

血中鉛および尿中 δ -アミノレブリン酸の クロスチェック結果報告について

労働衛生検査精度向上研究会

杉山 浩貴, 関 顯 (株)保健科学研究所

1. はじめに

血中鉛および尿中 δ -アミノレブリン酸（以下 δ -ALA と略す）測定は、鉛中毒予防規則に基づく特殊健康診断として事業者を実施が義務付けられている検査項目の一部である。労働衛生検査精度向上研究会では活動の一環として特殊健康診断項目の測定値の施設間差是正および精度向上を目的としたクロスチェック（検査室間比較精度管理調査）を定期的実施している。今回、われわれは第5回目の血中鉛および尿中 δ -ALA のクロスチェックを実施したので、ここに検討結果を報告する。

2. 試料および測定方法

(1) 試料

血中鉛の調査用試料として、鉛ばく露がない非ばく露者血液1種類（試料①）、標準物質（和光純薬製：鉛標準液 100 μ g/mL）を超純水で溶解した添加水溶液3種類（試料②～④）と中濃度および高濃度鉛ばく露者血液をそれぞれ集め、凍結、融解、ろ過を2回繰り返し均一化

したばく露者血液2種類（試料⑤～⑥）を準備した。

尿中 δ -ALA の調査用試料は、標準物質（シグマ社製：デルタアミノレブリン酸・塩酸塩 純度98%）を精製水で溶解した添加水溶液3種類（試料A～C）、非ばく露者尿に標準物質を添加した添加尿3種類（試料D～F）および低濃度および中濃度の鉛ばく露者尿2種類（試料G, H）を用いた。

(2) 測定方法

血中鉛の測定において、血液試料を溶血させる前処理は一般的に界面活性剤を用いるが、今回の参加施設はすべてトリトンXを使用し、さらに、干渉抑制剤としてリン酸水素二アンモニウム塩またはリン酸アンモニウム塩が添加されている。また、2008年に実施したクロスチェックでは参加施設はすべてフレイムレス原子吸光法を採用し、バックグラウンド補正にゼーマン法が6施設、 D_2 法が3施設で採用していたが、今回の調査ではすべての施設がフレイムレス原子吸光法のゼーマン法を採用している。原子化温度は、前回1600～2400℃に比べ2200～2800℃と高温になっている¹⁾。

表1 血中鉛：分析装置および測定に関する諸条件

	A社			B社			C社			D社			E社		
測定法	原子吸光法(フレイムレス)			原子吸光法(フレイムレス)			原子吸光法(フレイムレス)			原子吸光法(フレイムレス)			原子吸光法(フレイムレス)		
試料	ヘパリン加血液			血液(EDTA-2K)			ヘパリン加血液			ヘパリン加血液			ヘパリン加血液		
報告下限値	0.5 µg/dl 以下			0.5 µg/dl 以下			1.0 µg/dl 以下			1.0 µg/dl 以下			1.0 µg/dl 以下		
前処理試料/前処理溶体量	100 µl/950 µl			100 µl/400 µl			100 µl/900 µl			100 µl/1000 µl			250 µl/2250 µl		
前処理溶液	0.5%トリトンX100			1%トリトンX100			1%トリトンX100・1%リン酸二水素アンモニウム			0.5%トリトンX100			2%リン酸二水素アンモニウム・0.5%トリトン		
修飾剤添加方法(炉内・炉外)	炉外			炉外			炉外			炉外			炉外		
修飾剤名称・濃度	5%リン酸二水素アンモニウム			2%リン酸二水素アンモニウム			-			1%リン酸二水素アンモニウム			-		
試料注入量	10 µl			15 µl			10 µl			10 µl			10 µl		
修飾剤添加量	-			-			-			-			-		
その他添加物・添加量	-			-			-			-			精製水 10 µl		
測定回数/1試料	3			2			1			2			1		
測定機器	Z2010			Analyst-600			Z5010			Z2710			SpectraAA880・220		
メーカー	日立			パーキン			日立			日立			パリアン		
測定波長	283.3nm			283.3nm			283.3nm			283.3nm			283.3nm		
キャリアーガス	Ar			Ar			Ar			Ar			Ar		
シースガス	Ar			Ar			Ar			Ar			Ar		
温度プログラム	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)
	50-120	40	200	110-130	50	250	70-85	45	200	50-60	30	200	85	5	3000
	120-650	10	200	550	50	250	85-100	15	200	59-68	35	200	95	60	3000
	650	50	200	1600	3	50	100-110	5	200	120-550	30	200	120	15	3000
	2200	5	30	2200	3	250	110-750	10	200	550	20	200	600	10	3000
	2500	10	200				750	25	200	2000	5	0	600	5	3000
							750	5	10	2400	5	200	600	2	0
							2400	4	10				2400	1	0
							2600	8	200				2400	1	0
													2500	1	3000
BG補正法	ゼーマン(直流)			偏向ゼーマン			ゼーマン(直流)			偏向ゼーマン					
キューベット(チューブ)種類・形状	グラファイト(パイロ化チューブ)			パイログラファイト(十字型)			パイログラファイト(A型チューブ)			グラファイト(パイロ化チューブ)			グラファイトコンポーネントチューブプラットフォーム		
光源	HCL			HCL			HCL			HCL			HCL		
信号読取	汎用パソコン			専用パソコン			汎用パソコン			汎用パソコン			専用パソコン		
計算	ピークハイト			ピークエリア			ピークハイト			ピークハイト			ピークハイト		
検量線	簡易標準添加・直線回帰			簡易標準添加・直線回帰			簡易標準添加・直線回帰			簡易標準添加・二次曲線			簡易標準添加・直線回帰		
検量線ポイント	0・10・20・30・40 µg/dl			0・10・20・30 µg/dl			19.6・39.2・58.8 µg/dl			10.20.30.40.50.60 µg/dl			0・10・20・40 µg/dl		

	F社			G社			H社			I社		
測定法	原子吸光法(フレイムレス)			原子吸光法(フレイムレス)			原子吸光法(フレイムレス)			原子吸光法(フレイムレス)		
試料	ヘパリン加血液			ヘパリン加血液			ヘパリン加血液			ヘパリン加血液		
報告下限値	0.2 µg/dl 以下			1.0 µg/dl 以下			1.0 µg/dl 以下			5 µg/dl 以下		
前処理試料/前処理溶体量	100 µl/900 µl			100 µl/500 µl			100 µl/900 µl			40 µl/360 µl		
前処理溶液	1%トリトンX100			1.25%リン酸二水素アンモニウム・1%トリトンX100			0.2%トリトンX100			1%リン酸二水素アンモニウム・0.5%トリトン		
修飾剤添加方法(炉内・炉外)	炉外			炉外			炉内			炉外		
修飾剤名称・濃度	1%リン酸二水素アンモニウム			-			0.7%リン酸二水素アンモニウム			-		
試料注入量	5 µl			10 µl			10 µl			10 µl		
修飾剤添加量	5 µl			-			6 µl			-		
その他添加物・添加量	0.1% HNO ₃ ・5 µl			-			-			-		
測定回数/1試料	1			1			1			1		
測定機器	SpectraAA220Z			SpectraAA240Z			SIMAA6000			SpectraAA880		
メーカー	パリアン			パリアン			パーキンエルマー			パリアン		
測定波長	283.3nm			283.3nm			283.3nm			283.3nm		
キャリアーガス	Ar			Ar			Ar			Ar		
シースガス	Ar			Ar			Ar			Ar		
温度プログラム	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)	TEMP (°C)	TIME (sec)	ガス流量 (ml/min)
	80	5	3000	85	5	300	120	25	250	85	15	3000
	95	30	3000	95	30	300	121-150	35	250	95	60	3000
	120	10	3000	120	10	300	179-700	20	250	120	15	300
	600	25	3000	600	15	300	2300	4	OFF	600	8	300
	600	2	0	600	10	300	2500	5	250	600	5	300
	2100	3	0	600	2	0				600	2	300
	2600	3	3000	2300	1	0				2100	2	0
				2300	2	0				2100	2	0
				2600	2	300				2300	1	300
BG補正法	ゼーマン交流			ゼーマン交流			ゼーマン交流			ゼーマン交流		
キューベット(チューブ)種類・形状	パイログラファイト			パイログラファイト			グラファイト(パイロコート)十字プラットフォーム			パイログラファイト		
光源	HCL			HCL			HCL			HCL		
信号読取	専用パソコン			専用パソコン			専用パソコン			専用パソコン		
計算	ピークハイト			ピークハイト			ピークエリア			ピークハイト		
検量線	簡易標準添加			簡易標準添加			簡易標準添加・直線回帰			簡易標準添加		
検量線ポイント	0・10・20 µg/dl			0・15・30 µg/dl			30.60 µg/dl			15・25・35 µg/dl		

表2 δ-ALA：分析装置および測定に関する諸条件

	A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	I社
機器メーカー	島津	島津	Agilent	GLサイエンス	日本分光	東ソー	島津	日本分光	日立
型式	LC-10AD	LC-20AD	1100	GL 7400	X-LC	FS-8020	UFLC	X-LC	L-7000シリーズ
カラムメーカー	資生堂	島津	東ソー	GLサイエンス	日本分光	資生堂	島津	日本分光	東ソー
カラム名称	CAPCELL PAC UG120	shim-pack XR-ODS	TSK gel DS 80TsQA	Inertsil ODS-3	X-PressPak V-C18	CAPCELL PAC SG120	SHIM-PACK XR-ODS	X-PressPak V-C18	TSK gel ODS 80Tm
カラム長さ、口径	4.6×150mm	3.0×75mm	2.0×150mm	3.0×75mm	2.0×50mm	4.6×150mm	3.0×50mm	2.0×50mm	4.6×150mm
ポンプ流速(ml/min)	1.0ml/min	0.65ml/min	0.2ml/min	0.6ml/min	0.4ml/min	0.5ml/min	0.8ml/min	0.4ml/min	0.8ml/min
グラジエント	無	無	無	無	無	無	無	無	無
RT(min)	3.02	2.24	9.7	2.3	0.66	6.34	1	0.63	4
測定時間(min)	5.5	5	15	3.5	1	8.5	3	0.9	7
試料注入量(μl)	50	10	5	5	5	10	5	5	10
励起波長(nm)	363	363	363	363	373	380	363	373	363
蛍光波長(nm)	473	473	473	473	463	460	473	463	473
試薬メーカー	東京化成	シグマ	Acros Organics	和光純薬	和光純薬	和光純薬	シグマ	シグマ	シグマ
STD 濃度(mg/l)	0.1,2.0,4.0,6.0,8.0	100	0.1,2.5,5,10,20	2.5~15	2.0,4.0,6.0,10.0	3.4	20	5	10
検量線プロット数	5	4	6	4	4	1	1	1	1
計算法	ピークエリア		ピークエリア	面積	面積		ピーク高さ	面積	ピークエリア
移動相組成	メタノール	1620	1050	1320	1500	1100	1650	1350	1620
	D. W	1350	1620	1650	1470	900	1347	1590	1336.5
	酢酸	30	30	30	30	10	3	60	13.5
	その他		(CH3CN)300						
反応液 A 組成	DW	375	2250	375	750	750	750	1960	750
	アセチルアセトン	75	450	75	150	150	150	(酢酸)40	150
	エタノール	80	300	50	100	100	100	100	100
	NaCl	無し	12	2	4	3	無し	4	4
B 組成	ホルマリン(%)	8.5	9.3	9.0	8.5	9.25	8.5	8.5	3.5

尿中δ-ALA 測定は、前回の調査と同様に、すべての施設が HPLC 法で、カラムは ODS 系の逆相系カラムを使用し、カラムサイズは口径 2.0~4.6mm で長さ 50~150mm が採用されている。なお、各施設における血中鉛、尿中δ-ALA 分析装置および測定に関する諸条件を表 1, 2 に示す。

3. 結果および考察

血中鉛においては、非ばく露血液試料の施設間変動係数 (CV) は 54.5% (前回値：18%)、添加水溶液試料は 7.6~10.2%、ばく露者血液

試料では 12.8%と 13.1% (前回値：2.95~9.55%) であった (表 3)。水溶液、血液試料マトリックスの違いによる精度の差は認められなかった。

尿中δ-ALA においては、添加水溶液試料の CV は 2.7~3.6% (前回値：3.1~6.8%)、添加尿は 3.3~4.2% (前回値：5.4~9.0%) と良好であるが、ばく露者尿試料の CV は 7.4%と 15% (前回値：7.4~8.7%) と高値であった (表 4)。血中鉛と同様に水溶液、尿試料マトリックスの違いによる精度の差は認められなかった。

表 1, 2 に示すとおり、測定機器メーカー、

表3 血中鉛クロスチェック測定結果

機関名	非曝露者血液	添加水溶液				曝露者血液	
	試料①	試料②	試料③	試料④	試料⑤	試料⑥	
A社	1.2	9.5	27.7	51.1	9.3	19.4	
B社	1.2	11.1	31.5	53.2	11.5	22.1	
C社	2.4	9.7	28.4	48.2	9.9	20.4	
D社	0.9	10.7	29.5	48.9	9.8	20.5	
E社	1.6	11.8	33.2	55.8	9.0	14.9	
F社	0.0	11.0	32.0	53.0	7.0	16.0	
G社	0.9	12.4	34.0	55.8	9.4	19.1	
H社	1.3	14.9	38.4	61.7	10.7	22.1	
I社	1.1	11.8	32.6	53.8	9.1	19.1	
n	9	9	9	9	9	9	
mean	1.17	11.43	31.92	53.50	9.52	19.29	
SD	0.639	1.61	3.25	4.08	1.24	2.47	
CV (%)	54.5	14.1	10.2	7.6	13.1	12.8	
mean+2SD	2.45	13.04	38.43	61.66	12.01	24.22	
mean-2SD	-0.11	8.96	25.42	45.34	7.03	14.36	

表4 δ -ALA クロスチェック測定結果

機関名	添加水溶液			添加尿			曝露者尿	
	試料A	試料B	試料C	試料D	試料E	試料F	試料G	試料H
A社	2.6	4.9	9.7	2.9	5.2	10.0	4.7	7.7
B社	2.6	5.1	10.1	2.9	5.2	10.1	4.3	7.8
C社	2.6	5.1	10.2	2.9	5.0	9.3	3.6	7.3
D社	2.5	5.1	10.1	3.1	5.4	9.8	3.3	8.4
E社	2.5	5.0	10.0	3.0	5.2	10.0	4.8	7.8
F社	2.8	5.4	10.6	3.2	5.4	10.2	5.2	8.3
G社	2.6	5.0	9.8	2.8	5.1	9.5	4.5	6.5
H社	2.5	4.8	9.9	3.0	5.5	10.3	3.6	7.6
I社	2.6	5.2	10.3	3.0	5.2	10.0	4.3	8.1
n	9	9	9	9	9	9	9	9
mean	2.59	5.07	10.07	2.97	5.25	9.91	4.25	7.72
SD	0.093	0.174	0.271	0.125	0.152	0.326	0.637	0.573
CV (%)	3.6	3.4	2.7	4.2	2.9	3.3	15.0	7.4
mean+2SD	2.77	5.42	10.61	3.22	5.55	10.56	5.53	8.87
mean-2SD	2.40	4.72	9.53	2.72	4.95	9.26	2.98	6.58

試薬、灰化温度、原子化温度、カラム、溶離液組成など血中鉛および尿中 δ -ALAの測定条件は施設により若干異なっているが、今回のクロスチェック調査結果より施設間差は小さく、精度が維持されていることが確認できた。検量用

標準物質調製、測定機器の保守点検の徹底、測定者の技術力維持など測定精度に影響する変動要因を極力除くことが精度の向上に寄与しているものと思われる(図1,2)。

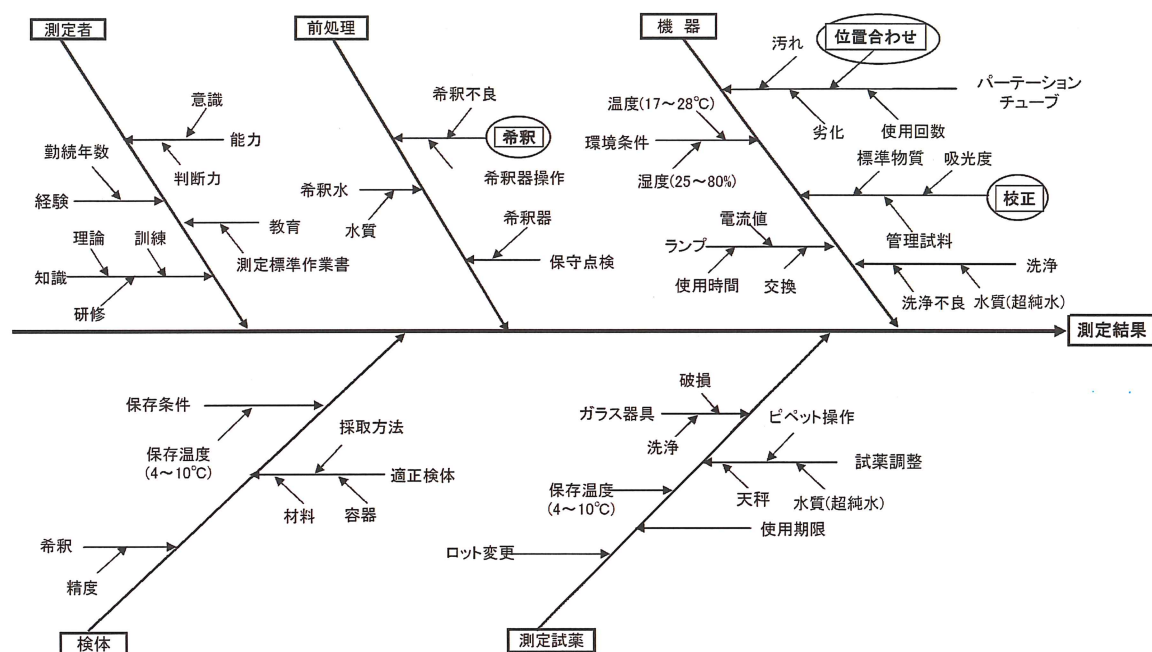


図1 血中鉛検査の特性要因図

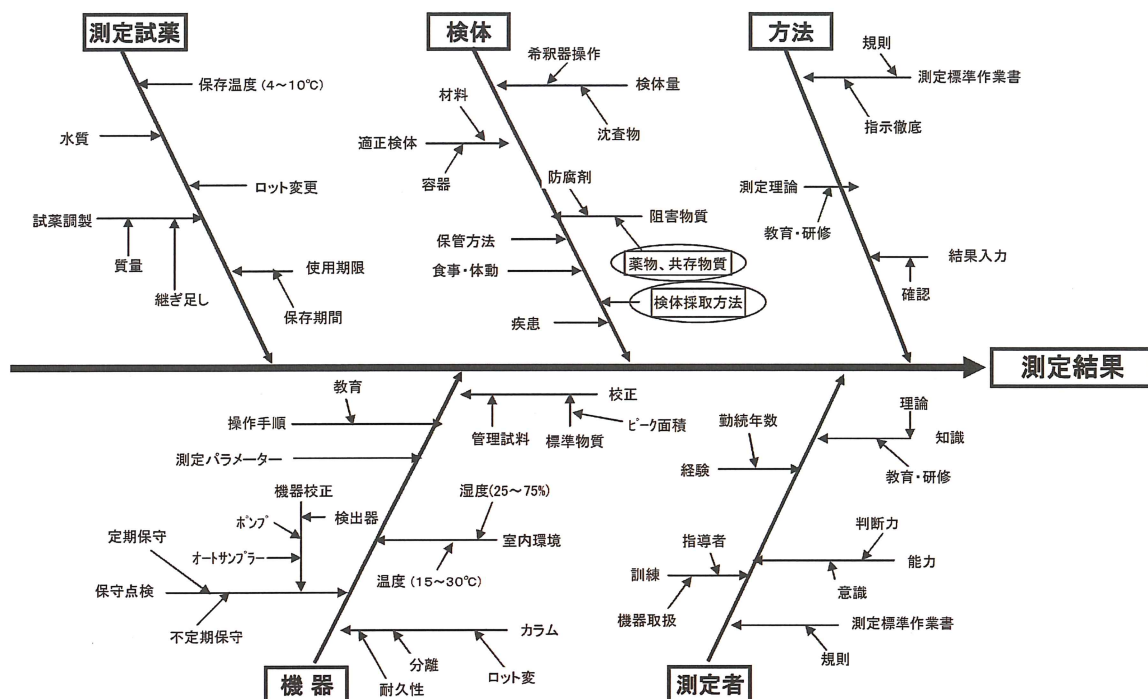


図2 δ-アミノレブリン酸検査の特性要因図

4. まとめ

検査施設の精度を要求する国際規格ISO 15189「臨床検査室—品質と能力に関する特定要求事項」が2004年に発行された²⁾。検査手順の品質保証には、測定結果に影響する不確かさの重要な成分を考慮することが要求されている。不確かさに寄与する要因は、検体採取から結果報告までがあり、総合的な管理が必要である。作業環境中の有害物質は従来に比べ低濃度へと改善されているが、従事者の健康をモニターするためには検体（血液、尿）に含まれる有害物質やその代謝物を精度よく測定する技術と管理が検査施設に求められている。本研究では、今後もクロスチェックの実施を通じて測定法の標準化、検査施設間の測定値の収束の

維持管理などの取り組みを実施し、検査精度の維持・向上に努めていく考えである。

参考文献

- 1) 労働衛生検査精度向上研究会活動報告：血中鉛のクロスチェック集計結果. 労働衛生管理. 2008, Vol.19, No.3, 通巻第71号
- 2) ISO 15189:2007 臨床検査室—品質と能力に関する特定要求事項. 日本規格協会

※ 労働衛生検査精度向上研究会会員：佐賀大学医学部 市場 正良, (財)神奈川県予防医学協会, (財)近畿健康管理センター, 中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター, 関西労災病院勤労者医療総合センター, パナソニック産業衛生科学センター, (株)エスアールエル, (株)江東微生物研究所, (株)ビー・エム・エル, (株)保健科学研究所, 三菱化学メディエンス(株), (株)保健科学東日本