

三种质谱仪测定血液环孢素 A 浓度性能确证和优选研究

王磊¹, 赵颖¹, 刘红星^{1,2}

(1. 河北燕达陆道培医院, 河北三河 065201; 2. 北京陆道培血液病研究院, 北京 100176)

摘要: 目的 比较环孢素 A (CsA) 血药浓度测定在 TRIPLE QUAD™ 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 三台质谱仪上的性能确证结果, 优选出一台更适合环孢素 A 血药浓度测定的质谱仪。方法 对三台质谱仪上环孢素 A 血药浓度测定的方法学、定量下限、精密度、准确度、残留、基质效应和稳定性进行比较, 并对同一批临床样本在三台质谱仪上的检测结果进行分析。结果 环孢素 A 在 TRIPLE QUAD™ 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 上的检测时间分别为 3.0, 3.0 和 4.0 min, 峰型均良好; 最低定量限分别为 1.7, 0.7 和 2.1 ng/ml; 批内及批间标准偏差均小于 5%, 回收率均大于 90%, 残留均小于 5%, 内标归一化基质因子分别为 94.96% ~ 106.02%, 88.96% ~ 95.47% 和 99.14% ~ 107.82%; 24h 的 CV 在 TRIPLE QUAD™ 4500 MD 和 4000 Q TRAP 上均小于 10%, 在 API 3200 MD 上 CV 小于 5%。同一批临床样本在三台质谱仪上的检测结果差异无统计学意义 ($P=0.665$)。结论 环孢素 A 血药浓度测定在三台质谱仪上均可进行, 但从合规性和检测通量上宜选用 TRIPLE QUAD™ 4500 MD。

关键词: 环孢素 A; 高效液相色谱串联质谱法; 性能确证

中图分类号: R969; Q503 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 04-118-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.030

Performance Validation and Optimization Studies of the Determination of Cyclosporine A Concentration in Blood by Three Mass Spectrometers

WANG Lei¹, ZHAO Ying¹, LIU Hong-xing^{1,2}

(1. Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Hebei Sanhe 065201, China; 2. Beijing Lu Daopei Institute of Hematology, Beijing 100176, China)

Abstract: Objective To compare the performance of Cyclosporine A (CsA) in three mass spectrometers (TRIPLE QUAD™ 4500MD, 4000 Q TRAP and API 3200MD), and optimize a mass spectrometer which is more suitable for the determination of Cyclosporine A in blood. **Methods** Compared the methodology, lower limit of quantification, precision, accuracy, residue, matrix effect and stability of Cyclosporine A in three mass spectrometers, and analyzed the detection results of the same batch of clinical samples in three mass spectrometers. **Results** The detection time of Cyclosporine A on TRIPLE QUAD™ 4500MD, 4000 Q TRAP and API 3200MD was 3.0, 3.0 and 4.0 min, respectively, with good peak type. The minimum quantitative limit was 1.7, 0.7 and 2.1 ng/ml, respectively. The standard deviation within and between batches was less than 5%, the recovery was more than 90%; the residue was less than 5%, the normalized matrix factor of internal standard was 94.96% ~ 106.02%, 88.96% ~ 95.47% and 99.14% ~ 107.82%, respectively. The CV of 24h was less than 10% on TRIPLE QUAD™ 4500 MD and 4000 Q TRAP, and the CV was less than 5% on API 3200 MD. There was no significant difference in the test results of the same batch of clinical samples on three mass spectrometers ($P=0.665$). **Conclusion** Cyclosporin A can be measured on three mass spectrometers, but TRIPLE QUAD™ 4500 MD should be used in terms of compliance and detection throughput.

Keywords: cyclosporine A; HPLC-MS/MS; performance validation

环孢素 A (cyclosporine A, CsA) 是由 11 个氨基酸水合而成的亲脂性环状多肽, 是一种具有高选择性的强效免疫抑制剂, 为拮抗临床器官和组织移植后排异反应的首选药物^[1]。在骨髓移植患者中, 主要用于骨髓移植排异和移植抗宿主反应 (graft versus host reaction, GVHD) 的预防和治疗^[1-6], 其使用周期长, 应用频率高, 但其具有治疗窗窄, 个体差异大, 须进行血药浓度监测^[2-7]。目前,

CsA 血药浓度测定方法主要有免疫法 (EIA, EMIT, MEIA, CMIA, Elecsys 等)、色谱法及质谱法^[2-15]。由于免疫法易产生交叉反应, 导致结果偏离, 同时其试剂价格昂贵; 色谱法分析时间长, 限制了大样本的临床检测对血药浓度检测及时性的要求, 因此质谱法检测 CsA 血药浓度越来越受到广大实验室的。因此, 本文根据临床需求结合医院实际情况, 在实验室现有三台不同型号质谱仪 (TRIPLE

作者简介: 王磊 (1984-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事医院药学研究工作, E-mail: rosie1982@163.com。

通讯作者: 刘红星, 男, 医学硕士, 副研究员, 主要从事血液病相关实验室研究。

QUAD™ 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD) 上分别进行 CsA 血药浓度测定的方法学性能确证^[16-20], 找出 CsA 血药浓度测定在实验室现有哪款质谱仪上性能更稳定, 检测更方便, 且更适合大批量临床样本检测。通过临床实际样本检测进一步确认同一批样本分别在三台质谱仪上检测结果之间差异是否有统计学意义, 优选出合适的质谱仪用于 CsA 血药浓度测定。

1 材料与方 法

1.1 研究对象 收集 2019 年 11 月 24 日 ~ 25 日送河北燕达陆道培医院药理室检测 CsA 血药浓度的新鲜剩余全血样本, 共 100 份。要求血样无黄疸、无乳糜、无溶血及凝血, 样本剩余全血量不小于 2ml。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器: TRIPLE QUAD™ 4500 MD 质谱仪 (美国 Sciex 公司), Jasper 高效液相色谱仪, 4000 Q TRAP 质谱仪 (美国 AB Sciex 公司),

岛津 20A 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司), API 3200 MD 质谱仪 (美国 AB sciex 公司), 岛津 Nexera Xp 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司)。其它仪器有涡旋振荡器, 离心机等。

1.2.2 试剂: ClinCal®-Calibrator (RECIPE, CHEMICALS+INSTRUMENTS GmbH), ClinChek®-Control (RECIPE, CHEMICALS+INSTRUMENTS GmbH); CsA 测定试剂盒 (红细胞裂解液和 CsA-d4 内标液及 CsA 标准液; 批号 20191111, 江苏豪思生物科技有限公司)。甲醇为色谱纯 (Fisher), 水为屈臣氏蒸馏水 (广州屈臣氏), 甲酸为色谱纯 (Fisher), 乙酸铵 (AR, MREDA TECHNOLOGY INC)。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件: 色谱柱 Ultimate XB-C18 色谱柱 (4.6mm × 50mm, 5μm), 柱温 60℃; 流速 0.8ml/min; 流动相: 2mmol/L 乙酸铵 -0.1% 甲酸水溶液 (B) -0.1% 甲酸甲醇溶液 (A)。

表 1 不同质谱仪上的色谱条件

仪器型号	洗脱梯度 (A: 0.1% 甲酸甲醇溶液)	进样量 (μl)
TRIPLE QUAD™ 4500 MD	0.01min ~ 0.5min, 50% ~ 100%; 维持 1.5min; ~ 2.5min, ~ 50%; 维持 0.5min	1
4000 Q TRAP	0.01min ~ 0.5min, 50% ~ 100%; 维持 1.5min; ~ 2.5min, ~ 50%; 维持 0.5min	1
API 3200 MD	0.01min ~ 0.8min, 50% ~ 100%; 维持 1.2min; ~ 2.8min, ~ 50%; 维持 1.2min	5

1.3.2 质谱条件: 采用电喷雾电离源 (ESI+); MRM; 碰撞气: Medium。

表 2 三台质谱仪的主要质谱参数

仪器型号	药物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (v)	碰撞能量 (v)
TRIPLE QUAD™ 4500 MD	CsA	1 220.0	1 203.0	60	32
	CsA-d4	1 224.0	1 207.0	60	32
4000 Q TRAP	CsA	1 219.9	1 203.1	73	27
	CsA-d4	1 223.9	1 207.0	90	17
API 3200 MD	CsA	1 202.7	100.2	120	120
	CsA-d4	1 206.7	100.2	120	120

1.3.3 前处理方法: 精密吸取 100μl 全血置于 1.5ml EP 管中, 然后依次加入红细胞裂解液 100μl, CsA-d4 内标液 300μl, 涡旋震荡 1.0min, 13 000r/min 离心 8min, 取上清液 150μl 于自动进样器, 待检。ClinCal®-Calibrator 和 ClinChek®-Control 处理方法同上。

1.3.4 性能确证^[16-20]

1.3.4.1 方法学考察: 在上述色谱质谱条件下, 取空白全血 100μl, 用 300μl 的 50% 甲醇代替内标液, 按照 “1.3.3” 项下处理; 另取 100μl 空白全血加一定量 CsA 标准液, 余下按照 “1.3.3” 项下处理; 另取 100μl 患者样品全血按照 “1.3.3” 项下处理方法处理。根据三组样品的出峰情况, 对本实验的方法

学进行考察。

1.3.4.2 标准曲线制备: 分别在 7 个 1.5ml 的 EP 管中加入 100μl ClinCal®-Calibrator 各系列校准工作液, 按 “1.3.3” 处理后进行检测, 用加权 (W=1/X²) 最小二乘法以 CsA 峰面积与 CsA-d4 峰面积比值为 (Y) 对 CsA 浓度 (X) 进行线性回归, 得 CsA 标准曲线。以平均信噪比 (S/N) 为 3 的浓度作为方法的最低检测线 (limit of detection, LOD), 以平均信噪比 (S/N) 为 10 的浓度作为方法的最低定量线 (limit of quantitation, LOQ)。

1.3.4.3 精密度和正确度: 按 “1.3.3” 样品处理办法, 对 ClinChek®-Control 每一浓度平行制备 6 个样本分析, 连续测定 3 天, 根据测得结果计算日内及日间

精密度和回收率。

1.3.4.4 残留和基质效应：通过分析高浓度样品或校准曲线最高点浓度样品后，立即测定空白样品来评价方法残留，测定空白基质样品中的 CsA 和内标 CsA-d4 的峰面积，以确认残留对 CsA 准确定量的影响；基质效应是通过评价 CsA 在有全血基质中的信号值强弱来实现的，分别添加 3 个浓度水平的 CsA ClinChek[®]-Control 质控溶液到全血基质和纯溶剂，按照“1.3.3”样品处理办法处理，通过比较全血存在下 CsA 及 CsA-d4 的信号强度与不含全血 CsA 及 CsA-d4 的信号强度，通过内标归一化的基质因子 (IS-normalized MF) 来评价基质效应，计算公式如下：

$$\text{IS-normalized MF} = (\text{基质存在下 CsA 峰面积} / \text{CsA-d4 面积}) / (\text{基质不存在下 CsA 峰面积} / \text{CsA-d4 峰面积})$$

1.3.4.5 稳定性：由于 CsA 血药浓度检测要求及时性，故对 ClinChek[®]-Control 低、中、高浓度样品分别进行室温放置 24h 后分析，4℃ 冰箱放置 24h 后

分析，每个浓度五份样品，按照“1.3.3”项下进行 ClinChek[®]-Control 质控品处理。如果重复性测定的偏倚不超过 $\pm 15\%$ ，则样品的稳定性符合实验室临床检测的要求。

1.4 统计学分析 收集的 100 份患者 CsA 血药浓度剩余全血样本，按“1.3.3”项下处理，分别在三台质谱仪上检测其 CsA 浓度。使用 SPSS 17.0 对三台仪器检测结果进行方差分析，以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。同时对三台仪器检测结果进行相关性分析。

2 结果

2.1 方法学考察结果 见图 1。在选用条件下，全血中内源性物质不干扰 CsA 和 CsA-d4 的测定，CsA 在 TRIPLE QUADTM 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 出峰时间分别为 1.95, 1.95 和 1.99min，各峰型良好，CsA-d4 与 CsA 保持一致。TRIPLE QUADTM 4500 MD 和 4000 Q TRAP 每针检测时间为 3min；API 3200 MD 每针检测时间为 4min，耗时较长，检测速度慢。

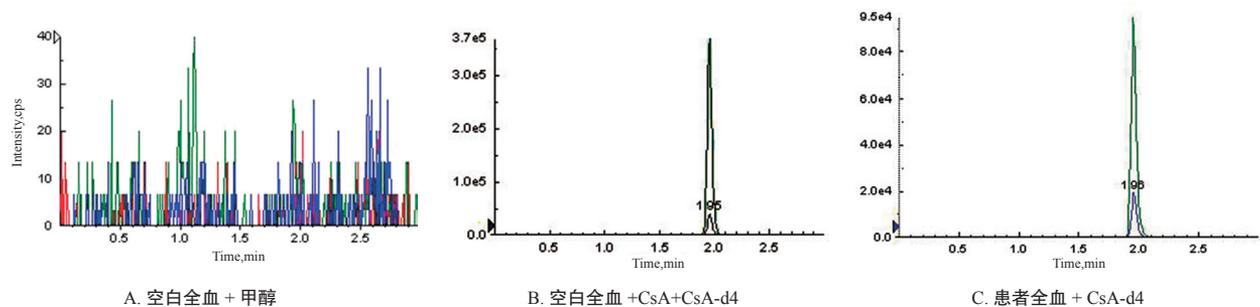


图 1 方法学考察 (A, B, C)

2.2 标准曲线 见表 3。表明 CsA 在浓度区间 (26.4 ng/ml ~ 1 290 ng/ml) 内，在 TRIPLE QUADTM 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 质谱仪上的线

性关系良好，均可用于定量；其 LOD 分别为 0.5, 0.2, 0.6 ng/ml；其 LQD 分别为 1.7, 0.7, 2.1 ng/ml。

表 3 不同型号质谱仪标准曲线结果

仪器型号	批次	方程	线性拟合
TRIPLE QUAD TM 4500 MD	1	$Y=0.001\ 29X-0.005\ 75(r=0.999\ 4)$	$Y=0.001\ 3X-0.004(R^2=0.999\ 6)$
	2	$Y=0.001\ 25X-0.004\ 03(r=0.999\ 6)$	
	3	$Y=0.001\ 19X-0.003\ 94(r=0.999\ 8)$	
4000 Q TRAP	1	$Y=0.002\ 23X-0.00\ 73(r=0.999\ 4)$	$Y=0.002\ 3X-0.000\ 63(R^2=0.999\ 0)$
	2	$Y=0.002\ 18X-0.005\ 31(r=0.999\ 6)$	
	3	$Y=0.002\ 29X-0.006\ 34(r=0.997\ 8)$	
API 3200 MD	1	$Y=0.00\ 18X+0.002\ 67(r=0.999\ 4)$	$Y=0.001\ 8X+0.003\ 6(R^2=0.999\ 4)$
	2	$Y=0.001\ 82X+0.002\ 26(r=0.999\ 4)$	
	3	$Y=0.001\ 79X+0.003\ 63(r=0.999\ 5)$	

2.3 精密度和准确度 见表 4。CsA 在 TRIPLE QUADTM 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 上的相对标准偏差均较小 (<5%)，精密度好，回

收率高 (>90%)，准确度好。说明此三台质谱仪上的 CsA 检测方法均能满足患者 CsA 血药浓度监测对精密度和准确度的要求。

表4 三台质谱仪精密度与准确度结果

仪器型号	浓度 (ng/ml)	\bar{x} (ng/ml)	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)	回收率 (%)	批内拟合 RSD (%)	批间拟合 RSD (%)
TRIPLE QUAD™	57	57.69	3.77	4.59	101.25		
4500 MD	119	113.72	4.53	4.97	95.56	3.91	4.66
	237	223.33	3.42	3.81	94.29		
4000 Q TRAP	57	58.03	1.95	4.06	101.74		
	119	115.44	2.07	3.09	96.98	2.63	3.03
	237	222.22	2.63	3.03	93.74		
API 3200 MD	57	58.43	2.86	2.69	102.53		
	119	117.89	2.68	2.58	99.04	2.17	2.12
	237	232.39	0.97	1.08	98.06		

2.4 残留、基质响应结果 残留结果见表5, CsA和 内标 CsA-d4 在 TRIPLE QUAD™ 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 三台质谱仪上残留结果均小于 5%, 符合中国药典药品生物样品定量分析方法验证指导原则^[16]。

基质效应结果见表6, 表明有全血、无全血基质中加入不同浓度 CsA 在 TRIPLE QUAD™ 4500

MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 三台质谱仪上的 IS-normalized MF 分别为 94.96%~ 106.02%, 88.96%~ 95.47% 和 99.14%~ 107.82%, 偏倚 (CV) 均小于 15%, 说明内标与分析物的基质效应接近, 可以补偿样品中分析物可能出现的基质效应, 基质效应评价符合中国药典药品质量标准分析方法验证指导原则^[16]。

表5 三台质谱仪残留结果

仪器型号	样本类型	CSA			CSA-d4		
		峰面积	最低点峰面积	残留	峰面积	最低点峰面积	残留
TRIPLE QUAD™ 4500 MD	最高点样品	1 440 000		-	853 000		-
	空白 01	651	25 100	2.6	2 210	831 000	0.3
	空白 02	221		0.9	1 530		0.2
4000 Q TRAP	最高点样品	3 280 000		-	1 230 000		-
	空白 01	0	56 300	0	0	1 140 000	0
	空白 02	0		0	0		0
API 3200 MD	最高点样品	1 210 000		-	552 000		-
	空白 01	948	23 700	4.0	11 688	487 000	2.4
	空白 02	40.4		0.2	122		0.02

表6 三台质谱仪基质效应结果 (%)

仪器型号	IS-normalized MF			偏倚 (CV)
	QCL	QCM	QCH	
TRIPLE QUAD™ 4500 MD	106.02	95.46	94.96	5.20
4000 Q TRAP	95.47	88.96	89.68	5.30
API 3200 MD	99.14	103.76	107.82	4.14

2.5 稳定性结果 低、中、高浓度质控品分别进行室温放置 24h, 4℃冰箱放置 24h 稳定性实验 (n=5), 在 TRIPLE QUAD™ 4500 MD, 4000 Q TRAP 和 API 3200 MD 三台质谱仪上重复测定的偏倚 (CV) 均小于 15%, 稳定性数据符合要求; 但根据实验数据可知, 样本 4℃冰箱放置其结果偏倚更小, 更稳定, 在实际操作中更可行。

表7 三台质谱仪稳定性结果 (n=5)

仪器型号	浓度 (ng/ml)	室温 24h	4℃冰箱 24h
		偏倚 (%)	偏倚 (%)
TRIPLE QUAD™ 4500 MD	57	4.14	4.67
	119	8.40	2.86
	237	8.19	3.71
4000 Q TRAP	57	3.90	4.21
	119	5.21	1.03
	237	6.16	7.17
API 3200 MD	57	2.56	2.70
	119	0.50	1.51
	237	1.35	2.70

2.6 临床应用 随机收集2019年11月24日~25日的环孢素样本100份,并分别在三台质谱仪上进行检测,其中CsA血药浓度结果小于100的占比58%,结果大于100并小于300的占比42%。其方差分析结果为 $F=0.409$, $P=0.665>0.05$,说明TRIPLE QUAD™ 4500 MD与4000 Q TRAP, API 3200 MD三种方法检测结果差异均无统计学意义。

同时,TRIPLE QUAD™ 4500 MD与4000 Q TRAP相关系数为0.994 0,4000 Q TRAP与API 3200 MD样本结果相关系数为0.996 9,TRIPLE QUAD™ 4500 MD与API 3200 MD相关系数为0.995 9,说明三台质谱仪检测结果相关性较好,无需换算可直接进行互相转换,供临床参考。见图2。

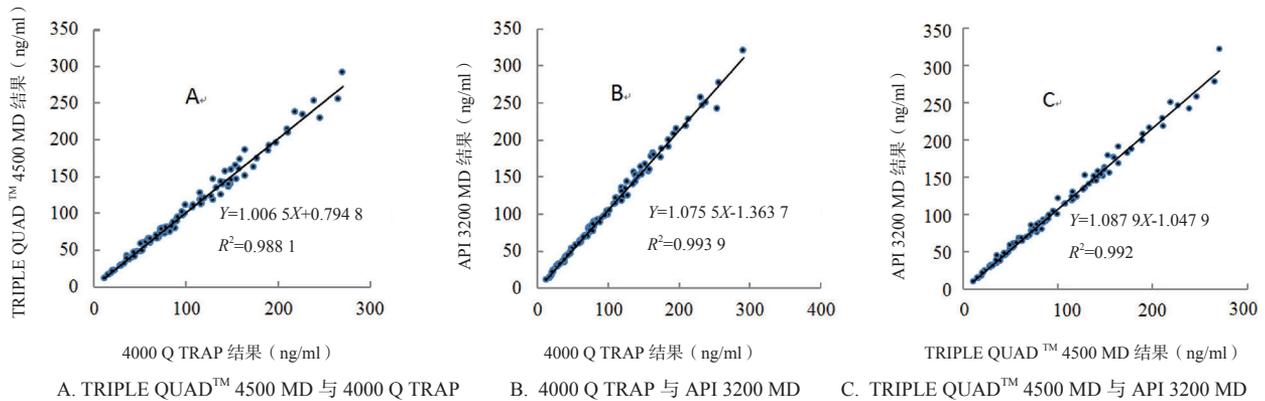


图2 相关性分析

3 讨论

CsA作为环状多肽类免疫抑制剂,主要用于临床GVHD的预防和治疗。由于其分子量较大,代谢产物种类较多,且代谢产物含量各异^[1-11]。因此,其血药浓度受不同检测方法影响较大^[2-5,7-10]。用免疫法检测,其代谢产物和结构类似物容易与CsA发生免疫交叉反应,导致CsA血药浓度检测结果偏高或偏低;同时又由于CsA代谢产物活性不同,导致CsA血药浓度结果与临床现象不符,对CsA血药浓度监测,方法的选择就显得尤为重要。DAVID W.Holt等^[11]人认为色谱法作为CsA血药浓度测定的金标准,质谱检测具有更高的灵敏度和选择性。2002年澳大利亚的专家共识指出CsA血药浓度测定可以选择免疫法(EMIT, ACMA)或者是色谱法和质谱法,同时指出随着质谱仪的普及,质谱法检测CsA血药浓度将成为趋势^[12]。2009年WHO指出CsA血药浓度测定应选择特异性强的检测方法,避免代谢产物的干扰^[13]。同时西雅图标准中也指出CsA血药浓度选择高效液相色谱串联质谱测定且梅奥诊所也采用高效液相色谱串联质谱来测定免疫抑制剂的血药浓度^[14]。2019年,中国治疗药物监测专家共识指出,从药物专属性上推荐采用液相色谱-质谱联用技术和高效液相色谱技术用于药物血药浓度测定^[15]。本文选择质谱法检测CsA血药浓度,是基于色谱法作为CsA血药浓度监测的金标准而进行的,通过确定的质量数特异性监测CsA,进而定量,其不受代谢产物和结构类似物的干扰,用于检测CsA母体药物。

由于本实验拥有三台质谱仪(TRIPLE QUAD™

4500 MD, 4000 Q TRAP API与3200 MD),不同仪器间用于检测骨髓移植患者CsA血药浓度是否存在差异以及哪台仪器更适合的问题,一直困扰实验室。本试验主要对以上三种不同型号质谱仪进行CsA血药浓度进行性能验证,以明确哪一种型号质谱仪更加适合CsA血药浓度监测,主要通过标准曲线,日内、日间精密度,残留,基质效应,稳定性这几方面进行验证^[15-20]。有以上结果可见,API 3200 MD检测时间长,进样量大,质谱仪易受污染。本实验室前期预实验也发现API 3200 MD对色谱梯度洗脱方法要求很严格,其影响检测稳定性因素较多。而TRIPLE QUAD™ 4500 MD与4000 Q TRAP检测时间短,进样量小,其方法较稳定。但由于其价格较高,尚不能广泛使用。而API 3200 MD和TRIPLE QUAD™ 4500 MD均获得CFDA批准,可以用于临床实验室检测。整体结果表明TRIPLE QUAD™ 4500 MD与4000 Q TRAP和API 3200 MD相比,更适合于CsA血药浓度监测。希望基于本试验的结果对临床如何选择质谱仪监测CsA血药浓度提供参考,以便更好地实现个体化、合理化用药^[2-5,9-12]。

参考文献:

- [1] 环孢素软胶囊中文说明书[Z].2010年版.丽珠集团丽珠制药厂. Chinese Instructions for cyclosporine Soft Capsules[Z]. 2010 Edition. Lizhu Pharmaceutical Factory of Lizhu Group.
- [2] JOHNSTON A, HOLT D W. Immunosuppressant drugs-the role of therapeutic drug monitoring[J]. Br J

- Clin Pharmacol, 2001,52(Suppl 1):61S-73S.
- [3] JORGA A, HOLT D W, JOHNSTON A. Therapeutic drug monitoring of cyclosporine[J]. Transplant Proc, 2004,36(2suppl):396S-403S.
- [4] ZHANG Yu, ZHANG Rui. Recent advances in analytical methods for the therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs[J]. Drug Test Anal, 2017,10(1):81-94.
- [5] KAHAN B D, KEOWN P, LEVY G A, et al. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice[J]. Clin Ther, 2002,24(3):330-350.
- [6] 中华医学会儿科学分会临床药理学组. 儿童治疗性药物监测专家共识 [J]. 中华儿科杂志, 2015,53(9):650-659.
Clinical Pharmacology Group, Pediatrics Society of the Chinese Medical Association. Expert consensus on therapeutic drug monitoring in children [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2015,53(9):650-659.
- [7] 国家卫生计生委临床检验中心. 卫生部临床检验中心室间质量评价标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
General Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Inter-laboratory quality evaluation standard of clinical testing center of the ministry of health [S]. Beijing: Standard Press of China, 2017.
- [8] 王磊, 孙文利, 陈佳琦, 等. 环孢素 A 血药浓度监测相关实验室检测研究进展 [J]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2019,7(02):65-70.
WANG Lei, SUN Wenli, CHEN Jiaqi, et al. Research progress on laboratory monitoring cyclosporine A concentration in the whole blood[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Mgt (Electronic Edition), 2019,7(2):65-70.
- [9] 蒋志美, 张伶俐, 罗婷, 等. 高效液相色谱法与常见免疫法监测环孢素血药浓度效果比较的系统评价 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2018,18(3):289-294.
JIANG Zhimei, ZHANG Lingli, LUO Ting, et al. Systematic review on comparison of effects between performance liquid chromatography and common immunoassay in monitoring the plasma concentration of cyclosporin A [J]. Evaluation and Analysis of Drug Use in Hospitals of China, 2008,18(3):289-294.
- [10] 王磊, 刘红星, 孙文利. HPLC-MS/MS 法在骨髓移植患者全血 CSA 及 AMI 浓度测定中的应用 [J]. 重庆医学, 2017,46 (23):3234-3237.
WANG Lei, LIU Hongxing, SUN Wenli. The Application of HPLC-MS/MS method in the determination of whole blood concentration of cyclosporine A and AMI in bone marrow transplant patient [J]. Chong qing Med, 2017, 46 (23): 3234-3237.
- [11] DAVID W H, MSTRONG V W, GRIESMACHER A, et al. International federation of clinical chemistry/ international association of therapeutic drug monitoring and clinical toxicology working group on immunosuppressive drug monitoring [J]. Therapeutic Drug Monitoring, 2002,24(1):59-67.
- [12] MORRIS R G, ILETT KENNETH F, TETT SUSAN E, et al. Cyclosporin monitoring in Australasia: 2002 update of consensus guidelines. [J]. Therapeutic drug monitoring, 2002,24(6):677-688.
- [13] WHO. WHO model formulary for children 2010 [EB/OL]. [2018-10-28]. <http://apps.who.int/medicinedocs/en/m/abstract/Js17151e/>.
- [14] <https://www.mayoclinic.org/search/search-results?q=Cyclosporine>. 2020.1.15.
- [15] 中国药理学会治疗药物监测研究专业委员会. 治疗药物监测工作规范专家共识 (2019 版) [J]. 中国医院用药评价与分析, 2019,19(8):897-902.
Division of Therapeutic Drug Monitoring, Chinese Pharmacological Society. The expert consensus on the standards of therapeutic drug monitoring (2019 Edition) [J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2019,19(8):897-902.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:363.
Chinese Pharmacopoeia committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015:363.
- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute. Liquid Chromatography-mass spectrometry methods approved guideline [S]. Wayne PA: CLSI C62-A, 2014.
- [18] 中华医学会儿科学分会, 国家卫生计生委临床检验中心. 液相色谱-质谱临床应用建议 [J]. 中华检验医学杂志, 2017,40(10):770-779.
Chinese Society of Laboratory Medicine, National Center for Clinical Laboratories. Suggestions on clinical application of liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2017,40(10):770-779.
- [19] BURLINGAME A L, BOYD R K, GASKELL S L. Mass spectrometry [J]. Anal Chem, 1994,66(12):634R-683R.
- [20] European Medicines Agency. Guideline on validation of bioanalytical methods [S]. United Kingdom: London, 2009.

收稿日期: 2020-02-13

修回日期: 2020-03-24