

臍帯のダイオキシン類分析に関する
暫定マニュアル

平成 14 年 3 月

環境省環境保健部 環境安全課
環境リスク評価室

目次

1	臍帯採取の手順	1
1	事前診査	1
1.1	問診	1
1.2	採取前の注意事項	1
2	臍帯採取の手順	1
2.1	採取を行うにあたって	1
2.2	臍帯採取	1
3	採取作業の流れ	5
2	臍帯中のダイオキシン類の測定分析方法	6
1	はじめに	6
2	用語の定義	6
3	略語の定義	7
4	調査対象物質	8
5	目標検出下限値	8
6	分析に必要な施設・試薬・器具等	9
6.1	試料前処理室	9
6.2	試薬類	9
6.3	器具・機材	10
7	測定分析	12
7.1	測定方法の概要	12
7.2	前処理	12
7.3	カラムクロマトグラフィー	13
7.4	測定準備	14
7.5	測定	14
7.6	計算	14
7.7	測定結果の表記方法	15
8	安全管理	16
8.1	試料前処理室及びGC-MS室の構造	16
8.2	試料前処理室への出入り	16
8.3	試薬の管理	16
8.4	標準物質の管理	16
8.5	分析者	16
8.6	測定分析機関の義務	16
8.7	GC-MS	16
8.8	臍帯の付着したガラス器具の洗浄	16
8.9	臍帯に直接接触した廃棄物の管理	17

8.10	その他の廃棄物の管理	17
9	品質保証／品質管理・内部精度管理	17
9.1	調査	17
9.2	測定分析	17
9.3	計算	18
9.4	ブランク試験	19
9.5	2重測定（試料の前処理から）	19
9.6	2重測定（GC-MS測定）	19
9.7	品質管理チェック試料（QCCS）の測定	19

図表等

図-1.	臍帯試料中のダイオキシン類分析フロー	20
表-1.	定量する化合物の名称等	21
表-2.	本マニュアルで規定するPCDDs, PCDFs 及びCo-PCBs各化合物の目標検出下限値	22
表-3.	測定に用いる標準物質	23
表-4.	測定に用いる同位体スパイク	24
表-5.	測定質量数の例	25
表-6.	PCDDs, PCDFs及びCo-PCBsの塩素同位体の理論天然存在比	26
表-7.	TEQ算出の為のTEF	27
表-8.	PCDDs, PCDFs及びCo-PCBs測定分析結果の表記例	28
別紙1	平成13年度ヒト臍帯中におけるダイオキシン類等 化学物質蓄積・暴露状況調査の説明書	29
別紙2	同意書	32
別紙3	協力者問診票	34
別紙4	事前診査表（協力者調査票）	36
別紙5	検体採取記録 兼 受領証 兼 検査依頼書	37
別紙6	解説	38

1 臍帯採取の手順について

1 事前診査

臍帯中ダイオキシン類を測定するためには臍帯1～2本が必要である。調査対象者については、あらかじめ、一般妊婦検診において臍帯採取に支障がないと判断された妊婦を対象とする。

1.1 問診

協力者について予め問診（自覚症状、現病歴、既往歴、妊娠歴、分娩歴、身長、体重、年齢、別紙3）・一般妊婦検診（採取協力施設において通常の妊娠・出産の為に必要と判断され、一般の妊婦に行われている検査全般）を実施する。

1.2 採取前の注意事項

1.2.1 施設内の同意

協力施設においては、事前に調査の内容を倫理委員会に諮り臍帯採取について合意を得る。

1.2.2 協力者の同意

協力者に対しては、文書（別紙1）または口頭により調査の目的、内容を説明し、分娩時の協力を求める。同意が得られた場合は、同意書（別紙2）を作成する。

1.2.3 臍帯採取の適否の判定

診察した医師により、事前審査結果を総合的に判断し、臍帯採取の適否について「適」の場合は事前診査票（別紙4）に記入する。

2 臍帯採取の手順

2.1 採取を行うにあたって

2.1.1 採取対象者

同意書のある協力者から医師の指示に従って採取する。

2.1.2 採取担当者

医師、看護婦または看護師（助産婦を含む。以下同じ）とする。

2.1.3 留意すべき事項

協力者の安全性を確保するため、下記の事項に留意し採取を実施する。

- ・採取に対する協力者の不安をやわらげるよう努める。
- ・採取中に起きた身体の異常、変調には適切に対処できるよう実施者の間で連携体制の確保を図る。また、異常が発生した際には、必ず医師に報告し、指示を受ける。

2.2 臍帯採取

2.2.1 器具、衛生材料、消毒薬等の準備

2.2.1.1 採取容器

ガラス製容器とし洗剤で洗浄後、蒸留水および残留農薬用アセトン

で洗浄し、400℃で4時間以上乾熱し、放冷後密栓したもの。1試料に1個、ブランク用は10試料に1個を用意し、容器の密栓状況、有効期限・番号を確認する。

2.2.1.2 採取用番号ラベルシート

試料番号を記載、ブランク用の場合はブランクと記載。水浸・擦過等により、はがれない材質のものを用意する。

2.2.1.3 その他

はさみ、秤、鉗子、固定用テープ類、滅菌ガーゼ等、各記録紙類、筆記用具等

2.2.2 採取前の医師による診察

2.2.2.1 本人の確認

同意書に署名した本人であることを確認の上、医師による問診と診察を行う。

2.2.2.2 採取の適否の最終確認

事前診査票の医師記入欄が漏れなく記載されていること（署名を含む）を確認し、採取の適否の最終確認を行う。適の場合には、以下の採取手順に従う。否の場合には協力者に採取を行わないことを通知する。

2.2.3 採取容器のチェック

採取を行うまでに、使用する。容器を必要数揃え、以下の点について確認等をしておくこと。

- ・採取容器の損傷、異物混、外装、表示事項等の異常
なお、容器の密栓状態が悪い時、容器の内面の湿気が多いときは、採取容器に損傷の可能性があるので使用してはならない。
- ・採取容器は用事開封とし、不明なものは使用しないこと。
- ・採取容器が著しく汚れていないこと。
- ・採取容器の内部に異物がないこと。
- ・容器の栓がずれていないこと。

2.2.4 採取部位の決定

一般に臍帯は50cm程度の長さである。分娩時に胎児側より5～10cmの部分をクランプし極力長く20cm以上を採取する。

2.2.5 採取

2.2.5.1 容器の選択

点検済みの採取容器を選択する。あらかじめラベルシートに試料番号・ブランクの別を記載したものを貼付し、容器の風袋重量を測定しておく。

2.2.5.2 分娩時

分娩時は母子の安全を最優先とし、採取後の臍帯は速やかに膿盆等にとり置く。

2.2.5.3 採取容器

容器は試料の封入直前に開封し、ブランク試料容器がある場合はブランク試料容器も同時に開封する。ブランク試料容器が同時に開封できない場合は容器の開封・閉栓の順番を同じにする。などして極力同じ条件で開封されているようにする。

2.2.5.4 臍帯の切離と臍帯血の除去

臍帯は胎盤より5～10cmの部分で切離した後、臍帯血を最大限除去する。

2.2.5.5 臍帯の封入

採取した臍帯を採取容器に封入し密栓する。ブランク用採取容器があれば同時に密栓する。

2.2.5.6 採取容器の一時保存

試料を封入した採取容器は直ちに冷凍庫（-20℃以下）に輸送まで保存する。

2.2.5.7 検体採取記録への記入

検体採取記録に採取容器と同一の試料番号のラベルを貼付し、必要事項を記入し、採取担当者の署名又は捺印をする。

2.2.6 採取後の処理

2.2.6.1 胎盤の処理

胎盤は協力施設内の基準に準じ処分する。

2.2.6.2 器具の処理

採取に用いた器具は協力施設の基準により処分する。

2.2.6.3 試料番号同一性の最終確認

協力者調査表に記載された試料番号と貼付されているラベルに記載されている番号が同一であることを厳重に確認する。

2.2.6.4 特記すべき採取時情報

試料の封入された容器の重量を測定し2.2.5.1で測定した風袋重量より採取した試料の重量を求める。出産週数、産児体重、産児性別、採取時の情報（採取量の過不足など）を協力者調査表に記録する。

2.2.6.5 記録

採取担当者は協力者調査表に署名又は捺印し、次の担当者に正確に伝達する。

2.2.7 試料の保存

臍帯を採取容器に入れ密栓する。採取用、ブランク用の各容器を冷凍保存状態で保管し、分析担当施設に連絡する。

2.2.8 試料の運搬

運搬者は試料および採取容器は分析担当施設まで冷凍状態で運搬する

為に以下の点に留意する。

2.2.8.1 送付箱の用意

送付箱は十分な断熱性を持ち，外部が補強されたものを用意しドライアイスを十分量充填する。

2.2.8.2 試料の受領

受領の際は試料保管庫より試料と容器を取出し速やかに状態を確認し採取記録票と照合する。

- i) 試料の破損・溶融が無いのか
- ii) 容器の破損が無いのか，密封されているのか
- iii) 容器，ラベルの試料情報が確認できるか，記録帳票に不一致が無いのか
容器・試料の破損などの問題がある場合は記録帳票に記載し，試料情報・記録帳票との不一致は直ちに確認の上追加訂正を行う。担当者は署名または捺印する。

2.2.8.4 各記録紙，試料の収納

試料は記録帳票と照合しながら，必要に応じて緩衝材を用い送付箱内に整然と並べる。各記録紙はポリ袋に入れて送付箱内に同梱する。

2.2.8.5 受領証の発行

試料情報に基づき試料の受領証を作成し，調査終了まで協力施設が保管する。

2.2.8.6 運搬

試料の受領は分析担当施設の担当者が行うか，協力施設または分析担当施設の委託を受けたものを行う。

2.2.8.7 搬入・引渡し

引渡し時においては運搬担当者，受付担当者への引継ぎを記録する。

2.2.9 試料の受付・保存

2.2.9.1 開梱

送付箱の開梱時，ドライアイスの残量または温度を確認する。

受付の際は送付箱より試料と容器を取出し速やかに状態を確認し照合する。

- i) 試料の破損・溶融が無いのか
- ii) 容器の破損が無いのか，密封されているのか
- iii) 容器，ラベルの試料情報が確認できるか，記録帳票に不一致が無いのか
容器・試料の破損などの問題がある場合は記録帳票に記載し，試料情報・記録帳票との不一致は直ちに確認の上追加訂正を行う。担当者は署名または捺印する。

2.2.9.2 各記録紙，試料の保管

試料は記録帳票と照合し，測定まで凍結(-20℃)にて保存する。

記録帳票，測定データは測定機関が一括して最低5年間保管し，管理する。

3 採取作業の流れ

