

即时检验在治疗药物监测中的应用研究进展

周芳(江苏农牧科技职业学院动物药学院, 江苏 泰州 225300)

摘要: 治疗药物监测是指在一定时间段内对患者的体液进行药物浓度测定, 以及时控制药物的剂量, 对药物毒性以及不良反应进行及时干预并调整药物剂量以达到更好的疗效。即时检验(point-of-care testing, POCT)可用于治疗药物监测, 它能够快速、灵敏、方便地检测患者体内药物浓度, 方便临床指导个体化用药, 减少药物的不良反应。近年来国外一些研究者对多种 POCT 方法在治疗药物监测领域的应用进行了研究, 但国内这方面的研究比较少见, 为了解更多 POCT 方法在药物浓度测定的应用, 本文从治疗药物监测方面综述该方法的应用研究进展。

关键词: 治疗药物监测; 即时检验; 免疫层析; 微流控; 表面等离子体共振; 化学发光; 生物传感器

中图分类号: R969.3 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)23-2932-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.23.021

引用本文: 周芳. 即时检验在治疗药物监测中的应用研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(23): 2932-2935.

Advances in the Application of Point-of-care Testing in Therapeutic Drug Monitoring

ZHOU Fang(Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China)

ABSTRACT: Therapeutic drug monitoring is used to measure the concentration of pharmaceutical drug in patients' bio-fluids at certain time intervals to allow a timely control of their dosage. This practice allows for rapid medical intervention in case of toxicity-related issues and adjustment of dosage to better fit the therapeutic demand. Point-of-care testing(POCT) can be used in therapeutic drug monitoring to measure the concentration of drug simply rapidly and sensitively. It is convenient for personalized drug therapy for clinical guidance and reduce adverse reactions of drugs. Some POCT assays has been developed and studied for therapeutic drug monitoring in recent years by foreign researchers, but few in domestic. In order to get more information about the application of POCT in therapeutic drug monitoring, for understanding more application of drug concentration determination, the application of this method is reviewed from the aspect of therapeutic drug monitoring in this article.

KEYWORDS: therapeutic drug monitoring; point-of-care testing; immunochromatography; microfluidic; surface plasmon resonance; chemiluminescence; biosensor

某些药物在临床治疗中因患者个体差异大或特殊病理生理状态等因素影响, 不同患者服用相同剂量药物以后, 临床疗效却存在较大差异^[1]; 另外有些药物不良反应较大, 亦需要关注患者血药浓度^[2-4]。治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM)是通过测定患者体内的药物暴露、药理标志物、药效指标, 以药物治疗窗为基准, 为患者制订个体化用药方案, 包括最适剂量、给药时间间隔和给药途径等, 以提高疗效和减少不良反应, 以达到安全、有效、经济的治疗目的^[5]。TDM 包括中心实验室方法和即时检验(point-of-care testing, POCT)方法。中心实验室方法由经过培训的专业人士完成, 监测手段包括免疫分析仪、质谱仪、高效液相色谱-质谱联用仪等^[6-7], 这些仪器操作复杂、维护费用高、样本准备、分析和结果处理时间长, 这些成本大大限制了 TDM 在实践中的应用^[8-9]。POCT 指在患者旁边进行的临床检

测或床边检测, 可以在中心实验室和检验科之外的地方开展检测, 不一定是临床检验师来进行, 在采样的现场利用便捷式的分析仪器和配套试剂能够快速得到检验结果^[10]。POCT 技术近年来发展迅速, 广泛应用于医疗、环保、农业、食品、检验、毒麻药品等快速检测。在 TDM 方面, 涌现出了诸如免疫层析、电化学传感器、表面等离子共振、微流控等 POCT 方法, 因该类方法具有操作简单、检测快速等优点, 正在越来越多地应用于 TDM 领域。

1 免疫层析

免疫层析是一种基于硝酸纤维素膜和毛细作用力的免疫检测技术平台, 开始于 20 世纪 70 年代^[11-12], 目前已经广泛应用于检验科及临床科室的检验。早期的免疫层析技术主要利用胶体金显色的原理做定性检测, 近 10 年来随着荧光材料(包括荧光染料及各种荧光微球)和超顺磁性纳米微球

作者简介: 周芳, 女, 硕士 Tel: 13961019632 E-mail: 105397493@qq.com

的新型标记物及检测仪的开发,基于免疫层析平台的定量检测产品层出不穷。免疫层析检测技术具有操作简单、检测快速、成本低廉等优点,是POCT检测方法中最常规的技术。理论上讲,只要有待监测治疗药物的抗体,就可以开发出对应的免疫层析TDM产品。

德国拜发公司开发了用于监测抗风湿性药物类及其生物类似物 Remsima 和 Inflectra 的免疫层析检测试剂盒 RIDA®QUICK IFX^[13],结合小型的检测仪,试剂盒能够在 20 min 内检测样品中的药物浓度,检测结果与酶联免疫检测方法具有高度的一致性。中国的丹大生物开发了检测血液中包括万古霉素、地高辛、甲氨蝶呤、霉酚酸、茶碱等在内的药物浓度的荧光免疫层析试剂盒,可以对全血、血清、血浆等不同类型样本进行检测,不需要专业操作人员,在 15 min 以内即可得到定量检测结果。Ruppert 等^[14]开发了利用手机拍照读数的免疫层析试剂,可用于监测血液中的地高辛。

免疫层析技术是基于硝酸纤维素膜层析的固相免疫分析技术,虽具有操作简单等优点,但受制于使用的材料和工艺,也存在诸如重复性不高、灵敏度欠佳等缺点,这可能限制它在一些需要超高灵敏度及重复性的药物监测上的应用。

2 微流控技术

微流控技术指的是使用微管道(尺寸为数十到数百微米)处理或操纵微小流体(体积为纳升到皮升)的系统所涉及的科学和技术,是一门涉及化学、流体物理、微电子、新材料、生物学和生物医学工程的新兴交叉学科。在实际应用过程中,微流控可以把生物、化学、医学分析过程的样品制备、反应、分离、检测等基本操作单元集成到 1 个几平方厘米的芯片上,自动完成分析全过程,其基本特征和最大优势是多种单元技术在整体可控的微小平台上灵活组合、规模集成^[15-16]。微流控芯片具有液流可控、样品消耗量小、反应速度快、易于集成化等特点^[17]。该技术在 POCT 领域中已被用于心肌梗死等疾病的辅助诊断。微流控非常适合一些对低浓度治疗药物进行现场监测的场景。

Bruch 等^[18]开发了用于 β 内酰胺抗菌药物进行治疗监测的即用即抛型微流控平台,能够在取样 1 μ L 的情况下,检测到浓度低至 6 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的抗菌药物,平台成功用于手术中患者血液中抗菌药物的药动力学监测,实现个体化抗菌药物治疗。

Ferguson 等^[19]提出了结合微流控及核酸适配体技术,在体监测血液中药物的检测方案,并成功对动物血液中的阿霉素和卡那霉素进行了 >4 h 的实时监测。

微流控技术,由于采用塑料表面代替硝酸纤维素膜,且有些需要匹配相应的动力系统代替毛细作用力,因而重复性更佳、灵敏度也更高。但是微流控是一种需要包括生物、化学、材料等学科交叉集成的技术,所以微流控平台成品率较低、成本相对较高,不太适宜在所有药物监测上的普及。

3 表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)

SPR 技术是 20 世纪 90 年代发展起来的一种新型技术^[20],应用 SPR 原理可检测生物传感芯片上配位体与分析物之间的相互作用情况。SPR 技术可与免疫传感器结合,利用抗原抗体的特异性反应可用于各种蛋白质抗原的检测。SPR 传感器广泛应用在生命科学、药物开发、公共安全、环境污染检测等领域^[21],由于具有灵敏度高、免标记及检测快速等优点,也是 TDM 的一种重要 POCT 检测方法发展方向^[22]。

Zhao 等^[23]开发了监测患者样品中甲氨蝶呤浓度的高度集成 SPR 传感器,患者实际样本的检测结果与荧光偏振及 LC-MS/MS 的检测结果相关性良好。Losoya-Leal 等^[24]设计了基于竞争法的用于检测抗菌药物阿米卡星的 SPR 检测试剂,最低检测限达到 0.13 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,与传统 TDM 方法相比,此 SPR 免疫检测试剂具有操作简单、便携、免标记测试、高通量等优势。但是表面等离子体技术难以区分非特异性吸附,且对温度、样本组成比较敏感,这些都会限制其在药物监测领域的应用。

4 小型化学发光

化学发光是指利用化学反应释放的化学能激发发光物质,使其从基态跃迁到激发态,当从激发态回到基态时会释放光子,对光子进行测定而进行定量分析。根据启动发光的原理不同,可分为化学发光、酶促化学发光、电化学发光。小型化学发光检测试剂操作简便、可单人份检测、灵敏度高,是一种性能优良的 POCT 检测方法,目前已经广泛应用于检验科和心内科等科室^[25]。

Griss 等^[26]开发了基于荧光素酶系统的生物发光蛋白传感器,以甲氨蝶呤为例,研究者详细介绍

介绍了此平台的原理和分析性能,检测甲氨蝶呤的半极限信号响应浓度(C_{50})达到 $0.75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,并研究了此方法对包括他克莫司和西罗莫司及环孢菌素 A 在内的免疫抑制剂,以及抗抑郁药托吡酯,强心苷药物地高辛的检测性能。以上所有项目的 C_{50} 均在药物治疗浓度范围附近,比如西罗莫司的治疗浓度为 $5.5\sim 16.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,此方法检测的 C_{50} 为 $(13.7\pm 1.6)\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,线性范围完全覆盖治疗浓度。只需要 1 滴血即可实现定量监测,对操作者的要求低,此类 POCT 方法能够使治疗更安全,增加医师和患者的便利性和依从性,非常适用于欠发达地区。Van 等^[27]设计了用于直接检测血浆中曲妥珠、利妥昔、阿托珠、西妥昔等抗肿瘤单抗的生物发光传感器,与商用 ELISA 试剂盒具有良好的相关性。

化学发光免疫检测过程中,为了达到更高的灵敏度和特异性,需要一定的孵育和清洗过程,所以这类平台更加适合有一定数量待检测样本的场景,以减少每个样本的平均检测时间。

5 电化学生物传感器

电化学生物传感器是指由生物体成分(酶、抗原、抗体、激素等)或生物体本身(细胞、细胞器、组织等)作为敏感元件,电极(固体电极、离子选择性电极、气敏电极等)作为转换元件,以电势或电流为特征检测信号的传感器^[28]。电化学生物传感器由于其灵敏度高、选择性好、检测限低、制备简易及成本低廉等优点,在医药卫生、食品检验、生物工程、环境保护等诸多领域有着广泛的应用。有很多酶作为药物用于各种疾病的治疗,而基于酶的电化学生物传感器可以非常方便地用于这类治疗药物的监测^[29]。

Alvau 等^[30]开发了用于检测样本中抗肿瘤药物伊立替康的酶催化电化学生物传感器,在缓冲液及血清中的线性范围可达到 $10\sim 10\,000 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$,此传感器应用于实时监测,可以改善治疗效果并降低相关费用。Wiedman 等^[31]发明了用于监测包括泊沙康唑、氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑在内的羊毛甾醇 14α 去甲基化酶抑制分子类抗真菌药物的生物传感器,其中检测泊沙康唑的浓度范围在 $0.1\sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,提高了检测的灵敏度、特异性,可以临床使用。

电化学生物传感器需要融合生物学的知识及电极元器件技术,不仅技术门槛高,而且对于用

量不是特别大的项目,也存在平均成本不低的缺点。

6 讨论

POCT 与传统的 TDM 方法相比较,具有操作简单、标本量小、快捷灵敏、不受场地限制,快速得到结果等优势。近年来 POCT 发展快速,其对临床加强药物治疗的有效性、减少药物的不良反应、做到个体化给药将发挥积极的作用。目前国内在药物监测领域常用的检测技术以 HPLC 和 ELISA 等方法为主,POCT 方法学方面无论是在科研还是产业界,主要使用传统的免疫层析技术。国外由于先发优势和技术集成优势,已经在一些科研院所开展了用于药物监测的微流控检测技术、等离子体表面共振技术、小型化学发光技术、电化学生物传感器技术;产业推广方面,目前也是以免疫层析技术为主。

当然 POCT 也存在着一些问题,如产品技术要求和质量缺乏统一标准,行业相关法规不明确等,具有潜在错误结果的风险,需要对其质量进行控制,还需要对该技术做进一步的深入研究,以使其能够更好地为 TDM 服务。相信随着药物监测的临床需求及技术的进步,国内也会出现越来越多的药物监测 POCT 方法研究。

REFERENCES

- [1] 李朋梅,陈文倩,王晓雪,等. 替考拉宁的药动学影响因素及治疗药物监测研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(7): 865-867, 868.
- [2] ZHANG H J, XIE Y X, REN T, et al. Case analysis of individualized medication of voriconazole directed by therapeutic drug monitoring [J]. Pharm Care Res(药学服务与研究), 2019, 19(2): 129-132.
- [3] MA X J. Clinical application of vancomycin therapeutic drug monitoring and improvement of pharmaceutical care [J]. Systems Med(系统医学), 2019, 4(14): 4-6.
- [4] WANG J, LI Y Q, ZHOU Y L, et al. Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs [J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2018, 34(24): 2889-2893.
- [5] ZHANG X L, MIAO L Y, CHEN W Q. The expert consensus on the standards of therapeutic drug monitoring (2019 Edition) [J]. Eval Anal Drug-Use Hosp Chin (中国医院用药评价与分析), 2019, 19(8): 897-898, 902.
- [6] WANG J J, YAO Q, HUANG H. Duloxetine concentration determination in human plasma with UFLC-MS/MS and applied for therapeutic drug monitoring [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(8): 951-955.
- [7] YANG J J, WANG C X, ZHOU Z Y, et al. Determination of oxcarbazepine and its active metabolite 10-Hydroxycarbamazepine in human serum by LC-MS/MS and its clinical application. [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(22): 2823-2827.

- [8] POLO F, TOFFOLI G. Point-of-care for therapeutic drug monitoring of antineoplastic drugs [J]. *Med Chem(Los Angeles)*, 2016, 6(6): 1-2.
- [9] CHOI R, WOO H I, PARK H D, et al. A nationwide utilization survey of therapeutic drug monitoring for five antibiotics in South Korea [J]. *Infect Drug Resist*, 2019(12): 2163-2173.
- [10] 孙小莉, 汤晓阳, 郭艳, 等. POCT(即时检验)在提升社区卫生服务中心健康服务能力方面的探讨[J]. *中国医疗器械信息*, 2019, 25(17): 40-41.
- [11] WU H B, SHAO J J, CHANG H Y. Application of immunochromatography based test stripes in animal disease diagnoses [J]. *Chin J Animal Quar(中国动物检疫)*, 2005, 22(8): 43-45.
- [12] GLAD C, GRUBB A O. Immunocapillary migration with enzyme-labeled antibodies: Rapid quantification of C-reactive protein in human plasma [J]. *Anal Biochem*, 1981, 116(2): 335-340.
- [13] VAN STAPPEN T, BOLLEN L, VANDE CASTEELE N, et al. Rapid test for infliximab drug concentration allows immediate dose adaptation [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2016, 7(12): e206. Doi: 10.1038/ctg.2016.62.
- [14] RUPPERT C, PHOGAT N, LAUFER S, et al. A smartphone readout system for gold nanoparticle-based lateral flow assays: Application to monitoring of digoxigenin [J]. *Mikrochim Acta*, 2019, 186(2): 119. Doi: 10.1007/s00604-018-3195-6.
- [15] WANG X Y, YOU F, LI F F. Review of the application of microfluidic chips to the detection of cardiac markers [J]. *J Integr Tech(集成技术)*, 2014, 3(4): 88-93.
- [16] NG A H, UDDAYASANKAR U, WHEELER A R. Immunoassays in microfluidic systems [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397(3): 991-1007.
- [17] LI H F, ZHANG Q Y, LIN J M. Recent development of microfluidic diagnostic technologies [J]. *Chin J Chromatogr(色谱)*, 2011, 29(4): 284-292.
- [18] BRUCH R, CHATELLE C, KLING A, et al. Clinical on-site monitoring of β -lactam antibiotics for a personalized antibiotherapy [J]. *Sci Rep*, 7(1): 3127. Doi: 10.1038/s41598-017-03338-z.
- [19] FERGUSON B S, HOGGARTH D A, MALINIAK D, et al. Real-time, aptamer-based tracking of circulating therapeutic agents in living animals [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(213): 213ra165. Doi: 10.1126/scitranslmed.3007095.
- [20] XU X, YE Z Z, WU J, et al. Application and research development of surface plasmon resonance-based immunosensors for protein detection [J]. *Chin J Anal Chem(分析化学)*, 2010, 38(7): 1052-1059
- [21] ZHENG R S, LU Y H, LIN K Q, et al. Recent progress of research on surface plasmon resonance sensors. [J]. *Chin J Quantum Elect(量子电子学报)*, 2008, 25(6): 657-664.
- [22] MCKEATING K S, AUBÉ A, MASSON J F. Biosensors and nanobiosensors for therapeutic drug and response monitoring [J]. *Analyst*, 2016, 141(2): 429-449.
- [23] ZHAO S S, BUKAR N, TOULOUSE J L, et al. Miniature multi-channel SPR instrument for methotrexate monitoring in clinical samples [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015(64): 664-670.
- [24] LOSOYA-LEAL A, ESTEVEZ M C, MARTÍNEZ-CHAPA S O, et al. Design of a surface plasmon resonance immunoassay for therapeutic drug monitoring of amikacin [J]. *Talanta*, 2015(141): 253-258.
- [25] TOISHI Y, TSUNODA N, KUME K, et al. PATHFAST, a novel chemiluminescent enzyme immunoassay for measuring estradiol in equine whole blood and serum [J]. *J Reprod Dev*, 2016, 62(6): 631-634.
- [26] GRISS R, SCHENA A, REYMOND L, et al. Bioluminescent sensor proteins for point-of-care therapeutic drug monitoring [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(7): 598-603.
- [27] VAN ROSMALEN M, NI Y, VERVOORT D F M, et al. Dual-color bioluminescent sensor proteins for therapeutic drug monitoring of antitumor antibodies [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(5): 3592-3599.
- [28] QIN L, LIU ZH M, ZOU X Y. Research evolvement of electrochemical biosensor [J]. *Chin J Med Phys(中国医学物理学杂志)*, 2007(1): 60-62, 35.
- [29] EL HARRAD L, BOURAIS I, MOHAMMADI H, et al. Recent advances in electrochemical biosensors based on enzyme inhibition for clinical and pharmaceutical applications [J]. *Sensors*, 2018, 18(2): 164. Doi: 10.3390/s18010164.
- [30] ALVAU M D, TARTAGGIA S, MENEGHELLO A, et al. Enzyme-based electrochemical biosensor for therapeutic drug monitoring of anticancer drug irinotecan [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(10): 6012-6019.
- [31] WIEDMAN G R, ZHAO Y, MUSTAEV A, et al. An aptamer-based biosensor for the azole class of antifungal drugs [J]. *mSphere*, 2017, 2(4): 1-10.

收稿日期: 2019-10-24
(本文责编: 沈倩)