

酶联免疫吸附法检测血清舒芬太尼血药浓度的应用价值

王宗杰, 黄卫彤[△], 廖 旺(广西壮族自治区南宁市妇幼保健院检验科 530011)

【摘要】 目的 探讨应用酶联免疫吸附法(ELISA)定量检测人血清舒芬太尼浓度及其在产妇产镇分娩、婴儿脐带血血药浓度监测中的应用价值。**方法** 应用 ELISA 两步法定量检测舒芬太尼浓度,拟合标准曲线,测定检测限,并检测自控椎管内镇痛分娩产妇和婴儿脐带血血清样本各 48 份,分别检测用药 1、3、5 h 和脐带血的血药浓度。**结果** 此方法绘制的舒芬太尼标准曲线为: $Y=420.375X+32.043$,1 h 血清舒芬太尼浓度为 $(0.087\pm0.013)\mu\text{g/mL}$,3 h 舒芬太尼浓度为 $(0.026\pm0.011)\mu\text{g/mL}$,5 h 舒芬太尼浓度为 $(0.011\pm0.050)\mu\text{g/mL}$,脐带血血药浓度为 $(0.040\pm0.029)\mu\text{g/mL}$ 。**结论** ELISA 方法测定人血舒芬太尼简便、快捷,血药浓度 1 h 达峰值,分娩镇痛效果理想,可用于临床药动力学研究。婴儿脐带血药物浓度极低,未见药物不良反应。

【关键词】 舒芬太尼; 酶联免疫吸附法; 血药浓度; 脐带血

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.16.018 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)16-2100-02

Application value of the enzyme-linked immunosorbent assay in plasma concentration of sufentanil WANG Zong-Jie, HUANG Wei-Tong[△], LIAO Wang (Department of Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Nanning, Nanning, Guangxi 533011, China)

【Abstract】 Objective To investigate value of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative detection serum sufentanil concentration, analgesia delivery and the plasma concentration in cord blood. **Methods** Used the two step method of ELISA testing the plasma concentration of sufentanil, fitting the standard curve to determine its detection limit, and detect the plasma concentration of 48 samples which from the automatic control of intraspinal analgesia and cord blood, detect the plasma concentration when 1 hour, 3 hours, 5 hours and plasma concentration of cord blood. **Results** The method draws the sufentanil standard curve: $Y=420.375X+32.043$, 1 hours plasma concentration of sufentanil was $(0.087\pm0.013)\mu\text{g/mL}$, 3 hours plasma concentration of sufentanil was $(0.026\pm0.011)\mu\text{g/mL}$, 5 hours plasma concentration of sufentanil was $(0.011\pm0.050)\mu\text{g/mL}$, The cord blood plasma concentration was $(0.040\pm0.029)\mu\text{g/mL}$. **Conclusion** ELISA method for determination of serum sufentanil is simple, fast. Ideal for labor analgesia, it could be suitable for clinical pharmacokinetic study. umbilical cord blood-drug concentration in very small amounts and no adverse drug reaction.

【Key words】 sufentanil; enzyme-linked immunosorbent assay; plasma concentration; cord blood

舒芬太尼为芬太尼的取代衍生物,是一种高选择性阿片类受体激动剂,其镇痛效能强、作用时间长,近年来广泛用于临床麻醉^[1]。但舒芬太尼血药浓度过高会引起呼吸抑制、心动过缓等不良反应,常采用靶控输注技术给药^[2],靶控输注是以计算机控制输注装置按药动学参数给药,通过调整血药浓度控制麻醉深度、减少不良反应。国外常采用放射免疫法、气相色谱法、毛细管电泳法、高效液相色谱法等检测血药浓度,以辅助临床用药疗效观察,但以上方法存在重复性差、有放射污染或检测条件高、耗时等缺点,国内难以推广应用^[3-4]。目前尚未见采用酶联免疫吸附(ELISA)两步法定测定舒芬太尼血药浓度,并用于监测产妇产镇分娩和婴儿脐带血血药浓度的相关报道。为进行舒芬太尼临床药动学和药物监测的研究,本文采用 ELISA 检测人血清舒芬太尼浓度,绘制标准曲线,检测用药后不同时间的血药浓度及结果分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年本院收治的初产妇、足月妊娠、临产、单胎头位、美国麻醉医师协会 I 级、具备适应证且自愿使用麻醉镇痛分娩方式的初产妇 48 例。

1.2 方法

1.2.1 仪器 DM9602 酶标仪(北京普朗公司);洗板机(普朗

公司配套)、离心机(DM 公司)、移液枪(上海热电公司)。

1.2.2 试剂与药品 舒芬太尼试剂盒(英国 Rapid Bio Lab 公司,批号:1S445);去离子水。

1.2.3 标准品配置 用去离子水将舒芬太尼标准品倍比稀释,依次配成 800、400、200、100、50、0 ng/L 保存备用。

1.2.4 测定过程(两步法) 按试剂盒说明书,用测定稀释液 5 倍稀释血清。先按照由低到高浓度在微孔板加入 50 μL 标准品,每个浓度 2 孔,取 10 μL 血清加到酶标板孔中,每孔中再加入 40 μL 稀释液,混匀,空白对照孔不加,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 30 min。洗版,拍干微孔板,每孔加清洗液 400 μL ,洗板机自动清洗 4 次,吸水纸拍干。然后在标准孔和样品孔各加 50 μL 酶标工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 30 min。拍干微孔板,洗板机清洗 4 次,吸水纸拍干,然后加入显色液各 50 μL ,混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光显色 15 min。然后每孔加 50 μL 终止液终止反应,以空白孔调零,使用酶标仪于 450 nm 波长读吸光度 OD 值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内均数比较用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 标准曲线绘制 将测定结果以标准品相应吸光度 OD 值

[△] 通讯作者, E-mail:15177160978@163.com。

为横坐标(X),浓度为纵坐标(Y),以直线回归方程拟合标准曲线,所得标准品回归方程为 $Y=420.375X+32.043$,相关系数 r 为0.993。

2.2 48例产妇行椎管内微电脑自控镇痛泵给药,初始舒芬太尼药物浓度为 $8\mu\text{g/mL}$,分别收集用药后1、3、5h和脐带血样本并检测血药浓度,结果显示,1h血清舒芬太尼浓度为 $(0.087\pm0.033)\mu\text{g/mL}$,3h舒芬太尼浓度为 $(0.035\pm0.019)\mu\text{g/mL}$,5h舒芬太尼浓度为 $(0.016\pm0.014)\mu\text{g/mL}$,脐带血血药浓度为 $(0.040\pm0.032)\mu\text{g/mL}$,其中用药后1h浓度与5h和脐带血的血样浓度相比,差异有统计学意义($P<0.05$);3h、5h血样浓度相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

由于舒芬太尼产生镇痛效能的血药浓度低,故对检测方法要求较高。ELISA方法通过预先包被舒芬太尼单克隆抗体到透明酶标板中,应用双抗体夹心法原理,经过两步反应,以辣根过氧化物酶催化底物转化为蓝色产物,在酸的作用下变为黄色,颜色的深浅与浓度呈正相关。本文应用此试剂测定人血清舒芬太尼浓度,观察到标准曲线为 $Y=420.375X+32.043$,线性关系良好,有较好的重复性,说明用ELISA方法测定人血清舒芬太尼准确、简便、快速,测定样本量可灵活掌握,可应用于临床镇痛分娩血药浓度监测。

产妇用药后不同时间段舒芬太尼的血药浓度结果显示1h左右达到峰值,随后逐渐下降,至脐带血时浓度较低。产妇用药后1h浓度与5h的血药浓度结果比较,差异有统计学意义,说明用药后1h的血药浓度达到理想镇痛效果^[6]。

婴儿在母体内时,此时是舒芬太尼进入脐带血后可产生累积效应,加上胎儿代谢慢等原因^[7],因此出生后脐带血有极少量的药物浓度;但是经出生后临床观察评分和血液肝功能、肾

功能、血常规等检查结果无异常,说明适量的舒芬太尼用于产妇镇痛分娩,婴儿脐带血残留有极少量的药物浓度,未能引起身体药物不良反应。

参考文献

[1] 肖彬,张兴安,吴群林,等.靶控输注异丙酚复合瑞芬太尼或舒芬太尼全静脉麻醉[J].广东医学,2006,27(11):1683-1685.

[2] Martensi M, Daonhoffer J. very sensitive and specific delern-finnion of sufentanil in human sⅢm applying liquia chromatography-two stage Wletry[J]. Qmn, B, 2002, 769(1):227.

[3] Woestenberghs RJ, l'inmennma PM. Methods for sufentanil in plasma radioinnnuy vgas ch/omatography-mass-lmletry[J]. Anesthesiology, 1994, 80(3):666.

[4] 赵高峰,张兴安,吴群林,等. HPLC-UV 法测定人血浆瑞芬太尼浓度[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(10):783-784.

[5] 张君仁,臧恒昌. 体内药物分析[M]. 北京:化学工业出版社, 2002:16.

[6] 劳诚毅,全伟斌,黄卫彤,等. 不同剂量舒芬太尼 spinocath 导管连续蛛网膜下腔阻滞分娩镇痛的临床研究[J]. 广西医学, 2011, 33(10):1252-1256.

[7] Rassi S, Kyck JB, Yaksh 1L. simultatumas acham of sufentanil andmidawlamfrom human plam [J]. Clin Chim, 1996, 244(1):103.

(收稿日期:2013-01-11 修回日期:2013-04-18)

(上接第 2099 页)

果。但是,由于全乳晕入路术在临床上推广的时间较短、难度较大、对术者技术要求高等特点,其多中心、大规模的临床资料尚未得到有效反馈。成都市第五人民医院早期即开展了全乳晕入路术的研究,临床经验较为丰富。本研究中对对照组近期疗效总有效率为83.3%,明显低于观察组96.7%($P<0.05$),这可能是因为手术疗效包含了患者的主观评分,而全乳晕入路美容效果较好,患者主观满意度较高。本研究中观察组患者的切口长度、失血量、手术时间、住院时间等均优于对照组($P<0.05$),原因可能是全乳晕入路由于切口选择时位置较远,从而避免了器械的相互干扰,缩短了手术时间;且松弛的乳房皮肤因牵拉性较强,可降低手术难度,从而有效减少失血量,进而缩短住院时间。而就生活质量及并发症而言,观察组患者均优于对照组($P<0.05$),这亦从综合评价标准证明了全乳晕入路的优越性。

总之,运用全乳晕入路行腔镜双侧甲状腺手术,其临床效果尤佳,可有效改善患者的临床指标,提高患者生活质量,值得临床推广应用。

参考文献

[1] 杨乐. 别克扎提. 再孜提汉,等. 甲状腺手术中甲状旁腺损伤的预防[J]. 中外医学研究, 2011, 9(24):15-16.

[2] Gilbert ME, Sui L, Walker MJ, et al. Thyroid hormone insufficiency during brain development reduces parvalbumin

immunoreactivity and inhibitory function in the hippocampus[J]. Endocrinology, 2007, 148(1):92-102.

[3] 刘锐昌,尹苗. 甲状腺功能亢进症 130 例外科治疗与体会[J]. 中外医学研究, 2011, 9(17):105.

[4] 易占波,丁国平,陈平塞. 腔镜与传统甲状腺切除术后患者心理状况的比较[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(4):574-576.

[5] 姜立新,胡金晨,陈红兵,等. 腔镜辅助颈部小切口甲状腺手术应用于甲状腺微小癌的探讨[J]. 中华内分泌外科杂志, 2009, 3(3):170-171.

[6] 王玉彬,孙丽丽,韩琼. 经乳晕入路腔镜甲状腺切除术的临床应用观察[J]. 山东医药, 2010, 50(42):68-69.

[7] 吴立胜,汪宏,涂从银. 经乳晕腔镜手术与开放手术治疗良性甲状腺肿瘤的临床对比分析[J]. 中国肿瘤临床, 2008, 35(23):1321-1324.

[8] 王贤柱,陈昭明,赖奕辉,等. 腔镜甲状腺腺叶切除术的经验分析[J]. 中外健康文摘, 2010, 7(17):138-140.

[9] 靳小建. 乳晕径路腔镜甲状腺手术的应用和进展[J]. 微创医学, 2010, 5(2):156-158.

[10] 杨波,孙冬林,张丰,等. 改良胸前壁入路腔镜手术治疗甲状腺疾病:附 66 例报告[J]. 中国普通外科杂志, 2009, 18(11):1142-1145.

(收稿日期:2013-01-23 修回日期:2013-04-28)