

◎欠点

- 1) 有機リン系農薬でも同様の陽性反応が出るので、必ずコリンエステラーゼ阻害活性を確認する必要がある。
- 2) 退色が早いので、発色後 10 分以内に判定を行う。
- 3) 血清中のプロムワレリル尿素の検出には不向きであった。

9. アセトアミノフェン

アセトアミノフェンは、アミノピリンやアスピリンと並ぶ解熱鎮痛剤である。しかし、発ガン性や腎障害が問題になるに及んで市販の解熱鎮痛薬からこれらの薬物が姿を消し、最後に、容易に入手できる解熱鎮痛薬として、アセトアミノフェンが残った。アセトアミノフェンは、代謝の過程で一部が N-アセチルベンゾキノミンになる。この N-アセチルベンゾキノミンは、通常は肝細胞中のグルタチオンによって解毒されるが、大量のアセトアミノフェンが体内にはいるとグルタチオンが枯渇し、解毒しきれない N-アセチルベンゾキノミンがタンパクと結合して肝細胞の壊死を起こす。アセトアミノフェンによる肝障害の発生と血清中アセトアミノフェン濃度とは密接な関係があり、簡便に血清中アセトアミノフェン濃度が検出できれば肝障害の危険性を予知できる。

◎利点

- 1) 簡便な操作で検査できる。
- 2) 治療域 (10 ~ 20 μ g/ml) まで、検出可能であった。
- 3) 5 ~ 300 μ g/ml の範囲で定量可能であった。

◎欠点

- 1) 使用する容器によって加水分解の程度が異なってくる。
- 2) 揮発性の試薬を使用するため、換気装置の使用を勧める。
- 3) 試薬として毒物が使用されている。

IV. 前処理

尿や血清などの生体試料中の薬毒物を分析する場合、生体中のタンパク質や妨害成分の除去、あるいは目的成分の濃縮などの前処理を施す必要がある。前処理の方法は、図 1 にも示したが、液-液抽出、固相抽出、水蒸気蒸留、灰化など、目的成分の分析に適した方法を吟味して選択する必要がある。

複数の薬毒物を分析する必要がある場合は、液-液抽出法で系統的に薬毒物を抽出する必要がある。つまり、酸性物質、アルカリ性物質、中性物質のように毒物の性状別に抽出を行い、漏れのないように薬毒物を抽出することが可能となる。

【前処理法】

1) 気化平衡法

揮発性薬毒物の抽出に用いられる方法である。検査試料を密閉容器に入れて加温し、容器内の気相（ヘッドスペース）中に気化してきた薬毒物を分析機器内に導入する方法である。この方法で、アルコール、トルエンなどの揮発性薬毒物が分析可能である。

2) 水蒸気蒸留法

揮発性薬毒物の抽出に用いられる方法である。気化平衡法と類似しているが、検査試料中に存在する薬毒物を水蒸気と共に留出（共沸）させて抽出する方法である。原理的には、中性および酸性の揮発性薬毒物とアルカリ性の揮発性薬毒物とに分離して抽出することが可能である。

3) 液-液抽出法

不揮発性薬毒物の抽出に用いられる方法である。薬毒物の疎水性および親水性を利用したもので、水溶液と有機溶剤との2相間で分配を行う。水溶液の液性を酸性やアルカリ性にすることによって酸性薬物、塩基性薬物、中性薬物を分離して抽出することが可能である。

4) 固相抽出法

液-液抽出法と同様に不揮発性薬毒物の抽出に用いられる方法である。固相抽出法では、液体の代わりに固相（充填剤）を使用して薬毒物の抽出を行うもので、充填剤表面の疎水性部分と薬毒物の疎水結合することにより、充填剤に保持される性質を利用した分離法である。分離する薬毒物がはっきりと判っている場合には、強力な武器となるが、未知物質の抽出法としては液-液抽出法のほうが優れている。

【前処理を行う上での留意点】

1) pH

化合物の性質を熟知する必要があるが、疑いのもたれる化合物を想定して、採取試料の液性を調整する必要がある。例えば、シアンの場合は、液性をアルカリ性にする。有機リン系農薬の場合は、液性を弱酸性にする。

2) 除蛋白

除蛋白剤として、エタノールなどの有機溶剤、種々の酸などがあるが、トリクロロ酢酸が汎用されている。しかし、薬毒物の種類によっては抽出されにくいものもあり、分析対象薬物ごとに検討を加えるべきである。

3) 液-液抽出

液-液抽出を行う場合、理論的には液性を酸性やアルカリ性にすることによって酸性薬物、塩基性薬物、中性薬物を分離して抽出することが可能である。しかし、実際の分析では、種々のタンパクの存在や薬物の量の違いなどから、必ずしも理論的には抽出されてこない。例えば、酸性薬物でも多量に含まれている場合は、酸性分画に抽出されきれず、塩基性分画や中性分画にまで抽出されてしまうので要注意である。

4) 固相抽出

固相抽出を行う場合、どのような固相を選択するかによって結果が異ってくる。適した固相を選択していれば、生体成分などの夾雑物と良好な分離がなされるが、選択を間違えると、全く抽出されてこない。従って、目的成分のはっきり判っている化合物を抽出するには適した方法であるが、未知成分の抽出やスクリーニングには不向きな抽出方法である。

5) 代謝物の分析

体内に入った薬毒物は、代謝（化学的修飾）を受けて体外へ排泄される。しかし、一部は代謝を受けずに未変化体（体内に入る前の形）のまま排泄されるものもあり、その割合は、薬毒物の種類によって千差万別である。未変化体の割合の多い薬毒物の分析は、比較的容易であるが、ベンゾジアゼピン系の向精神薬など、代謝を受けて、短時間で代謝されてしまう薬毒物は、代謝物にターゲットを絞って分析する必要がある。

良く聞かれるのは、Triage で尿を検査し、ベンゾジアゼピン類に陽性反応が出たが、GC/MS 等の機器分析ではベンゾジアゼピン類が、検出できない、という話である。これは当然のことである。尿中に排泄され

るベンゾジアゼピン類は、ほとんどが代謝物に変化しているため、尿を一旦、加水分解して分析しなければベンゾジアゼピン類として検出できない。欧米では当然のこととして認識されているが、日本国内では、この事実を認識している分析者は数少ない。

6) 加水分解

グルクロン酸抱合体や硫酸抱合体を加水分解する際、大きく分けて酸加水分解と酵素加水分解の2手法がとられる。モルヒネやクレゾールなどは、何れの手法でも問題ないが、ベンゾジアゼピン類の場合は、酸加水分解してしまうとベンゾジアゼピン類に共通な化合物となってしまうため、体内に入った化合物を特定できなくなる。従って、ベンゾジアゼピン類を特定する場合は、酵素加水分解を行う必要がある。また、酸加水分解によりエステル結合やエポキシなどを分子内に有する薬毒物は分解されてしまうので、注意を要する。

酸加水分解は、比較的短時間で反応が終了するが、薬毒物を化学的に変化させてしまうため、オリジナルの薬毒物を特定するには不利な点が多い。

7) 回収率

回収率の善し悪しは、抽出方法の選択に大きく左右される。回収率の良い方法が、良い抽出方法であると考えられがちである。しかし、特異的な抽出が出来ない限り、回収率がよいということは、裏を返せば、夾雑物も多く抽出していることになる。

回収率が悪くても、常に一定の回収率が得られることが重要であり、

テトロドトキシン（フグ毒）の分析方法について、種々報告されているが、どれも手間のかかる方法で、回収率も思わしくな

い。適当な内部標準物質が選定されていないため、奨励される方法がないのが実状である。

V. 確認分析

予試験を行うことによって、検査する薬毒物の予想、つまり”あたり”をつけ、予想された薬毒物の間違いないかを確認するために以下のような手法で確認分析が行われる。

【確認の手法および分析機器】

1) 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLCは、ガラス板やアルミシートにシリカゲルをコーティングした薄層に検査試料をスポットし、少量（薄層が5mm程度浸る量）の有機溶剤を入れた気密容器内において毛管現象を利用し、クロマトを行わせるものである。検出は、紫外線（254nm）の吸収や官能基に特異的な試薬による呈色で行う。

2) ガスクロマトグラフィー (GC)

GCとは、気体を移動相として用いたクロマトグラフィーの総称である。無機ガス、低級炭化水素から多くの医薬品の分析に応用範囲が広げられ、多成分混合物の分析や微量成分の定量分析で威力を発揮する。文字どおりガス状になる毒物が、分析の対象となるので、気化しない毒物は分析困難である。また、試料を気化させるため気化室内が高温となっているので、熱に不安定な毒物は分析できない。このような毒物の場合、揮発性および熱安定性の化合物に化学修飾した後に分析する必要がある。

3) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

移動相に液体を用いるクロマトグラフィーを液体クロマトグラフィー (LC) とい

い、高圧送液ポンプと高性能充填剤の使用により毒物の分離を行うLCを特にHPLCという。移動相に溶ける試料が分析の対象となるが、最近の高性能充填剤の開発により、低分子のみならず生体高分子まで分析対象が広がっている。したがって、分析目的に適する分離モードと分析カラムの選択が重要になってくる。

4) 質量分析 (MS)

質量分析とは、高真空のもとで気化させた試料分子を適当な方法で、あるいは試料分子に直接中性子を衝突させてイオン化し、生じたイオンを電磁氣的に分離して検出する方法である。このイオンを検出する装置を質量分析計といい、イオンを質量と電荷の比 (m/z) の順に分離して記録する。また、得られたスペクトルをマススペクトルと呼び、化合物に特徴的なパターンを示すため、化合物の同定が可能となる。イオン化法を選択することによって、分子量を知ることができ、高分解能質量分析計では、質量数が少数第3位以下の差まで識別できるため、元素組成を知ることが出来る。

5) キャピラリー電気泳動 (CE)

電荷を持つ物質を直流電場におくと、その物質の電荷、分子の大きさ、および形などによってそれぞれ特有の挙動を示す。この挙動の差を利用し、物質の分離や純度検定を行う方法を電気泳動法と呼んでいる。この電気泳動をキャピラリー内で行う電気泳動法の総称をキャピラリー電気泳動という。キャピラリーは、一般に内径 0.1 mm 以下のフューズドシリカ管である。HPLC が二相間での分配あるいは吸着に基づく分離法であるのに対し、CE は均一相内の分離である。

6) 誘導結合プラズマ発光分析 (IPC)

IPCは、高周波誘導によって励起されたアルゴンプラズマである。プラズマはその後、イオンや電子の生成と消滅とがつり合った状態で維持される。ネブライザーで霧状にした液体試料をアルゴンのキャリアーガスでトーチの中心管からプラズマ中に送り込む。すると原子は励起されて原子スペクトル線を発光するが、同時にその一部はイオン化する。IPCによる光を分析するのがIPC発光分析、イオンを分析するのがIPC質量分析である。

IPCでは、希ガス、ハロゲン、窒素、酸素などの元素を除くほとんどの元素（特に金属元素）について高感度分析が可能である。

7) 蛍光X線分析装置

物質を構成する原子は、それぞれ固有の殻電子準位をもっている。このような物質に

x線、 γ 線、電子線などを照射すると、その物質から原子特有のx線が発生する。ここで発生するx線を蛍光x線と称し、この蛍光x線を用いて物質中に存在する原子の種類および量を分析することを蛍光x線分析という。

【分析機器使用時の留意点】

1) HPLC 移動相の調製

HPLCの移動相として緩衝液が使用される。文献などには、緩衝液のpHが記載されているが、このpHの調整は、有機溶剤と混和した後に行うのではなく、有機溶剤と混和する前、つまり、緩衝液を調製してpHを調製し、その後有機溶剤と混和する。当然のことと思われるが、以前行った時、あるいは分析者と分析結果が異なる、といったことが聞かれるので、注意を要したい。

2) 試薬の取り違い

試薬調整時の試薬の取り違いのため、分析結果の異なることも頻繁に起こりうる。特に間違いやすいのは、リン酸塩である。NaH₂PO₄、Na₂HPO₄、KH₂PO₄、K₂HPO₄など、分析者やカタログなどでも呼び方の異なることがある。

このような状況を回避する手段として、市販の緩衝液を購入するのも一つの手である。必要な pH の緩衝液用を購入しておけば、必要なときにパックに入った試薬を一定の水に溶解することで、容易に緩衝液を調製することが出来る。

3) 溶解する溶媒の取り違い

化合物を溶解する溶媒の違いによって、前回分析を行ったときと分析結果の異なることもある。特に水溶液の場合は、遊離化合物になっている状態と、塩の状態とで分析結果の異なることがあるので十分な注意を必要とする。

また、分析する化合物の安定性も考慮する必要がある。特に有機リン系農薬などは、水溶液やメタノール溶液では分解してしまい、試料調製した翌日には、ほぼ全てが分解している。安定性の不明な化合物の場合、2～3の溶媒に溶解して、その溶液中の安定性を検証する必要がある。市販されている溶液の状態を調査し、参考にすることも可能である。

VI. 標準品の装備

これらの分析方法は、常に標準品との比較で行われている。データベースが充実しようとも、各検査機関に配備されている機器、カラム、分析条件によって検出される薬毒物の溶出時間や検出感度などは変化してくる。同じ機器、カラム、分析条件を設定しようとも、全く同じになることはない。

従って、各研究機関で純度の高い標準品を使用し、検出しようとする目的の薬毒物が検出できるかを管理する必要がある。

しかし現状では、各研究者の興味や分析の必要性が生じない限り、高価な標準品を常に装備しようと努力する研究機関は少ない。また、一部の研究者が入手の努力を行っても、国内の法律によって排除され、全く入手できない。

このような状態では、海外との技術レベルの格差は一層広がり、分析機器は一流であるが、分析が不可能なため、取り残されてしまうことが懸念される。

このような現状を打破するためにも、必要と認められた研究者には、無償で提供できるようなシステムの構築が望まれる。

VII. 分析結果

分析結果を読みとるには、使用した分析方法で、何処まで分析できるかを把握しておく必要がある。質量分析計など、化合物に特徴的な情報の得られない分析方法での結果で判断する場合、必ず分離方法を変えたり、異なった分析機器を使用して得られた結果を考慮して化合物の同定を行う。

【分析機器での留意点】

薬毒物を分析できる機器は数多くあるが、一つの分析機器で全ての薬毒物をカバーできる機器はない。また、それぞれ得意とする薬毒物には限りがあり、使用する分析機器の特徴が最大限生かされる機種を選定することが必要である。

1) TLC

TLC は、手軽に分析できる手法の一つであるが、検出できる量が μg オーダーと、比較的高濃度である。それ故、押収物や胃内容物などの薬毒物が高濃度に含まれている検査試料を分析するには有効な手法であ

るが、低濃度の検査試料の場合は検出しづらいので、薬毒物の存在を見落としやすい。

検出下限も去ることながら、検出されたスポットが一つの化合物に由来するか否かを判断することが重要である。TLCにおいては、限られた薄層版と展開溶媒の組み合わせで分析しているのであるから、検出されたスポットが一つの化合物に由来するという先入観は持たないことである。

一つの化合物に由来するか否かは、他の分析機器を使用して確認する必要がある。TLCでしか確認できない場合は、展開溶媒の組成を変えるか、分離モードを変えて分析する。その結果、スポットが一つであれば、検出されたスポットは一つの化合物に由来すると考えて良いであろう。

2) GC

GCは、基本的に気体となった化合物を分析する機器であり、気体とならない化合物は分析できない。分析の際に化合物を気化させる方法として、200℃以上に加熱するため、熱で分解してしまう化合物は分析不可能である。

熱で分化してしまう化合物として、DEPなどの一部の有機リン系農薬、カーバメート系農薬などがあげられる。カーバメート系農薬は、その分解産物より、ある程度は原因物質を推定できるが、DEPの場合は、分解産物が同じ有機リン系の農薬であるDDVPとなるため、原因物質がDEPとDDVPのいずれかの判断が不可能になってしまう。

多くの薬毒物の代謝物は、グルクロン酸や硫酸などの抱合体となっている。これらの抱合体は不揮発性（気化しない）であるため、GCでは分析できない。

GCおよびHPLCの検出器も数多くあるが、質量分析計など、化合物に特徴的な情報の得られない検出方法では、所詮、化

合物の”影”を観察しているのみであるので、TLCの場合と同様に複数の検査方法で確認すべきである。

特にHPLCでは、市販の血清を使用した場合、数多くのピークが観察されることがあるので注意を要する。

3) HPLC

接続する検出器によって検出可能な化合物や感度は異なってくるが、一般には紫外部可視検出器（UV-VIS）が用いられている。この検出器を用いた場合、紫外部吸収や可視吸収のある化合物の検出は可能であるが、これらに吸収のない化合物の検出は困難である。また、これらの検出器で検出したピークは、化合物の”影”を見ているので、検出されたピークが目的の化合物のピークと同一であるか否かは、確定的でない。これは、例え標準品と比較しても推定の域を脱しない。

また最近、多くの化合物のUVスペクトルをデータとして保存し、検出されたピークのUVスペクトルと比較することで化合物の検索が行えるシステムが持ちはやされているが、大きな落とし穴である。

UVスペクトルライブラリとは、ある決められた分析条件で、ライブラリに搭載されている所定の濃度の化合物を注入した場合、ライブラリとほぼ合致するスペクトルが得られるというものである。実際の検査試料で未知化合物の分析を行なう場合、UVスペクトルは、サンプルの前処理方法、分析条件、カラムの状態、濃度、夾雑成分など、非常に多くの要素に影響を受ける。また類似した構造の化合物は類似したUVスペクトルを示すので、たとえ装置が99.9%の一致度を出したからといって、それが0.1%の誤差で100%の一致を保証するものではない。さらに、スペクトルを補強する相対保持時間にしても、装置

とカラムの影響を大きく受けてしまう。つまり装置が出したUVスペクトルのマッチ度はあくまでも参考データとしてとらえるべきであり、分析結果の是非は、そのサンプルがもつあらゆる情報を考慮して分析者自身が判断すべきであり、その取り扱いには十分な注意が必要である。

ためにもその原因について十分検討する必要がある。

4) IC

イオンクロマトグラフは、基本的にイオン化した化合物を分析するもので、液性を変化させてもイオン化しない化合物の分析は不可能である。

5) 蛍光X線

蛍光X線分析は、化合物に γ 線などの電子線を照射し、発生する原子特有のX線を分析するもので、Be以降の原子を分析できる。しかし、元素分析計のように各元素の組成比を特定するものではないため、化合物の特定は出来ない。

Ⅷ. まとめ

分析を行う上での落とし穴 (pitfall) ということで検討を加えたが、何れの項目においても基本的なことばかりで、特に注意を要することがらではないが、油断していると大きな過ちを起こしてしまうことを分析者自身が常に心がけておくべきである。また、慎重になり過ぎても問題であるが、通常経験しないような薬毒物が検出された場合には、速断せずに二重三重の確認を行い、覆せないようなデータの収集が必要である。

分析結果に関しては、各自で出した結果を過信せず、常に疑問を持ち、不可解な結果が得られたときには躊躇せずに相談すべきである。また、躊躇無く相談できる場(環境)を設けることも重要である。誤った結果がでたときは、同じ過ちを繰り返さない

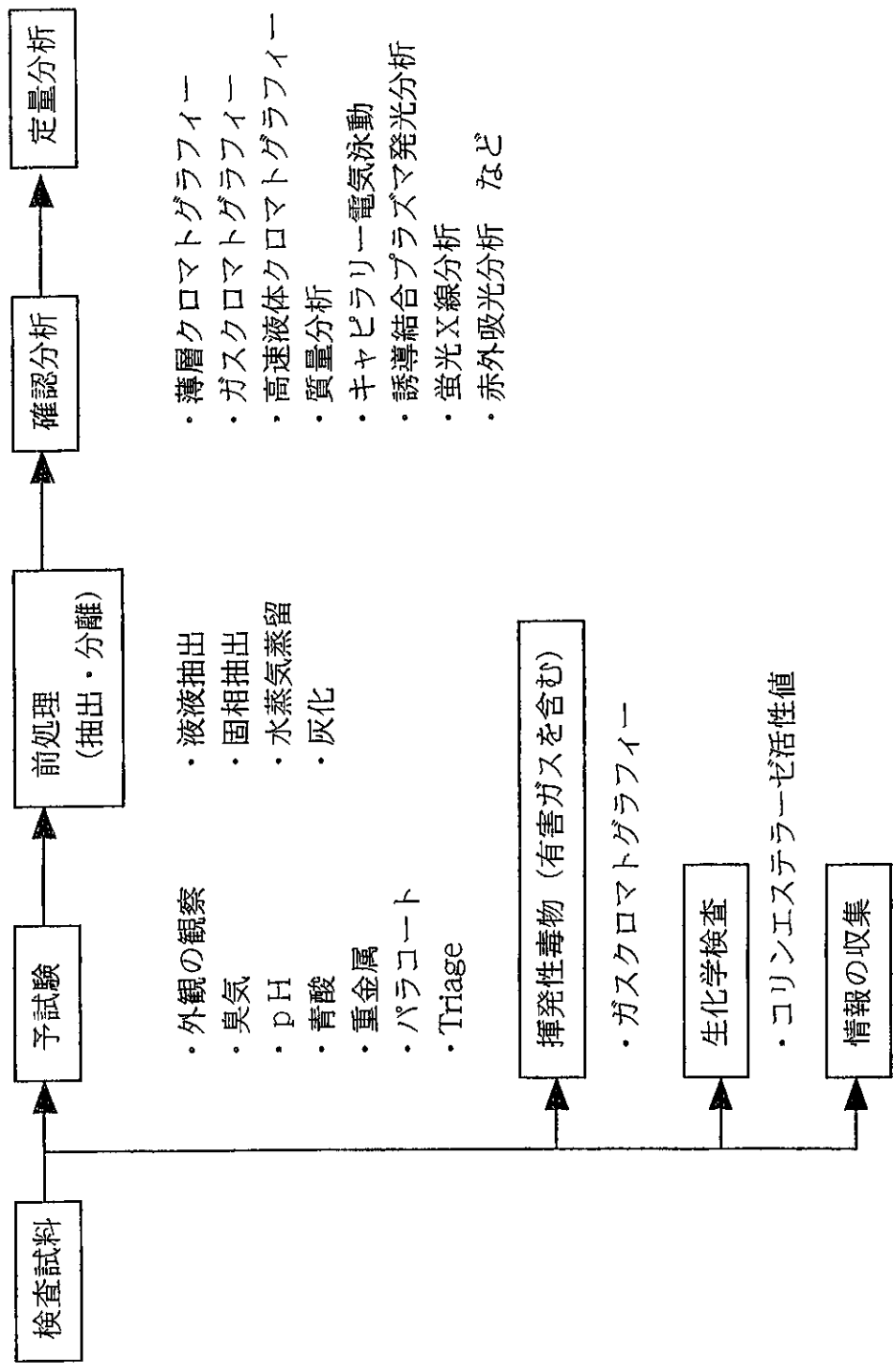


図1 薬毒物分析の流れ

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

毒劇物・薬物分析における
留意点に関する考察

1998年度厚生科学研究費
厚生科学特別研究事業

分担研究者 植木真琴、陰山信二
(三菱化学BCL)

平成10年度厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）
分担研究報告書

毒劇物・薬物分析における留意点に関する考察

分担研究者 植木 真琴、 陰山信二
三菱化学ビーシーエル ドーピング検査室

研究要旨

各種金属分析方法を、同一の評価サンプルで比較し、その特性、精度、操作性などから医療現場と専門分析機関の各々においてどの分析方法が最適であるかを調査した。また陥り安い誤りについて列挙し、精度管理の具体的方法を紹介した。蛍光X線測定装置の使用上配慮すべき問題点を調査し、より効果的な運用をするための対策を提案した。

広範囲の薬物検索に関しては、日米の検査統計から問題となる薬物を列挙し、実際の陽性例から問題点を具体的に考察した。

金属分析法は蛍光X線検出装置、高周波誘導プラズマ発光分析装置（ICP）、原子吸光分析機について比較したところ、操作性や装置特性、設置環境の点から医療機関においては蛍光X線測定装置とICPが、また確認分析を担当する専門分析機関ではICPと原子吸光分析機が適していた。蛍光X線測定装置は機種によって大きな性能差があり、感度的は数十ppmからサブppmレベルであった。従って食物、薬剤、胃内容物などの高濃度試料も併せて測定するのが検出率向上に寄与すると思われた。薬物の確認には高度な技術を要求するので、一次医療機関では市販の簡易キットを使用することが推奨されるが、現在の流通品だけでは不十分で、今後積極的に導入を進める必要がある。施設差や個人の主観に影響されない判定を下すには陽性判定基準と品質基準を明確にしておく必要がある。例を紹介したが、この点は今後の課題であろう。

医療現場での中毒分析は海外では簡易測定法が中心だが、配備政策では機器分析が前提となっている。時代の要求に併せて条件変更し、効果的な対応がとれるように技術情報を提供すると共に、専門分析機関による支援体制を構築する必要がある。それによって長期的に有効な毒劇物・薬物中毒検査体制が実現する。

平成10年度厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）
毒劇物中毒事件に関する研究「毒劇物・薬物分析における留意点に関する考察」

三菱化学ピーシーエル ドーピング検査室
植木 眞琴、 陰山信二

1. はじめに

中毒発生時の起因物質分析の難しさは、限られた時間内に迅速に目的物質を同定しなければならないことにある。

原因が明らかになるまでは患者の臨床症状、発生現場に残された食物、医薬品、化学物質、包装容器などから中毒原因を推測して患者の治療にあたることになるが、救命率を高め最小限の被害にとどめるためにも、早期に科学的根拠に基づいた治療を開始することが必要である。そこで本研究では、有毒金属元素と乱用薬物の迅速検査体制を構築する際の問題点とその対策について考察する。中毒起因物質の検査は簡易検査と機器分析による検査に分けられるが、ここでは機器分析を中心として取り扱うこととする。

2. 有害金属元素の検索

金属元素の機器分析による分析法には原子吸光法^{1) 2)}、高周波誘導発光分析法（以下 ICP: Inductively coupled plasma）³⁾、ICP 質量分析法^{3) 4) 5) 6)}、蛍光 X 線法^{7) 8)}、イオンクロマトグラフィー法、キャピラリー電気泳動法などがあり⁹⁾、それぞれ原子吸光法は単元素の高感度定量に、ICP、ICP 質量分析法、蛍光 X 線法は多元素一斉分析に、またイオンクロマトグラフィー法、キャピラリー電気泳動法は金属元素をイオン種別に分離検出するために用いられる。特殊な用途として、各分析方法の欠点を相互補完するためにハイフェナー

テットクロマトグラフィー、たとえば高速液体クロマトグラフ ICP 質量分析法(HPLC-ICP-MS)によるイオン種ごとのヒ素の同時定性定量なども行われることがある^{10) 11)}。

ここでは金属元素による急性中毒の起因物質検索を前提として前処理、付帯設備、機器の維持管理、手技・操作性、対価格性能比からフレームレス型原子吸光法、ICP、蛍光 X 線測定法を選んで比較した。尚機器の比較は検査現場での適用性評価に主眼を置いたものであり、装置の優劣を比較するものではない。

2. 1 試料および方法

検査方法評価用の試料として、全血または尿に和光純薬製原子吸光用標準液を添加し、Ni、Cr、Pb、As、Cd、Se の各元素の終濃度を 5 ppm に調製した。

内容は試料 A から D の四種類である。

- A. ヘパリン加血液に標準試料添加した全血。
- B. 標準品未添加の A と同じ全血（ブランク）。
- C. 標準品を添加した健常者尿。
- D. 標準品未添加の C と同じ尿。（ブランク）。

以上の試料を、メーカー 5 社の協力を得て 6 機種の蛍光 X 線分析装置で測定した。その際試料の取り扱いおよび装置条件はメーカーの推奨する条件とした。（表 1）

a, b, e 社の装置では液体のまま 1-2ml の試料をセルに入れて測定した。また c, d, f の各社では濾紙、ポリイミドなどの専用吸着膜に 50-200 μ l の試料をスポットし、乾固後測定した。

比較のため ICP および原子吸光法でも同じ試料を測定し比較した。原子吸光法での測定条件はあらかじめ目的元素ごとに検討された単元素の測定条件である。試料 A, C は中毒濃度を想定した高濃度サンプルのため、ICP では蒸留水で試料を 100 倍希釈し、また原子吸光法では元素により 300 倍から 500 倍の希釈を行ったのち、適宜モディファイヤーを加えて測定した。従って ICP と原子吸光法では試料マトリクス的大部分は蒸留水であった。

2. 2 結果と考察

2. 2a 蛍光 X 線分析法

測定結果の概要を表 2 に、また各装置で得られた代表的な蛍光 X 線スペクトルを図 1 から図 6 に示した。一般に血液試料では Ni と Cr の間 (6.4KeV 付近) にヘム鉄の蛍光 X 線(Fe-K α)が強く検出されるので、血液試料では Fe を指標として測定が正常に行われたことを確認できる。表 2 に示したように、添加された元素が検出された装置は c, d, e, f のみであった。a および b 社の装置では試料 A の Fe が明瞭に検出され測定は正常であったが、添加した元素は検出されなかった (図 1, 図 2)。図 3 に示した c 社の測定結果では、血液中の Fe, Ni, Se, Cr は検出されているが Cd は不検出で、Pb と As との区別は不明確であった。尿試料ではblankとの区別が困難で、測定結果から算出されたblank尿中の Pb 濃度は添加試料との区別ができなかった。蛍光 X 線検出装置では原理上ヒ素の蛍光 X 線 As-K α と鉛の蛍光 X 線 Pb-L α とが重複するため、別途 Pb-L β のスペクトルから Pb の強度を求め Pb-L α を数値処理で差し引くことによって As の濃度が求められる。今回のテストサンプルが装置 c にとっては検出下限付近の濃度だった

ため、数値処理の誤差によって Pb と As との区別が不明確になったと推測される。

d 社の結果 (図 4) では、Cd の感度が低く、尿サンプルで Cr のblank値が高いという点に注意する必要があるが、それ以外の成分については添加した元素の特定ができる程度の S/N比で蛍光 X 線スペクトルが得られた。測定に際しては正常者の試料をblankとして同時に測定するなどの工夫が必要である。

e 社の装置の特徴は、モノクロ励起線源を使用し散乱 X 線の発生を抑えバックグラウンドを減少させている点で、図 5 に示したように試料 A, C のいずれも添加した金属元素の全てが正しく検出された。さらに B, D のblankサンプル中の評価対象成分はすべて不検出で、理論値通りであった。検出されたスペクトルから濃度概算値を求めると 2 から 11 ppm で、今回評価した蛍光 X 線測定装置の中では最も良好な結果であった。

f 社の装置の特徴は、分光素子で蛍光 X 線のグレーティングを行い軽元素の測定を可能としている点にある。図 6 はそれぞれ左側がサンプル A と B、右側がサンプル C と D の測定結果を重ね合わせたスペクトルである。添加した Pb, Se, Ni および As (Pb-L α 線および As-K α 線を含む) のスペクトルはblank検体 B または D を基底として明確に検出されている。しかし Ni および Cr では、試料セルに由来するblankの影響でそれらのblankが高くなる傾向がみられた。容器由来のblankは測定条件の工夫によって排除可能と思われる。今回の測定条件では、Cd の感度が不十分であったが、これは RhX 線管を線源として用いたためと考えられ、CrX 線管の使用によって改善できる可能性がある。

今回の評価では実際に救急現場で使用される状況を想定し、検査材料以外の検体情報は伏せた上で各装置メーカーの推奨条件で分析したので、その結果は必ずしも装置の性能限界を示すものではないが、種々の方式の装置を比較することで蛍光X線測定装置の特性、問題点およびその解決のための方向性を知ることができた。以上 a - f の 5 社 6 機種種の測定結果から以下のような示唆が得られる。

1) 試料をスポットして乾燥させたのち真空中で測定すると濃縮効果が得られ、液体試料をそのまま測定するよりもバックグラウンドを軽減でき、結果的に測定感度を高めることができる。一方塗布が不均一だと、定量値が不正確になったり試料が回収しにくくなり、非破壊検査という特徴が活かせなくなる可能性もある。

2) 励起X線をそのまま照射し蛍光X線を測定する基本的なエネルギー分散型の装置に比べ、励起X線のフォーカスを強化して集中的に照射するマイクロX線ビーム方式、測定光のグレーティングを行う波長分散方式、またはX線照射の際に、励起X線の単色化を行うモノクロ励起線源方式などの改良を加えた装置では、ブランクレベルが低く、より高い感度が得られた。e社の装置では液体試料のまま測定しているにも関わらず最も良い結果が得られたことから、感度向上のためには試料の塗布による濃縮効果よりも、バックグラウンドカウントを軽減する工夫の方が感度増強に寄与するのではないかと推測された。同様に、元素によっては励起X線源となるX線管の選択も感度に影響する。

3) 何台かの装置で、血液または尿のマトリックスで高いブランク値を示す現象が見られた。その原因は、ブランク試料に元素が混入

したというよりも、試料セルの表面元素がブランクとして測定されたり、信号とノイズとの区別が明確に行われなかったために、数値処理の過程でノイズが数値化されたためであると推測される。測定に際してはブランクを必ず確認し、データの評価に際しては、スペクトルの s/n 比にも充分留意し、最小検出濃度 (LOD) と最小定量濃度 (LOQ) との違いを明確に認識しておくことが必要である。

全機種を通じ、試料を用意してから結果を得るまでの時間は 20 分程度と、満足できる迅速性であった。蛍光X線分析装置は原理が単純で操作性も良く、特別な付帯設備が必要無いなどの優れた特徴を持つ。また、液体・固体を問わず直接測定が可能であること、手軽に一斉検出ができること、非破壊検査であり確認検査のための試料を残しておくなどの点でスクリーニングとしての条件を備えた分析方法であるということがいえる。実際の運用にあたっては直接測定が可能であるという装置の特徴を活かし、中毒患者が服用した可能性のある薬剤、食物、胃内容物など、なるべく起因物質が高濃度で含まれる試料を併せて分析する事も中毒起因物質検出の精度を高める上で重要である。

2. 2 b 高周波誘導プラズマ発光分析法

ICP は、サンプル溶液をネブライザーで高周波誘導アルゴンプラズマ中に噴霧し、発生するイオン線の発光強度から元素濃度を精度良く測定する方法で、測定にはアルゴンガスの供給設備および排気ダクト等の整備された環境と測定者の経験を必要とする。難点としてはプラズマ発生に大量のアルゴンを使用することである。一般的に、事前に装置を安定さ

せ、試料の予想濃度に近い範囲で事前のキャリブレーションを適切に行っておけば、絶対値・変動誤差とも問題ないデータが得られるという評価が既に確定している。

ICP による定性結果を図 7 に示したが、試料 A, C では Ni, Cr, Pb, As, Cd, Se が検出され、また試料 B, D ではそれらがすべて不検出で、血液・尿のいずれの試料においても理論値通りの正しい同定が行われた。試料濃度の絶対値を求めるのは今回の目的ではなかったが、定量値概算もおよそ 3 から 9 ppm で、5 回測定の変動誤差も全ての成分で 1% 以下と、スクリーニングとしては充分満足できる結果であった。これらの結果を踏まえて再キャリブレーションを行えば、より正確な定量値を求めることができると期待される。多元素のスクリーニングと確認分析における定量のいずれにおいても十分な性能を発揮するので、専門検査機関での使用にも十分対応できる。

2. 2c ICP 質量分析法 (ICP/MS)

ICP/MS は、ICP よりも高感度で金属元素の一斉分析に用いられる。この装置は検出器部分に四重極型質量分析計を接続し、元素の質量対電荷比 (m/z) を測定するため、確認検査に適している。プラズマガスにアルゴンを用いる ICP/MS の難点は Cl, P および S の結合から生ずる多原子イオンの干渉があることである⁴⁾。すなわち、 $^{35}\text{Cl}^{17}\text{O}$ 、 $^{35}\text{Cl}^{16}\text{OH}$ 、 $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$ 等の多原子イオンは質量数がいずれも 52 (m/z) となり、 ^{52}Cr イオンとの分離ができない。また、 ^{75}As は $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ と重なり、ヒ素の定性でも同様の問題がある点に留意しておく必要がある⁶⁾。救命救急現場では試料中の起因物質濃度は高いことが予想されるので ICP/MS ほどの感度は要求されない。また、

多原子イオンによる問題もあるので通常の ICP 装置でも十分と考えられる。

2. 2d 原子吸光分析法

今回比較対照とした測定法の中では高感度かつ信頼性の高い単一元素定量法である。機器の特徴から、スクリーニングで多元素の検索を行うよりも、予測された元素の高感度定量や、生体内に存在する微量金属類の測定に用いられる。装置の設置場所は ICP とほぼ同じか、試料の汚染に配慮したよりクリーンな設置環境が求められる。今回は血液・尿の直接測定が可能なフレイムレス型の装置を用いた。評価用試料中 Ni, Pb, Se, Cd および Cr の各測定結果を表 3 にまとめた。一次スクリーニングとして予備的な測定を行った結果、ICP 同様、試料 A, C では Ni, Cr, Pb, Cd, Se が検出され、血液・尿のいずれの試料においても理論値通りの同定結果が得られた。その定量値概算は 3 - 6 ppm であった。原子吸光法の感度は ppb レベルで、ブランクサンプルにおける生理的濃度の Ni, Pb, Se, Cd を定量することも可能だが、高濃度試料を扱う場合の希釈操作やキャリーオーバーには十分な注意が必要である。

2. 3 有害金属元素まとめ

中毒起因物質として重要ないくつかの有害元素をモデルとして装置特性、感度などを比較した。今回は研究期間が短く十分な時間をかけて評価できなかったため、装置の長期的安定性や、保守についての評価は行われていない。蛍光 X 線測定装置については方式の異なる 5 社 6 種類の装置で、乾燥状態または液体試料のまま測定を行って比較したため、使用上注意すべき点のいくつかを明らかにする

事ができた。その結果から、中毒発生現場近くの医療機関におけるスクリーニングには操作性と迅速性に優れ、設置環境を問わない蛍光X線分析装置、もしくは可能であればICPを配備して多元素同時検索に主眼を置き、それを支援する専門分析機関ではICP、ICP質量分析計、原子吸光光度計など、より精度の高い装置を整備して一次検査機関を支援するのが効率的である。しかし一方で、蛍光X線検出装置の性能は、メーカーや装置の光学系の構造などによって著しく異なり、しかも同じメーカーであっても機種が違くと大きく性能が異なるという現状であり、運用上工夫が必要である。金属や固体表面の元素分析装置として問題なく使用できる装置であっても、生体試料の分析装置として簡便に用いるにはまだ改良の余地が残されているようである。

分析結果の解釈に際して、検出された物質が中毒を引き起こすような危険な濃度であったのか、あるいは環境中に微量に存在し安全な程度の濃度なのかということが、ダイオキシンの例と同様に問題となる。その意味で正常者のレベルと中毒濃度とを知っておく事が分析結果を判断する上で重要である。今回モデルとして検討した元素の正常者のレベルと中毒時の血液、尿中濃度の報告例を一覧として表4に示した^{12) - 27)}。有害元素の致死量に関する報告は数多く見られるが、急性中毒時の血液尿中濃度に関する報告はさほど多くないので、表を参考にすると共に必要時に随時検索^{28) 29)}するか、中毒情報センターなどに問い合わせられたい。

3. 薬物の検索

薬物の系統的な分析方法については数多くの報告があり、我が国でも警察や法医学分野では麻薬・覚せい剤・大麻を中心とする乱用薬物検査が実施されている。アメリカでは勤務中の薬物使用が公共交通における人災事故のおもな原因となったことから1988年に米連邦職域薬物検査法が制定された³⁰⁾。以後、安全管理に携わる従業員に対する米国内の薬物検査体制が大幅に整備され、発生現場において覚せい剤、コカイン、大麻、阿片類、幻覚剤などの主要な乱用薬物の検出を10分程度で行えるような簡易免疫測定試薬が数多く市販されるようになった。また、確認検査を行う専門検査機関数を増やし、その技術を高いレベルに維持するためにガイドラインが作成され、一定のレベル以上の検査機関を国家認定するプログラムが発足した³¹⁾。併せて鑑定に必要な参照標準を配布する体制も整えられた。一方我が国では、覚せい剤取締法、麻薬および向精神薬取締法等により、規制薬物を含む体外診断薬や研究用試薬の輸入許可が依然として厳しく制限されている。そのため、国内では研究者が個人または事業所単位で法的手続きを経て標準試料を輸入し、GC/MSなどの機器分析で限定された範囲の薬物検索を行う方式が一般的である。欧米で普及している迅速検査試薬のうち、国内の医療現場で利用できるものは金属コロイドイムノアッセイ法による乱用薬物検査パネルや専用の自動分析機を用いるEMITなど数種類に限られているが、この点は屋敷らが解説する。このように日本で乱用薬物検査を精度良く行う体制を構築するためには、熟練を要する機器分析中心にならざるを得ないという問題が残されている。

3. 1 対象となる薬物

筆者の検査結果によると、1998年1年間に質量分析法によって構造確認された薬物の主なものは、薬物使用の可能性のある一般人2,875人を対象とするものでは陽性率13.6%で、検出薬物順にエフェドリン類(240)、覚せい剤(126)、リドカイン(25)、アセトアミノフェン(11)、阿片系麻薬(8)、クロルフェニラミン(5)、ジフェンヒドラミン(3)以下、大麻、MDA、MDMA、メトキシフェナミン、エチレフリン、テオフィリン、イミプラミン、デシプラミン、ミアンセリン等の順であった(カッコ内は検出数)。ベンゾジアゼピン類、三環系抗うつ剤の主なものは薬物治療監視として測定されているため、この統計からは除外されている。また多剤服用例が含まれているので、陽性数と検出薬物数は不一致となる。

一方、スポーツ選手2,801人を対象とする検査で検出された規制薬物は34例で、その薬理作用別分類は、蛋白同化ステロイド(19)、中枢興奮剤(6)、ペプチドホルモン(4)、大麻(3)、利尿剤(2)の順であった。この群には許可薬として使用されたアセトアミノフェンや、気管支拡張剤サルブタモールの陽性者が相当数含まれている。

米国ボストン Massachusetts Poison Control Center の1997年の統計によれば^{3,2)}、薬物中毒に関する問い合わせ計6,285件の上位は、アセトアミノフェン(1,021)、局所用剤(601)、ベンゾジアゼピン類(490)、ビタミン類(472)、非ステロイド性消炎鎮痛剤(453)、抗ヒスタミン剤(444)、サリチル酸塩(240)、抗うつ剤(238)、風邪薬(235)、麻薬鎮痛剤(215)、抗生物質(203)などが上位であった。またこの施設での中毒死の原因物質は、アセトアミノフェン(5)、ベンゾジアゼピン(4)、エタノール(4)、三環系抗

うつ剤(3)、コカイン(2)、阿片類(2)、フェニトイン(2)、β-遮断薬(2)、以下シアン、ジゴキシン、フェニルプロパノールアミン、インシュリンなど(各1)であった。

日本国内の薬物中毒の傾向には地域性があるといわれており、都市型の救命救急センターでは覚せい剤、大麻などの習慣性薬物中毒事例が上位を占め、一方農村立地型の救命救急センターでは有機リン系農薬による中毒事例が多いと言われている。従って中毒起因物質の検査体制も地域の特性に合致した配慮が必要である。有機リン系農薬に関しては、当研究班の屋敷、奈女良らが報告するので、ここでは薬物に限定して取り扱う事とする。

3. 2 薬物の検査と標的化合物の選択

薬物検査を行う場合には、検査対象となる標的化合物を適切に選択することが重要である。金属元素とは異なり、薬物の多くは体内で代謝を受けて尿や胆汁中に排泄される。投与した薬剤が体内で完全に代謝されて検査材料からは検出されないことも多々ある。またある薬物がプロドラッグとなって別の薬物に代謝され、紛らわしい分析結果となる事も少なくない。図8-a、図8-bは、尿中に検出される難揮発性の薬物およびその代謝物のGC/MSによるスクリーニングの例を示しているが、この例では抱合体を検出するために塩酸加水分解後に薬物を抽出し、成分によっては代謝物を標的としている。検索は筆者の検査室でプログラムされた自動検索ソフトを用いた。ここでは、基準物質となる内部標準物質(ジフェニルアミン)との相対位置から目的物質の検出位置を予測し、その位置において目的物質に特徴的な2ないし3種類のフラグメントイオンでMSクロマトグラムを描画する事に

よって薬物が検索される。図の例は塩基性薬物を主な対象としているので、検索対象となる成分は未変化体のほか抱合体、脱アルキル化体、疎水性残基の水酸化体などである。たとえば、覚せい剤については主な抱合型代謝物であるパラヒドロキシアンフェタミン、パラヒドロキシメタアンフェタミンが未変化体と同時に検索されている。これらの代謝物を検出する事により、実験室ベンチなどでの汚染による覚せい剤の偽陽性を排除できる。

3. 3 検査材料の選択

一般に、乱用薬物検査では中毒起因物質検索のための検査材料として尿試料を用いる。その理由は、薬物治療監視では有効治療濃度と中毒濃度の管理に主眼が置かれるために、薬理作用の指標となる血中薬物濃度をモニターするのに対して、既に中毒症状を呈している場合には、薬物特定につながる検査材料をより多く採取できた方が、原因が何であるかを知る上で好都合だからである。一般に、ほとんどの薬物において尿の方が血液に比べて目的物質またはその代謝物濃度が高い。中毒起因物質の検出率を高めるためには、薬理活性の有無に関わらず、検査材料中により多く排泄される特徴的な代謝物を検索する方が有利である。たとえば、筋肉注射で用いられる蛋白同化ステロイドホルモン的一种である19-ノルテストステロン（ナンドロロンの250mgデポ剤）を投与した後の血液中未変化体の検出期間はせいぜい1-2日なのに対して、尿中の主要代謝物19-ノルアンドロステロンを標的とすることにより、投与2-3ヶ月後でも検出できることがSchänzerらによって報告されている³³⁾。検査材料から代謝物を検出する事は、その材料が測定以前に汚染されたり意

図的な薬物混入によって変質したのではなく、薬物が被検者の体内を通過した後に体外に排泄されたものだという重要な情報にもなる。ある種の薬物、たとえばペプチド・糖蛋白ホルモンのような高分子薬剤の多くは、蛋白消化酵素による分解や腎子球体濾過率が低いなどの理由により尿ではほとんど検出されないため、検査材料の選択にあたっては薬物の体内動態に配慮する必要もある。被検者が急性中毒発生直後に搬送されたようなケースでは、胃の中に高濃度の薬剤そのものが残留している可能性も高く、胃内容物や血液が第一選択の検査材料になることも考えられる。この場合の検索対象物質は未変化体を中心となり、尿中の代謝物測定の場合とは測定対象物質が異なることもある。

3. 4 中毒起因薬物の検索システム

有害金属元素の項でも述べたように、薬物検索システムの最近の傾向としてスクリーニングと確認分析の二段階に分けて検査が行われるようになってきている。このような方法により、迅速かつ効率的な薬物分析が可能となり、大規模な検査では全体のコストを削減することができる。まずスクリーニングでは、薬物の化学的性質や分子構造上の共通性に着目したグループ分析によって候補を絞り込み、陰性検体を以降の薬物検査から除外し、それらは必要に応じて他の検査に回送される。続く擬陽性検体の確認分析では、スクリーニング結果から予想される薬物に最適な条件で分子種の同定を進めて行く。たとえば、免疫測定法による尿スクリーニング検査でアヘン類の陽性結果が得られれば、臨床症状と照らし合わせながらただちにアヘン類による中毒の治療を進めることができる。続く確認検査で

は、ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC/MS)により、スクリーニングで陽性結果を示したアヘンアルカロイドの分子種を同定する。ここでモルヒネやヘロイン代謝物の6-アセチルモルヒネが検出されれば、原因物質がモルヒネまたはヘロインであったことが確認できるが、6-アセチルモルヒネは検出されずに相対的にモルヒネより多くのコデインが検出されるならば、鎮咳去痰剤や市販感冒薬の服用が疑われる。図9はリン酸コデインを含む市販感冒薬服用後の尿を分析した結果であるが、未変化体のコデインと共にその代謝物モルヒネが検出された。アヘン類のスクリーニングをオンサイトで実施することによってその結果は速やかに治療に反映され、陽性を示したアヘン分子種の特特定といった中毒原因の詳細な調査や犯罪性の検証は、引き続き専門検査機関で熟練者が行うというように役割分担され、緊急度と精密性に併せた効率的な対応が可能となる。

3. 4. a スクリーニング検査と精度管理

薬物スクリーニングには、単一薬剤を対象とする方法に発色反応、イムノアッセイなどが、また多成分を対象とする方法に薄層クロマトグラフィー(TLC)、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、ガスクロマトグラフィー(GC)などの分離分析法があり、日本でも分離分析法による薬物検索用の専用 TLC キット Toxi-Lab[®]や薬物検索専用 HPLC 装置の REMEDI[®]などが販売されている。最近では抗体の交差反応性を利用してグループ検出を行う専用自動分析機 EMIT-ETS[®]や、複数の特異的な抗体を組み込んだ金コロイドイムノアッセイパネルによって一度に複数の薬物群の有無を目視的に判定するトライエージ[®]、ビスアライン[®]な

どが使われ始めている。一般にスクリーニングの段階では陽性を示す薬剤の特定が不十分であったり、非特異的反応による擬陽性の可能性が完全には排除されていないので、GC/MS などの構造解析手法によって最終的には分子種まで同定する必要がある。

スクリーニング結果の信頼性に影響を与える主な要因を図10に示したが、図中に示した誤差要因が正しくコントロールされていることを確認するための一つの方法として管理検体を利用する方法がある。スポーツ選手のドーピング検査に関する国際オリンピック委員会医事委員会のガイドライン³⁴⁾や検査機関の国家認定に関する米国のガイドライン³¹⁾では、測定の各バッチごとに精度確認用管理試料を分析することを要求している。緊急時の中毒分析に際して常にこのような精度管理を行う必要があるかどうかは別として、日々の分析において、その分析精度がどの程度信頼できるかを確認する上で有用なので、以下にその概要を列挙する。管理物質を用いる精度管理は、分析の状態を調べ、起きうる不都合を未然に防ぎ、測定結果を解釈するための判定材料を得る上で有用な情報となる。

精度管理に用いる管理物質の例：

陰性コントロール試料

- 試薬ブランク：蒸留水。陽性結果が汚染された試薬から混入していない事を示す。
- 試料ブランク：正常者から採取した試料。生体成分による干渉の評価に用いる。

陽性コントロール試料

- 参照試料：標準物質を含む溶液、または標準物質を添加した試料ブランク。
- QC試料：定量限界濃度またはカットオフ濃度の標準試料添加サンプル。

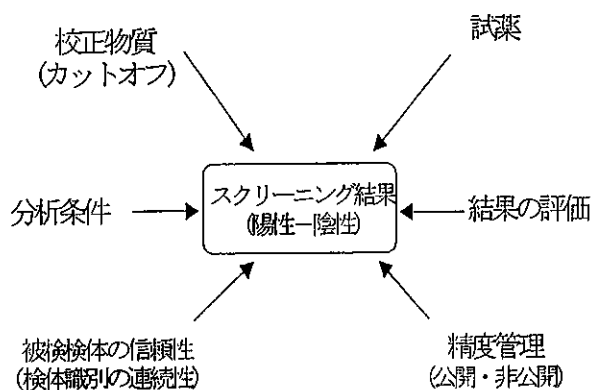


図10 スクリーニングに影響を及ぼす要因
(NIDA 資料を参考に作成)³¹⁾

検量線試料

1点または多点濃度の標準物質を含む溶液、またはそれを試料ブランクに添加。
(検量線試料はQC試料とは違う個体のマトリックスで作成される。)

TLC, GC, HPLC などの分離分析法によるスクリーニングでは、管理試料を用いた品質管理が可能であるが、1検体1キットの使い捨て型金コロイド免疫アッセイでは、1検体分のパネルの中に陰性コントロールゾーンと陽性コントロールゾーンがあり、それぞれが陰性または陽性の場合のバンドと同様に表示されていることで正常に分析が終了したことを知ることができる。結果判定に際して、スクリーニング検査では擬陽性が含まれる可能性があることを常に念頭において測定結果を評価する必要がある。特に麻薬、覚せい剤のような規制薬物の検査は結果次第で被疑者の身分に影響するので、検査対象者のプライバシーは厳密に保持されなければならない。

日本では規制薬物の検査に適用される公式のカットオフ濃度は定められていないが、分析の精度外での判定を避け、個人差を排除す

るためには陽性基準を明確に定めておく必要がある。金コロイド免疫アッセイによる筆者のスクリーニング実施例では、291例のうちアンフェタミン類に陽性反応を示した検体は15例であったが、それらをGC/MSで確認分析したところ、メタンフェタミンが13例、アンフェタミンが1例で、残りの1例では覚せい剤は検出されなかった。覚せい剤は興奮薬の基本骨格となるフェニルアミノプロパン誘導体なので、その抗体は構造が類似する興奮剤に対して交差反応を示す可能性がある。覚せい剤の偽陽性反応を示した検体について調査したところ、麻黄を含有する漢方に含まれるプソイドエフェドリンが抗メタンフェタミン抗体に交差反応を示すことが判明した。このような交差反応情報は、ある程度キットの能書に記載されているが、メーカーに直接問い合わせるとさらに詳しい情報が入手できるので、取り寄せて結果の評価をする者全員が利用できるように備えておくと便利である。

以下にスクリーニング検査で陥りやすい誤りの例を列举した。

- ・ 分光器機の測定波長の誤り
- ・ オートサンプラーのキャリーオーバーによる高濃度サンプル後の擬陽性
- ・ 精度管理用検体が基準外のまま評価されず結果を報告
- ・ 使用したキットのロット番号、有効期限などの記録・確認もれ
- ・ 有効期限外の試薬の使用
- ・ 陰性コントロールとカットオフ検体との区別が不明瞭
- ・ 装置保守の不備によるデータのばらつき
- ・ カットオフ値付近のばらつき (免疫アッセイの場合)

- ・ 試薬の希釈使用によるカットオフ付近の精度低下 (イムノアッセイの場合)
- ・ 試薬変更後に以前の校正結果で判定 (自動分析の場合)
- ・ 測光時間・カウント時間不十分 (分光器機、ガンマカウンターなど)
- ・ サンプル移動時の試験管の取り違い

3. 4. b 確認分析

薬物の鑑定証拠として、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を用いる分子種の同定結果が一般に広く受け入れられている。近年タンデム質量分析計による空間差を利用する MS/MS や、イオントラップ質量分析計による時間差を利用する MS/MS、大気圧イオン化法などと組み合わせた各種 LC/MS も高感度検出法として盛んに利用されるようになってきた。しかし後者のような新しい MS 手法に関する薬物同定の品質基準として確立された統一的なものは無く、選択性が高いがゆえに得られる情報量や特徴的なドーターイオンの数が少なくなるという点をどのように評価するかという点は今後の課題である。通常遭遇する薬物中毒のほとんどは一般的な GC/MS で確認可能なので、ここでは GC/MS を前提として述べる事とする。

GC/MS では GC カラムの保持時間 (RT)、イオン強度、イオン質量 (m/z) という三次元のデータとして測定結果が得られ、通常の HPLC や GC に加えて質量分離という高い特異性を備えている。クリーニング結果を GC/MS で確認する場合、疑われる物質と被検検体から検出された陽性反応を示した物質とを比較し、両者の RT と質量スペクトル (MS) が一致すれば同一物質と判断される。ホルモンのように

更に感度が要求される場合には、選択的イオン検出法 (SIM) といって目的物質に特徴的なイオンだけを選び出して測定することにより、スキャン測定との 50 倍程度に感度が向上する。濃度測定や被疑成分の標準物質との一致率評価に用いるフラグメントイオンは、できればより高質量で強度が高く、分子イオンやハロゲン化物の同位体アナログなど、目的物質の特徴を反映するフラグメント (Diagnostic Fragment) でなければならない。その際可能ならば特徴的なフラグメントイオンを 3 種類以上選び、確認を行おうとする成分から得られたイオン強度比が、同じバッチで分析された標準試料のそれと一致することを確認するのが望ましい。許容されるイオン強度比の一致率は、MS 分析に関する多くのガイドラインで標準試料に対して $\pm 20\%$ (相対値) 以内とされている^{31), 34)}。

異性体は、GC の保持時間ばかりでなく MS スペクトルも互いに類似しており、同定を誤らないような注意が必要である。ステロイドの α 、 β 幾何異性体は立体構造上の差違が大きいので、ほとんどの場合 GC カラムで分離できるが、身近にある薬物の例の中で、たとえばプロソイドエフェドリンとエフェドリン、ノルプロソイドエフェドリンとフェニルプロパノールアミン相互の分別同定はやや困難である。図 1 1 は誘導体化をしていないエフェドリン類を 5% フェニルメチルシリコンフェーズドシリカカラム (0.2mm ID x 12.5m L, 膜圧 0.33 ミクロン) で分離し GC 検出した例を示す³⁷⁾。図では 5 種類のエフェドリン類が分離されているものの、完全分離はできなかった。一方同じサンプルを O-トリメチルシリル-N-トリフルオロアセチル誘導体化したのち同様のカラムで分離すると、図 1 2 に示すよう