

## 生体試料中薬毒物の迅速分析システム

内 海 兆 郎

広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医学専攻病態情報医学講座  
法医学研究室 (指導: 小嶋 亨教授)

受付: 平成14年10月31日

受理: 平成14年11月21日

日本中毒学会「分析のあり方検討委員会 (現分析委員会)」による, 分析結果が治療に有用とされる15品目の中毒起因物質のうち, テオフィリンを除外した14品目について, 臨床現場で得られる少量の生体試料からどれだけ迅速に何種類の検査が可能であるかについて検討した。

本システムを構築するにあたり, 生体試料を分析対象とした検査法のなかった有機リン系農薬, アセトアミノフェンは独自に開発し, 環境検査用に市販されている検出キット (メタノール, 青酸化合物, ヒ素化合物) は, 生体試料に適用できるよう検討した。その結果, 市販されていた5種のキット, 独自に開発した2種の検出キットと2種の反応系によって, 試料 (尿および血清) 1 ml から14品目の中毒起因物質を1名の検査者が2時間で推定できた。また, 実際の中毒4例に本システムを用いたところ, 中毒起因物質の推定が可能であった。

それぞれの検査法は注意点や改良点がいくつかあるが, 臨床現場で得られる少量の試料から中毒起因物質の推定が可能となり, 治療方針を決定するうえで有用であることが示唆された。

**Key words** : Toxicology, Biological sample, Screening system, Bedside

我が国では, 松本サリン事件以後, 東京地下鉄サリン事件や和歌山毒物カレー事件等を含め, 急性中毒患者が年間数十万人発生している<sup>21)</sup>。また, インターネット等の普及により個人輸入が増加し, 中毒患者も多種多様化している。

厚生労働省は和歌山毒物カレー事件後, 中毒事件の対応策として1998年度に, 全国の救命救急センターを中心として化学物質を分析する装置を配備したが, その結果が機能的に治療に反映されているとは言い難い。日本中毒学会分析委員会は, 薬毒物分析の指針に関する提言<sup>23)</sup>の中で, 1) 死亡例の多い中毒, 2) 分析が治療に直結する中毒, 3) 臨床医からの分析依頼が多い中毒の観点から, 分析結果が治療に有用とされる15品目の中毒起因物質すなわち, カーバメイト系農薬, メタノール, グルホシネート, 有機リン系農薬, ブロムワレリル尿素, サリチル酸, ヒ素化合物, ベンゾジアゼピン系薬物, メタンフェタミン, バルビタール系薬物, 三・四環系抗うつ薬, アセトアミノフェン, パラコート, 青酸化合物, テオフィリンを示した。中毒患者の治療を行う救急医療の現場では, 解毒・拮抗剤や治療法が存在するこれら15品目を迅速に検査すること

で, 適切かつ迅速な治療に結びつけることができ, 予測される臓器障害等に対していち早く対処することも可能となる。

本研究では, 上記15品目を誰でも簡便かつ迅速に検査できることを目的に, 容易に入手できる市販の検出キットを組み合わせ, ベッドサイドにおける生体試料中薬毒物の迅速分析システムの構築について検討した。しかし, 研究着手当時, 生体試料中の青酸化合物, ヒ素化合物, 有機リン系農薬, ブロムワレリル尿素, アセトアミノフェン, カーバメイト系農薬を迅速に検査できるキットは市販されていなかったもので, まず, これらの検出キットの開発を検討した。次に, 臨床現場で得られる少量の尿および血清を用い, 構築した迅速分析システムにより, 同一試料でどれだけ迅速に何品目が推定可能かを14品目について検討した。テオフィリンについてはすでにtherapeutic drug monitoring (TDM)<sup>14)</sup>が行われているために15品目より除外した。さらに, 実際の中毒4例 (有機リン系農薬, アセトアミノフェン, パラコート, グルホシネート) について迅速分析システムで検査を行い, その有用性について検討した。

## 材 料 と 方 法

### 【材料】

#### 1. 薬毒物

対象とした薬毒物は

メソミル(カーバメイト系農薬, 和光純薬工業(株), 残留農薬試験用)

メタノール (和光純薬工業(株), 特級試薬)

グルホシネート (和光純薬工業(株), 残留農薬試験用)

マラチオン (有機リン系農薬, 和光純薬工業(株), 残留農薬試験用)

ブロムワレリル尿素 (和光純薬工業(株), 生化学用)

サリチル酸 (和光純薬工業(株), 特級試薬)

亜ヒ酸ナトリウム (ヒ素化合物, 関東化学(株), 特級試薬)

ジアゼパム (ベンゾジアゼピン系薬物, 和光純薬工業(株), 生化学用)

塩酸メタンフェタミン (大日本製薬(株))

フェノバルビタールナトリウム (バルビタール系薬物, 和光純薬工業(株), 生化学用)

塩酸アミトリプチリン (三環系抗うつ薬, 和光純薬工業(株), 生化学用)

アセトアミノフェン (和光純薬工業(株), 一級試薬)

パラコート (和光純薬工業(株), 残留農薬試験用)

シアン化カリウム (青酸化合物, 和光純薬工業(株)), 一級試薬

を用いた。

#### 2. 検出キット, 反応系

使用した検出キットおよび反応系は,

北川式検知管 (光明理化学工業(株))

バスタ<sup>®</sup>定性キット (アベンティス・クロップ・サイエンス・ジャパン(株))

有機リン系農薬検出キット (関東化学(株))

Merckoquant<sup>®</sup> arsenic test (関東化学(株))

乱用薬物スクリーニング検査キット:Triage<sup>®</sup> (シスメックス(株))

アセトアミノフェン検出キット (関東化学(株))

Cyan-Test Wako<sup>®</sup> (和光純薬工業(株))

塩化第二鉄反応

ヒドロサルファイト反応

を用いた。

### 【試料】

#### 1. 実験試料

尿および血清は薬物を服用していない健常人から採取した。迅速分析システムに使用した市販の検出キットおよび反応系の検出下限の10倍となるように, 尿および血清に薬毒物を添加して実験試料とした。この濃度は最低致死濃度<sup>2,8,9,17)</sup>より低い値とした。実験には尿 1 ml に, メソミル 10  $\mu$ g, メタノール 200  $\mu$ g, グルホシネート 100  $\mu$ g, マラチオン 100  $\mu$ g, ブロムワレリル尿素 100  $\mu$ g, サリチル酸 50  $\mu$ g, 亜ヒ酸ナトリウム 1  $\mu$ g, ジアゼパム 3  $\mu$ g, 塩酸メタンフェタミン 10  $\mu$ g, フェノバルビタールナトリウム 3  $\mu$ g, 塩酸アミトリプチリン 10  $\mu$ g, アセトアミノフェン 50  $\mu$ g, パラコート 10  $\mu$ g, シアン化カリウム 5  $\mu$ g を添加し, 血清 1 ml に, アセトアミノフェン 50  $\mu$ g とシアン化カリウム 5  $\mu$ g を添加して用いた。

#### 2. 患者試料

下記の中毒 4 例の患者から採取した尿および血清 1 ml を用いた。

症例 A : 52 歳女性, 自宅にてディプレックス (DEP) 乳剤約 35 ml を自殺目的で服用し, 服用 2 時間後 ICU に搬送された。来院時の意識レベルは昏迷状態 (GCS:E4, V2, M5) であり, 血圧 120/70 mmHg, 心拍数 90/分, 呼吸数 14 回/分, 瞳孔は左右とも 2 mm で対光反射は陽性, 血清コリンエステラーゼ値は 2 (正常値: 175~440 IU/L) であった。服用 2 時間後の尿を検査した。

症例 B : 20 歳女性, 自宅にて新ルル A 錠<sup>®</sup>220 錠を服用し, 服用 30 分後より嘔吐が出現し, 9 時間後に ICU に搬送された。来院時の意識レベルは清明で, 血圧 120/60 mmHg, 心拍数 98/分, 呼吸数 22 回/分であった。服用 10 時間後の尿および血清を検査した。

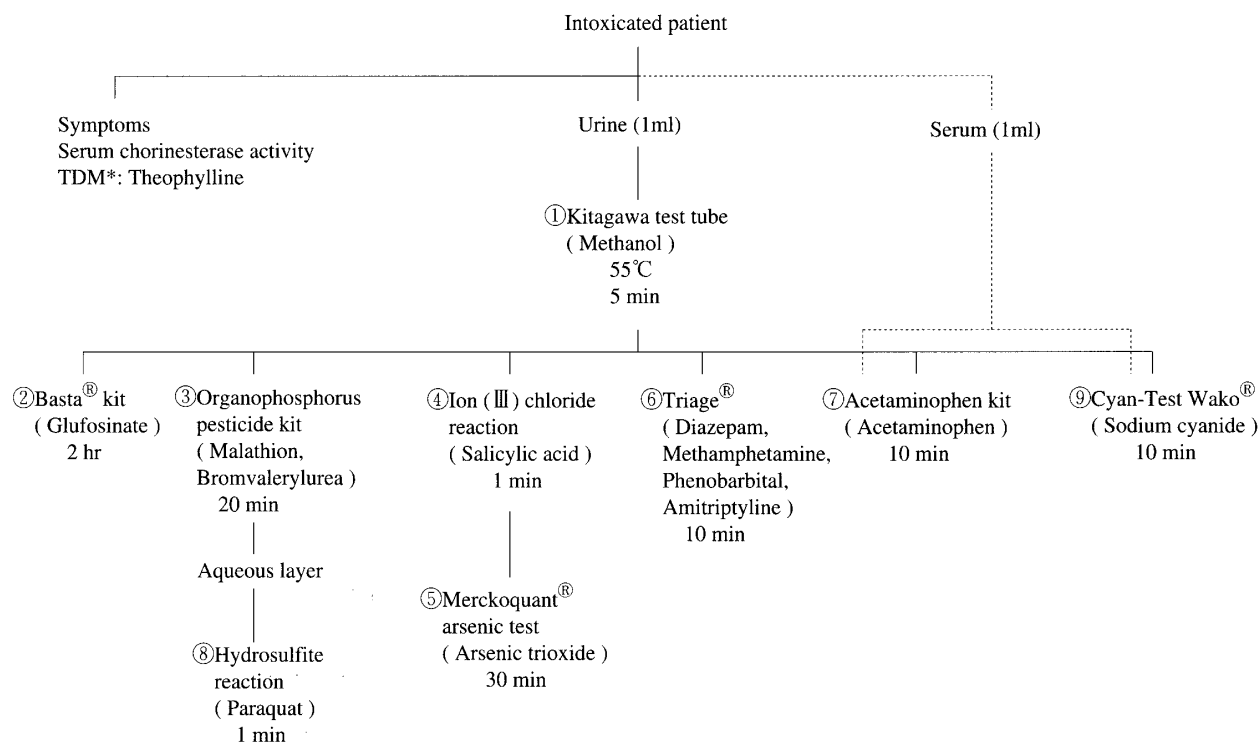
症例 C : 61 歳男性, パラコート中毒の疑いで, 服用 3 時間後と 10 時間後 (死亡時) の血清を検査した。

症例 D : 女性, グルホシネート中毒の疑いで, 搬入時に採取した尿および血清を検査した。

#### 3. 試料の調整および操作手順

尿は pH6~7 になるように 25% 硫酸または 1 M NaOH を加えて調整し, 血清はそのままを用いた。メタノールを気化させる目的で, バイアル瓶を 55°C で 5 分間加熱後 (Fig. 1), 市販の検出キットおよび反応系によって検査し, バスタ<sup>®</sup>定性キットに要する 2 時間の間に Fig. 1 の③以降を検討した。

血清アセトアミノフェン濃度と肝障害の発生に密接な関係があり, アセトアミノフェン検出キットが尿および血清の両方に検査可能であることから, 血清についても検討した。青酸化合物では, 尿中致死濃度がキットの検出下限よりも低値であり, 血清致死濃度がキッ



**Fig. 1.** Urgent toxic chemical diagnosis system

\*Therapeutic drug monitoring.

トの検出下限よりも高値であるので血清について検討した。

#### 【操作手順】

##### 1. 北川式検知管（メタノール）

試料 1 ml をバイアル瓶に採り、セプタムで密閉して 55°C で 5 分間加温する。吸入針（検知管のガス入口部とチューブで連結）をバイアル瓶に刺し、別に空気導入針を試料内まで刺し入れて、気化したガスを検知管内に吸引する。メタノールの有無は黄色から淡青色への変色で推定する。検出下限は 20  $\mu\text{g/ml}$  である。

##### 2. バスタ®定性キット（グルホシネート）

尿およびグルホシネート標準液各 20  $\mu\text{l}$  をスポットしたイオン交換セルロース濾紙を酢酸蒸気で飽和させた展開槽に入れる。展開液（10%酢酸溶液）の先端が約 15 cm になるまで室温で放置する。濾紙を乾燥した後、1%ニンヒドリン水溶液を均一に噴霧し、青紫色のスポットが出現すれば陽性とする。グルホシネート標準液と試料のスポット位置を確認して比較する。検出下限は 100  $\mu\text{g/ml}$  である。

##### 3. 有機リン系農薬検出キット（マラチオン、プロムワレリル尿素）

尿 230  $\mu\text{l}$  を 4- (4- ニトロベンジル) ピリジン (NBP) 試薬入り試験管に採り、100°C で 20 分間加熱後、攪拌する。室温まで放冷し、テトラエチレンペンタミ

ン (TEP) 試薬を 2 滴加えて激しく攪拌し、抽出溶媒を 1 ml 加えて攪拌後、静置して上層の色を観察する。陽性の場合、上層は薄ピンク色～赤紫色を呈する。検出下限はマラチオンで 10  $\mu\text{g/ml}$ 、プロムワレリル尿素 10  $\mu\text{g/ml}$  である。

##### 4. 塩化第二鉄反応（サリチル酸）

尿 230  $\mu\text{l}$  を小バイアル瓶に採り、5%塩化第二鉄溶液を 1～2 滴加えて攪拌し、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。検出下限は 10  $\mu\text{g/ml}$  である。

##### 5. Merckoquant® arsenic test（亜ヒ酸ナトリウム：ヒ素化合物）

試験紙をキット専用のバイアル瓶の蓋に半分まで差し込む。塩化第二鉄反応後の試料をバイアル瓶に採り、蒸留水 5 ml を加えて攪拌し、付属の Reagent 1 をスプーンで 1 杯、Reagent 2 (32%塩酸) を 10 滴加える。すばやくバイアル瓶に蓋をして、30 分間放置し、途中静かに 2～3 回振り混ぜる。試験紙を取り出して、瞬時に蒸留水をつけ、色調をカラーチャートと比較する。陽性の場合、試験紙の変色域が淡黄色～茶色に変化する。検出下限は 0.1  $\mu\text{g/ml}$  である。

##### 6. 乱用薬物スクリーニング検査キット：Triage®（フェノバルビタール、ジアゼパム、アミトリプチリン、メタンフェタミン）

尿 140  $\mu\text{l}$  を反応カップに入れて, 10分間放置後, 反応液全量を薬物検出領域へ移し, 完全に吸収させる。洗浄液 3 滴を薬物検出領域へ滴下する。陽性の場合, 薬物検出ゾーンに赤紫色のバンドが現れる。検出下限はフェノバルビタール 0.3  $\mu\text{g/ml}$ , ジアゼパム 0.3  $\mu\text{g/ml}$ , アミトリプチリン 1  $\mu\text{g/ml}$ , メタンフェタミン 1  $\mu\text{g/ml}$  である。

#### 7. アセトアミノフェン検出キット (アセトアミノフェン)

尿 200  $\mu\text{l}$  を耐熱性の小バイアル瓶に採り, 試薬Aを 6 滴加えて攪拌する。100°Cで10分間加熱後, 放冷する。試薬Bを 6 滴加えて蓋をした後, 激しく攪拌して, 反応液の色を観察する。

血清 300  $\mu\text{l}$  を試験管に採り, 試薬Aを 6 滴加えて攪拌する。3,000 rpm で 2 分間遠心分離し, 上清を耐熱性の小バイアル瓶に採り, 100°Cで10分間加熱する。放冷後, 試薬Bを 6 滴加えて蓋をした後, 激しく攪拌して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。検出下限は尿で 20  $\mu\text{g/ml}$ , 血清で 5  $\mu\text{g/ml}$  である。

#### 8. ハイドロサルファイト反応 (パラコート)

有機リン系農薬検出キットで得られた試料の水層を試験管に採り, 1M NaOH 1 ml を加えて攪拌する。攪拌後, ハイドロサルファイトナトリウムを約 30 mg 加えて攪拌し, 色を観察する。陽性の場合, 青色を呈する。検出下限は 1  $\mu\text{g/ml}$  である。

#### 9. Cyan-Test Wako<sup>®</sup> (シアン化カリウム: 青酸化合物)

尿 180  $\mu\text{l}$  (血清の場合 700  $\mu\text{l}$ ) をキット付属の試験管に採り, 試験管の標線まで蒸留水を加えて, 付属の前処理剤をさじですり切り一杯加えて溶解する。中和剤一錠を加え, ゴム栓で直ちに密栓し, 約 1 分間振り混ぜて錠剤を溶解後, 切れ目の入ったゴム栓に試験紙をはめ込み, 試験紙に発色試薬 1 滴を落とし浸潤させる。中和された試験管のゴム栓をはずし, 速やかに試験紙付きのゴム栓をはめ込み, 10分間放置する。色調を付属の色調表と比較してシアンイオン濃度を読みとる。陽性の場合, 黄緑色~緑色を呈する。検出下限は 1  $\mu\text{g/ml}$  である。

## 結 果

### 1. 検出キットの開発

今回使用した市販の検出キットで, 臨床現場で広く使用されていたキットはTriage<sup>®10)</sup>だけであった。著者は生体試料中の有機リン系農薬検査法を開発し<sup>13)</sup>, 特許 (特開2000-97926) を得た。さらに, 関東化学(株)

と共同で有機リン系農薬検出キットを製品化 (特願2001-269639) した。有機リン系農薬検出キットを臨床応用する段階で, ブロムワレリル尿素<sup>19)</sup>に対しても反応することを確認した。また, アセトアミノフェン検査法を開発 (特願2001-395178) し<sup>22)</sup>, アセトアミノフェン検出キットを関東化学(株)と共同で製品化 (特願2001-154713) した。これら以外のキットは環境検査用 (水質, 空気) に開発されたものであり, 生体試料に応用するために改良が必要であった。メタノールは市販の検出キットを, サリチル酸は反応系を一部改良し良好な結果が得られた。

パケットテストを用いた青酸化合物<sup>11,20)</sup>とヒ素化合物<sup>12)</sup>の迅速検査法を考案したが, これらの検出下限が尿および血清の致死濃度より高値であったこと, 生体試料中に含まれる物質が検査結果に影響を与えたこと, 多量の試料が必要だったことで本システムに採用しなかった。また, カーバメイト系農薬についても検討したが, 簡便かつ迅速な検査法は見いだせなかった。

### 2. 迅速分析システムの構築

有機リン系農薬, ブロムワレリル尿素とアセトアミノフェンは開発した検出キットを使用した。メタノールは市販の検出キットを, サリチル酸は反応系 (塩化第二鉄反応) を一部改良して用いた。グルホシネート, ヒ素化合物 (Merckoquant<sup>®</sup> arsenic test), ベンゾジアゼピン系薬物, メタンフェタミン, バルビタール系薬物, 三・四環系抗うつ薬, 青酸化合物 (Cyan-Test Wako<sup>®</sup>) は市販の検出キットを, パラコートは反応系 (ハイドロサルファイト反応) をそのまま用いた。カーバメイト系農薬については, 臨床症状, 血清コリンエステラーゼ値, 有機リン系農薬検出キットに反応しないことなどから推定した。

#### 2-1. 尿

Table 1 の左側に示すように, ブランクでは全ての検査法で陰性であった。対象とした薬毒物を全て添加した場合, メソミル, マラチオン, ブロムワレリル尿素をそれぞれ除き, 他の対象薬毒物を全て添加した場合は全ての検査法で陽性であった。前記の 1 薬毒物以外の薬毒物を除き, その他の対象薬毒物を全て添加した場合は除いた薬毒物に対応する検査法が陰性となった。

#### 2-2. 血清

Table 1 の右側に示すように, アセトアミノフェンおよび青酸化合物の検出キットにおいては, 対象薬毒物を添加していない試料では陰性であった。

各症例の反応結果を Fig. 2 に示し, Table 2 にまとめた。

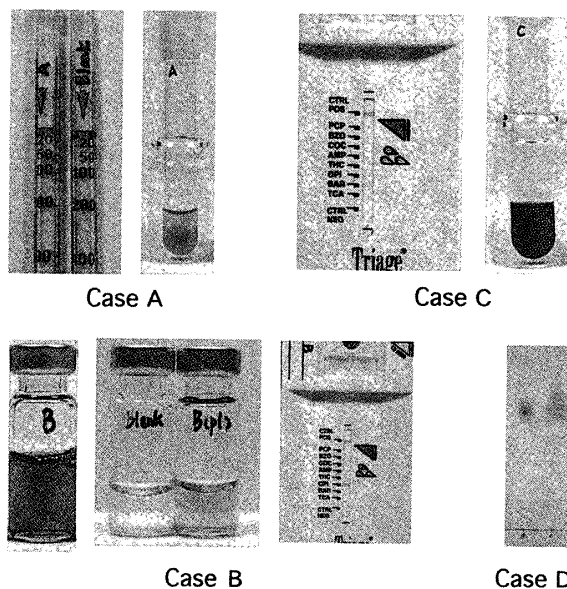
**Table 1.** Results of urine and serum tests

	urine											serum		
	①	②	③	④	⑤	⑥				⑦	⑧	⑨	⑦	⑨
						BZO	AMP	BAR	TCA					
Blank *	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
All *	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Methomyl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Methanol	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Glufosinate	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Malathion	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Bromvalerylurea	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Salicylic acid	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Arsenic trioxide	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-Diazepam	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
-Methamphetamine	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
-Phenobarbital	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
-Amitriptyline	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
-Acetaminophen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
-Paraquat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
-Sodium cyanide	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-

- ①Kitagawa test tube                      ②Basta® kit                      ③Organophosphorus pesticide kit
- ④Ion(Ⅲ)chloride reaction              ⑤Merckoquant® arsenic test
- ⑥Triage® (BZO:Diazepam, AMP:Methamphetamine, BAR:Phenobarbital, TCA:Amitriptyline)
- ⑦Acetaminophen kit                      ⑧Hydrosulfite reaction              ⑨Cyan-Test Wako®

\* : Blank : No drug sample. All : Sample containing all drugs tested

\*\* : Positive for organophosphorus pesticide and bromvalerylurea



**Fig. 2.** Reaction results of 4 poisoning cases

Case A. Left: Kitagawa test tube. A: sample (20 ppm), B: blank (-). Right: Organophosphorus pesticide kit. A: sample (+), B: blank(-).

Case B. Left: Acetaminophen kit. Serum(+). Middle: Acetaminophen kit. Urine (+). Right: Triage®. OPI (+).

Case C. Left: Triage®. BAR(+). Right: Hydrosulfite reaction (+).

Case D. Basta® kit. Sample (+), standard (+).

Table 2. Results of 4 poisoning cases

Case \ Test	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
A urine	+	-	+	-	-	-	-	-	-
B urine serum	-	-	-	-	-	OPI	+	-	-
C urine	-	-	-	-	-	BAR	-	+	-
D urine	-	+	-	-	-	-	-	-	-

①Kitagawa test tube

②Basta<sup>®</sup> kit

③Organophosphorus pesticide kit

④Ion(Ⅲ)chloride reaction

⑤Merckoquant<sup>®</sup> arsenic test⑥Triage<sup>®</sup> (OPI: Morphine, BAR:Barbiturates)

⑦Acetaminophen kit

⑧Hydrosulfite reaction

⑨Cyan-Test Wako<sup>®</sup>

### 考 察

日本中毒学会分析委員会からの薬毒物分析の指針に関する提言の中で、分析が有用とされる15品目の中毒起因物質に対して、市販の検出キットおよび考案した検査法に2種類の反応系をそれぞれ用いて検査するには多量の試料が必要となる。ベッドサイドで得られる試料量には限りがあるため、系統的に検査することで試料1 ml から2時間で検査できるシステムを構築した。また、厚生労働省は1998年度に、全国の救命救急センターを中心に1施設数千万円の分析装置を配備したが、1検体(1品目)あたりの分析費用は数万~数十万円である。本システムを用いれば1検体あたり1万円程度で14品目が迅速に検査できる。低コストで、維持管理費は必要なく経済的であり、1名の検査者で、誰にでも検査できることが特徴である。

北川式検知管(メタノール)は、環境検査用に空気中のメタノール濃度測定用に開発されており、生体試料に応用するため、尿中のメタノールを気化させ測定できるように検知管のガス吸入口にチューブを連結し、その先に針を付けてバイアル瓶に刺し、別に空気導入針を試料内まで刺入して、気化したガスを検知管内に吸引できるようにした。北川式検知管(メタノール)では、検知管の両端をカットする時に、ガラス片が飛散する可能性があり、注意が必要である。また、一気にピストンを引く時に、ガス採取器の取り付け口から

検知管がはずれる可能性があるので、検知管を確実に接続して注意しながらピストンを引く必要があると思われた。結果に影響を与える物質として、アルコール類、エーテル類、エステル類、ケトン類、芳香族炭化水素、ハロゲン化炭化水素、脂肪族炭化水素などがある。これらは測定濃度に影響を与えるので注意を要する。

グルホシネート<sup>6,7)</sup>(バスタ<sup>®</sup>液剤)は有機リンの構造を有しているが、その分子内にアミノ酸の構造も有している含リンアミノ酸系除草剤であり、近年、使用の増加にともない、中毒患者数も増加している。服毒8~38時間後に重篤な中枢神経症状の発現とともに不幸な転帰をたどる場合があり、血清グルホシネート濃度と重症化<sup>7,14)</sup>における指標として、服用2時間70 μg/mlを始点とし、服用8時間5 μg/mlを終点とする直線を引くと、軽症例と重症例を分けることが可能であり、治療方針の選択基準となる。バスタ<sup>®</sup>定性キットは展開槽内の酢酸蒸気による飽和に時間を要し、イオン交換セルロース濾紙の展開時間まで含めると2時間近くかかるため、救急医療の現場における迅速検査には困難と思えた。時間短縮のためには展開槽の縮小と新たな濾紙の開発が望まれる。

有機リン系農薬検出キット<sup>3,13)</sup>による呈色反応は、有機リン系農薬の代謝物には反応しない。試薬である4-(4-ニトロベンジル)ピリジンはヨウ化メチルなどのアルキル化剤の呈色試薬として用いられる試薬である。

実験結果より、マラチオンを添加していない試料で陽性を呈したのはブロムワレリル尿素に反応したためであり、すでにブロムワレリル尿素の呈色試薬<sup>3,19)</sup>として臨床報告している。有機リン系農薬との鑑別には血清コリンエステラーゼ値を用いる。有機リン系農薬検出キットで陽性かつコリンエステラーゼ値が低値であっても、カーバメイト系農薬が混在している可能性があるため、プラリドキシム（以下 PAM）の投与は避ける。全身管理の後、縮腫、流涎などには硫酸アトロピンの投与を行う。カーバメイト系農薬が混入していないことを確認して PAM の投与を行う。両者とも重症例には血液灌流を施行する必要がある。

サリチル酸の塩化第二鉄反応<sup>3,5,15)</sup>は、サリチル酸のフェノール性水酸基と塩化第二鉄とが反応して赤褐色の沈殿を形成する性質を利用したものである。尿試料に本法を適用するために試料量に対して添加試薬量を5倍とした。フェノール、モルヒネ、アポモルヒネにも呈色するため注意を要する。尿中サリチル酸の排泄はアルカリ性で増加し、酸性で減少する。pH の変化により総投与量の2~30%変動するので、治療としては初期よりアルカリ強制利尿を施行する。血清サリチル酸濃度が500 µg/ml 以上で重篤な中毒症状が出現するため、血清サリチル酸濃度を確認する必要がある。

ヒ素化合物の呈色反応に使用した Merckoquant<sup>®</sup> arsenic test は、グッツアイト法と類似の反応を利用したものであり、試料中のヒ素イオンを亜鉛と塩酸でヒ化水素として試験紙中の臭化第二水銀と反応させる方法である。操作が簡単で、30分間で0.1 µg/ml まで定量可能である。今回の実験では、サリチル酸の検査に使用した塩化第二鉄を加えた後の試料をバイアル瓶に採り、試料とした。キット中のバイアル瓶以外に試験管を使用すると、発泡が強く試験紙まで触れる可能性があり、注意を要する。Reagent 2 は32%塩酸であるので取り扱いに注意する。この反応は非常に鋭敏な反応であり、比色表との判定時間が長いと試験紙の色が濃くなるため、誤った判定結果を下しやすいので注意を要する。

Triage<sup>®</sup> は金コロイド粒子免疫法に基づくイムノアッセイ法で、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的免疫測定法である。各薬物群やその代謝産物に対する抗体を使用しているため感度が高く、それぞれの薬物検出ゾーンでしか検出されない。カットオフ値もバルビタール系薬物 0.3 µg/ml、ベンゾジアゼピン系薬物 0.3 µg/ml、モルヒネ系麻薬 0.3 µg/ml、覚せい剤 1 µg/ml である。また、操作法も簡単で、10分間で検査できる。Triage<sup>®</sup> は20

℃以下で凍結を避けて保存し、使用時には室温に戻して開封後1時間以内に使用しなければならない。注意点として、ジヒドロコデイン、コデインを含む医薬品を服用した場合にモルヒネ系麻薬（以下 OPI）に偽陽性となることやマオウエキスを含む医薬品を服用した場合に覚せい剤（AMP）検出ゾーンで偽陽性となることがある。結果が陽性、陰性であったとしても、他の検査法で確認する。

アセトアミノフェン検出キット<sup>22)</sup>は、インドフェノール法が用いられており、尿および血清アセトアミノフェンともに良好な結果が得られた。酸による加水分解のばらつきを押さえるために耐熱性の小さな密閉容器が必要となるので、取り扱いが煩雑となる。また、アセトアミノフェン以外にも *p*-アミノフェノール、アニリン、硫酸 *p*-メチルアミノフェノールとも反応するために注意を要する。

ハイドロサルファイト反応<sup>3,16)</sup>（パラコート）は、アルカリ性水溶液中で還元剤により1電子還元を受けると安定なパラコートラジカルとなり、青色を呈する。今回の実験では、有機リン系農薬検出キットによる検査後、水層を試験管に採り試料とした。1M NaOH 1 ml を加えて攪拌し、ハイドロサルファイトナトリウムを30 mg 加えることにより青色~緑色を呈した。尿にはすでに有機リン系農薬検出キットの2種類の試薬が加わっているが、本反応には特に異常は認められなかった。ただし、呈色している時間が短いことやハイドロサルファイトナトリウムが失活していると着色しないので注意が必要である。

青酸化合物<sup>3,11,15,20)</sup>は、死亡事故は少ないが、金属塩がメッキ、写真、金属製品加工、ニトリル類の製造など化学工業において広く使用されている。また、船舶や倉庫の薫蒸や土壌の殺菌等にも使用され、比較的入手しやすく、強い毒性と即効性のある中毒起因物質である。青酸化合物における Cyan-Test Wako<sup>®</sup> は、シェーバイン・パーゲンステッヘル法を基に開発された検出キットであり、発生したシアン化水素が銅イオンの共存下で *o*-トリジンと反応することにより、試験紙が青色へと変化する鋭敏な検査法で、検出下限は0.5 µg/ml である。しかし、比色表との比較までの時間が長いと試験紙が着色してくるため、誤った結果を下しやすい。また、この反応はシアン化水素以外の塩素、クロルピクリンなどの酸化性ガスにおいても試験紙が着色するため注意を要する。

中毒例の結果（Table 2）より、症例Aでメタノールが陽性になったのは、服用したDEP乳剤中の有機溶剤が北川式検知管（メタノール）に反応したものと考え

られるが、飲酒の可能性も否定できない。

症例Bにおいて、Triage<sup>®</sup>でOPIに陽性となったのは、新ルルA錠<sup>®</sup>1錠中にアセトアミノフェン 100 mg、リン酸ジヒドロコデイン 2.67 mg が含まれており、リン酸ジヒドロコデインと反応したためと思われる。服用10時間後の血清アセトアミノフェンをガスクロマトグラフ法<sup>1)</sup>で定量したところ、73 µg/mlであった。この濃度は治療域に相等する。

症例Cの尿中パラコートを吸光光度法<sup>18)</sup>で定量したところ、服用3時間後で1,124 µg/ml、10時間後の死亡時で11.8 µg/mlであった。Triage<sup>®</sup>でバルビタール系薬物(BAR)が検出されたが、薬物の服用を示唆するものがなく、確認分析を行っていないので詳細は不明である。

症例Dの血清グルホシネートをHPLC法<sup>4)</sup>で定量したところ、2,795 µg/mlであった。血清グルホシネート濃度と重症化<sup>7)</sup>におけるノモグラフによれば症例Dの濃度は重症中毒レベルであった。

ある種の薬物中毒で搬入された患者を治療する場合、できる限りの情報を収集し、治療方針を決定する必要がある。解毒・拮抗剤や治療法<sup>21,23,24)</sup>の存在する中毒においては、的確な情報がない場合も迅速な検査により中毒起因物質が推定できれば適切かつ迅速な治療が可能となる。本迅速分析システムを用いることにより、少量の試料から中毒起因物質の推定が可能であり、治療方針を決定するうえで有用であることが示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるに際し、御指導、御校閲を賜りました恩師小嶋 亨教授、屋敷幹雄助教授、奈女良 昭講師、西田まなみ技官に謹んで感謝の意を表します。また、本研究に際し、終始ご協力をいただきました広島大学医学部附属病院救急部・集中治療部の諸先生方に心より御礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- Baselt, R. C. 1987. ACETAMINOPHEN, p. 3-6. ANALYTICAL PROCEDURES FOR Therapeutic Drug Monitoring and Emergency Toxicology, 2th ed. PSG Publishing Company, Littleton, Massachusetts.
- Baselt, R. C. and Cravey, R. H. 1995. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 4th ed. Chemical Toxicology Institute, California.
- 広島大学医学部法医学講座(編) 2001. 薬毒物の簡易検査法—呈色反応を中心として—。じほう、東京。
- 堀 寧, 岩崎泰昌, 工藤恵子, 黒木由美子, 小宮山 豊, 中谷壽男, 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 山口芳裕 2002. グルホシネート. 中毒研究 15: 61-64.
- 川合眞一, 柳川 明 1992. 中毒性薬物(2)サリチル酸誘導体. 検査と技術 20: 156-157.
- 小山完二 1995. グルホシネート製剤中毒. 中毒研究 8: 391-398.
- 小山完二, 広瀬保夫, 奥田孝範, 元川暁子, 大橋教良, 岩井美佐, 松宮直樹, 小野幸夫, 石井義孝, 松本孝之, 楠本修也, 河野正樹, 鈴木正之, 丹波嘉一郎, 小林弘之, 永井雅昭, 山部日出子, 阿久沢尚士, 後藤勝年 1997. グルホシネート含有除草剤(バスタ<sup>®</sup>液剤)の服毒中毒における患者の重症化と血清グルホシネート濃度との関係. 日救急医学会誌 8: 617-618.
- Meyer, F. P. 1994. Indicative therapeutic and toxic drug concentrations in plasma: a tabulation. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 32: 71-81.
- 内藤裕史 2001. 有機リン系殺虫剤, p. 230-248. カーバメイト系殺虫剤, p. 249-253. ヒ素, p. 275-279. 中毒百科—事例・病態・治療—, 南江堂, 東京.
- 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 岡田加奈子, 岩崎泰昌, 小嶋 亨, 大谷美奈子, 津久江一郎 1997. 乱用薬物スクリーニングキットTriage<sup>®</sup>の臨床的有用性の評価. 医学と薬学 37: 723-731.
- 奈女良 昭, 内海兆郎, 金森久幸, 屋敷幹雄, 小嶋 亨 1998. シアン化合物の簡易検出キット. 中毒研究 11: 395-397.
- 奈女良 昭, 岡島和夫, 内海兆郎, 屋敷幹雄, 今村 徹, 小嶋 亨 1999. ヒ素化合物検出におけるバックテストの有用性について. 救急医学 23: 738-742.
- Namera, A., Utsumi, Y., Yashiki, M., Ohtani, M., Imamura, T. and Kojima, T. 2000. Direct colorimetric method for determination of organophosphates in human urine. Clin. Chim. Acta 291: 9-18.
- 奈女良 昭, 屋敷幹雄 2001. 薬物中毒とTDM. 救急・集中治療 13: 867-875.
- 日本薬学会編 1992. 薬毒物化学試験法と注解. 第4版 南山堂. 東京.
- 田中 晃, 小林正子, 大野陽子 1988. ジクワットおよびパラコートの分析法. 中毒研究 1: 187-191.
- 塚本昭次郎 1992. 中毒性薬物(1)エタノール, メタノール. 検査と技術 20: 154-155.
- 角田紀子 1983. Sep-Pak C<sub>18</sub> カートリッジを用いたパラコートの選択的抽出. 法中毒学ニュース 1: 19.
- 内海兆郎, 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 大谷美奈子, 小嶋 亨 2000. 生体試料中のブロムワレリル尿素の簡易呈色法—急性中毒症例への応用—. 中毒研究 13: 177-182.



20. 内海兆郎, 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 大谷美奈子, 小嶋 亨 1999. シアン化合物の簡易検査の有用性について. 救急医学 23 : 1663-1668.
21. 和田 攻 2000. どんなときに中毒を疑い, どのように対処するか. Medical Practice 17 : 1446-1456.
22. 八十島 誠, 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 今村 徹, 郷田文吾, 岩崎泰昌, 大谷美奈子, 小嶋 亨 2000. 血清中アセトアミノフェンの簡易定量法. 救急医学 24 : 989-992.
23. 吉岡敏治, 郡山一明, 植木真琴, 遠藤容子, 後藤京子, 近藤留美子, 奈女良 昭, 屋敷幹雄 1999. 薬毒物分析の指針に関する提言. 中毒研究 12 : 437-441.
24. 吉岡敏治, 廣田哲也 2000. 中毒の救急処置から救命救急センターへの搬送まで. Medical Practice 17 : 1458-1466.

## A Screening System for Toxic Chemicals in Biological Samples

Yoshiro UTSUMI

Department of Legal Medicine, Graduate School of Biomedical Sciences,  
Hiroshima University, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan  
(Director: Prof. Tohru KOJIMA)

In order to rapidly screen toxic chemicals in a small amount of biological sample collected from an intoxicated patient at bedside, a simple screening system was developed. The following chemicals were identified for screening: carbamate, methanol, glufosinate, organophosphorus pesticide, bromvalerylurea, salicylate, arsenide, benzodiazepine, methamphetamine, barbiturate, tricyclic and tetracyclic antidepressant, acetaminophen, paraquat, cyanide and theophylline.

In this study, all of the above chemicals except theophylline were analyzed by the screening system. Theophylline concentration in blood is routinely monitored at clinical laboratories, so it was not analyzed in this study. Screening methods used were 7 kits and 2 reactions. Fourteen toxic chemicals in 1 ml of urine sample and serum sample were screened in about 2 hr. The proposed screening system was applied to 4 different cases of intoxication by organophosphorus pesticide, acetaminophen, paraquat and glufosinate. Each toxic chemical was detected. This proposed screening system seems to be useful to rapidly screen toxic chemicals in a small amount of biological sample collected from an intoxicated patient at bedside.