

万古霉素和去甲万古霉素检测方法研究进展

韩 峰¹, 杨光昕¹, 张 璇¹, 席寅峰¹, 薛婷婷^{1,2}, 余玮玥^{1,2}, 黄冬梅^{1*}

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090; 2. 上海海洋大学食品科学与工程, 上海 201306)

摘 要: 万古霉素和去甲万古霉素化学结构、药理性质和抗菌作用相似, 均属于糖肽类抗生素, 被广泛应用于细菌感染的治疗, 尤其是一些超级细菌。临床上, 药物治疗方案是依据血液中药物含量而确立的。另外药物的不合理使用会造成其在农产品中的残留, 对人们的食用安全具有危害性, 因此需要对农产品中药物残留进行监测, 并建立高效的检测方法刻不容缓。本文对万古霉素和去甲万古霉素的检测方法进行综述, 分别介绍了万古霉素在医疗卫生领域和动物源食品中不同的检测方法, 包括高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)、酶放大免疫法(enzyme-multiplied immunoassay technique, EMIT)、酶联免疫法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、荧光偏振免疫法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)等, 详细介绍了上述方法的检测原理、研究现状及实际应用情况, 并对其发展趋势进行了展望。

关键词: 万古霉素; 去甲万古霉素; 检测方法

Research progress on analytical methods of vancomycin and norvancomycin

HAN Feng^{1*}, YANG Guang-Xin¹, ZHANG Xuan¹, XI Yan-Feng¹, XUE Ting-Ting^{1,2},
YU Wei-Yue^{1,2}, HUANG Dong-Mei^{1*}

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;
2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: Vancomycin and norvancomycin, glycopeptide antibiotics with similar chemical structure, pharmacological properties and antibacterial effects are used active against infections by bacteria, particularly some super bacteria. Therapeutic drug monitoring of vancomycin and norvancomycin in plasma is highly recommended for optimizing therapy. Due to unreasonable misusing drugs result in drugs residues in agricultural products, which is harmful to human health, and therefore monitoring of drug residues in agricultural products, and establishing effective detection methods are essential. In this paper, over the past decades many methods of vancomycin and norvancomycin has been development and validated in the field of health and animal-derived food. These include high performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), enzyme immunoassay (EMIT), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and fluorescence polarization immunoassay (FPIA), etc. The detection principles, research development and practical applications of these detection methods were detailly introduced, and the development tendency were prospected.

基金项目: 农业行业标准制定和修订农产品质量安全项目(2130109)

Fund: Supported by the Standards for the Formulation and Revision of the Agricultural Industry (Agricultural Product Quality and Safety) Project (2130109)

***通讯作者:** 黄冬梅, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: hdm2001@126.com

***Corresponding author:** HUANG Dong-Mei, Researcher, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, No.300, Jungong Road, Yangpu District, Shanghai 200090, China. E-mail: hdm2001@126.com

KEY WORDS: vancomycin; norvancomycin; detection methods

1 引言

万古霉素(vancomycin, 分子式 $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$)和去甲万古霉素(norvancomycin, 分子式 $C_{65}H_{73}Cl_2N_9O_{24}$)同属于糖肽类抗生素, 分子结构中含有 1 个二氯三苯基醚结构单元、2 个糖基、多个氨基酸以及碱性的伯氨基团, 带有弱碱性, 易溶于水, 难溶于有机试剂。这 2 种药物化学结构、药理性质和抗菌作用相似, 可以抑制细菌的生长和繁殖, 对各种革兰氏阳性球菌与杆菌均具有强大的抗菌作用^[1]。万古霉素在治疗超级细菌如超级病菌 NDM 1、耐甲氧西林金葡菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、耐甲氧西林表皮葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus epidermis*, MRSE)等方面具有良好效果^[2], 因此万古霉素和去甲万古霉素在医疗领域及畜牧业中的应用日渐增多^[3]。但是过量使用万古霉素和去甲万古霉素药物会产生抗药性, 并具有严重的耳毒性和肾毒性。因此, 美国从 1997 年起禁止在畜禽养殖中使用万古霉素。2005 年 10 月我国农业部第 560 号公告《兽药地方标准废止目录》中规定万古霉素为禁用兽药, 禁止生产、经营^[4], 并且提出需要建立万古霉素的检测方法。2010 年万古霉素被列入由全国食品安全整顿工作办公室专家组提出的《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单(第四批)》名单中。

万古霉素和去甲万古霉素的主要检测方法有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[5-12]、液相色谱-质谱联用法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[13-18]、酶放大免疫法(enzyme-multiplied immunoassay technique, EMIT)^[19]、酶联免疫法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[20-22]、荧光偏振免疫法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)^[23,24]、微生物法(microbiological method)^[25]等。研究多集中在医药卫生领域, 研究对象涉及血清、血浆、尿液及药物制剂等, 而在动物源食品中的相关研究相对较少。本文针对万古霉素、去甲万古霉素的检测方法的原理、特点、研究进展以及实际应用进行梳理、比较。

2 万古霉素的使用现状及危害

在过去的几十年里, 随着细菌耐药现象的日趋严重, 尤其是近年来广谱或超广谱抗生素的应用, 耐甲氧西林葡萄球菌感染发生率逐年增高, 原本作为对付耐药菌的最后一道防线, 临床用量极小的万古霉素被推至“风口浪尖”, 从此进入快速增长期^[26]。据专家估计, 20 世纪 90 年代中期万古霉素的全球总产量平均为 20~25 t/年, 2010 年已接近

50 t, 目前万古霉素全球市场需求每年约为 100 t 左右。据荷兰官方统计, 1996 年用于人类治疗的万古霉素总量仅为 1500 kg, 而用做饲料药物添加剂的同类抗生素达到 80000 kg, 是人类用药量的 53 倍。1992~1996 年, 澳大利亚平均每年人用万古霉素的治疗用量为 528 kg, 作为饲料药物添加剂的同类抗生素用量达到 62000 kg, 是人类治疗用量的 117 倍。在丹麦, 每年供人类治疗用的万古霉素只有 24 kg, 而养殖业却消耗了 24000 kg 糖肽类抗生素同类药物。由此可见, 万古霉素在畜禽养殖业的用量相当大^[27]。万古霉素抗生素在饲养过程中对动物有一定的促生长作用, 饲喂抗菌素和其他促生长剂可降低免疫应激, 使蛋白质合成转向肌肉而不是抗体的合成, 因此, 在畜禽养殖过程中, 为增加产肉率而添加万古霉素。万古霉素滥用在全世界养殖业都非常普遍, 在中国更为严重。在被调查养殖户中, 约 50% 养殖户在饲料里不同程度地添加过包括万古霉素在内的抗生素。

万古霉素在动物性食品中残留的风险评价研究表明, 1994~2000 年金黄色葡萄球菌对万古霉素的敏感性逐年降低, 表明万古霉素的用量逐年增长。万古霉素经食物链进入人体后, 可出现听神经损害、听力减退甚至缺失, 损害肾小管, 严重者可致肾衰竭^[28]。人体经常摄入低剂量的万古霉素残留物, 会逐渐在体内蓄积而导致各种器官发生病变。万古霉素的残留对人体的影响主要表现在变态反应、过敏反应、免疫抑制、致畸、致癌、致突变等作用。万古霉素经食物进入人体后, 导致人体内正常菌群的耐药性变化。细菌耐药性是指细菌对于抗菌药物作用的耐受性, 耐药性一旦产生, 药物的作用就明显下降甚至无效。当长期应用万古霉素时, 占多数的敏感菌株不断被杀灭, 耐药菌株就大量繁殖, 代替敏感菌株, 从而使细菌对该种药物的耐药率不断升高。细菌耐药性不仅使万古霉素的疗效降低, 表现在药物剂量增大、疗程延长、复发率升高等, 而且还会引起并发症, 导致死亡率升高。随着超级细菌再度走进人们的视野, 抗菌药物的合理使用和细菌耐药问题已经成为全球最严重的公共卫生问题之一。

3 万古霉素和去甲万古霉素的检测方法

3.1 仪器检测方法

利用色谱或质谱等大型精密仪器进行药残检测, 是目前使用较为广泛的可以精确定性定量的方法, 目前万古霉素和去甲万古霉素的仪器检测方法主要有高效液相色谱紫外检测器法和液相色谱-串联质谱三重四极杆法。

3.1.1 高效液相色谱法

高效液相色谱(HPLC)是以液体为流动相, 采用高压

输液系统,将具有不同极性的流动相泵入装有固定相的色谱柱,在柱内各成分被分离后,进入检测器进行检测,从而实现对试样的分析。

万古霉素和去甲万古霉素化学结构中具有苯环结构,在 236 nm 处具有典型的紫外吸收波长,因此目前, HPLC 法被广泛应用在医疗卫生领域中测定万古霉素和去甲万古霉素的血药浓度。通常针对人体血清样本,通过酸试剂沉淀蛋白后,利用 C_{18} 柱进行分离,紫外检测器检测药物含量。Mitsue 等^[5]采用 HPLC 法测定小鼠血浆中万古霉素的浓度,样品经磷酸盐缓冲液(pH 5.3)提取, CAPCELLPAK MG- C_{18} 柱分离, 67 mmol 磷酸盐缓冲液(pH 5.3)-乙腈(88:12, *V/V*)作为流动相,紫外检测器进行分析。测定结果表明,在 0.5~100 $\mu\text{g/mL}$ 的线性范围内,万古霉素的定量限为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。日内、日间精密度分别为 1.92%和 3.69%。整个实验过程在 15 min 内完成,达到快速、精确检测目的。

崔艳丽等^[11]应用 HPLC 法同时快速测定万古霉素和去甲万古霉素血药浓度,取待测样品 200 μL ,加入 6%高氯酸和氢氧化钠溶液进行提取,用 Phenomenex C_{18} 色谱柱进行分离,流动相为 50 mmol 磷酸二氢钾缓冲液(pH 2.5): 乙腈(90:10, *V/V*),检测波长为 236 nm。在此条件下,去甲万古霉素在 0.8~80 $\mu\text{g/mL}$,万古霉素在 0.9~92 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内呈良好的线性关系 ($r=0.9999$),准确度分别为 97.79%~104.82%和 96.49%~110.75%,日内、日间精密度均小于 8%。万古霉素定量下限 0.8 $\mu\text{g/mL}$,去甲万古霉素为 0.9 $\mu\text{g/mL}$ 。该方法操作简便,人体耗血量极少,准确度和精密度均良好。

林秀丽等^[12]采用 Hypersil BDS- C_{18} (250 nm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)色谱柱为分析柱,磷酸二氢钾缓冲液(pH 3.2)-甲醇(86:14, *V/V*)为流动相测定血清中万古霉素和去甲万古霉素的血药浓度。血清样品经 10%三氯醋酸沉淀蛋白离心后进行色谱分析。结果表明万古霉素和去甲万古霉素均在 2~100 mg/mL 间线性关系良好,两者平均回收率均为 95%~105%,日内及日间 RSD 均 $<5\%$,定量限均可达到 1.0 mg/L。

应用 HPLC 法操作简便、快速,适用于临床血药浓度测定及人体药动学研究。但动物源性食品基质复杂,易受其他杂质干扰,用 HPLC 法进行测定不能达到准确定性定量,因此常采用 HPLC 法进行初步筛选,再采用 HPLC-MS/MS 进行准确定量^[18]。

3.1.2 液相色谱-串联质谱法

液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)相比于 HPLC,利用其强大的定性能力,可较好地排除基质的干扰,具有高灵敏度特性。适合分析基质复杂的样品,目前 LC-MS/MS 多应用于分析动物源中的药物残留。

蔡艳等^[3]利用 HPLC-MS/MS 分析乳与乳制品中万古霉素、去甲万古霉素的残留含量,动物源食品由于其成分

复杂,蛋白质含量较高,所以前处理过程较繁琐,其采用乙腈和 8%三氯乙酸作为提取剂沉淀蛋白等杂质,二氯甲烷去脂, Strata-X-C SPE 小柱净化去除无机盐。在 ACQUITY UPLC BEH C_{18} (50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱,乙腈和 0.1%甲酸水为梯度洗脱流动相,电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)在正离子多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM)模式下进行监测。在此条件下,万古霉素、去甲万古霉素在 4~5000 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈良好的线性关系,检出限(limit of detection, LOD)分别为 0.5、0.8 $\mu\text{g/kg}$,定量限(limit of quantitation, LOQ)分别为 2.0、3.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

沈燕萍等^[16]建立了猪肉中万古霉素和去甲万古霉素的超高效液相色谱串联三重四极杆质谱(HPLC-MS/MS)的检测方法。样品经 0.1%甲酸水-乙腈(7:3, *V/V*)提取,乙腈饱和正己烷去脂, LC- C_{18} 固相萃取小柱净化,采用乙腈-0.1%甲酸为流动相进行梯度洗脱,串联质谱 ESI 正离子模式电离,MRM 模式检测,以保留时间和子离子比定性,外标法定量。结果表明,万古霉素和去甲万古霉素可在 3 min 内分离完全,在 1~50 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好,方法检出限分别为 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.3 $\mu\text{g/kg}$,加标水平为 1~20 $\mu\text{g/kg}$ 时,平均回收率为 80%~88%。日内相对标准偏差 $\leq 13.4\%$,日间相对标准偏差 $\leq 12.5\%$ 。

LC-MS/MS 联用技术可显著提高检测的准确度、灵敏度,可提供丰富的结构信息,并且具有操作简单、快速,精密度好,准确度高的优点,在针对复杂基质样品的检测具有良好的应用前景。

3.2 快速检测法

食品进入市场之前要对药物残留进行快速检测,因此,快速检测方法日益得到发展。目前快速检测方法包括酶联免疫法、胶体金层析法和生物传感器法等。万古霉素和去甲万古霉素的快速检测法有酶放大免疫法(EMIT)、酶联免疫法(ELISA)、荧光偏振免疫法(FPIA)。这 3 种方法于 20 世纪 80 年代开始应用于农药残留分析,它是将免疫技术与现代测试手段相结合而建立的一种超微量的测定技术。近些年来,EMIT、ELISA 和 FPIA 以其抗原抗体反应的高度专一性和特异性,在医疗卫生领域分析中应用广泛。

3.2.1 酶放大免疫法

酶放大免疫测试法(EMIT)是一种经典的均相酶免疫测试技术,基本原理是用特定的酶标记待测物,然后将抗体、酶标记的待测物、待测物同时加入反应试管中进行竞争反应。酶标记的待测物与抗体结合后,酶被抑制而失去活性。样本中待测物药越多,则游离的未被抑制的酶也越多,根据吸附反应后酶活性的改变可以测定出待测物的含量^[29]。

彭斯维等^[19]用酶放大免疫法,测定血浆中去甲万古霉素的含量。采取样品血浆 400 μL ,加入质量浓度 20%的 ZnSO_4 溶液 400 μL ,漩涡混合 2 min 后,5000 r/min 离心 10 min,取上清液 20 μL 进样测定。在空白的样品中分别添加 7.51、9.67、20.95、29.82 和 40.85 mg/mL 5 种浓度用来模拟血浆样品,以酶免法测定。结果测得相对回收率为 96.2%~103%,日内及日间精密度均小于 5%。该方法结果稳定,操作简单,快捷,自动化程度高且测定周期短,适合于临床应用。

3.2.2 酶联免疫法

酶联免疫测定法(ELISA)是一种异相酶免疫分析方法。ELISA 又可分为直接竞争法和间接竞争法。直接竞争法是将抗体包被到聚苯乙烯微孔反应板上,加入酶标记的待测物和待测物,两者竞争抗体,发生结合反应,应结束后,清除反应液并洗涤酶标板,吸附到酶反应板上的酶标记待测物的量与待测液中药物含量成反比。加入酶底物显色后,进行比色,可通过肉眼观察颜色或使用分光光度计测定,从而确定测定药物含量^[30]。

Kong 等^[22]用酶联免疫法测定了生牛乳和动物饲料中万古霉素和去甲万古霉素残留量。生牛乳直接在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 15 min,去除脂肪层的脱脂牛乳上酶标板分析。动物饲料称取 2 g,用 20 mL 乙腈和 PBS(10:90, V/V)提取,离心后上层清液用等体积的超纯水稀释后上酶标板测定。文章对酶联免疫测定过程中的溶液 pH 值和氯化钠的浓度等参数进行了优化。结果在生牛乳和动物饲料中进行添加回收实验,回收率达到 89.2%~121.6%。万古霉素的检测限为 0.06 ng/mL,去甲万古霉素的检测限为 0.13 ng/mL,灵敏度高。

3.2.3 荧光偏振免疫法

荧光偏振免疫分析法(FPIA)其基本原理是荧光物质经单一平面的蓝偏振光(485 nm)照射后,吸收光能跃入激发态,随后回复至基态,并发出单一平面的偏振荧光(525 nm)。

黄进等^[24]应用荧光偏振免疫法测定血清中万古霉素的浓度。结果在 0~100 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内呈良好的线性关系,最低检测浓度为 2 $\mu\text{g/mL}$ 。肖力等^[23]应用 FPIA 测定去甲万古霉素血药浓度,以空白血浆配制成 0.5、1、2、5、10、25、35、50、60 $\mu\text{g/mL}$ 的系列浓度,用万古霉素试剂盒检测。结果测得去甲万古霉素在 0.5~60 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内呈良好的线性范围,最低检测浓度为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。应用 FPIA 法检测血药中万古霉素和去甲万古霉素,通常采血量少(1 mL),检测时间短(15 min),可操作性强。但邹国芳等^[31]以及国外相关学者^[32]在同时应用 FPIA 和 HPLC 测定万古霉素血清浓度时比较发现, FPIA 法测定值明显高于 HPLC 法测定值,两者测定值差异的主要原因是由于存在万古霉素代谢降解产物的干扰而造成本底响应值偏高,因此专属性略差。但此方法适用于临床中快速检测筛查血药

中万古霉素和去甲万古霉素的浓度,目前已经有商品化的试剂盒销售,具有简单、快速的特点。

3.3 微生物检测方法

微生物法检测抗生素是利用抗生素在琼脂培养基内的扩散作用,抑制了试验菌的繁殖,形成一定浓度的含抗生素的球形区即抑菌圈,通过比较标准品与待测试品 2 者在同一条件下,对接种试验菌表现抑菌圈的大小,以检定待测试品供效价的一种方法。

张开礼等^[25]用微生物法测定人血浆中去甲万古霉素,将已灭菌的抗生素培养基加热融化,冷却至 60 $^{\circ}\text{C}$ 时加入枯草芽孢杆菌悬液,吸取 20 mL 注入抗生素专用平板中,在平板上打 6 个孔,挑出孔内琼脂,加入去甲万古霉素标准溶液,36 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 14~16 h,取出于抗生素效价测定扫描仪扫描各抑菌圈直径 D,根据 D 大小对应去甲万古霉素浓度对数做线性回归。方法的检测限为 10 $\mu\text{g/mL}$,平均回收率为 98.1%~100.7%,方法操作简便,测定快速,费用低,与 HPLC 方法比较,2 种检测方法结果差异无统计学意义。

4 研究展望

近年来,由于万古霉素和去甲万古霉素在医疗卫生领域及养殖业中的滥用等多种原因导致的动物性食品中药物残留问题不断增多,直接影响了人体健康和食品的质量安全。万古霉素和去甲万古霉素这种糖肽类化合物的水溶性极强,给该类物质的分析检测带来一定困难。目前国内常用的样品检测前处理方法为固相萃取法,用 C_{18} 等作为填料,基质分散固相萃取方法是近些年新发展起来的前处理技术,以快速、有效的特点得到越来越广泛的应用。在仪器分析方面,液相色谱-串联质谱法以灵敏度高、能进行痕量检测及准确性的特点而成为糖肽类化合物分析的首选方法,同时 2D-LC 高效液相色谱仪的发展,也为高通量高灵敏度药物残留检测提供了更好的支撑^[33,34]。但是目前对于糖肽类化合物在生物体内的富集及代谢消除规律尚无详细报道,待进一步研究探讨。

参考文献

- [1] Marta MD, Robson MO, Marcos MG. Analytical methods for vancomycin determination in biological fluids and pharmaceuticals [J]. Quim Nova, 2007, 30(2): 395-399.
- [2] 张虹,方昱,李英,等. 反相高效液相色谱法测定临床联合用药时血浆中万古霉素浓度[J]. 药物分析杂志, 2008, 04: 591-594.
Zhang H, Fang Y, Li Y, et al. Determination of concentration of vancomycin in plasma by reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC) [J]. J Pharm Anal, 2008, 04: 591-594.
- [3] 基艳,李锦清,赵明桥,等. 固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法测定乳与乳制品中万古霉素、去甲万古霉素残留[J]. 分析测试学报, 2013, 32(6): 768-771.
Qi Y, Li JQ, Zhao MQ, et al. Determination of vancomycin in milk and

- dairy products by solid phase extraction/ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(6):768–771.
- [4] Ministry of Agriculture of the People's Republic of China Bulletin No.560 *Local Standards of Veterinary Drugs Abolished Directory* [Z]. (2005-10-28). [2005-11-01]. http://www.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/200511/t20051117_496523.htm.
- [5] Mitsue S, Tomofumi S, Makoto T, *et al.* An automated analyzer for vancomycin in plasma samples by column-switching high-performance liquid chromatography with UV detection [J]. *Ori Res*, 2004, 18: 735–738.
- [6] Ding GS, Huang XJ, Liu Y, *et al.* Chiral separation of racemates of drugs and amino acid derivatives by high-performance liquid chromatography on a norvancomycin-bonded chiral stationary phase [J]. *Chromatographia*, 2004, 59: 443–449.
- [7] Guo ZH, Wang H, Zhang YS. Chiral separation of ketoprofen on an achiral C₈ column by HPLC using norvancomycin as chiral mobile phase additives [J]. *J Pharm Biomed*, 2006, 41(1): 310–314.
- [8] Liu M, Hu C. Simultaneous determination of the purity and potency of vancomycin and norvancomycin by HPLC [J]. *Chromatographia*, 2007, 65(3–4): 203–207.
- [9] 李慧. 高效液相色谱法测定万古霉素注射液中的含量[J]. *中国医药导刊*, 2011, 08: 1454–1459.
- Li H. Determination of the content of vancomycin injection by HPLC [J]. *Chin J Med Guide*, 2011, 08: 1454–1459.
- [10] Mao H, Christina S, David PN. Development of HPLC method for the determination of vancomycin in human plasma, mouse serum and bronchoalveolar lavage fluid [J]. *J Chromatogr Sci*, 2013, 51: 201–207.
- [11] 崔艳丽, 武峰. HPLC法同时快速测定万古霉素和去甲万古霉素的血药浓度[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2011, 11(10): 920–922.
- Cui YL, Wu F. HPLC method was used to determine the blood drug concentration of vancomycin and vancomycin [J]. *Eval Anal Drug-Use Hospital China*, 2011, 11(10): 920–922.
- [12] 林秀丽, 朱金平, 费燕. HPLC法快速测定万古霉素和去甲万古霉素的血药浓度[J]. *中国临床药学杂志*, 2011(4): 231–234.
- Lin XL, Zhu JP, Fei Y. HPLC method was used to determine the blood drug concentration of vancomycin and methopycyn [J]. *Chin J Clin Pharm*, 2011(4): 231–234.
- [13] 林维宣, 孙兴权, 田苗, 等. 液相色谱-串联质谱法检测牛乳中多肽类抗生素残留量[J]. *中国乳品工业*, 2009, 3: 46–48.
- Lin WX, Sun XQ, Tian M, *et al.* Detection of the residues of polypeptide antibiotics in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *China Dairy Ind*, 2009, 3: 46–48.
- [14] 刘佳佳, 金芬, 余永新, 等. 液相色谱-串联质谱法测定牛奶中5种多肽类抗生素[J]. *分析化学*, 2011, 5: 652–657.
- Liu JJ, Jin F, She YX, *et al.* Determination of 5 kinds of peptide antibiotics in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2011, 5: 652–657.
- [15] 苏萌, 艾连峰, 段文仲, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中粘杆菌素、多粘菌素B的残留量[J]. *分析实验室*, 2012, 3: 73–77.
- Su M, Ai LF, Duan WZ, *et al.* High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC) was used to determine the residues of mycobacterium and polymyxin B in animal sources [J]. *Anal Lab*, 2012, 3: 73–77.
- [16] 洗燕萍, 陈立伟, 罗海英, 等. UPLC-MS/MS法测定猪肉中万古霉素与去甲万古霉素[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(2): 162–167.
- Xian YP, Chen LW, Luo HY, *et al.* UPLC-MS/MS method for determination of vancomycin in pork and vancomycin [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(2): 162–167.
- [17] 李贺, 廉洪, 肖昌钱, 等. 高效液相色谱质谱联用法测定人血浆中万古霉素和去甲万古霉素浓度[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 8: 721–723.
- Li H, Lian H, Xiao CQ, *et al.* Simultaneous determination of vancomycin and norvancomycin in human plasma by LC-MS/MS [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2014, 8: 721–723.
- [18] 王丽娟, 张骊, 叶玫, 等. 采用HPLC法和HPLC-MS/MS法检测水产品中喹诺酮类药物方法比较[J]. *福建水产*, 2015, 37(5): 378–385.
- Wang LJ, Zhang L, Ye M, *et al.* Comparison methods of quinolones in aquatic products by HPLC method and HPLC-MS/MS method [J]. *J Fujian Fish*, 2015, 37(5): 378–385.
- [19] 彭斯维, 陈永刚, 邹吉利. 酶放大免疫法测定去甲万古霉素的血药浓度[J]. *广东药学院学报*, 2014, 30(5): 553–558.
- Peng SW, Chen YG, Zou JL. The enzyme amplification immunoassay was used to determine the blood concentration of methycin [J]. *Acad J Guangdong Coll Pharm*, 2014, 30(5): 553–558.
- [20] Dalvie MA, Sinanovic E, London L, *et al.* Cost analysis of ELISA, solid-phase extraction, and solid-phase microextraction for the monitoring of pesticides in water [J]. *Environ Res*, 2005, 98(1): 143–150.
- [21] Muhammad U, Georg H. Development and validation of an HPLC method for the determination of vancomycin in human plasma and its comparison with an immunoassay (PETINIA) [J]. *Usman Hempst Springplus*, 2016, 5(124): 1–7.
- [22] Kong DZ, Xie ZJ, Liu LQ, *et al.* Development of IC-ELISA and lateral-flow immune chromatographic assay strip for the detection of vancomycin in raw milk and animal feed [J]. *Food Agric Immunol*, 2017, 28(3): 414–426.
- [23] 肖力, 任斌, 陈大陆. 荧光偏振法测定去甲万古霉素血药浓度[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2007, 28(3): 315–316.
- Xiao L, Ren B, Chen XL. Determination of the blood concentration of methycin by fluorescence polarization method [J]. *J Qiqihar Med Coll*, 2007, 28(3): 315–316.
- [24] 黄进, 宋青, 张华峰, 等. 高效液相色谱法和荧光偏振免疫法检测血清万古霉素浓度的比较[J]. *空军医学杂志*, 2013, 29(4): 209–211.
- Huang J, Song Q, Zhang HF, *et al.* High performance liquid chromatography and fluorescence polarization immunoassay were used to detect the concentration of vancomycin [J]. *Air Force Med J*, 2013, 29(4): 209–211.
- [25] 张开礼, 李成, 李玉珍, 等. HPLC法与微生物法测定人血浆中去甲万古霉素浓度的差异比较[J]. *中国药房*, 2016, 26(26): 3655–3657.
- Zhang KL, Li C, Li YZ. Comparison of plasma concentration of norvancomycin by HPLC and microbiological method [J]. *China Pharm*, 2016, 26(26): 3655–3657.
- [26] 王丽娜, 姜德平, 何为, 等. 万古霉素在动物性食品中残留的风险评价[J]. *现代畜牧兽医*, 2013, 9: 50–52.
- Wang LN, Jiang DP, He W, *et al.* The residual risk assessment of vancomycin in animal food [J]. *Mod Anim Husb Vet*, 2013, 9: 50–52.
- [27] 郭冬梅. 饲料中使用抗生素的危害[J]. *现代畜牧兽医*, 2007, 6: 26–27.
- Guo DM. The use of antibiotics in feed [J]. *Mod Anim Husb Vet*, 2007, 6:

- 26-27.
- [28] 唐贤斌. 125 例万古霉素临床用药分析[J]. 中外医疗, 2012, 20: 98-99.
Tang XB. Clinical analysis of 125 cases of vancomycin [J]. China Foreign Med, 2012, 20: 98-99.
- [29] 王军, 朱鲁生, 林爱军, 等. 农药残留速测技术研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2001, 2(1): 17-24.
Wang J, Zhu LS, Lin AJ, *et al.* Research progress of pesticide residue velocity measurement technology [J]. Environ Pollut Control Technol Equip, 2001, 2(1): 17-24.
- [30] 武中平, 徐春祥, 高巍, 等. 酶联免疫分析法及其在食品农药残留检测中的应用[J]. 江苏农业科学, 2007, 1: 198-201.
Wu ZP, Xu CX, Gao W, *et al.* Enzyme-linked immunoassay and its application in pesticide residues in food [J]. Jiangsu Agric Sci, 2007, 1: 198-201.
- [31] 邹国芳, 钱文璟, 李巍, 等. 高效液相色谱法和荧光偏振免疫法测定万古霉素血清浓度的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(1): 68-71.
Zou GF, Qian WJ, Li W, *et al.* The comparison of serum concentrations of vancomycin was determined by HPLC and fluorescence polarization immunoassay [J]. Chin J Hosp Pharm, 2015, 35(1): 68-71.
- [32] Dina F, Guillermo AP, IgalG, *et al.* A modified HPLC method for the determination of vancomycin in plasma and tissues and comparison to FPIA (TDX) [J]. J Pharm Biomed Anal, 1998, 18: 367-372.
- [33] Sheng YH, Zho BT. High-throughput determination of vancomycin in human plasma by a cost-effective system of two-dimensional liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 2017, 1499: 48-56.
- [34] Li X, Wang F, Xu B, *et al.* Determination of the free and total concentration of vancomycin by two-dimensional liquid chromatography and its application in elderly patients [J]. J Chromatogr B, 2014, 969: 181-189.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



韩 峰, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: hanfeng8827@sina.com



黄冬梅, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: hdm2001@126.com