

### 3 讨 论

CA125 不仅是卵巢癌的特异性肿瘤标志物,在很多恶性肿瘤中血清 CA125 水平也升高<sup>[1]</sup>。有研究报道 CA125 在 NHL 淋巴瘤患者中有增高与腹部浸润有关,且治疗缓解后 CA125 水平下调,复发后上调<sup>[2]</sup>。有文献报道 CA125 并非由 ML 细胞直接产生,很可能是 ML 细胞释放的淋巴因子刺激了间皮细胞,引起间皮细胞分泌 CA125<sup>[3]</sup>;因此 CA125 反映了肿瘤的侵袭能力。 $\beta$ 2-MG 是一种小分子蛋白质,主要由淋巴细胞分泌产生,常用于肾脏功能的评价。ML 患者常伴有  $\beta$ 2-MG 的升高,且反映了肿瘤的负荷,广泛病变者  $\beta$ 2-MG 高于局部病变者。SF 是一种铁蛋白,在人体中广泛分布,以骨髓、肝脏内含量最高,恶性肿瘤中 SF 有不同程度的升高,ML 患者尤为明显<sup>[4]</sup>。ML 患者血清 SF 水平显著升高机制还不是很明确,可能是由于细胞破坏增加以及周围组织损伤导致储存于细胞内的 SF 释放入血所致。LDH 属于糖酵解酶,ML 患者中血清 LDH 水平增高以得到广泛认可,在 ML 预后指标 IPI 评分中,LDH 是独立的预后评判指标,LDH 水平与肿瘤大小、临床分期、骨髓浸润等因素密切相关<sup>[5]</sup>。本研究结果显示 ML 组血清 CA125、SF、 $\beta$ 2-MG、LDH 测定值及阳性率明显高于健康对照组,差别有统计意义( $P < 0.05$ );血清 CA125、SF、 $\beta$ 2-MG、LDH 联合检测的灵敏度和准确性均高于单项检测;血清 CA125、SF、 $\beta$ 2-MG、LDH 均和 ML 临床分期相关,Ⅲ/Ⅳ期患者水平明显高于 I/Ⅱ期( $P < 0.05$ );化疗后缓解组血清 CA125、SF、 $\beta$ 2-MG、LDH 水平下调显著,差别有统计意义( $P < 0.05$ )。未缓解组血清 CA125、SF、 $\beta$ 2-MG 及 LDH 水平下调不明显,差别无统计意义( $P > 0.05$ )。CA125 反映了肿瘤的侵袭

• 经验交流 •

能力;SF、 $\beta$ 2-MG 与肿瘤的负荷有关;LDH 体现了肿瘤的增生活性。选择这 4 项指标联合检测使 ML 诊断的灵敏度和准确性显著提高,同时为 ML 的治疗提供比较理想的疗效监测指标,能够较好的反映化疗的效果,有助于个体化治疗。

综上所述,ML 患者血清 CA125、SF、 $\beta$ 2-MG 及 LDH 水平和临床分期相关,联合检测 4 项指标提高 ML 诊断的灵敏度和准确度,协助临床分期;结合影像学检查,动态观测 4 项指标可用于 ML 治疗的疗效判断,为 ML 患者的合理规范化治疗提供帮助。

### 参考文献

- [1] 陆俊钢.血清糖类抗原 CA125 在良、恶性疾病诊断中的价值和分折[J].标记免疫分析与临床,2011,18(6):427-428.
- [2] 归薇,焦士兰,赵志强,等.非霍奇金淋巴瘤患者血清和肿瘤组织 CA125 表达的初步研究[J].中华血液学杂志,2005,26(4):248-249.
- [3] Benboubker L, Valat C, Linassier C, et al. A new serologic index for low-grade non-Hodgkin's lymphoma based on initial CA125 and LDH serum levels[J]. Ann Oncol, 2000, 11(11):1485-1491.
- [4] 林江,焦夕琴,费霞,等.恶性淋巴瘤患者血清免疫抑制酸性蛋白及铁蛋白检测的意义[J].江苏大学学报:医学版,2003,13(5):412-413.
- [5] 樊璠,徐笑红,陈文虎.非霍奇金淋巴瘤患者血清 TNF- $\alpha$ , CA125,  $\beta$ 2-MG, LDH 水平及临床意义[J].肿瘤学杂志,2012,18(10):780-783.

(收稿日期:2013-09-17)

## 酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度的临床应用

陈社安,李美珠,李炜煊,吕婉娴

(广东省佛山市第一人民医院检验科,广东佛山 528000)

**摘 要:**目的 探讨酶放大免疫法测定他克莫司(FK506)血药浓度的方法学评价和临床应用的可行性。方法 对酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度的回收率、精密度、线性范围等方法学指标进行测定。并对 1 255 例次肝肾移植术后进行他克莫司血药谷浓度测定,进行相关的统计学分析。结果 方法回收率为 98.2%~101.03%,批内精密度的平均 CV 为 5.07%,日间精密度的平均 CV 为 6.79%,线性范围 2.0~30.0 ng/mL。1 255 例次治疗抗移植排斥反应 FK506 的血药浓度为 3.0~12.9 mg/mL,占测定数的 91.16%。结论 酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度具有准确、稳定、简便、快速、自动化等优点,适用临床他克莫司血药浓度监测。在患者临床状况良好下,他克莫司浓度为 3.0~12.9 ng/mL 为适合的治疗血药浓度。

**关键词:**他克莫司(FK506); 酶放大免疫法; 血药浓度; 测定

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.081

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2013)24-3420-03

他克莫司(FK506)为一种强效的新型免疫抑制剂,是从链霉菌属中分离出的发酵产物,常温下呈白色结晶粉末,分子式为  $\text{CH}_{60}\text{N}_{2}\text{H}_{10}$ ,相对分子质量为 822.05<sup>[1]</sup>。主要通过抑制白细胞介素-2(IL-2)的释放,全面抑制 T 淋巴细胞的作用,较环孢素作用强 100 倍。临床上主要用于抗移植排斥反应,是肝脏、心脏、肾脏及骨髓移植患者的首选免疫抑制药物,也可用于治疗系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等自身免疫病。因他克莫司的药物本身和其代谢产物都具有一定的毒性,加上治疗窗较窄,浓度太低不能达到抗移植排斥反应,浓度太高会导致中毒反应。所以临床上对他克莫司血药浓度的监测非常重要<sup>[2]</sup>。目前监控其血药浓度的方法许多,而本文采用酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度具有准确、稳定、简单、快速、自动化等优

点,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2012 年 8 月至 2013 年 5 月本院进行肝移植和肾移植,或肝肾移植术后的随访和治疗的患者,共进行酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度 1 255 例次,其中男 981 例次,女 274 例次,年龄(45.2 $\pm$ 11.9)岁。

**1.2 仪器与试剂** 德国西门子公司生产的 Viva-E 全自动药物分析仪。试剂采用原装西门子 Emit 200 他克莫司测定试剂及配套标准品、配套质控品。按说明书设置仪器参数和配备试剂、标准品和质控品。

### 1.3 方法

**1.3.1 样本** 用酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度。按常

规体质量计算用药,术后第 3 天起,取末次服药后 12 h(次日早上服药前)谷值样本,用 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝试管抽取静脉血 2 mL,将血液充分混匀送检。在加有 200  $\mu$ L 甲醇和 50  $\mu$ L 样本预处理液(硫酸铜)混和液的 1.5 mL 离心管中,加入 200  $\mu$ L 已充分混匀的全血样本,立即充分混匀,并在涡式振荡器上振荡 30 s,萃取他克莫司,以 12 000 $\times$ g 离心力离心 8 min,吸取含他克莫司上清液,在 Viva-E 全自动药物分析仪上,用酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度。

**1.3.2 回收率** 用含有 3 ng/mL 他克莫司血药浓度的全血加入浓度为 30 ng/mL 和 5 ng/mL 标准品,按 1.3.1 操作进行测定,计算回收率。

**1.3.3 精密度** 批内精密度测定:取高中低 3 个水平的质控品,每个质控品连续按 1.3.1 操作测量 20 次,计算  $\bar{x}$ 、 $s$ 、 $CV$  值;批间精密度:每次测定他克莫司血药浓度样本的同时测定高、中、低 3 个水平的质控品,计算  $\bar{x}$ 、 $s$ 、 $CV$  值。

**1.3.4 线性范围** 将标准浓度为 30 ng/mL 用空白全血稀释成 1:2、1:4、1:8、1:16 的样本,按 1.3.1 操作测定,进行直线回归计算。

**1.4 统计学处理** 所有资料录入 Excel 2003,建立数据库。统计学处理采用 SPSS13.0 统计学软件。

## 2 结果

**2.1 方法回收率** 低浓度(5.0 ng/mL)样本的实际测定浓度为 4.91 ng/mL,回收率 98.2%,高浓度(30.0 ng/mL)样本的实际测定浓度为 30.31 ng/mL,回收率为 101.03%,高、低浓度样本的回收率均符合 95%~105%的要求,能够保证测定结果的准确性。

**2.2 精密度** 批内精密度:高、中、低浓度样本检测浓度分别为(17.21 $\pm$ 0.88)、(8.78 $\pm$ 0.40)、(2.56 $\pm$ 0.14)ng/mL, $CV$  分别为 5.13%、4.56%、5.52%,平均  $CV$  为 5.07%。批间精密度:高、中、低浓度样本检测浓度分别为(17.02 $\pm$ 1.18)、(8.75 $\pm$ 0.58)、(2.61 $\pm$ 0.18)ng/mL, $CV$  分别为 6.91%、6.65%、6.81%,平均  $CV$  为 6.79%。高、中、低 3 个浓度批内精密度和批间精密度的  $CV$  值均小于 7%,说明该方法的精密度良好,能够保证测定结果的稳定性。

**2.3 线性范围** 酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度在 2.0~30.0 ng/mL 范围内线性良好,线性方程为  $Y = 1.0125X - 0.1338$  ( $r^2 = 0.9999$ ),能够满足临床测定他克莫司血药浓度的要求,保证线性范围内测定结果的准确性。

**2.4 酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度分布** 酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度分布是: $<2.0$  ng/mL 者仅占 0.72% (9/1 255);20~42 ng/mL 者仅占 0.72% (9/1 255);浓度为 3.0~12.9 ng/mL 者占 91.16% (1 144/1 255),浓度为 13.0~19.9 ng/mL 者仅占 4.38% (55/1 255)。见图 1(见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。

## 3 讨论

近年来,他克莫司(FK506)广泛应用于肝脏、肾脏、心脏、胰腺等实体器官移植领域,他克莫司具有药效强、剂量低、提高器官存活率、预防术后急性排斥等有良好的疗效<sup>[3-4]</sup>。但是他克莫司治疗窗较窄,毒性副作用较大,且毒性副作用与血药浓度呈量效正相关,加上其药动力学指标患者个体差异较大,无法用服药量来断血药浓度的范围<sup>[5]</sup>。有许多研究表明<sup>[6-10]</sup>,许多因素能影响他克莫司的血药浓度:比如性别,女性的血药浓度要高于男性;体质量和身高的影响;给药时间的影响,如早上服药明显高于其他时间段;同时服用如大环内酯类药物、抗菌

药物(如氯霉素、林霉素等)、抗真菌类药物、抗病毒药、钙拮抗剂等药物的联合用药时,均会影响到他克莫司的血药浓度变化。因此临床使用他克莫司治疗时,为了保证达到免疫抑制效果的目的,又同时将其不良毒性副作用反应的发生降到最低,应在术后早期、剂量调整后、从其他免疫抑制剂转换为他克莫司、合并用可能发生药物相互作用的药物后,进行他克莫司血药谷值浓度的测定,根据测定结果来调整给药剂量和治疗方案。

目前测定他克莫司血药浓度的方法有:高效液相色谱法、反相高效液相色谱法<sup>[11]</sup>、微粒子酶免疫法<sup>[6]</sup>、ELISA<sup>[12]</sup>等。本研究是采用酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度,结果表明,本方法在高低不同浓度的血药浓度均具有较高的回收率(99.2%~101.03%);在高中低 3 个不同浓度质控品的批内和批间精密度的  $CV$  均低于 7%,表示方法具有较好的精密度;他克莫司血药浓度在 1.88~30.0 ng/mL 范围内线性良好( $Y = 1.0125X - 0.1338$ ,  $r^2 = 0.9999$ ),因此本法在准确度和重复性均达到理想的指标,其线性能满足临床用药监测的范围。从 1 255 例次他克莫司血药浓度测定结果分析表明, $<2.0$  ng/mL 者所占比例仅为 0.72% (9/1 255),药量不足,需要加大药量以达到治疗效果;血药浓度为 20~42 ng/mL 者仅占 0.72% (9/1 255),已超过引起中毒的安全用药浓度之外,应立即减药,减药后第 2 天复查他克莫司的血药浓度,以确保在安全浓度以内用药,及时降低毒性副作用反应的发生。有临床研究表明,若全血浓度(谷值浓度)维持在 20 ng/mL 以下,大部分患者耐受良好,不会引起中毒副作用。若血药浓度低于限量(20 ng/mL)且患者临床状况良好,则无须调整剂量。本研究显示,浓度为 3.0~12.9 ng/mL 者占 91.16%,而血药浓度为 13.0~19.9 ng/mL 者仅为 4.38%,且患者临床状况良好,与文献报道基本一致,这样既能达到治疗抗排斥反应,又能得到合理用药,减低患者的经济负担。

综上所述,笔者回顾性总结了 1 255 例次他克莫司的血药浓度,在肝肾术后治疗抗排斥用药的浓度为 3.0~12.9 ng/mL 为合适。采用酶放大免疫法测定他克莫司血药浓度具有准确性高、精密度好、线性范围广、操作简便、快速、自动化高等优点,适于临床推广应用。

## 参考文献

- [1] Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document: therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506) [J]. Ther Drug Monit, 1995, 17(6): 606-614.
- [2] Gurley BJ, Barone GW, Williams DK, et al. Effect of milk thistle (Silybum marianum) and black cohosh (Cimicifuga racemosa) supplementation on digoxin pharmacokinetics in humans [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34(1): 69-74.
- [3] Lerut J, Mathys J, Verbaandert C, et al. Tacrolimus monotherapy in liver transplantation: one-year results of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. Ann Surg, 2008, 248(6): 956-967.
- [4] Vincenti F, Jensik SC, Filo RS, et al. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: evidence for improved allograft survival at five years [J]. Transplantation, 2002, 73(5): 775-782.
- [5] 薄玉红. FK506 的临床应用与血药浓度检测 [J]. 首都医科大学附属北京朝阳医院学报, 2000, 5(2): 221-224.
- [6] 潘继文. 应用微粒子酶免疫法测定肝移植他可莫司的血药浓度评

价[J]. 实用药物与临床, 2008, 11(2): 99-100.

[7] 乔青, 魏翠英, 佟光明, 等. 血液透析对尿毒症患者血清内皮素-1, 一氧化氮, 血管紧张素Ⅱ的影响及临床意义[J]. 中国医药导刊, 2004, 6(6): 405-406.

[8] 何霞, 童荣生, 肖开春, 等. 他克莫司血药浓度影响因素的研究进展[J]. 中国药业, 2011, 20(11): 80-83.

[9] 滕立臣, 王长希, 陈立中, 等. 腹泻对肾移植受者他可莫司血药浓度的影响[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2009, 18(5): 406-409.

[10] 陈国栋, 陈立中. 他克莫司在肾移植中应用新进展[J]. 器官移植, 2011, 2(1): 46-49.

[11] 赵碎巧. 他克莫司的血药浓度的方法学评价[J]. 中国医药导刊, 2012, 14(2): 342-343.

[12] 张宁, 吕慧怡, 范广俊, 等. 酶联免疫法监测肝移植术后他克莫司血药浓度[J]. 大连医科大学学报, 2006, 28(5): 419-420.

(收稿日期: 2013-09-28)

• 经验交流 •

## 肺炎克雷伯菌儿童分离株的临床耐药性分析

王 丽, 魏 红

(淮安市妇幼保健院, 江苏淮安 223002)

**摘要:**目的 了解该院 2011 年 1 月至 2013 年 5 月住院患儿各类临床标本分离出的肺炎克雷伯菌的耐药性情况。方法 采用 ATB 半自动微生物检定系统和 CLSI(2010 年)的判断标准, 对该院患儿各类标本分离的肺炎克雷伯菌进行鉴定和药敏实验。结果 共分离出肺炎克雷伯菌共 103 例, 产 ESBLs 肺炎克雷伯菌 81 株, 检出率 78.64%; 同时检出 14 例对亚胺培南耐药或中敏的肺炎克雷伯菌 14 例。耐药率较低的抗菌药物依次为阿米卡星、左氧氟沙星、亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦。结论 肺炎克雷伯菌的耐药情况日益加剧, 应引起足够的重视。

**关键词:**肺炎克雷伯菌; 婴幼儿; 细菌耐药性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.082

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2013)24-3422-02

近年来肺炎克雷伯菌引起的院内感染呈增长趋势, 并逐渐成为革兰阴性菌引起院内感染的主要致病菌之一。由于婴幼儿免疫系统不成熟, 加上广谱抗生素的广泛使用, 导致肺炎克雷伯菌的耐药情况不断加剧。为此, 笔者对 2011 年 1 月至 2013 年 5 月间本院患儿分离出的肺炎克雷伯菌的耐药情况进行了分析, 以便为临床合理用药和预防医院感染提供依据, 现报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 菌株分离自 2011 年 1 月至 2013 年 5 月本院 103 例住院患儿各类临床标本(主要为血液及痰液标本)。剔除同一患儿同一部位分离的重复菌株。

**1.2 细菌培养与鉴定** 血液标本用 BD9120 全自动血培养仪(美国 BD 公司产品), 其他标本用 ATB-New 半自动细菌鉴定仪及原装 ID 系列鉴定板条(法国梅里埃公司生产), 细菌鉴定到种。细菌培养与鉴定方法按照《全国临床检验操作规程》第 2 版进行操作。

**1.3 药敏试验** 采用纸片扩散法(KB 法)进行药敏试验。MH 琼脂平板及药敏纸片均为英国 Oxoid 公司出品。试验方法按照美国临床实验室标准化委员会的规定进行。

**1.4 质量控制** 采用标准菌株 ATCC25922、ATCC700603 进行全程质量控制。

**1.5 统计学处理** 采用 WHONET5.6 软件进行数据录入与统计分析。

### 2 结 果

**2.1 标本构成与分布** 103 例患儿阳性标本中痰液标本所占比例最高, 为 70.87%(73/103), 其次为血标本, 占 11.65%(12/103), 脓标本占 10.68%(11/103), 分泌物标本占 3.9%(4/103), 静脉管标本占 1.94%(2/103)。

**2.2 肺炎克雷伯菌药敏情况** 2011 年 1 月至 2013 年 5 月肺炎克雷伯菌对临床常用 13 种药物的耐药情况见表 1。2011、2012、2013 年分别检出 26、41、36 株肺炎克雷伯菌, ESBLs(+)

菌株总检出率为 78.64%(81/103), 2011~2013 年 ESBLs(+)菌株检出率分别为 80.77%、73.17%、80.56%, 亚胺培南耐药率分别为 0.00%、25.00%、30.77%。

表 1 各年份肺炎克雷伯菌耐药率(%)

抗菌药物	2011 年	2012 年	2013 年 1~5 月
氨苄西林	100.00	97.37	100.00
哌拉西林	84.62	84.21	88.89
头孢他啶	80.77	73.17	80.56
头孢噻肟	81.82	81.58	88.57
头孢唑啉	84.62	100.00	89.29
头孢曲松	90.00	73.33	90.00
头孢哌酮/舒巴坦	48.00	55.17	43.33
哌拉西林/他唑巴坦	25.00	48.78	33.33
阿米卡星	8.00	3.13	0.00
左氧氟沙星	8.33	0.00	2.94
亚胺培南	0.00	25.00	30.77
头孢吡肟	76.92	73.86	80.33
美洛培南	0.00	33.33	34.78

### 3 讨 论

肺炎克雷伯菌是重要的条件致病菌之一, 广泛分布于呼吸道、消化道。该菌是重症患者和抵抗力低下患者发生感染的潜在危险因素, 是引起院内获得性感染的重要病原菌之一。近年来由于广谱抗菌素的大量使用, ESBLs(+)肺炎克雷伯菌逐年增多, 耐药性逐年增高, 尤其是多重耐药性的出现, 给临床治疗带来了巨大的困难。

本研究显示本院 ESBLs(+)肺炎克雷伯菌检出率为 78.64%, 与樊卫红等报道基本一致<sup>[1]</sup> 高于黄玉瑛等<sup>[2]</sup> 报道。由于 ESBLs(+)肺炎克雷伯菌高检出率, 肺炎克雷伯菌对青