

Jpn. J. Hosp. Pharm.
— 一般論文 —
15(4) 285-291 (1989)

血清分離のための血液採取管中での血清中薬物濃度変化*1

西原カズヨ*2, 幸田幸直*2, 齋藤侑也*2a

東京大学医学部附属病院薬剤部*2

Change in Serum Drug Concentrations in Blood Collection Tubes for Serum Separation*1

KAZUYO NISHIHARA*2, YUKINAO KOHDA*2, and YUKIYA SAITOH*2a

Hospital Pharmacy, Faculty of Medicine, University of Tokyo*2

(Received April 17, 1989)

Change in serum drug concentrations was examined to serum contained 27 drugs in four kinds of blood collection tube for serum separation. There was no change in serum drug concentrations for all of the test drugs in polystyrene spitz (Toyokizai Co.) and clot activator tube without serum separator (CAT, Becton Dickinson Co.). On the other hand, there were significant concentration decrease (0.5ml serum, 5% decrease at 48 hr) for 10 drugs, carbamazepine, carbamazepine-10,11-epoxide, primidone, phenylethylmalonamide, phenobarbital, phenytoin, lidocaine, quinidine, cyclosporin and pentobarbital, in Vacutainer® SST (SST, Becton Dickinson Co.) and 8 drugs except primidone and phenylethylmalonamide in Benoject® tube (Terumo Co.) containing serum separator. The degree of the reduction in serum drug concentration in the SST was larger than that in the Benoject®.

The degree of the reduction in serum phenytoin and lidocaine concentrations stored at 2—8°C was smaller than that stored at room temperature in the SST. From these results, it is found that the effect of serum separator on the serum drug concentrations varies with temperature.

Keywords—serum drug concentration; blood collection tube; serum separator; temperature

血中薬物濃度測定のための試料としては、抗凝固剤による測定値への影響を避けるために主に血清が用いられる。そのために、迅速な血清分取が可能であると共に血清保存容器としても用いることができ、臨床検査などで繁用されている血清分離剤入採取管が利用されている。しかし、それら採取管のうちバキュテナー® SST (Becton Dickinson Co.) を用いて得た血清では、フェニトイン (PHT)、リドカイン (LID) 及びペントバルビタール (PTB) は血清分離剤に吸収あるいは吸着され

て、薬物濃度が低くなると Quattrocchi らによって報告されている¹⁾。

本報告では、Quattrocchi らが検討した薬物中クロラムフェニコールを除く9種類の薬物に加えて、現在わが国で治療上血中濃度モニタリングが必要とされている18種類の薬物(3種類の代謝物を含む)について、血清分離剤を含まないポリスチレン製血液採取管を対照にして、血液凝固を促進させるために管内壁にシリコンを付着させただけのガラス製血液採取管、および血清分離剤をも含んだ2種類の血液採取管の3者について採取管中での血清中薬物濃度変化を検討した。

実験の部

1. 試料

*1 本研究の一部は、日本薬学会第105年会(1985年)で報告。

*2 東京都文京区本郷7丁目3-1:3-1, Hongo 7-cho-me, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

*2a 現在: 日本大学医学部附属板橋病院薬剤部

対照の血清分離剤を含まない血液採取管としては、せん付ポリスチレン製スピッツ（東洋器材株式会社）を用いた。血液凝固促進のためにガラス管内壁にシリコンを付着させた採取管としては、Vacutainer® CLOT ACT-IVATOR TUBE(CAT と略す, Becton Dickinson Co.)を用いた。ガラス管内壁にシリコンを付着させるとともに血清分離剤をも含んだ採取管としては、パキュテナー® SST (SST と略す, Becton Dickinson Co.) 及びベノジェクト® 真空採血管 (BJT と略す, テルモ株式会社) を用いた。いずれも 10ml 容量である。

試験薬物としての PHT, フェノバルビタール(PB) 及びプリミドン (PRM) は日本薬局方品を用いた。フェニルエチルマロンアミド (PEMA) は Ayerst 社, カルバマゼピン (CBZ) は藤沢薬品工業, カルバマゼピン-10,11-エポキシド (CBZ-epoxide) は日本チバガイギー, メチルジゴキシンは山之内製薬, シクロスポリン (CYA) はサンド薬品から提供を受けた。ジゴキシン, ジギトキシン, テオフィリン, リチウム標準液 (原子吸光分析用) は和光純薬工業, ペントバルビタールナトリウムは東京化成工業から購入した。

PHT, PB, CBZ, PRM及びそれら後2者の代謝物である CBZ-epoxide 及び PEMA を共に含む血清は、健常人血清を用いて調製した。PTB, テオフィリン, リチウム, ジゴキシン, ジギトキシン, メチルジゴキシン及び CYA をそれぞれ含む血清は、それぞれの薬物について健常人血清を用いて3水準の濃度のものを調製した。エトスクシミドを含む血清は、Emit® AED キャリブレータ (第一化学薬品), バルプロ酸, アミカシン, カナマイシン, ゲンタマイシン, ジベカシン, トブラマイシン, キニジン (QND), ジソピラミド, プロカインアミド, N-アセチルプロカインアミド, LID, サリチレート及びメトトレキサートをそれぞれ含む血清は、TDX-キャリブレータあるいは TDX-コントロール (ダイナボット) のそれぞれ3水準の濃度の薬物添加血清を用いた。

SST 中に血液及び血清を添加して血清中 PHT濃度の経時変化を調べる試験では、PHT を服用した著者らの中の1名の健常人から採取した血液及びその血液をガラス試験管に入れて遠心分離して得た血清を用いた。

2. 測定方法

血清中の PHT, PB, CBZ, CBZ-epoxide, PRM, PEMA 濃度は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)^{2),3)}, バルプロ酸及びエトスクシミド濃度はガスクロマトグラフィー^{4),5)}, により測定した。血清中 PTB⁶⁾ 及びテオフィリン²⁾ 濃度はそれぞれ HPLC により測定した。血清中 CYA 濃度は Yee らの方法⁷⁾ を一部改変したHPLC

により測定した。血清中ジゴキシン, ジギトキシン及びメチルジゴキシン濃度は、ヘテロジニアスエンザイムイムノアッセイ (MARKIT®, 大日本製薬) により測定した。ただし、メチルジゴキシンは MARKIT® ジゴキシンを用いて測定した。血清中リチウム濃度はフレイム分析法により測定した⁸⁾。その他の薬物の血清中濃度は、螢光偏光イムノアッセイ (アボット-TDX, ダイナボット) により測定した。

3. 血液採取管中での血清中薬物濃度変化

薬物添加血清は血液採取管に添加する前にそれぞれの薬物濃度を3回測定し、測定値の平均値を標準値とした。3本ずつ用意した対照を含む4種類の採取管に同一薬物添加血清を0.5ml ずつ添加し、せんをして室温に放置した。5, 24, 48時間後ごとに各採取管を1本ずつ取り、せんにより血清が接触しないように軽く振りまぜた後、直ちに血清をスクリュウキャップ付ガラス瓶に移して薬物濃度測定時まで冷蔵庫中に保存した。

バルプロ酸及びエトスクシミドを除く他の抗てんかん薬については、血清量を0.5ml 用いた場合と同様に1, 2 および3ml に増量した場合の SST 中での薬物濃度変化を検討した。

4. 血液又は血清を SST 中に添加時の血清中 PHT 濃度変化

著者らの中の1名の健常人から採取した血液を共せん付ガラス試験管中でゆっくりと転倒混和した。その血液1.0ml ずつを3本の SST 中に添加してゴムせんをし、室温に2, 5 および24時間放置後1本ずつ取り、3,000 rpm で5分間遠心分離した。血清を直ちにスクリュウキャップ付きガラス瓶に移して、血清中 PHT 濃度測定時まで冷蔵庫中に保存した。残りの血液も3,000rpm で遠心分離し、血清を分取し、その血清中の PHT 濃度を3回測定して、その平均値を標準値とした。残りの血清0.5ml ずつを3本の SST 中に添加してゴムせんをし、室温に2, 5 及び24時間放置後1本ずつ取り、せんにより接触しないように軽く振りまぜた後、直ちに血清をスクリュウキャップ付ガラス瓶に移して、血清中 PHT 濃度測定時まで冷蔵庫中に保存した。この健常人のヘマトクリット値は43%であった。

5. SST 中の血清中 PHT濃度変化に及ぼす遠心分離操作の影響

PHT を含む同一血清0.5ml ずつを10本の SST 中に添加し、ゴムせんをして室温に5時間放置した。その中の5本の SST は3,000rpm で5分間遠心分離した後、血清がゴムせんに接触しないように軽く振りまぜた後、

Table 1. Change in Serum Drug Concentrations in Blood Collection Tubes

| Drug | Change in serum drug concentration | | | |
|-----------------------------|------------------------------------|------|----------|----------|
| | PST | CAT | SST | BJT |
| Carbamazepine | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Carbamazepine-10,11-epoxide | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Ethosuximide | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Phenobarbital* | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Phenytoin* | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Primidone | n.c. | n.c. | decrease | n.c. |
| Phenylethylmalonamide | n.c. | n.c. | decrease | n.c. |
| Valproic acid | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Amikacin | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Dibekacin | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Gentamicin* | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Kanamycin | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Tobramycin | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Disopyramide | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Lidocaine* | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Procainamide | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| N-acetylprocainamide | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Quinidine* | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Digitoxin | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Digoxin* | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Methyldigoxin | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Theophylline* | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Lithium | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Methotrexate | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |
| Cyclosporin | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Pentobarbital* | n.c. | n.c. | decrease | decrease |
| Salicylate | n.c. | n.c. | n.c. | n.c. |

PST: polystyrene spitz (Toyokizai Co.), CAT: Vacutainer® Clot Activator Tube (Becton Dickinson Co.), SST: Vacutainer® SST (Becton Dickinson Co.), BJT: Benoject® (Terumo Co.)

n.c.: less than 5% change in serum drug concentration at 48 h

* drug was tested by Quattrocchi, et al.

直ちにスクリーキャップ付ガラス瓶に血清を移した。残りの5本のSSTは遠心分離せずに、その中の血清は前者と同様にスクリーキャップ付ガラス瓶に移した。この血清はPHT濃度測定時まで冷蔵庫中に保存した。この試験は2水準の濃度のPHTを含む血清について行った。

6. SST中の血清中PHT及びLID濃度変化に及ぼす温度の影響

PHTを含む同一血清0.5mlずつを8本のSST中に添加し、ゴムせんをして4本を室温に、残りの4本を冷蔵庫中に放置して2, 5, 24, 48時間後にそれぞれ1本ずつ取り、せんに接触しないように血清を軽く振りまぜた後、直ちにスクリーキャップ付ガラス瓶に移してPHT濃度測定時まで冷蔵庫中に保存した。LIDを含む血清についても同様の処置を行った。

結 果

1. 血液採取管中での血清中薬物濃度変化

4種類の血液採取管中に血清を添加して室温に48時間放置した試験において、27種類の薬物の血清中濃度変化の有無を検討した。その結果はTable 1に示す通りで、血清分離剤を含まない採取管(対照及びCAT)では、い

ずれも48時間まですべての薬物において濃度変化は認められなかった。一方、SST及びBJT中では48時間にわたる分離剤との接触後に、それぞれ10及び8種類の薬物で5%以上の濃度低下が認められた。

SST及びBJT中で濃度変化が認められた薬物では、採取管中の分離剤との接触時間毎の血清中薬物濃度の標準値に対する変化率は、いずれの薬物においても初期濃度に依存せず、各時間においてよく一致した。そこで、それらの薬物のそれぞれ3水準の濃度血清について得た血清中薬物残存率の平均値を各接触時間毎に求めた。SST中で濃度変化が認められた薬物について、SSTとBJT中での平均血清中薬物濃度残存率の経時変化をFig. 1に示す。それぞれの薬物について比較すると、BJTではSSTに比べて血清中の薬物残存率が大きいことがわかった。

SST中で濃度低下が認められた6種類の抗てんかん薬について、SST中の血清量を0.5mlから1, 2及び3mlに変えた場合の各接触時間毎の血清中薬物濃度残存率をFig. 2に示す。いずれの時間においてもSST中での血清中薬物濃度残存率は、血清量の増加に伴い漸次大きくなった。

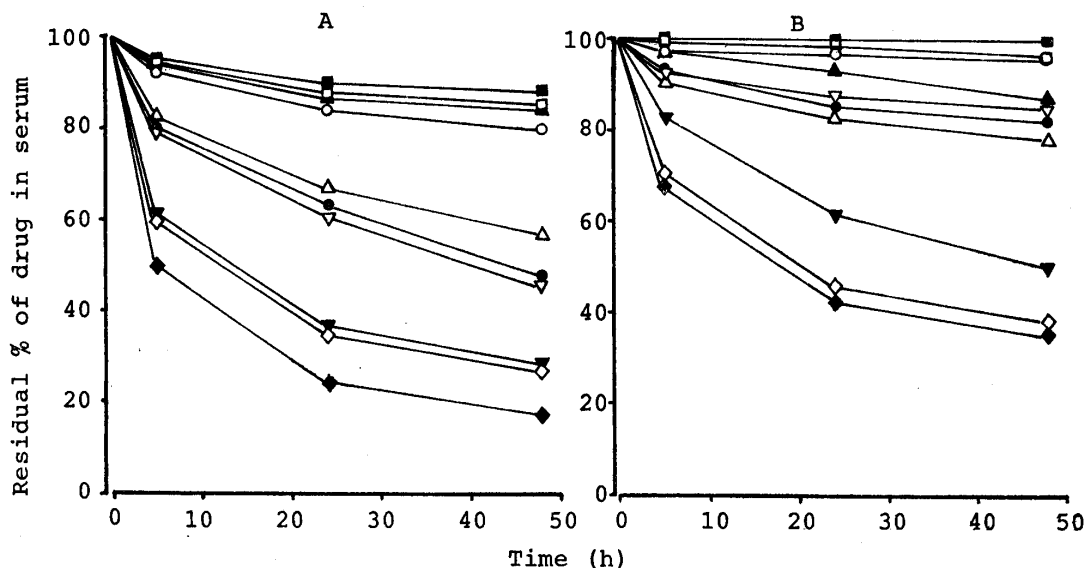


Fig. 1. Relationship between Time of Exposure to the Serum Separator and Residual % of Drugs in Serum (0.5ml) at Room Temperature

A: Vacutainer® SST, B: Benoject®

■ phenylethylmalonamide, □ primidone, ▲ carbamazepine-10,11-epoxide,
○ phenobarbital, △ carbamazepine, ● phenytoin, ▽ pentobarbital,
◇ cyclosporin, ▼ quinidine, ◆ lidocaine

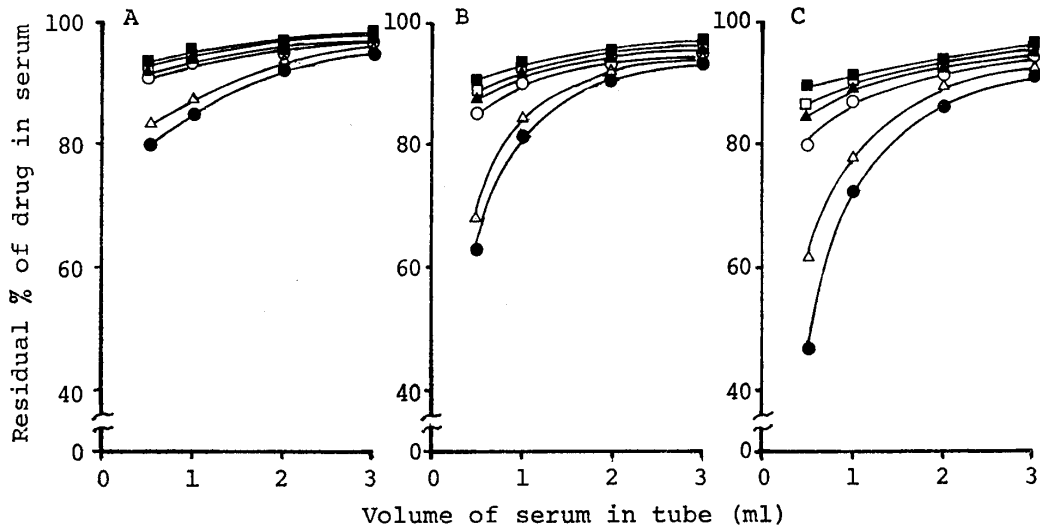


Fig. 2. Relationship between Volume of Spiked Serum Exposed to Serum Separator (Vacutainer® SST) and Residual % of Drug in Serum at Room Temperature
 A : at 5h, B : at 24h, C : at 48h
 ■ phenylethylmalonamide, □ primidone, ▲ carbamazepine-10,11-epoxide,
 ○ phenobarbital, △ carbamazepine, ● phenytoin

2. 血液又は血清を SST 中に添加時の血清中 PHT 濃度変化

PHT を含む血液 1 ml 又はその血液から分取した血清 0.5ml を SST 中に添加後の分離剤との接触時間と血清中 PHT の残存率との関係を Fig. 3 に示す. 血液の方は血清に比べて 2 倍量を用いたにもかかわらず, 同じ

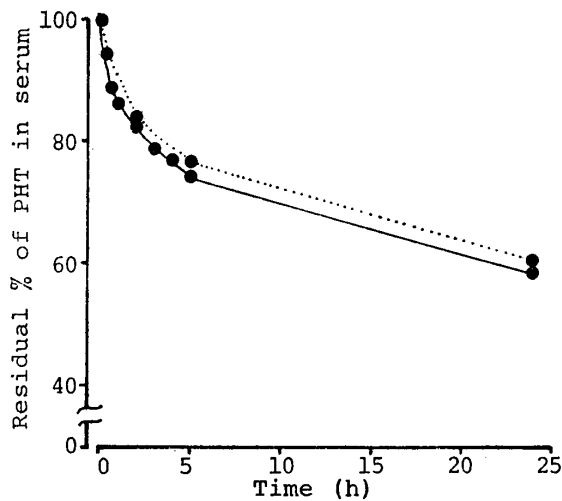


Fig. 3. Relationship between Time of Exposure to the Serum Separator (Vacutainer® SST) and Residual % of Phenytoin in Serum (0.5ml) at Room Temperature
 ...●... spiked 0.5ml serum
 —●— spiked 1.0ml whole blood

時間での血清中 PHT 残存率が小さい.

3. SST中の血清中 PHT 濃度変化に及ぼす遠心分離操作の影響

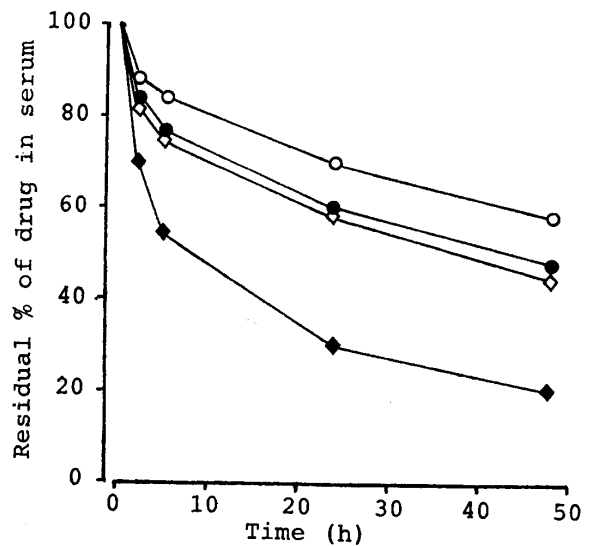


Fig. 4. Relationship between Time of Exposure to the Serum Separator (Vacutainer® SST) and Residual % of Phenytoin and Lidocaine in Serum (0.5ml) at 2—8°C and at Room Temperature
 ○ phenytoin, at 2—8°C
 ● phenytoin, at room temperature
 ◇ lidocaine, at 2—8°C
 ◆ lidocaine, at room temperature

2水準の PHT 濃度血清をそれぞれ SST に添加して、分離操作の影響を検討した。遠心分離操作を行わなかった群の血清中 PHT 濃度の平均値 \pm S.D. ($n=5$) は、それぞれ $29.3 \pm 0.8 \mu\text{g/ml}$ と $2.3 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ であった。一方、これらに対応する遠心分離操作を行った群では、それぞれ $26.4 \pm 1.1 \mu\text{g/ml}$ ($p < 0.05$) と $2.1 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ ($p < 0.01$) に低下した。

4. SST 中の血清中 PHT 及び LID 濃度変化に及ぼす温度の影響

PHT あるいは LID を含む血清を SST に添加して、 $2-8^\circ\text{C}$ の冷蔵庫内で分離剤と接触させたときの血清中薬物残存率の経時変化を Fig. 4 に示す。冷蔵庫内においても両薬物の血清中濃度は経時的に低下するが、室温放置に比べて各時間毎の残存率は大きかった。

考 察

Quattrocchi らにより10種類の薬物について¹⁾、次いで Orsulak により4種類の抗うつ薬について⁹⁾ 血清中濃度に及ぼす SST 中での血清分離剤の影響が検討され、LID, PHT, PTB, アミトリプチリン, イミプラミン, デシプラミンの濃度が低下すると報告されている。我々の結果では、0.5ml の血清を用いて室温で分離剤と接触させた場合、48時間で Quattrocchi らによって報告された3種類の薬物 (LID, PHT, PTB) 以外に7種類の薬物の血清中濃度が5%以上低下することを認めた (Table 1)。それらの中で QND と PB は、Quattrocchi らの報告では分離剤による影響が認められていない¹⁾。このことは、彼らのデータが日常業務としての血液処理に基づいた結果であることから、おそらく比較的多量の血液を用いて短時間で処理されており、そのために顕著な濃度低下が認められなかったものと考えられる。また、CAT 中では薬物の濃度変化が見られないことから、血清中の薬物濃度は血液凝固促進剤による影響を受けないと思われる。

SST と BJT はいずれも血清分離剤を含んでおり、血清中の薬物濃度を低下させるが、その変化率には差がみられる (Fig. 1)。この差は、SST 及び BJT 中の分離剤がそれぞれポリエステル及びポリオレフィン (いずれも組成は明らかでない) と異なる素材のものを用いているために生じたものと思われる。

Fig. 2 に示した異なる血清量を用いたときの血清中 PHT 残存率は、Quattrocchi らのデータにおいて血液量を 1ml から 6ml まで増した場合の結果と同様の傾向を示した。一方、Quattrocchi らの血液を用いた場合の SST 中での PHT の濃度低下率は¹⁾、1/2 量の血清

を用いた著者らの結果にほぼ匹敵することがわかった。

上記のことは Fig. 3 に示したデータから、血清中薬物濃度低下に及ぼす血清分離剤の影響は、血液中の血清量が大きく寄与しており、血球量はほとんど寄与しないことが考えられる。さらに Fig. 3 のデータでの血清量のみについて比較すると、血液 1ml 中の血清量はヘマトクリット値から 0.57ml に相当する。そこで Fig. 2 の結果をこれにあてはめるならば、血液 1ml を用いた場合の血清中 PHT 残存率は、血清を 0.5ml 用いた場合の残存率よりも大きくなることが考えられた。しかし、実際には逆の結果が得られた。この矛盾する結果は、血液では血清分離のために遠心分離操作を行い、血清を用いた場合にはそれを行わなかったことから、遠心分離操作の影響によることが考えられた。

そこで、そのことを証明するために同じ PHT 濃度の血清を SST 中に添加して、遠心分離した群と遠心分離しない群とを比較したところ遠心分離操作により有意な濃度低下が認められた。さらに、この遠心分離操作を行うことにより生じた濃度低下は、5分間の遠心分離操作によって遠心分離器内の温度が室温よりも約 5°C 上昇することから温度差によることが考えられた。この温度変化により生じる血清中薬物残存率の差は、Fig. 4 に示した PHT 及び LID の冷蔵庫内放置と室温放置の結果から明らかである。

以上のことから、血清分離剤を含む血液採取管中での血清中薬物濃度変化の程度は、試験管内の血液量、ヘマトクリット値、放置温度あるいは放置時間などによって変わるので、たとえ採血量が多く短時間で処理できるとしても濃度低下が認められる薬物については SST 及び BJT を用いないほうがよい。さらに、これまでに検討されていない薬物については、SST を用いる場合、予め薬物濃度変化の有無を確かめる必要がある。

引用文献

- 1) F. Quattrocchi, H. T. Karnes, J. D. Robinson, and L. Hendeles, *Ther. Drug Monitor.*, **5**, 359-362 (1983).
- 2) 西原カズヨ, 幸田幸直, 齋藤侑也, 中川富士雄, 田村善蔵, *病院薬学*, **8**, 211-216 (1982).
- 3) 西原カズヨ, “改訂 薬物治療適正化のための薬物血中濃度測定の実際”, 田村善蔵, 堀岡正義編, 薬業時報社, 東京, 1984, pp. 240-252.
- 4) 幸田幸直, 西原カズヨ, 齋藤侑也, 中川富士雄, 田村善蔵, *医学のあゆみ*, **115**, 813-815 (1980).
- 5) 幸田幸直, “改訂 薬物治療適正化のための薬物血中濃度測定の実際”, 田村善蔵, 堀岡正義編, 薬業時報社, 東京, 1984, pp. 253-267.

- 6) K. Nishihara, Y. Kohda, H. Tsutsumi, M. Sasaki, T. Aruga, H. Toyooka, and K. Mii, *Neurol. Med. Chir.*, **22**, 617-622 (1987).
- 7) G. C. Yee, D. J. Gmur, and M. S. Kennedy, *Clin. Chem.*, **28**, 2269-2271 (1982).
- 8) 本多 裕, 西原カズヨ, *精神医学*, **24**, 199-209 (1982).
- 9) P. J. Orsulak, M. Sink, and J. Weed, *Ther. Drug Monitor.*, **6**, 444-448 (1984).

薬事日報社

薬価基準制度

その全容と重要通知—1988年版

厚生省保険局医療課 編

A5判290頁 定価3,708円(本体3,600円)〒260円
医療保険制度の概要, 薬価基準制度, 最近の薬価改正, 関係資料の4部構成で新算定方式決定を機に制度の全容を当局が簡潔に解説。通知集としても充実。

薬剤師のための デンタルメモ

河合 年朗 著

B6判184頁 定価3,090円(本体3,000円)〒260円
口腔衛生, 歯の解剖と病理などの基礎から歯磨・歯ブラシなど身近な話題, さらに各種処方例まで豊富なカラー図版でビジュアルに解説。

最近の新薬 第40集

A5判410頁 定価4,200円(本体4,078円)〒310円
わが国で毎年許可発売される新薬を広く集め, 約600品目を薬効別に分類し, 内容を公正に解説。1950年第1集創刊以来, 収録総数は28,000品目におよぶ。

薬事衛生六法 1989年版

厚生省薬剤師会 編

A5判810頁 定価3,914円(本体3,800円)〒360円
薬剤師法, 薬事法, 麻薬関係法, 毒劇物関係法をはじめ, 医師法, 憲法関係も収録。重要通知付。

東京本社 〒101 東京都千代田区神田和泉町1番地
大阪支社 〒541 大阪市中央区道修町2-1-10 山口ビル

☎(03)862-2141 FAX(03)866-8408 振替 東京5-80665
☎(06)203-4191