

不同保存条件对全血标本雷帕霉素血药浓度测定结果的影响研究^Δ

权丹妮*, 陈井霞, 杨云云, 王 卓, 张凌鹏[#], 高丽红^{#2} (海军军医大学第一附属医院药剂科, 上海 200433)

中图分类号 R979.5

文献标志码 A

文章编号 1672-2124(2025)02-0134-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2025.02.002



摘 要 目的: 研究不同保存条件对于测量全血标本雷帕霉素血药浓度的影响。方法: 收集 2021 年 12 月至 2023 年 4 月该院患者已完成雷帕霉素血药浓度检测的废弃标本共 49 例, 将每个标本混匀后分为三组, 每组各 1 份, 分别在室温 (20~25 ℃)、冷藏 (2~8 ℃) 和冷冻 (-30~-20 ℃) 条件下避光保存 7 d。采用化学发光微粒子免疫分析法测定各储存条件下的雷帕霉素血药浓度。结果: 室温、冷藏和冷冻保存 7 d 的雷帕霉素平均血药浓度与采样当日相比, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。与采样当日测定的雷帕霉素血药浓度相比, 室温保存 7 d 的样本中有 21 例雷帕霉素血药浓度出现降低, 其中 3 例的降低幅度 $>15\%$, 具体变化范围为 15.70%~24.10%; 冷藏保存 7 d 的样本中有 29 例雷帕霉素血药浓度有所降低, 其中 9 例的降低幅度 $>15\%$, 具体变化范围为 15.17%~39.52%; 冷冻保存 7 d 的样本中有 27 例雷帕霉素血药浓度出现降低, 其中 4 例的降低幅度 $>15\%$, 具体变化范围为 15.98%~21.59%。结论: 如果雷帕霉素样本采样当日无法立即检测, 可选择在室温或冷冻下避光保存, 并确保在 7 d 内完成检测工作。

关键词 雷帕霉素; 治疗药物监测; 保存条件; 化学发光微粒子免疫检测法

Effects of Different Storage Conditions on Determination of Rapamycin Concentration in Whole Blood Samples^Δ

QUAN Danni, CHEN Jingxia, YANG Yunyun, WANG Zhuo, ZHANG Lingpeng, GAO Lihong (Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of different storage conditions on determination of rapamycin concentration in whole blood samples. **METHODS:** A total of 49 discarded specimens from patients in the hospital who had completed rapamycin concentration tests from Dec. 2021 to Apr. 2023 were collected. Each specimen was mixed and divided into three groups, one for each group, and stored at room temperature (from 20 to 25 ℃), refrigerated (from 2 to 8 ℃), and frozen (from -30 to -20 ℃) for 7 d respectively. The blood concentration of rapamycin under various storage conditions was determined by chemiluminescent microparticle immunoassay. **RESULTS:** Compared with the blood concentration measured on the day of sampling, there was no significant difference in the average blood concentration of rapamycin at room temperature, refrigerated and frozen for 7 d ($P>0.05$). Compared with the rapamycin plasma concentration measured on the day of sampling, the blood concentration of rapamycin decreased in 21 cases of the samples stored at room temperature for 7 d, and the decrease was greater than 15% in 3 cases, with a variation range of 15.70% to 24.10%. After 7 d of refrigeration, compared with the original value, the concentration decreased in 29 cases, among which 9 cases had a concentration change greater than 15%, with a variation range of 15.17% to 39.52%. After 7 d of freezing, compared with the original value, the concentration decreased in 27 cases, among which 4 cases had a concentration change greater than 15%, with a variation range of 15.98% to 21.59%. **CONCLUSIONS:** If the rapamycin sample cannot be detected in time on the day of sampling, it can be preserved at room temperature or frozen away from light, and the determination should be completed within 7 d.

KEYWORDS Rapamycin; Therapeutic drug monitoring; Storage conditions; Chemiluminescence microparticle immunoassay

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 82304619)

* 药师, 硕士。研究方向: 治疗药物监测。E-mail: qdn1983922618@163.com

通信作者 1: 主管药师, 博士。研究方向: 治疗药物监测。E-mail: zhanglingpeng1976@163.com

通信作者 2: 主管药师, 博士。研究方向: 治疗药物监测。E-mail: congrong2002@163.com

雷帕霉素为大环内酯类免疫抑制剂,不仅有显著的免疫抑制效果,雷帕霉素及其类似物还具有多种治疗潜力,涵盖了抗真菌作用、抗肿瘤特性、神经保护与神经再生功能以及延长生物体寿命的效应^[1]。雷帕霉素因具有低剂量需求(1次仅需2~3 mg)、显著的抗排斥效应及较低的不良反 应等特性,加之无肾毒性并能有效减少巨细胞病毒感染风险等诸多优势,在临床实践中获得了广泛认可与应用。目前,临床实践中主要采用两大类雷帕霉素治疗方案:(1)在肾移植手术后的初期选用雷帕霉素作为治疗药物,而不采用钙调磷酸酶抑制剂;(2)在肾移植后,将原先使用的钙调磷酸酶抑制剂类药物转换为雷帕霉素进行治疗^[2]。雷帕霉素治疗窗窄,且其药动学特征在不同个体间存在显著差异性,体内药物暴露量受多种要素影响,因此,为确保治疗的有效性和安全性,需定期进行 治疗药物监测(TDM)。临床上,通常通过监测血药浓度来评估雷帕霉素的治疗效果及安全性,以便及时调整和优化治疗方案^[2-4]。由于检测条件的局限性,探究全血中雷帕霉素在不同储存环境(室温、冷藏及冷冻)下的稳定性尤为重要。本研究的核心目标是评估在7 d的时间框架内,不同的储存条件如何影响雷帕霉素的浓度,旨在为远程患者的样本转运与妥善保存提供科学依据,确保TDM结果的精确无误,进而促进治疗方案的精准优化。

1 材料与方法

1.1 样本来源

收集2021年12月至2023年4月我院采用雷帕霉素治疗的患者血液标本49份,患者均行标准化检测和观察。所有标本均使用含有EDTA抗凝剂的采样管保存,每份样本量为1~2 mL,且要求标本未出现凝血现象;患者的取样时间是在持续用药3 d之后、第4日用药开始之前;同时,以常规检测雷帕霉素血药浓度作为初始对照值。

1.2 仪器

ARCHITECT i1000SR型全自动免疫分析仪(美国Abbott公司);XW-80A型旋涡混合器(上海琪特分析仪器有限公司);200/1 000 μL型移液枪(德国Eppendorf公司);Micro17型高速离心机(美国Thermo Electron Corporation公司);BCD-322型冰箱(德国Siemens公司)。

1.3 试剂

雷帕霉素检测试剂盒(批号为22008M800/37659FP00)及全血质量控制产品(批次编号为“21883、21891”“21892、89611”和“89612、89613”)由美国Abbott公司生产。

1.4 样本分装与保存

将收集的全血样本平均分为3组,每组1份,每份150 μL,密封保存。将上述标本分别避光保存于室温(20~25℃)、冷藏(2~8℃)、冷冻(-30~-20℃)条件7 d。在检测冷藏和冷冻的样本时,需要先在室温条件下放置30 min后进行检测。

1.5 雷帕霉素分析方法

(1)雷帕霉素标本测定方法:采用化学发光微粒子免疫分

析法,检测样本在不同保存环境前后的雷帕霉素血药浓度,试剂盒检测范围为2~30 ng/mL^[5-6]。(2)标本前处理:①将标本置于旋涡混合器强力涡旋2~3 s后精密量取150 μL至离心管中;②随后向离心管中加入全血沉淀剂300 μL,盖上盖子后涡旋10~15 s至样本充分混匀;③随后将其放置40℃温浴器中,加热10 min;④加热结束后,以10 000 r/min的转速进行离心处理10 min;⑤随后将上清液倒入移植预处理管中,置于旋涡混合器涡旋10 s后检测。

1.6 统计学方法

采用SPSS 23.0 统计分析软件对检测数据进行处理,用 $\bar{x}\pm s$ 表示计量资料,对两组数据进行配对t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义;此外,对保存7 d前后数据进行线性相关分析。

2 结果

2.1 基本资料

49例雷帕霉素样本主要来自常规雷帕霉素血药浓度监测后废弃标本,样本来源患者基本资料见表1。男性35例,女性14例;平均体重为(63.23±9.34) kg;平均年龄为(45.08±9.57)岁;肺移植术后1例,肝移植术后9例,肾移植术后39例。

2.2 实验室室内质量控制情况

研究过程中,3个批号的质量控制品变异系数(CV)均<10%,见表1;同时,实验当日的室内质量控制测量值也保持了较小的偏差,均在10%以内,见表2。

表1 2021年12月至2023年4月雷帕霉素TDM室内质量控制情况

检测日	质控批号	质控靶值/ (ng/mL)	质控实测值/ (ng/mL)	CV/%
2021年12月29日	22008M800	5.12	5.41	5.66
2021年12月31日	22008M800	18.60	19.15	2.96
2022年1月4日	22008M800	9.44	9.55	1.17
2022年1月5日	22008M800	5.12	4.78	-6.64
2022年1月7日	22008M800	18.60	17.97	-3.39
2022年1月11日	22008M800	5.12	5.28	3.13
2022年1月12日	22008M800	18.60	19.23	3.39
2022年1月14日	22008M800	18.60	17.71	-4.78
2023年4月10日	37659FP00	17.59	16.59	-5.69
2023年4月11日	37659FP00	17.59	16.58	-5.74
2023年4月12日	37659FP00	4.73	4.32	-8.67
2023年5月9日	37659FP00	8.83	8.78	-0.57

表2 实验日雷帕霉素TDM室内质量控制情况

实验日	质控批号	质控靶值/ (ng/mL)	质控实测值/ (ng/mL)	相对标准 偏差/%
2022年1月5日	22008M800	5.12	4.78	-6.64
2022年1月7日	22008M800	18.60	17.97	-3.39
2022年1月11日	22008M800	5.12	4.96	-3.13
2022年1月12日	22008M800	18.60	19.23	3.39
2022年1月14日	22008M800	18.60	17.71	-4.78
2022年1月18日	22008M800	5.12	4.70	-8.20
2022年1月19日	22008M800	18.60	17.21	-7.47
2022年1月21日	22008M800	9.44	8.94	-5.30
2023年4月17日	37659FP00	4.73	4.63	-2.11
2023年4月18日	37659FP00	4.73	4.91	3.81
2023年4月19日	37659FP00	8.78	9.05	3.08
2023年5月16日	37659FP00	17.59	18.42	4.72

2.3 不同储存条件保存 7 d 的雷帕霉素浓度变化

与采样当日测定的雷帕霉素血药浓度相比,室温保存 7 d 的样本中有 21 例雷帕霉素血药浓度出现降低,其中 3 例的降低幅度>15%,具体变化范围为 15.70%~24.10%;冷藏保存 7 d 的样本中有 29 例雷帕霉素血药浓度有所降低,其中 9 例的降低幅度>15%,具体变化范围为 15.17%~39.52%;冷冻保存 7 d 的样本中有 27 例雷帕霉素血药浓度出现降低,其中 4 例的降低幅度>15%,具体变化范围为 15.98%~21.59%。

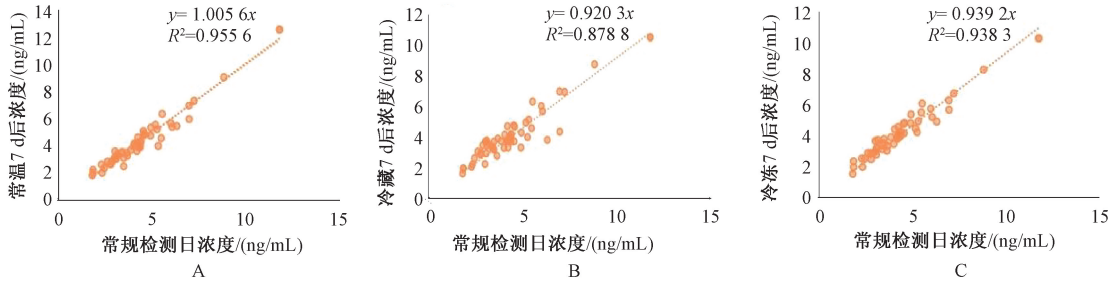
室温、冷藏和冷冻保存 7 d 的雷帕霉素平均血药浓度分别为(4.38±1.86)、(4.13±1.38)和(4.24±1.55) ng/mL,与采样当日测定的(4.40±1.38) ng/mL 相比,差异均无统计学意义

(*P* 分别为 0.99、0.46 和 0.63),见表 3。线性回归分析发现,室温、冷藏和冷冻保存 7 d 与采样当日测定的雷帕霉素血药浓度之间均保持良好的相关性(*R*² 分别为 0.955 6、0.878 8 和 0.938 3),见图 1。

表 3 不同条件保存 7 d 的雷帕霉素血药浓度 (ng/mL)

项目	血药浓度			
	中位数(范围)	$\bar{x}\pm s$	<i>R</i> ²	<i>P</i>
采样当日	4.18(1.84~11.77)	4.40±1.80	—	—
室温 7 d	4.03(2.05~12.63)	4.38±1.86	0.955 6	0.99
冷藏 7 d	3.73(1.95~10.53)	4.13±1.62	0.878 8	0.46
冷冻 7 d	3.94(1.99~10.36)	4.24±1.55	0.938 3	0.63

注:“—”表示无数据。



A. 室温;B. 冷藏;C. 冷冻。

图 1 不同条件保存 7 d 与采样当日测定的雷帕霉素血药浓度的线性相关分析

3 讨论

雷帕霉素不仅被用于器官移植领域,还用于治疗淋巴瘤管平滑肌瘤病、结节性硬化症等疾病^[7]。已有相关指南和共识明确指出,应用雷帕霉素的患者定期实施 TDM 至关重要,依据 TDM 的反馈结果,可以针对性地调整雷帕霉素的用药计划,旨在提升药物疗效,同时减少不良反应的发生^[1-3,8]。由于各种原因(如异地居住)使得患者无法按照预定的计划进行门诊跟踪和雷帕霉素血药浓度监测,因此在选择其他送检方式时,适当的标本保存条件对于雷帕霉素血药浓度检测结果具有重大影响^[9]。TDM 日常工作的准确性高度依赖于室内质量控制的有效性。本实验室采用质控图与 Westgard 多规则法相结合的

室内质控策略,确保雷帕霉素血药浓度测定的精准性和可靠性,为 TDM 数据的准确性打下了坚实基础^[10-12]。

雷帕霉素检测试剂盒说明书表示,EDTA-K₂ 抗凝标本室温下应保存 1 d,冷藏条件下保存 7 d,超过 7 d 应在-10℃或更低温度冷冻储存。如果遵循上述方法来保存样本,雷帕霉素的浓度不会有显著变化。

本研究结果显示,室温(20~25℃)、冷藏(2~8℃)和冷冻(-30~-20℃)条件下保存 7 d 与采样当日的雷帕霉素血药浓度比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05),该结果与试剂盒说明

(下转第 142 页)

(上接第 133 页)

[12] KIRSH S, LING M, JASSAL T, et al. Values and preferences in COVID-19 public health guidelines: a systematic review[J]. J Clin Epidemiol, 2024, 174: 111473.

[13] SCHÜNEMANN H J, WIERCIOCH W, BROZEK J, et al. GRADE Evidence to Decision (EtD) frameworks for adoption, adaptation, and de novo development of trustworthy recommendations: GRADE-ADOLOPMENT[J]. J Clin Epidemiol, 2017, 81: 101-110.

[14] FISCHER L, SCHEIBLER F, SCHAEFER C, et al. Fostering shared decision-making between patients and health care professionals in clinical practice guidelines: protocol for a project to develop and test a tool for guideline developers[J]. JMIR Res Protoc, 2024, 13: e57611.

[15] VENTURA F, DOMINGUES H, ALMEIDA G, et al. Telehealth adoption in an outpatient oncology ward: a best practice implementation project[J]. Nurs Rep, 2022, 12(3): 520-527.

[16] 武汉大学中南医院循证与转化医学中心. Bringing guidelines to

the digital age! [EB/OL]. (2023-11-29) [2025-02-10]. <https://cebtm.znhsospital.com/detail/677>.

[17] BARRETO J O M, DE MELO R C, DA SILVA L A L B, et al. Research evidence communication for policy-makers: a rapid scoping review on frameworks, guidance and tools, and barriers and facilitators[J]. Health Res Policy Syst, 2024, 22(1): 99.

[18] LARSEN K, WALTON R N, ELSAYED M, et al. A blueprint for success in real-world evidence: “glocal” approach to building capabilities and generating impactful evidence [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1233617.

[19] 杨楠, 邹锐, 何思颐, 等. 临床实践指南实施效果评价工具的信效度分析[J]. 中国循证医学杂志, 2024, 24(8): 904-909.

[20] World Health Organization. Evidence, policy, impact: WHO guide for evidence-informed decision-making [EB/OL]. (2022-07-08) [2025-02-10]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240039872>.

(收稿日期:2024-12-25 修回日期:2025-01-23)