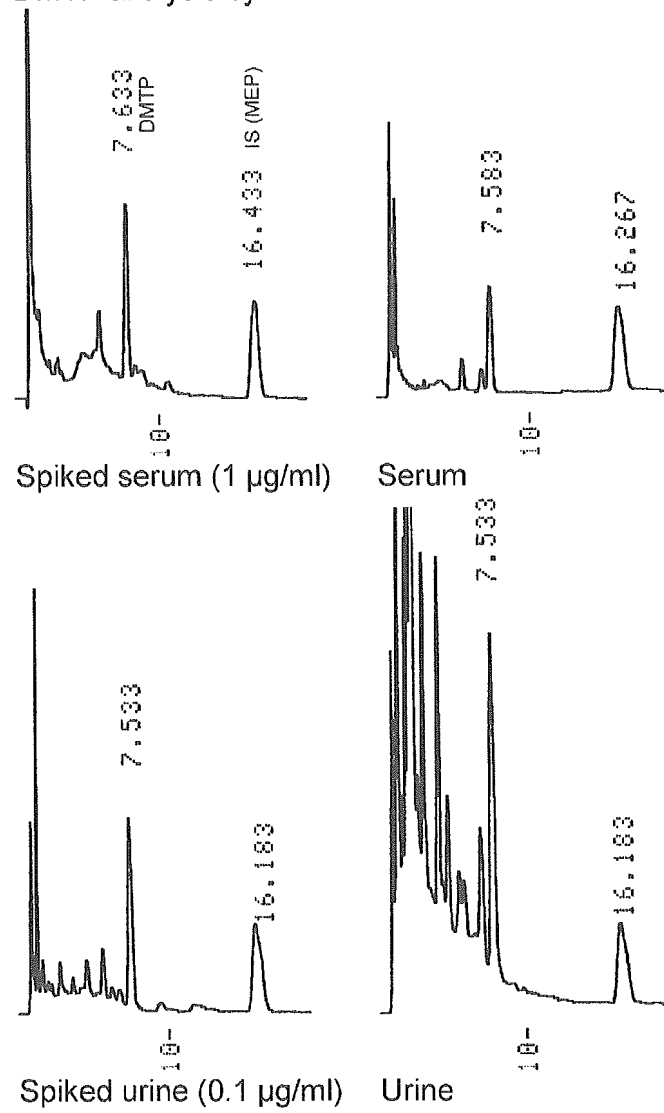


DMTP analysis by HPLC



メチダチオン定量分析のクロマトグラム

Cresolの分析

【前処理】

1. 試料 100 μ l にアセトニトリル 100 μ l を加える。
2. ボルテックスミキサーで攪拌する。
3. 12,000-g で 5 分間遠心分離する。
4. 上清 5 μ l を高速液体クロマトグラフに注入する。

【分析条件】

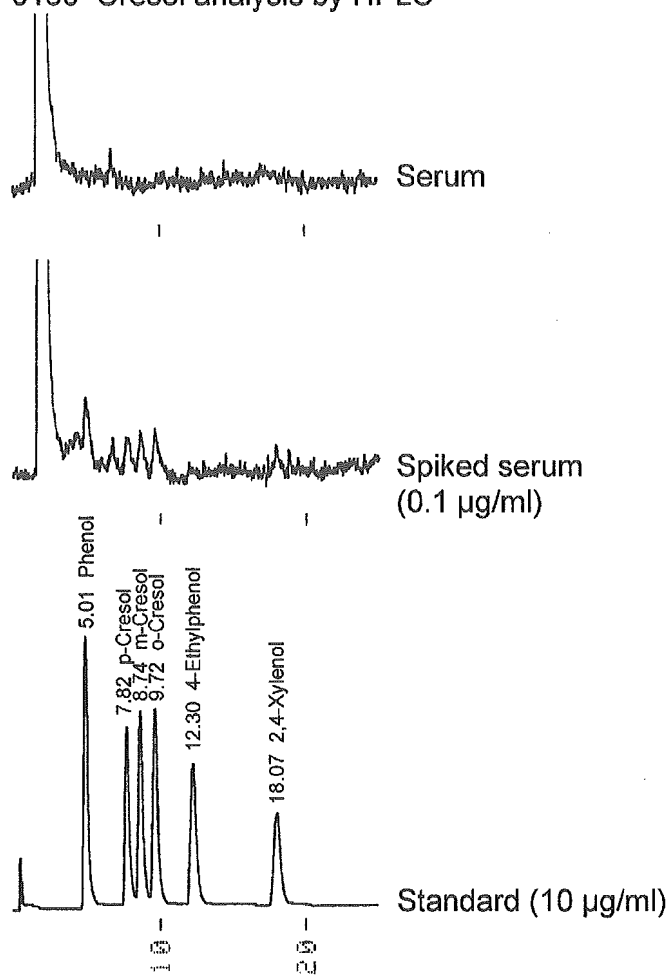
ポンプ : Shimadzu LC-6A
検出器 : Shimadzu RF-530
カラム : XTerra MS C18 (2.1 x 150 mm, 3.5 μ m, Waters)
移動相 : アセトニトリル : 20 mM KH₂PO₄ (pH 3.0) = 25 : 75 溶液
(20 mM β -Cyclodextrine を含む)
流 速 : 0.2 ml/min
温 度 : 室温
検出波長 : Ex: 270 nm, Em: 305 nm

保持時間 (min)

Phenol	p-Cresol	m-Cresol	o-Cresol	4-Ethylphenol	Xylenol
5.01	7.82	8.74	9.72	12.30	18.07

検出下限 : 0.1 μ g/ml in plasma

0160 Cresol analysis by HPLC



ジクロロボスの分析

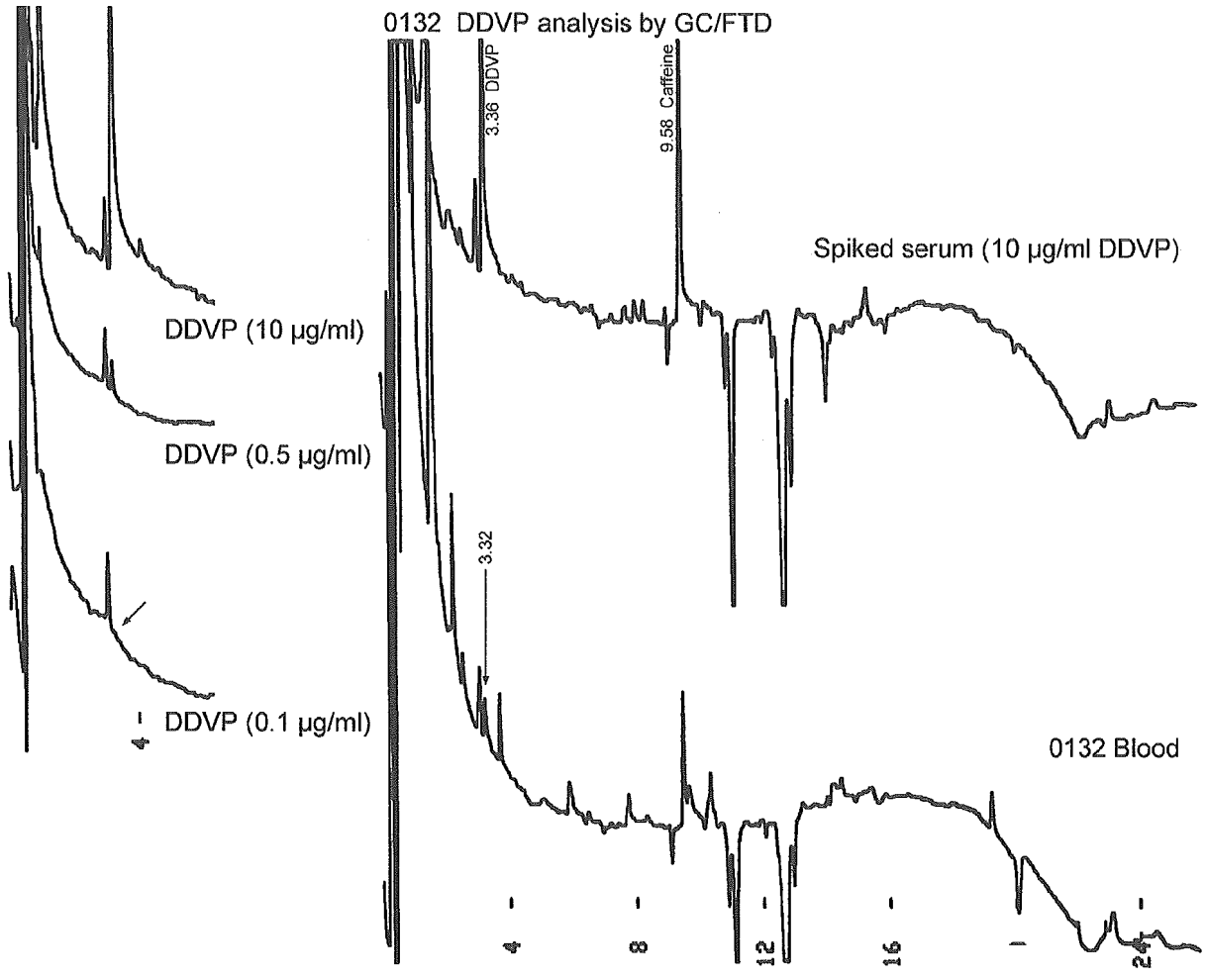
【前処理】

1. 血液 100 μ l に酢酸エチル 100 μ l を加え、ボルテックスミキサーで攪拌する。
2. 12,000-g で 5 分間遠心分離する。
3. 有機層を分取し、その 1 μ l をフレイムサーミオニック検出器付ガスクロマトグラフに注入する。

【分析条件】

装置 : Shimadzu GC-7AG
検出器 : FTD
カラム : DB-1 (30 m x 0.53 mm, 1.5 μ m)
キャリアガス : ヘリウム
温度 : 100 $^{\circ}$ C \cdot (10 $^{\circ}$ C/min) \cdot 320 $^{\circ}$ C
流速 : 30 ml/min

	Rt (min)
ジクロロボス	3.36



ジクロルボス GC/FTD定量分析のクロマトグラム

ダイアジノンの分析

【前処理】

1. 試料 100 μ l にスルプロホス-メタノール溶液 (100 μ g/ml) 10 μ l を加える。
2. アセトニトリル 100 μ l を加え、ボルテックスミキサーで攪拌する。
3. 12,000-g で 5 分間遠心分離する。
4. 上清を分取する。
5. 移動相 100 μ l に溶解し、その 20 μ l を高速液体クロマトグラフに注入する。

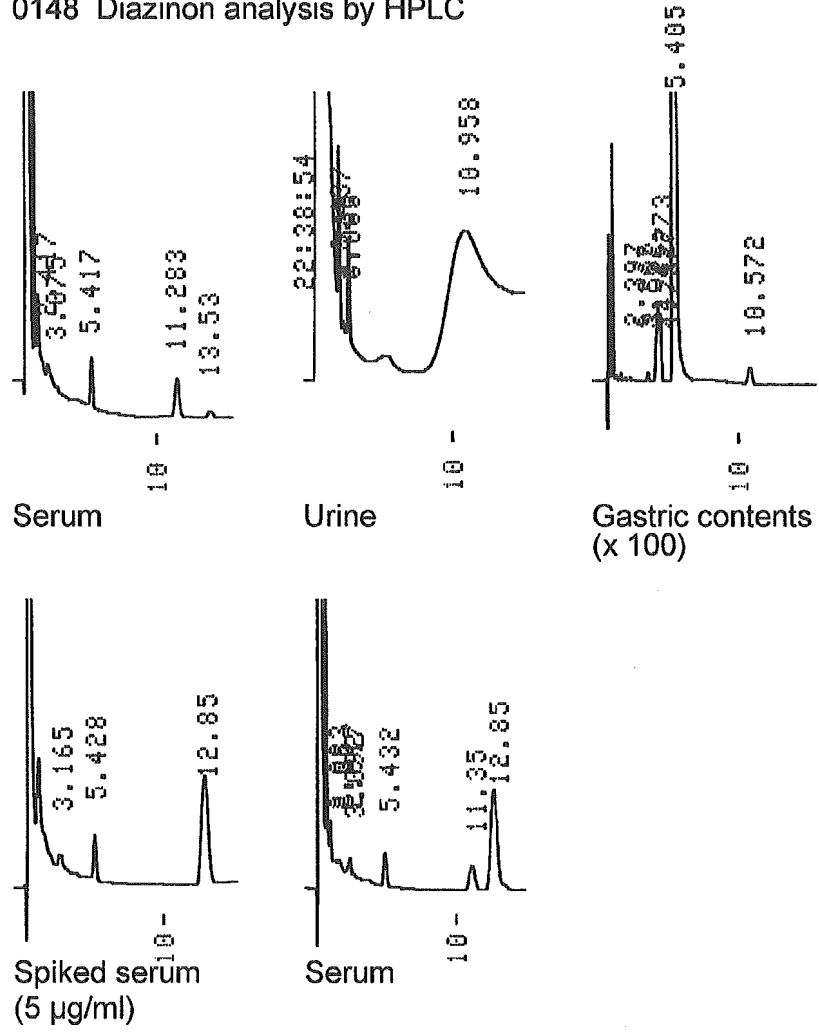
【分析条件】

ポンプ : Shimadzu LC-10A
検出器 : Shimadzu SPD-10A
カラム : Nova-Pak C18 (3.9 x 150 mm, 4 μ m, Waters)
移動相 : アセトニトリル : 水 = 6 : 4
流速 : 1.0 ml/min
温度 : 40°C
検出波長 : 250 nm

	Rt (min)
Diazinon	5.43
Sulprofos	12.85

検出下限 : 0.1 μ g/ml in plasma

0148 Diazinon analysis by HPLC



ダイアジノン定量分析のクロマトグラム

ピリミホスメチルの分析

【前処理】

1. 試料 100 μ l にダイアジノン-メタノール溶液 (10 μ g/ml) 10 μ l を加える。
2. ヘキサン 500 μ l を加え、ボルテックスミキサーで 1 分間攪拌する。
3. 3,300 rpm 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 μ l に溶解し、その 20 μ l を高速液体クロマトグラフに注入する。

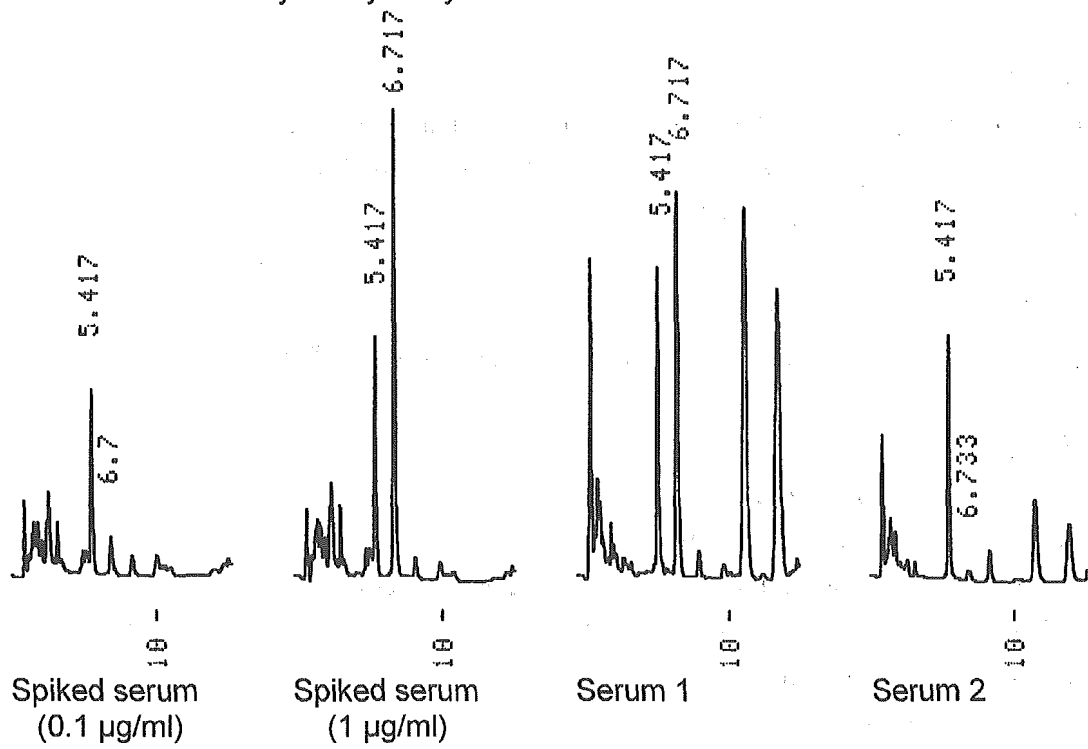
【分析条件】

ポンプ	: Shimadzu LC-10A
検出器	: Shimadzu SPD-10A
カラム	: Nova-Pak C18 (3.9 x 150 mm, 4 μ m, Waters)
移動相	: アセトニトリル : 水 = 6 : 4
流速	: 1.0 ml/min
温度	: 40 $^{\circ}$ C
検出波長	: 250 nm

	Rt (min)
ダイアジノン	5.42
ピリミホスメチル	6.72

検出下限 : 0.01 μ g/ml in plasma

0113 Pirimifos methyl analysis by HPLC



ピリミホスメチル定量分析のクロマトグラム

AMT、MDA、MDMA の分析

【前処理】

1. 試料 200 μ l と内部標準溶液 (methoxyphenamine, 0.01mg/ml) 10 μ l を Extrelut カラム (Extrelut と炭酸ナトリウムを 3:1 で混合) に注入する。
2. 20 分間放置した後、酢酸エチル (1% Propylchloroformate 含有) 200 μ l 加え、誘導体化する。
3. さらに 10 分間放置した後、酢酸エチルで溶出する。
4. 溶出液 200 μ l をバイアルビンに取り、その 1 μ l を GC/MS で分析する。

【分析条件】

装置	: Agilent 6890GC/5973MSD)
Coulun	: HP-5MS (0.25mm, 30m, 0.25 μ m)
Oven temp.	: 50 $^{\circ}$ C (1min)-15 $^{\circ}$ C/min-280 $^{\circ}$ C (3min)
Injection temp.	: 250 $^{\circ}$ C
Interface temp.	: 250 $^{\circ}$ C
Mass range	: m/z50~450

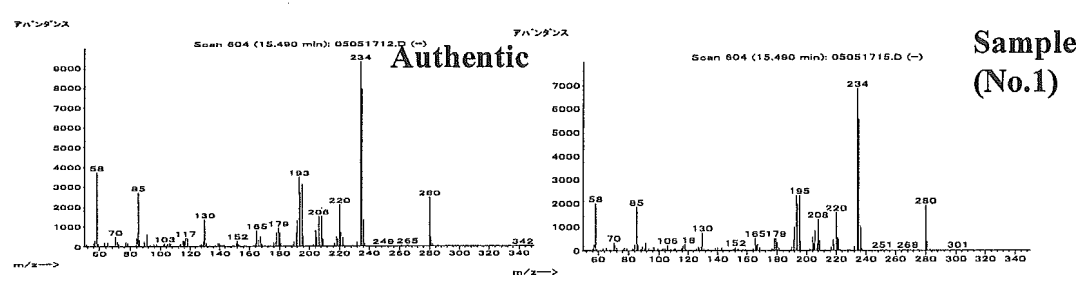
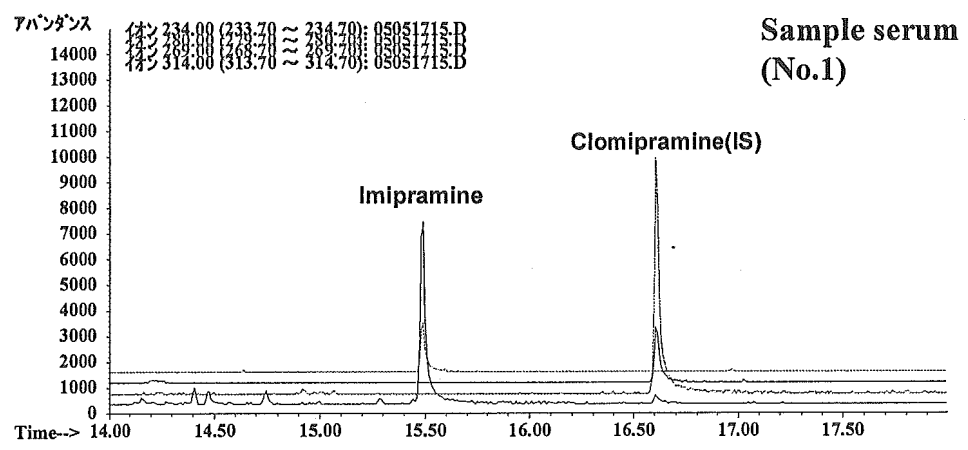
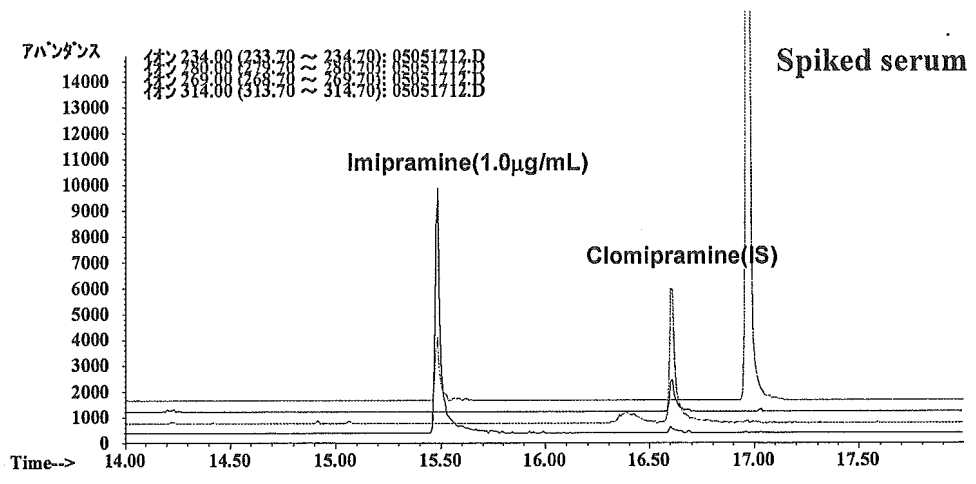
イミプラミンの分析

【前処理】

1. 試料 300 μ l に 20%炭酸ナトリウム水溶液 300 μ l と内部標準溶液 (clomipramine, 0.1mg/ml) 3 μ l を加えて混合する。
2. ヘキサン-イソアミルアルコール (98.5 : 1.5) 300 μ l を加え、良く攪拌する。
3. 13,400rpm で5分間、遠心分離する。
4. 有機層を新しい試験管に取り、窒素気流下 (室温) で溶媒を留去する。
5. 残渣にアセトニトリル 200 μ l に溶解し、その 1 μ l を GC/MS で分析する。

【分析条件】

GC/MS 分析条件 : Agilent 6890GC/5973MSD
Coulun : HP-5MS (0.25mm, 30m, 0.25 μ m)
Oven temp. : 50 $^{\circ}$ C (1min)-15 $^{\circ}$ C/min-280 $^{\circ}$ C (3min)
Injection temp. : 250 $^{\circ}$ C
Interface temp. : 250 $^{\circ}$ C
Mass range : m/z50~450



トリクロロエチレンの分析

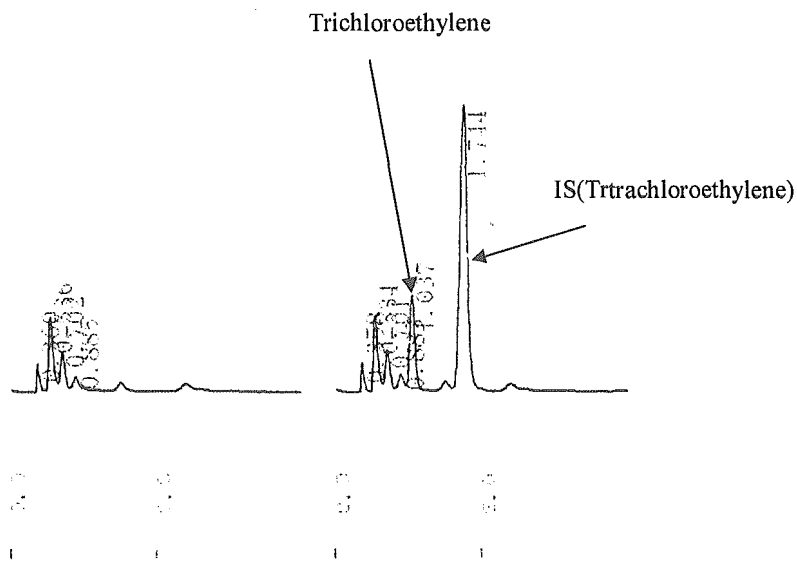
【前処理】

1. 試料 0.1ml に内部標準溶液(テトラクロロエチレン, 2mg/ml) 4 μ l と水 1.5ml を加える。
2. 55 $^{\circ}$ C で 20 分間加温する。
3. 気相 1.5ml を GC/FID に注入して分析する。

検量範囲 : 1~8 μ g/ml、検出下限 : 0.5 μ g/ml

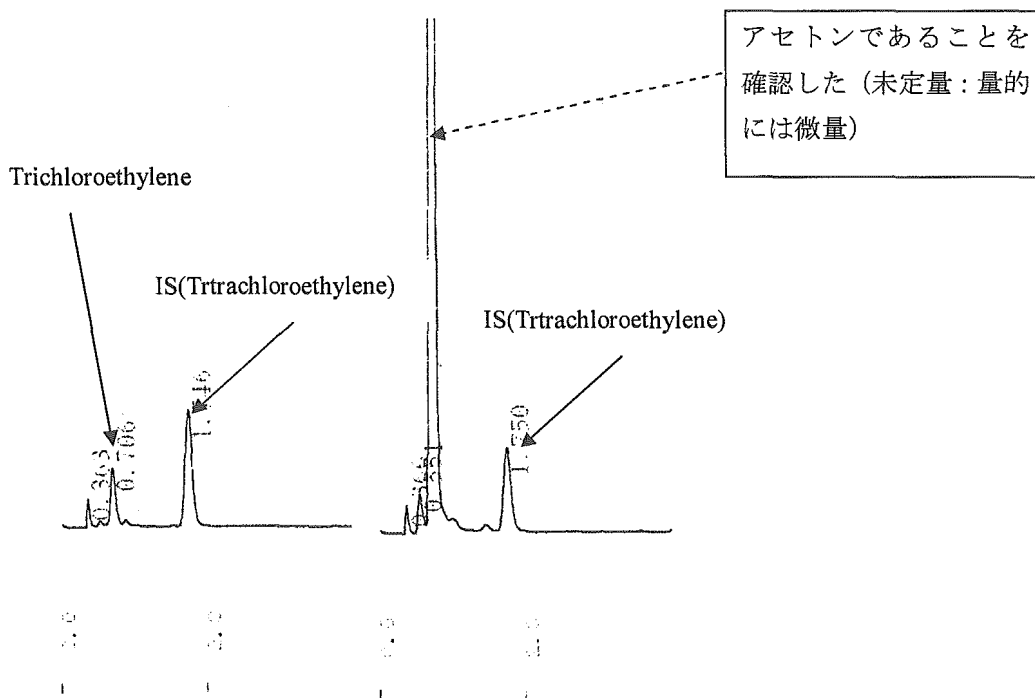
【分析条件】

装置 : Shimadzu GC-3BF
Coulun : BX-20 (0.3mm, 2.1m, 100~120mesh)
Oven temp. : 90 $^{\circ}$ C
Injection temp. : 100 $^{\circ}$ C (range : 4)
Detector temp. : 100 $^{\circ}$ C
Carrier gas : N₂ (40ml/min) (1.0kg/cm²)
Detector : FID (H₂: 0.6kg/cm², Air: 0.6kg/cm²)
: range : 4
: sensitivity : 10²



Blank serum

Spiked serum (4µg·ml)



Sample serum (3/26)

Sample urine

添付資料 3

薬毒物分析の実態調査

1. 目的

高度救命救急センターなど国内の主要な医療施設に分析装置が配備され、各施設で中毒原因物質の特定が可能となっている。しかし、施設内には薬毒物分析の実務経験者が少なく、薬剤師や臨床検査技師が通常業務との兼任で分析を行っていることが大半である。ましてや治療方針に対して大きな影響を与える分析の精度管理についての対策もなされていない。急性中毒患者は救急隊の判断で市中の医療機関に搬送されて治療されるが、平等な治療を受ける権利があるにも関わらず、搬送される医療機関の技術レベルや検査精度の格差により、平等な治療を受けることができない可能性がある。これは厚生労働行政上、重大な問題であり、早急に解決すべき課題と考える。

本研究では、国内の薬毒物分析技術を国際レベルに引き上げ、医療の質の向上や医療費削減など厚生労働行政の向上に資することを目的に、各施設における薬毒物分析の実態を把握すると同時に検査精度に対する理解度ならびに取り組みについて調査を行った。本研究の成果によって、全国の主要となる高度救命救急センターなどにおける薬物検査レベルを維持・向上が大いに期待される。

2. 参加者の募集

全国の救命救急センター170カ所の施設長宛に参加依頼を行った。ただし、参加の諾否は各施設の判断に委ねた。

3. 試料の配布

検査は実際の中毒患者の検査試料を分析することに意義があるが、倫理面に問題があることから、薬物を服用していない健常人から得られた尿に薬毒物を添加することとした。検査試料は、締め切り期限までに参加の意思が確認できた施設に送付した。ただし、参加確認までの猶予期間が短かったため、締め切り期限内に回答の得られなかった施設にも送付した。

4. 送付した血清試料の調製

検査対象となる薬毒物には、日本中毒学会「分析のあり方検討委員会（現分析委員会）」が提唱した15品目のなかで、中毒症例の多い薬物ならびに血中濃度の測定が治療に有意義とされているパラコートとヒ素を選定した。パラコートは呈色反応によって、ヒ素は蛍光X線分析計で検出可能である。つまり、本調査では、いずれの薬物も予試験としての検査法が知られている薬物である。また、本調査では、薬物を服用していない健常人から得られた尿に薬物を人為的に添加することで試料を作成したため、実際の中毒発生時とは異なった生化学検査値が得られることの懸念は拭い難い。

薬物を服用していない健常人から得られた尿に各薬毒物の標準品（1mg/mlのメタノール溶液あるいは水溶液）を添加した後、約3時間スターラーにて攪拌し、試料送付用のガラス製バイアル瓶（10, 20ml容量）に分注した。試料分注後、速やかに凍結保存した。

【使用した薬毒物標準品】

パラコート

ヒ素

尿にパラコートを水にヒ素を最終濃度が下記の濃度となるように添加した。

パラコート 38 μ g/ml (尿中濃度)

ヒ素 330 μ g/ml (水溶液中濃度)

5. 参加の諾否、分析結果の返送

5.1. 参加諾否の返送 (全施設対象)

分析結果までを年度内に終了させるには猶予がなかったため、参加諾否の回答は、本企画を説明した試料送付時に返信用のハガキで行うと同時に FAX, E-mail で行った。締め切り期日以内に参加諾否の連絡のあった施設は、以下の通りである。

諾 67 施設

否 33 施設

無回答 70 施設

締め切り期限後 (薬毒物標準品や検査試料配布後) に参加したいとの連絡も受けたが、検査試料の配布と分析に要する時間を考慮しても、期限内に結果返送が困難と判断 (厚生労働省医政局と相談) し、今回は試料配布しなかった。

5.2. 分析結果の解析 (67 施設対象)

分析結果の返送は、転記漏れを最小限に抑えるために E-mail で行った。E-mail の使用できない施設は、郵送にて行った。分析結果受領後、ファイルメーカーで作成したフォーマットに入力し、検査試料ごと (尿、水溶液に分類し) にデータベース化した。

結果の返送あり 59 施設

結果の返送なし 8 施設

5.2.1. 尿中薬物について

パラコートを同定できた施設 36 (定量まで行った施設 19)

パラコートを同定できなかった施設 23

5.2.2. 水溶液中薬物について

ヒ素を同定できた施設	38 (定量まで行った施設 29)
ヒ素を同定できなかった施設	21

今回、検査試料に対する臨床情報を添付しないかわりに、尿に添加した薬物は農薬および医薬品)、水溶液に添加した薬物は医薬品および無機化合物と検査範囲を限定した。その結果、尿中のパラコートと同定していた施設は 36 施設 (分析試料を送付した施設の 61.0%)、水溶液中のヒ素を同定していた施設は 38 施設 (分析試料を送付した施設の 64.4%) であった。しかし、定量値の有効数字、前処理や分析精度まで吟味して分析している施設は少なく、分析値の扱い方や分析精度についての知識を共有することによって、より高い分析能力を得ることが可能と考える。日本中毒学会主催の分析講習会や厚生労働省主催の化学災害研修などへの積極的な参加の意見がある反面、実務への応用が伴っていない結果となっている。実務に直結させるためにも、それに見合った教育活動の場の提供が急務であるとともに分析者の積極的な参加が望まれる。

前回の調査結果で、血清中パラコートの定性・定量を行っている施設が 6 割程度であった。今回の調査結果、尿中パラコートの定性・定量を行っている施設は 6~7 割程度であり、救命救急センターでの薬毒物分析への積極的な取り組みが定着したようである。しかし、この結果は薬毒物分析に直接携わっている医師や分析担当者の努力の賜であり、施設全体で薬毒物分析に理解を示しているところは数少ない。薬毒物分析が金銭的裏付けのない業務であることが大きな要因である。また、施設の検査体制のみでなく、資格・肩書きがないため、業務上のメリットがないなど分析担当者自身の意欲にも左右される。これらの改善のため、早急なる保険診療への拡大とともに分析技術に対する資格化が望まれるところである。

研究成果の刊行に関する一覧表

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ
1)	波多野弥生、黒木由美子、吉岡敏治、他	化学物質リスク評価を目的としたヒト急性中毒症例データベースの構築ーヒト急性中毒症例収集統一フォーマットの作成ー	中毒研究	18(1)	93-100
2)	黒木由美子、吉岡敏治、大橋教良、他	日本中毒情報センターで収集したヒト急性中毒症例に関する調査	中毒研究	18(3)	277-283

中毒情報センターから

化学物質リスク評価を目的とした ヒト急性中毒症例データベースの構築 —ヒト急性中毒症例収集統一フォーマットの作成—

波多野弥生¹⁾, 黒木由美子¹⁾, 吉岡敏治^{1,2)}, 白川洋一³⁾, 村田厚夫⁴⁾, 大橋教良^{1,5)}
屋敷幹雄⁶⁾, 遠藤容子¹⁾, 飯塚富士子¹⁾, 杉本 侃¹⁾
財団法人日本中毒情報センター¹⁾, 大阪府立急性期・総合医療センター²⁾, 愛媛大学医学部³⁾
杏林大学医学部⁴⁾, 筑波メディカルセンター病院⁵⁾, 広島大学大学院医歯薬学総合研究科⁶⁾

はじめに

化学物質のリスク評価には、これまで動物実験の毒性値(LD₅₀値など)が用いられてきた。しかしながら、ヒトに対する毒性への外挿は困難であり、かつ、近年は動物を使用した毒性実験は必要最小限にとどめられているため、化学物質がヒトへ及ぼす影響、毒性の予測は一層困難な状況になっている。また、WHO, ILO, UNEPの共同プログラムである International Programme on Chemical Safety(国際化学物質安全性計画; IPCS)においては、化学物質リスク評価のためのヒト症例収集に関する準備研究が2002年より開始された¹⁾。

上記のような現状を背景とし、われわれは、化学物質によるヒトの急性中毒症例を血中濃度の分析値および臨床医の評価とともに収集する全国的な統一システムを構築し、収集したデータを化学物質のリスク評価に資することを目的とする研究を開始した^{2,3)}。この研究の一環として、化学物質のリスク評価を目的とした、ヒト急性中毒症例を収集するための新しい統一フォーマットを検討、作成したので紹介する。

1. 方 法

1) 既存の中毒症例収集フォーマットの比較検討

予備検討として、既存の中毒に関する症例収集フォーマットにおけるデータ収集項目、選択式項目の選択肢について、その定義も含めて比

較検討した。検討したのは、各国の中毒センターが主体となって収集している次の3種である。

- a) INTOX programme Harmonised Data Collection Version 4.0(以下INTOX, International Programme on Chemical Safety)⁴⁾
- b) Toxic Exposure Surveillance System(以下TESS, American Association of Poison Control Centers)⁵⁻⁷⁾
- c) 急性中毒症例調査用紙(以下JPIC, 財団法人日本中毒情報センター)

2) ヒト急性中毒症例収集統一フォーマットの作成

1)の結果をもとに、ヒト急性中毒症例収集における収集項目および選択肢を検討、決定し、用紙版の統一フォーマットを作成した。さらに、ヒト急性中毒症例収集のためのデータベースについて、Microsoft社のMicrosoft Access 2002を用いて基本構造を構築し、あわせて入力用のサブシステムを整備した。

2. 結 果

1) 既存の中毒症例収集フォーマットの比較検討

INTOX, TESS, JPICとも基本的な項目は共通しているが、細かい部分で差がみられた。項目がもっとも多く、網羅性が高いのはINTOXであり、選択式項目の選択肢も細分化