

## 症例 2

コリンエステラーゼの活性低下と縮瞳から有機リンもしくはカーバメイト系農薬中毒と考えられたためスクリーニングを行った。

### スクリーニング

有機リン用簡易検査を用いて試料の尿を検査したところ陽性であった。次に、有機リンのスクリーニングを行うため、抽出を行い窒素リン検出器付ガスクロマトグラフ(GC-NPD)で分析を行ったところフェニトロチオンの存在が確認された。そこで、フェンチオンを内部標準物質に用いて再度抽出し、GC-NPD で定量を行った。

### 抽出方法

1. キャップ付遠心チューブに試料尿 1.0 ml を加え、内部標準物質としてフェンチオン 50 µg、ヘキサン 4.0 ml を加える。
2. キャップ後、抽出、遠心分離する。
3. 上層を別のキャップ付遠心チューブに移し窒素気流下で乾固する。
4. 50 µl のメタノールに再溶解して分析試料とする。

### 分析条件

窒素リン検出器付ガスクロマトグラフ

カラム : DB-1 (30 m x 内径 0.25 mm x 膜厚 0.25 µm)

オープン温度 : 100°C (3 min) · 10°C/min · 300°C (3 min)

キャリアガス : ヘリウム

注入口温度 : 250°C

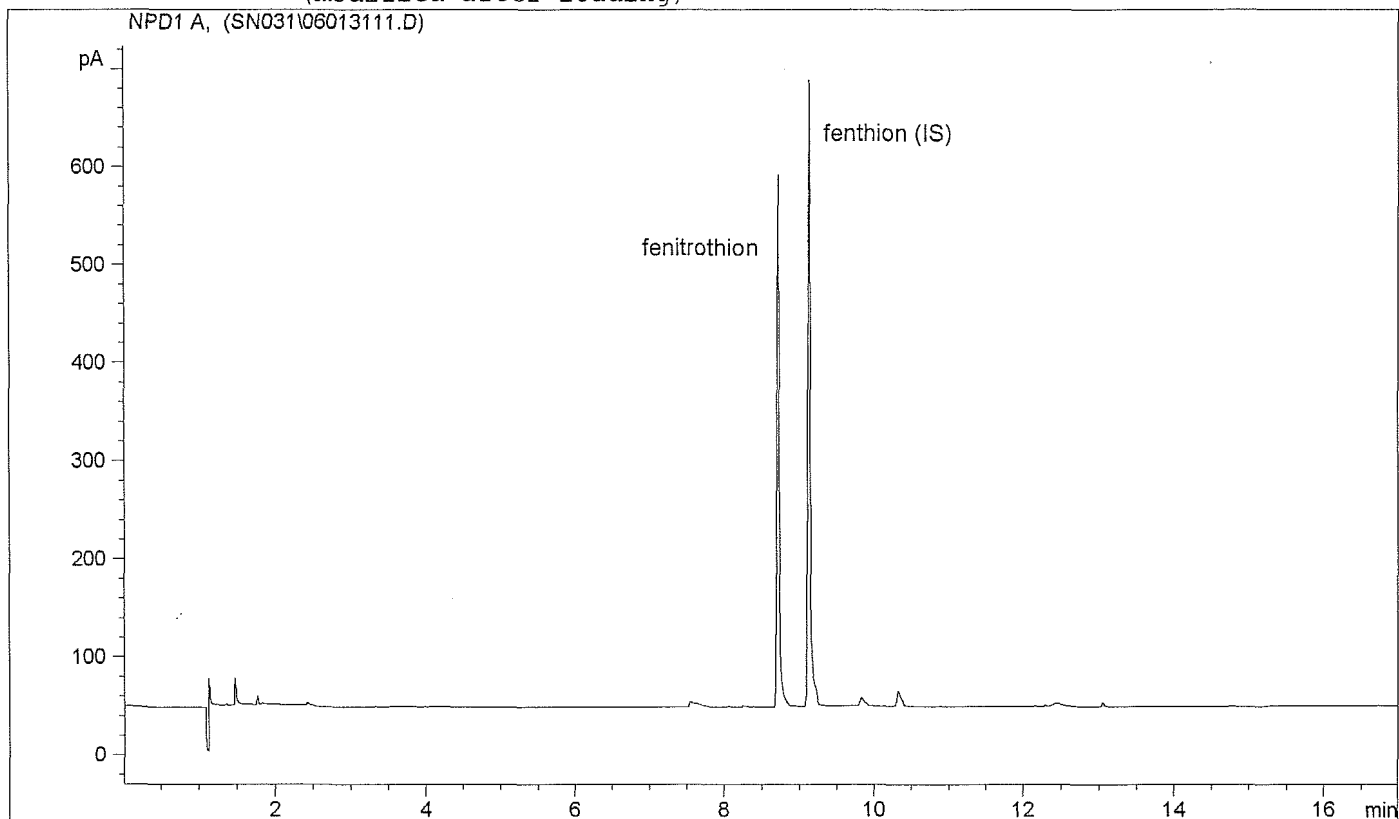
検出器温度 : 280°C

### 分析結果

フェニトロチオン 17.5 µg/ml

NPD, case 3 urine sample, fenthion 10 micrg (IS), extra  
ct, 150(1)-10-300(1), DB-1

```
=====  
Injection Date   : 01/31/2006 2:59:10 PM  
Sample Name     : sample                      Vial :    1  
Acq. Operator  : saito                      Inj  :    1  
                                           Inj Volume : Manually  
Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\NPDSCREEN.M  
Last changed   : 01/31/2006 2:57:18 PM by saito  
                (modified after loading)
```



```
=====  
Area Percent Report  
=====
```

```
Sorted By      :      Signal  
Multiplier    :      1.0000  
Dilution      :      1.0000  
Sample Amount :      1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)
```

No peaks found

```
=====  
*** End of Report ***
```

### 症例 3

状況からタイレノールの成分であるアセトアミノフェン中毒と考えられた。

#### スクリーニング

状況からアセトアミノフェン中毒と考えられた。そこで、アセトアミノフェン用の簡易検査を用いて試料の血清を検査したところ陽性であった。次に、アセトアミノフェンの確認と定量を行うため、*o*-アミドフェノールを内部標準物質に用いて抽出を行い高速液体クロマトグラフで分析を行った。

#### 抽出方法

1. キャップ付遠心チューブに試料尿 0.2 ml を加え、内部標準物質として *o*-アミドフェノール 50  $\mu$ g、ヘキサン 0.4 ml を加える。
2. キャップ後、ボルテックスミキサーで抽出、遠心分離する。
3. 上層を別のキャップ付遠心チューブに移し窒素気流下で乾固する。
4. 50  $\mu$ l の移動相に再溶解する。
5. 0.45  $\mu$ m のフィルターを通して分析試料とする。

#### 分析条件

UV検出器付高速液体クロマトグラフ

カラム：X Terra MS C18 3.5  $\mu$ m (2.1 mm x 150 mm)

カラム温度：50°C

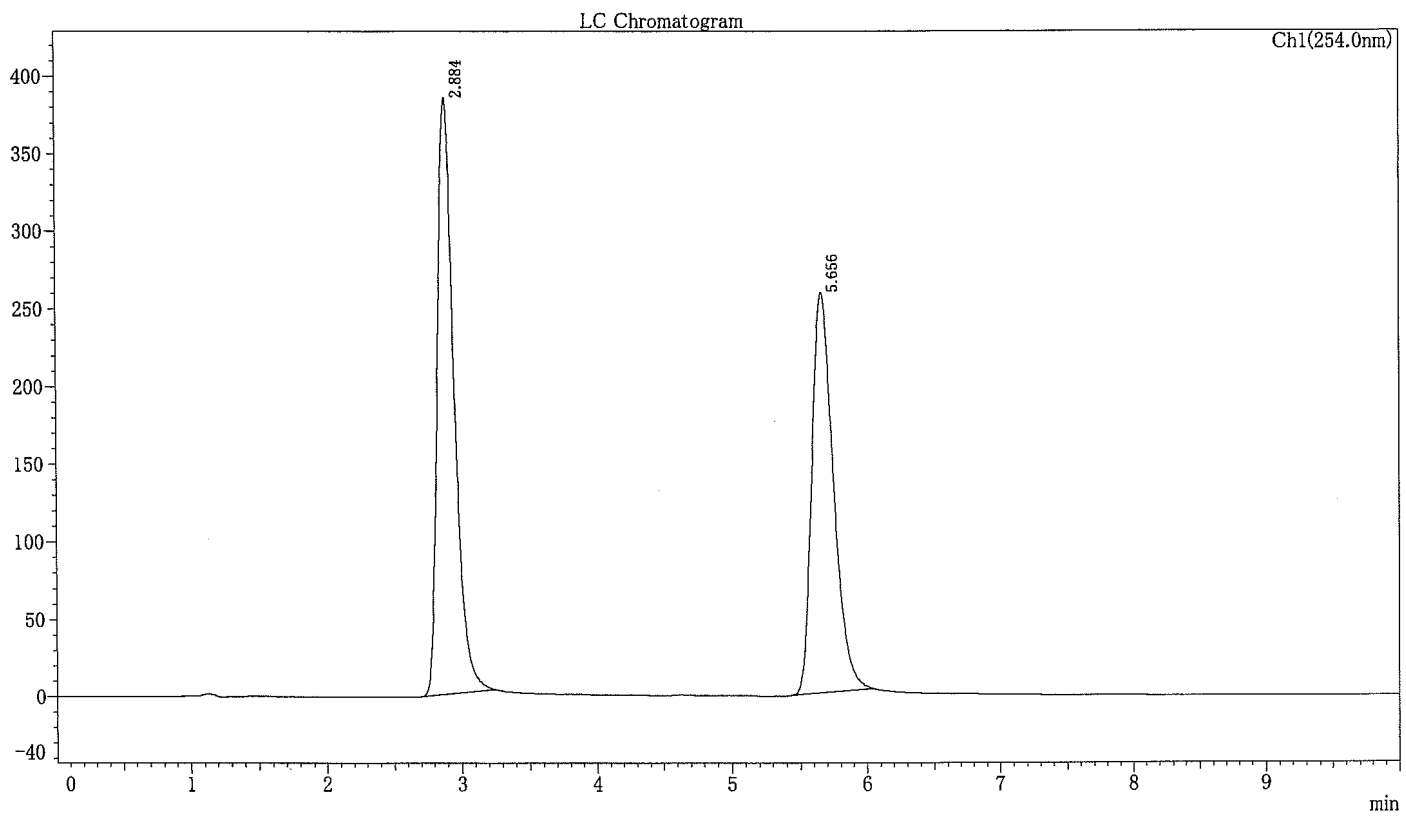
移動相：0.05 mM 硫酸ナトリウム：アセトニトリル (97:3)

流速：0.5 ml/min

検出波長：210 nm

#### 分析結果

アセトアミノフェン 81.4  $\mu$ g/ml



資料 3

医療機関における原因化学物質特定に関する  
機器分析講習会

はじめに

我々の身の回りには数百万もの化学物質が存在しているが、全てが有用なものとは限らない。これまで安全と考えられていたものでも使用法や使用量によっては有害なものとなる。これらの化学物質によるリスクをゼロにすることは困難であるが、科学的知見に基づいてリスクを最小限に抑え、共存することが不可欠である。化学物質による中毒事故は人命に係わる問題であり、治療にあたっては刻一刻と変化する状況を的確に判断し迅速に対応しなければならない。いかなる化学物質（起因物質）が事故に関与しているかが判明すれば、拮抗剤を使った積極的な治療を行うのか、経過観察でよいのかなどの治療方針を立てる上で参考となる。特に、服用時間と血中濃度から予後を推定できる（モノグラムが存在する）起因物質は、同定と定量が重要となる。これまでにモノグラムの知られている起因物質は、アセトアミノフェン、パラコート、サリチル酸、グルホシネートなど少数であるが、今後増えることが期待される。

生体試料中の起因物質を同定・定量するには、生体試料中の妨害成分を取り除き、微量の起因物質を濃縮するなどの前処理が必要である。その物質に適した前処理、分析機器の選択、分析条件の設定を行わなければ正確な結果は得られないため、機器分析の知識や経験が重要となる。医療分野では、“アセトニトリルによる除タンパク”が前処理として浸透しているようである。しかし、その方法である起因物質が検出できたとしても、信頼できる結果であるかは些か疑問である。検査すべき起因物質に適した前処理を行い、分析機器や最適な条件を吟味し、信頼性が高い結果を得られるように技術を向上する必要がある。

昨年度は、日本中毒学会分析委員会において、分析結果が治療に役立つとして提唱された15種類の中毒起因物質（青酸、ヒ素、パラコート、有機リン系農薬、カーバメート系農薬、グルホシネート、メタノール、アセトアミノフェン、ベンゾジアゼピン類、バルビツール酸類、メタンフェタミン、三環系抗うつ薬類、サリチル酸、ブロムワレリル尿素、テオフィリン：順不同）を絞り込むのに利用できる迅速検査法を実習した。本年度は、迅速

検査法で絞り込まれた中毒起因物質の同定・定量法について実習する。過去に分析経験のある試料を使用した実習が理解度を上げるには有用であると考え、昨年度の本研究で実施した薬毒物分析の精度管理に使用した模擬試料を実習の試料とする。

## 1) 試薬、試料

模擬試料の作成には、市販のヒト血清あるいは薬物を服用していない健常人から得られた尿を使用し、各薬毒物の標準品(1mg/mlのエタノール溶液あるいは水溶液)を添加した。

## 2) 方法

### 2-1) 症例の解説

付与された症例情報(参考資料 1)から予想できる中毒起因物質や実施すべき検査法のポイントを解説する。

### 2-2) 予試験

参加者に模擬試料を配布し、症例情報から予想された中毒起因物質を推定するため、迅速検査キットを使用する。

### 2-3) 分析機器による中毒起因物質の同定・定量

迅速検査キットで推定された中毒起因物質を機器分析により同定・定量する。前処理法と分析条件(添付資料 2)は、福家千昭氏(琉球大学)と斉藤剛氏(東海大学)より、日常検査に使用し分析精度が補償されている方法をご紹介します、ポイント(ノウハウ)を教授する。

## 3) 結果

症例の情報をもとに、中毒起因物質は三環系抗うつ薬(症例 1)、有機リン系農薬(症例 2)、アセトアミノフェン(症例 3)と予想され、迅速検査結果から三環系抗うつ薬(症例 1)、

有機リン系農薬（症例 2）、アセトアミノフェン（症例 3）と推定された。ただし、受講者は昨年度実施した薬毒物分析の精度管理時に迅速検査を実施していたので、本講習会では割愛した。推定された三環系抗うつ薬（症例 1）、有機リン系農薬（症例 2）、アセトアミノフェン（症例 3）の同定と定量を行うため、それぞれの起因物質に適した前処理を行い、ガスクロマトグラフ/質量分析計で同定後、高速液体クロマトグラフで定量した。

自施設で相談相手もなく不安を抱えながら分析するのではなく、傍に講師が付き添うことで逐次問題点を解決しながら分析が行え、技術向上とともにノウハウの取得が可能であった。また、日常の分析時に感じている疑問点（①標品の管理法、保存容器・保存状態・使用期限、②データの処理法、③薬毒物中毒の判断、④内部標準物質の選択と入手法、など）についても議論した。さらに、講習会終了後、再度自施設で同じ分析を行い、これまで分析できなかった起因物質の分析が可能となった、ばらつきの少ないデータが出せるようになったなど、講習会の効果が認められた。今後もこのようなサポートが必要であるとの意見が強かった。



## 参考資料 1

### 【症例 1】

患者 : 15 歳、女性  
現病歴 : ○月○日、自殺目的にて薬物を服用し、倒れているところを家人に発見された。意識障害を主訴に、救急車にて病院へ搬入された。  
入院時現症 : 意識レベルは JCS で 200、血圧は 60/30mmHg、脈拍 147/min、呼吸 24/min、体温 34.9℃、両瞳孔径は 5mm であった。  
入院時検査所見 : 血液ガス検査の結果、アシドーシスが認められた。また心電図の所見より、心室性期外収縮の頻発が認められた。  
担当医からの依頼 : 医薬品による中毒が疑われるため、医薬品を中心に検査して下さい。

### 【症例 2】

患者 : 41 歳、男性  
現病歴 : △月△日、納屋で倒れているところを家人に発見された。意識障害、嘔吐を主訴に、救急車にて病院へ搬入された。倒れていた患者の周辺に農薬のビンが転がっていたとの情報が救急隊から寄せられた。  
入院時現症 : 意識レベルは JCS で 100、血圧は 120/65mmHg、脈拍 114/min、両瞳孔径は 2mm であった。  
入院時検査所見 : 入院時の生化学検査では血清コリンエステラーゼ活性値が 30IU/L (正常値 : 200-400IU/L) と低値を示す以外には、特記すべき異常は認められなかった。

### 【症例 3】

患者 : 22 歳、女性  
現病歴 : ×月×日夜、仕事上の悩みから薬物を大量に服用した。訪ねてきた友人に不快感を訴えたため、近医を受診したが、受診時、意識清明で特記すべき所見はなかったため帰宅した。帰宅後、嘔吐、全身の倦怠感、発汗が続いたため、救急車にて搬送された。  
入院時現症 : 意識レベルは清明で、血圧は 120/65mmHg、脈拍 98/min、呼吸 22/min であった。  
入院時検査所見 : 入院時の生化学検査では特記すべき異常は認められなかった。友人の話では、新ルル A 錠の空きビンが転がっていたとのことであった。

検査時の注意 : 新ルール A 錠には複数の薬物が含まれています。全ての薬物を検査する必要はありませんので、中毒の疑いの高い薬物から検査して下さい。また、麻薬や覚せい剤原料に相当する薬物は、今回の検査対象から除外して下さい。

## 参考資料 2

### 1. ガスクロマトグラフ・質量分析計によるイミプラミンとデシプラミンの同定

#### <前処理>

- 1) 検体 0.5ml に純水 0.5ml、20%炭酸ナトリウム水溶液 (w/v) 0.2ml を添加する。
- 2) ジエチルエーテル 4.0ml を加える。
- 3) 振盪後、遠心 (3,000 回転、5 分間) する。
- 4) 上清を別の新しい試験管に移す。
- 5) 窒素気流下で蒸発乾固する。
- 6) 残渣を 50 $\mu$ l のメタノールに溶解し、GC-MS の試料とする。

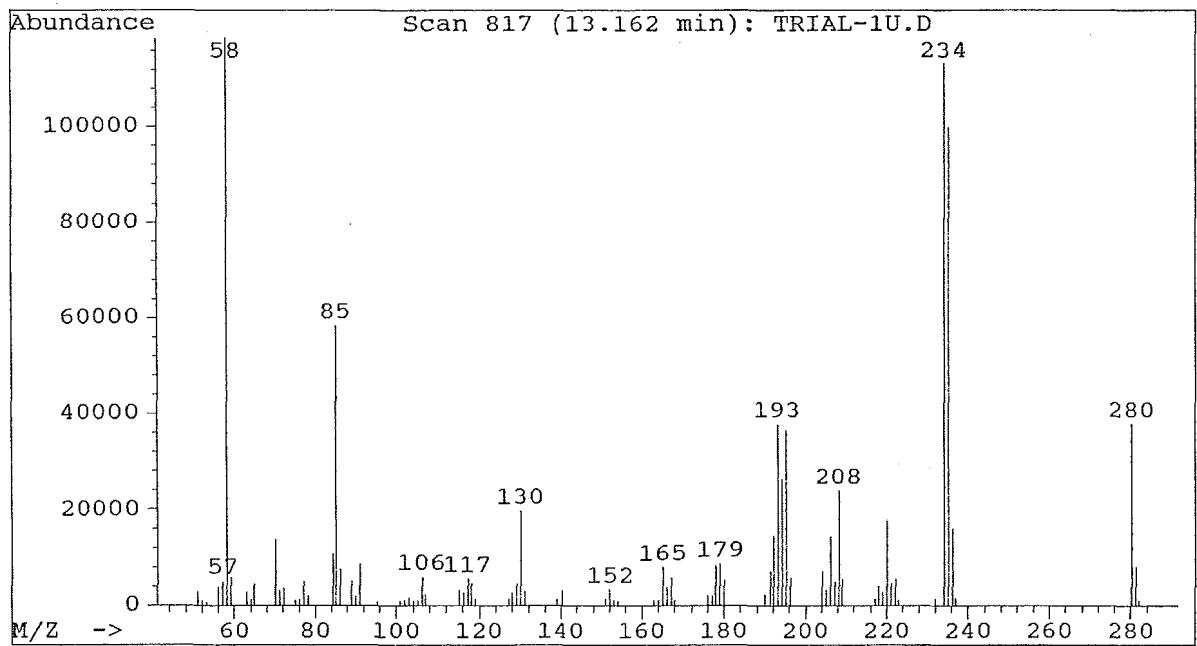
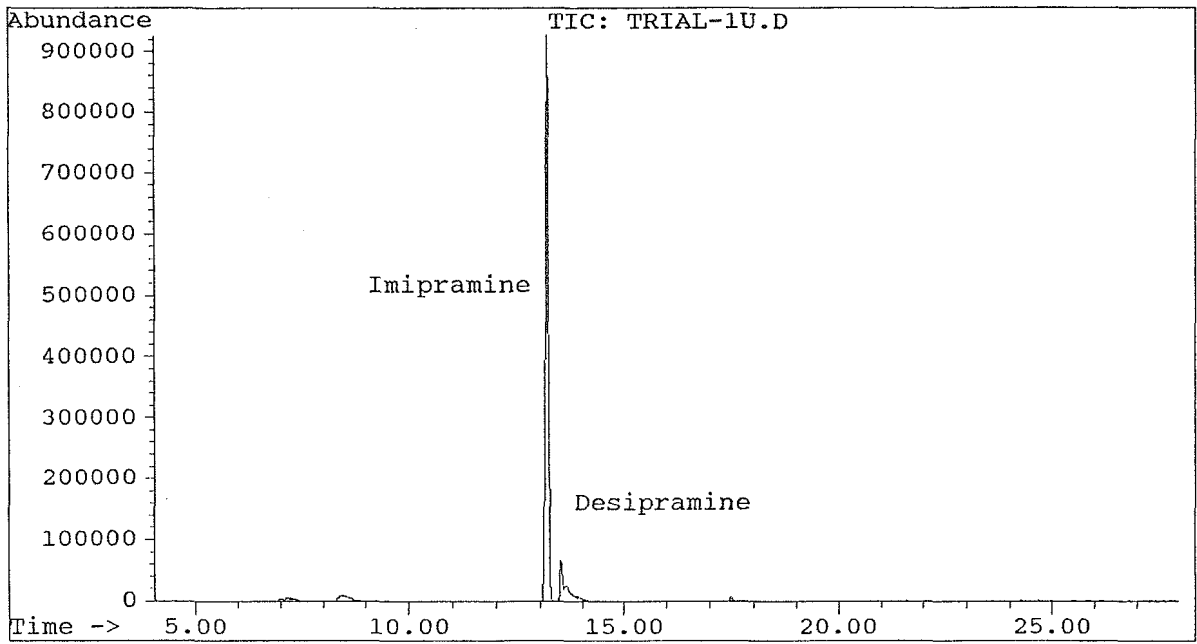
#### <分析条件>

Hewlett-Packard 5890 Series II GC/5971 MSD

Column : HP-5MS (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 mm film thickness)

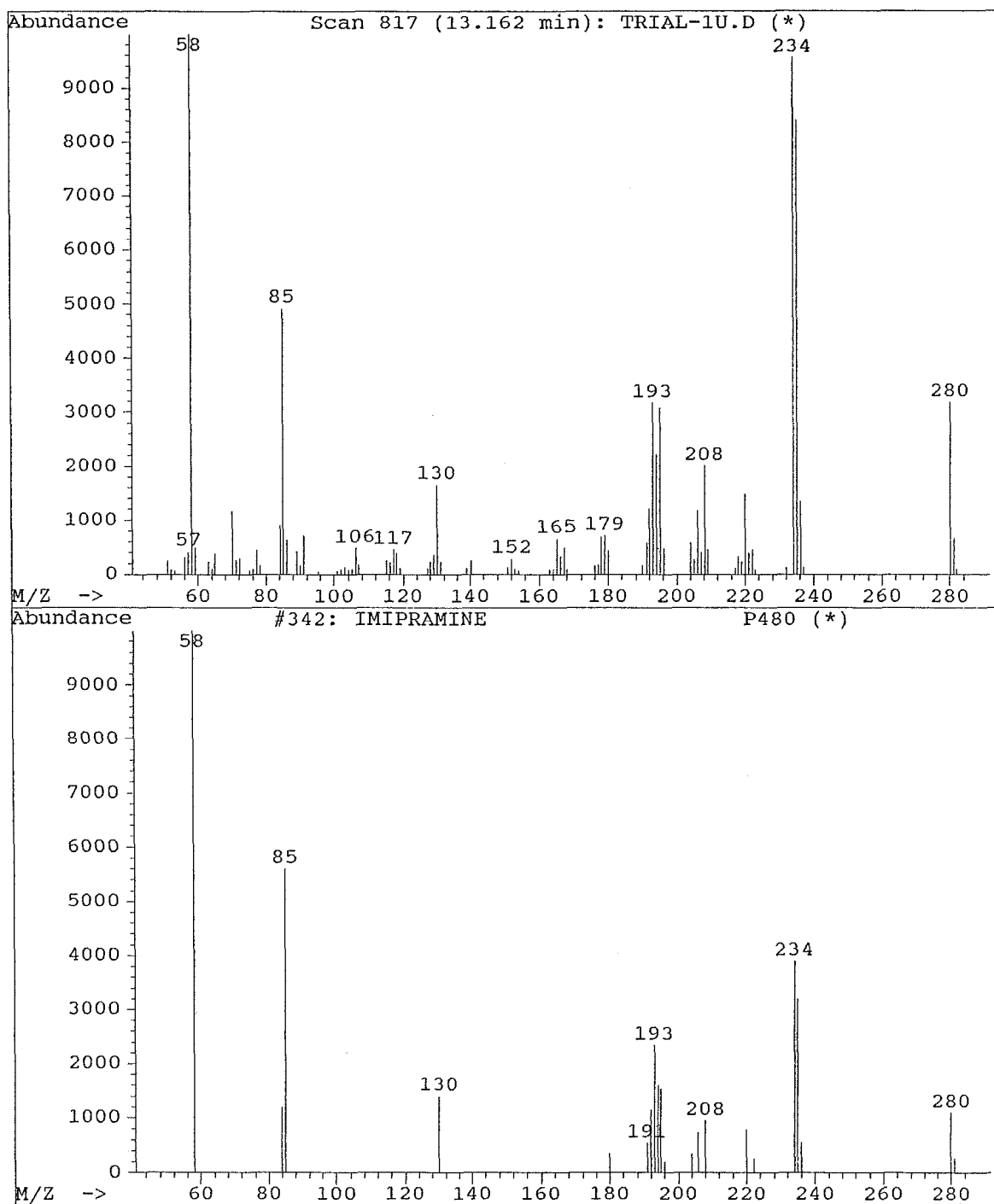
Injector Temp. : 250°C

Oven Temp. : 180°C (1 min) – 5°C/min – 300°C (3 min)



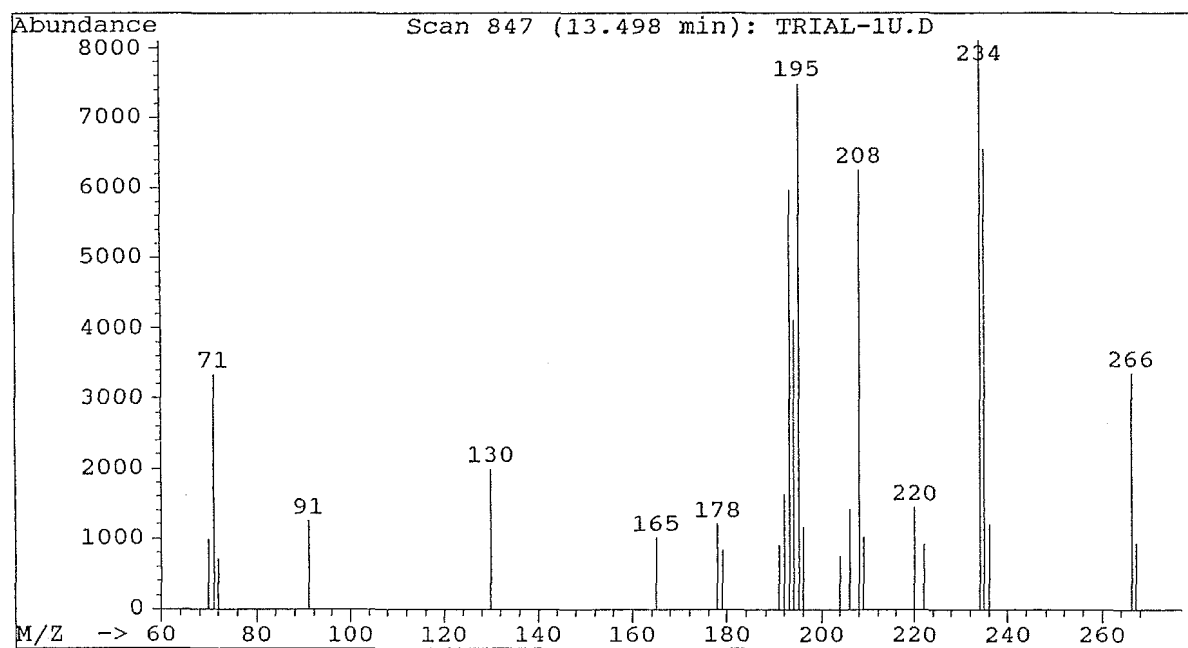
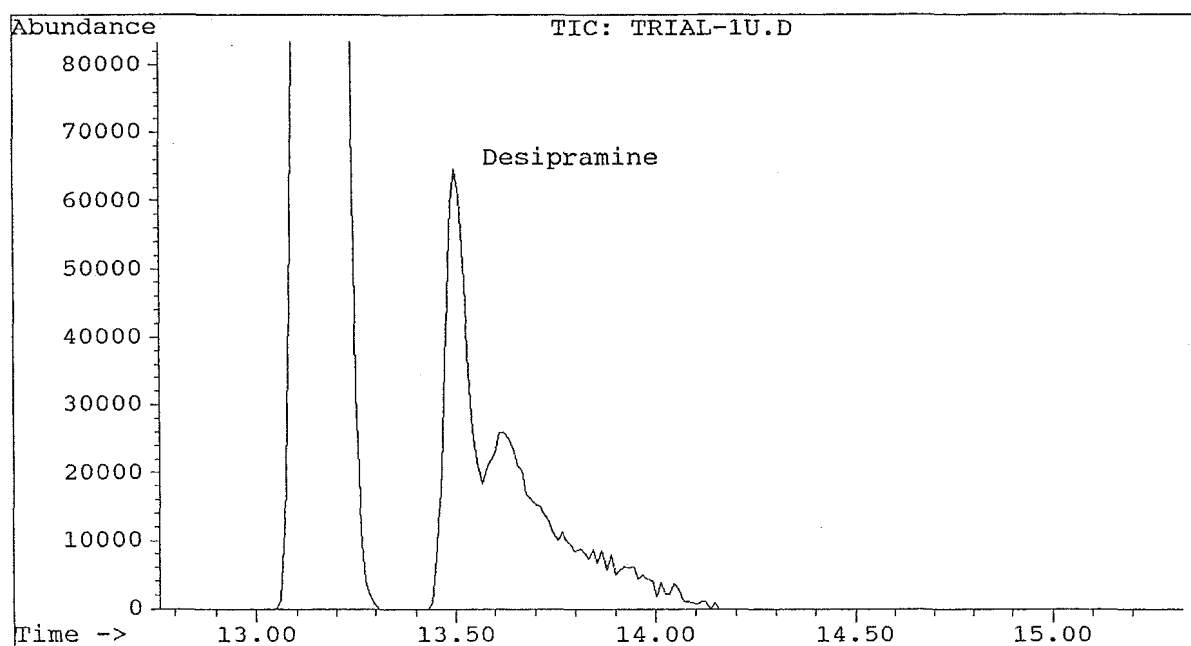
クロマト1 (症例1)

SCAN モードによるクロマトグラムとイミプラミンのマススペクトル



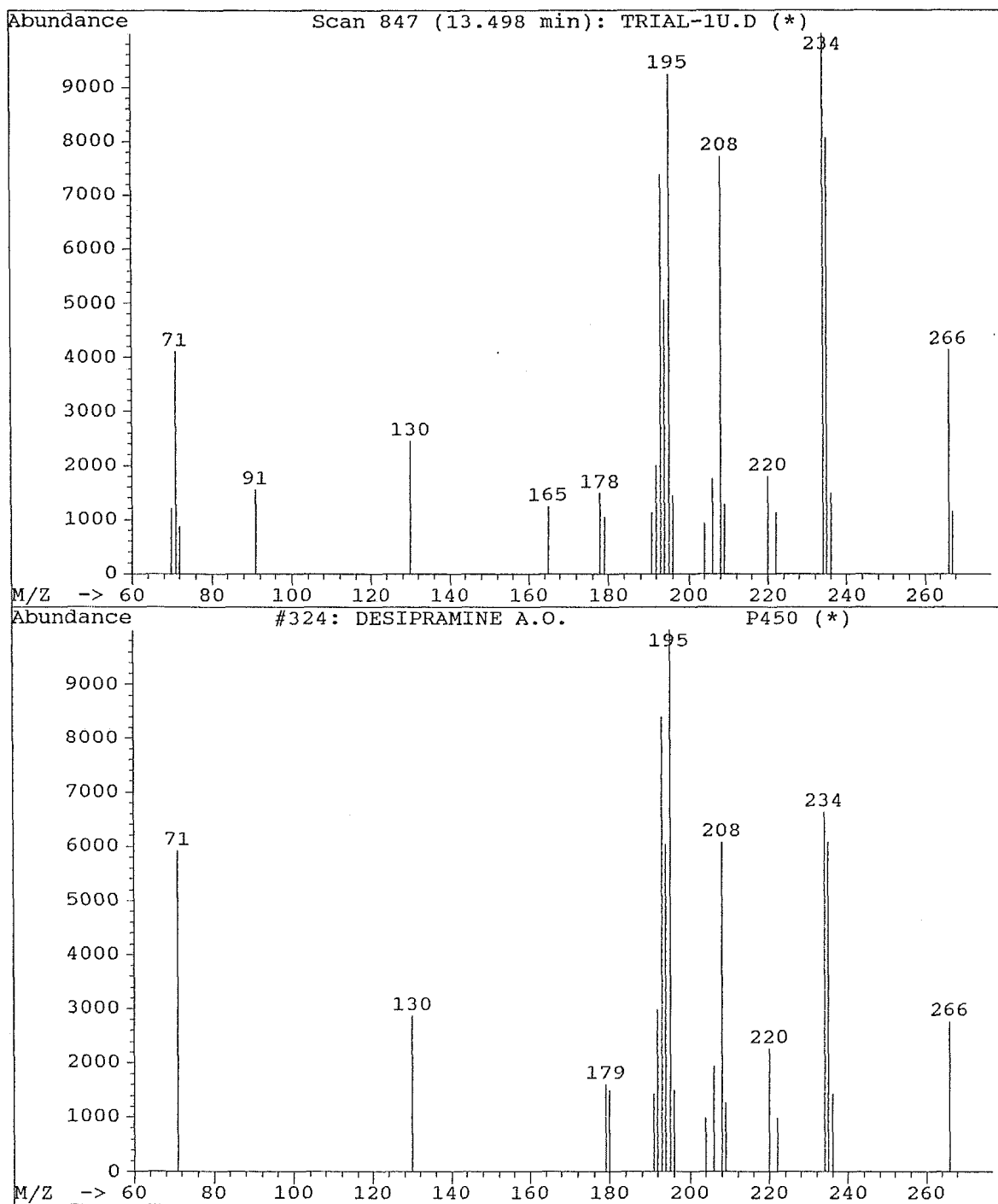
クロマト 2 (症例 1)

イミプラミンのマススペクトル (上段) とライブラリー (下段) との比較



クロマト3 (症例1)

SCAN モードによるクロマトグラム (拡大) とデシプラミンのマススペクトル



クロマト 4 (症例 1)

デシプラミンのマススペクトル (上段) とライブラリー (下段) との比較

## 2. 高速液体クロマトグラフによる血清、尿中イミプラミンとデシプラミンの定量分析

### <前処理>

- 1) 試料 100 $\mu$ l にトリミプラミン-メタノール溶液 (100 $\mu$ g/ml) 10 $\mu$ l と 20%炭酸アンモニウム溶液 100 $\mu$ l を加える。
- 2) ヘプタン-イソプロパノール (98.5 : 1.5) 500 $\mu$ l を加え、ボルテックスミキサーで 30 秒間攪拌する。
- 3) 12,000-g で 5 分間遠心分離する。
- 4) 有機層を分取する。
- 5) 室温水浴中、窒素ガスで乾固する。
- 6) 移動相 100 $\mu$ l に溶解し、その 20 $\mu$ l を高速液体クロマトグラフに注入する。

### <分析条件>

ポンプ : Shimadzu LC-10A & SPD-10A  
検出器 : 紫外可視検出器 (280 nm)  
カラム : Nova-Pak C18 (15 cm x 3.9 mm, 4  $\mu$ m, Waters)  
移動相 : アセトニトリル : 20 mM リン酸 2 水素カリウム, 10 mM トリエチルアミン  
(pH 6.9) = 5 : 5  
流速 : 1 ml/min  
カラム温度 : 40  $^{\circ}$ C



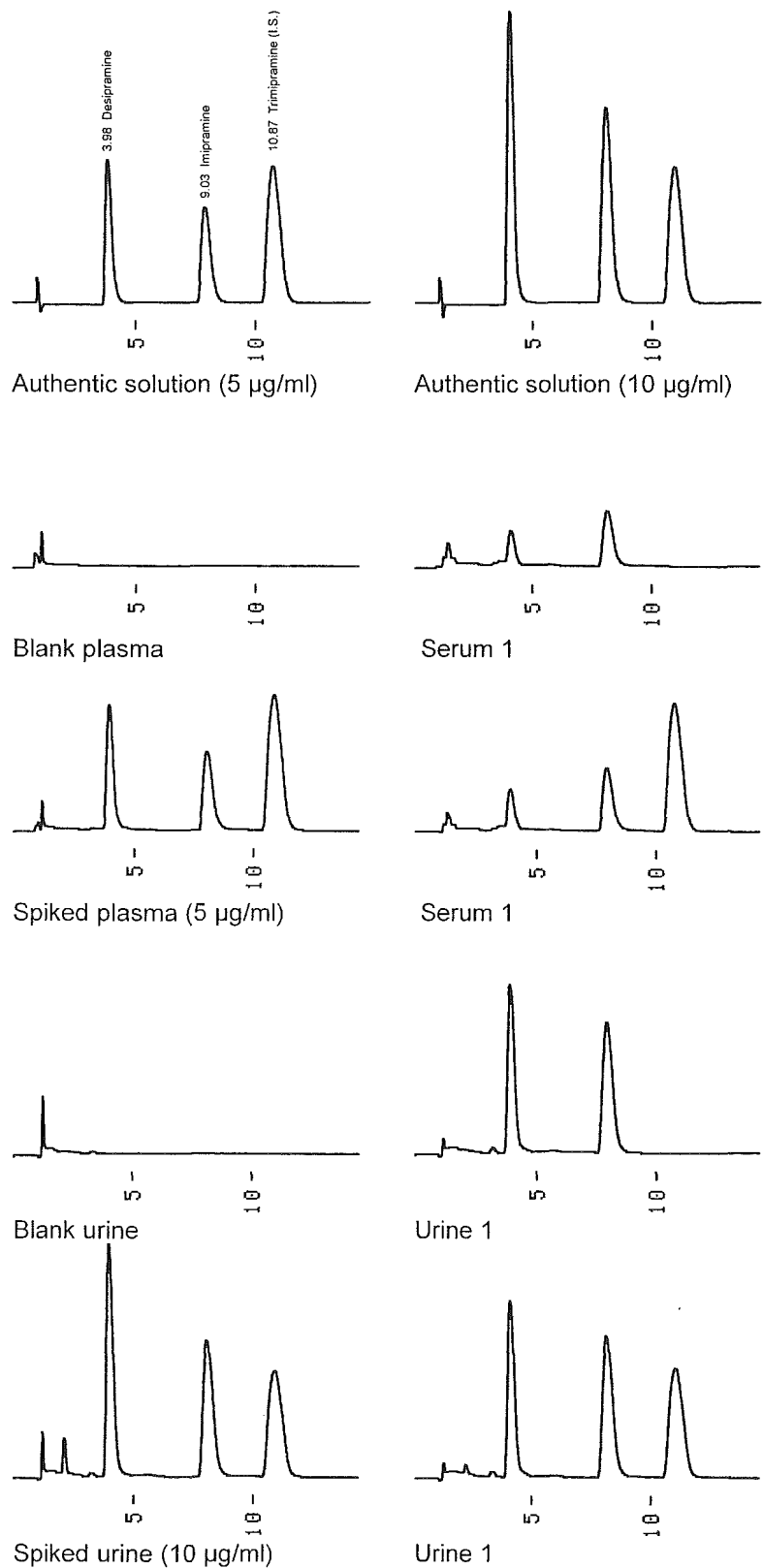


図1 試料と標準溶液、添加血漿、添加尿のクロマトグラム

【注解】

- 1) 本分析条件にてデシプラミン (3.98 分) とマプロチリン (4.32 分)、トリミプラミン (10.87 分) とアミトリプチリン (10.57 分) は分離しないので、同時に存在するときは分析条件の変更が必要である。
- 2) フェノチアジン系薬物のレボメプロマジン は 9.43 分、プロメタジンは 10.42 分、クロルプロマジンは 14.96 分にピークがある。他にも三環系抗うつ薬とフェノチアジン系薬物は近接したところにピークがあるので、服用薬物の情報がある時はそれぞれの化合物の保持時間を調べ、妨害しあわないことを確認したうえで定量分析する必要がある。
- 3) 抽出後溶媒を留去した後、残渣を再溶解する時は移動相を用いることを勧める。アセトニトリルの含有比や液性がピーク面積に影響することがある。

### 3. ガスクロマトグラフ・質量分析計による尿中フェニトロチオンの同定

#### <前処理>

- 1) Empore disk C2 をメタノール、純水各 0.5ml でコンディショニングする。
- 2) 尿 0.5ml を Empore disk C2 にアプライする。
- 3) 5%メタノールで洗浄する。
- 4) 吸引乾燥後、遠心 (3,000 回転、5 分間) する。
- 5) 0.5ml の溶媒[クロロホルム：エタノール (9：1)] で溶出する。
- 6) 窒素気流下で溶媒を蒸発乾固する。
- 7) 残渣を 50 $\mu$ l のメタノールに溶解し、GC-MS の試料とする。

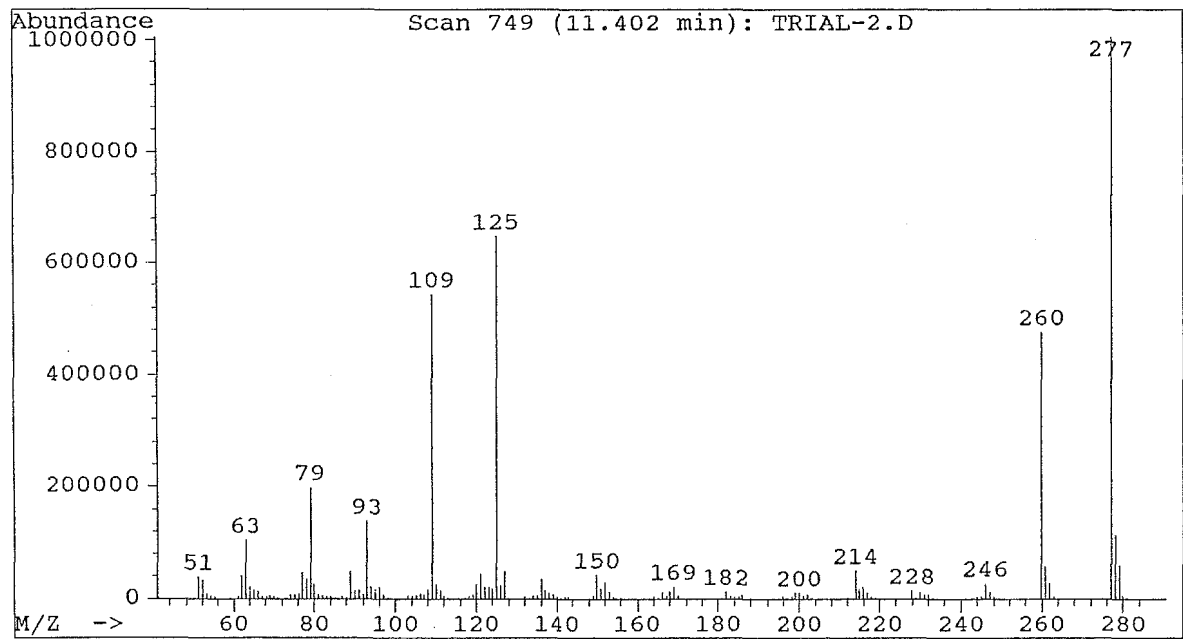
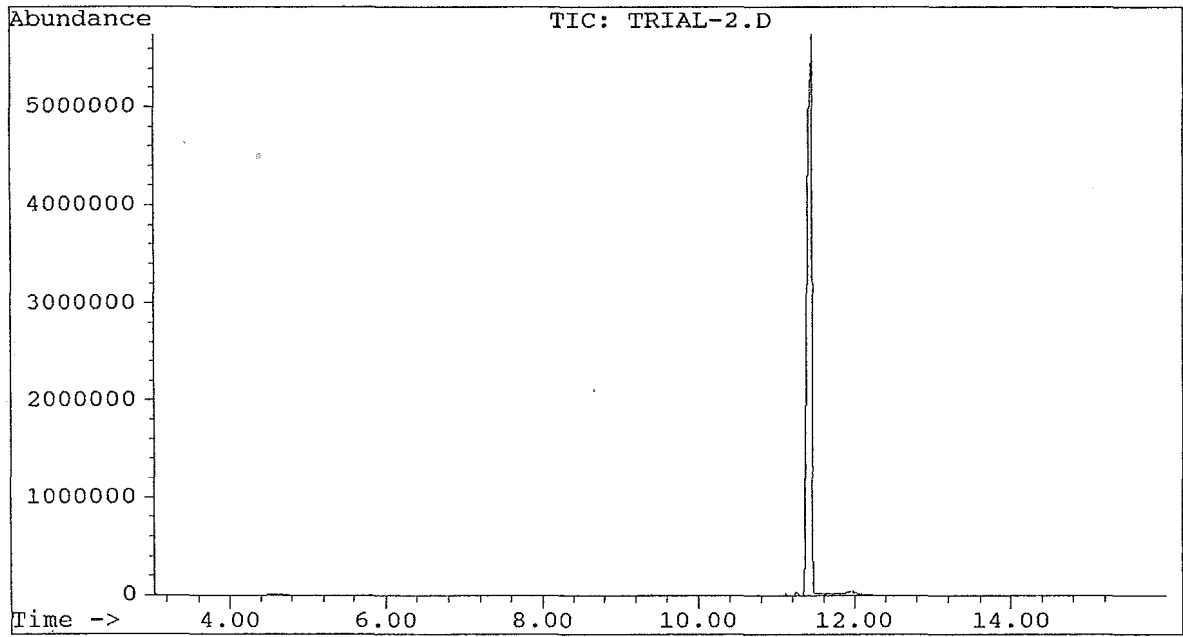
#### <分析条件>

Hewlett-Packard 5890 Series II Gas Chromatograph/5971 Mass Selective Detector

Column : HP-5MS (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 mm film thickness)

Injector Temp. : 250°C

Oven Temp. : 100°C (3 min) – 20°C/min – 300°C (3 min)



クロマト1 (症例2) (尿抽出後)

SCANモードによるクロマトグラムとフェニトロチオンのマススペクトル