

### 【ヒ素の分析】

ヒ素中毒の疑いもあるため、念のため蛍光 X 線分析装置で分析を行ったが、検出できなかった。なお、当該機器における検出限界は絶対量として 5 mg であるため、その濃度以下の場合には検出不可能である。そこで、金属に対して有効なライニンシュ(Reinsch)法を行ったところ陽性と判断できただため、ヒ素が含まれている可能性がある。しかし、この Reinsch 法はヒ素、水銀、アンチモンに対しても陽性を示すので断定は難しい。

### 【Reinsch 法】

試料を小さめの三角フラスコに入れ、塩酸で酸性とする。1 辺 1 cm 程度の錆のない銅片をフラスコに入れ、20 分程加熱する。銅片が黒変すればヒ素、水銀、アンチモンが陽性。検出限界は 1 μg である。

### 症例 3

#### サリン代謝物の分析。

抽出方法は Katakaka M (J Chromatogr B 795, 123-132, 2003)らの方法に従って、isopropyl methylphosphonate (IMPA)と methylphosphonate (MPA)の抽出を行った。

#### 【抽出方法】

16. Bond Elut SAX (500 mg/3 ml)をメタノール 2 mL、純水 2 mL、1M フッ化ナトリウム溶液 12 mL、純水 5 mL を順次通して活性化した。
17. 試料 (尿) 0.5 mL をカラムに通した。
18. 純水 3 mL で洗浄した。
19. ネジ付き試験管中に 3%アンモニウムメタノール 5 mL で溶出した。
20. 60°Cの加熱下、窒素気流下で乾固した。
21. BSTFA+1%TMCS 50 μL、アセトニトリル 50 μL を加え、キャップ後に 80°Cで 30 分間加熱して誘導体化した。
22. 冷却後、1 μL を GC-MS 試料とした。

検量線は薬物陰性尿に IMPA と MPA の標準溶液を添加した試料を作り、上記と同様の抽出操作を行い作成した。原著論文における検量線の直線範囲は IMPA 140-5600 ng/ml, MPA 700-5500 ng/ml であったので、この範囲で作成した。

#### 【GC-MS 条件】

Agilent 6890N ガスクロマトグラフ

Agilent 5975B 質量検出器

カラム：HP-5MS (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm film thickness)

注入口温度：250°C

MS イオン源：230°C

MS 四重極温度：150°C

トランスファー温度：280°C

カラム温度：40°C (3 min)→15°C/min→290°C (1 min)

モニタリーイオン

IMPA：m/z 153.1, 195.1 (保持時間 9.163 min)

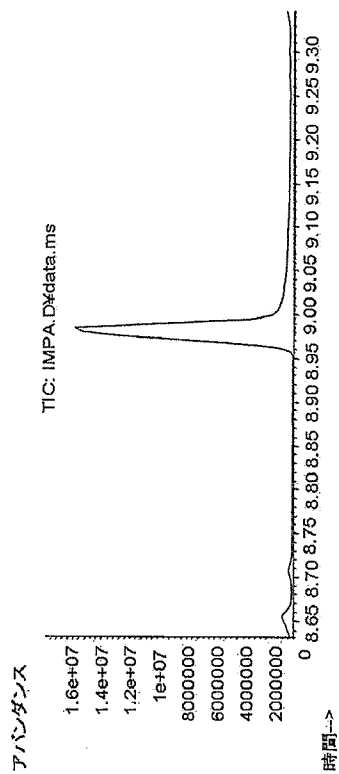
MPA：m/z 225.1, 240.1 (保持時間 9.539 min)

#### 【定量結果】

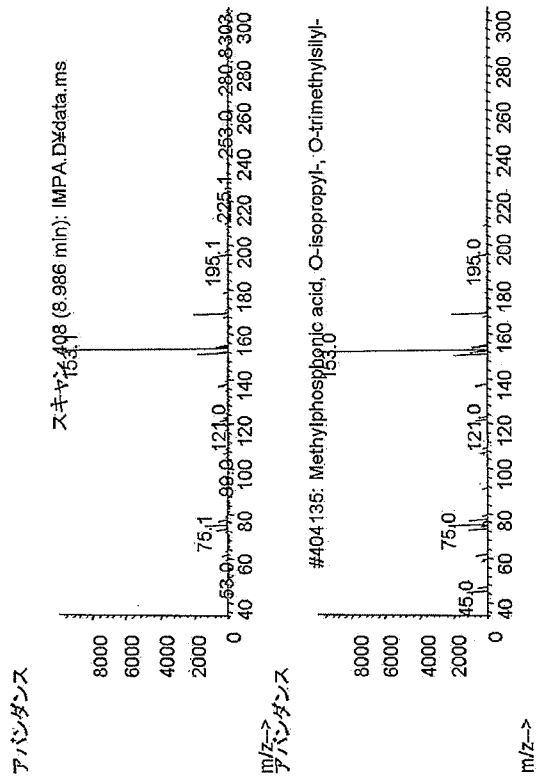
IMPA 3.8 μg/mL

MPA 7.6 μg/mL

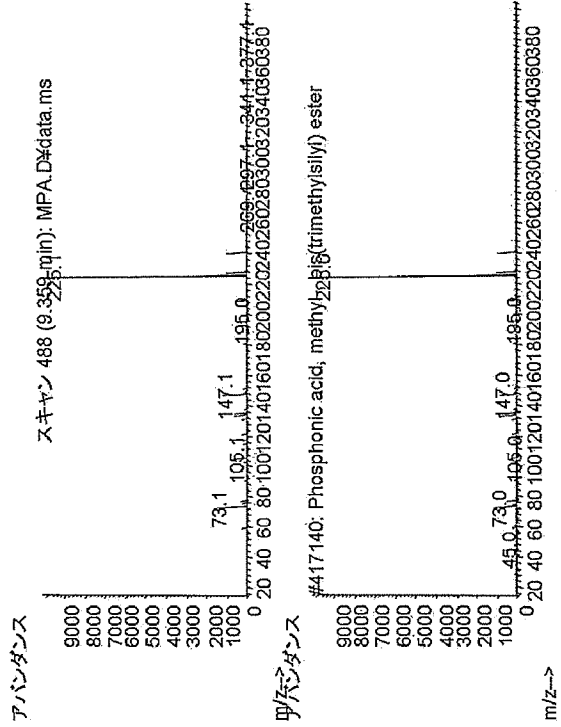
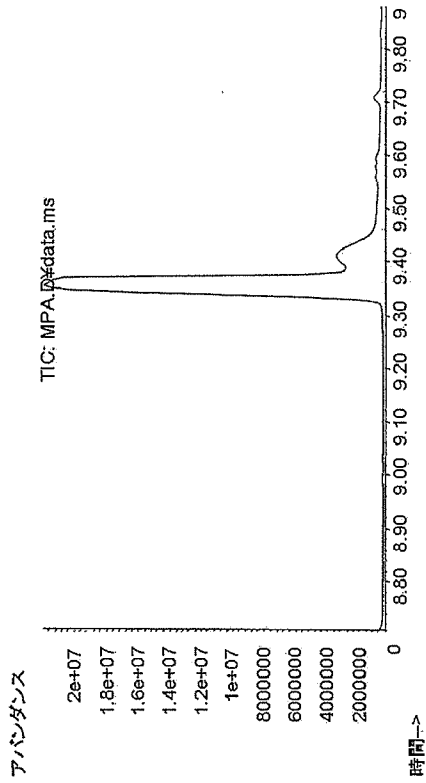
IMPA の TIC



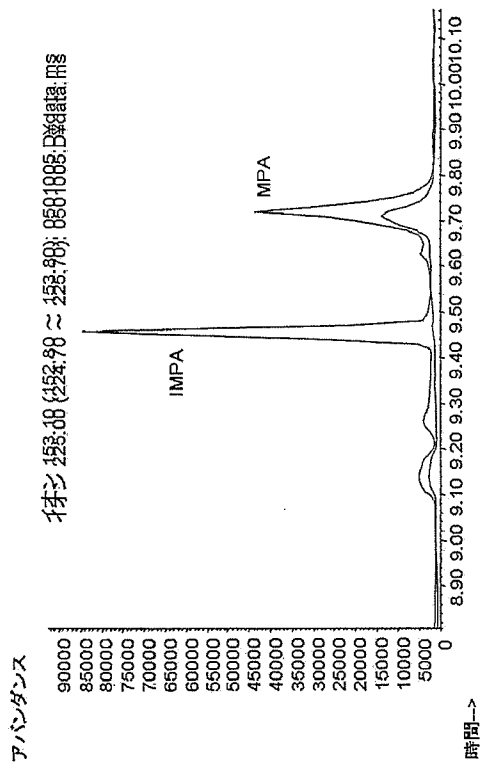
TIC のマスフラグメントとライブラリー検索結果



MPA の TIC



症例 3 の試料を抽出後、誘導体化してSIM分析を行ったクロマト



化学物質特定（分析）法の開発と医療機関における  
原因化学物質の特定に関する分析講習会

平成18年度 薬毒物分析講習会 案内

治療現場における治療に役立つ薬毒物検査の普及を目的とし、今年度も厚生労働省の指導のもとに、全国の救命救急センター200ヵ所に向けて薬毒物検査の精度管理2006（調査）を行うこととなりました。薬毒物により中毒症状を呈した疑似患者の血清および尿試料を配り、検査結果を集計いたしました。

今回、調査に用いた中毒起因物質を検出するために、分析講習会を下記の通り開催致します。

これから薬毒物分析を始めようとしている方、すでに分析を得意としておられる方、いろいろな方に対応できる実習を考えています。万障繰り合わせてご参加くださいますようお願い申し上げます。

記

日 時：平成19年3月9日（金）12:00～18:30  
10日（土）09:30～17:00

受付開始：9日11:30分より（昼食を済ませてきてください）

場 所：近畿大学医学部専門棟 5階 IT教室  
大阪狭山市大野東377-2（〒589-8511）

定 員：30名

会 費：1万円（懇親会費を含まない）

内 容：第1日目（9日）  
講演 検査の基礎  
迅速検査法  
機器分析法（HPLC法、GC/MS法）  
質疑応答  
精度管理2006の中間報告  
懇親会

第2日目（10日）  
実習 化学剤の分解物（代謝物）の分析（誘導體化、GC/MS使用）  
有機リン系農薬とアセトアミノフェンの分析（HPLC使用）  
迅速検査法（ヒ素、シアン、有機リン系農薬）  
質疑応答  
修了証授与

広島大学医学部法医学講座  
屋敷幹雄  
広島市南区霞一丁目2番3号（〒734-8551）  
TEL:082-257-5171 FAX:082-257-5174  
E-mail:yashiki@hiroshima-u.ac.jp

## 【講習会内容】

3月9日（金）

12:00～12:05

あいさつ

12:05～14:40

講義

1. 検査の基礎
2. 迅速検査法
3. 機器分析法（GC/MS法）

14:40～15:00

休憩

15:00～17:30

4. 機器分析法（HPLC法）
5. 精度管理 2006 について
6. 質疑応答

3月10日（土）

9:30～16:00

実習（検査試料を使用した分析）

16:00～16:30

総合討論

## 薬毒物分析講習会

和歌山での毒入りカレー事件以降、劇毒物の関与する事件・事故が頻発し、治療現場における迅速な劇毒物分析が重要視されています。また、化学物質等による災害対策のマニュアルも整備され、健康危機に関する管理体制も構築されています。しかし、健康危機の発生を迅速に探知し対応するためには、これらの情報を迅速に収集できる体制を平常時から構築するとともに、その発生時の対応について予め定め、対応能力を高める必要があります。また、日頃から、原因究明に用いる科学的分析・調査ならびに緊急時における対応等に関する知識と資質の向上に努めるとともに、健康危機管理に関する知見を有し、その在り方について助言を得ることができる専門家との間の意思疎通等を日頃から図ることが必要であります。その一環として、広島大学大学院医歯薬学総合研究科法医学では、1999年より厚生労働省の指導のもと、救命救急センター等における毒劇物分析状況について継続的に調査を行っております。

2006年度も厚生労働科学研究費補助金（医療安全・医療技術評価総合研究事業）の支援により、毒劇物分析の実態調査を行いました。さらなる技術向上を目指し、講習会を企画しました。全く初歩的なことから機器による分析についての講義と実習、また、参加者同士の交流を密にすることを目的とします。

2007年3月9日

広島大学 屋敷幹雄

## 検査(分析)の基礎

—なぜ検査をするのか、検査試料の採り方、保存方法、定量—

琉球大学医学部法医学分野 福家千昭

### 1. なぜ検査をするのか？

下記の事例を例にとりて、なぜ検査をする必要があるかを考えていただきたい。

40歳、男性、職業：大工、自殺企图歴あり。意識障害と代謝性アシドーシス、アニオンギャップおよび浸透圧ギャップの増大で来院。大酒家のため原因をエタノールによるものと考え補液、ピタミンB1 補給などの治療を実施。改善がみられなかったため、シンナー中毒もしくは服薬を考え血液透析を実施。8 病日後に、視力低下を認めたためメタノール中毒が濃厚ということで、エタノールとメタノールの分析を依頼してきた。検査の結果、高濃度のメタノールが入院時血清から検出された。自殺目的で燃料用メタノールを服用したとのことである。予後は生存、失明。

## 検査の基礎

### 2. 検査試料の採り方・保管・輸送

- 1) 中毒起因物質分析用試料：吐瀉物、胃内容物、胃洗液、血液、尿
- 2) 試料の量：胃内容物・尿 10 mL、血清 3 mL (二等分して凍結保存)
- 3) 保存容器：ネジロのガラス製容器 (バイアル、試験管など) → 適  
ポリプロピレン樹脂製やポリエチレン樹脂製容器 → やや適  
アクリル樹脂製やポリスチレン樹脂製容器 → 不適
- 4) 保存温度：-20 ℃ (家庭用冷蔵庫の冷凍室程度の温度)
- 5) 試料の輸送：冷凍便：外箱は発泡スチロールの容器 → 不可  
ダンボール箱のような断熱性のないもの → 可

### 3. 試料に添付したい患者情報

- 1) 中毒起因物質に関する情報
- 2) 患者の症状・様態・臭気、附着物の色や臭い
- 3) 現病歴や処方薬
- 4) 治療薬



5) 基本情報：患者の性別、年齢、体重、体高、試料の種類、試料採取時刻、推定採取時刻、推定採取量

4. 定量することの意味

1) 中毒起因物質の確定

2) 治療方針の決定・予後の予想

3) 今後の薬毒物中毒への資料

5. 要望

中毒症例はどのような形でも良いので、定量値を付けて公表する。

6. 文献

1) 福家千昭, 奈女良 昭, 福本真理子他：分析委員会だより—その4—定量するための試料の採り

方・尿管・輸送・試料に添付したい患者情報, 定量することの意味, 中毒研究 2006; 19: 169-172.

2) 法医中毒学ワーキンググループ：総論, 薬毒物検査マニュアル1999年, 日本法医学会, 1999,

pp 1-7.

3) 鈴木 修：検査試料の取り扱い, 鈴木 修, 屋敷幹雄編, 薬毒物分析実践ハンドブック, じほう,

東京, 2002, pp 3-7.

## 迅速検査法について

### 1. はじめに

我々の身の回りに、何百万もの化学物質が存在しているが、全てが有用なものとは限らず、安全と考えられていたものでも使用法や使用量によっては有害なものとなる。例えば、アセトアミノフェンは解熱鎮痛作用を示し、風邪症状を抑えるには有用な化学物質であるが、多量に服用すると肝臓に悪影響を及ぼし、肝障害を引き起こす。また、農薬は害虫や雑草を駆除するには有用であるが、ヒトが誤って摂取するとヒトに対しても神経毒性などの悪影響を及ぼし、死に至らしめることもある。このように、化学物質は我々が快適に生活する上で不可欠なものとなったが、健康を害することも少なからずあり、諸刃の剣である。現に、我が国で医療機関を受診する化学物質による中毒患者は、年間数十万人発生しており、一次救急患者の1~2%を占めている。このうち5万人程度が入院加療しており、救命救急センターでの収容数の4~8%にも達している。さらに、中毒死亡例は全国で年間数千人と把握されている。

これらの化学物質によるリスクをゼロにすることは困難であるが、科学的知見にもとづきリスクを最小限に抑えて共存していく方法を工夫することが不可欠である。化学物質による中毒事故は一刻を争う人命に係わる問題であり、治療にあたっては刻一刻と変化化する状況を的確に判断し迅速に対応しなければならぬ。いかなる化学物質（起因物質）が関与しているかが判明すれば、拮抗剤を使った積極的な治療を行うのか、経過観察でよいのかなどの治療方針を立てるうえで参考となる。この起因物質の推定を患者搬入時に行えば、患者の救済や治療に貢献できると考える。特に、原因がわからない中毒の場合、化学物質が関与しているのか、細菌が関与しているかなど何が原因で中毒を起しているかを推定できれば、その後の治療方針を大きく左右するだけでなく、治療を施す医師や看護師自らを防護する方策（二次災害の防止策）を講じるための情報となり得る。

この起因物質を推定するには、古くから利用されている化学反応<sup>2,3)</sup>や、あるいは最新のガスクロマトグラフや高速液体クロマトグラフなどの高精度の分析機器を使用する<sup>4)</sup>。機器分析は確実な結果が得られる反面、操作が煩雑であることや結果を得るまでに時間を要することなどが要因で、救急医療現場での利用は敬遠されている。そこで、ベッドサイドで検査できる簡便で迅速な方法（Point of Care Test: POCT）が要求されている。病原性大腸菌O-157やインフルエンザウイルス、ノロウイルスなどの細菌やウイルスを検査する迅速検査法（キット）は、事件の発生とともに数多く開発されているが、生体試料中のヒ素などを検査するキットは、社会的に大きな影響があったにも関わらず開発されていない。特に、尿や血液など生体試料中の起因物質を検査するキットは数少ない。その用途が特殊であることも指摘されるが、医療検査技師

に限らず医師自らが検査できるような方法を開発し、安価で迅速な検査法となれば、直接治療に貢献できなくとも医療現場での二次災害予防の手法となることが期待される。

以下に迅速検査法で何が分かるか、について触れるとともに、日本中毒学会（分析のあり方検討委員会）が提唱した、分析結果が治療に役立つ15種類の起因物質の迅速検査法について紹介する。

### 2. 迅速検査法で何が分かるか

検査対象となり得る起因物質は何万種類と数限りなく存在し、分析機器が高性能になったからといって、“下手な鉄砲も数撃てば当たる”とはいかない。検査したい起因物質を絞り込み、その物質に適した前処理、分析機器の選択、分析条件の設定を行わなければ正確な結果は得られない。適した条件で分析しなかったが故に結果の解釈を困難にしたり、誤った起因物質を同定したり、起因物質が不明のままになる危険性もある。思いこみや中途半端な方法で分析するのであれば、むしろ機器分析を行わない方がよい場合もある。生体試料中の微量起因物質を分析するには、生体試料中の妨害成分を取り除き、微量の起因物質を濃縮する前処理が必要である。医療分野では、“アセトトリルによる除タンパク”や“固相抽出による精製、濃縮”が前処理として浸透しているようである。検出できた起因物質が使用した前処理法で精製、濃縮できるのか、分析条件で検出できるのか、などを考慮せずに、機器分析した結果、起因物質が出てきたから良いのではないか、ではあまりにもお粗末である。その結果、ある薬物が検出できたとしても、信頼できる結果であるかは些か疑問である。この過程が受け入れられるのであれば、検査に携わる者の存在価値はなくなる。検査すべき薬物に適用した前処理を行い、分析機器を選択し、最適な条件で得られた結果であれば信頼のおけるデータであろう。また、これを的確に判断し、サポートすることが分析に携わる者の役割と考える。

信頼のおけるデータを得るには検査したい薬物を推定する必要がある。推定するのに時間を要しては、本末転倒になるので、簡便で早く結果の分かる検査法が必要となる。そこで、迅速検査法が有用となる。水質汚濁防止法、大気汚染防止法、労働安全衛生法など、法的に基準が規制されている化学物質であれば、スクリーニング可能な検査キットが開発される。しかし、法的な基準の定められていない医療分野では、スクリーニング可能な検査キットは開発されていない。

日本中毒学会（分析のあり方検討委員会）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、メタンフエタミン、三環系抗うつ薬類、サリチル酸、プロムワレリル

尿茶、テオフィリン：順不同）が提唱された。この 15 種類の毒物を絞り込むのに応用できる迅速検査法を紹介する。なお、本紙面上では限りがあるため、詳細な操作方法などは成書<sup>5,6)</sup>を参考にしたい。

#### 1) 青酸

青酸の検査にはピリジン・ヒラゾロン法、シェーンバイン・パーゲンシュテッヘル法、ロダン反応など多数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ニデンテストワコーが利用できる。

北川式ガス検知管（血中シアニ化水素）は血液中シアンを検出するものである<sup>7)</sup>。分離管に注入された血液からシアニ化水素を分離し、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 0.5ml 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 2.4 μg/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。

シアニデンテストワコーは排水中遊離シアンおよび空気中シアニ化水素ガスを検出できるように試験し、前処理剤、発色試液、中和剤および試験管をセットにしたものである。塩酸・トリジンが銅イオン共存の条件下でシアニ化水素と反応して青色になることを利用したものである。試料中シアン濃度と試験紙の変色具合に相関関係があり、1 μg/ml まで半定量が可能である。本キットを胃内容物や血中のシアン検査に応用した例もある。

#### 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シユ法やジエチルジチオオカルバミン酸法、グツ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。メルコクアントヒ素イオンテストはグツ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（アールシン、AsH<sub>3</sub>）が発生する。これが試験紙の反応部分に含まれていて臭化水銀（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 80 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 0.5～1.0 μg/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。

#### 3) パラコート

パラコートはアルカリ水溶液中でハイドロサルファイトなどで還元を受けて青色と青色に変化する（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ハイ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、ハイ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<sup>8)</sup>。使用前に開封するため、ハイドロサルファイトの空気酸化による劣化の恐れがない。

#### 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、その後、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、自動分析器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<sup>9)</sup>。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。

#### 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、AgriScreen 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。AgriScreen 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。

#### 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 (osmolar 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  $20 \mu\text{g/ml}$  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での分析が必要となる。

#### 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ンニンは、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ンニ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、排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*-アミノアフェノールとし、生成した *o*-アミノア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、治療程度まで検出可能となる<sup>10)</sup>。

#### 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 Triage<sup>®</sup> 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)、オピオイド類(OP)、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。トリア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。

#### 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。

#### 11) プロムフレリル尿素

プロムフレリル尿素 (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。プロムフレリル尿薬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。

#### 12) テオファイリン

テオファイ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。気管支喘息の治療時におけるテオフィリンの有効血中濃度域は狭く(10-20  $\mu\text{g/ml}$ )、体内動態の個体差が大きく、投与量を調整することで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。

アキユメータ・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。

### 3. 迅速検査法の危険性

迅速検査法は有用であるが、各検査法を良く理解し、正しく評価できるような方法、つまり品質が保証された手順で実施する必要がある。しかし、試薬の劣化や操作法の誤りによる結果の誤判定を避けるため、必ず検査試料と同時に陽性コントロール(PC)と陰性コントロール(NC)の検査が望まれる。PC結果により、試薬の劣化や操作の誤りを検証でき、各検査法の品質保証が確認でき、NC結果により、擬陽性の可能性が確認できる。

これまで迅速検査法の有用性について触れてきたが、迅速検査法を過信してはならない。迅速検査法で陽性になったのであるから、当然、検査試料中に起因为物質が存在すると決めつける人が多い。また、一つ検出されれば他の起因为物質を疑わない人も多い。常に、偽陽性や偽陰性の疑い(迅速検査法の危険性)、複数の起因为物質が存在する可能性を考慮し、医療症状などと付き合わせて結果の判断を行う必要がある。高感度な検査法を要求すればばばほど、偽陽性の危険性は増してくる。一刻も早く結果を出す必要があることは認めるが、可能な限りの情報を集約し、総合的に判断していくシステムが望まれる。

迅速検査法の危険性ではないが、迅速検査法と機器分析法の結果が一致しないため、偽陽性や偽陰性を指摘されることがある<sup>11)</sup>。特に、トライエージでBZO陽性になったが、GC/MSで分析しても何も検出できない、との指摘が多い。BZOは代謝され、抱合体となって尿中に排泄されることはよく知られている。しかし、抱合体のままGC/MSで分析しても検出できず、加水分解して誘導体化した後でない<sup>12)</sup>GC/MSで検出できないことを知らない研究者が多い。単に指示された検査のみを行うのではなく、得られた結果を的確に判断し、影ながらではあるが患者救命をサポートすることが分析に携わる者の大きな役割と考える。

検査法の進歩は著しく、新しい検査法の開発や検査キットの導入が行われている。専門分野にとらわれず、幅広く新しい情報を入力する努力が必要である。冒頭でも触れたが、中毒起因为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。ここでは、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たが、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、必要である検査や求められている検査を選択して検査体制を構築していくべきであると考え。

### 4. 参考文献

1. 吉岡敏治：救急医学，12: 1192-1197, 1988.
2. 日本薬学会編：薬毒物化学試験法と注解 第4版一，南山堂，1992.
3. AC Moffat, MD Osselton, B Widdop: Clarke's Analysis of Drugs and Poisons (3rd edition), Pharmaceutical Press, London, 2004.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. F. Ishizawa, S Misawa: Production of paraquat detector tubes. Jpn J Clinical Toxicol, 2: 401-406, 1989.
9. 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.
10. 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, 2008.
11. 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.

## 簡易検査法による青酸分析

—北川式ガス検知管による血中シアンの検出—

### 1. はじめに

青酸化合物、特にそのアルカリ塩は電気メッキ、冶金、写真、金属製品加工、化学工業上広く用いられる関係上、入手しやすく、猛毒であるため、自殺や他殺の目的で使用されることが多い。中毒量と致死量とが極めて接近しているため、中毒量として明記されたものは少ない。致死量はシアン化水素として50mg、シアン化カリウムとして200~300mgである。シアン化水素は、セルロイドやタバコの燃焼時にも微量ながら発生し、体内に吸収される。

シアンの推定にはピリジン・ピラソロン法やSchonbein法がある。またキットとして、バックテスト、シアンテストワコーなどが販売されている。これらの検査法では、検査試料を直接検査することと誤反応の危険性が高いため、コーンウエイ微量拡散器などを使用して検査試料中のシアンを精製する必要がある。コーンウエイ微量拡散器を使用するシアンの精製には1~2時間を要し、現場検査での対応は困難である。

### 2. 原理

北川式ガス検知管本は、血液中のシアンを検出する検知管である。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のシアンを検出するものである。検知管の変色域(長さ)は、血液中のシアン濃度と相関性があることから、定量することも可能である。

### 3. 使用器具

- 血中シアン化水素検知管 (290CN)
- ガス採取器 (AP-20)
- 注射器 (ツベルクリン用)
- 注射針

### 4. 操作手順

1. 検知管と分離管、それぞれの両端をカットする(図①)。
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(図②)。矢印の方向に充分注意する。
3. 検知管の矢印の方向をガス採取器の方へ向け、検知管をガス採取器の検知管取付口に接続する(図③)。
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(図④)。
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(図⑤)。
8. 3分間放置し、検知剤の色の変化(赤色に変化する)でシアンの有無を推定する。

### 5. 注意点

- 1) 分離管と検知管を付属のゴム管で接続する際、矢印の方向に充分注意する。
- 2) ガス採取器は、吸引速度調整板を使用する。
- 3) 検出下限は2 $\mu$ g/mlである。
- 4) 検知管および分離管の両端をカットする場合、ガラスの先端や破片などで怪我をしないように注意する。
- 5) 検知管と分離管をゴム管で接続する場合も手に刺さらないように十分注意する。
- 6) ガス採取器から検知管をはずす時、ガス採取器の接続部分を破損しないように、ねじらずにまっすぐ引いて取り外す。

### 6. 参考

- F. Ishizawa, S. Misawa: Jpn. J. Legal Med., 41, 88-92, 1987.
- 内海兆郎、奈女良 昭、屋敷幹雄、大谷美奈子、小嶋 亨: 救急医学, 23, 1663-1668, 1989.
- 広島大学医学部法医学編: 毒物の簡易検査法—呈色反応を中心として—, じほう, 2001.

# 簡易検査法による青酸分析

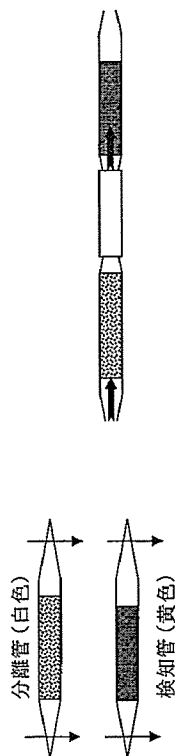
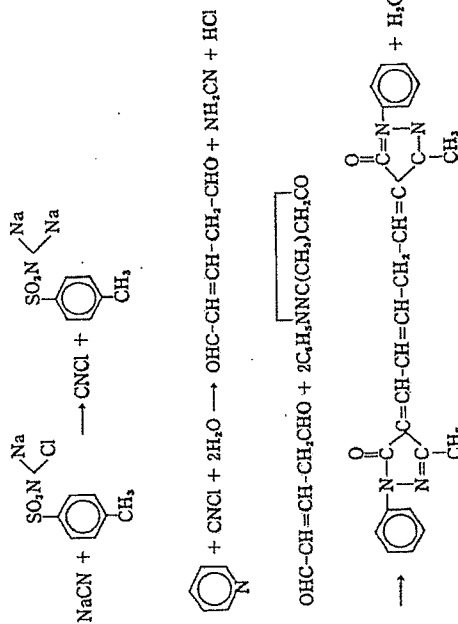
—微量拡散—ピリジン・ピラソロン法による血中シアンの検出—

## 1. はじめに

直接尿や血液を検査できる薬毒物もあるが、尿や血液中成分が妨害するために、検査前に精製する必要のある薬毒物がほとんどである。青酸は、 $pK_a$  (HCNの $pK_a$ は9.3)より低いpH状態では水酸化体として存在し、揮発性を有する。この性質を利用して尿や血液中の青酸を精製することが可能である。コーンウェイ微量拡散器を使用してシアンの精製には室温で1~2時間を要し、現場検査での対応は困難であるとされている。緊急の場合には、37℃で加温する報告もあるが、血液試料について検討した結果、50℃で30分間加温することで精製可能であることが判明した。

## 2. 原理

ピリジン・ピラソロン法は、Konig反応に基づく比色法であり、CN<sup>-</sup>に特異的な方法である。しかし、青酸の代謝物であるチオシアン酸(SCN<sup>-</sup>)とも反応するため、注意を要する。

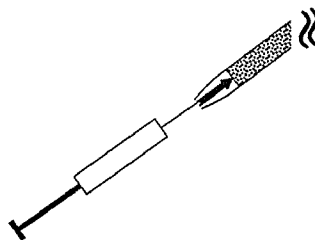


図① 分離管と検知管の両端をカット

図② 分離管と検知管をテフロン管で接続



図③ ガス採取器に接続 (矢印の方向に十分注意)



図④ 分離管に試料を注入



図⑤ ガス採取器のシヤフトを一気に引く

(日本薬学会編：薬毒物化学試験法と注解 (南山堂) より引用)

### 3. 使用器具

- コーンウエイ微量拡散器
- ビベット
- 恒温槽 (50°C)
- グリセリン
- 試験管
- 試験管立て
- ビベット (試薬用)

### 4. 試薬と調整法

- 吸収液 : 水酸化ナトリウム 0.4g を蒸留水に溶かして 100ml とする。(水酸化ナトリウム溶液 (0.1M))
- 硫酸 (10%) : 蒸留水約 70ml に濃硫酸 5.7ml を注意しながら加え、冷後、100ml とする。
- クロラミン T 溶液 : クロラミン T (N-クロロ-p-トルエンホルホンアミドナトリウム三水和物) 25mg を蒸留水に溶かして 100ml とする。
- リン酸溶液 (1M) : リン酸二水素ナトリウム ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 15.6g を蒸留水に溶かして 100ml とする。
- クロラミン T 試液 : クロラミン T 溶液 5ml とリン酸溶液 (1M) 15ml を混和する。
- ピリジン・ピラゾロン試液 : 1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン 0.04g を蒸留水 100ml に溶かし、これにピス (1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン) 20mg をピリジン 20ml に溶かしたものを加える。

### 5. 操作手順

1. 血液 0.2g に水 0.8ml を加え、攪拌する。
  2. コーンウエイ微量拡散器の内室に吸収液 1ml を入れる (図①)。
  3. 外室の片側に血液試料全量を入れる (図②)。
  4. 外室の試料の反対側に硫酸 (10%) 1ml を入れる (図③)。
  5. グリセリンを塗布した蓋で密閉する (図④)。
  6. ストッパーで止めた後、外室の試料と硫酸を混和する (図④)。
  7. 50°C で 30 分間、放置する。
  8. 内室の溶液全量を試験管に採り、氷冷する (図⑤)。
  9. 予め氷冷しておいたクロラミン T 試液 0.2ml を添加し、2~3 分間氷冷する (図⑥)。
  10. この混液にピリジン・ピラゾロン試液 3ml を加える (図⑥)。
  11. 室温で 1 時間放置する。
  12. 発色液の波長 630nm における吸光度を測定する。
- ### 6. 注意点
- 1) 外室と内室の液が混じらないようにする。特に、外室に入れた試料と硫酸を混和する際に注意を要する。
  - 2) 蓋をする前に外室に入れた試料と硫酸を接触させない。
  - 3) 通常は、室温で 1 時間放置してシアナイオンを吸収液に移行させる。
  - 4) 発色初期はピンク色となるが、やがて退色する。その後青色を呈し、1~2 時間後に最大となる。
- ### 7. 参考
- 福井巴芳、他著：裁判化学、広川書店、1973。
  - 日本薬学会編：薬毒物試験法と注解 2006—分析・毒性・対処法—、東京化学同人、2006。



## 簡易検査法によるヒ素分析

### 1. はじめに

近年、ヒ素による急性中毒事故は少なくなかったが、ヒ酸、亜ヒ酸銅、ヒ酸銅、ヒ酸鉛、ヒ酸石灰等による急性または亜急性中毒が時々問題となる。また、ヒ素化合物に汚染された食品の長期摂取による慢性中毒も見逃すことはできない。

ヒ素はタンパクの SH 基と結合することにより、解糖系の諸酵素だけでなく、アミノ酸化酵素やモノアミン酸化酵素などの活性を阻害する。

5 価のヒ素化合物は毒性が低く、3 価のヒ素化合物 ( $-As=0$ ) が最も毒性が高くなる。亜ヒ酸の中毒量は、5~50mg、致死量は、100~300mg とされている。このヒ素化合物はアダムサイトやルイサイトののような毒ガスと使用されていたこともあるが、サルバールサンのように梅毒の特効薬として使用されたものもある。

現在、日本でも殺虫剤や防腐剤として使用されているが、ヒ素中毒は、農薬の製造過程での職業病として見られることが多かったが、まれに自殺に用いられることもある。

### 2. 原理

ヒ素は、酸性条件下で加熱することによって銅に付着する。また、加熱することとで気体となる (昇華) 性質を持っている。本検査では、試料中のヒ素を銅板に付着させて生体成分から分離する。さらに銅板のヒ素を昇華させて再度分離する。再分離したヒ素を塩酸で溶解させてキットの検査試料とする。キット付属の試薬を加えることでヒ化水素 (アルシン、 $AsH_3$ ) が生成する。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。

### 3. 使用器具

- Merckoquant<sup>®</sup> arsenic test
- カッター
- 試験管立て
- はさみ
- マイクロピペット (5ml)
- 平底試験管 (30ml 容量)
- チョップ (5ml 用)
- スポイト (Reagent 2 用)
- コルク栓

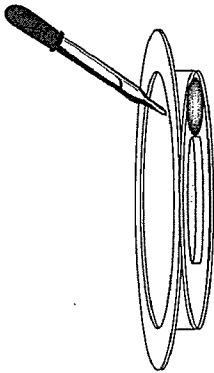


図 2 外室の一方に血液試料を入れる

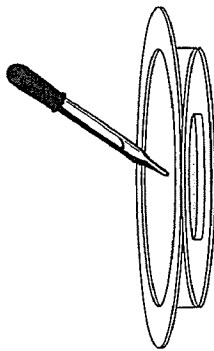


図 1 コーヴウェイ微量拡散器の内室に吸収液 1ml を入れる



図 4 グリセリンを塗布した蓋で密閉し血液試料と硫酸を混和する

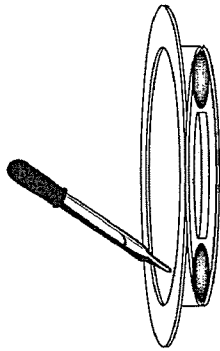


図 3 外室の他方に硫酸 1ml を入れる

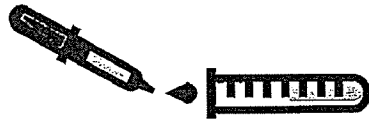


図 6 クロラミン T 試液、ピリジン、ピラゾロン試液を加えて発色させる

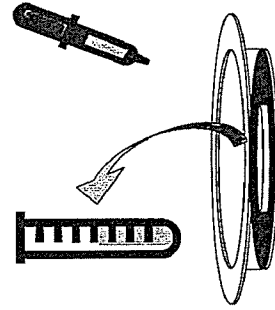


図 5 内室の溶液全量を試験管に採る

#### 4. 操作手順

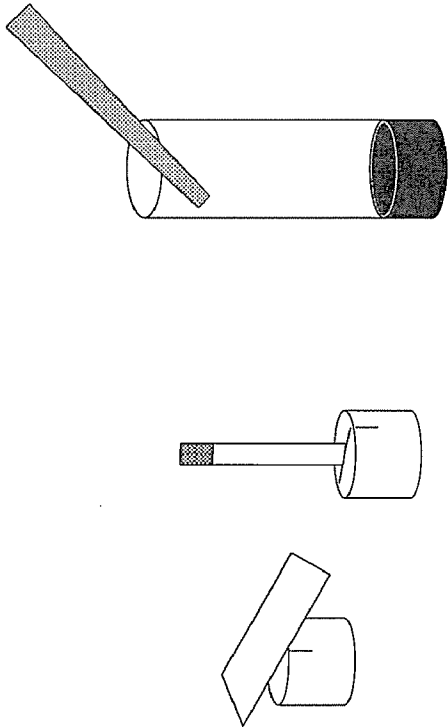
1. 試験紙を半分に切る（濾紙状試験紙の付いた方を使用）。
2. カッターでコルク栓に切れ目を入れ、試験紙を切れ目に差し込む（図①）。
3. 検査試料 5ml (5ml/マイクロピペット) を平底試験管 (30ml 容量) に入れる（図②）。
4. 付属のスプーンで Reagent 1 を 1 杯加える（図③）。
5. 平底試験管に Reagent 2 を 10 滴加える（スポイト）（図④）。
6. 速やかに平底試験管に蓋をして、10 分間放置する（図⑤）。途中静かに 2～3 回振り混ぜる。
7. 試験紙を取り出して、蒸留水をつけ、色調を陰性および陽性試料の結果と比較する。試験紙の変色域が淡黄色～茶色に変化する。

#### 5. 注意点

- 1) 検出下限は 0.5 $\mu$ g/ml である
- 2) 健康人でも試験紙がわずかに変色する場合がありますので、必ず陰性試料（ヒ素無添加）と陽性試料（ヒ素添加）を同時に検査し、検査試料と比較する。
- 3) 濃塩酸（Reagent 2）を使用するので、手や着衣に着かないように十分注意する。
- 4) 検査キットには、検査用の試験管が 1 本しか入っていない。複数の検査を同時に行うには、平底の試験管とコルク栓を使用すると安価である。
- 5) 平底の試験管などの硬質ガラスを使用する際には、コルク栓を強く差し込むと破損する危険性があるため、試験管内の気相が逃げない程度の気密性が保たれておけば問題ない。
- 6) 検査試薬を入れた後、攪拌しすぎると泡が発生し、検査紙に触れる恐れがある。
- 7) 同封のカラーチャートは水分析の際の判定基準であるため、生体試料の判定基準には使用しない。
- 8) 10 分以上放置すると、正常人でも着色してくることがある。

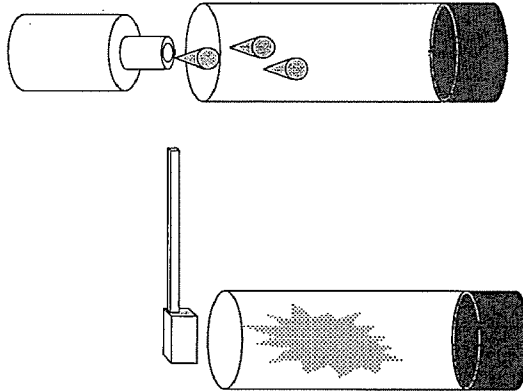
#### 6. 参考

- ・ 奈女良 昭、西田まなみ、屋敷幹雄、他著：中毒治療に役立つ迅速検査法、じほう、2005。

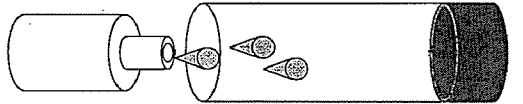


図① コルク栓にカッターで切れ目を入れ  
試験紙を挿む

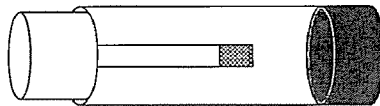
図② 試料 5ml を試験管に入れる



図③ Reagent 1 を  
一杯加える



図④ Reagent 2 を  
10 滴加える



図⑤ 蓋をして  
10 分間放置する

## 簡易検査法による有機リン系農薬分析

### 1. はじめに

有機リン系農薬は、ドイツのバイエル社によって1940年前後に開発された。元来、サリンなどの神経ガスの研究から発展したものであって、パラチオンなどの初期の製品は、殺虫力が強力であるのと同時に、人に対しての毒性が極めて高いものであった。その後、各国で低毒性化の研究開発が行われ、選択性の高い、低毒性の化合物が登場した。有機リン系農薬は、典型的な酵素毒であり、体内のコリンエステラーゼとの間に共有結合を作り、その活性を特異的かつ不可逆的に阻害し、体内にアセチルコリンの蓄積をもたらす。その結果として、コリン作動性の症状が現れる。有機リンの分析には、コリンエステラーゼ活性試験、DTNB法、Hestrin法があり、さらには薄層クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを用いるが、検査試料から有機リンを精製する必要があり、救急医療の現場で行うには手間を要するため、現状では、患者の症状とコリンエステラーゼ活性値から有機リン中毒を十分に推定できている。しかし、有機リン系農薬と同様にコリンエステラーゼの活性を阻害するものにカバメート系農薬がある。カバメート系農薬の治療には、有機リン系農薬の拮抗薬であるPAMは効果的でないため、いずれの農薬による中毒であるかが判明すれば、PAMの使用に参考データが提示できる。

### 2. 原理

4-(4-ニトロベンジル)ピリジン (NBP) は、薄層クロマトグラフィーでの有機リン系農薬の呈色試薬として利用されている。本キットは、水溶液の状態では有機リン系農薬とNBPとが反応し、検査試料中に含まれている有機リン系農薬を検出できるように改良したものである。検査試料中に有機リン系農薬が含まれていると、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。

### 3. 使用器具

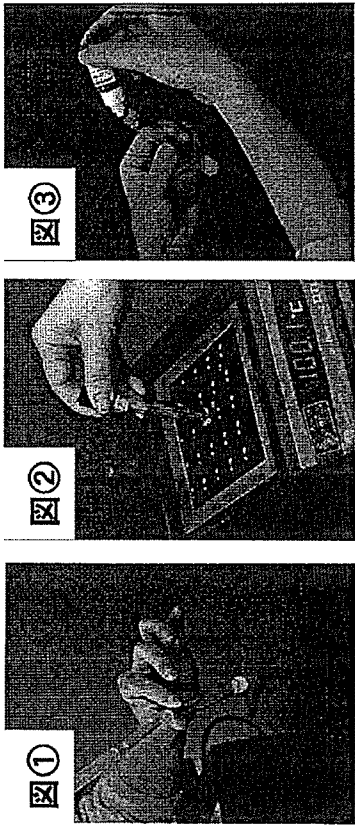
- 有機リン系農薬検出キット
- アルミブロック恒温槽
- 試験管立て
- マイクロピペット (1ml)
- 駒込ピペット用ゴムキャップ
- チップ (1ml用)

### 4. 操作法

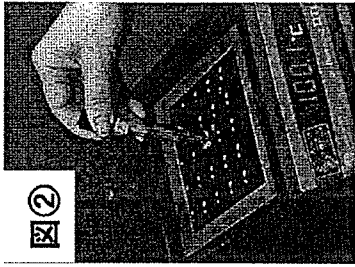
1. 尿1ml (1ml/マイクログロピベット) をNBP試薬入り試験管に採り、攪拌する (図①)。
2. キャップを閉め、尿を入れた試験管を100℃で10分間加温する (アルミブロック恒温槽) (図②)。
3. 室温まで放冷し、TEP試薬を2滴加えて激しく攪拌する (図③)。
4. 抽出溶媒を1ml (1ml/駒込ピベット) 加える (図④)。
5. 転倒攪拌後、静置して上層の色を観察する (図⑤)。
6. 陽性の場合、上層 (抽出溶媒層) は薄ピンク色～赤紫色を呈する。

### 5. 注意事項

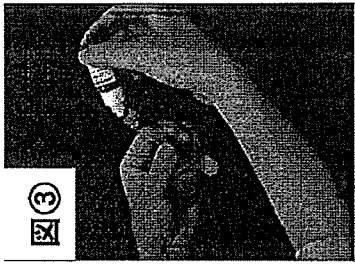
- 1) 検出下限はマラチオン10µg/ml、プロムワレリル尿素10µg/mlである。詳細は取り扱い説明書を参照のこと。
- 2) アルミブロック恒温槽から試料を取り出すときは、突沸に注意する。
- 3) 検査試料や試薬の入った試験管を上から覗き込まないこと。
- 4) 定量しない場合には、必ずしもマイクログロピベットで試料を採取しなくても良い。駒込ピベットで充分である。
- 5) 検査試料を入れても試験管の底にある試薬は完全に溶けないので、そのまま加熱する。
- 6) 電子レンジ (500W) で25秒間程度加熱することで代用することも可能である。また、ガス湯沸かし器の熱湯で加温しても良い。ただし、加熱ムラが出てくるので、事前にチエックしておく必要がある。
- 7) 試験管の放冷は、完全に室温になるまで待つ必要はなく、手で触れる程度まで温度が下がればよい。
- 8) 抽出溶媒は揮発性であるため、反応溶液が熱いと抽出溶媒が一気に気化して反応溶液が試験管より溢れて火傷する危険性があるので、試験管が冷えてから抽出溶媒を入れる。
- 9) 加熱が不十分の場合、抽出溶媒を入れた後の色の退色が早くなる。
- 10) 予め農薬の種類が判明していれば、分光光度計を使って検量線を作成し、定量することも可能である。しかし、複合剤の場合は種類によって吸光度が異なるので定量できない。



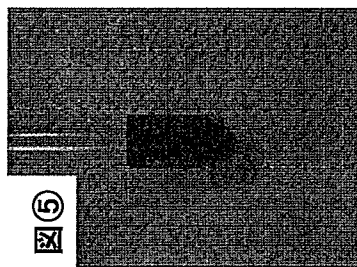
図①



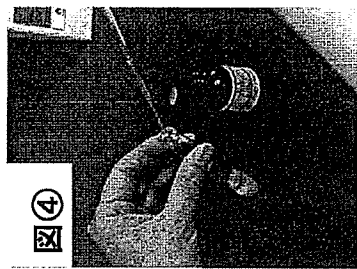
図②



図③



図⑤



図④

機器分析法  
GC/MS 法

6. 参考

- A. Namera, Y. Utshumi, M. Yashiki, et al : Clin. Chim. Acta, 291, 9-18, 2000.
- 奈女良 昭、西田まなみ、屋敷幹雄、他著：中毒治療に役立つ迅速検査法。じほう, 2005.