

薬物血中濃度測定に及ぼす各種市販血清分離剤の影響^{*1}

河野ひとみ, 猪爪信夫, 有森和彦, 岩奥玲子, 中野真汎
熊本大学医学部附属病院薬剤部^{*2}

Effect of Commercially Available Serum Separators on Measured Serum Drug Concentrations^{*1}

HITOMI KAWANO, NOBUO INOTSUME, KAZUHIKO ARIMORI, REIKO IWAOKU and MASAHIRO NAKANO

Department of Pharmacy, Kumamoto University Hospital^{*2}

(Received February 20, 1986)

The effects of commercially available serum separators on measured serum drug concentrations were examined. Blood samples were drawn into Vacutainer Serum Separator Tube (SST) and tubes without the separator gel (Venoject Red Top tube) from patients taking antiepileptic drugs. The serum levels of phenytoin, phenobarbital, carbamazepine, and valproate were then determined by fluorescence polarization immunoassay procedure. A significant decrease in measured concentrations of phenytoin and phenobarbital was observed when SST was used.

Three commercially available serum separators, SST, Venoject AutoSep, and Auto Iso-Filter were compared for their effects on the measured concentrations of phenytoin using blood samples containing the known amounts of phenytoin. All of these separators caused decreases in drug concentrations, but the extents of the decreases were different among the three separators. The most remarkable effect was found in Auto Iso-Filter, followed by SST. The effect of AutoSep was slight. It was found that the decrease in the measured drug concentrations was greatly influenced by the duration of exposure to the separators and the volume of blood samples.

The similar effects of the separators were also found in lidocaine.

These results suggested that the serum separator must be carefully chosen before the use for the determination of serum levels of the drugs.

Keywords—serum separator; TDM; serum level; antiepileptic agent; lidocaine

はじめに

ファーマコキネティックスの薬物療法への応用として、臨床の場でも薬物血中濃度モニタリングが盛んに行われるようになり、測定機器の進歩とも相まって患者個々の薬物体内動態が正確かつ迅速に予測可能となってきた。これら血中濃度モニタリングのルーチン化に伴い、血清分離の簡便さのために血清分離剤入採血管も広く用いられるようになった。この血清分離剤は、血漿と血球

成分との間の比重をもつ高分子のゲルで、血液とともに遠沈することにより、容易に血清分離がなされ、そのまま貯蔵、輸送することも可能である。血清分離剤入採血管は本来生化学値検査用として繁用されており、生化学値に対しての検討はなされているが、薬物の測定値に対する影響への検討はまだ少ない^{1~3)}。

そこで今回、当院で血中濃度モニタリングを実施している抗てんかん薬を中心いて、各種血清分離剤の薬物濃度測定値に及ぼす影響について検討したので報告する。

*1 第51回九州山口薬学会（嬉野、1985年10月）で発表。

*2 熊本市本荘1丁目1-1；1-1, Honjo 1-chome, Kumamoto, 860 Japan

実験の部

1. 血清分離

血清分離剤入採血管として 5 ml Vacutainer Serum

Separator Tube (Lot No. 3F947, Becton Dickinson 社製, 以下 SST と略す), および 7 ml Venoject Auto-Sep (Lot No. 840227A, Terumo 社製) の 2 種を, また, ろ過型血清分離剤 Auto Iso-Filter (Becton Dickinson 社製) を加え, 3 種類の市販血清分離剤で検討した. 分離剤の入っていない採血管としては 5 ml Venoject Red Top tube (Lot No. 840325, Terumo 社製) を用いた.

2. 患者検体

当院で受診中の抗てんかん薬服用患者からの採血を Red Top tube と SST にて行い検体とした. 採血は通常の薬物濃度モニタリング (TDM) 業務の一環として行い, 併用薬, 採血量等についての制限は行わなかった. 患者検体が血中濃度測定室に到着後, $3000 \times g$ で 10 分間遠沈し, その後の両採血管内薬物濃度を測定した. 測定は, 当院でルーチン業務としている抗てんかん薬中, フェニトイン, フェノバルビタール, カルバマゼピン, バルプロ酸について行った. さらに, 各検体を 4°C で保存し, 1, 2, 3, 4 週間後に両採血管内濃度を定量し, 経時的变化を観察した.

3. In Vitro 実験

上記の検討で著しい濃度低下が認められたフェニトインについて, 3 種血清分離剤, SST, AutoSep, Auto Iso-Filter による濃度変化を比較検討した. Auto Iso-Filter はろ過型分離剤であるため, 分離剤の入っていない採血管 Red Top tube と組み合わせて用いた. フェニトインメタノール溶液の一定量をとり, 蒸発乾固し, 健常人ボランティアからヘパリン加で採血した全血を添加混和して治療有効濃度域⁴⁾ である $15 \mu\text{g}/\text{ml}$ の血液試料を調製した. この血液を各 4 本の SST, AutoSep, Auto Iso-Filter に 2 ml ずつ加え, これらを上下したのち遠沈し, その後及び 4°C 保存条件下で, 5 時間後, 1 日後, 7 日後に採血管内の血漿の一部を分取し, 各濃度を測定した. なお, 患者試料での検討で濃度に影響のみられなかった Red Top tube を対照として用いた.

また, フェニトイン初期濃度の影響も検討するため, 有効濃度下域 ($6 \mu\text{g}/\text{ml}$) および上域 ($22 \mu\text{g}/\text{ml}$) の血液についても同様の検討を行った. さらに採血管内に加える血液量を 1, 2, 3, 4 ml と変化させ, 採血量による濃度変化への影響も検討した. SST と AutoSep では血液添加から遠沈までの時間を 1, 5, 24, 168 時間と変化させ, 全血状態保存下での薬物濃度の変化を観察した. 加えて, リドカインについても同様に三種血清分離剤での比較検討を行った.

4. 定量法

各薬物血中濃度測定は, すべて蛍光偏光免疫法を原理とする TDX-全自動蛍光偏光測定装置「アボット」(TD X-Analyzer: Dinabot) により行った.

結果及び考察

1. 患者検体

精神神経科 13 名, 小児科 11 名の患者からの血液サンプルにつき, 通常のルーチン業務条件下での遠沈直後の SST, Red Top tube 両採血管内薬物濃度測定結果を Table 1 に示す. Red Top tube 内濃度に比較し, SST 内での薬物濃度は, フェニトイン, フェノバルビタール, カルバマゼピンで低下しており, フェニトイン, フェノバルビタールの低下率は, 危険率 1 % 以下で有意なものであった. これらの検体を 4°C で保存し, 時間の経過による濃度の変化を観察すると, Red Top tube 内濃度に変化はみられず, SST では Fig. 1 に示すように, フェニトイン, フェノバルビタール, カルバマゼピンで濃度低下が進行し, フェニトインで最も著しく, フェノバルビタールとカルバマゼピンでは同程度の低下を示した. バルプロ酸に関しては, 遠沈直後より SST と Red Top tube 内濃度に差はみられず, 保存時間の延長によっても濃度の低下はみられなかった.

SST 内で最も著しい濃度低下が観察され, また, 濃度測定依頼頻度も高いフェニトインについて, AutoSep,

Table 1. Evaluation of Patient Samples

Drug	n	Drug concn in tube		Percent of difference	
		Red Top tube μg/ml	SST μg/ml	%	
Phenytoin	11	11.6 ± 2.0	10.7 ± 1.8	7.5 ± 1.7	$p < 0.01$
Phenobarbital	16	17.1 ± 1.4	16.4 ± 1.4	4.6 ± 0.7	$p < 0.01$
Carbamazepine	7	6.4 ± 1.0	6.1 ± 0.9	3.8 ± 2.4	NS
Valproate	7	61.0 ± 8.8	62.3 ± 9.3	-1.7 ± 0.6	NS

Mean \pm SEM

NS, not significant at the 0.05 level of confidence.

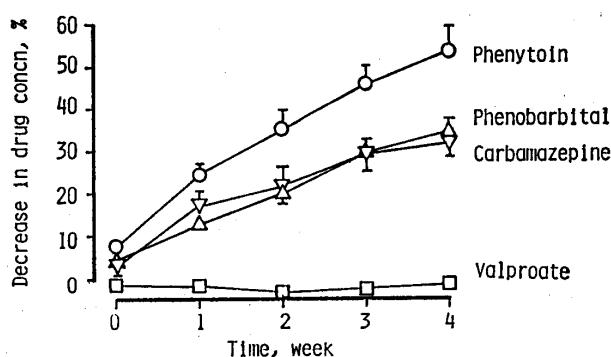


Fig. 1. Relationship between Decrease in Measured Antiepileptic Drug Concentrations and Duration of Exposure to the Separators

Mean \pm SEM, n=11 (phenytoin), n=16 (phenobarbital), n=7 (carbamazepine), n=7 (valproate)

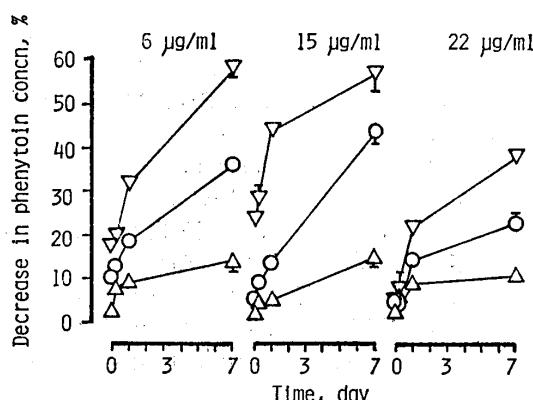


Fig. 2. Effect of Initial Concentrations and Duration of Exposure on Decrease in Measured Phenytoin Concentrations by Separators

○ SST; △ AutoSep; ▽ Auto Iso-Filter, Mean of four measurements

Auto Iso-Filter を加えた 3 種製品での検討を行った。SST と同様、AutoSep, Auto Iso-Filter いずれでも濃度の低下は生じたが、その程度は製品により異なっており、Fig. 2 に示すように、Auto Iso-Filter の場合、遠沈直後より、その低下率は著しく、分離剤との接触時間の延長に伴い低下率は増大し、7 日後のフェニトイン濃度は 50% 以下に低下した。SST の場合も、遠沈後 5 時間の保存で約 9%，24 時間で約 15% の低下を示し、経時にさらに低下は進行した。AutoSep でも濃度低下は生じたが、他の 2 製品と比較すると低下率は低く、接触時間の延長による低下率の増大もある程度抑えられていた。この傾向は、フェニトイン初期濃度が有効濃度上域、下域の場合でも同様に観察された。初期濃度が 22 µg/ml と

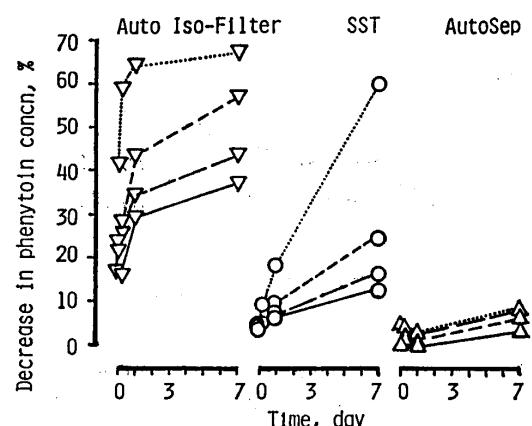


Fig. 3. Effect of Blood Volumes and Duration of Exposure on Decrease in Measured Phenytoin Concentrations by Separators

....., 1 ml; ---, 2 ml; —, 3 ml;
—, 4 ml, Mean of four measurements

高濃度の場合、フェニトイン濃度の低下率が比較的小さい傾向もみられたが、3 濃度の各保存時間での低下率を比較すると初期濃度と低下率の間に明らかな相関は観察されなかった。

これに対し、Fig. 3 に示すように、採血管内に加える血液量を変化させた場合、液量が 1 ml から 4 ml へ増加するに伴い、その低下率は減少し、採血量による濃度変化への影響が示唆された。各製品での変化を観察すると、Auto Iso-Filter では、遠沈直後より液量に応じた著しい濃度低下が生じており、時間の経過に伴い、各液量で同様の低下率の増大を示した。SST では接触時間の延長につれて、その液量による低下率への影響が強くあらわれた。AutoSep では、元来低下率が低いこともあ

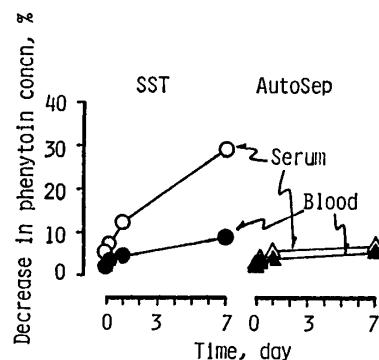


Fig. 4. Difference in the Extent of Decrease in Measured Phenytoin Concentrations between Serum and Blood Samples
Mean of four measurements

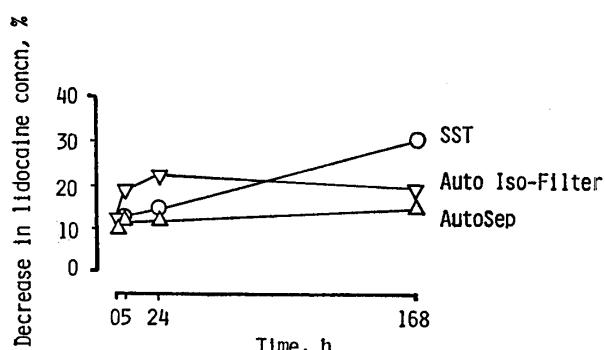


Fig. 5. Effect of Duration of Exposure on Decrease in Measured Lidocaine Concentrations by Separators
Mean of three measurements

り、液量による影響は少なかった。

また、SST と AutoSep は、採血から輸送、保存にまで用いられることから、遠沈せずそのまま保存した場合と、遠沈し血漿が分離剤と直接接触する状態で保存した場合の濃度を比較し、保存条件についても検討した。Fig. 4 に示すように、同時間の経過においてその濃度の低下に差がみられ、血球成分の存在により血漿中薬物濃度の低下が抑えられることがわかった。

さらに、抗不整脈薬であるリドカインについても、SSTにおいてフェニトインと同等の著しい濃度低下が報告¹⁾されており、今回フェニトインと同様、3 製品での比較検討を行った。Fig. 5 に示すように、SST, AutoSep では、フェニトインと類似の濃度低下を示したが、

Auto Iso-Filter ではフェニトインほどの著しい低下は示さず、薬物の種類により濃度変化への影響が異なることが予想された。

まとめ

血清分離剤の薬物濃度測定値に及ぼす影響は、その影響をうける薬物、程度が、各製品により種々異なっていること、また、同じ分離剤を用いた場合でも、採血管量、保存時間、特に遠沈後血漿と分離剤との直接接觸時間等、検体の取り扱い方により、大きく異なってくることが明らかになった。現段階では、分離剤の入っていない採血管を用いることが、最も信頼できる測定値を与えると思われるが、やむを得ず血清分離剤を用いる場合、目的とする薬物について十分検討を行い、最適な分離剤を選択すべきであると考えられる。

引用文献

- 1) F. Quattrochi, H.T. Karnes, J.D. Robinson and L. Hendeles: Ther. Drug Monit., 5, 359 (1983).
- 2) Y. Bergqvist, S. Eckerbom and L. Funding: Clin. Chem., 30, 465 (1984).
- 3) 西原カズヨ, 幸田幸直, 斎藤侑也: 日本薬学会第105年会講演要旨集, 834 (1985).
- 4) 田村善蔵, 斎藤正行監訳: ドラッグレベルモニタリング, 広川書店, 東京, 1982, p.272.
- 5) ダイナボット株式会社: 全自動血中濃度測定システム使用の手引き