剤⑤には, これまでの類似製品からは報告事例のないセンノシドA及びセンノシドBを含有していることが明らかになった.

また, 含有量について, 臨床現場で使用される薬用量(表2)と比較を行った. MDクリニックダイエット等の製品では, 処方された製剤を1錠又は1カプセルずつ服用するよう指示されていることが多いため, これらすべての製剤を1日1錠又は1カプセルずつ服用すると仮定すると, 製剤①のセンノシドA及びセンノシドBは最小用量の1/2に満たず, 製剤⑥のシブトラミンは最大用量以上を含有し,

薬用量の範囲から大きく外れていた. 製剤①のセンノシドA及びセンノシドBの含有量は医療用単味製剤より少ないが, 一般用医薬品にビサコジルを含めた3成分の配合錠があり, それと比較すると同程度であった. また, 製剤⑥のシブトラミンの含有量が多いことについては, これまでにも, 菓輪ら⁴⁾による一日量が30 mgを超える事例や, 埼玉県による^{5,6)}最大で52 mgを検出した事例の報告がある. しかしながら, シブトラミンは, 心血管疾患患者への心血管疾患リスク増加が示唆された⁷⁾ため, 海外においては承認が取り消されている国もある. これらより, シブトラミンの過剰摂取による健康被害が懸念される.

表1. MDクリニックダイエットと思われる製品から検出した医薬品成分

製剤	検出成分 (含有量/1錠又は1カプセル)	製剤	検出成分 (含有量/1錠又は1カプセル)
製剤① 濃桃色の糖衣錠	センノシドA (2.5 mg) センノシドB (2.5 mg) ビサコジル (4.9 mg)	製剤⑥ 赤色と薄黄色の硬カプセル	シブトラミン (24.5 mg 塩酸塩として)
製剤② 水色の糖衣錠 (Yの印字)	甲状腺末 (チログロブリン型T3) (チログロブリン型T4)	製剤⑦ 茶色と黄色の硬カプセル	フルオキセチン (14.5 mg 塩酸塩として)
製剤③ 黄褐色楕円形の糖衣錠 (T-Tの印字)	T-T	製剤⑧ 橙色の錠剤 (T.O.CHEMICALS☆の刻印)	ヒドロクロロチアジド (49.3 mg)
製剤④ 桃色楕円形の糖衣錠	ヒドロクロロチアジド (11.8 mg)	製剤⑨ 白色の錠剤 (△様の刻印)	フロセミド (40.5 mg)
製剤⑤ 紫色の糖衣錠	ビサコジル (4.7 mg) センナ様植物片 センノシドA ^{※2} センノシドB ^{※2}		

※1) 検体量が少ないため, 定量は実施せず

※2) 微量を検出

表2. 検出した医薬品成分の薬用量

成分名	薬効分類	薬用量 (1日)
センノシドA	下剤	12~24 mg (センノシドA・B合わせて) ^{※1}
センノシドB	下剤	48 mgまで增量可
ビサコジル	下剤	10~15 mg ^{※1} (一般用医薬品 経口製剤の場合)
ヒドロクロロチアジド	利尿剤	25~200 mg
シブトラミン塩酸塩 ^{※2}	食欲抑制剤	10~15 mg
フルオキセチン塩酸塩 ^{※2}	抗うつ剤	20~60 mg
フロセミド	利尿剤	40~80 mg
甲状腺末	甲状腺ホルモン	15~40 mgより開始 40~200 mg (維持期)
T4	甲状腺ホルモン	25~100 μgより開始 100~400 μg (維持期)

※1) 一般用医薬品に配合錠あり, センノシドA・B合わせて 5.27~15.81 mg/日, ビサコジル 5~15 mg/日

※2) 国内未承認

2. 植物由来成分の含有が疑われる製剤の顕微鏡検査

製剤①、製剤④及び製剤⑤の断面を観察すると、内部が茶褐色であった（図1）。製剤①及び製剤⑤はセンノシドA及びセンノシドBを含有していたため、センノシドカルシウムによる着色の可能性が考えられた。しかし、一方では、これら3製剤のLC-PDAクロマトグラムで複数の微小ピークが認められたため、植物由来成分の含有の可能性も考えられた。そこで、実体顕微鏡で観察を行ったところ、製剤⑤から植物片を確認した（図2）。更に、走査型電子顕微鏡で観察した結果、日本薬局方のセンナに特徴的な「表面にいぼ状の斑点があるやや湾曲した単細胞毛⁸⁾」を確認した（図3, 4）。なお、植物のセンナに関しては、薬用部位である小葉、葉軸、葉柄、果実と食用部位の茎に分かれており、鏡検によってこれらを鑑別できる手法が報告されている^{9,10)}。しかし、今回に関しては検体量が少なく、部位の判別まで行うことはできなかったため、製剤⑤は、センナ様植物片を含有しているとした。錠剤中にセンナ様植物片が含有されていた原因としては、量が非常に少ないとから、製造工程でのコンタミネーション、あるいは原材料が不良であった可能性等が考えられる。

一方、製剤①と製剤④からは植物片の確認ができず、センノシドAあるいはセンノシドBのいずれも検出されていない製剤④の着色については原因の特定ができなかった。しかし、松尾ら¹¹⁾によると、発展途上国における医薬品には、流通している同一ブランド製剤の中でも、特定のロットのみで錠剤内が黒く変色している製剤があると報告されており、今回の場合も同様な品質不良の製品であった可能性が考えられる。

また、最近では、MDクリニックダイエットによる副作用への懸念や消費者が天然志向になっていることからか、従来品とハーブ類を組み合わせたハーブダイエットという製品等が発売されている。そのため、今後植物由来成分を含有する可能性のある製品を検査する際は、今回のような走査型電子顕微鏡等を用いたアプローチが有効と考える。

3. 予測と実際に検出した医薬品成分の違い

MDクリニックダイエットのような製品は搬入される検体量が少ない場合が多く、迅速かつ効率的に検査を行うために、まずは外観・性状をよく確認し、含有成分の予測を行っている。今回の検体についても、厚生労働省ホームページにおける各衛生研究所の報道発表（平成24年7月時点）並びに海外医薬品情報サイト（MIMS Thailand）を参考にして製剤の色、剤形、刻印や印字等から予測を行った。

その結果、予測可能であったのは、全9製剤のうち7製剤であった。これらのうち製剤①～③については、各衛生研究所の報道発表から、甲状腺末含有の可能性が考えられた。同様に製剤⑤についてはビサコジル、製剤⑦についてはフルオキセチン、製剤⑨についてはフロセミドの含有の可能性が考えられた。製剤⑧については海外医薬品情報サイトで検索を行ったところ、T.O. Chemicals社製のヒドロクロ



図1. 植物由来成分の含有が疑われる製剤の断面

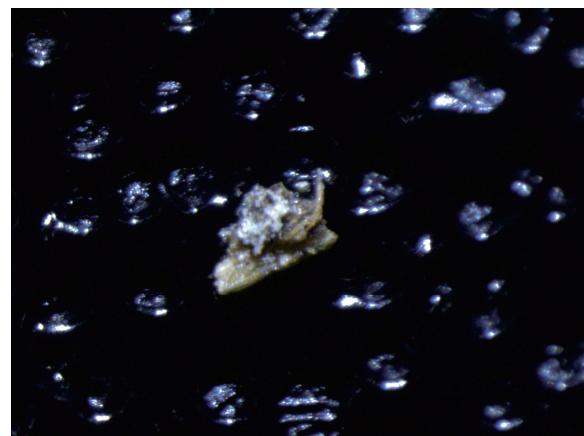


図2. 製剤⑤から検出した植物片の実体顕微鏡写真 ($\times 6.3$)

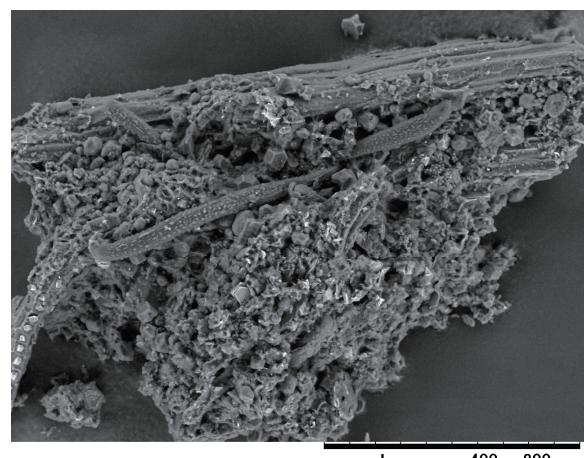


図3. 製剤⑤から検出した植物片の走査型電子顕微鏡写真 ($\times 400$)

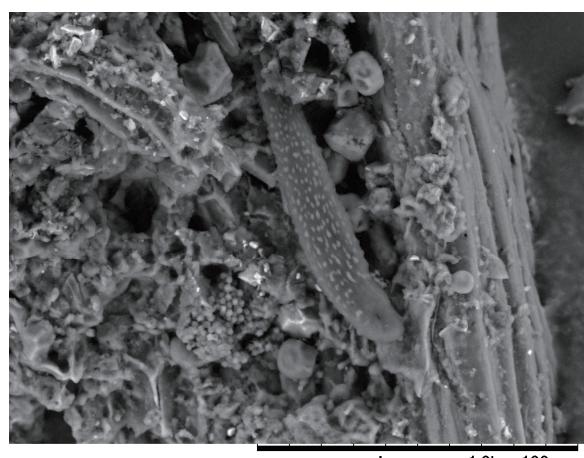


図4. 製剤⑤から検出した植物片の走査型電子顕微鏡写真 ($\times 1,000$)

ロチアジド錠50 mgである可能性が考えられた。

予測した結果と実際に検出した成分を比較したところ、7製剤中、製剤②、製剤⑤、製剤⑦、製剤⑧、製剤⑨の5製剤については、はじめに予測した成分と含有成分が一致した。製剤⑧に関しては、含有量まで予測と一致した。しかし、残りの製剤①、製剤③の2製剤については、過去の報道発表の製品と類似しているにも関わらず、予測と違う成分を含有していた。

錠剤の印字や刻印が入っているものについては、予測と一致するものが多かったが、類似する製剤も存在するため、必ずしも予測と一致するとは限らない。また、最近ではハーブダイエット等のように新たな製品が発売され始めているため、今後は外観・性状が類似していても、異なる成分を含有している可能性を考慮して成分分析を行う必要性があると考える。

ま　と　め

1. MDクリニックダイエットと思われる製品から、これまで報告のなかったセンノシドA、センノシドB及びセンナ様植物片を検出した。

2. 植物由来成分の確認として、実体顕微鏡及び走査型電子顕微鏡を用いた検査は有用であった。

3. 外観・性状が同じ製剤でも、過去の検出事例と異なる医薬品成分が検出される場合があるため、今後は含有成分が異なる可能性を考慮して検査する必要が明らかになった。

文　献

1) 厚生労働省：「ホスピタルダイエット」などと称されるタイ製の向精神薬等を含有する無承認無許可医薬

品による健康被害事例について、

<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/jirei/030902-1.html>

(2014年7月18日現在、なお本URLは変更または抹消の可能性がある)

- 2) 坂本義光、湯澤勝廣、小縣昭夫、他：東京健安研セ年報, 54, 78-80, 2003.
- 3) 萩輪佳子、守安貴子、中嶋順一、他：東京健安研セ年報, 54, 74-77, 2003.
- 4) 萩輪佳子、岸本清子、坂本美穂、他：東京健安研セ年報, 62, 115-120, 2011.
- 5) 埼玉県：注意！タイから個人輸入した無承認無許可医薬品「MDクリニックダイエット」で健康被害が発生！、<http://www.pref.saitama.lg.jp/page/higaih23-06.html> (2014年7月18日現在、なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 6) 千葉雄介、鎌苅有華、濱田佳子、他：第50回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 278-279, 2013.
- 7) 国立医薬品食品衛生研究所：医薬品安全性情報Vol.8 No.04 (2010/02/18), <http://www.nihs.go.jp/dig/sireport/weekly8/04100218.pdf> (2014年7月18日現在、なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 8) 日本薬局方解説書編集委員会：第十六改正日本薬局方解説書、初版, D-484-D-487, 2011, 廣川書店、東京.
- 9) 鈴木幸子、荒金眞佐子、吉澤政夫、他：東京健安研セ年報, 60, 91-96, 2009.
- 10) 徳本廣子、下村裕子、飯田修、他：生薬学雑誌, 65(2), 114-128, 2011.
- 11) 松尾純、小杉綾乃、Jaime Perez RIOS、他：日本薬学会第134年会要旨集, 183, 2014.

**Analysis of Products Resembling the MD Clinic Diet:
With Special Reference to Confirmation of Senna by Chemical Analysis and Microscopy**

Ikuo SUZUKI^a, Miho SAKAMOTO^a, Hideo KADOI^a, Kiyoko KISHIMOTO^a, Yuri SAITO^a,
Aiko WATANABE^a, Chieko KANAI^b, Jun'ichi NAKAJIMA^a, Masako ARAGANE^a, Yoshimitsu SAKAMOTO^a,
Takako MORIYASU^a and Dai NAKANE^a

A weight-loss medicine known as the “MD clinic diet” has attracted increasing attention in recent years, especially from young women. The “MD clinic diet” is easily obtained through the Internet and frequently leads to adverse effects on health. In severe cases, use of the “MD clinic diet” has caused death. In 2012, we analyzed 9 products resembling the “MD clinic diet” by high-performance liquid chromatography/photodiode array, high-performance liquid chromatography/mass spectrometry, gas chromatography/mass spectrometry, and other analytical methods. We detected bisacodyl, hydrochlorothiazide, sibutramine, fluoxetine, furosemide, thyroid tissue powder, and thyroxine in the tested products. In addition, we detected sennoside A and sennoside B which had not been detected previously in similar products. Moreover, tablets suspected to contain plant fragments were observed using a stereomicroscope and a scanning electron microscope, and fragments with features corresponding to Senna were found in 1 tablet. This result demonstrated the usefulness of stereomicroscopy and scanning electron microscopy as confirmation tools for plant fragments in tablets. The present study emphasizes that analysis should be performed with attention to the possibility that unexpected substances could be found, despite the appearance and properties of the tested products.

Keywords: Senna-like plant fragment, scanning electron microscopy pharmaceutical ingredient, MD clinic diet, health hazard

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out.