

• 论 著 •

混合型固相萃取技术及毛细管电泳检测血浆和尿液中 4 种喹诺酮类药物*

赵凌国¹, 邵慧凯², 丘 汾¹, 李 伟¹, 何佳平¹, 陈 建^{1△}

(1. 深圳市福田区疾病预防控制中心, 广东深圳 518040;

2. 广东药学院药科学院, 广东广州 510006)

摘要:目的 建立固相萃取及毛细管电泳法快速检测血浆和尿液中喹诺酮类药物洛美沙星、加替沙星、环丙沙星和氧氟沙星的方法。方法 毛细管为熔融石英毛细管(75/365 μm , 40/47 cm), 运行缓冲液为 40 mmol/L 硼砂缓冲液(pH 9.0), 电压 13 kV, 柱温为 20 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 280 nm。样品经固相萃取后进样分析。结果 4 种喹诺酮类药物在 6 min 内完全分离。在 1~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内, 洛美沙星、加替沙星、环丙沙星和氧氟沙星峰面积和浓度的线性关系良好, 相关系数 r 分别为 0.998 7、0.997 6、0.998 3 和 0.994 2。尿液和血浆中 4 种喹诺酮类药物加标回收率为 80.1%~107.6%, 精密度相对标准差(RSD)为 2.1%~6.2%。结论 该方法具有快速、简便、准确度和精密度高等特点, 适用于血浆和尿液中洛美沙星、加替沙星、环丙沙星和氧氟沙星水平的快速检测。

关键词: 毛细管电泳; 喹诺酮; 固相萃取

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.16.016

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)16-2329-04

Determination of four quinolones in plasm and urine by using mixed mode solid phase extraction and capillary electrophoresis*

Zhao Lingguo¹, Shao Huikai², Qu Fen¹, Li Wei¹, He Jiaping¹, Chen Jian^{1△}

(1. Center for Disease Prevention and Control of Futian District, Shenzhen, Guangdong 518040, China;

2. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

Abstract: Objective To develop a new method for the rapid determination of lomefloxacin, gatifloxacin, ciprofloxacin and ofloxacin in plasm and urine by solid phase extraction(SPE) and capillary electrophoresis. **Methods** The capillary was fused silica capillary with id/od of 75/365 μm and effective/total length of 40/47 cm. The running buffer was 40 mmol/L borate buffer at pH 9.0. Separation voltage was 13 kV. Temperature was 20 $^{\circ}\text{C}$. Detection wave-length was set at 280 nm. The sample was analyzed after the pretreatment of SPE. **Results** The analysis of lomefloxacin, gatifloxacin, ciprofloxacin and ofloxacin was completed in 6 minutes with satisfied accuracy and precision. Good linearity was found within the range of 1-40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the r was 0.998 7, 0.997 6, 0.998 3 and 0.994 2 respectively. The recoveries of four quinolones in plasm and urine ranged from 80.1% to 107.6%, and the relative standard deviations(RSD) ranged from 2.1% to 6.2%. **Conclusion** This method is fast, simple, precise and it might be feasible for the determination of lomefloxacin, gatifloxacin, ciprofloxacin and ofloxacin in plasm and urine samples.

Key words: capillary electrophoresis; quinolone; solid phase extraction

喹诺酮类药物是一类具有 4-喹诺酮母核的化学合成抗菌药物^[1-3], 具有抗菌谱广和抗菌活性强等众多优点^[4-6], 被广泛应用于医学和兽医临床。但是该类药物对人体有一定的毒副作用^[7-11], 过量使用会造成动物性食品药物残留, 人体内耐药菌和环境耐药菌的产生形成严重威胁^[12-13]。因此, 开发高效检测方法对确定给药剂量、研究药代动力学和药物浓度监测具有重要意义。本文将毛细管电泳和固相萃取(SPE)技术结合起来, 用于 4 种喹诺酮药物的同时检测, 取得了良好效果。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 Beckman P/ACE MDQ 毛细管电泳仪(CA, USA), 配备二极管阵列检测器, 32Karat 7.0 工作站。高速冷冻离心机(Sigma 3K15, 德国)。熔融石英毛细管(河北永年光纤厂), 内径 75 μm , 外径 365 μm , 有效长度 40 cm, 全长 47 cm。18.2 M Ω ·cm(25 $^{\circ}\text{C}$)超纯水。C18 反相萃取柱、Supelclean LC-SCX 离子交换柱、Waters Oasis MCX 混合型固相萃取柱均购自深圳佰森生物技术有限公司。氢氧化钠、盐酸、十

水磷酸氢二钠、二水磷酸二氢钠、硼砂、硼酸、柠檬酸钠和柠檬酸购自国药集团化学试剂有限公司。洛美沙星(批号 130452-200902)、加替沙星(批号 130518-200402)、环丙沙星(批号 130451-201203)和氧氟沙星(批号 130454-201206)对照品购自中国食品药品检定研究院。

1.2 缓冲液及样品制备 缓冲液配置方法如下。分别配制 pH 3.7、5.3、7.0、9.0 和 10.5 的 40 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH9.0 的 40 mmol/L 硼砂缓冲液和 pH 9.0 的 40 mmol/L 柠檬酸盐缓冲液。洛美沙星、加替沙星、环丙沙星和氧氟沙星对照品在试验前用纯水配置成不同的浓度。尿液样品制备方法如下。收集男性健康志愿者尿液, 加入相应浓度的 4 种对照品后, 直接进样分析。收集男性肾衰竭患者蛋白尿, 加入相应浓度的 4 种对照品后, 经 SPE 后, 进行分析。血浆样品制备方法如下。取 2.0 mL 人血浆, 加入相应浓度的 4 种对照品。加入 2.0 mL 甲醇沉淀蛋白, 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 经 SPE 后, 进行分析。

1.3 SPE 条件 C18 反相萃取柱条件为取样品溶液 1.0 mL 上样,分别用 5.0 mL 水和 5.0 mL 甲醇进行淋洗,5.0 mL 甲苯洗脱。洗脱液用氮气(N₂)吹干,残渣用 1.0 mL 纯水复溶。Supelclean LC-SCX 离子交换柱和 Waters Oasis MCX 混合型固相萃取柱条件:样品溶液调节 pH 至 3.0,取 1.0 mL 上样。分别用 5.0 mL 水和 5.0 mL 甲醇进行淋洗,用 5.0 mL 的 5% 氨水-甲醇(v:v)溶液洗脱,洗脱液用 N₂ 吹干,残渣用 1.0 mL 纯水复溶^[14-16]。

1.4 毛细管电泳分析方法的建立 毛细管电泳分析条件如下:用 0.1 mol/L HCl、0.1 mol/L NaOH、水、电泳缓冲液冲洗毛细管各 5 min,然后在 13 kV 电压下,预电泳平衡 5 min。样品在 0.5 psi 压力下进样 3 s,然后在 13 kV 电压下进行分离,柱温为 20 ℃,检测波长 280 nm。方法准确性考察:取尿液和血浆样品各 3 份,分别添加低、中、高浓度的 4 种喹啉酮药物 5、20 和 40 μg/mL。按 1.2 项中样品制备方法操作,每个水平平行加入和测定 5 次,考察低、中、高 3 个浓度组的平均加样回收率。方法精密度考察:取尿液和血浆样品各 3 份,分别添加低、中、高浓度的 4 种喹啉酮药物 5、20 和 40 μg/mL。每个浓度水平平行加入测定 5 次,计算各浓度组的精密度。

2 结 果

2.1 缓冲液 pH 值对分离效果的影响 缓冲液 pH 值影响着分析物的电泳淌度和电渗流大小,是电泳过程中重要的优化参数。研究考察了在 pH 3.7~10.5 的范围内,4 种喹啉酮药物的分离效果,结果如图 1 所示(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。在酸性条件下,4 种喹啉酮药物无法分离。在 pH9.0 条件下,4 种喹啉酮药物基本分离。进一步增加 pH 至 10.5,分离度降低,环丙沙星和氧氟沙星基本重合,无法分离。因此选择 pH9.0 作为优化的电泳条件。

2.2 电解质种类对分离效果的影响 考察电解质种类对分离效果的影响,结果如图 2 所示(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。在磷酸盐缓冲液中,洛美沙星和加替沙星无法基线分离。在柠檬酸盐缓冲液中,环丙沙星和氧氟沙星完全重合。在硼砂缓冲液中,4 种喹啉酮药物完全分离,具有较好的分离度和柱效。因此选择硼砂缓冲液作为优化的电泳缓冲液。

表 1 4 种喹啉酮药物线性回归数据、检出限和定量限

样品	回归方程	r	线性范围 (μg/mL)	检出限 (μg/mL)	定量限 (μg/mL)
洛美沙星	Y=681.82X+331.4	0.9987	1~40	0.145	0.483
加替沙星	Y=834.32X+401.3	0.9976	1~40	0.143	0.477
环丙沙星	Y=839.53X+316.3	0.9983	1~40	0.222	0.740
氧氟沙星	Y=702.46X+354.0	0.9942	1~40	0.161	0.537

2.3 线性、定量限和检出限 对 1、5、10、20 和 40 μg/mL 的 4 种标准品进行电泳分析,以浓度对峰面积进行线性回归,4 种物质线性关系良好。以 3 倍信噪比(S/N)对应分析物浓度作为检出限,10 倍信噪比对应分析物浓度作为定量限,4 种喹啉酮药物的相关数据如表 1 所示。

2.4 SPE 模式选择 为了检测血浆等复杂样品中的药物,SPE 是常用技术手段。如图 3 所示(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),考虑到第三代和第四代喹啉酮药物含有

喹啉六元稠杂环及吡嗪结构,该类物质具有一定的疏水性及碱性。因此,研究考察了反相、阳离子交换和混合型 SPE 三种模式来提取喹啉酮药物。其中,C18 柱为反相萃取柱。SCX 柱以硅胶为基质键合对丙基苯磺酸官能团,是一种强阳离子交换柱。Oasis MCX 是磺酸基取代的二乙烯基苯和 N-乙基吡咯烷酮的共聚物,结构如图 3 所示,是混合型阳离子交换反相吸附柱,提供了双重保留模式:离子交换和反相。研究不同萃取模式对 4 种喹啉酮药物的提取效果,结果见图 4(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。在 C18 柱上样后,考察不同比例的甲醇-水溶液、乙酸乙酯、正己烷和甲苯洗脱能力,结果显示只有甲苯洗脱具有较高的回收率,但甲苯对人体具有致癌等危害性。在优化的条件下,SCX 强阳离子交换柱对 4 种喹啉酮药物的回收率仍然偏低。Oasis MCX 混合型萃取柱具有最好的萃取效果,且洗脱溶剂为 5% 氨水-甲醇(v:v)溶液,较为安全。因此,选择 Oasis MCX 混合型萃取柱作为优化的萃取模式。

表 2 尿液和血浆中 4 种喹啉酮药物加标回收率(%)

样品	低浓度(5 μg/mL)		中浓度(20 μg/mL)		高浓度(40 μg/mL)	
	尿液	血浆	尿液	血浆	尿液	血浆
洛美沙星	89.4	85.4	92.2	81.9	88.1	98.9
加替沙星	91.6	80.7	99.0	96.5	86.9	107.6
环丙沙星	90.9	101.8	83.7	93.2	92.5	80.4
氧氟沙星	83.2	94.3	103.4	80.1	90.3	87.7

2.5 样品测定 为了考察方法在实际检测中的应用,将健康男性志愿者尿液收集,加入 40 μg/mL 的 4 种对照品后进行分析,结果见图 5a(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。4 种喹啉酮药物完全分离,且受到其他杂质的干扰少,说明建立的毛细管电泳方法可以直接用于检测健康人尿液样品,而不需要预先进行 SPE 纯化。肾炎患者的蛋白尿加标样品分析结果见图 5b(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),4 种喹啉酮药物的电泳峰变宽,且与其他杂质的电泳峰发生重合。将该样品经 Oasis MCX 柱萃取后进行分析,结果见图 5c(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),几乎所有杂质峰全部消除,说明混合型固相萃取技术联用毛细管电泳适用于检测复杂尿样中的喹啉酮药物。考察方法在血液样品分析中的应用潜力,在人血浆中加入 40 μg/mL 的对照品后,直接进样分析,结果见图 6a(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),大量的杂质干扰检测。将加标血浆样品经过 Oasis MCX 柱萃取后进样分析,结果见图 6b(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),杂质峰全部消除。37 岁男性肾炎患者,体质量 58 kg,以 200 mL 水送服环丙沙星 2 片(500 mg),于服药后 1 h 取静脉血,经过 Oasis MCX 柱萃取后进样分析,测得血药浓度为 2.041 μg/mL,与文献[17]报道基本相符,说明该方法适用于检测血浆中的喹啉酮药物。方法准确性的考察结果见表 2,蛋白尿中 4 种喹啉酮药物各浓度组的平均加样回收率为 83.2%~103.4%。血浆中平均加样回收率为 80.1%~107.6%。结果显示方法的准确性良好。精密度考察结果见表 3,蛋白尿中喹啉酮药物低、中、高 3 个浓度组的精密度相对标准差(RSD)为 2.1%~5.8%。血浆中喹啉酮药物各浓度组精密度为 3.3%~6.2%,结果显示方法精密度良好。

表 3 尿液和血浆中 4 种喹诺酮药物精密度考察

样品	尿液精密度(RSD%, n=5)			血浆精密度(RSD%, n=5)		
	低浓度(5 μg/mL)	中浓度(20 μg/mL)	高浓度(40 μg/mL)	低浓度(5 μg/mL)	中浓度(20 μg/mL)	高浓度(40 μg/mL)
洛美沙星	3.8	4.4	5.5	3.3	5.1	4.9
加替沙星	4.2	5.6	4.7	4.8	3.3	6.2
环丙沙星	2.5	3.9	4.6	3.4	3.6	5.7
氧氟沙星	2.1	4.2	5.8	3.7	4.4	5.6

3 讨论

喹诺酮药物常规的分离检测方法有气相色谱法、高效液相色谱法及质谱联用法^[18-20],需要繁琐的衍生化、耗费大量有机试剂或者昂贵的仪器。毛细管电泳具有快速、高效和低耗等优势。此外,喹诺酮药物结构中含有苯并杂环和羰基、羧基和杂原子等组成的共轭体系,在紫外区具有特征性和强的吸收。因此,本文使用毛细管电泳和 DAD 检测器,建立相应的检测方法,不需要特殊昂贵的检测器^[20-21]。其中,用于样品处理和纯化的 SPE 技术是关键。

文献^[22-25]报道用于分析生物和环境样品中喹诺酮药物的固相萃取柱主要有 C18 柱和 Oasis HLB 柱(亲水亲脂平衡型固相萃取柱)^[26-28],其原理均为反相保留机制,少有研究报道离子交换或混合保留机制。考虑到临床使用的喹诺酮类药物在 C-3 位含有羧基,C-7 位连接哌嗪等含氮碱性基团,属酸碱两性化合物。因此,本文首次系统地考察了反相(C18)、离子交换(Supelclean LC-SCX)和混合型离子交换反相萃取柱(Waters Oasis MCX)对喹诺酮药物的萃取效果。结果显示,混合型固相萃取技术具有最高的回收率,且使用的洗脱溶剂较为安全。

使用 Oasis MCX 混合型阳离子交换反相吸附柱对样品进行萃取后,进行毛细管电泳分离分析。6 min 内 4 种喹诺酮药物完全分离,无杂质干扰。本方法样品处理过程简单、快速,具有良好的准确度和精密度,适用于尿液和血浆样品中上述 4 种喹诺酮药物的快速检测。

参考文献

[1] Rodriguez E, Moreno-Bondi MC, Marazuela MD. Development and validation of a solid-phase extraction method coupled to liquid chromatography with fluorescence detection for the determination of fluoroquinolone residues from the Spanish and Latin American market[J]. J Chromatogr A, 2008, 1209(1): 136-144.

[2] Christian JS. The quinolone antibiotics[J]. Primary Care Update for OB/GYNs, 1996, 20(3): 87.

[3] 夏昆华, 周鲁, 郝丽芬. 喹诺酮类抗生药的研究进展[J]. 国外医药抗生素分册, 2004, 25(3): 138-141.

[4] 付丽娜. 氟喹诺酮类药的临床药理特征分析[J]. 北方药学, 2014, 11(11): 121-121.

[5] 张月琴. 氟喹诺酮类药物的药理特点及研究概况[J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12(24): 2024-2027.

[6] 吉晓丽. 氟喹诺酮类药的药理特征分析[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(3): 237-238.

[7] 曹永生, 曹玲, 曹博, 等. 环丙沙星临床应用中的不良反应[J]. 中国民康医学, 2006, 18(1): 60-61.

[8] Boxall AB, Fogg LA, Blackwell PA, et al. Veterinary medicines in the environment[J]. Rev Environ Contam T, 2004, 180(1): 1-91.

[9] 吴凌荔, 秦卫东. 喹诺酮类抗生素的高效毛细管电泳法分离检测[J]. 北京师范大学学报, 2006, 42(1): 66-68.

[10] 谢悦旭, 任彤, 杨玉玲. 氧氟沙星的不良反应[J]. 中国误诊学杂志, 2005, 5(18): 3576-3577.

[11] 张霞光, 李大云. 喹诺酮类抗菌药在临床使用中的不良反应[J]. 中国医药抗生素分册, 2003, 24(1): 30-33.

[12] Huang S, Dai W, Sun S, et al. Prevalence of plasmid mediated quinolone resistance and aminoglycoside resistance determinants among carbapenem non-susceptible enterobacter cloacae [J]. PLoS One, 2012, 7(10): 47636.

[13] Bfinescu G, Neagu AS, Radu Popescu M, et al. Susceptibility testing of streptococcus pneumoniae and viridans streptococcal isolates against: quinolones, oxazolidinones and glycopeptides [J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2012, 116(1): 286-290.

[14] Fan H, Deng Z, Zhong H, et al. Development of new solid phase extraction techniques in the last ten years[J]. J Chin Pharm Sci, 2013, 22(4): 293-302.

[15] 孙海红, 钱叶苗, 宋相丽, 等. 固相萃取技术的应用与研究新进展[J]. 现代化工, 2011, 31(2): 21-25.

[16] 黄运瑞, 周庆祥. 固相萃取吸附剂的研究进展[J]. 冶金分析, 2012, 32(12): 22-28.

[17] 徐晓军, 陈琼, 侯杰, 等. 盐酸环丙沙星的正常人药代动力学研究[J]. 中国抗生素杂志, 1993, 18(5): 249-352.

[18] Andreu V, Blasco C, Picó Y. Analytical strategies to determine quinolone residues in food and the environment[J]. Trend Anal Chem, 2007, 26(6): 534-556.

[19] Zhao SJ, Li C, Jiang HY, et al. Simultaneous determination of 7 quinolones residues in animal muscle tissues by high performance liquid chromatography[J]. Chinese J Anal Chem, 2007, 35(6): 786-790.

[20] 邹尚荣, 王明礼, 尚德为, 等. HPLC-MS/MS 测定人血浆中妥舒沙星的浓度[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(7): 846-850.

[21] Chan KP, Chu KO, Lai WK, et al. Determination of ofloxacin and moxifloxacin and their penetration in human aqueous and vitreous humor by using high-performance liquid chromatography fluorescence detection[J]. Anal Biochem, 2006, 353(1): 30-36.

[22] Barrón D, Jimenez Lozano E, Bailae S, et al. Simultaneous determination of flumequine and oxolinic acid in chicken tissues by solid phase extraction and capillary electrophoresis[J]. Anal Chim Acta, 2003, 477(1): 21-27.

[23] Hernández M, Bormll F, Calull M. Determination of quinolones in plasma samples by capillary electrophoresis using solid phase extraction[J]. J Chromatogr B, 2000, 742(2): 255-265.

[24] Saad B, Mohamad R, Mohamed N, et al. Determination of oxolinic acid in feeds and cultured fish using capillary electrophoresis[J]. Food Chemistry, 2002, 78(3): 383-388.

[25] Barrón D, Jimenez Lozano E, Bailae S, et al. (下转第 2334 页)

表 3 各年龄组 WBC 五分类结果

年龄组(岁)	n	NE		LY		MO		EOS	
		\bar{x}	95%CI	\bar{x}	95%CI	\bar{x}	95%CI	\bar{x}	95%CI
1~<3	115	31	29~32	59	58~61	6	6.0~6.7	3.3	2.96~3.74
3~<6	145	45	43~46	45	43~46	7	6.4~6.9	2.9	2.53~3.33
6~<9	139	51	49~52	39	38~40	7	6.4~6.8	2.9	2.66~3.17
9~12	127	55	51~58	36	33~39	7	6.1~7.0	2.5	1.94~3.06

3 讨 论

3.1 8 项血常规参数参考范围比较 本文设置了 4 个年龄组研究了儿童血常规参考范围的差异,血常规 8 项参数除 WBC 计数外在各年龄组之间无明显差异,建议使用同一参考区间, WBC 计数经统计 1~<3 岁组、3~<6 岁组、6~12 岁之间差异有统计学意义($P<0.05$),WBC 计数呈年龄递增而递减,与孙宝苓等^[3]相同年龄组的研究结果比较接近,建议在 1~<3 岁、3~<6 岁、6~12 岁进行分组。6~12 岁儿童 WBC($4.24 \sim 10.24$) $\times 10^9/L$ 与国内成人静脉血($3.69 \sim 9.15$) $\times 10^9/L$ 比较基本接近^[4],与国外报道的文献比较还存在一些差异^[5],但 1~12 岁儿童 Hb、MCV、RBC 计数、MCV 和 MCH 等参数均低于成人水平,与儿童造血系统仍然处在生理发育阶段有关, MCHC 与成人基本相同。与昆明地区儿童相比,发现红细胞计数和血红蛋白均较低,可能与昆明云贵高原地区的地理位置、环境等因素有关,高海拔地区由于空气中氧饱和度减少,造成生理上正常代偿引起 RBC、HGB 计数的升高^[2]。

3.2 WBC 分类参考值范围的比较 WBC 分类主要依据中性粒细胞和淋巴细胞的变化,WBC 分类在不同年龄阶段存在统计学差异($P<0.05$),需要按照不同年龄组设置不同的参考值范围,笔者发现 1~12 岁儿童随着年龄的上升,中性粒细胞百分比呈上升趋势,而淋巴细胞百分比则随之下降,这与国内外的相关文献^[1,6]研究结果一致。

3.3 血常规中的 WBC 计数和 WBC 分类是临床医生诊断和治疗疾病的重要实验室指标,尤其在儿科急性发热中,如何快速简便的鉴别细菌性感染和病毒性感染是诊断的重要手段,可以为临床合理利用和选择抗菌药物提供帮助,所以建议在日常检验工作中按照儿童的生长发育特点,分不同的年龄和项目合理的建立不同的参考值范围,在建立参考区间的同时,需要有临床医生积极参与配合,经双方全面的沟通认可后进行确认,从而为临床提供更加准确、便捷的诊断,可以避免由于使用同

一参考区间带来异常结果的提示和患者家属的疑问。单核细胞和嗜酸性粒细胞百分比在 1~12 岁年龄组中没有明显变化,建议使用同一参考区间。由于儿童是一个特殊人群,医院目前仍然存在静脉血和手指末梢血两种方式进行血常规检测现象,建议在报告备注中注明标本类型。本研究中暂时未对性别作分组讨论,且相关文献研究结果表明性别对儿童血常规参数没有明显的影响,不具有明显差异^[7]。本次研究对象主要为 1~12 岁儿童,新生儿和婴幼儿(1 岁以内)临床采集的静脉血样本例数不足,暂未列入研究对象,可等待积累足够数量后再作后续讨论。

参考文献

[1] 邓国强,汪炼红,郭木兰.正常青少年指血与静脉抗凝血细胞参数调查[J].蚌埠医学院学报,2002,27(6):546-547.
 [2] 倪林仙,马越明,徐华,等.正常儿童指血与静脉血细胞参数参考值调查[J].上海医学检验杂志,2000,15(3):183-187.
 [3] 孙宝苓,马丽娟,李静,等.健康儿童全血细胞分析 11 项参数年龄差异调查[J].中国妇幼保健研究,2012,23(3):268-269.
 [4] 丛玉隆,金大鸣,王鸿利,等.中国人群成人静脉血细胞分析参考范围调查[J].中华医学杂志,2003,83(14):1201-1205.
 [5] Silvani C, Mozzi F, Taioli E, et al. Reference range of full blood count in blood donors[J]. Haematologica, 2001, 86(2): 55-56.
 [6] Sabine H, Michael B, Carla F, et al. Age-matched lymphocyte subpopulation reference values in childhood and adolescence application of exponential regression analysis[J]. European Journal of Hematology, 2008, 80(6): 532-539.
 [7] 李松涛,唐吟岭,徐静华,等.南京地区 2~5 岁健康儿童末梢血常规参考范围调查[J].广东医学,2014,11(8):1247-1248.

(收稿日期:2015-05-21)

(上接第 2331 页)

Determination of difloxacin and sarafloxacin in chicken muscle using solid phase extraction and capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr B, 2002, 767(2): 313-319.

[26] Ferdig M, Kaleta A, Thanh TD, et al. Improved capillary electrophoretic separation of nine (fluoro) quinolones with fluorescence detection for biological and environmental samples[J]. J Chromatogr A, 2004, 1047(1): 305-311.
 [27] Hernández M, Aguilar C, Borrull F, et al. Determination of ciprofloxacin, enrofloxacin and flumequine in pig plasma samples by capillary isotachopheresis-capillary zone electrophoresis [J]. J

Chromatogr B, 2002, 772(2): 163-172.

[28] Lara FJ, García-Campan AM, Alés-Barrero F, et al. Multiresidue method for the determination of quinolone antibiotics in bovine raw milk by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2006, 78(22): 7665-7673.

(收稿日期:2015-03-19)

