

表Ⅱ-4 症例1尿の分析結果

番号	薬物名	定量値 ($\mu\text{g/ml}$)	予試験	予試験(具体的な方法、操作)
63	TCA(三環系抗うつ剤)		免疫的検査法	TriageDOAIにて検出
64	三環系抗うつ剤	>1.0	免疫的検査法	トライエージDOA
65	三環系抗うつ薬(TCA)	1<		
66	三環系抗うつ剤		免疫的検査法	トライエージによる免疫的検査法
67	イミプラミン	18.2	免疫的検査法	トライエージDOA
	デシプラミン	13.5		
68	イミプラミン		呈色反応	塩化第二鉄反応, FPN反応, トライエージ
69	Clomipramine		免疫的検査法	トライエージによる、免疫反応及びアセトアミノフェン検出キットによる反応を見る。
70	三環系抗うつ薬		呈色反応	TriageIによる簡易定性法
71	三環系抗うつ剤		免疫的検査法	トライエージによる免疫的検査法 塩化第二鉄反応(呈色反応) 有機りん系農薬検出キット(呈色反応 プロムワレリル尿素を検査するため)
72	三環系抗うつ剤		免疫的検査法	TriageDOAでTCAに陽性バンド確認
73	三環系抗うつ剤	+	その他	トライエージ・パラコート(検知管)・有機りん系農薬検出キット
74	三環系抗うつ剤			Triage
75	三環系抗うつ剤		免疫的検査法	トライエージにて陽性反応
76	Imipramine		免疫的検査法	トライエージによる
	Desipramine			
77	イミプラミン		免疫的検査法	送付して頂いたTriageでTCAとポジティブコントロールの位置にのみピンク色の明瞭なバンドを検出
78	イミプラミン	8.7	免疫的検査法	トライエージ
	デシプラミン	7.5		
79	Imipramine	13.1	呈色反応	トライエージ及びアセトアミノフェン検出キット

表Ⅱ-5 症例1尿の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
1				
2				
3				
4	固相抽出	●定性:試料1.0ml + 0.1Mリン酸バッファ→3ml試料→Certifyへアプライ→0.1Mリン酸バッファ、1M酢酸で洗浄→ジクロロメタン4mlで溶出(1)→Certifyカラムをメタノール3mlで洗浄→ジクロロメタン/イソプロパノール/濃アンモニア(78/20/2)で溶出(2)→(1), (2)を窒素気流下40℃で乾固→残渣を酢酸エチル50μlに溶解→GC/MS ●定量:0.5ml + IS10μl + リン酸10μl→NEXUSへアプライ→水3mlで洗浄→メタノール2mlで溶出→乾固(窒素気流下40℃)→残渣を移動相0.5mlに溶解→HPLC	GC/MS	m/z50~500をスキャンし、NISTのライブラリー、および標準品のmass fragmentation, RTにより同定
5			その他	バンドの有無を目視
6				
7				
8				
9	沈殿法による除蛋白	検体200μlにアセトニトリル400μlを加え、12,000rpm3分遠心後、サンプル前処理用フィルターで濾過する。	HPLC	「VP Drug met」で測定し、UVスペクトラムのライブラリー検索より推定した。
10	沈殿法による除蛋白	試料1mlにアセトニトリル2mlを加えて攪拌した後、4000回転40分遠心する。	HPLC	200~350nmの紫外外部吸収を測定し、UVスペクトラムのパターンを付属のライブラリーと比較することによって測定
11	沈殿法による除蛋白	検体5mlにアセトニトリル1mlを加え、遠心分離後、上澄み1mlを抽出し、検体とした。	HPLC	
12				
13				
14				
15				
16	その他	試料1mlに内部標準物質0.2mlを加え、攪拌後、遠心する。	HPLC	REMEDi Hsによる
17				
18			HPLC	当院使用のパラメーターには確定薬物が検出されませんでした。
19	固相抽出	OASIS HLBによる固相抽出	GC/MS	GC/MSにてm/z50-550をスキャンし、NISTのライブラリー検索より同定した。
20	固相抽出	フィルター膜(OASIS)を使用	HPLC	内部データと照合
21	液液抽出	尿を酢酸エチルにて液・液抽出	GC/MS	Remediにてスクリーニング後、GC/MSにて通常使用しているメソッドを利用して分析
22				
23	固相抽出	Oasis HLBによる固相抽出	HPLC	205~350nmの紫外外部吸収を測定し、UVスペクトラムのパターンを付属のライブラリーと比較し、同定

表Ⅱ-6 症例1尿の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
24	液液抽出	サンプル500 μ L、水500 μ L、IS.50 μ L (10 μ g/mL)を混ぜてExtrelutNT1に入れ20分後酢酸エチル4mLで抽出、酢酸エチルを窒素気流下50 $^{\circ}$ Cで蒸発されHPLCは流動層100 μ Lに、GC/MSが酢酸エチル100 μ Lに溶解させた。	GC/MS	島津GCMS-QP5050、カラム SGE BPX35(内径0.53mm、膜厚1.0 μ m、長さ30m)を使用し、PTVインジェクターによりサンプルを10 μ L打ち込みTIC測定を行った。
25	液液抽出	Sample100 μ Lに5mM-NaOH 100 μ L、内標10 μ Lを加え2mLのヘキサンで抽出。有機層を窒素気流下で蒸発乾固し、残さをHPLC移動相 100 μ Lで溶解。20 μ LをHPLCに注入	HPLC	薬毒物分析用HPLCより保持時間およびスペクトルが一致。TOXI-LABIにて(+)
	沈殿法による除蛋白	Sample200 μ Lにアセトニトリル400 μ Lを加え攪拌後、遠心分離し、上清30 μ LをHPLCに注入		薬毒物分析用HPLCより保持時間およびスペクトルが一致。またTOXI-LABIにてイミプラミン代謝物(デシプラミン)と考えられた。
26		BondElut Certifyによる固相抽出		m/z40-400をスキャンし、NISTのライブラリー検索と標準品のマススペクトル・保持時間と比較し同定した。 m/z40-400をスキャンし、NISTのライブラリー検索より同定した。
27	沈殿法による除蛋白	アセトニトリルによる除タンパク	HPLC	205~350nmの紫外部吸収を測定し、UV Spectrumのパターンをライブラリーと比較し同定
28				
29	固相抽出	オアシス(HLB)で固相抽出後、HPLCにて測定	HPLC	HPLCのライブラリーと比較
30				
31		試料1000 μ Lを活性化したOASIS HLBカラムに注入。5%メタノール水溶液1mlでカラムを洗浄。メタノール1mlで薬物を溶出し、溶出液を窒素気流下で濃縮。残渣を移動相(リン酸水)200 μ Lで溶解し、HPLCにて分析		HPLC内蔵ライブラリーと照合。GCMSで内蔵ライブラリーと照合
32			自動分析装置	REMEDi-Hs
			自動分析装置	REMEDi-Hs
33				
34				
35				分析手段を持っていませんので予試験のみの報告です。
36			その他	トライエージ使用
37	除蛋白	血清400 μ Lに冷アセトニトリル800 μ Lを加え、攪拌後、12,000rpmで遠心分離し、上清を分析	HPLC	奥田メソッドより、リテンションタイム・面積で求めた。
38	固相抽出	サンプルに25倍希釈リン酸を同量加え、OasisHLBIにて定法に従って抽出後、減圧遠心濃縮を行い、使用した試料量にメスアップした。	HPLC/MS	Setiptiline,Nortriptyline,Mianserin,Desipramine,Amitriptyline,Imipramine,Trimipramine,Amoxapine,Clomipramin,Quetiapine混合液を逆相カラムにて分離し、各分子量にて標品のリテンションタイムを確認した。同条件でサンプルの分離を行いDesipramin、Imipramineを検出した。

表Ⅱ-7 症例1尿の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
39	沈殿法による除蛋白	検査試料血清400 μ Lに冷アセトニトリル800 μ Lをいれ激しく振とうして、12000rpmで遠心分離し、上清を0.45 μ m、0.22 μ mのメンブレンフィルターに交互通過させたのち、HPLC検体とする。	HPLC	「LC-10ADvp」(SHIMADZU)の薬物検索システム「VP-Drug.met」と添付のライブラリ検索で同定した。また別に薬剤部よりイミプラミン錠、クロカプラミン錠を入手し、定性用の標準品として使用し、同様にHPLCを行い、保持時間を比較したところ、イミプラミンと推定された。
40	液液抽出	アセトニトリル2容による液液抽出	HPLC	HPLC200-350nmの紫外外部吸収を測定し、UVスペクトラムのパターンを付属のライブラリと比較して同定
41	その他	尿中乱用薬物検査キット(triage)説明書通り	その他	尿中乱用薬物検査キット(triage)説明書通り
42				
43	沈殿法による除蛋白	アセトニトリルによる除蛋白	HPLC	フォトダイオードアレイによる吸収波長ライブラリー検索
44	固相抽出	エキストルレートカラムによる固相抽出	HPLC	固相抽出後、島津製のHPLC薬毒分析システムにかけ、保持時間、UVスペクトルから判定
45				
46				
47	沈殿法による除蛋白	冷アセトニトリル1mlに検体0.5mlを攪拌しながら混和し、遠心分離した上清を検査に用いた。	HPLC	205~350nmの紫外外部吸収を測定し、スペクトルパターンと保持時間を付属のライブラリーと比較して同定
48				
49				
50	液液抽出	尿200 μ lにアセトニトリル200 μ lを加え、ミキシングし、12000rpmで遠心し除蛋白、液液抽出	HPLC	200~350nmの紫外外部吸収を測定し、UVスペクトルのパターンを付属のライブラリと比較することによって同定
51				
52	固相抽出	OASIS HLBによる固相抽出	HPLC	アミトリプチンと予想し、固相抽出後220-400をスキャンし標品とのRT及びスペクトルで確認。微妙なズレ有り。
53	その他	遠心沈殿	その他	Triage
54			その他	Triage
55				
56				
57				
58	沈殿法による除蛋白	尿:アセトニトリル=1:2による除蛋白	HPLC	
59				トライエージ(シスメックス)の取り扱い説明書に従う。
60	沈殿法による除蛋白	アセトニトリルによる除蛋白	HPLC	200~350nmの紫外外部吸収を測定し、Uvspectrumのパターンを付属のライブラリーと比較することによって同定
61	固相抽出	β グルクロニダーゼと酢酸ナトリウム溶液を加え、56 $^{\circ}$ C120分加水分解後、OASIS HLBで固相抽出した。	GC/MS	m/z40~700でスキャン分析し、NISTライブラリおよび自家製ライブラリで同定した。 m/z40~700でスキャン分析し、NISTライブラリで同定した。
62				

表Ⅱ-8 症例1尿の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
63				
64				
65		2000rpm、5分遠心		金コロイド粒子免疫法(トライエージDOA)
66				
67	固相抽出	OASIS HLBによる固相抽出	GC/MS	m/z 50-650をスキャンし、wileyのライブラリー検索より同定した。
68	固相抽出	試料0.5mlに等量のアセトンを加え除タンパク、ジールサイエンスネクサスに注入、水2ml、80%メタノールで洗浄後、メタノール1.0mlにて溶出。乾固後100%メタノールを加える。	HPLC	200~350nmの紫外外部吸収を測定し、UVspectrumのパターンをライブラリーと比較することにより同定
69	沈殿法による除蛋白	検体200 μ lに、冷アセトニトリル400 μ lを加え、12000rpmの5分遠心操作、上清を検体として使用する。	HPLC	機器の検索パラメーター(付属ライブラリー)より検索
70				
71				HPLC装置にライブラリーが附属していないため、定性・定量はできません。
72				
73			その他	金コロイド粒子免疫法
74			その他	
75				
76	液液抽出	弱アルカリ性下酢酸エチル抽出	GC/MS	ライブラリー検索による
77		10mlの試験管に尿0.5ml、水0.5ml、20%Na ₂ CO ₃ を0.2ml入れ、ヘキサン3mlを加えてVortex-mixerで2分間抽出後、遠心分離し、ヘキサンそうを2.5ml分取し、水4ml加えて手で振とう後、ヘキサン2ml分取した。N ₂ 気流下乾固し、ヘキサン0.5mlに溶解した。		m/z50-550をスキャンし、NISTのライブラリー検索より同定を試みたが、分析者の薬剤に関する知識が乏しく現在検討中です。
78	固相抽出	OASIS MCXによる固相抽出	HPLC	PDA検出器にてライブラリー検索により同定
79	液液抽出	蒸留水で希釈後アルカリ性とし、ヘキサン/イソamilアルコール(98.5:1.5 v/v)で振盪抽出。遠心後ヘキサン層を分取し窒素ガスで乾固。残差をヘキサンで溶かした。	GC/MS	m/z50-450をスキャンし、NBS75Kのライブラリー検索より同定した。

表Ⅱ-9 症例1尿の分析結果

番号	定量法	定量法(具体的な操作)	内部標準	内部標準物質名
1				
2				
3				
4	HPLC	UV254nmでモニタリングし、内部標準物質との面積比により定量	有	アミトリプチリン
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19	GC/MS	GC/MSにてm/z280のイオンをモニタリングし、内部標準物質との面積比により定量した。	有	プロメタジン
20	HPLC	イミプラミンを既知量添加して増加分より全体量を計算	有	イミプラミン
21	GC/MS	トフラニール(イミプラミンを25mg)を砕いて水溶液を作成し希釈系列を作り検量線資料を作成、同時に添加回収試験も行う。 トフラニール(イミプラミンを25mg)を砕いて水溶液を作成し希釈系列を作り検量線資料を作成	有	Promethazine
22				
23				

表Ⅱ-10 症例1尿の分析結果

番号	定量法	定量法(具体的な操作)	内部標準	内部標準物質名
24	HPLC	流動相:15mM KH ₂ PO ₄ :15mM H ₃ PO ₄ :アセトニトリル:ノニルアミン=500:200:300:0.6(pH3.0),流速:1.5ml/min、温度:40°C、測定:200nm	有	チオリダジン
25	HPLC	カラムにYMC-PakProC18を用い、移動相として5mM-KH ₂ PO ₄ (500mL)、アセトニトリル(500mL)、トリエチルアミン(2mL)の混液をリン酸にてpH7.5に調整した溶液を0.8mL/minで送液。242nmにて検出。イミプラミン10μg/mL以下の検量線を作成。内標とのピーク高さ比から濃度を算出	有	アミトリプチリン
	その他	標準血清で20倍に希釈したSampleをTDxにて測定。TCA総濃度からイミプラミン濃度との差の値を代謝物(デンプラミン)濃度とした。	無	
26		m/z234、280、85のイオンをモニタリングし、内部標準物質との面積比より定量	有	amoxapine
27				
28				
29	HPLC	イミプラミン標準液と比較	無	
30				
31			無	
32				
33				
34				
35				
36				
37				
38	HPLC/MS	標品(1ug/ml,10ug/ml)及び未知試料を以下の条件で分析し、SIMのピーク面積を比較して定量した。 Waters XTerraMS C18 3.5μm、2.1×150mmColumn、0.2ml/min at 50°C A液:10mMギ酸アンモニウム(20%アセトニトリル)、B液:100%アセトニトリル 20%B,0min>30%B,8min>100%B,10min>100%B,12min>20%B,12.2min>20%B,15min APCI Positive SIM	無	

表Ⅱ-11 症例1尿の分析結果

番号	定量法	定量法(具体的な操作)	内部標準	内部標準物質名
39	HPLC	「LC-10ADvp」(SHIMADZU)の薬物検索システム「VP-Drug.met」でイミプラミン塩酸塩(和光純薬生化学用)を標準品として使用し、ピーク面積値の比較により算出した。	無	
40	HPLC	トフラニール錠剤を標準品としてHPLCの面積で検量線を作成		
41				
42				
43			無	
44		未定量		
45				
46				
47	HPLC	254nmでモニタリングし、イミプラミン製剤トフラニール10mg錠を標準物質と仮定し、作製した検量線を用いて面積比から算出	無	
48				
49				
50				
51				
52	HPLC	固相抽出後260でモニタリング。スパイクした標準品の検量線から定量	無	
53				
54				
55				
56				
57				
58			無	
59				
60		実施せず		
61	HPLC	HPLCで標準物質により検量線を作製し定量した。	無	
62				

表Ⅱ-12 症例1尿の分析結果

番号	定量法	定量法(具体的な操作)	内部標準	内部標準物質名
63				
64				
65				
66				
67	HPLC	外部標準物質との面積比より定量	無	
68		標準品がないため、定量できない。		
69			無	
70				
71				
72				
73				
74				
75				
76		標品がなかったために実施せず		
77		精神神経系薬剤の標準を持ち合わせていないので定量は考えておりませんでした。定性法のトライと考えています。		
78	HPLC	250nmで内部標準物質との面積比より定量	有	ノルトリプチリン
79	GC/MS	m/z234のイオンをモニタリングし、内部標準物質(promethazine m/z72)との面積比より定量した。	有	Promethazine

表Ⅲ-1 症例2血清の分析結果

番号	薬物名	定量値 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	予試験	予試験(具体的な方法、操作)
1	MEP		沈殿法による除蛋白	試料200 μl に冷アセトニトリル400 μl を加え12000rpmで3分間遠心分離
2	有機りん剤		呈色反応	有機りん系農薬検出キットを使用
3	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検出キットによる呈色反応
4	フェニトロチオン	31.3	呈色反応	有機りん簡易検査キット
5	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検査キット(関東化学製)
6	MEP	5.8	呈色反応	有機りん定性キット
	NAC	8.8		
7	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検出キット(関東化学)、パラコート(ハイドロサルファイト)
8	MEP	150.7	その他	有機りん系農薬検査キットを使用
9	MEP(スミチオン)		呈色反応	有機りん系農薬検出キットによる呈色反応
10	MEP		呈色反応	有機りん検出キットによる呈色反応
	p-キシレン			
11	有機りん	10ppm以上	免疫的検査法	トライエージ8、有機りん検出キット、アセトアミノフェン検出キット、パラコート検出キット
12	有機りん系農薬		呈色反応	関東化学有機りん系
13	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検査キット
14	有機りん系農薬			
15	有機りん系農薬		呈色反応、 免疫的検査法	有機りん系農薬検出キット、トライエージ、アセトアミノフェン検出キット、パラコート定性
16	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検出キットによる
17	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検出キット(関東化学)
18	Ag	159.5ppm	呈色反応	Triageを実施し、陰性反応 有機りん系農薬検出キットによる陽性反応
	Cd	52.4ppm		
19	フェニトロチオン	44.5	呈色反応	有機りん定性キット
20	フェニトロチオン(MEP)	50	呈色反応	有機りん定性反応キットを使用
21	フェニトロチオン	20	呈色反応	Triageによるスクリーニング及び有機りん定性キット、呈色反応によるパラコート定性

表Ⅲ-2 症例2血清の分析結果

番号	薬物名	定量値 ($\mu\text{g/ml}$)	予試験	予試験(具体的な方法、操作)
22	MEP	50.2	呈色反応	有機リン系農薬検出キットによる呈色反応
23	MEP		呈色反応	有機リン系農薬検出キットによる呈色反応
24	フェニトロチオン	36.15		
25	MEP	24.2	呈色反応	有機リン検出反応キット(+)、トライエージ(-)
26	Fenitrothion	40.2	自動分析装置	REMEDI-HSIによるスクリーニング、有機リン系農薬検査キットによる呈色反応
27	PAP		呈色反応	有機リン系農薬キット
28	有機リン剤		呈色反応	有機リン剤系農薬検査キットによる呈色反応
29	有機リン		呈色反応	有機リン検査キットにて陽性
30	結果未返送			
31	MEP			ハイドロサルファイト反応陰性、有機リン系農薬検出キット陽性
32	有機リン系農薬		呈色反応	有機リン系農薬検査キットによる呈色反応
33	結果未返送			
34	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検出キットによる呈色反応
35	有機りん系農薬		呈色反応	送付していただいた、関東化学製、検出キットを用いて、赤紫色の反応が得られました。
36	フェニトロチオン	41.797	呈色反応	有機りん系農薬検出キット(関東化学)
37	記載なし			
38	MEP	6.59	呈色反応	トライエージ、有機リン系農薬定性試験、ハイドロサルファイト反応実施。有機リン系農薬定性試験にて陽性を確認

表Ⅲ-3 症例2血清の分析結果

番号	薬物名	定量値 ($\mu\text{g/ml}$)	予試験	予試験(具体的な方法、操作)
39	EDDP			パラコート分析(ハイドロサルファイト反応)、有機リン系農薬検出キット、アセトアミノフェン検出キット、Triageを使用して検査したところ、有機リン系農薬検出キットを陽性に検出した。
	EPN			
40	MEP		呈色反応	有機リン系農薬検出キット
41	有機リン系		呈色反応	有機リン系農薬検査キット(関東化学)説明書通り
42	MAP	95	免疫的検査法	トライエージで(-)
43	DMTP		呈色反応	有機リン定性キット
44	ジプロフィリン		呈色反応	トライエージを使用するも全て陰性
45	有機リン	8~80	呈色反応	有機リン検出キットを用い、検体を希釈して試験した結果と検出限界より濃度を推定
46	有機リン系殺虫剤		呈色反応	有機リン系農薬検出キット
47	MEP	22.4	呈色反応	有機リン系農薬検査キットを使用、陽性であった。
48	有機リン系農薬		呈色反応	有機リン系農薬検出キットによる呈色反応
49	有機リン剤		呈色反応	有機リン系農薬検出キットによる呈色反応
50	MEP		免疫的検査法	トライエージDOAIによる免疫的検査法
51	結果未返送			
52	MEP	13.9	呈色反応	有機リン検出キットで陽性
53	有機リン剤			
54	有機リン剤			
55	有機リン		呈色反応	有機リン系農薬検出キット、Triage、検知管(パラコート)、メルコクアントヒ素イオンテスト
56	結果未返送			
57	結果未返送			
58	有機リン剤(MEPを疑う)		呈色反応	有機リン系農薬検出キットによる呈色反応
59	有機リン系農薬			
62	MEP	31.7	呈色反応	尿中有機リン系農薬検出キット(+)
61	Fenitrothion	25.5	呈色反応	有機リン系農薬検出キット

表Ⅲ-4 症例2血清の分析結果

番号	薬物名	定量値 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	予試験	予試験(具体的な方法、操作)
62	有機リン系農薬		呈色反応	有機リン系農薬検査キットによる呈色反応
63	有機りん系農薬		呈色反応	有機りん系農薬検出キットによる呈色反応
64	有機リン系農薬	>0.01	呈色反応	有機リン系農薬検出キット(関東化学)使用
65	有機リン系農薬	およそ10ppm以上		
66	有機リン系農薬		呈色反応	有機リン系農薬検出キットによる呈色反応
67	フェニトロチオン	27.2	呈色反応	有機りん系農薬検出キット(関東化学)
68	MEP	44.7	呈色反応	ニトロベンジルピリジン法、ハイドロサルファイト反応
69	Pyridaphenthion		呈色反応	有機リン系農薬キットによる呈色試験、及びトライエージによる反応を見る、及びアセトアミノフェン検出キットによる反応をみる。
70	DEP		呈色反応	有機りん系農薬検出キットを使用
71	有機りん系農薬			有機りん系農薬検出キット
72	フェニトロチオン	17.2	呈色反応	有機リン系農薬検査キットによる呈色反応
73	有機リン系農薬	+	その他	トライエージ・パラコート(検知管)・有機リン系農薬検出キット
74	有機リン系農薬		呈色反応	有機リン系農薬検出キット
75	有機リン系農薬		呈色反応	有機リン系農薬検査キット(関東化学)
76	fenitrothion		呈色反応	有機リン系農薬検出キット
77	フェニトロチオン	28.4	呈色反応	有機りん系農薬検出キットによる呈色反応
78	MEP	23.3	呈色反応	有機リン農薬検出キットによる呈色反応
79	Fenitrothion	56.4	呈色反応	有機リン系農薬検査キット

表Ⅲ-5 症例2血清の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
1	HPLC	波長205~350nmで吸収スペクトル測定、島津CLASS-VPのライブラリ検索により同定		
2				
3				
4	沈殿法による除蛋白	●定性: 試料100 μ l + アセトニトリル400 μ l \rightarrow 遠心 \rightarrow 上清を脱水 \rightarrow GC/MS ●定量: 試料100 μ l + IS10 μ l + アセトニトリル200 μ l \rightarrow 遠心 \rightarrow 上清 \rightarrow HPLC	GC/MS	m/z50~500をスキャンし、NISTのライブラリ、および標準品のmass fragmentation, RTにより同定
5			その他	呈色の具合を目視
6		なし	HPLC	フォトダイオードアレイでUV吸収と検出時間を標品と比較
7				
8	固相抽出	試料0.5mlをOASIS HLBに注入する。3mlの5%メタノール水を注入し洗浄する。3mlのメタノールを注入し脱離する。溶出液をエバポレーションする。これにHPLC用移動相0.5mlを加えた。	HPLC	UV230nmで測定し、あらかじめ測定しておいた標準物質のRTと比較して同定した。
9	沈殿法による除蛋白	検体200 μ lにアセトニトリル400 μ lを加え、12,000rpm3分遠心後、サンプル前処理用フィルターで濾過する。	HPLC	「VP.Agri met」で測定し、UVスペクトラムのライブラリ検索より推定した。
10	沈殿法による除蛋白	試料1mlにアセトニトリル2mlを加えて攪拌した後、4000回転40分遠心する。	HPLC	200~350nmの紫外部吸収を測定し、UVスペクトラムのパターンを付属のライブラリと比較することによって測定
11	沈殿法による除蛋白	検体5mlにアセトニトリル1mlを加え、遠心分離後、上澄み1mlを抽出し、検体とした。	HPLC	
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18			蛍光X線	
19	固相抽出	OASIS HLBによる固相抽出	GC/MS	GC/MSにてm/z50-550をスキャンし、NISTのライブラリ検索より同定した。
20	その他	尿に同量のアセトニトリルを加え遠心をかけ上澄みをマイレックスフィルタを通し試料とした。	HPLC	内部データと照合
21	液液抽出	尿を酢酸エチルにて液・液抽出	GC/MS	GC/MSにて通常使用しているメソッドを利用して分析

表Ⅲ-6 症例2血清の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
22	沈殿法による除蛋白	アセトニトリルによる除蛋白	HPLC	200~400nmの紫外部吸収を測定し、UVスペクトルのパターンを付属のライブラリと比較することによって同定
23	固相抽出	Oasis HLBによる固相抽出	HPLC	205~350nmの紫外部吸収を測定し、UVスペクトルのパターンを付属のライブラリと比較し、同定
24	液液抽出	サンプル500 μ L、水500 μ L、IS.50 μ L(10 μ g/mL)を混ぜてExtrelutNT1に入れ20分後酢酸エチル4mLで抽出、酢酸エチルを窒素気流下50 $^{\circ}$ Cで蒸発されHPLCは流動層100 μ Lに、GC/MSが酢酸エチル100 μ Lに溶解させた。	GC/MS	島津GCMS-QP5050、カラム SGE BPX35(内径0.53mm、膜厚1.0 μ m、長さ30m)を使用し、PTVインジェクターによりサンプルを10 μ L打ち込みTIC測定を行った。
25	沈殿法による除蛋白	Sample200 μ Lにアセトニトリル400 μ Lを加え攪拌後、遠心分離し、上清30 μ LをHPLCに注入	HPLC	薬毒物分析用HPLCより保持時間およびスペクトルが一致
26	固相抽出	Sep-Pak C18カートリッジによる固相抽出	GC/MS	m/z40-400をスキャンし、NISTのライブラリ検索と標準品のマススペクトル・保持時間と比較し同定した。
27	沈殿法による除蛋白	アセトニトリルによる除タンパク	HPLC	205~350nmの紫外部吸収を測定し、UV Spectrumのパターンをライブラリと比較し同定
28				
29				
30				
31		1.試料200 μ Lにアセトニトリル400 μ Lを添加。12000rpm5分間遠心後、上清250 μ Lを測定。2. 試料1000 μ Lを活性化したOASIS HLBカラムに注入。5%メタノール水溶液1mlでカラムを洗浄。メタノール1mlで薬物を溶出し、溶出液を窒素気流下で濃縮。残渣を移動相(リン酸水)200 μ Lで溶解し、HPLCにて分析		内蔵ライブラリにて照合
32				
33				
34				
35				分析手段を持っていませんので予試験のみの報告です。
36	沈殿法による除蛋白	アセトニトリル使用	HPLC	200~350nmの紫外線吸収部を測定し、UVspectrumのパターンを付属のライブラリと比較する事により同定
37				
38	固相抽出	サンプルに25倍希釈リン酸を同量加え、OasisHLBにて定法に従って抽出後、減圧遠心濃縮を行い、使用した試料量にメスアップした。	HPLC/MS	DDVP、Dialinon、EPN、Malathion混合液を逆相カラムにて分離し、APCI(positive mode)で各分子量をモニターし標品のリテンションタイムを確認した。未知試料についても同条件下で分析したが確認できなかった。またMEP標品についても同じ方法で分離し、APCI(negative mode)でリテンションタイムを確認した。未知試料についても同条件下で分析を行いMEPの存在を確認した。

表Ⅲ-7 症例2血清の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
39	沈殿法による除蛋白	検査試料血清400 μ Lに冷アセトニトリル800 μ Lをいれ激しく振とうして、12000rpmで遠心分離し、上清を0.45 μ m、0.22 μ mのメンブレンフィルターに交互通過させたのち、HPLC検体とする。	HPLC	「LC-10ADvp」(SHIMADZU)の薬物検索システム「VP-Agri.met」と添付のライブラリ検索で同定した。保持時間17.7min:類似度0.985 「LC-10ADvp」(SHIMADZU)の薬物検索システム「VP-Agri.met」と添付のライブラリ検索で同定した。保持時間6.20min:類似度0.971
40	液液抽出	アセトニトリル2容による液液抽出	HPLC	HPLC200-350nmの紫外外部吸収を測定し、UVスペクトラムのパターンを付属のライブラリと比較して同定
41	その他	有機リン系農薬検査キット(関東化学)説明書通り	その他	有機リン系農薬検査キット(関東化学)説明書通り
42	沈殿法による除蛋白	検体と同量のアセトニトリルにて行う	HPLC	島津HPLC Agriモードにて分析
43	沈殿法による除蛋白	アセトニトリルによる除蛋白	HPLC	HPLCフォトダイオードアレイによる吸収波長ライブラリ検索
44	固相抽出	エキストラレートカラムによる固相抽出	HPLC	固相抽出後、島津製のHPLC薬毒分析システムにかけ、保持時間、UVスペクトルから判定
45				
46				
47	沈殿法による除蛋白	冷アセトニトリル1mlに検体0.5mlを攪拌しながら混和し、遠心分離した上清を検査に用いた。	HPLC	205~350nmの紫外外部吸収を測定し、スペクトルパターンと保持時間を付属のライブラリと比較して同定
48				
49				
50	液液抽出	血清200 μ Lにアセトニトリル200 μ Lを加え、ミキシングし、12000rpmで遠心し除蛋白、液液抽出	HPLC	200~350nmの紫外外部吸収を測定し、UVスペクトルのパターンを付属のライブラリと比較することによって同定
51				
52	固相抽出	NEXSUSによる固相抽出	HPLC	固相抽出後200-400をスキャンしライブラリで確認
53			その他	有機リン系農薬検出キット(関東化学)を用いた。
54			その他	NBPキット
55			TLC	グルホシネート分析
56				
57				
58	沈殿法による除蛋白	尿:アセトニトリル=1:2による除蛋白	HPLC	
59				関東化学KK発売の検出キット取扱説明書に従う。
62	沈殿法による除蛋白	アセトニトリルによる除蛋白	HPLC	200~350nmの紫外外部吸収を測定し、Uvspectrumのパターンを付属のライブラリと比較することによって同定
61	固相抽出	OASIS HLBで固相抽出	GC/MS	m/z40~700でスキャン分析し、NISTライブラリおよび自家製ライブラリで同定した。

表Ⅲ-8 症例2血清の分析結果

番号	前処理法	前処理法(具体的な方法、操作)	定性法	定性法(具体的な操作)
62				
63				
64				
65		煮沸(100℃)、20分		ニトロベンジルペリジン法
66				
67	固相抽出	OASIS HLBによる固相抽出	GC/MS	m/z 50-650をスキャンし、wileyのライブラリー検索より同定した
68	固相抽出	試料0.5mlに等量のアセトンを加え除タンパク、ジーエルサイエンスネクサスに注入、水2ml、80%メタノールで洗浄後、メタノール1.0mlにて溶出。乾固後100%メタノールを加える。	HPLC	200~350nmの紫外部吸収を測定し、UVspectrumのパターンをライブラリーと比較することにより同定
69	沈殿法による除蛋白	検体200μlに、冷アセトニトリル400μlを加え、12000rpmの5分遠心操作、上清を検体として使用する。	HPLC	機器の検索パラメーター(付属ライブラリー)より検索
70	沈殿法による除蛋白		HPLC	LC-10AVP SHIMADZUのライブラリーよりDEPではないかと推測
71				HPLC装置にライブラリが附属していないため、定性・定量はできません。
72				
73			その他	有機リン系農薬検出キット
74				
75				
76	液液抽出	塩酸酸性下クロロホルム抽出	GC/MS	ライブラリー検索による
77	液液抽出	尿1mlに1.2N-HClを0.05ml添加し水を加えて5mlとした。ヘキサン8mlを加えてVoltex-mixerで1分間抽出後、ヘキサンを6ml分取し、硫酸ナトリウムで脱水した。このヘキサン層の1ulをGC/MS分析した。	GC/MS	m/z50-550をスキャンし、NISTのライブラリー検索および当研究所における標準試料と比較して同定した。
78	固相抽出	OASIS HLBによる固相抽出	HPLC	PDA検出器にてライブラリー検索により同定
79	液液抽出	蒸留水で希釈後、酸性とし、クロロホルムで振盪抽出。遠心後クロロホルム層を分取し窒素ガスで乾固。残差をアセトンで溶かした。	GC/MS	m/z50-450をスキャンし、NBS75Kのライブラリー検索より同定した。

表Ⅲ-9 症例2血清の分析結果

番号	定量法	定量法(具体的な操作)	内部標準	内部標準物質名
1				
2				
3				
4	HPLC	UV230nmでモニタリングし、ISとの面積比により定量した。	有	マラチオン
5				
6	HPLC	絶対検量線法	無	
7				
8	HPLC	UV230nmで測定し、標準物質で作成した検量線より定量した。	無	
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18	蛍光X線			
19	GC/MS	GC/MSにてm/z277のイオンをモニタリングし、内部標準物質との面積比より定量した。	有	EPN
20	HPLC	フェニトロチオン(MEP)の3濃度より検量線を引き試料の濃度を計算	無	
21	GC/MS	MEP標準液をアセトン・メタノールで作成し希釈系列を作り検量線資料を作成、同時に添加回収試験も行う。	有	マラソン

表Ⅲ-10 症例2血清の分析結果

番号	定量法	定量法(具体的な操作)	内部標準	内部標準物質名
22	HPLC	UV200nmでモニタリングし、標準物質を用いて絶対検量線法により定量	無	
23				
24	GC/MS	島津GCMS-QP5050、カラム SGE BPX35(内径0.53mm,膜厚1.0 μ m,長さ30m)を使用し、PTVインジェクターによりサンプルを10 μ L打ち込みTIC測定を行った。	有	プロマジン
25	HPLC	MEP、50 μ g/mL以下の検量線を作成し、270nmにてピーク高さより測定	無	
26	GC/MS	m/z277、125、109のイオンをモニタリングし、内部標準物質との面積比より定量	有	malathon
27				
28				
29				
30				
31		標準品を持ち合わせていないため、定量は行っていない。	無	
32				
33				
34				
35				
36	HPLC	210nmで外部標準液との面積比で定量	無	
37				
38	HPLC/MS	標品(1 μ g/ml,10 μ g/ml)及び未知試料を以下の条件で分析し、SIMのピーク面積を比較して定量した。 Waters XTerraMS C18 3.5 μ m、2.1 \times 100mm Column、0.2ml/min at 50 $^{\circ}$ C A液:0.1%酢酸(10%メタノール)、B液:0.05%酢酸(メタノール) 50%B,0min>100%,B5min>100%,B8min>50%B,8.2min>50%B,10min APCI Negative SIM	無	

表Ⅲ-11 症例2血清の分析結果

番号	定量法	定量法(具体的な操作)	内部標準	内部標準物質名
39		標準品が入手できなかったため実施せず。		
40				
41				
42	HPLC	MAPの25ug/ml STとの面積比より計算した。	なし	
43			無	
44		未定量		
45				
46				
47	HPLC	254nmでモニタリングし、標準物質にて作製した検量線を用いて面積から算出	無	
48				
49				
50				
51				
52	HPLC	固相抽出後200-400をスキャンライブラリーで確認	無	
53				
54				
55				
56				
57				
58			無	
59				
62	HPLC	210nmでモニタリングし、標準物質との面積比で定量	無	
61	HPLC	HPLCで標準物質により検量線を作製し定量した。	無	