

CMIA法与FPIA法检测环孢素A血药浓度的比较研究

程丽静*, 赵冠人, 冯端浩(解放军第309医院药剂科, 北京 100091)

中图分类号 R969.1;R979.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)42-3971-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.42.13

摘要 目的:比较化学发光微粒子免疫(CMIA)法与荧光偏振免疫(FPIA)法检测全血中环孢素A(CsA)浓度的相关性。方法:随机收集肾移植患者服药后的全血标本共50例和2013年3月国家卫生部室间质控血样标本,分别用CMIA法和FPIA法进行检测,考察结果的相关性及差异。结果:CMIA法和FPIA法检测结果的相关性方程为 $y=1.008x+48.561$ ($r=0.9500$),结果存在显著性差异,FPIA法的测定结果大于CMIA。结论:两种方法检测CsA血药浓度同样具有可行性,但结果存在差异,因此临床调整用药时应注意监测方法的不同。

关键词 环孢素A;荧光偏振免疫法;化学发光微粒子免疫法;血药浓度

Comparison of Blood Concentration Monitoring of Cyclosporine A by CMIA and FPIA

CHENG Li-jing, ZHAO Guan-ren, FENG Duan-hao (Dept. of Pharmacy, No. 309 Hospital of PLA, Beijing 100091, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the correlation of chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) and fluorescence polarization immunoassay (FPIA) for the determination of blood concentration of cyclosporine A (CsA). METHODS: Whole blood samples of 50 patients underwent renal transplant and external quality control samples delivered by Ministry of Public Health in Mar. 2013 were randomly collected and determined by CMIA and FPIA respectively. The difference and correlation of 2 kinds of determination methods were investigated. RESULTS: The correlation of CMIA and FPIA was good and the regression equation was $y=1.008x+48.561$ ($r=0.9500$), there was significant difference in results. CMIA provided significantly lower values than FPIA. CONCLUSIONS: Both methods are feasible for blood concentration monitoring of CsA but there are difference in determination result. Great importance should be paid to CsA monitoring method because of the adjustment of medication method in the clinic.

KEY WORDS Cyclosporine A; Fluorescence polarization immunoassay; Chemiluminescent microparticle immunoassay; Blood concentration

环孢素A(Cyclosporine A, CsA)是一类强效免疫抑制剂,适用于预防同种异体肾、肝、心、骨髓等器官或组织移植所发生的排斥反应;它仅抑制T细胞介导的细胞免疫,而不显著影响机体的一般防御能力^[1]。但由于CsA口服吸收不完全,药动学参数个体差异大,有效治疗浓度范围窄,其血药浓度过低时易引起排斥反应或诱发自身免疫疾病,过高时对肝、肾及中枢神经系统均有一定毒性,因此临床用药必须定期监测其血药浓度,为临床制订个体化给药方案提供依据^[2]。目前临床常用的检测方法有化学发光微粒子免疫(CMIA)法和荧光偏振免疫(FPIA)法^[3],但由于两种方法的原理不同,测定结果可能会有偏差。为避免因检测方法不同影响诊疗判断,现通过比较两种方法测定结果的相关性,并对2013年3月卫生部室间质控样本测定结果进行了比较,以为临床调整用药方案提供依据。

1 材料

1.1 仪器

ARCHITECTi1000全自动免疫分析仪(美国Abbott公司);AXSYM自动免疫分析仪(美国Abbott公司);3531离心机(美国Abbott公司);MixMate涡旋振荡器(德国Eppendorf公司)。

1.2 药品与试剂

ARCHITECTi1000CsA专用试剂盒(批号:16115M500)、样本处理剂(批号:308248)、AXSYM CsA专用试剂盒(批号:17410JN00)、样本处理剂(批号:22105JN00)均为2013年3月卫生部邮寄的室间质控样品。

2 方法

2.1 检测原理

2.1.1 CMIA法原理^[2]:采用包被CsA抗体的类磁粒子,与标本中的CsA抗原结合,加入吖啶酯标记的CsA抗原后,在特定的磁场区发生沉积,经反复洗涤使游离抗原或抗体与抗原抗体复合物分离,加入预激发液(H_2O_2)与激发液(NaOH)后,测定其激发光强度即可判别标本中的CsA浓度^[2]。

2.1.2 FPIA法原理^[2]:根据竞争结合法的原理,即利用被测物质中被测对象所有的偏振光性进行荧光免疫分析的方法。荧光素(FITC)标记的低分子抗原和待测标本中CsA与体系中的CsA抗体发生竞争性结合反应,标本中的抗原CsA越多,与抗体结合的标志抗原就越少,从而激发的荧光偏振光度也就越少,从而可以预测标本中CsA的浓度^[3]。

2.2 标本采集

随机抽取我院移植中心2013年3月需检测CsA浓度的住院或门诊患者的全血。共分5天采集,每天在当日患者中随机

isoforms[J]. *Drug Metab Dispos*, 1997, 25(7):853.

[6] Stedman CA, Barclay ML. Review article: comparison of

* 主管药师。研究方向:治疗药物监测。电话:010-66775099。
E-mail: ruihui0715@163.com

the pharmacokinetics, acid suppression and efficacy of proton pump inhibitors[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2000, 14(8):963.

(收稿日期:2013-08-12 修回日期:2013-09-12)

抽取10份,共抽取50份标本,其中男性36份,女性14份,年龄在17~65岁之间。标本采集时间为服药后8~10h或服药后2h,采血1~2ml,置于EDTA-K₂抗凝管中^[3]。每天采集的标本于当日用两种方法同时检测。将卫生部室间质控5个血样标本分别编号,分为3份冷冻保存,每天1份,检测前室温条件下融化,放置20min,用两种方法同时进行检测。

2.3 标本处理方法

2.3.1 CMIA法处理方法:全血标本摇匀后精密吸取血样200μl置于离心管中,加入细胞溶解剂100μl振荡,再加入蛋白沉淀剂400μl,于涡旋振荡器上振荡10s,再用高速离心机以13000r/min(离心半径8cm)离心4min,取上清液至样品管,再涡旋振荡10s,放入ARCHITECTi1000中进行检测。

2.3.2 FPIA法处理方法:全血标本摇匀后精密吸取全血150μl置于离心管中,加入细胞溶解剂50μl振荡,再加入蛋白沉淀剂300μl,于涡旋振荡器上振荡10s,再用高速离心机以13000r/min(离心半径8cm)离心4min,取上清液至样品管,放入AXSYM自动免疫分析仪中检测。

3 结果与分析

试验前分别对ARCHITECTi1000全自动免疫分析仪和AXSYM自动免疫分析仪的CsA试剂盒定标,仪器通过定标并自动生成标准曲线。每日对随行质控进行测定,质控分为低、中、高3个梯度,质控测定结果RSD符合方法学测定要求。分别采用CMIA法和FPIA法检测50例患者全血样本中的CsA浓度,按“2.3”项方法进行处理后测定,测定结果见表1。根据表1作图,见图1。

表1 CMIA法和FPIA法测定CsA的结果(n=50)

Tab 1 Results of CsA by CMIA and FPIA (n=50)

序号	CMIA法, ng/ml	FPIA法, ng/ml	偏倚	序号	CMIA法, ng/ml	FPIA法, ng/ml	偏倚	序号	CMIA法, ng/ml	FPIA法, ng/ml	偏倚
1	103.5	160.3	-56.8	18	488.6	444.0	44.6	35	113.8	185.0	-71.2
2	251.9	247.6	4.3	19	70.5	143.9	-73.4	36	295.9	486.4	-190.5
3	139.6	149.8	-10.2	20	93.3	159.2	-65.9	37	160.8	222.7	-61.9
4	108.8	192.6	-83.8	21	128.4	224.9	-96.5	38	45.2	47.8	-2.6
5	113.4	184.8	-71.4	22	92.4	174.2	-81.8	39	68.9	140.4	-71.5
6	114.9	181.2	-66.3	23	88.4	147.5	-59.1	40	71.0	123.2	-52.2
7	129.6	154.3	-24.7	24	138.9	234.9	-96.0	41	95.9	188.5	-92.6
8	96.8	156.8	-60.0	25	130.3	195.5	-65.2	42	93.1	110.2	-17.1
9	117.3	189.5	-72.2	26	139.1	181.3	-42.2	43	71.1	79.6	-8.5
10	132.6	130.3	2.3	27	116.1	139.7	-23.6	44	124.4	211.1	-86.7
11	195.6	210.4	-14.8	28	71.2	98.5	-27.3	45	75.1	81.8	-6.7
12	253.5	269.5	-16.0	29	137.4	282.5	-145.1	46	106.0	134.1	-28.1
13	159.9	190.4	-30.5	30	171.6	230.5	-58.9	47	592.3	637.0	-44.7
14	171.2	154.8	16.4	31	454.8	540.8	-86.0	48	205.7	197.5	8.2
15	242.4	248.7	-6.3	32	471.1	520.9	-49.8	49	131.9	171.7	-39.8
16	242.7	248.6	-5.9	33	606.9	729.3	-122.4	50	137.9	200.6	-62.7
17	280.9	273.9	7.0	34	106.6	175.6	-69.0				

采用SPSS 19.0统计软件对两种方法测定的结果进行线性回归分析,以CMIA法测定结果为x轴,FPIA法测定结果为y轴,两者的相关性比较见图2。

由图2可知,两种方法结果间的相关性方程为 $y=1.0008x+48.561$ ($r=0.9500$),说明两种方法的相关性良好。对方法间结果进行显著性分析,两组数据的平均偏倚值为-47.631,标准偏差为43.643, $t=7.794$, $P<0.001$,组内结果分析 $P<0.001$,显示两种测定方法结果具有显著性差异。

卫生部室间质控样品测定比较:将我院接收的2013年卫生部临床检验中心的5个全血质控样品依次编号,按照“2.3”

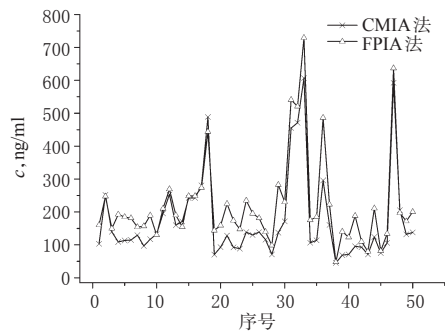


图1 CMIA法和FPIA法测定CsA结果对比图(n=50)

Fig 1 Comparison of blood concentrations of CsA by CMIA and FPIA (n=50)

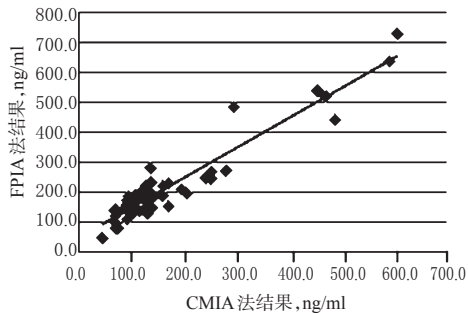


图2 CMIA法和FPIA法的CsA测定值的散点分析图

Fig 2 Scatter diagram of blood concentrations of CsA by CMIA and FPIA

项方法处理并检测,结果如表2所示。测定结果采用配对t检验作统计学分析,相关系数 $r=0.974$, $t=1.153$, $P<0.05$,可看出室间质控样本测定结果在两种不同方法间的差异具有统计学意义。

表2 CMIA法和FPIA对室间质控样品的CsA测定结果

Tab 2 Results of blood concentrations of CsA in external quality control samples by CMIA and FPIA

编号	第1天			第2天			第3天		
	CMIA法结果, ng/ml	FPIA法结果, ng/ml	偏倚	CMIA法结果, ng/ml	FPIA法结果, ng/ml	偏倚	CMIA法结果, ng/ml	FPIA法结果, ng/ml	偏倚
201311	742.5	792.6	-50.1	744.7	782.0	-37.3	879.2	776.2	103.0
201312	98.8	83.0	15.8	111.7	75.5	36.2	75.6	104.4	-28.8
201313	388.1	367.9	20.2	420.8	283.1	137.7	369.7	388.2	-18.5
201314	194.3	221.9	-27.6	214.2	209.2	5.0	229.0	230.0	-1.0
201315	205.8	194.9	10.9	203.9	178.6	25.3	178.0	194.4	-16.4

4 讨论

CsA是目前临床器官移植最常用的免疫抑制药^[3],要求定期测定其在全血中的浓度,为医师调整用药提供依据。本试验采取CMIA法和FPIA法进行检测并通过分析检测结果,比较两种方法所测结果的差异,用作临床参考。由图1可知,FPIA法的测定结果明显高于CMIA法,偏倚的平均值为47.631。分析其原因,可能是由于CMIA法的测定原理使其对CsA的特异性高,减少了药物代谢的交叉反应,检测结果偏低;而FPIA法无法排除原型药物、代谢产物或其他药物的干扰,灵敏度低^[4]。虽然两者检测结果在数值上存在差异,但通过其相关性分析可以得出,两种方法的测定结果相关性良好,对临床用药同样有意义。

由表2可知,卫生部室间质控样品所测结果的差异性小于临床标本。推测其原因是由于临床监测的患者全血中成分复

普伐他汀在健康受试者中的群体药动学研究

王 慧^{1,2*}, 朱立勤^{3#}, 章 袁¹, 杨建伟¹(1.天津医科大学一中心临床学院, 天津 300192; 2.天津市第四医院, 天津 300222; 3.天津市第一中心医院, 天津 300192)

中图分类号 R969.1;R973 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)42-3973-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.42.14

摘要 目的:考察口服普伐他汀在健康受试者体内的群体药动学模型。方法:利用万方医药数据库、维普中文科技期刊数据库、中国知网(CNKI)、PubMed、ScienceDirect 电子检索系统收集与普伐他汀药动学相关的文献共 19 篇,以文中涉及到的 350 名健康受试者为研究对象,运用非线性混合效应模型(NONMEM)建立普伐他汀的药动学模型。考察年龄、体质量、身高对药动学参数的影响,并以 Bootstrap 法进行模型验证。结果:本研究建立了健康人群口服普伐他汀一级吸收和消除的一房室药动学模型。体内的普伐他汀表观清除率(CL/F)、表观分布容积(V/F)和口服吸收系数(K_a)的群体典型值分别为 252 L/h、305 L、5.49 h⁻¹;年龄、体质量、身高因素加入模型之后,基本模型并未有明显改善($P>0.05$)。结论:本次研究范围内的健康受试者体内的普伐他汀主要药动学参数与其他文献报道接近。

关键词 普伐他汀;健康受试者;群体药动学;非线性混合效应模型

Population Pharmacokinetics Research of Pravastatin in Healthy Volunteers

WANG Hui^{1,2}, ZHU Li-qin³, ZHANG Yuan¹, YANG Jian-wei¹(1. The First Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China; 2. Tianjin Fourth Hospital, Tianjin 300222, China; 3. Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the population pharmacokinetics (PPK) model of oral administration of pravastatin in healthy volunteers. METHODS: Retrieved from Wanfang database, VIP, CNKI, PubMed and ScienceDirect, 350 healthy volunteers in 19 pravastatin literatures were chosen as research subject. Nonlinear mixed effect modeling(NONMEM)was employed to establish the PPK model of pravastatin. The effects of age, body weight and height on pharmacokinetic parameters were estimated and final PPK model was validated by Bootstrap method. RESULTS: One-compartment models with first-order absorption and elimination were established in the study. The typical population values of CL/F, V/F and K_a were 252 L/h, 305 L and 5.49 h⁻¹. The fixed effects, such as age, weight, height, had no significant impact on the model parameters($P>0.05$). CONCLUSIONS: The main pharmacokinetic parameters of pravastatin in healthy volunteers during the range of this study are similar to those in the reported literature.

KEY WORDS Pravastatin; Healthy volunteers; Population pharmacokinetics; Nonlinear mixed effect modeling

普伐他汀(Pravastatin)为 3-羟基 3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA)还原酶抑制剂^[1],系对洛伐他汀的化学结构进行

改进而得的半合成品^[2]。它是亲水性较强的酸性化合物,血浆蛋白结合率相对较低,口服吸收速率和生物利用度分别为

杂,可能存在其他药物或存在药物间的代谢作用,影响原始药物 CsA 的浓度,直接影响特异性较差的 FPIA 法测定的结果;而质控全血中的成分单一,不存在药物间的交叉反应,显著性差异较小。

血样的保存及处理同样会影响检测结果,采集的血样如不能及时检测则应冰箱冷藏保存,避免影响其稳定性。不同抗凝剂也会影响测定结果,本试验均采用 EDTA_{K₂},排除了抗凝剂对试验结果的干扰。对比两种检测方法的检测原理,CMIA 法的检测原理为两步免疫反应,灵敏度高,最低检测限为 0 ng/ml,最高检测浓度为 1 500 ng/ml,检测范围大于 FPIA 法(0~800 ng/ml)。作为全军移植中心,我院移植患者数量较多,且门诊检测 CsA 浓度的患者数量约占 65% 以上,因此 CMIA 法的检测范围大,比较适合我院使用。建议我院医师采用 CMIA 法检测 CsA 的浓度,并根据患者所用检测方法的不同

调整用药。另建议门诊患者在检测时尽量在同一家医院采用同一种方法,从而避免方法不同造成检测结果的差异。

综上所述,临床上用 FPIA 法和 CMIA 法检测 CsA 浓度同样可用,但结果存在显著性差异,FPIA 法的测定结果明显大于 CMIA 法。因此在临床诊断和用药的过程中,应根据所用方法的不同调整用药方案以保证用药安全。

参考文献

- [1] 黄焱.环孢素 A 在器官移植中的应用[J].中国市场,2011(14):131.
- [2] 张静,王羽,王璐璐,等.测定环孢素全血浓度的 2 种方法对比及临床应用[J].中国新药与临床杂志,2011,30(5):374.
- [3] 李海菊,平卫伟.器官移植后环孢素 A 谷浓度和服药后 2 h 浓度监测有效性和安全性的 Meta 分析[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(31):5 756.
- [4] 孙云川,王昕,战寒秋,等.荧光偏振免疫法测定环孢素 A 的影响因素[J].中国医院药学杂志,2008,28(8):629.

(收稿日期:2013-06-14 修回日期:2013-08-26)

* 硕士研究生,药师。研究方向:临床药学。电话:022-28182114。E-mail:wanghui_1019@sina.com

#通信作者:主任药师,博士。研究方向:临床药学。电话:022-23626417。E-mail:zyz0713@gmail.com