

原 著

外部精度管理用試料を検査所に郵送後の 有機溶剤尿中代謝産物の濃度変動

鳴田義弘¹⁾ 緒方正名²⁾ 藤井俊子³⁾ 掘家徳士⁴⁾
道辻広美⁵⁾ 細川幹夫⁶⁾ 田口豊郁²⁾

中国短期大学 生活学科¹⁾

川崎医療福祉大学 医療福祉学部 医療福祉学科²⁾

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科³⁾

淳風会健康管理センター 環境管理部⁴⁾

松下産業衛生科学センター⁵⁾

大塚製薬(株) 診断事業部 徳島研究所⁶⁾

(平成7年4月19日受理)

Changes in the Concentrations of Urinary Metabolites of Solvents Contained in the Specimens Prepared for External Quality Controls after Mailing

**Yoshihiro SHIMADA¹⁾, Masana OGATA²⁾, Toshiko FUJII³⁾,
Tokushi HORIKE⁴⁾, Hiromi MICHITSUJI⁵⁾,
Mikio HOSOKAWA⁶⁾ and Toyohiro TAGUCHI²⁾**

Department of Home Economics¹⁾

Chugoku Junior College

Okayama, 701-01, Japan

Department of Medical Social Work²⁾

Faculty of Medical Welfare

Kawasaki University of Medical Welfare

Kurashiki, 701-01, Japan

Department of Clinical Nutrition³⁾

Faculty of Medical Professions

Kawasaki University of Medical Welfare

Kurashiki, 701-01, Japan

Junpukai Health Maintenance Center⁴⁾

Okayama, 700, Japan

Matsushita Science Center of Industrial Hygiene⁵⁾

Osaka, 571, Japan

Diagnostic Research Institute⁶⁾

Diagnostic Division Otuka Pharmaceutical Co., Ltd

Tokushima, 771-01, Japan

(Accepted Apr. 19, 1995)

Key words : urinary metabolites, solvents, external quality controls, mailing, freeze-drying

Abstract

The hippuric acid, methylhippuric acid and mandelic acid were spiked into artificial prepared urine and human urine, and used as specimens for external quality controls. These specimens were sent to the three laboratories located in Tokyo metropolis, Osaka city and Okayama city. Then concentrations of three acids and creatinine were measured in the laboratories.

The ratio of the concentrations of three acids in artificial prepared urine measure in the three laboratories tested to those in the laboratory, where specimens were prepared and sent, was about 100 percent under the mailing condition at 0~4°C and at -20°C. The ratios of three acids in human urine was about 98 per cent under the condition at -20°C and slightly lower ratio was obtained at 0~4°C in human urine. The three acids were spiked in artificial prepared urine and in human urine, and then these specimens were freeze-dried and mailed to three laboratories at 0~4°C. The ratios of three acids in artificial prepared urine and those in human urine were above 98 percent.

The results indicate that the three acids in artificial urine and human urine are useful under mailing condition at 0~4°C and at -20°C, though slight lower values are shown in human urine at 0~4°C and can be useful under sending condition at -20°C. The freeze-dried artificial and human urines are useful under mailing condition at 0~4°C.

要 約

外部精度管理の実情に近い条件のもとで、有機溶剤の尿中代謝産物である馬尿酸、メチル馬尿酸、マンデル酸を人工尿、ヒト尿に加えた試料について、郵送した後の濃度を、東京都、大阪市、岡山市に存在する3検査機関で測定した上述の3種類の尿中代謝産物の郵送後の値の、郵送前の研究室の値に対する比率（回収率）を求めた。

その成績として、液性試料で冷蔵保存（0~4°C）、冷凍保存（-20°C）下の郵送では、人工尿は郵送前のほぼ100%の値を示した。ヒト尿中の馬尿酸、メチル馬尿酸、クレアチニンは凍結保存では98%を示したが、冷蔵保存では郵送前よりやや低い値を示した。凍結乾燥した人工尿、ヒト尿の冷蔵保存下の郵送では、3種の代謝産物はほぼ98%以上の値を示し、実用可能な事が推定された。

緒 言

わが国では、平成元年以来、世界に先駆けて有機溶剤の大規模な生物学的モニタリングが、8種類の主要な有機溶剤暴露作業者を対象として行なわれてきた^{1,2)}。これらの生体試料の検査を実施している機関においての測定値の一致を求める為に、外部精度管理を行なう必要が生じ

た。特に、尿中代謝産物の精度管理用試料作製の研究は、重金属に比べて少なく、その為の基礎的研究が必要とされるに至った。この目的の為にドイツでは、Shaller等によって、人の尿に溶剤の代謝物質を加えた試料を用いた精度管理^{3,4)}が施行されている。

わが国では、すでに原田によって、人工尿に溶剤の代謝物質を加えた試料が作製され、これ

による精度管理の実施⁵⁾によって成果をあげてきた。現在においても人工尿による精度管理が行なわれている。その際の測定法としては、高速液体クロマトグラフ⁶⁾が用いられている。著者等は、人工尿⁷⁾、ヒト尿⁸⁾に溶剤のトルエン、キシレン、スチレンの代謝産物である馬尿酸、メチル馬尿酸、マンデル酸を加えた後、冷蔵、冷凍状態で保存した際、及び人工尿、ヒト尿を凍結乾燥後、室温状態で保存した際の、保存前後の代謝産物濃度の変動を調べて、外部精度管理に使用出来る事を報告した⁹⁾。本報では、上述の試料を実際に3検査所に郵送して、その成績を調べた成果を報告する。

材料と方法

1. 試薬

何れも試薬特級を用いた。

2. 試料の作製

1) 人工尿

今回作成した人工尿の成分は、従来の人工尿に対し、ヒト尿に多く含まれる成分として、それにほぼ近い濃度の尿酸、クレアチンを追加し、Na, Kリン酸緩衝液 (pH7.4) を添加した。その組成は、塩化ナトリウム; 11.6 g, リン酸水素二アンモニウム; 2.0 g, 尿素; 15.0 g, 食用色素(黄色4号, タートラジン, 試薬); 100.0 mg, アジ化ナトリウム; 1.0 g, クレアチニン; 1.0 g, 尿酸; 0.25 g, リン酸一カリウム; 0.7 g, リン酸二ナトリウム; 5.3 gを脱イオン水に溶かし、全容量を1ℓにした。

2) ヒト尿

正常ヒト尿で、比重、クレアチニン濃度の妥当な範囲の尿を集め馬尿酸・クレアチニン濃度を測定後、代謝産物を加えた。

3) 凍結乾燥尿の作製

凍結乾燥機(柴田製作所製)を使用した。凍結乾燥尿は、測定時に蒸留水で溶かして高速液体クロマトグラフで測定した。

4) 代謝産物添加濃度

高濃度液: 労働省による分布2-3の境界濃度であり、生物学的暴露指標に相当する濃度を用いた。

低濃度液: 労働省による分布1-2の境界濃

度であり、生物学的暴露指標の約 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ の濃度に相当する。

中濃度: 高濃度液と低濃度液との算術平均値を採用した。すなわち、添加後の各代謝産物の予測終濃度を、高濃度、中濃度、低濃度の順に、馬尿酸は2.5 g/ℓ, 1.5, 1.0, メチル馬尿酸は1.5, 1.0, 0.5, マンデル酸は1.0, 0.65, 0.3とした。

4. 検査所

試料の作製と代謝産物の濃度測定は、C研究室(岡山)で行なった。O検査所(東京), M検査所(大阪), A検査所(岡山)で代謝産物の濃度測定を行なった。

5. 郵送の条件

1) 液体試料の場合

クール宅急便(ヤマト運輸)により、冷蔵(約4℃), 冷凍(-20℃)で郵送した。

2) 凍結乾燥試料の場合

クール宅急便(ヤマト運輸)により、冷蔵(約4℃)で郵送した。

6. 尿中代謝産物濃度の測定

高速液体クロマトグラフ条件⁶⁾

カラム: ステンレス製 ϕ 4.6mm×L150mm

充填剤: TSK gel ODS 80 Tm

移動相: [20mM KH₂PO₄ (pH3.3) + 2 mM 1-デカンスルホン酸ナトリウム]液:
アセトニトリル液=85:15

検出: UV 225nm

結 果

表1, 2に液性尿, 凍結乾燥尿を郵送後, O検査所(東京), M検査所(大阪), A検査所(岡山)の3検査所の測定値を示し, 表3に郵送前を100%とした際の測定値±標準偏差の値を示した。

1. 液性尿

1) 冷蔵保存下郵送

①人工尿: 代謝産物の高, 中, 低濃度の何れの濃度においても, 郵送前と同じ値を示した。

②ヒト尿: 代謝産物の高, 中, 低濃度の何れの濃度においても, 馬尿酸, メチル馬尿酸は, 郵送前よりやや低い値を示した。クレアチニン濃度も馬尿酸, メチル馬尿酸濃度とほぼ等しい

表1 精度管理用液性尿を冷蔵及び冷凍状態で保存・郵送後の各検査機関での測定値 (g/l)

			HA	m-MHA	MA	Cr	測定機関
冷蔵保存	人工尿	高濃度	2.50	1.52	1.02	1.01	作製研究室 (Org)
			2.57	1.53	1.04	0.99	O検査所
			2.48	1.53	1.01	1.20	M検査所
			2.70	1.55	0.98	1.08	A検査所
		中濃度	1.75	1.00	0.82	1.00	Org
			1.80	1.01	0.84	0.96	O
			1.72	0.99	0.81	1.10	M
			1.89	1.02	0.82	1.05	A
		低濃度	1.01	0.53	0.36	1.00	Org
			1.02	0.52	0.36	0.96	O
			0.97	0.54	0.36	1.10	M
			1.09	0.54	0.35	1.05	A
ヒト尿	高濃度	2.04	1.65	1.12	1.95	Org	
		2.38	1.48	1.11	1.77	O	
		2.44	1.57	1.06	1.90	M	
		2.49	1.56	1.16	1.87	A	
	中濃度	1.66	1.09	0.69	1.97	Org	
		1.59	0.99	0.71	1.74	O	
		1.54	1.01	0.68	2.10	M	
		1.49	0.95	0.69	1.72	A	
	低濃度	0.87	0.60	0.41	1.48	Org	
		0.82	0.54	0.43	1.36	O	
		0.82	0.56	0.36	1.60	M	
		0.82	0.57	0.45	1.41	A	
冷凍保存	人工尿	高濃度	2.53	1.54	1.03	1.02	Org
			2.56	1.52	1.06	0.99	O
			2.46	1.52	1.01	1.00	M
			2.68	1.55	1.01	1.07	A
		中濃度	1.77	1.01	0.83	1.01	Org
			1.81	1.01	0.83	0.98	O
			1.72	0.98	0.82	1.10	M
			1.93	1.04	0.84	1.08	A
		低濃度	1.00	0.53	0.36	1.00	Org
			1.03	0.53	0.37	0.97	O
			0.97	0.53	0.35	1.10	M
			1.07	0.54	0.36	1.06	A
ヒト尿	高濃度	2.52	1.64	1.11	1.93	Org	
		2.42	1.51	1.12	1.76	O	
		2.42	1.58	1.06	2.00	M	
		2.66	1.69	1.19	2.05	A	
	中濃度	1.62	1.03	0.68	1.92	Org	
		1.57	0.98	0.69	1.74	O	
		1.54	0.99	0.68	2.00	M	
		1.66	1.06	0.78	1.92	A	
	低濃度	0.84	0.57	0.40	1.48	Org	
		0.84	0.55	0.44	1.36	O	
		0.80	0.55	0.36	1.60	M	
		0.82	0.57	0.45	1.41	A	

HA：馬尿酸，m-MHA：m-メチル馬尿酸，MA：マンデル酸，Cr：クレアチニン

表2 精度管理用凍結乾燥尿を冷蔵状態で保存・郵送後の各検査機関での測定値 (g/l)

			HA	m-MHA	MA	Cr	測定機関
凍結乾燥	人工尿	高濃度	2.37	1.44	0.96	0.95	作製研究室 (Org)
			2.41	1.43	1.00	0.93	O検査所
			2.40	1.49	1.01	1.10	M検査所
			2.62	1.52	1.03	1.04	A検査所
		中濃度	1.73	0.99	0.80	0.98	Org
			1.71	0.96	0.80	0.92	O
	1.68		0.99	0.79	1.00	M	
	1.88		1.02	0.84	1.03	A	
	低濃度	0.99	0.52	0.35	0.99	Org	
		0.99	0.51	0.35	0.93	O	
		0.93	0.53	0.35	1.10	M	
		1.05	0.52	0.36	1.05	A	
ヒト尿	高濃度	2.31	1.50	1.01	1.75	Org	
		2.37	1.47	1.11	1.72	O	
		2.27	1.48	1.02	1.80	M	
		2.47	1.55	1.15	1.85	A	
	中濃度	1.52	1.00	0.63	1.76	Org	
		1.50	0.93	0.69	1.67	O	
		1.49	1.00	0.66	1.90	M	
		1.57	1.00	0.74	1.78	A	
	低濃度	0.84	0.57	0.40	1.42	Org	
		0.81	0.53	0.43	1.30	O	
		0.81	0.57	0.36	1.60	M	
		0.84	0.59	0.47	1.46	A	

HA：馬尿酸， m-MHA：m-メチル馬尿酸， MA：マンデル酸， Cr：クレアチニン

表3 精度管理用尿の各検査機関の測定値の比較 (作製研究室に対する百分率の平均値±標準偏差， %)

			HA	m-MHA	MA	Cr
冷蔵保存	人工尿	高濃度	103.3±4.4	101.1±0.8	99.0±2.9	107.9±10.4
		中濃度	103.0±4.9	100.7±1.5	100.4±1.9	103.7±7.1
		低濃度	101.7±6.0	100.6±2.2	99.1±1.6	104.0±7.2
	ヒト尿	高濃度	95.9±2.2	93.1±3.0	99.1±4.5	94.7±3.5
		中濃度	92.8±3.0	90.2±2.8	100.5±2.2	94.1±10.9
		低濃度	94.3±0	92.8±2.5	100.8±11.5	98.4±8.6
冷凍保存	人工尿	高濃度	101.4±4.4	99.4±1.1	99.7±2.8	100.0±4.3
		中濃度	102.8±6.0	100.0±3.0	100.0±1.2	104.3±6.4
		低濃度	102.3±5.0	100.6±1.1	100.0±2.8	104.3±6.7
	ヒト尿	高濃度	99.2±5.5	97.2±5.5	101.2±5.9	100.3±8.0
		中濃度	98.1±3.9	98.1±4.3	105.4±8.1	98.3±6.9
		低濃度	97.6±2.4	97.7±2.0	104.2±12.3	98.4±8.6
凍結乾燥	人工尿	高濃度	104.5±5.2	102.8±3.2	105.6±1.6	107.7±9.1
		中濃度	101.5±6.2	100.0±3.0	101.3±3.3	100.3±5.8
		低濃度	100.7±5.1	100.0±1.9	101.0±1.6	103.7±8.8
	ヒト尿	高濃度	102.6±4.3	100.0±2.9	108.3±6.6	102.3±3.7
		中濃度	100.0±2.9	97.7±4.0	110.6±6.4	101.3±6.5
		低濃度	96.6±2.1	98.8±5.3	105.0±13.9	102.3±1.6

HA：馬尿酸， m-MHA：m-メチル馬尿酸， MA：マンデル酸， Cr：クレアチニン

割合で低下した。マンデル酸は郵送前と同じ値を示した。

2) 冷凍保存下郵送

①人工尿：代謝産物の高，中，低濃度の何れの濃度においても，郵送前と同じ値を示した。

②ヒト尿：代謝産物の高，中，低濃度の何れの濃度においても，郵送前のほぼ98%以上の値を示した。

3) 冷蔵，冷凍の比較

ヒト尿の馬尿酸，メチル馬尿酸，クレアチニン濃度については，冷蔵下郵送は冷凍下郵送よりやや不安定であった。

2. 凍結乾燥尿

1) 人工尿

代謝産物の高，中，低濃度の何れの濃度においても，郵送前と同じ値を示した。

2) ヒト尿

代謝産物の高，中，低濃度の何れの濃度においても，郵送前に比較してほぼ98%以上の値を示した。

総括並びに考察

著者らは前回までに，液性尿，凍結乾燥尿中の馬尿酸，メチル馬尿酸，マンデル酸の保存に

ついて検討し，液性の人工尿・ヒト尿共に，冷蔵・冷凍において99%以上の安定度で保存可能であり，また凍結乾燥尿中の3種の代謝産物も同様に99%以上の安定度で保存可能であることを報告してきた。

この度の研究においては，外部精度管理の実情に近い条件即ち，冷蔵・冷蔵の郵送条件，かつ測定者の異なる条件下で3種類の代謝産物を高・中・低濃度の試料についての測定を行なった。

その成績として，液性試料で冷蔵保存下の郵送では，人工尿は郵送前に近い値を示した。ヒト尿中の馬尿酸，メチル馬尿酸，クレアチニンは，郵送前よりやや低い値を示した。この点については，今後の検討を必要とする。液性尿の凍結保存下の郵送，凍結乾燥尿の冷蔵保存下の郵送では，3種の代謝産物は，ほぼ98%以上の値を示し，実用可能な事が推定された。なお冷蔵，冷凍下の郵送の成績は，保存条件とほぼ一致することも認められた。

本研究の一部は，文部省科学研究費試験研究Bの補助を受けた。

文 献

- 1) 労働省 (1989) 有機溶剤中毒予防規則の一部改正. 労働省令第23号.
- 2) Ogata M (1993) Japanese experience in biological monitoring. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **65**, 15-21.
- 3) Schaller KH, Angerer J and Lehnert G (1990) Many years of experiences in internal quality control in the toxicological analysis of biological material in the field of occupational medicine. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, **338**, 547-550.
- 4) Schaller KH, Angerer J and Lehnert G (1991) Internal and external quality control in the toxicological analysis of blood and urine samples in the Federal Republic of Germany. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **62**, 537-542.
- 5) Harada A (1990) Quality control of analytical procedures used in biological monitoring in Japan. In Fiserova-Bergerova V, Ogata M, eds. *Biological monitoring of exposure to industrial chemicals*. ACGIH, Cincinnati, pp199-202.
- 6) Ogata M and Taguchi T (1988) Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. **61**, 131-140.
- 7) 嶋田義弘, 藤井俊子, 田口豊郁, 緒方正名 (1994) 有機溶剤尿中代謝産物を人工尿に添加した精度管理用試

の調整と保存. 川崎医療福祉学会誌, **4**(2), 101–106.

- 8) 嶋田義弘, 緒方正名 (1995) 有機溶剤の尿中代謝産物をヒト尿に添加して作製した精度管理用試料の保存. 医学と生物学, **130**(1), 19–21.
- 9) 藤井俊子, 嶋田義弘, 緒方正名 (1995) 有機溶剤の尿中代謝産物を人工尿, 人尿に添加後, 凍結乾燥して作製した精度管理用試料の保存. 医学と生物学, **130**(1), 23–26.