—技術報告—

ヘモキャッチを用いた人血検査に及ぼす界面活性剤・消毒薬の影響

白石智子, 関口和正, 大森 毅, 櫻田宏一

科学警察研究所

〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-1

The Effects of Detergents and Disinfectants in 'OC-Hemocatch' on the Forensic Identification of Human Blood

Tomoko Shiraishi, Kazumasa Sekiguchi, Takeshi Ohmori and Koichi Sakurada

*National Research Institute of Police Science**6-3-1, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882, Japan**(Received 11 November 2003; accepted 18 December 2003)*

OC-Hemocatch, an immunochromatographic test device for fecal occult blood, has been used for the forensic identification of human blood. False-positive and false-negative effects by detergents and disinfectants on detection of human blood using OC-Hemocatch were investigated in this study. Dishwashing and laundry detergents showed no false-positive but false-negative results. Four in 8 disinfectants showed false-positive results, and 3 in the other 4 disinfectants inhibited the detection of human blood. Cationic and anionic surfactants showed false-positive results, but non-ionic and amphoteric surfactants did not, suggesting that the antibody-conjugated blue latex particles were aggregated electrically by cations or anions and caught nonspecifically onto the detection line. False-negative results might be caused by denaturation or degradation of hemoglobin by the contaminants.

Key words: Blood, Human hemoglobin, Immunochromatographic test, OC-Hemocatch, False-positive result

緒 言

犯罪現場に遺留する生体資料については、個人識別に先立ち体液の種類・鑑別および人獣鑑別が必要であるが、夾雑物の混入により検査が困難となる場合が少なくない。例えば、人血検査において洗面台や台所のシンクに付着の血痕を検査する場合あるいは洗濯された衣類に付着の血痕を資料とする場合、残留する石けん、台所用洗剤あるいは洗濯用洗剤が

検査に影響を及ぼす可能性がある。一方、創傷等による出血由来の血痕は消毒薬に曝されている可能性があり、人血検査に対する消毒薬の影響についても考慮する必要がある。

従来から用いられてきた人血検査法である沈降重層法における夾雑物混入の影響については、洗剤およびその成分である界面活性剤により抗ヒトヘモグロビン血清がタンパク変性を起こし、不溶化するこ

とにより沈降輪が形成され、偽陽性を呈することを小林らが報告している^{1,2)}。また、小林らは界面活性剤が混入したヒト血液については人血検査が一部陰性化することも報告しており、これは界面活性剤によるヘモグロビンの変性あるいは抗原抗体反応の阻害によるものと考えられる。人血検査の偽陽性反応および陰性化と界面活性剤のイオン性との間に何らかの関連がある可能性もあるが、詳細な検討は行われていない。

OC-ヘモキャッチ‘栄研’（栄研化学，東京，以下ヘモキャッチ）は、イムノクロマトグラフィー法の原理により便中のヒトヘモグロビンを簡便かつ高感度で検出可能な臨床検査試薬である³⁻⁵⁾。ヘモキャッチの種属特異性については、ニホンザルおよびチンパンジー以外の動物種の血液とは反応しないことが報告されている^{6,7)}。さらに、我々はすでに、種々の変性資料を用いてヘモキャッチの法科学的資料における人血検査への応用について検討を行い、その有用性を報告している⁸⁾。その際、洗濯された血痕からの人血検査の可否については報告しているが、検体に混入する各種洗剤、消毒薬あるいは界面活性剤による偽陽性反応や人血検査の陰性化など、検査に及ぼす影響については詳細な検討を行っていない。

そこで本研究では、市販の台所用洗剤、洗濯用洗剤および医療用の消毒薬について、ヘモキャッチを用いた人血検査への影響について検討を行った。さらに、イオン性の異なる各種界面活性剤を用いて、ヘモキャッチにおける偽陽性反応の原因について検討を行った。偽陽性反応については、ラテックス凝集法による便潜血検査試薬であるOC-ヘモディア‘栄研’（栄研化学，以下ヘモディア）および金コロイド標識抗体を採用したイムノクロマトグラフィー法による便潜血検査試薬であるクイックチェイサー便潜血（ミズホメディー，佐賀，以下クイックチェイサー）についても検討を行った。

材料および方法

1 材料

台所用洗剤は市販の4社9製品（Table 1a），洗濯用洗剤は4社5製品（Table 1b）を用いて、PBS

（Phosphate buffered saline, pH 7.2）にて各製品の取扱説明書に記載されている使用濃度に希釈した。消毒薬は、医療機関等で使用されている8種（Table 2）について、PBSを用いて実際の使用濃度に希釈した。ただし、グルタルアルデヒドについては付属の緩衝液（氷酢酸，リン酸二水素ナトリウムトリエタノールアミンエステル液，水酸化カリウム，ベンゾトリアゾールを含有）を用いて希釈した。界面活性剤（陰イオン性3種，陽イオン性3種，両イオン性2種および非イオン性20種，Table 3）は、警察庁刑事局鑑識課鑑識資料センターより分与を受けたものあるいは和光純薬工業より購入したものをPBSで1%に調製した。陽性対照として50,000倍希釈ヒト血液を，陰性対照としてPBSを用いた。

2 検査方法

偽陽性反応の検討は，調製した各溶液をそのまま用いて行った。ヒト血液に混入した場合の人血検査への影響については，調製した台所用洗剤，洗濯用洗剤および消毒薬を25,000倍希釈ヒト血液と1:1で混合し，30分間室温で反応させたものを用いて検討した。偽陽性反応が認められた場合は，同様の検討を4回繰り返して再現性を確認した。

ヘモキャッチを用いた検査の判定は，試料溶液100 μ lをヘモキャッチのサンプルウェルに滴下して10分後に，テストウィンドウに現れる判定ラインを肉眼にて観察することにより行った。

ヘモディアにおける偽陽性反応の判定は，試料溶液100 μ lを判定用反応板に滴下し，OC-ヘモディア乳液‘栄研’を一滴滴下した。付属の攪拌棒で混合液を判定用反応板内に広げ，判定用反応板を前後左右に緩やかに振とうし，3分後に凝集像を観察することにより行った。

クイックチェイサーにおける偽陽性反応の判定は，試料溶液100 μ lをテストプレートの検体滴下部に滴下して20分後に，判定部（T）下段に現れる判定ライン（ヘモグロビン判定用）を肉眼にて観察することにより行った。

結 果

1 台所用洗剤・洗濯用洗剤の影響

台所用洗剤および洗濯用洗剤については，すべて

の製品で偽陽性反応は認められなかった (Table 1a, b). 一方, 台所用洗剤および洗濯用洗剤が混入したヒト血液については, 台所用洗剤 1 品目を除いてヘモキャッチによる人血検査は陰性となった.

なお, 陽性対照である 50,000 倍希釈ヒト血液および陰性対照である PBS を用いて検査したところ, それぞれ陽性および陰性であることが確認された.

2 消毒薬の影響

消毒薬 8 種を用いた検討により, 界面活性剤系消毒薬である塩化ベンザルコニウムおよび塩化ベンゼトニウム, グリシン系消毒薬である塩化アルキルジアミノエチルグリシンおよびビグアナイド系消毒薬であるグルコン酸クロルヘキシジンについて偽陽性反応が認められた (Table 2, Fig. 1). 一方, クレゾール石けん液, 次亜塩素酸ナトリウム, グルタル

アルデヒドおよび消毒用エタノールでは偽陽性反応は認められなかったが, 対照ラインの発色が消失あるいは低下する傾向が認められた.

また, ヒト血液への混入の影響について検討したところ, クレゾール石けん液および次亜塩素酸ナトリウムにおいて, 人血検査は陰性となった. グルタルアルデヒドにおいては, 判定ラインに加えて対照ラインの発色も認められず, ヘモキャッチによる人血検査は不可能となった (Table 2). なお, ヘモキャッチに対して偽陽性反応を示した 4 種の消毒薬については, 人血の有無を正確に判定することができないことから, ヒト血液への混入の影響についての検討は行わなかった.

偽陽性反応が認められた 4 種の消毒薬について, ヘモディアおよびクイックチェイサーを用いて検討

Table 1a The effects of dishwashing detergents on OC-Hemocatch.

Sample No.	Major Components of Surfactants	Density of Surfactants (%)	Dilution for Use (ml/l)	False Positive	Detection of Human Hemoglobin
1	Sodium Polyoxyethylene Alkyl Ether Sulfate	22	1.5	—	—
2	Sodium Polyoxyethylene Alkyl Ether Sulfate Alkyl Dimethylamine Oxide Alkyl Hydroxy Sulfobetaine Alkyl Polyglycoside Polyoxyethylene Alkyl Ether	42	0.75	—	—
3	Alkyl Polyglycoside	38	0.75	—	+
4	Sodium Linear Alkyl Benzene Sulfonate Sodium Polyoxyethylene Alkyl Ether Sulfate	27	1.5	—	—
5	Sodium Polyoxyethylene Alkyl Ether Sulfate Fatty Acid Alkanolamide	21	1.5	—	—
6	Sodium Alpha Olefin Sulfonate Sodium Polyoxyethylene Alkyl Ether Sulfate Polyoxyethylene Alkyl Ether Fatty Acid Alkanolamide Alkyl Amine Oxide	47	0.75	—	—
7	Sodium Polyoxyethylene Alkyl Ether Sulfate Sodium Alpha Olefin Sulfonate Fatty Acid Alkanolamide Alkyl Amine Oxide	40	0.75	—	—
8	Sodium Polyoxyethylene Alkyl Ether Sulfate Alkyl Amine Oxide	41	0.75	—	—
9	Sodium Linear Alkylbenzene Sulfonate Polyoxyethylene Alkyl Ether Fatty Acid Alkanolamide	37	0.75	—	—

Table 1b The effects of laundry detergents on OC-Hemocatch.

Sample No.	Major Components of Surfactants	Density of Surfactants (%)	False Positive	Detection of Human Hemoglobin
1	Sodium Linear Alkyl Benzene Sulfonate Polyoxyethylene Alkyl Ether	25	—	—
2	Sodium Linear Alkyl Benzene Sulfonate Polyoxyethylene Alkyl Ether Fatty Acid Salt	35	—	—
3	Sodium Alpha Sulfo Fatty Acid Ester Fatty Acid Salt Sodium Linear Alkyl Benzene Sulfonate Polyoxyethylene Alkyl Ether	31	—	—
4	Sodium Linear Alkyl Benzene Sulfonate	28	—	—
5	Sodium Linear Alkyl Benzene Sulfonate Polyoxyethylene Alkyl Ether	22	—	—

Table 2 The effects of clinical used disinfectants on OC-Hemocatch.

Sample	Dilution for Use (%)	False Positive	Detection of Human Hemoglobin
Benzalkonium Chloride	0.2	+	N.T.
Benzethonium Chloride	0.2	+	N.T.
Alkyl Diaminoethyl Glycine Hydrochloride	0.2	+	N.T.
Chlorhexidine Gluconate	0.5	+	N.T.
Cresol and Soap Solution	1	—	—
Sodium Hypochlorite	0.05	—	—
Glutalaldehyde	3.5	—	— ^{a)}
Ethanol for Disinfection	80	—	+

N.T., Not tested.

^{a)}, Invalid test because of no visible line in control window.

を行った。その結果、ヘモディアではヘモキャッチと同様に偽陽性反応が認められたが、クイックチェイサーでは認められなかった (Data not shown)。

3 偽陽性反応と界面活性剤のイオン性との関連

ヘモキャッチの偽陽性反応と界面活性剤のイオン性との関連性について、陰イオン性、陽イオン性、非イオン性および両イオン性界面活性剤を用いて検討を行った。

PBS で 1% に調製した各種界面活性剤をヘモキャッチのサンプルウェルに滴下したところ、Table 3 に示すように非イオン性および両イオン性界面活性剤はすべて陰性であったが、陰イオン性界面活性剤 1 種および今回用いた 3 種すべての陽イオン性界面

活性剤で偽陽性反応が認められた。偽陽性反応が認められた界面活性剤 4 種について、ヘモディアを用いて検討を行ったところ、陽イオン性界面活性剤 3 種で偽陽性反応が認められた。陰イオン系界面活性剤である alkyl sulfosuccinate salt については、混合液が判定用反応板から流出してしまったため判定できなかった。一方、クイックチェイサーでは 4 種すべてで偽陽性反応は認められなかった (Data not shown)。

考 察

本研究において、一般家庭で使用されている台所用洗剤および洗濯用洗剤の多くは偽陽性反応を呈す

Fig. 1. False-positive results in OC-Hemocatch.

Lane 1, 0.5% chlorhexidine gluconate in saline; lane 2, human blood diluted with saline to 1:50000 (positive control); lane 3, saline (negative control).

Each solution (100 μ l) was applied to sample well of OC-Hemocatch. The results were observed 10 min after the application. False positive (lane 1) or positive (lane 2) results are indicated by the formation of blue lines in test windows (arrows) and control windows. A negative result (lane 3) is indicated by the formation of a blue line in control window only.

る可能性が低いことが示された。一方、何らかの原因で資料に界面活性剤系等の消毒薬が混入した場合には、偽陽性による誤判定を招く可能性が示された。また、イオン性の異なる界面活性剤を用いた検討により、人血検査の偽陽性反応は陰イオン性および陽イオン性の界面活性剤で起こる可能性が示された。

ヘモキャッチおよびラテックス凝集法による検査試薬であるヘモディアには、抗ヒトヘモグロビン A_0 マウスおよびウサギ抗体を吸着させたラテックス粒子が用いられており、これらはいずれも正に荷電している。ヘモディアのラテックス溶液は、これらの電荷の電氣的反発により溶液中に分散して存在しているが、金属イオンが存在するとラテックス結合抗体の電荷が打ち消され、電氣的反発を失うことで凝集が生じることが知られている（栄研化学，personal communication）。電荷を有するイオン性の界面活性剤についても同様の現象が起こりうると考えられたため、ヘモディアを用いて検討を行ったところ、消毒薬およびイオン性界面活性剤でヘモキャッチと同様に偽陽性反応が認められた。つまり、

非イオン性および両イオン性界面活性剤では偽陽性反応が観察されず、界面活性剤系消毒薬および陰イオン性、陽イオン性界面活性剤等で偽陽性反応が観察されたのは、電荷を有する分子により抗ヒトヘモグロビン A_0 抗体結合ラテックス粒子の電荷が打ち消され、凝集が起こったためではないかと考えられる。

一方、ヘモキャッチにおいては、電荷が打ち消され、凝集してかさ高くなった抗ヒトヘモグロビン A_0 抗体結合ブルーラテックス粒子が、テストウィンドウ上に固定された抗ヒトヘモグロビン抗体に非特異的に捕捉されることで偽陽性反応を呈する可能性が考えられた。ヘモキャッチおよびヘモディアにおける偽陽性反応の可能性は臨床においても報告されている⁹⁾。

なお、台所用洗剤および洗濯用洗剤において偽陽性反応が認められなかったのは、主成分である非イオン性界面活性剤あるいは直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムが偽陽性反応を示さない成分であるためと考えられた（Table 1a, b, 3）。

ヘモキャッチにおける偽陽性反応がラテックス標

Table 3 False-positive results for surfactants of various ion types in OC-Hemocatch.

Sample No.	Ion Type	Basic Structure	False Positive
1	Anion	Alkyl Sulfosuccinate Salt	+
2		Alkylbenzene Sulfonate Salt	—
3		Sodium Alkyl Sulfate	—
4	Cation	Alkyl Ammonium Salt	+
5		Alkyl Ammonium Salt	+
6		Alkyl Dimethyl Benzyl Ammonium Salt	+
7	Nonion	Decaglycerin Fatty Acid Ester	—
8		Glycerin Fatty Acid Ester	—
9		Polyethylene Glycol Fatty Acid Ester	—
10		Polyglycerin Fatty Acid Ester	—
11		Polyglycerin Fatty Acid Ester	—
12		Polyoxyethylene Alkyl Ether	—
13		Polyoxyethylene Alkyl Ether	—
14		Polyoxyethylene Alkyl Ether Acetate	—
15		Polyoxyethylene Alkyl Ether Phosphate	—
16		Polyoxyethylene Alkyl Phenyl Ether	—
17		Polyoxyethylene Alkyl Phenyl Ether	—
18		Polyoxyethylene Alkyl Phenyl Ether	—
19		Polyoxyethylene Hardened Castor Oil	—
20		Polyoxyethylene-Polyoxypropylene Alkyl Ether	—
21		Polyoxyethylene Sorbitan Fatty Acid Ester	—
22		Polyoxyethylene Sorbitan Fatty Acid Ester	—
23		Polyoxyethylene Sorbitan Fatty Acid Ester	—
24		Polyoxyethylene Sorbitan Fatty Acid Ester	—
25		Polyoxyethylene Sorbitan Fatty Acid Ester	—
26		Sorbitan Fatty Acid Ester	—
27	Amphoteric	Lauryl Betaine	—
28		Imidazolium Betaine	—

識抗体に特徴的であるか確認するために、金コロイド標識抗体を採用したイムノクロマトグラフィー法による便潜血検査試薬であるクイックチェイサーを用いて同様の検討を行った。その結果、偽陽性反応は認められず、金コロイド標識抗体は今回検討した洗剤等の影響を受けない可能性が示された。

消毒薬を用いた検討において、偽陽性反応が認められた塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、塩化アルキルジアミノエチルグリシンおよびグルコン酸クロルヘキシジンは、人体から医療器具まで幅広く使用される消毒薬である。したがって、医療現場から採取された資料の場合あるいは消毒処理された器具を用いて検査を行う場合には、これらの

消毒薬の混入による誤判定に十分な注意が必要である。

また、台所用洗剤および洗濯用洗剤がヒト血液に混入した場合、ヘモキャッチによるヒトヘモグロビンの検出が不可能となることが示された。台所用洗剤および洗濯用洗剤には、界面活性剤に加えてタンパク分解酵素等の成分が含まれるため、界面活性剤によるタンパク変性に加えてタンパク分解酵素によるヒトヘモグロビンの分解により、ヘモキャッチによるヒトヘモグロビンの検出が不可能となったと考えられた。一方、グルタルアルデヒドが混入したヒト血液については、判定ラインに加えて対照ラインの発色も認められなかった。その原因として、強力

な変性作用を有する消毒薬による標識抗体の分解および抗原抗体反応の阻害が考えられた。

結 語

ヘモキャッチは、各種法科学的資料からの人血検査に有用である一方、消毒薬や洗剤が混入した場合には、偽陽性による誤判定あるいはヘモグロビンの分解や抗原抗体反応の阻害による陰性化を招く可能性が示された。臨床検査試薬は、検査用に採取された清浄な生体資料に対する試薬であり、種々の夾雑物の混入の可能性がある法科学的資料への応用を想定して開発されたものではない。ヘモキャッチを用いた人血検査に限らず、臨床検査試薬を用いて各種法科学的資料に対する検査を行う場合には、必ず陰性対照を置いて資料の状態に十分注意する必要があると考えられた。また、沈降重層法等の従来の方法で人血検査を行った場合でも、界面活性剤による偽陽性反応あるいは陰性化が生じることが報告されているので^{1,2)}、界面活性剤等の混入が疑われる資料に対する人血検査には、いずれの方法においても細心の注意が必要であると考えられた。

謝 辞

本検討に際して、各種界面活性剤を分与してくださった警察庁刑事局鑑識課基礎資料係東川佳靖課長補佐に深く感謝いたします。

文 献

1) 小林宏志, 富田功一: 血痕検査に及ぼす各種洗剤の影響について (第 1 報) — 洗剤成分の界面活

性剤などそのものの影響 —. 科警研報告, **19**, 1-15 (1966).

2) 小林宏志, 富田功一: 血痕検査に及ぼす各種洗剤の影響について (第 2 報) — 市販洗剤自体の影響およびそれを用いて洗った血痕についての検査 —. 科警研報告, **19**, 8-20 (1966).

3) OC-ヘモキャッチ ‘栄研’ パンフレット: 栄研化学株式会社, 東京 (1996).

4) OC-ヘモキャッチ ‘栄研’ 基礎データ集: 栄研化学株式会社, 東京 (1996).

5) 須藤一郎, 大坪隆男, 清水慎介, 中田健一, 中村穰, 日高道生, 五頭三秀, 木幡義彰, 竹下俊隆, 宮岡正明, 斎藤利彦: 免疫学的便潜血検査 OC-ヘモキャッチおよび新採便容器の使用経験. 医学と薬学, **31**, 459-463 (1994).

6) 高木孝, 郡山一夫, 氏家欣弥, 土屋昌弘, 橋谷田真樹: 糞便中ヘモグロビン検出用試薬「OC-ヘモキャッチ」のヒト血液検査への応用. 法医学の実際と研究, **38**, 101-104 (1995).

7) 松村一利, 内村裕光, 岩瀬晋, 浜田希世: 免疫学的便潜血検出試薬の種属特異性について. 日本鑑識科学技術学会第 5 回学術集会講演要旨集, p. 27, (1999).

8) 白石智子, 関口和正, 大森毅: 臨床用ヒトヘモグロビン検出用試薬「OC-ヘモキャッチ」の人血証明への応用. 鑑識科学, **7**, 159-165 (2003).

9) 井上淳, 恩田玲子, 澤樹妙子, 飯野幸永, 大津文雄: イムノクロマトグラフィー法を中心とした免疫学的便潜血検査法の基礎的検討. 医学と薬学, **35**, 899-908 (1996).