

样品处理对肺移植术后患者全血中环孢素 A 浓度测定的影响

何 晶^{*}(大连大学附属中山医院,大连市 116001)

中图分类号 R969.1;R978.1⁺1 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2008)02-0114-02

摘 要 目的:考察荧光偏振免疫(FPIA)法测定肺移植术后患者全血中环孢素 A(CsA)浓度时样品的保存温度、时间和不同稀释方法对测定结果的影响。方法:将肺移植术后患者的全血标本分别置室温((22±2)℃)和冰箱(2~8℃)保存1周或2周,考察其稳定性;采用不同溶剂(灭菌注射用水、空白全血)稀释后与不经稀释的标本进行测定、对比,考察稀释条件。结果:室温或冷藏下的标本测定结果均与保存前无统计学差异($P>0.05$),但冷藏者变异小;2种方法稀释后测定结果与未稀释者无统计学差异($P>0.05$),用空白全血稀释的结果最接近不稀释的值。结论:全血标本在室温下至少可稳定保存2周,冷藏仍是最佳保存方法;空白全血稀释标本最好。

关键词 环孢素 A;荧光偏振免疫法;全血浓度;保存;稀释

Influence on Determination of Cyclosporine Whole Blood Samples When Prepared

HE Jing (Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University, Dalian 116001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the storage (temperature and duration) of cyclosporine whole blood samples when determined by FPIA and the effect of different dilution method on the determination results. METHODS: Whole blood samples taken from patients who had undergone lung translation were either stored at room temperature ((22±2)℃) or cold-stored (2~8℃) for 1 or 2 weeks before stability test was performed; samples undergoing dilution with different solvents such as sterile pyrogen-free water or blank plasma and undiluted samples were determined and compared to investigate the dilution condition. RESULTS: There was no significant difference for the determination results for samples stored at room temperature or cold-stored as compared with before storage ($P>0.05$), however, the cold-stored sample had less variation; and there was no significant difference for the determination results of the samples after being diluted by two different dilution methods as compared with undiluted sample ($P>0.05$), with the determination result of the whole blood-diluted sample more similar to that of the undiluted one. CONCLUSION: Whole blood sample of cyclosporine can be stored stably at room temperature at least for 2 weeks. Cold storage is the best storage method and blank whole blood was proved to be the best dilution solvent.

KEY WORDS Cyclosporine; FPIA; Whole blood drug concentration; Storage; Dilution

环孢素 A(CsA)具有选择性免疫抑制功能,广泛用于器官移植后排斥反应和自身免疫性疾病。荧光偏振免疫(FPIA)法测定全血中 CsA 浓度能够为临床判断分析及制定个体化给药方案提供可靠依据^[1]。但样品的稳定性受保存时间、温度等因素的影响,CsA 的浓度是否准确,是保证肺移植患者临床疗效的依据,与患者和临床医师密切相关。笔者在监测 CsA 稳态谷浓度(C_0)的同时,也测定了口服后 2 h 的浓度(C_2)^[2],此浓度接近峰浓度。多数样品超出了试剂盒的质控范围(0~1 500 ng·mL⁻¹),需要用空白全血稀释后测定。在没有适宜空白全血的情况下,能否用灭菌注射用水稀释样品?本试验对肺移植术后患者血样保存的稳定性以及高浓度样品的稀释方法进行了考

察,以便为临床医师及患者提供更好的、更可靠的药学服务。

1 仪器与材料

1.1 仪器

全自动 FPIA 分析仪、高速离心机、CsA 单克隆全血浓度标准曲线盒、质控盒、试剂盒、稀释缓冲液(均由美国 Abbott 公司提供);XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂)。

1.2 材料

患者血样取自本院肺移植术后常规监测患者外周静脉(肝素抗凝),监测 CsA 全血样品 C_0 、 C_2 的浓度。灭菌注射用水(天津药业集团新郑股份有限公司,规格:每支 5 mL,批号:051018)。

2 方法

- 31(1):23.
- [8] 刘 华,喻 华,周仲华.引起医院感染的不动杆菌类型分布及对抗菌药物的耐药性探讨[J].川北医学院学报,2004,19(2):82.
- [9] 侯铁英,杨精珍.我院临床常见细菌的分布及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2002,12(7):549.

- [10] 刘 华,周中华,王 蓉,等.革兰阴性杆菌产 AmpC 酶及 ESBLs 的检测及耐药性[J].现代预防医学,2005,32(1):85.
- [11] 黄长武,李兴禄,陈维贤.临床主要病原菌耐药谱变化分析[J].中华医院感染学杂志,2002,12(6):416.
- [12] 赵育新,靳桂明,司 斌,等.合理使用抗生素质量标准与方法研究[J].中华医院感染学杂志,1998,8(3):177.

^{*}主任药师。研究方向:临床药学、抗菌药物的合理应用。电话:0411-62893220 E-mail:he.jing1208@yahoo.com.cn

(收稿日期:2007-04-26 修回日期:2007-08-13)

2.1 仪器检查与方法定标

每次测定标本前均按照全自动 FPIA 分析仪操作手册对仪器作温度、光路、吸量及定标和质控检查,结果均符合要求。CsA 全血浓度标准曲线范围为 0~1 500 ng·mL⁻¹。

2.2 不同条件下保存样品的稳定性

取临床全血标本 10 份,按照试剂盒标准操作方法进行测定:精密吸取经混匀的全血标本 150 μL,置于 1.5 mL 离心管中,依次精密加入增溶剂 50 μL 和沉淀剂 300 μL,涡旋 3 min,10 900 r·min⁻¹ 离心 5 min。取上清液至样品杯,按照全自动 FPIA 分析程序进行自动测定。将剩余样品随机分为 2 组, A 组置冰箱冷藏(2~8℃), B 组置于室温((22±2)℃)保存,分别于保存后 7、14 d(B 组)再次按上述方法测定标本中的 CsA 浓度,比较测定结果。

2.3 高浓度样品经不同溶剂稀释后的测定

取临床口服 CsA 2 h 后采集的全血标本 6 份,每份标本分别按不稀释或分别以空白全血稀释、灭菌注射用水按 1:1 体积稀释后,再按照“2.2”项下方法测定。其中,稀释标本结果乘以 2 作为测定浓度,比较测定结果。

3 结果

3.1 稳定性考察结果

10 份标本分别在不同条件下保存后测定的结果详见表 1、表 2。

表 1 CsA 血样在冰箱(2~8℃)放置后的浓度(ng·mL⁻¹)

Tab 1 CsA concentration when cold-stored(2~8℃)(ng·mL⁻¹)

样品编号	放置时间/d		平均	RSD/%
	0	7		
1	475.30	504.03	489.67	3.565
2	118.56	121.72	120.14	0.656
3	159.66	154.18	156.92	3.348
4	230.94	240.96	235.95	2.419
5	171.02	178.12	174.57	2.869

表 2 CsA 血样在室温((22±2)℃)放置后的浓度(ng·mL⁻¹)

Tab 2 CsA concentration when stored at room temperature((22±2)℃)(ng·mL⁻¹)

样品编号	放置时间/d			平均	RSD/%
	0	7	14		
1	306.88	310.36	322.52	313.25	2.636
2	164.71	162.61	161.61	162.98	1.029
3	246.52	246.46	248.88	247.29	0.686
4	164.24	173.24	166.65	168.04	2.678
5	228.42	241.06	237.28	235.59	2.865

由表 1、表 2 可知,标本在室温保存 2 周或冰箱冷藏 1 周内的测定结果间变异系数均小于 5%。对保存后测定的结果与保存前测定的结果进行双侧 *t* 检验,所得 *P* 值分别为: A 组 $P_{A\Delta 7}=0.949\ 0$, B 组 $P_{B\Delta 7}=0.896\ 0$, $P_{B\Delta 14}=0.825\ 2$, 均 >0.05 , 表明保存后测定与保存前无统计学差异。但是,稳定性依然受到保存条件与时间的影响,室温保存的稳定性不如冷藏好。

3.2 不同稀释溶剂的考察结果

6 份高浓度标本用不同溶剂稀释后测定的结果详见表 3。

表 3 不同方法稀释 CsA 血样后的浓度(ng·mL⁻¹)

Tab 3 CsA concentration after dilution by different method(ng·mL⁻¹)

编号	未稀释	注射用水	空白全血	平均浓度	RSD/%
1	1 292.92	1 199.06	1 305.40	1 265.78	5.114
2	1 293.88	1 198.83	1 304.67	1 265.79	5.115
3	1 084.65	1 006.54	1 036.97	1 042.72	5.578
4	1 442.57	1 320.68	1 337.77	1 367.01	6.967
5	1 182.81	1 148.92	1 212.58	1 181.44	5.216
6	1 431.43	1 359.44	1 550.21	1 447.02	5.698

由表 3 可知,高浓度的标本经上述不同方法稀释后所测定的结果之间的变异系数均小于 7%。对 2 种稀释结果与未稀释的测定结果分别做双侧 *t* 检验,得到其 *P* 值分别为: $P_{水}=0.408\ 1$, $P_{全血}=0.993\ 1$, 均 >0.05 , 说明采用这 2 种稀释方法对测定结果无显著性影响。但 $P_{水}<P_{全血}$, 空白全血稀释的结果最接近不稀释的值,注射用水稀释次之。

4 讨论

FPIA 法具有灵敏度高、检测限低、重现性好、速度快等特点^[3]。对于肺移植患者来说,定期监测 CsA 全血浓度,可提高患者的生存率和移植物的存活率^[4]。

试验结果表明,血样在室温下可以保存 2 周,其测定结果无统计学差异。试验结果提示冰箱冷藏比常温保存稳定,因此不能及时测定的标本最好在 2~8℃冰箱中冷藏保存。

全血样品需要稀释时,一般仍应以标准试剂盒所带空白全血稀释最好。特殊情况下,可用注射用水稀释。

用 FPIA 法分析 CsA 全血浓度是临床常用的治疗药物监测项目,根据实际工作需要,应考察不同保存条件、保存时间以及不同稀释方法对测定结果的影响,以保证测定结果的稳定性和适当的灵活性。但对不能及时送达的异地 CsA 全血样本,最好低温冷藏保存,以保证所测 CsA 全血样本的准确性。做好 CsA 全血浓度监测工作,是保证延长移植器官存活率、CsA 药物治疗效果以及减少毒副作用、提高器官移植患者生活质量的重要手段,也是药学服务的重要组成部分。本试验考察的保存条件和保存时间还不够完善,所考察的样本数也不够多,因此相关数据还有待不断积累补充。

参考文献

- [1] Blick KE, Melouk SH, Fry HD, *et al*. A validation study of selected method routinely used for measurement of cyclosporine[J]. *Clin Chem*, 1990, 36(4): 670.
- [2] Oellerich M, Armstrong VW. Two-hour cyclosporine concentration determination: an appropriate tool to monitor neonatal therapy[J]. *Ther Drug Monit*, 2002, 24(1): 40.
- [3] 李焕德,程泽能主编. 临床药理学[M]. 第 1 版. 北京:人民卫生出版社,2003: 74.
- [4] 徐淑云主编. 临床药理学[M]. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,1999: 415.

(收稿日期: 2007-03-02 修回日期: 2007-08-01)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊, 欢迎投稿、订阅