

高效液相色谱法检测血清中万古霉素及去甲万古霉素浓度

LC-421

摘要：使用高效液相色谱，建立了血清中万古霉素及去甲万古霉素含量测定方法。使用标准品及质控品进行了方法的线性、准确度、精密度及灵敏度的考察。结果显示该方法线性良好，灵敏度高，回收率及精密度满足临床测定需求。该方法前处理简便，样本用量少，分析速度快，专属性强，灵敏度高，可用于万古霉素及去甲万古霉素治疗药物监测。

关键词：高效液相色谱 万古霉素 去甲万古霉素 治疗药物监测

技术特点：

- ❖ 高效液相色谱应用于治疗药物监测方案，普适性强，操作简单，稳定性高。
- ❖ 该方案无需切换色谱柱及流动相，即可完成万古霉素及去甲万古霉素含量测定。
- ❖ 12 min 即可完成两种药物测定，分析速度快。

万古霉素和去甲万古霉素主要用于治疗耐青霉素的金黄色葡萄球菌感染引起的败血症、肺炎、心内膜炎、结肠炎，及其他抗生素，尤其是克林霉素引起的假膜性肠炎。临床万古霉素及去甲万古霉素使用量的增加会导致细菌对其敏感性发生变化，易诱产生耐万古霉素及去甲万古霉素的金黄色葡萄球菌，耐万古霉素及去甲万古霉素的肠球菌，后果十分严重。保持万古霉素及去甲万古霉素血药浓度可避免耐药菌株产生。因万古霉素及去甲万古霉素治疗窗相对较窄、个体差异大、且具有明显的肾毒性，因此，在临床应用时，应定时对其治疗药物监测，

及时调整剂量，制定合理的给药方案以实现个体化给药，减少不良反应发生率。目前临床上万古霉素及去甲万古霉素血药浓度测定方法主要有免疫法、直接化学发光法、高效液相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法。高效液相色谱法因其普适性强，操作简单，稳定性高，在临床上广泛应用于治疗药物监测。

本文使用高效液相色谱 Nexera LC-40D XR，建立了血清中万古霉素及去甲万古霉素测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，稳定性高，可用于万古霉素及去甲万古霉素治疗药物监测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本文使用岛津 Nexera LC-40D XR 高效液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D XR	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C XR	检测器：	SPD-40
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118		

1.2 分析条件

液相色谱条件如下：

- 色 谱 柱：Shim-pack GIST C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm)，
岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-30008-05
- 流 动 相：A-0.01 mol/L NaH₂PO₄(pH=3.3); B- 乙腈

■ 结果与讨论

2.1 标准品色谱图

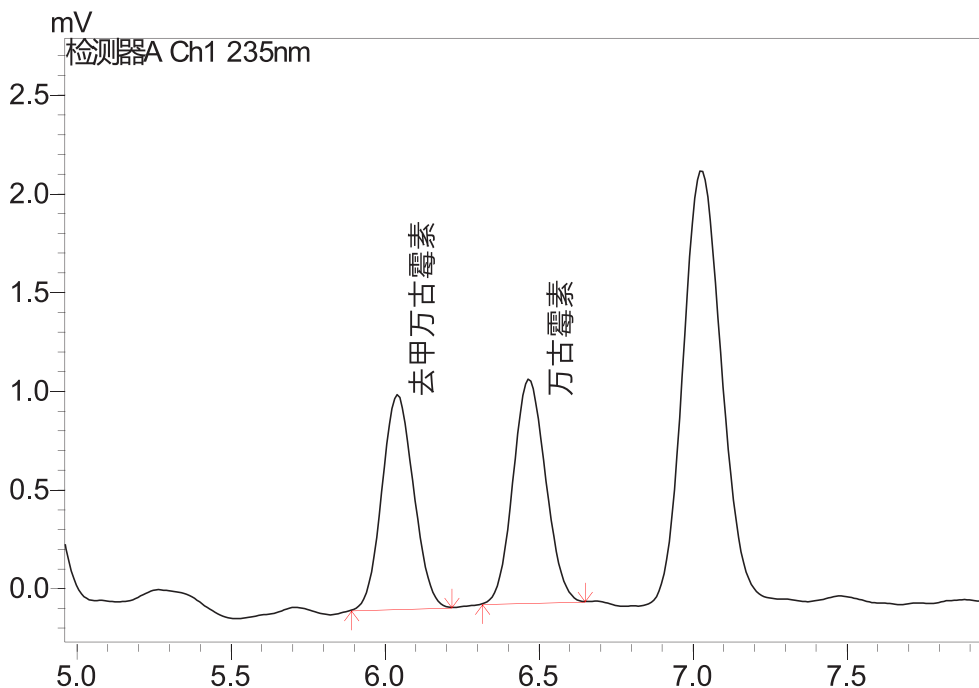


图2 校准曲线最低点色谱图 (1.0 µg/mL)

2.2 校准曲线测定结果

取 1.3 配制得到标准工作溶液分别进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，以外标法绘制校准曲线。结果显示，万古霉素及去甲万古霉素在 1.0~50.0 µg/mL 范围内，线性相关系数 r 分别为 0.9997 及 0.9998，准确度分别在 98.3%~102.5% 及 97.1%~101.2% 之间，线性关系良好，见图 3。以 $S/N=3$ 和 $S/N=10$ 分别计算万古霉素及去甲万古霉素的检出限 LOD 和定量限 LOQ，万古霉素及去甲万古霉素的 LOD 分别为 0.023 µg/mL 和 0.024 µg/mL，万古霉素及去甲万古霉素的 LOQ 分别为 0.077 µg/mL 和 0.080 µg/mL，考虑到万古霉素及去甲万古霉素体内实际药物浓度及临床应用需求，最终将校准曲线最低浓度点设为 1 µg/mL。

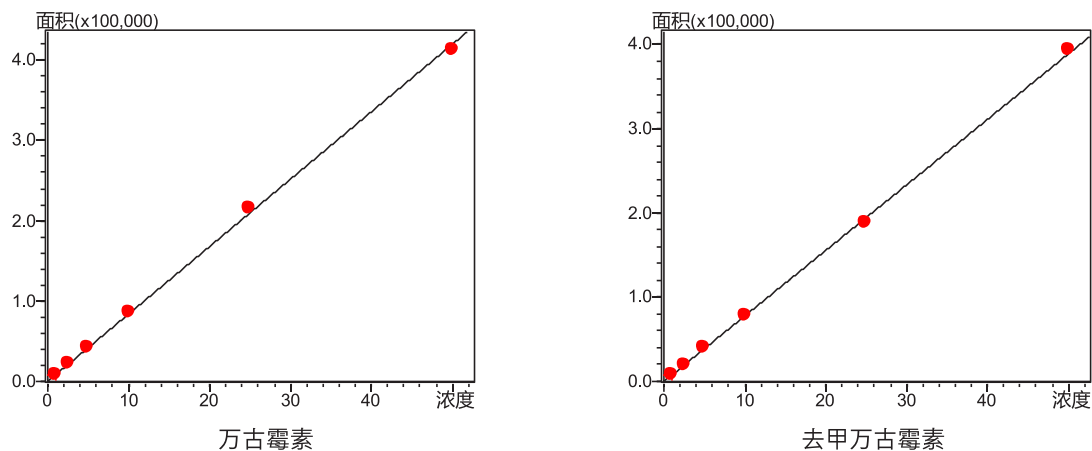


图3 标准曲线

2.3 准确度及精密度测定结果

按 1.3 中的前处理方法对质控品进行前处理，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，质控品的准确度结果如表 4 所示，结果显示万古霉素及去甲万古霉素回收率在 97.5%~99.2% 之间，RSD 在 1.0%~1.6% 之间。

表 4 质控准确度考察结果 (n=6, $\mu\text{g/mL}$)

项目	QC	理论浓度	测定浓度	回收率 %	RSD%
万古霉素	LQC	2	1.95	97.5	1.5
	MQC	15	14.68	97.9	1.2
	HQC	40	39.26	98.2	1.1
去甲万古霉素	LQC	2	1.97	98.5	1.6
	MQC	15	14.74	98.3	1.1
	HQC	40	39.68	99.2	1.0

2.4 临床样品测定结果

取 2 批次服用万古霉素病人血清样品，按 1.3 中的前处理方法及 1.2 中的分析条件进行测定，结果见图 4 和表 5，该方法灵敏度及分离度可满足临床检验需求。

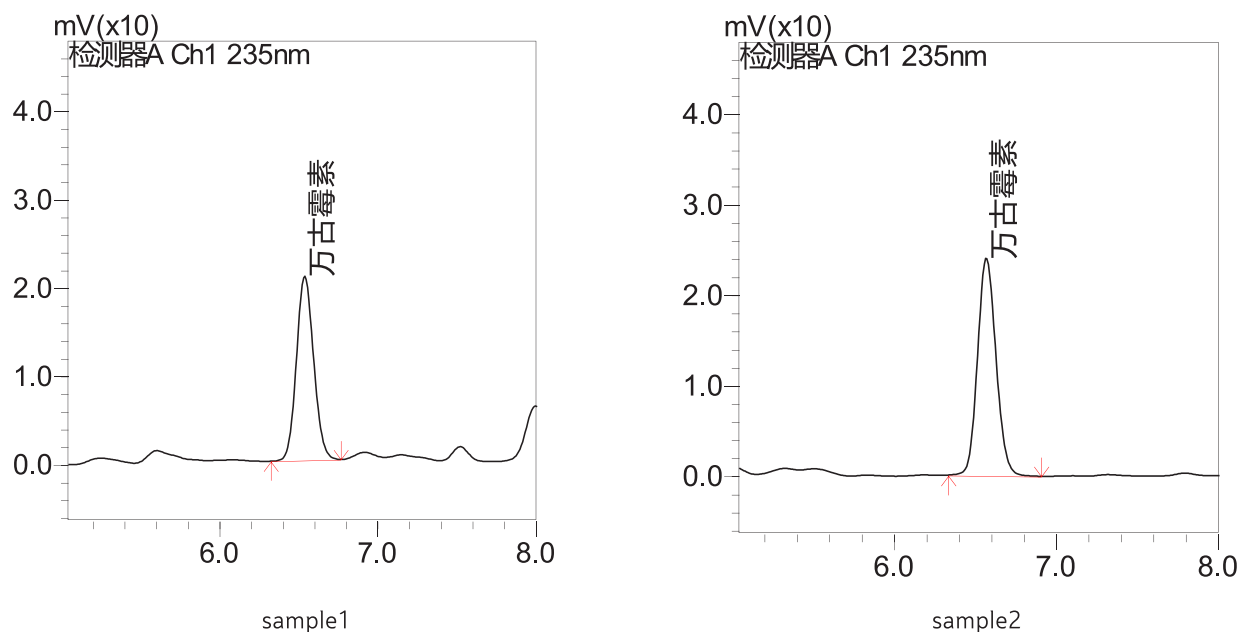


图 4 样品色谱图

表 5 临床样品测定结果 ($\mu\text{g/mL}$)

Name	sample1	sample2
万古霉素	18.8	22.6

■ 结论

使用高效液相色谱，建立血清中万古霉素及去甲万古霉素含量测定方法。使用标准品及质控品进行了方法的线性、准确度、精密度及灵敏度的考察。结果显示该方法线性良好，标准曲线相关系数均大于 0.999，以 S/N=3 和 S/N=10 分别计算万古霉素及去甲万古霉素的检出限 LOD 和定量限 LOQ，万古霉素及去甲万古霉素的 LOD 分别为 0.023 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.024 $\mu\text{g/mL}$ ，万古霉素及去甲万古霉素的 LOQ 分别为 0.077 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.080 $\mu\text{g/mL}$ ，万古霉素及去甲万古霉素质控品回收率在 97.5%~99.2% 之间，RSD 在 1.0%~1.6% 之间，满足临床测定需求。该方法普适性好，前处理简便，样本用量少，分析速度快，专属性强，灵敏度高，可用于万古霉素及去甲万古霉素治疗药物监测。

岛津应用云

