

表 2 百灵安神片中主要成分含量

Tab 2 The results of main constituents in five batches of Bailing Anshen tablets

批号	主要成分						
	绿原酸/%	芒果苷/%	二苯乙烯苷/%	斯皮诺素/%	木犀草苷/%	槲皮苷/%	3,5-二咖啡酰奎宁酸/%
100901	0.583 8	1.235	6.062	0.535 8	0.328 6	0.596 5	0.946 6
100902	0.545 8	1.516	6.712	0.582 4	0.382 4	0.621 2	0.994 2
100903	0.623 7	1.321	6.304	0.651 6	0.423 5	0.556 5	0.854 4
111001	0.592 1	1.007	5.568	0.477 2	0.391 4	0.470 6	0.764 1
120602	0.650 2	1.412	7.116	0.613 4	0.470 4	0.663 4	0.834 0

3 讨论

3.1 检测波长的选择

通过使用 DAD 检测器进行紫外区全波长扫描, 分别提取 220, 240, 254, 280, 340 nm 波长处的色谱图, 结果显示待测 7 种成分在 340 nm 处具有较高吸光度, 并且分离度良好, 满足定量测定要求。

3.2 流动相的选择

采用甲醇-0.1%磷酸水, 乙腈-0.1%磷酸水, 甲醇-乙腈-0.1%磷酸水系统等不同流动相组合考察结果显示, 以乙腈-0.1%磷酸水为流动相梯度洗脱, 样品中的待测组分分离度良好。在色谱条件的优化时, 采用了不同的梯度进行洗脱, 以期缩短分析时间, 但均会影响 4 号峰和 5 号峰的分离度, 6 号峰和 7 号峰的分离度, 为准确测定百灵安神片中的主要成分的含量, 保留了目前的梯度分离条件。

本实验采用 UPLC 测定 5 批次百灵安神片中 7

种主要活性成分含量, 测定结果稳定, 表明生产工艺成熟, 产品质量稳定, 提供了一种快速全面控制百灵安神片质量的方法。

REFERENCES

- [1] WU H, WANG Y, WENG P, et al. Simultaneous determination of stilbene glucoside and five anthraquinones in *Polygonum multiflorum* Thunb. by means of micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. J South China Univ Technol(华南理工大学学报), 2012, 40(9): 32-37.
- [2] HE X H, WANG X S, ZENG J G, et al. Determination of quercitrin, quercetin and pinocembrin-7-O-glucoside in *Penthorum chinense* Pursh. by HPLC [J]. China Tradit Herb Drugs(中草药), 2009, 40(6): 981-983.
- [3] FENG Y L, ZHANG W G, SUN L R, et al. Determination of chlorogenic acid, 3, 5-dicaffeoylquinic acid, and luteolin in *Ainsliaea fragrans* by HPLC [J]. China Tradit Herb Drugs(中草药), 2012, 43(3): 513-514.
- [4] SUN J H, ZHANG L T, WANG C Y, et al. Study on the metabolite of stilbene glucoside in mice by liquid chromatography tandem-mass spectrometry [J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 2003, 38(12): 968-970.

收稿日期: 2013-04-22

实时荧光定量 PCR 方法应用于药品无菌快速检测的研究

王晓冲¹, 周继昌², 李军¹, 王晓炜¹, 应国红^{1*} (1. 深圳市药品检验所, 广东 深圳 518000; 2. 深圳市慢性病防治中心, 广东 深圳 518000)

摘要: 目的 建立应用实时荧光定量 PCR 进行无菌快速检测的方法。方法 选取金黄色葡萄球菌及大肠埃希菌, 用裂解试剂盒抽提细菌基因组 DNA, 进行实时荧光定量 PCR 检测, 并应用叠氮溴化丙铵(PMA)抑制样品中死菌基因组 DNA 的 PCR 扩增。结果 PMA 能有效去除样品中死菌干扰, 针对 16S rRNA 基因保守序列进行扩增的荧光定量 PCR 方法具有较高的灵敏度。在金黄色葡萄球菌和大肠埃希氏菌检测中, 最低含菌量组与阴性对照组 Ct 值有明显差异($P < 0.05$), 其最低检出限为 2 CFU/PCR。在对人工污染药品的无菌检测中, 该方法与药典检测方法结果一致。结论 进行无菌检查时, 采用 PMA 去除样品中死菌基因组 DNA 干扰, 以裂解试剂盒抽提细菌基因组后用荧光定量 PCR 分析样品中细菌污染, 可将检测时间缩短到 4 h 左右, 操作简单, 灵敏性高, 可应用于药品无菌检查的快速筛查。

基金项目: 广东省科技计划项目(2011B031500029)

作者简介: 王晓冲, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0755)86620683 E-mail: wxc78231988@163.com *通信作者: 应国红, 女, 硕士, 主任药师 Tel: (0755)26031748 E-mail: guohongying2004@163.com

关键词: 荧光定量 PCR; 叠氮溴化丙锭; 细菌污染; 快速检测

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)12-1333-05

Real-time Fluorescence PCR Assay for Fast Detection of Drug Sterility Test

WANG Xiaochong¹, ZHOU Jichang², LI Jun¹, WANG Xiaowei¹, YING Guohong^{1*} (1. Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518000, China; 2. Shenzhen Center for Chronic Disease Control, Shenzhen 518000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a real-time PCR assay to fast detect bacterial contamination in drugs. **METHODS** *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were used as representative, and the bacterial genomic DNA was isolated by lysis buffer kit and then quantitatively detected by Taqman real-time PCR. Propidium monoazide (PMA) was used as a pretreatment for the DNA molecules in dead cells and inhibited the PCR amplification of the DNA molecules. **RESULTS** PMA treatment was effective and the real-time PCR targeting conservative 16S rRNA gene showed high sensitivity. The Ct value of the lowest bacterial dose groups in both *S. aureus* and *E. coli* were statistically different from the negative control with a minimal detection quality of 2 CFU/PCR. The result of real-time PCR was accordant to the pharmacopoeia test in the sterile test of contaminated drugs. **CONCLUSION** The lysis buffer kit used to extract bacterial genomic DNA with subsequent real-time PCR is convenient and sensitive, and may be applied to fast detection of drug sterility test.

KEY WORDS: real-time fluorescence quantitative PCR; propidium monoazide (PMA); bacterial contamination; fast detection

注射用药中的细菌污染, 可致患者出现热原反应, 严重的还会引起脓毒血症、败血症、内毒素中毒甚至死亡。传统的无菌检测方法耗时较长(需培养 14 d), 需要专业的无菌操作和各种培养设备, 费时费力, 而且药品中存在的细菌可能处于活的非可培养状态(viable but nonculturable state, VBNC)^[1], 难以检出, 更由于培养基本身限制, 只能检出在该培养条件下的可培养菌。随着分子生物学的发展, 国内外一些学者将实时荧光定量 PCR 技术(RT-PCR)引入到微生物的检测中^[2-3], 大大缩短了检测时间, 提高了灵敏度。但目前的应用研究主要集中在医学领域, 在药品检测领域中的应用研究尚未见报道。普通的 RT-PCR 检测特异性差, 灵敏度低, 尤其当菌量少时, 样品中存在的死菌和 DNA 片段产生干扰, 会形成假阳性结果, 造成实际应用的困难。笔者从筛选高效细菌基因组抽提方法入手, 利用叠氮溴化丙锭(PMA)抑制死菌 DNA 扩增特性, 针对细菌 16S rRNA 基因保守序列, 设计通用引物进行 PCR 扩增^[4-5], 初步建立了高特异性、高灵敏度的药品细菌污染的分子生物学快速检测方法。

1 菌种、试剂与仪器

菌株: 金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003], 大肠埃希菌[CMCC(B)44102], 枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63501], 生孢梭菌[CMCC(B)64941]均购自中国食品药品检定研究院, 其他菌种来自本所环境菌种库, 由本实验室保存。

氯化钠注射液(河南科伦药业有限公司, 批号: A12081402-2, 规格 250 mL: 2.25 g); 细菌裂解试剂盒(TAKARA 大连宝生物公司, 批号: 20120402), PMA(美国 Sigma 公司); Taqman 荧光定量 PCR 试剂(TAKARA 大连宝生物公司); LightCycler[®] 480 型实时荧光定量 PCR 仪(德国 Roche Diagnostics 公司); 电泳仪(美国 Bio-Rad 公司); 3K15 型超速冷冻离心机(美国 Sigma 公司)。

2 方法

2.1 细菌基因组 DNA 抽提

分别挑取大肠埃希菌, 金黄色葡萄球菌单菌落接种于 10 mL 营养肉汤培养基中, 37 °C 培养 16 h, 用生理盐水进行稀释, 取不同稀释倍数的菌悬液各 1 mL(未加入细菌的生理盐水 1 mL 作为阴性对照), 应用裂解试剂盒提取 DNA。抽提步骤: 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 小心吸弃上清, 加入 50 μL 裂解液, 吹打均匀, 80 °C 热变性 15 min 后, 低速离心 1 min, 取 5 μL 裂解后的上清液作为 PCR 反应模版。同时取相应的菌悬液各 1 mL, 用于计数相应样品中的细菌个数。

2.2 验证引物、探针通用性

利用细菌 16S rRNA 基因通用引物, 上游引物: 5'-TCCT-ACGGGAGGCAGCAGT-3', 下游引物: 5'-GGACTACCAGGGTATCTAATCCT-3', 探针: FAM-5'-CGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3'-TAMRA, 对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、铜绿假单胞菌、蜡样芽孢杆菌及阴性对照(水)和阳性

对照(克隆阳性质粒)进行荧光定量 PCR 检测。产物在 1.5%琼脂糖凝胶上电泳, 观察扩增产物的分子量, Mark 为 DL2 500(2 000, 10 00, 750, 500, 250, 100 bp)。

2.3 构建质粒

应用上述引物扩增大肠埃希菌标准菌株, PCR 产物为 466 bp, 回收 PCR 产物纯化后与 PMD18-T 载体相连接, 转化感受态大肠杆菌 DH5 α , 抽提质粒进行酶切鉴定和测序鉴定。

2.4 PMA 抑制样品中死菌 DNA RT-PCR 扩增能力测定

经灭菌生理盐水洗涤的大肠埃希菌菌悬液, 调整浓度后分别取 1 mL 转移至完全相同的 6 个离心管, 每管内活菌数分别达到 2×10^6 , 2×10^5 , 2×10^4 , 2×10^3 , 2×10^2 , 2×10^1 , 95 °C 水浴加热 10 min 活细胞致死处理后, 冷却至室温。另一组实验, 同第一组, 但不经过水浴加热活细胞致死处理。0.5 mL 无菌生理盐水作为阴性对照。

向 2 组实验菌悬液中分别加入 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PMA 溶液, 使 PMA 的终浓度为 $3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。将菌悬液在黑暗处室温放置 5 min, 然后将离心管开盖置冰上, 在距离卤素灯管 16 cm 处曝光 10 min。曝光后的混合菌悬液以 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集菌体, 倒掉上清液, 再次重悬于 100 μL 生理盐水中, 提取 DNA 后用于 RT-PCR。

2.5 RT-PCR 检测

应用 RT-PCR 对上述抽提的细菌基因组 DNA 模版进行检测, 引物、探针同上。PCR 反应体系: 反应体系 25 μL , 引物和探针(由英潍捷基公司合成)终浓度为 $0.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, dNTP 终浓度为 $200 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Mg^{2+} 终浓度为 $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Hot Ex Taq HS 0.05 U, 然后加入 5 μL DNA 模版。PCR 反应条件: 预变性(95 °C, 30 s); 扩增(95 °C 5 s, 60 °C 1 min, 40 cycles)。每个 RT-PCR 反应重复 3 次, 得到平均 Ct 值和标准背离值。所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 11.0 统计软件对数据进行 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2.6 与药典无菌检测方法的比较

分别取新鲜培养的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌菌液, 用无菌生理盐水梯度稀释至浓度 $< 50 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的菌悬液, 取 1 mL 菌悬液, 用倾注法进行计数。

取无菌氯化钠注射液, 以 9 瓶为 1 组, 各取 4

组, 将上述稀释好的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌菌悬液各 1 mL 加入到 9 瓶氯化钠注射液中, 作为污染组, 模拟药品细菌污染; 另取 1 组氯化钠注射液, 不加菌, 作为对照组。

取污染组和对照组, 用薄膜过滤法收集菌体(滤膜孔径 $< 0.45 \text{ } \mu\text{m}$), 用 10 mL 无菌生理盐水将滤膜表面菌洗下, 冲洗液 $10\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 弃上清, 收集菌体, 再次重悬于 1 mL 无菌生理盐水中, 并取 1 mL 无菌生理盐水, 作为阴性对照, 加入 PMA 进行前处理, 前处理后的菌悬液, 用裂解试剂盒提取 DNA 后用于 RT-PCR 检测; 另取同样的污染样品组和对照组按药典无菌检测方法进行检测, 比较检测结果。

3 结果

3.1 验证引物、探针通用性

应用细菌 16S rRNA 基因通用引物对克隆阳性质粒、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、生孢梭菌、蜡样芽孢杆菌等做 RT-PCR 检测, 结果都为阳性。产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳鉴定, 在 466 bp 处出现特异性条带, 证明该引物和探针可以检测到大部分常见环境菌。结果见图 1。

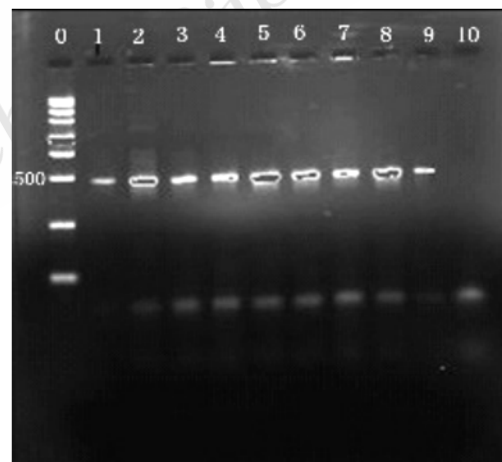


图 1 引物通用性

0—mark; 1—金黄色葡萄球菌; 2—大肠埃希菌; 3—铜绿假单胞菌; 4—表皮葡萄球菌; 5—蜡样芽孢杆菌; 6—短小芽孢杆菌; 7—生孢梭菌; 8—枯草芽孢杆菌; 9—克隆阳性质粒; 10—阴性对照

Fig 1 Universal of the primer

0—mark; 1—*Staphylococcus aureus*; 2—*Escherichia coli*; 3—*Pseudomonas aeruginosa*; 4—*Staphylococcus epidermidis*; 5—*Bacillus cereus*; 6—*Bacillus pumilus*; 7—*Clostridium sporogenes*; 8—*Bacillus subtilis*; 9—cloned plusmid; 10—negative control

3.2 PMA 抑制样品中死菌 DNA RT-PCR 扩增能力经 PMA 处理, 当大肠埃希菌活细胞数由 $2 \times$

10^6 减少到 2×10^1 时, Ct 值从 16.20 ± 0.62 线性增大到 30.42 ± 0.55 ; 同样经 PMA 处理的热致死细胞, 当细胞数由 2×10^6 减少到 2×10^1 时, 对应 RT-PCR 的 Ct 值从 31.06 ± 0.62 变化至 32.82 ± 0.56 , 此时阴性对照的 Ct 值为 32.94 ± 0.69 。这表明, 对大肠埃希菌死细胞来说, PMA 有效抑制了其 DNA 的 RT-PCR 扩增, 在 RT-PCR 扩增体系中, 几乎不存在可扩增 DNA, 因此其 Ct 值与阴性对照的 Ct 值差异无统计学意义($P > 0.05$); 而 PMA 对活细胞 DNA 的 RT-PCR 扩增几乎没有影响, 随着细胞数的减少, Ct 值逐渐增大, 各 Ct 值与阴性对照差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见图 2。

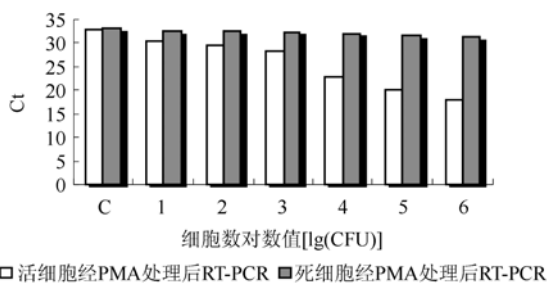


图 2 PMA 抑制死细菌 DNA RT-PCR 扩增能力
Fig 2 Inhibitory effect of PMA on RT-PCR amplification of DNA from dead bacterial

3.3 RT-PCR 检测无菌药品中存在的细菌污染 应用裂解试剂盒提取不同浓度的金黄色葡萄

表 1 RT-PCR 检测和药典检测方法测定结果比较
Tab 1 Results comparison of RT-PCR with pharmacopoeia sterile test

菌种	接菌量/ CFU·mL ⁻¹	RT-PCR				药典	
		Ct 值	P	结果判定	时间/h	结果判定	时间/h
金黄色葡萄球菌	26	29.86±0.64	<0.05	+	4	+	24
大肠埃希菌	38	29.38±0.52	<0.05	+	4	+	24
枯草芽孢杆菌	32	29.16±0.38	<0.05	+	4	+	24
生孢梭菌	40	29.58±0.28	<0.05	+	4	+	24
对照组	0	32.24±0.50	>0.05	-	4	-	14
阴性对照组	/	32.96±0.32					

注: +代表检出菌; -代表未检出菌
Note: + Detected bacterias; - not detected bacterias

4 讨论

近年来有文献报道应用 RT-PCR 检测无菌制品中的细菌污染, 具有快速、简便、灵敏性好等优点, 但同时也发现该技术应用于无菌检测仍存在一些不足之处: 首先, 细菌能否被充分裂解并释放其基因组 DNA 直接关系到检测的灵敏度和特

异性。目前, 国外学者多使用全自动核酸提取仪提取细菌基因组 DNA^[6-7], 方法操作简便, 灵敏度可达到 $1 \text{ CFU} \cdot \text{PCR}^{-1}$, 相当于 $50 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 但该方法特异性低, 当样品中菌含量低时, 阳性和阴性结果区分不明显, 给结果判定带来难度, 且抽提需要特殊仪器, 试剂盒成本高, 并不适用于常

3.4 与药典无菌检测方法的比较

将人工污染大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌的样品分别用 RT-PCR 和药典方法进行无菌检查。RT-PCR 检测到的 Ct 值与阴性对照组 Ct 值相差 > 2 , 经 *t* 检验证明 Ct 值差异有统计学意义($P < 0.05$), 判定检出细菌污染, 与按药典方法检测的结果一致, 结果见表 1。这表明, RT-PCR 可应用于无菌检验, 且与药典判定结果需培养 14 d 比, 时间大大缩短, 只需 4 h。

规检测。本实验通过对不同提取方法比较, Takara 公司的 Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR 试剂盒, 能够快速裂解大部分微生物, 使其释放核酸, 并可直接用于 PCR 检测反应, 不仅节省时间, 且减少了样品之间的污染, 使检测灵敏度大大提高。金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌经稀释后少至 2 CFU·PCR⁻¹, 相当于 20 CFU·mL⁻¹ 也可被检测出。

其次, 如何去除样品中存在的死菌及其基因组 DNA 的干扰? 本研究利用 PMA 能渗透到细胞壁或者细胞膜不完整的死细胞体内, 插入 DNA 共价结合, 从而使死细胞中的 DNA 不能进行 PCR 扩增; 而活细胞的完整细胞壁、细胞膜能够阻止 PMA 渗透到菌体内与 DNA 共价结合, 因而其 PCR 扩增几乎不受影响^[8-9]。PMA 的这种性质为 PCR 检测区分样品中死活菌提供了可靠的方法依据。本研究发现, 当 PMA 终浓度为 3 μg·mL⁻¹, 使用 500 W 卤素灯曝光 10 min, 可有效抑制样品中死细胞 DNA 的 PCR 扩增, 因此 PMA 与 RT-PCR 技术的结合能够更加准确检测出样品中活菌的存在。

在对人工污染药品的无菌检测中, RT-PCR 与药典方法的检测结果一致, 表明 RT-PCR 可应用于无菌检验, 且该法具有灵敏度高、特异性好、耗时少(从基因组抽提到 PCR 扩增整个过程只需要 4 h 左右)的优势, 显示该法在大量无菌样品的快速检测方面, 具有明确的可操作性和实际应用价值。

REFERENCES

- [1] DING L X, SU X M, AKIRA Y. Research progress of VBNC bacteria-A review [J]. Acta Microbiol Sin(微生物学报), 2011, 51(7): 858-862.
- [2] DREIER J, STORMER M, KLEESIEK K. Two novel real-time reverse transcriptase PCR assays for rapid detection of bacterial contamination in platelet concentrates [J]. Clin Microbiol, 2004, 42(10): 4759-4764.
- [3] MOHAMMADI T, PIETERSZ R N, SCHOLTALBERS L A, et al. Optimal sampling time after preparation of platelet concentrates for detection of bacterial contamination by quantitative real-time polymerase chain reaction [J]. Vox Sang, 2005, 89(4): 208-214.
- [4] NADKARNI M A, MARTIN F E, JACQUES N A, et al. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range(universal) probe and primers set [J]. Microbiology, 2002, 148(1): 257-266.
- [5] HORZ H P, VIANNA M E, GOMES B P. Evaluation of universal probes and primer sets for assessing total bacterial load in clinical samples: general implications and practical use in endodontic antimicrobial therapy [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(10): 5332-5337.
- [6] MOHAMMADI T, REESINK H W, VANDENBROUCKE-GRAULS C M, et al. Optimization of real-time PCR assay for rapid and sensitive detection of eubacterial 16S ribosomal DNA in platelet concentrates [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(10): 4796-4798.
- [7] MOHAMMADI T, REESINK H W, VANDENBROUCKE-GRAULS C M, et al. Removal of contaminating DNA from commercial nucleic acid extraction kit reagents [J]. J Microbiol Methods, 2005, 61(2): 285-288.
- [8] LUO J F, LIN W T, GUO Y. Detection of viable bacterium cells based on propidium monoazide in combination with PCR [J]. J South Chin Univ Technol(Nat Sci Ed)(华南理工大学学报), 2010, 38(9): 142-146.
- [9] ZHU R G. Application of ethidium bromide monoazide for quantification of pathogenic viable cells of *vibrio parahaemolyticus* in seafood using real-time polymerase chain reaction [J]. Food Sci(食品科学), 2011, 32(20): 206-210.

收稿日期: 2013-04-18

HPLC-MS 同时测定人血浆中卡马西平和苯妥英钠的血药浓度

任秀华, 杜光, 杨惠, 刘东* (华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 武汉 430030)

摘要: 目的 建立一种快速、灵敏并同时测定人血浆中卡马西平(CBZ)和苯妥英钠(PT)浓度的高效液相色谱-质谱联用检测方法。方法 以兰索拉唑为内标, 血浆样品经乙腈沉淀后, 经 HPLC-MS 分离分析。采用 Diamonsil C₁₈ 柱(2.1 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水(含 0.1% 甲酸)=0.20 : 0.10; 流速: 0.3 mL·min⁻¹, 采用电喷雾离子源(ESI), 以多反应监测方式(MRM)进行正离子监测, CBZ、PT 和兰索拉唑的定量分析离子对分别为 *m/z* 237.0/194.0, 253.2/182.0, 392.0/188.2。结果 CBZ 在 40.30~20 150.00 ng·mL⁻¹(*r*=0.993 7)内线性良好, 为 40.3 ng·mL⁻¹, 低(66.08 ng·mL⁻¹)、中(660.8 ng·mL⁻¹)、高(16 120 ng·mL⁻¹)3 个浓度的平均回收率 RSD 均 < 15%。PT 在 80.1~40 050.0 ng·mL⁻¹(*r*=0.997 6)内线性良好, 最低定量限为 80.1 ng·mL⁻¹, 低(133.5 ng·mL⁻¹)、中(1 335.00 ng·mL⁻¹)、高(32 040.00 ng·mL⁻¹)3 个浓度的平均回收率 RSD 均 < 15%。结论 该方法快速简便, 灵敏准确, 可用于 CBZ 和 PT 同时应用时两者的血药浓度监测及其药动学研究。

作者简介: 任秀华, 女, 博士, 副主任药师 Tel: (027)83663519 E-mail: xiuhua_ren@yahoo.com *通信作者: 刘东, 男, 博士, 主任药师 Tel: (027)83663641 E-mail: ld_2069@163.com