

抗菌薬スルバシリンによる ビュレット法血清総蛋白測定への影響

The antibiotic sulbacillin affects the biuret method for measuring serum total protein

酒本美由紀, 山中基子, 川述由希子, 堀田多恵子

要旨 抗菌薬であるスルバシリンの投与後の採血検体において、汎用自動分析装置で測定した総蛋白が異常な反応過程を示した症例を経験した。スルバシリンおよびスルバシリンの有効成分であるアンピシリンナトリウムを血清に添加しその影響を確認した結果、アンピシリンナトリウムが異常反応の原因であることが示唆された。異常な反応過程を捉えるチェック機構が有効であった症例であった。

Key words total protein, sulbacillin, Biuret, reaction curve, interferent

1. はじめに

血清総蛋白 (total protein : TP) は100種類以上の蛋白から構成されており、膠質浸透圧の維持や微量物質の運搬に関与するアルブミン (Albumin : Alb) と、抗体を作り感染防御などの免疫機能に関与するグロブリンが多く存在する。また、TPは合成、崩壊、体内への分布、体外への漏出などの因子に規定され、動態平衡を保つことで生命維持の重要な役割を担っている¹⁾。TP測定はビュレット法を原理とした試薬が広く普及しており、汎用自動分析装置やドライケミストリー装置で測定されている。汎用自動分析装置の測定試薬は1試薬系と2試薬系があり、2試薬系では検体ブランクを差し引くことが可能であるため、1試薬系よりも共存物質の影響が軽減されている²⁾。

スルバシリンはアンピシリンナトリウムとスルバクタムナトリウムを有効成分とする抗生物質製剤である。アンピシリンナトリウムはペニシリン系薬剤で細菌の細胞壁合成阻害により殺菌的に働く。スルバクタムナトリウムは β ラクタマーゼ阻害剤であり、 β ラクタマーゼによるアンピシリンの加水分解を防

ぐことで、アンピシリンに耐性を示す β ラクタマーゼ産生菌に対しても抗菌力を示す³⁾。スルバシリンは肺炎、肺膿瘍、膀胱炎、腹膜炎などの治療として広く使用されている。

今回我々はスルバシリン投与後の採血検体において、汎用自動分析装置で測定したTPが異常な反応過程を示した症例を経験したため、スルバシリンのTP測定系への影響について検討したので報告する。

2. 症例

症例は2歳、男児、特発性拡張型心筋症治療のため当院へ入院となった。

検査所見を表に示す (Table 1)。TPにプロゾーンのアラームが発生したため、反応過程を確認した。正常な反応過程は第2試薬添加後、吸光度が上昇しその後平坦になるが、患者の反応過程は第2試薬添加後、吸光度が上昇しその後減少する異常なパターンであった (Fig. 1)。検査データは、3日前からAlbはあまり変化がないが、TPは5.0 g/dLから6.5 g/dLと上昇していた。さらに、グルコースが268 mg/dLと高値を示していたことやカルテの投薬情報より、ブドウ糖注射液で溶解したスルバシリンの

Received Apr. 19, 2024; Accepted Jun. 25, 2024
Miyuki SAKEMOTO, Motoko YAMANAKA, Yukiko KAWANOBE, Taeko HOTTA
九州大学病院検査部
Department of Clinical laboratory, Kyushu University Hospital

〒810-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1
3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka City, Japan 812-8582
Corresponding author : 酒本美由紀
TEL : 092-642-5756
E-mail : sakemoto.miyuki.376@m.kyushu-u.ac.jp

Table 1 Laboratory data of the patient

laboratory data			
	unit	current	3 days ago
TP	g/dL	6.5	5.0
Alb	g/dL	2.9	2.8
UN	mg/dL	15	14
CRE	mg/dL	0.31	0.33
UA	mg/dL	4.1	3.4
TB	mg/dL	0.9	0.7
AST	U/L	51	47
ALT	U/L	22	22
LD	U/L	198	213
CK	U/L	39	23
Glu	mg/dL	268	80
CRP	mg/dL	0.98	0.53
Ca	mg/dL	7.9	8.8
Na	mmol/L	141	133
K	mmol/L	3.6	3.4
Cl	mmol/L	90	92

混入を疑い検討を行った。

3. 方法

1) 検討材料

検討試料は九州大学病院外来受診患者の残余血清を用いた。また、添加試料はスルバシリン静注用1.5g (Meiji Seika ファルマ) およびスルバシリンの有効成分であるアンピシリンナトリウム (富士フィルム和光純薬) を用いた。なお、本検討は九州大学病院倫理審査委員会の承認を得て施行した(承認番号: 23357-00)。

2) 測定機器および試薬

測定機器はLABOSPECT008 (日立ハイテック) を用いた。検討試薬はTP測定試薬として、ビューレット法を原理としたアクアオートカインス TP-II (日常測定試薬: カインス), アクキュラスオートTP (対照試薬: シノテスト), ピロガロールレッド法を原理としたマイクロTP-AR (富士フィルム和光純薬) を用いた。また、Alb測定試薬として、改良型BCP法を原理としたアクアオートカインス ALB試薬 (カインス) を用いた。

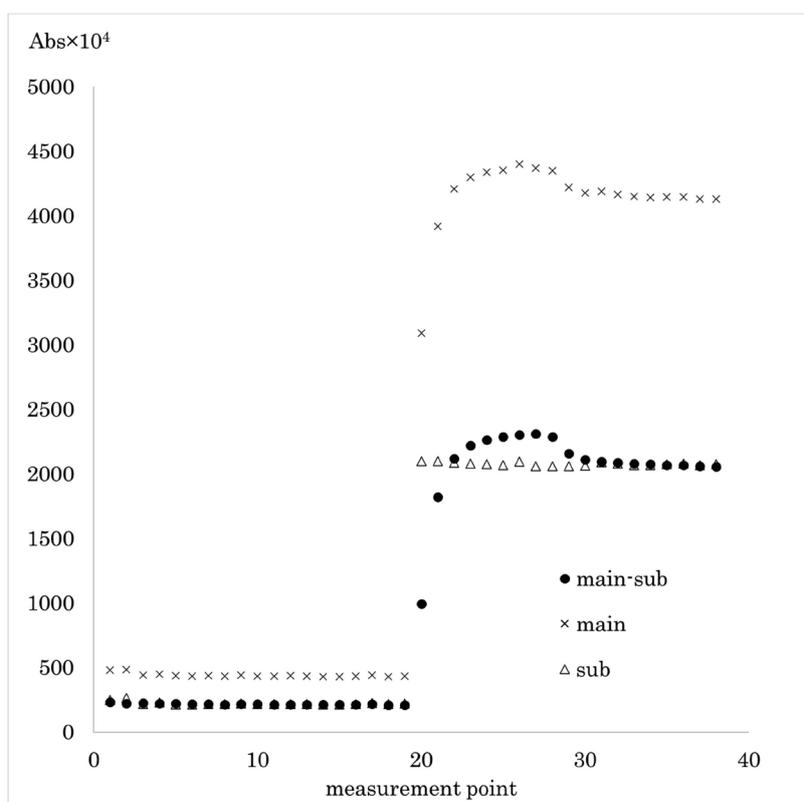


Fig. 1 Reaction curve in TP measurement of the patient serum

Table 2 TP and Alb values in NaCl or Sulbacillin additive serum

additive agent		NaCl				Sulbacillin			
additive volume (μL)		5	10	20	50	5	10	20	50
TP (g/dL)	actual value	7.53	7.49	7.33	6.96	7.72	8.11	8.96	13.19
	reduced value	7.60	7.63	7.61	7.59	7.80	8.27	9.30	14.39
Alb (g/dL)	actual value	4.76	4.71	4.62	4.36	4.80	4.72	4.66	4.43
	reduced value	4.81	4.80	4.80	4.76	4.85	4.81	4.84	4.83

3) 検討内容

(1) スルバシリン添加試験

スルバシリンは患者に使用されていた濃度、スルバシリン静注用1.5 gを5%ブドウ糖注射液10 mLで溶解して使用した。血清500 μLにスルバシリン溶解液および生理食塩水を5, 10, 20, 50 μL添加後、アクアオートカインスTP-II, アクアオートカインスALBを用い、TP, Albを測定した。

(2) スルバシリン添加試験におけるビューレット法とピロガロールレッド法の比較

測定原理が異なった場合にも影響があるかを確認するため、尿蛋白測定試薬であるピロガロールレッド法を原理としたマイクロTP-ARを用いて比較した。試料は尿蛋白測定試薬の測定範囲に入るように血清を生理食塩水で20倍希釈した。希釈試料500 μLにスルバシリン溶解液を5, 10, 20, 50 μL添加後、アクアオートカインスTP-IIおよびマイクロTP-ARを用い、TPを測定した。

(3) アンピシリンナトリウム添加試験

スルバシリンの有効成分であるアンピシリンナトリウムを精製水で溶解、0.1 g/mLに調整し、添加試料として用いた。血清500 μLにアンピシリン溶解液および生理食塩水を5, 10, 20, 50 μL添加後、アクアオートカインスTP-II, アクアオートカインスALBを用い、TP, Albを測定した。また、同じビューレット法を測定原理とした対照試薬であるアキュラスオートTPを用いてTPを測定した。

4. 結果

1) スルバシリン添加試験

Albの測定値は生理食塩水を添加した試料とスルバシリン溶解液を添加した試料で測定値に差はなかったが、TPはスルバシリン溶解液の添加量が5, 10, 20, 50 μLと増加するにしたがい測定値は7.72, 8.11, 8.96, 13.19 g/dLと高値を示した (Table 2)。また、TPの反応過程はスルバシリン溶解液添加試

料で患者と同様の異常なパターンを示した (Fig. 2)。

2) スルバシリン添加試験におけるビューレット法とピロガロールレッド法の比較

ビューレット法を原理としたアクアオートカインスTP-IIにおいてスルバシリン溶解液の添加量が5, 10, 20, 50 μLと増加するにしたがい測定値は0.68, 0.97, 1.99, 9.14 g/dLと高値を示した。一方で、ピロガロールレッド法を原理としたマイクロTP-ARでは変動はなかった (Table 3)。また、TPの反応過程はアクアオートカインスTP-IIでは異常なパターンを示したが、マイクロTP-ARでは正常のパターンであった。

3) アンピシリンナトリウム添加試験

Albの測定値は生理食塩水を添加した試料とアンピシリン溶解液を添加した試料で差はなかったが、アクアオートカインスTP-II測定値はアンピシリン溶解液の添加量が5, 10, 20, 50 μLと増加するにしたがい、7.15, 7.23, 7.41, 7.98 g/dLと高値を示した。同じビューレット法を測定原理とした対照試薬であるアキュラスオートTP測定値も同様に6.85, 6.92, 7.04, 7.40 g/dLと高値を示した (Table 4)。また、アクアオートカインスTP-IIの反応過程はアンピシリン溶解液添加試料で患者と同様の異常な反応過程を示し、アキュラスオートTPの反応過程はアンピシリン溶解液を50 μL添加した試料で異常なパターンを示した (Fig. 3)。

5. 考察

臨床検査において検査に影響を及ぼす物質、いわゆる干渉物質が問題となることがある。干渉物質はM蛋白、HAMAなどの内因性のものや、薬物などの外因性のものがあり、その影響も様々である。薬剤の影響においては薬剤あるいはその代謝物が影響を与える場合や薬理作用や副作用が影響を与える場合があり、検査結果を評価するためには影響を把握することが重要である⁴⁾⁵⁾。

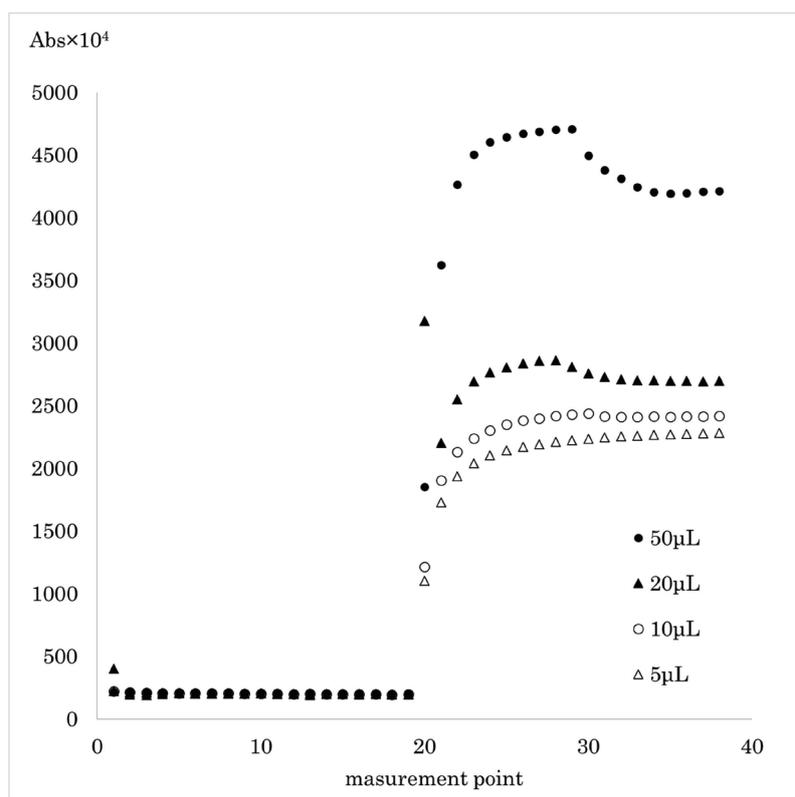


Fig. 2 Reaction curve in TP measurement with addition of Sulbacillin in serum

Table 3 TP values by Biuret method and Pyrogallol red method with addition of Sulbacillin in serum

	TP- II (Biuret method)				μTP (Pyrogallol red method)				
	5	10	20	50	5	10	20	50	
TP (g/dL)	actual value	0.68	0.97	1.99	9.14	0.36	0.35	0.35	0.33
	reduced value	0.69	0.99	2.07	9.97	0.36	0.36	0.36	0.36

Table 4 TP values by Aqua auto and Accuras auto, and Alb value in NaCl or Ampicillin additive serum

additive agent	NaCl				Ampicillin				
	5	10	20	50	5	10	20	50	
Aqua autoTP (g/dL)	actual value	7.02	6.98	6.89	6.56	7.15	7.23	7.41	7.98
	reduced value	7.09	7.12	7.16	7.16	7.22	7.37	7.70	8.71
Accuras autoTP (g/dL)	actual value	6.70	6.70	6.53	6.20	6.85	6.92	7.04	7.40
	reduced value	6.77	6.83	6.78	6.76	6.92	7.06	7.31	8.07
Alb (g/dL)	actual value	4.38	4.36	4.24	4.07	4.37	4.32	4.22	4.08
	reduced value	4.42	4.45	4.40	4.44	4.41	4.40	4.38	4.45

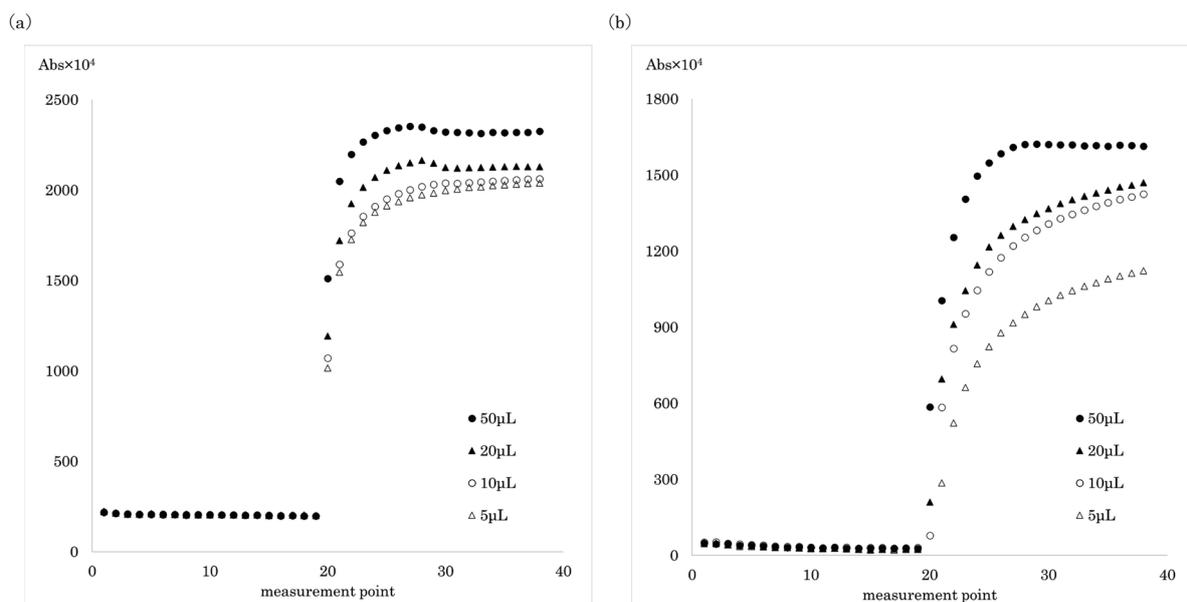


Fig. 3 Reaction curves in TP measurement with addition of Ampicillin in serum : (a) Aqua auto , (b) Accuras auto

今回我々はTP測定時に異常な反応過程を示す検体に遭遇した。ビュレット法試薬を用いたTP測定へ干渉する薬剤としてデキストラン製剤による混濁形成により偽高値を示した症例が報告されている⁶⁾。今回の症例では、異常な吸光度の変化は副波長では見られず主波長のみで確認されたため、混濁形成による影響は除外された。また、TP測定へ干渉する薬剤としてタゾバクタム/ピペラシリンにより偽高値を示した症例も報告されているが、本患者はデキストラン製剤やタゾバクタム/ピペラシリンの投与は行われていなかった⁷⁾。

他に投与された薬剤の影響を疑い、スルバシリンおよびアンピシリンの添加試験を実施した。スルバシリンを添加した血清の反応過程は患者検体と同様のパターンを示したため、この薬剤が異常反応の原因であることが示唆された。スルバシリンはアンピシリンナトリウムとスルバクタムナトリウムを含有する抗生物質であるが、今回はアンピシリンナトリウムを入手することができたため、アンピシリンナトリウムを用いた添加試験を実施した。アンピシリンナトリウム添加試験において、スルバシリンと同様の挙動を示したため、アンピシリンナトリウムが異常反応の原因であることが考えられた。また、別メーカーのビュレット法を原理としたTP測定試薬でも同様の挙動を示した。2社のTP測定試薬で、反応過程や測定値への影響に差が見られたが、これは試薬に添加されている界面活性剤や緩衝液、pH

など試薬組成の違いによるものと考えられる。測定原理の異なるピロガロールレッド法試薬では同じ現象は見られなかったため、TPそのものの変化ではないことが分かった。ピロガロールレッド法は酸性溶液中でピロガロールレッド・モリブデン錯体が蛋白と結合することにより青紫色に呈色する反応であり、ビュレット法はアルカリ性溶液中でビュレット様構造を持つ2個のペプチド結合と銅イオンがキレート結合し紫紅色に呈色する反応である。アンピシリンはビュレット様構造(-CO-NH基)を有しているため、ビュレット法に影響していることが推測された。

スルバシリン静注用1.5 gのインタビューフォームに記載されている薬物動態において、アンピシリン投与5分後の血中濃度は $105.66 \pm 24.43 \mu\text{g/mL}$ であり、今回血清へ添加したアンピシリンナトリウムの濃度は添加量5 μL でその血中濃度の約2倍、添加量50 μL で約20倍高い濃度となる³⁾。そのため、本薬剤が投与されていても適切な採血で採取された検体ではこのような現象は起こらないと考えられる。しかし、採血時ルートに残っている薬剤が混入した場合など不適切な採血によって高濃度の薬剤が混入した場合には、TPの測定値が偽高値となる可能性がある。日常検査において、ヘパリンや輸液が混入した検体は度々遭遇することがある。検体の質の担保のためにも、輸液投与している腕からは採血を行わないこと、ルートから採血を行うときは十分なり

ンスを行うなど正しい採血の方法を臨床側へ啓蒙することも重要である。

我々は以前ペニシリン系の薬剤であるペニシリンGが改良型BCP法におけるAlb測定に負誤差の影響を与えることを報告したが、この影響はビューレット法におけるTP測定やBCG法におけるAlb測定では見られなかった⁸⁾。今回検討したスルバシリンは改良型BCP法におけるAlb測定において影響は見られず、同じペニシリン系の薬剤でもその影響は異なることが分かった。しかし、TP測定に干渉したと報告があるタゾバクタム/ピペラシリンは同じβラクタマーゼ阻害薬とペニシリン系の合剤であり、本症例と同じ機序で影響を受けた可能性がある。

本症例ではTPの測定パラメータに異常な反応過程をとらえることが出来るチェック機構を設定していたため異常値に気付くことができた。このチェック機構は以前Lp-Xが疑われる患者で異常な反応過程を経験したのを機に検討し、プロゾンチェック機能を利用して独自に設定したチェック機構であった⁹⁾。現在は汎用自動分析装置に反応過程を解析するシステムが開発、導入されているが、実際に運用するにはコスト面など問題もある。様々な方法を利用してリアルタイムに反応過程を確認することが、より正確な検査結果の報告に重要となってくると考えられる。

6. 結論

今回、TP測定値が偽高値となった原因は、患者に投与されたスルバシリンがビューレット反応に影響していることが推測された。

薬剤が検査値に影響を与えた事例は複数報告されているがその影響は様々である。事例を報告することでさらなる試薬の改良へ繋がると考えられる。また、異常反応を見逃さないシステムを構築することが重要である。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

文献

- 1) 金井正光, 奥村伸生; 臨床検査法提要2005, 第32版, 478-480
- 2) 佐々木真弓, 村本良三, 青木洋一ほか. 2試薬系ビューレット試薬による血清総蛋白定量法の測定波長効果. 医学検査2001;50(6):824-829
- 3) スルバシリン静注用1.5g医薬品インタビューフォーム (第20版), Meiji Seika ファルマ株式会社, 2023
- 4) 村本良三. 検査中 検体異常 異常反応(薬剤など). Medical Technology 2020;48(6):602-605
- 5) 米田孝司. 押さえておきたい薬と検査値の関係. 薬事 2016;58(9):2117-2123
- 6) Barnes D B, Pierce G F, Lichti D, et al. Effects of dextran on five biuret-based procedures for total protein in serum. Clin Chem 1985;31(12):556-561
- 7) Dimeski G, Kruger P S. Interference by piperacillin/tazobactam in the measurement of creatinine with the Jaffe method and of total protein with the biuret method. Crit Care Resusc 2021;23(2):141-143
- 8) Ono M, Aoki Y, Masumoto M, et al. High-dose penicillin G-treatment causes underestimation of serum albumin measured by a modified BCP method. Clin Chim Acta 2009;407(1-2):75-76
- 9) 埜田直美, 酒本美由紀, 二田奈津美ほか. プロゾンチェック機能を活用した生化学異常反応の検出. 医療検査と自動化2022;47(5):538-546.