

野にとらわれず、幅広く新しい情報を入手する努力が必要である。冒頭でも触れたが、中毒起因物質は何万と存在し、全てを検査することは不可能である。また、購入できる検査キット全てを購入しても、誰が検査するのか、といった問題が生じてくる。日本中毒学会の提言した 15 種類の薬毒物の検査法について紹介しているが、すべての病院でこれらの 15 種類すべての検査が必要であるかは疑問である。各施設において、必要である検査選択して検査体制を構築していくべきであると考え。

迅速検査法の実地講習会

日本中毒学会分析委員会において、分析結果が治療に役立つとして 15 種類の薬毒物（青酸、ヒ素、パラコート、有機リン系農薬、カーバメート系農薬、グルホシネート、メタノール、アセトアミノフェン、ベンゾジアゼピン類、バルビツール酸類、メタンフェタミン、三環系抗うつ薬類、サリチル酸、ブロムワレリル尿素、テオフィリン：順不同）が提唱された。この 15 種類の薬毒物を絞り込むのに応用できる迅速検査法を紹介し、模擬生体試料を使用して実際の検査に即した実習を行った。

1) 試薬、試料

各薬毒物の検査には、表 2 に示したキットと反応を使用した。また模擬試料の作成には、市販のヒト血清あるいは薬物を服用していない健常人から得られた尿を使用し、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。

2) 方法

各々の参加者に未知検査試料（添加した薬物名を伏せておく）を渡し、一連の検査終了後に渡し試料中の薬毒物を推定させた。検査開始前に操作法の説明を行ったが、一度の説明で十分に理解できているとは限らないので、写真入りのイラストを配布し、文字に表れ

わからないノウハウを教示するなどして操作習熟の徹底をはかった。また、操作の誤り、試薬の劣化などを回避することを目的に、各検査の陽性コントロールと陰性コントロールを各自の未知試料とともに検査させた。

表2 講習会に使用した各種検査法と使用した検査試料

薬毒物名	検査法	検査試料
青酸	北川式ガス検知管	血液
ヒ素	メルコクァント ヒ素テスト	尿
パラコート	ハイドロサルファイト反応	尿
有機リン系農薬 (ブロムワレリル尿素)	有機りん系農薬検出キット	尿
カーバメート系農薬	Agri Screen AT-10 Ticket	尿
グルホシネート	ニンヒドリン反応	尿
メタノール	北川式ガス検知管	尿
アセトアミノフェン	アセトアミノフェン検出キット	血清(尿)
ベンゾジアゼピン類 バルビツール酸類 メタンフェタミン 三環系抗うつ薬類	尿中乱用薬物検査キット (Triage)	尿
サリチル酸	塩化第二鉄反応	尿
テオフィリン	アキュメータ・テオフィリン	尿

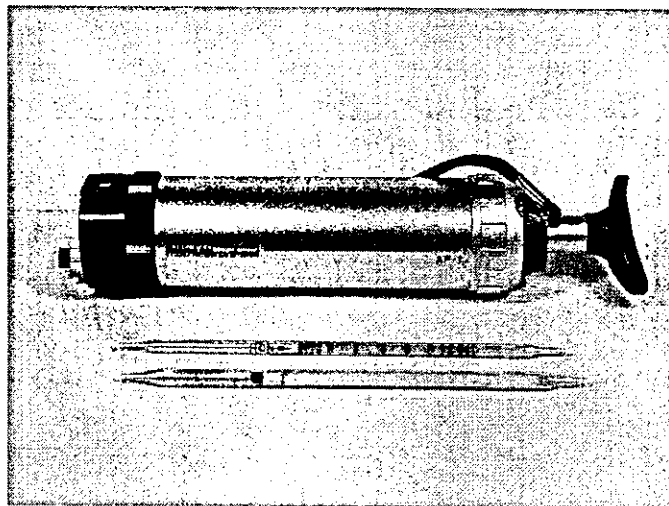
3) 結果

検査者の技量に左右されないように、可能な限り市販の検査キットを使用した。いずれも30分程度で結果が得られるため、現場での検査にも利用可能であり、各医療機関での薬毒物検査体制の構築に役立っていると考えられる。また、講習会終了後も購入先、価格、保存期限などの問い合わせがあり、参加者の意識向上が伺える。しかし、一律に全てのキットを揃える必要があるかは疑問であり、各機関で十分に検討する必要がある。

1) 青酸

青酸の検査にはピリジン・ピラゾロン法、シェーンバイン・パーゲンシュテッヘル法、ロダン反応など数多くの方法が利用されている。生体中の青酸は微量であり、かつ生体中成分によって種々の妨害反応が起こるため、蒸留法や拡散法によって妨害成分を除去し、濃縮する必要がある。この前処理は手間と特殊な器具を要することから現場検査には不向きであった。簡便で迅速に生体試料中の青酸を検査するには、北川式ガス検知管やシアンテストワコーが利用できる。

北川式ガス検知管（血中シアン化水素）は血液中シアンを検出するものである。分離管に注入された血液からシアン化水素を分離し、検知管に充填されている pH 指示薬の変色によって血液中シアンを検出する。検知管の変色域（長さ）は、血液中シアン濃度と相関性があることから、半定量することも可能である。検査試料量が 0.3ml と少なく、試料を吸引するだけで検査できる反面、検出下限が 2 μ g/ml と高めである。また、吸引する外気に酸性ガスが含まれていると指示値が高くなるので注意が必要である。



【操作法】

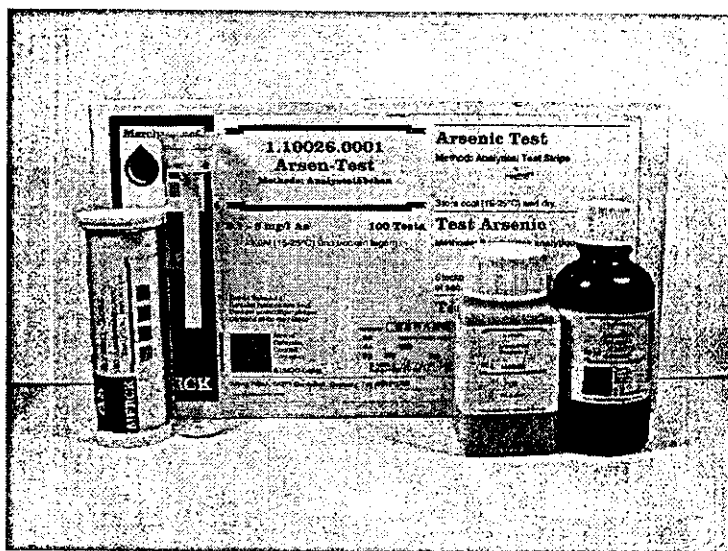
1. 検知管と分離管、それぞれの両端をカットする。
2. 矢印の方向を合わせ、分離管と検知管を付属のゴム管で接続する。
3. 検知管の矢印の方向をガス採取器(AP-1型採取器)の方へ向け、検知管を検知管取付口に接続する。
4. 空気を入れないように、ツベルクリン用注射器(1.0ml)で試料(水で2倍希釈した血液) 0.3mlを採る。
5. 分離管を持ち上げ、試料を採った注射器の針先を分離管の奥まで差し込む。
6. 注射器を抜き取りながら、分離管に試料を注入する。
7. 採取器のシャフトの赤点と止金の赤点を合わせ、ハンドルを一気に100mlまで引く。
8. 試料が分離管の中に入り、分離管内で生成したシアン化水素が検知管に入っていく。
9. 3分間放置する。
10. 検知剤の色の変化でシアンの有無を推定する。

【注意点】

- 1) 検出下限は $2\mu\text{g}/\text{ml}$ である。
- 2) 検知管および分離管の両端をカットする場合、怪我をしないように注意する。
- 3) 検知管と分離管をゴム管で接続する場合、手に刺さらないように注意する。
- 4) ガス採取器から検知管をはずす時、ねじらないようにまっすぐ引いて取り外す。

2) ヒ素

ヒ素の検査には、酸性条件下で加熱することによって銅に付着させるラインシュ法やジエチルジチオカルバミン酸法、グトツァイト法が利用されている。いずれも検出感度や特殊な器具が必要であることから、現場検査には利用されていない。メルコクァントヒ素イオンテストはグトツァイト法の原理で試料中の無機ヒ素を検出できる。キットに入っている試験管に検査試料を入れ、付属の試薬を加えることでヒ化水素（アルシン、 AsH_3 ）が発生する。これが試験紙の反応部分に含まれている臭化水銀（II）と反応し、黄茶色のハロゲン化ヒ素水銀錯体を形成することにより、ヒ素化合物の確認が可能となる。尿を検査する場合、所定の時間（試薬添加後 30 分後）に結果を判断するのではなく、試薬添加 10 分後に判断する。尿での検出下限は $0.5\sim 1.0\mu\text{g/ml}$ と致死域に近い濃度であり、実用可能かが疑問であるが、食物、飲料などの検査には十分適応可能である。



【操作法】

1. 尿5mlを試験管（30ml容量）に入れる。
2. 付属のスプーンでReagent 1を1杯加える。
3. Reagent 2を10滴加える。
4. すばやくバイアル瓶に蓋をして、10分間放置する。途中静かに2～3回振り混ぜる。
5. 試験紙の色調を比較する。ヒ素が含まれていれば、試験紙の変色域が淡黄色～茶色に変化する。

【注意点】

- 1) 検出下限は 1 μ g/ml である。

3) パラコート

パラコートはアルカリ水溶液中でヒドロサルファイトなどによって還元を受けると青色に変化する（ジチオナイト反応）。この反応を利用し、尿などの検査試料にヒドロサルファイト含有の水酸化ナトリウム水溶液を加えると、検査試料中に存在するパラコートが確認できる。パラコートと類似の化合物であるジクワットも検出可能であるが、パラコートと異なり緑色に変色する。ただし、ヒドロサルファイトは容易に空気酸化されて効力が落ち、偽陰性を示す危険性が高いため、常に陽性コントロールの検査を併用するなどの注意が必要である。

血清中パラコートを検出するために、上記検出試薬をガラス管に充填した北川式ガス検知管（血中パラコート）も販売されている。使用直前に開封するため、ヒドロサルファイトの空気酸化による劣化の恐れがない。

【操作法】

1. 尿1mlを試験管に採る。
2. 水酸化ナトリウム水溶液(1M、ヒドロサルファイト0.1%含有)1mlを加えて攪拌する。
3. 色を観察する。陽性の場合、青色を呈する。

【注意点】

- 1) 検出下限は20 μ g/mlである。

4) 有機リン系農薬

有機リン系農薬は神経性毒ガスの研究から派生して合成されたものであり、コリンエステラーゼの活性阻害作用を有する。パラチオンなど初期の製品は毒性が高く、中毒事故が多発したために低毒性の製品が開発されているが、中毒事故は絶えない。

迅速検査法としては、コリンエステラーゼの活性阻害を指標とする検査紙、DTNB 法、イムノアッセイ法と呈色反応を指標とする有機リン系農薬検出キットがある。検査紙は簡便に検査できる利点があるが、自動分析装置の普及によって姿を消している。有機リン系農薬検出キットは薄層クロマトグラフィーの検出試薬として利用されている 4-(4-ニトロベンジル)ピリジン (NBP) が溶液中で有機リン系農薬と反応する。検査試料中に有機リン系農薬が一定の濃度以上含まれていると、ピンク色～赤紫色に変色する。一部の有機リン系農薬では着色しないものもある。



【操作法】

1. 尿1mlをNBP試薬入り試験管に採り、攪拌する。
2. キャップを緩やかに閉め、100℃で20分間加熱する。
3. 室温まで放冷し、TEP試薬を2滴加えて激しく攪拌する。
4. 抽出溶媒を1ml加え、転倒攪拌後、静置して上層の色を観察する。陽性の場合、上層（抽出溶媒層）は薄ピンク色～赤紫色を呈する。

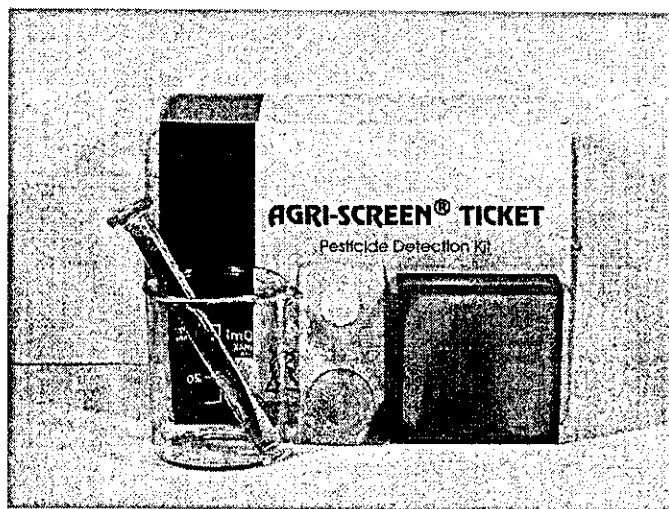
【注意点】

- 1) 検出下限はマラチオン10 μ g/mlである。
- 2) 加熱した後に試料を取り出すとき、突沸に注意する。
- 3) プロムワレリル尿素でも陽性反応を示すので、コリンエステラーゼ活性阻害などの臨床症状と照らし合わせて判断する。

5) カーバメート系農薬

カーバメート系農薬はヒトなどの哺乳類に対して有機リン系農薬と同様にコリンエステラーゼ活性を阻害して毒性を示す。有機リン系農薬の治療に有効とされるPAMの投与は無効とされているため、有機リン系農薬との区別が必要とされるが、カーバメート系農薬の選択的な検査法はない。

残留農薬分析用として、カーバメート系農薬スクリーニングキット、Agri-Screen AT-10（きつとセーフの商品名でも販売されている）などがある。Agri-Screen AT-10の検査紙に含まれている基質が、酵素（コリンエステラーゼ）と反応して分解され、青色色素が生成する反応を利用したものである。検査試料中にカーバメート系農薬などコリンエステラーゼの阻害活性を有する化合物が存在すると、コリンエステラーゼの働きを抑えて基質が分解されず、青色色素を生成しない。当然のことながら、有機リン系農薬は陽性反応を示す。



【操作法】

1. チケットが入っている小袋を開封し、チケットを取り出す。
2. チケットのカバーホイルを半分剥がし、酵素ディスク（白色）を露出させる。
3. 尿3滴を酵素ディスク（白色）部に滴下する。
4. アクチベータアンプルを目盛り付の試験管内で割り、水1mlを加えて希釈する。
5. 4. の希釈液3滴を酵素ディスク（白色）部に滴下し、3分間放置する。
6. チケットのカバーホイルの残り半分を完全に取り除き、酵素ディスク（白色）と基質ディスク（紫色）の露出部分がきちんと合わさるように折り曲げ、3分間しっかりと接触を保持する。
7. 3分後、酵素ディスク（白色）部が白色であれば、検出下限以上のコリンエステラーゼ阻害活性物質の存在が示唆される。

【注意点】

- 1) 検出下限は数 $\mu\text{g/ml}$ である。対象となる化合物によって、感度は異なる。
- 2) カーバメート系農薬に限らず、コリンエステラーゼ阻害活性物質（例えば、有機リン系農薬など）の存在で陽性となる。

6) グルホシネート

グルホシネートはその分子内にアミノ酸構造を有しているため、アミノ酸特有の呈色反応であるニンヒドリンによって呈色する。これを利用してペーパークロマトグラフィーにより生体成分と分離後、ニンヒドリンを噴霧することによってグルホシネートを検出できる。しかし、ペーパークロマトグラフィーでは結果が判明するまでに2時間を要し、医療現場での検査には不向きである。薄層クロマトグラフィーを利用することで多少検査時間の短縮が可能であるが、医療現場での検査に適しているかは疑問である。

7) メタノール

メタノールには特異的な簡易検出法はなく、酸性条件下でクロムを還元する反応（重クロム酸反応）や浸透圧ギャップ（osmolal gap）を利用して推定している。簡易的には北川式ガス検知管を利用して検出することも可能である。例えば、尿などの検査試料をバイアル瓶に入れて密閉し、加温してメタノールを気相中に追い出し、その気相を検知管内に導入する。検査試料にメタノールが含まれていれば検知管は着色する。この方法での検出下限は20 μ g/mlである。しかし、いずれもメタノールに特異的な反応ではなく、他のアルコール類、エーテル類、エステル類などの化合物によっても起こり、見かけ上の検査値が高くなる。したがって、メタノールの特定にはガスクロマトグラフィーでの分析が必要となる。

【操作法】

1. 尿1mlをバイアル瓶（10ml容量）に採る。
2. セプタムとアルミキャップで密閉する。
3. バイアル瓶を55℃で5分間加温する。
4. 検知管の両端をガス採取器（AP-1型採取器）の先端部にあるチップカッターでカットする。
5. 検知管のガス入口部（矢印の向きとは反対側）と吸入針（21G, 1*1/2）をテフロン管で連結する。
6. 検知管の矢印をガス採取器に向けて、検知管を検知管取付口に接続する。
7. 吸入針の針先が試料に触れないように、吸入針をセプタムに刺し込む。
8. ガス採取器の止金部とシャフトの赤点を合わせ、50mlの目盛りまで、シャフトを引く（カチッと音がする）。
9. 空気導入針（23G, 2*3/8）（急激に空気が入らないように針もとを指でしっかりと押さえておく）をセプタムに刺し込み、試料内まで刺し入れる。
10. 徐々に指をずらし、緩やかに空気を入れる（一気に離すと、泡が発生して試料が検知管内部まで入ってしまう）。
11. 再度、ガス採取器のシャフトを引き、100mlまで吸引する。
12. 検知剤の色の変化（黄色～淡青色へ）でメタノールの有無を推定する。

【注意点】

- 1) 検出下限は20 μ g/mlである。
- 2) 本検査は、エタノールでも反応するため、飲酒している場合には陽性となる場合もある。

8) アセトアミノフェン

アセトアミノフェンは容易に入手できる解熱鎮痛剤である。代謝の過程で生じる *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入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。

アセトアミノフェンを直接ニトロ化合物に変換するニトロ化法と酸加水分解して *o*-アミノフェノールとし、生成した *o*-アミノフェノールをアルカリ性下でフェノール系化合物と反応させるインドフェノール法が知られている。ニトロ化法で生成した化合物は黄色に着色し、使用する器具の色と重なるために低濃度での検出が難しいが、インドフェノール法では生成した化合物は青色に着色し、治療域程度まで検出可能となる。



【操作法】

1. 血清50 μ lをマイクロチューブ（1.5ml容量）に採る。
2. 試薬Aを10滴加えて攪拌する。
3. 3,000rpmで2分間、遠心分離する。
4. 上清を新しいネジ付き試験管に採る。
5. 100 $^{\circ}$ Cで10分間加熱する。
6. 放冷後、試薬Bを10滴加えて攪拌する。
7. 反応液の色を観察する。陽性の場合、淡青色～濃青色を呈する。

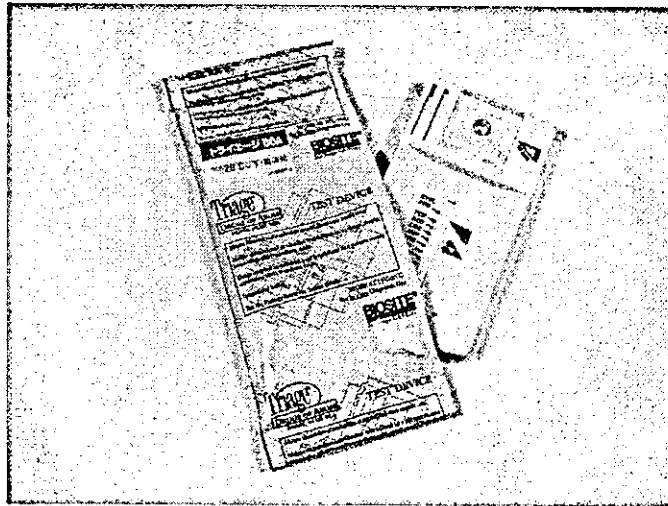
【注意点】

- 1) 検出下限は20 μ g/mlである。

9) ベンゾジアゼピン類、バルビツール酸類、メタンフェタミン、三環系抗うつ薬類

メタンフェタミンや三環系抗うつ薬類などの法規制薬物を個々に検査するには、表に示した呈色反応やイムノアッセイ法を利用した簡易検査キットが利用できる。海外では多種類の検査キットが販売されているが、輸入規制等の影響で国内では数えるほどしか販売されていない。

その中で尿中乱用薬物検査キットの Tirage® DOA (トライエージ) は、フェンシクリジン(PCP)、ベンゾジアゼピン類(BZO)、コカイン類(COC)、アンフェタミン類(AMP)、大麻類(THC)、オピエート類(OPI)、バルビツール酸類(BAR)、三環系抗うつ薬類(TCA)の8種が一斉に検査できるので、原因不明の意識障害時の検査には有効である。トライエージは金コロイド粒子免疫法に基づくイムノアッセイ法(ASCEND マルチイムノアッセイ法: AMIA)で、化学的に標識した薬物と尿中に存在する薬物との抗体に対する競合反応を利用している。



【操作法】

1. テストデバイスを袋から取り出し、分析試料を取り間違えないように被検体名などを記入する。
2. 反応カップのカバーをはずし、カップ内に白、紫、黄色の3つのビーズがあることを確認する。
3. 専用ピペットで尿140 μ lを反応カップに入れる。
4. 室温で10分間反応させる。
5. 専用ピペットで、反応カップ内の反応液全量を薬物検出領域のマーク位置（CTRL POSとPCPの間）からメンブラン上に移す。
6. 反応液を完全に吸収させる。
7. 洗浄液3滴を薬物検出ゾーンの中央部から滴下する。
8. 洗浄液が完全に浸み込んだ後、薬物検出ゾーンを観察し、CTRL NEGゾーンにバンドがないことを確認する（CTRL NEGゾーンにバンドが認められた場合は、新しいデバイスで再試験する）。
9. CTRL POSゾーンにバンドがあることを確認する（CTRL POSゾーンにバンドが認められない場合は、新しいデバイスで再試験する）。
10. 各薬物検出ゾーンに現れる赤紫色のバンドの有無を5分以内に読みとる。

【注意点】

- 1) 検出下限はフェノバルビタール（バルビツール酸類）0.3 μ g/ml、ジアゼパム（ベンゾジアゼピン類）0.3 μ g/ml、アミトリプチリン（三環系抗うつ薬類）1 μ g/ml、メタンフェタミン 1 μ g/ml である。

10) サリチル酸

サリチル酸は解熱、鎮痛作用の他、抗リウマチ作用や尿結石生成防止作用を有する。その治療効果は血中濃度に依存するが、治療濃度域が狭く、個人によって体内動態が異なるために早くから血中濃度モニタリングが行われてきた。本剤は小児における過剰投与が多い薬剤の一つでもあり、重篤な中毒となる恐れがある。

サリチル酸の特異的な検査法はないが、サリチル酸の分子内に存在するフェノール性の水酸基は、塩化第二鉄と反応して赤褐色になることが知られている。

【操作法】

1. 尿1mlを試験管に採る。
2. 塩化第二鉄水溶液(5%)を10滴加えて攪拌する。
3. 5分間放置した後、3,000rpmで3分間、遠心分離する。
4. 反応液の色を観察する。陽性の場合、赤紫色～青紫色を呈する。

【注意点】

- 1) 検出下限は50 μ g/mlである。
- 2) 時間の経過とともに沈殿が生じるため、遠心分離すると着色の度合いが見やすい。
- 3) トリンダー試薬でも発色できるが、試薬中に水銀を含むので今回は使用しない。

11) ブロムワレリル尿素

ブロムワレリル尿素（プロバリン）は処方箋などの書類が無くても購入可能な睡眠薬であり、自殺目的で大量服用して急性中毒を起こす事例が多い。また、「完全自殺マニュアル」にその利用法が掲載されたことにより、この薬剤を使用した中毒が増加した。ブロムワレリル尿素の特異的な検査法はないが、有機リン系農薬の呈色試薬として利用されている 4-(4-ニトロベンジル)ピリジン（NBP）と反応して色素を形成するため、有機リン系農薬検出キットでも検査可能である。

【操作法】

1. 尿1mlをNBP試薬入り試験管に採り、攪拌する。
2. キャップを緩やかに閉め、100℃で20分間加熱する。
3. 室温まで放冷し、TEP試薬を2滴加えて激しく攪拌する。
4. 抽出溶媒を1ml加え、転倒攪拌後、静置して上層の色を観察する。陽性の場合、上層（抽出溶媒層）は薄ピンク色～赤紫色を呈する。

【注意点】

- 1) 検出下限は10 μ g/mlである。
- 2) 加熱した後に試料を取り出すとき、突沸に注意する。
- 3) 有機リン系農薬でも陽性反応を示すので、コリンエステラーゼ活性阻害などの臨床症状と照らし合わせて判断する。