

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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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。

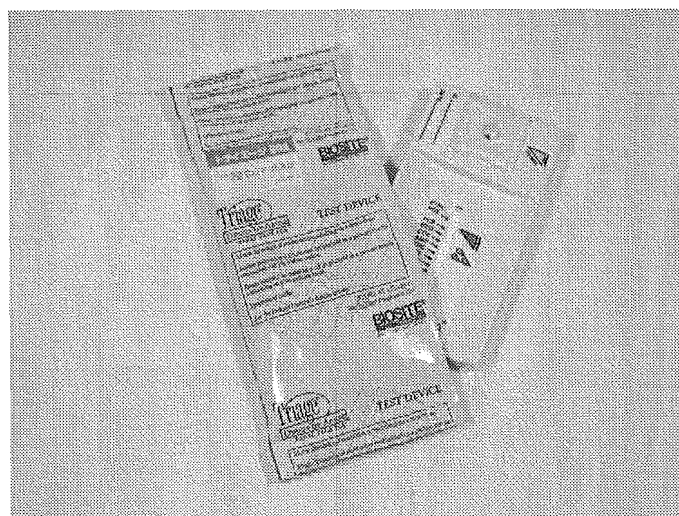
【注意点】

- 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激増した。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。

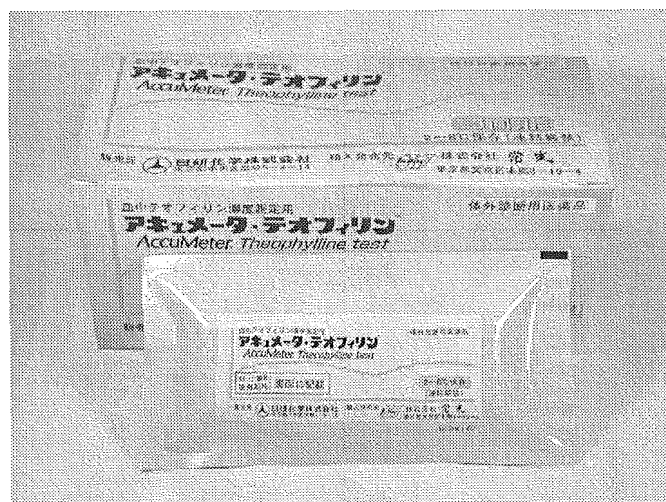
【注意点】

- 1) 検出下限は10μg/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。

12) テオフィリン

テオフィリンは気管支喘息などの気道閉塞障害に対する治療薬として長年汎用されてきた。気管支喘息の治療におけるテオフィリンの有効血中濃度域は狭く、10-20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と言われている。また、体内動態の個体差が大きく、投与量を調整することでの血中濃度調整は困難である。個々の患者に対し、最大限の治療効果を発揮させ、副作用を未然に防ぐ目的で血中濃度モニタリングの対象となっている。

アキュメータ・テオフィリンは酵素免疫クロマトグラフィーを利用して、血中テオフィリン濃度を簡便に測定できる。



【操作法】

1. カセットと換算表のロット番号が一致していることを確認する。
2. カセットおよび発色液を室温に戻し、カセットを袋から取り出す。
3. 血清を検査孔①の黒いラインまで滴下する。
4. 2分間放置する。
5. カセットをやや斜めに持ち、タブをすばやく引く。
6. カセットを持ったまま、バッファージャーチャンバー付近を数回強く叩く。
7. 水平な台上に置く。
8. カセット上部のインジケーターが緑色になったら、発色液をスポイトの目盛りまで吸い取り、全量をスケールの数字の[50]から[10]の方へ滴下する。
9. 発色液を滴下してから4分後に、スケールに出現した紫色のピークの先端の数字を読みとる。
10. 数字を換算表に当てはめ、分析試料中のテオフィリン濃度を算出する。

【注意点】

- 1) 試料にアジ化ナトリウムを添加した場合、測定できない。
- 2) 開封後、5分以内に検査を開始する。
- 3) 新生児血やトリグリセリド値が750mg/dlを超える試料の測定はできない。
- 4) 採血時にはアルコール消毒の消毒液が乾いていることを確認する。
- 5) 全血に限らず、血清や血漿での検査が可能である。
- 6) タブを引くにはかなりの力が必要である。
- 7) 発色液の滴下後、スケールに現れたピーク先端の数字を読むが、色が薄く読み難いことがある。

参考文献

- 吉岡敏治：救急医学，12: 1192-1197, 1988.
- 日本薬学会編：薬毒物化学試験法と注解—第4版—，南山堂，1992.
- AC Moffat, MD Osselton, B Widdop: Clarke's Analysis of Drugs and Poisons (3rd edition), Pharmaceutical Press, London, 2004.
- 鈴木 修，屋敷幹雄編：薬毒物分析実践ハンドブック，(株)じほう，2003.
- 広島大学医学部法医学講座編：薬毒物の簡易検査法—呈色反応を中心として—，(株)じほう，2001.
- 特定非営利活動法人健康危機管理協会 監修：中時治療に役立つ迅速検査法，(株)じほう，2005.
- F Ishizawa, S Misawa: The handy and simple apparatus for the quantitative determination of hydrogen cyanide in blood. Jpn J Legal Med, 41: 88-92, 1987.
- F Ishizawa, S Misawa: Production of paraquat detector tubes. Jpn J Clinical Toxicol, 2: 401-406, 1989.
- A Namera, Y Utsumi, M Yashiki, et al: Direct colorimetric method for determination of organophosphates in human urine. Clin Chim Acta, 291: 9-18, 2000.
- 横山明彦，奈女良 昭，屋敷幹雄、他：アセトアミノフェンの迅速検査キットの開発。中毒研究，16: 323-327, 2003.
- 奈女良 昭，屋敷幹雄，西田まなみ，他：薬毒物検査における乱用薬物検査キット Triage の有用性。Sysmex journal, 26: 11-124, 2004.

薬毒物検査の精度管理

1. 目的

2001年9月、アメリカにおいて民間機を使用した自爆テロが発生し、数千人が犠牲となった。一部には化学兵器を搭載していたとの噂もあり、化学兵器を念頭においたテロ事件を想定する必要がある。化学兵器などの化学物質は、目に見えないために広範囲に拡大し、甚大な被害をもたらす。可及的速やかに原因物質を特定できれば、被害を最小限に留めることができるとともに治療に役立てることが可能である。すでに、高度救命救急センターなど国内の主要な医療施設には分析装置が配備され、各施設独自で中毒原因物質の特定が一部可能となっている。しかし、施設内には薬毒物分析の実務経験者が少なく、薬剤師や臨床検査技師が通常業務との兼任で分析を行っている場合が大半である。ましてや治療方針に対して大きな影響を与える分析の精度管理についての対策もなされていない。急性中毒患者は救急隊の判断で市中の医療機関に搬送されて治療されるが、平等な治療を受ける権利があるにも関わらず、搬送される医療機関の技術レベルや検査精度の格差により、平等な治療を受けることができない可能性がある。これは厚生労働行政上、重大な問題であり、早急に解決すべき課題と考える。

本研究では、国内の薬毒物分析技術を国際レベルに引き上げ、医療の質の向上や医療費削減など厚生労働行政の向上に資することを目的に、各施設における薬毒物分析の実態を把握すると同時に検査精度に対する理解度ならびに取り組みについて調査を行った。本研究の成果によって、全国の主要となる高度救命救急センターなどにおける薬物検査レベルを維持・向上が大いに期待される。

2. 参加者の募集

本研究の参加は、全国の救命救急センター186カ所の施設長と分析担当者宛に行った(資料2-1)。ただし、参加の諾否は各施設の判断に委ねた。同時に広島大学大学院医歯薬学総合研究科法医学で主宰している中毒情報メーリングリスト(ml-poison、ml-anal)でも募集した。

3. 試料の配布

検査は実際の中毒患者の検査試料を分析することに意義があるが、倫理面に問題があることから、薬物を服用していない健常人から得られた尿に薬毒物を添加することとした。検査試料の送付は、締切期限までに参加意思が確認できた施設に冷凍状態で送付した。

4. 送付した血清試料の調製

検査対象となる薬毒物は、日本中毒学会分析委員会が提唱した15品目のなかで、中毒症例の多い薬物ならびに血中濃度の測定が治療に有意義とされるバルビツール酸、有機リン系農薬、アセトアミノフェンを選定した。いずれの化合物も市販の検査キットや呈色反応によって検出可能である。つまり、いずれの薬物も予試験としての簡易検査法が知られている薬物である。

これまで実施してきたトライアルでも触れたように、薬物を服用していない健常人から得られた尿に薬物を人為的に添加することで試料を作成することとした。従って、実際の中毒発生時と

は異なった生化学検査値が得られることの懸念は拭い難い。

市販のヒト血清あるいは薬物を服用していない健康人から得られた尿に各薬毒物の標準品（1mg/ml のメタノール溶液あるいは水溶液）を添加した後、約 3 時間スターラーにて攪拌し、試料送付用のガラスバイアル瓶（6, 20ml 容量）に分注した。試料分注後、速やかに凍結保存した。

【使用した薬毒物標準品】

アセトアミノフェン

フェニトロチオン（MEP、有機リン系農薬）

ペントバルビタール（バルビツール酸）

最終濃度が下記の濃度となるように、血清と尿にバルビツール酸、有機リン系農薬、アセトアミノフェンを添加した。

症例 1

バルビツール酸 5.4 μ g/ml (尿中濃度)

症例 2

フェニトロチオン 18.7 μ g/ml (尿中濃度)

症例 3

アセトアミノフェン 82.4 μ g/ml (血清中濃度)

5. 患者情報の添付

これまでの調査では、検査対象を伏せて医薬品や農薬のように漠然とした情報しか与えなかった。その結果、中毒濃度も考慮せずに、単に検出された化合物（例えばカフェインなど）を列記する傾向が見られた。今回は患者情報を添付し、実際に薬毒物検査が依頼されるケースを想定した。また、情報は、服用が疑われる医薬品名から想定される症例、臨床症状から推察する症例など複数のケースを想定した。

6. 参加の諾否、分析結果の返送

6.1. 参加諾否（全施設対象）

参加諾否の回答は、本企画を説明した資料送付後に FAX、E-mail で行った。締切期日以内に参加諾否の連絡があった施設は、以下の通りである。

諾	86 施設	（救命救急センター以外からの参加	5 施設）
否	36 施設		
無回答	69 施設		

6.2. 分析結果の解析（86 施設対象）

分析結果の返送は、転記漏れを最小限に抑えるために E-mail で行った。E-mail の使用できない施設は、FAX にて行った。分析結果受領後、ファイルメーカーで作成したフォーマットに入力し、検査試料ごとにデータベース化した。

結果の返送あり 76 施設

結果の返送なし 10 施設

他施設の具体的な操作は資料 2-2 にまとめた。単に結果の善し悪しを判断するのではなく、今後の資質向上に他施設の情報が参考になると考える。ただし、施設が特定されることを避けるため、集計上番号の振り直しを行った。

6.2.2. 症例 1・尿について

バルビツール酸類を推定できた施設	66	
ペントバルビタールを同定できた施設	23	(定量まで行った施設 18)
バルビツール酸類を推定できなかった施設	10	

6.2.3. 症例 2・尿について

有機リン系農薬を推定できた施設	63	
フェニトロチオンを同定できた施設	26	(定量まで行った施設 19)
有機リン系農薬を推定できなかった施設	13	

6.2.4. 症例 3・血清について

アセトアミノフェンを推定できた施設	68	
アセトアミノフェンを同定できた施設	45	(定量)
アセトアミノフェンを推定できなかった施設	8	

今回、患者情報を添付した。添付した患者情報から症例 1 は医薬品、症例 2 は農薬、症例 3 は医薬品（アセトアミノフェン）が予想される。次に市販の検査キットや呈色反応によって、症例 1 はバルビツール酸類（尿中乱用薬物検査キットより）、症例 2 は有機リン系農薬（有機リン系農薬検出キットより）、症例 3 はアセトアミノフェン（アセトアミノフェン検出キットより）が推定されることを期待した。

その結果、症例 1 の尿中バルビツール酸を推定していた施設は 66 施設（結果が返送された施設の 86.8%）、症例 2 の尿中有機リン系農薬を推定していた施設は 63 施設（結果が返送された施設の 82.9%）、症例 3 の血清中アセトアミノフェンを推定していた施設は 68 施設（結果が返送された施設の 89.5%）であった。症例 1 の血清を直接検査し、三環系抗うつ薬を推定する方法がないため、症例 1 の血清中三環系抗うつ薬を推定していた施設は 43 施設（結果が返送された施設の 58.1%）であった。しかし、実務上は、同じ症例での尿から中毒起因物質を推定し、機器を使用

して血清中の中毒起因物質を同定、定量すると考えられるので、仮に症例 1 の血清中毒起因物質が推定できなくても問題ないとする。機器がない施設で、どうしても与えられた検査試料中の中毒起因物質を推定したい場合には、何らかの工夫が必要となる。尿中乱用薬物検査キットを使用して血清を検査している施設が見受けられるが、本キットは尿を検査した場合の結果の保証はあるが、血清などを検査した場合の結果の保証のないことを承知しておく必要がある。

過去の調査結果でも報告したが、依然として定量値の有効数字、前処理や分析精度を吟味している施設は少なく、分析値の扱い方や分析精度についての知識を周知する必要があると考える。広島大学大学院医歯薬学総合研究科法医学主催の分析講習会や日本中毒学会主催の分析講習会などへの積極的な参加の意見がある反面、実務への応用が伴っていない結果となっている。実務に直結させるためにも、それに見合った教育活動の場の提供が急務であるため、次年度には救命救急センターの分析担当者を対象とした実務講習会を企画している。

本結果は薬毒物分析に直接携わっている医師や分析担当者の努力の賜であり、施設全体で薬毒物分析に理解を示している施設が増加している。今後の課題としては、薬毒物分析が金銭的裏付けのない業務である、施設の検査体制のみでなく、資格・肩書きがないため、業務上のメリットがないなど分析担当者自身の意欲にも左右される。また、標準物資が入手できないために同定、定量できないことも大きな問題の一つである。

これらの改善のため、早急なる保険診療への拡大とともに分析技術に対する資格化が望まれるところである。

7. 薬毒物分析例

本調査を実施すると同時に福家千昭（琉球大学大学院医学研究科法医学分野）、斉藤 剛（東海大学医学部専門診療学系救命救急医学）両氏に、今回配布した試料の分析を依頼した。模範的な分析例として示したので、参考にして頂きたい。

(資料 2-1)

送付資料