

# 基于质控图联合 Westgard 多规则理论的替考拉宁血药浓度监测的室内质控评估

唐原君<sup>1</sup>, 陈明<sup>1</sup>, 范国荣<sup>1</sup> (1. 上海交通大学附属第一人民医院临床药学科, 上海 200080)

**[摘要]** **目的** 应用质控图联合 Westgard 多规则法评估替考拉宁血药浓度监测的室内质量控制, 提高治疗药物监测质量。**方法** 回顾性统计 2019 年 1~6 月 62 组替考拉宁高、中、低浓度的随行质控品的实测浓度, 分别绘制 Levey-Jennings 质控图和 Z-分数质控图, 采用 Westgard 多规则理论进行室内质量控制的评估。**结果** 替考拉宁低、中、高室内质控的日内和日间 RSD 分别为 1.92%~3.81%和 2.84~3.83%, 回收率分别为 105.42%~106.97%和 102.98%~105.33%, 符合生物样品检测的要求。绘制的 Levey-Jennings 质控图和 Z-分数质控图通过 Westgard 多规则法评估显示, 低、中、高浓度质控血浆样品均未出现失控, 替考拉宁治疗药物监测结果准确可靠。**结论** 建立的替考拉宁血药浓度监测室内质量控制体系, 具有较好的精密度和准确性, 对提高临床用药的安全合理性具有重要意义。

**[关键词]** 替考拉宁; 质控图; Westgard 多规则理论; 治疗药物监测; 室内质控

**Indoor quality control evaluation of Teicoplanin blood concentration monitoring based on quality control chart combined with Westgard multi-rule theory**

TANG Yuan Jun<sup>1</sup>, CHEN Ming<sup>1</sup>, FAN Guo Rong<sup>1</sup>(1.Department of Clinical Pharmacy, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080)

**[Abstract]** **Objective** In order to improve the quality of therapeutic drug monitoring, the indoor quality control of Teicoplanin blood concentration monitoring was evaluated with Westgard multi-rule theory based on the quality control chart. **Method** The actual concentrations of 62 groups of accompanying quality control samples with high, medium and low concentrations of Teicoplanin from January to June in 2019 were retrospectively disposed. To evaluate the internal quality control, Westgard multi-rule theory was applied on analyzing Levey-Jennings quality control charts and Z-score quality control chart. **Results** The intra day RSD of Teicoplanin was 1.92%~3.81%, the inter day RSD was 2.84~3.83%, and the recovery rates were respectively 105.42%~106.97% and 102.98%~105.33%, which meet the requirements of biological sample determination. Levey-Jennings control charts and Z-score control chart was evaluated by Westgard multi-rule theory, and there was no loss of control in low, medium, and high concentration quality control plasma samples, which shows the results of Teicoplanin were accurate and reliable.

**Conclusion** The internal quality control system of therapeutic drug monitoring of Teicoplanin is of good sensation and accuracy, which is of great significance to improve the safety and rationality of clinical medication.

**Key words:** Teicoplanin; quality control chart; Westgard multi-rule theory; therapeutic drug monitoring; indoor quality control

## 0 引言

替考拉宁( Teicoplanin, TEC) , 又称肽可霉素,由游动放线菌属发酵产生。其作用机制与万古霉素相似, 与细菌细胞壁肽聚糖前体分子结合, 抑制细胞壁的合成, 从而抑制或杀灭细菌<sup>[1-2]</sup>。研究表明, TEC 的的抑菌效应与其达到最低抑菌浓度和抗菌后效应有关, 提示了 TEC 血药浓度监测的重要意义<sup>[3-4]</sup>。TEC 药品说明书 2018 版也指出在完成负荷剂量治疗方案后, 在稳态时监测 TEC 浓度, 有助于确保达到最低血清谷浓度, 表明 TEC 血药浓度监测的必要性已经得到共识<sup>[5]</sup>。替考拉宁为糖肽类抗生素, 主要由 5 个结构类似的化合物组成(TA2-1、TA2-2、TA2-3、T2-4 和 TA2-5), 其中 TA2-2 为主要组分, 占各组分总含量的 40%-60%。当临床上检测浓度较低时, 会出现 TA2-1、TA2-3、T2-4 和 TA2-5 的峰检测不到, 有可能还会出现这 4 个峰和其他杂质峰达不到有效分离<sup>[6]</sup>。有文献报道采用 TA2-2 峰的峰面积定量与采用 5 种成分的峰面积加和定量, 其结果并无临床显著差异<sup>[7]</sup>。考虑以上因素, 本实验室建立了测定人血清中替考拉宁 (TA2-2 峰) 浓度的高效液相色谱法

(HPLC), 并应用于临床血药浓度监测。为保证 TEC 血药浓度监测结果的准确性和可靠性, 现对 2019 年 1 月至 2019 年 6 月期间室内质控结果进行回顾性分析, 以确保替考拉宁的血药浓度监测质量, 为临床医师使用和调整替考拉宁治疗方案提供实验室依据, 保证临床安全、有效地使用替考拉宁。

## 1 实验材料

1.1 实验仪器 SHIMADZU LC-10AD 高效液相色谱仪(SHIMADZU, 美国), 包括 LC-10AT 色谱泵, SIL-10AD 自动进样器, CTO-10AS 柱温箱, SPD-10A 检测器; HY-5 涡旋混合器 (SI 公司, 美国); Centrifuge 5804R 冷冻离心机(Eppendorf 公司, 德国); AL104-01 电子分析天平 (METTLER TOLEDO, 瑞士); CPA2250 电子分析天平 (赛多利斯, 德国); SK7200H 超声仪 (上海科导超声仪器有限公司); Hitech-Kflow 水纯化系统 (18.2M $\Omega$ ) (上海和泰仪器有限公司) 等。

1.2 实验药品与试剂 替考拉宁对照品 (纯度: 每毫克相当于 894 单位, 中国食品药品检定研究院, 批号: 130374-201002); 富马酸喹硫平对照品 (大连美仑生物技术有限公司, 批

号: N1102AS, 纯度: >98%); 磷酸二氢钠 (上海凌峰化学试剂有限公司, 分析纯); 甲醇 (Merck, HPLC 级); 乙腈 (Merck, HPLC 级); 二氯甲烷 (上海凌峰化学试剂有限公司, 分析纯); 磷酸 (分析纯); 超纯水。

## 2 方法与结果

2.1 工作溶液配制 精密称取替考拉宁标准品 20.36mg, 置于 10mL 棕色容量瓶中, 加超纯水溶解并定容, 配制成浓度为 2.036mg/mL 的标准品储备液。4°C 避光保存。精密称取喹硫平标准品 8.18mg, 置于 50mL 棕色容量瓶中, 加超纯水溶解并定容, 配制成 0.16mg/mL 内标储备液, 4 °C 避光保存。

2.2 血浆样品及质控品处理方法 人血浆样品及随行质控样品室温下解冻后, 分别取其中 400 $\mu$ L 置于一 1.5mL 塑料离心管中, 加入 50 $\mu$ L 内标工作液, 混匀, 加入 600 $\mu$ L 乙腈沉淀, 涡旋振荡 5min, 于 13000r/min 离心 5min。取上清液 900 $\mu$ L 置于另一 1.5mL Eppendorf 塑料离心管中, 加入 400 $\mu$ L 二氯甲烷, 涡旋振荡 5min, 于 13000r/min 离心 5min。取上清液 200 $\mu$ L 置于进样器中自动进样 20 $\mu$ L, 进行 LC-UV 分析。

2.3 色谱条件 分析柱: Waters Symmetry C18 色谱柱 (250mm $\times$ 4.6 mm, 5 $\mu$ m); 内标: 喹硫平; 柱温: 35°C; 流动相: 0.01mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (pH2.7)-乙腈 (76:24); 流速: 1.0mL/min; 进样量: 20 $\mu$ L; 检测波长: 240nm。典型色谱图见图 1。由图可见空白血浆在替考拉宁和喹硫平出峰处无明显杂质峰干扰, 替考拉宁和内标的保留时间分别为 8.41min 和 12.62min。

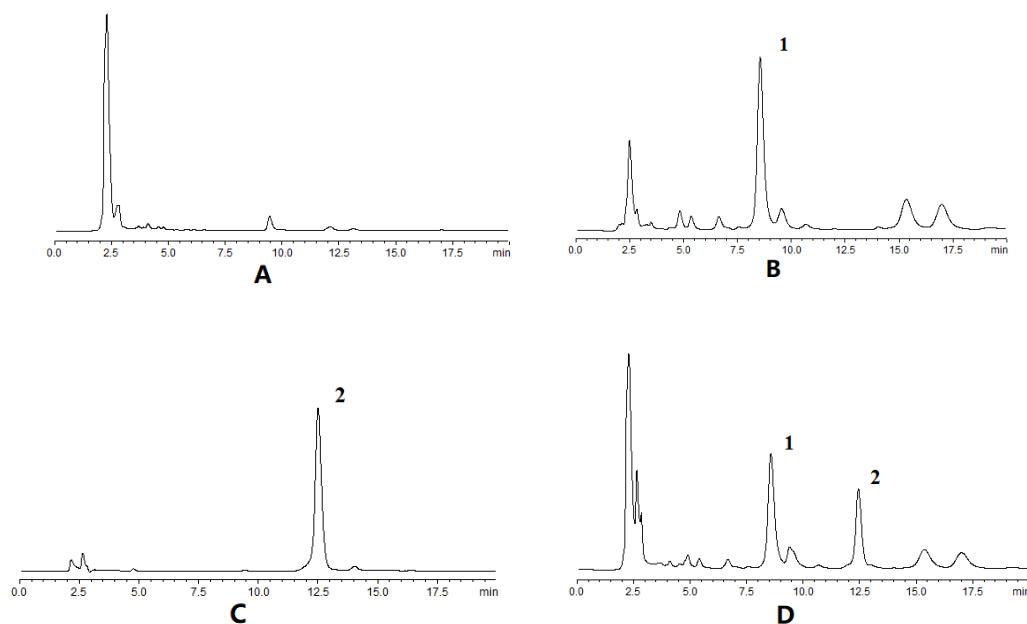


图1 人血浆中替考拉宁高效液相色谱图

注：A. 空白血浆, B. 替考拉宁对照品, C. 内标喹硫平对照品, D. 患者滴注替考拉宁达稳态后的血浆样品, 1. 替考拉宁, 2. 喹硫平

## 2.4 室内质量控制

2.4.1 线性范围评价及定量下限 (LLOQ) 配制替考拉宁浓度为 101.80mg/L、50.90mg/L、25.45mg/L、12.72mg/L、6.36mg/L、3.18mg/L 的替考拉宁血浆样品, 每一浓度各 3 份, 按“2.2 血浆样品预处理”操作, 记录替考拉宁和内标峰面积, 以替考拉宁浓度(mg/L)为横坐标, 替考拉宁 TA2-2 峰面积(A)与内标峰面积(AI)的比值 (A/AI) 为纵坐标, 采用加权最小二乘法进行两者线性回归运算, 得到标准曲线方程为  $y=0.03062x-0.01314$  ( $R^2=0.9998$ ), 结果表明, 人血浆中替考拉宁浓度在 3.18~101.80mg/L 范围内具有良好的线性关系。配制替考拉宁定量下限 3.18 mg/L 血浆样品 5 份, 按“2.2 血浆样品预处理”操作, 计算得替考拉宁定量下限信噪比大于 10, RSD 小于 2%, RE 小于 10%。

2.4.2 准确度和精密度 配制低、中、高 3 种浓度(3.77、11.31、33.93 mg/L)的替考拉宁质控样品, 每个浓度的样品平行制备 5 份, 按“2.2 血浆样品预处理”处理, 记录替考拉宁和内标峰面积。按随行标曲回归方程计算浓度, 对比求得日内精密度。连续测定 3 天, 考察方法的日间精密度。测定浓度与理论浓度对比, 求得准确度。结果见表 1。

表1 HPLC法测定替考拉宁的方法回收率和精密度

样品	理论浓度 (mg/L)	日内精密度 (n=5)			日间精密度 (n=15)		
		测出浓度 (mg/L)	相对标准偏差(%)	回收率(%)	测出浓度 (mg/L)	相对标准偏差(%)	回收率(%)
替考拉宁	3.77	3.97±0.08	1.92	105.42	3.92±0.11	2.84	103.97
(Teicoplanin	11.31	12.10±0.38	3.11	106.97	11.65±0.45	3.83	102.98
)	33.93	36.09±1.37	3.81	106.37	35.74±1.24	3.48	105.33

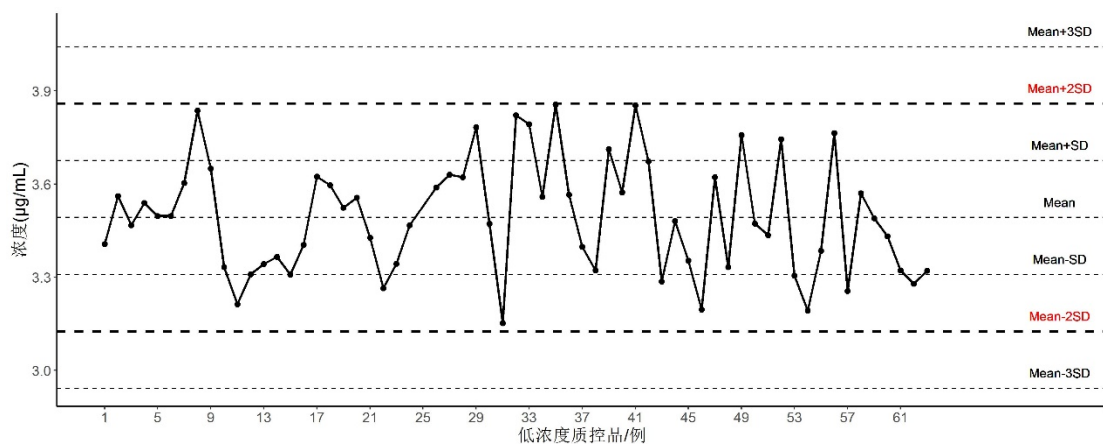
2.4.3 提取回收率评价 配制低、中、高 (L、M、H) 三个浓度的替考拉宁血浆质控样品各五份, 同时配制低、中、高 (L、M、H) 三个浓度的不含血浆质控样品各五份, 按“2.2 血浆样品预处理”处理, 记录替考拉宁和内标峰面积, 将相应浓度的替考拉宁血浆样品峰面积与不含血浆质控样品峰面积进行对比, 计算提取回收率。结果见表 1。同理, 计算内标喹硫平提取回收率为 94.82%。

2.4.4 稳定性考察 配制低、中、高 3 个浓度(3.77、11.31、33.93 mg/L)的替考拉宁质控样品各 5 份, 置于不同条件下进行稳定性考察: 冻融稳定性, 样品反复冻融 3 次; 室温稳定性, 样品室温放置 24 小时; 进样器放置 24 小时稳定性, 样品按前处理方法处理后, 在进样盘内放置 24 小时。质控样品按上述条件处理后, 以测得值与真实值比较, 偏差均小于

15%。结果表明，样品在反复冻融 3 次、室温放置 24 小时、进样器放置 24 小时条件下均稳定。

## 2.5 回顾性质量控制

2.5.1 Levey-Jennings 质控图的绘制<sup>[8]</sup> 回顾性统计 2019 年 1~6 月 62 组替考拉宁高、中、低浓度的随行质控品的实测浓度，从而对实验室质量控制进行评价。每批质控品均为在测定当日临床样本的同时，新鲜配制的随行质控样品，经血样预处理后，采用内标法[校正因子( $f$ ) =  $\frac{A_S/C_S}{A_R/C_R}$ ，含量( $c$ ) =  $f \times \frac{A_x}{A_S/C_S}$ ]，以每批低、中、高三组浓度（3.64 ug/L、10.92 ug/L、32.77 ug/L）校正因子的平均值进行数据处理，得到每批三种浓度质控品的实测浓度。计算低、中、高三种浓度质控品的实测浓度的均值( $\bar{x}$ )和标准差(SD)，从而得到低浓度（3.64 ug·mL<sup>-1</sup>）的实测值为(3.49±0.18 ug·mL<sup>-1</sup>)，中浓度（10.92 ug·mL<sup>-1</sup>）的实测值为(10.85±0.31) ug·mL<sup>-1</sup>，高浓度（32.77 ug·mL<sup>-1</sup>）的实测值为(34.68±1.79) ug·mL<sup>-1</sup>。以测定例次为横坐标，测定浓度为纵坐标， $\bar{x}$ 为靶值， $\bar{x} \pm SD$  为控制线， $\bar{x} \pm 2SD$  为警告线， $\bar{x} \pm 3SD$  为失控线，将数据划分为合格、警告、失控 3 个区域段，运用 R version 3.5.2 软件绘制 Levey-Jennings 质控图，结果见图 2。如图 2 显示，低、中、高浓度质控的测定值均未超过失控线。62 组质控品中，高浓度的实测值范围为 31.08~38.30 ug·mL<sup>-1</sup>，29 个低于靶值，33 个高于靶值。其中，第 30、55 组所测值分别为 38.30，31.08 ug·mL<sup>-1</sup>，超过 $\bar{x} \pm 2SD$ (ug·mL<sup>-1</sup>)，分别提出警告 1 次；中浓度的实测值范围为 10.12~11.52 ug·mL<sup>-1</sup>，29 个低于靶值，33 个高于靶值，第 7、14、48 组所测值分别为 10.12，10.85，10.15 ug·mL<sup>-1</sup>，超过 $\bar{x} \pm 2SD$ (ug·mL<sup>-1</sup>)，分别提出警告 1 次；低浓度的实测浓度范围为 3.15~3.86 ug·mL<sup>-1</sup>，33 个低于靶值，29 个高于靶值，均在警告范围以内。



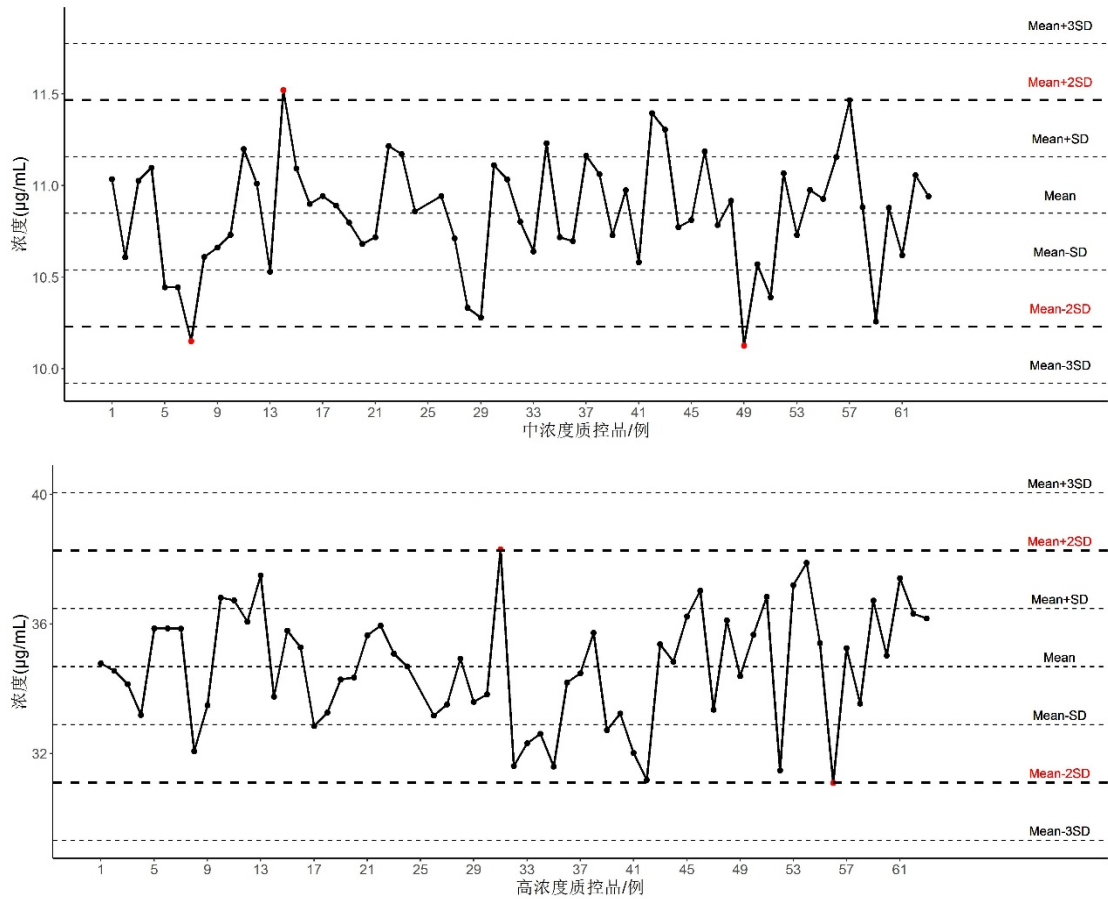


图2 替考拉宁低、中、高浓度质控品 Levey-Jennings 质控图

2.5.2 Z 分数质控图的绘制 本实验采用低、中、高不同浓度的质控品，将 3 种浓度水平的随行质控测定值转换成 Z 分数形式，运用 R version 3.5.2 软件绘制在单个质控图上进行室内质控管理，可以直观地反映存在误差的大小和性质，提高了检出误差的能力 [9]。Z 分数也叫标准分数，计算公式为  $Z=(x_i-\bar{x})/SD$ ，其中  $x_i$  为某浓度第 i 次测定值， $\bar{x}$  为同一浓度所有测定值的均值，SD 为同一浓度所有测定值的标准差。Z 分数质控图上的任何值相当于测定值远离同一浓度质控品均值标准差的倍数，不需要考虑各水平质控的浓度及标准差。在测定值低于平均值时 Z 为负数，反之则为正数。替考拉宁的 Z 分数质控图见图 3。

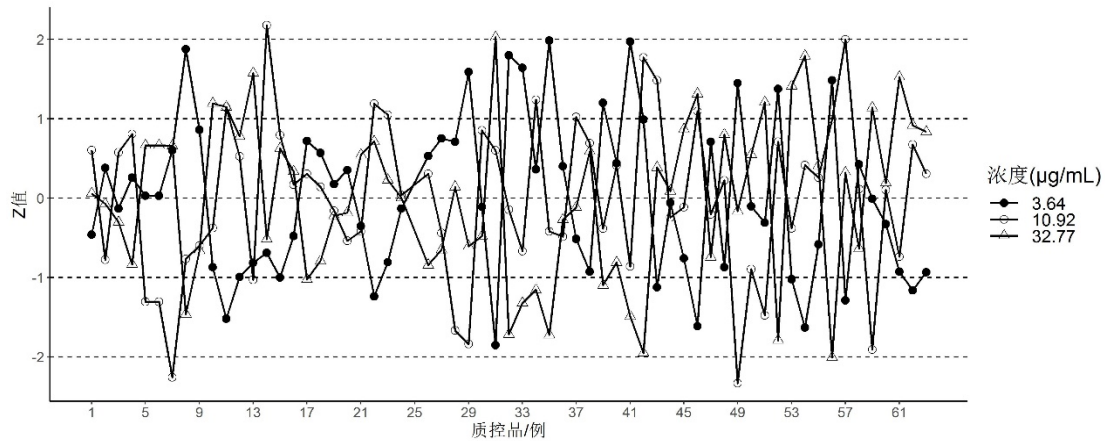


图3 替考拉宁低、中、高浓度质控品 Z-分数质控图

2.5.3 Westgard 多规则质控法则的应用 依据 Westgard 多规则理论的 6 项质控规则（即  $1_{2S}/1_{3S}/2_{2S}/R_{4S}/4_{1S}/1_{\bar{Q}}$ ），对 Levey-Jennings 质控图进行评价<sup>[10-11]</sup>。如图 2 可见，低浓度值所有测定结果均符合质控规则的要求；中浓度值第 7、14、48 组的测定结果不符合  $1_{2S}$  规则，高浓度值第 30、55 组的测定结果不符合  $1_{2S}$  规则，其余测定数据均符合质控规则的要求。提示所有质控样品均在控，可向患者发放报告。同理，依据 Westgard 多规则理论对 Z 分数质控图进行评价<sup>[12-13]</sup>。当  $Z > 2$  或  $Z < -2$  即为违反  $1_{2S}$  规则，提示警告；当  $Z > 3$  或  $Z < -3$  即为违反  $1_{3S}$  规则，连续 2 个  $Z > 2$  或  $Z < -2$  即违反  $2_{2S}$  规则，连续两个 Z 之间的差值大于 4，即违反  $R_{4S}$  规则，连续 10 次  $Z > 0$  或  $Z < 0$  即违反  $1_{\bar{Q}}$  规则，以上违反  $1_{3S}/2_{2S}/R_{4S}/4_{1S}/1_{\bar{Q}}$  规则，均提示失控。如图 3 可见，第 7、14、48 批中浓度违反  $1_{2S}$  规则，第 30、55 批高浓度违反  $1_{2S}$  规则，提出警告 5 次，但均未失控。所得结果与 Levey-Jennings 质控图保持一致。

### 3 讨论

治疗药物浓度监测对于临床合理用药、减少不良反应的发生具有重要意义，而测定结果的准确性和稳定性是制定个体化给药方案重要前提<sup>[14]</sup>。室内质控是保证临床实验室发出高质量报告的基本要求。根据我国颁发的《临床实验室质量管理办法》中要求，室内质量控制为检验人员按照一定的频度连续测定稳定样品中的特定组分，并采用一系列方法进行分析，按照统计学规律推断和评价本批次测量结果的可靠程度，以此判断检验报告是否可发出，及时发现并排除质量环节中的不满意因素<sup>[15]</sup>。目前，大多数药学人员开展治疗药物浓度监测工作尚未执行统一质量控制标准，国内外 HPLC 监测血药浓度的室内质量控制研究尚不完善，且所用质控品均为自行配制。关于替考拉宁血药浓度监测的室内质控研究尚未见报道，因此，本研究在已有实验室条件下，对 HPLC 法测定替考拉宁血药浓度的室内

质量控制评价体系进行了相关探索。

在质控方案的设计中，单个控制规则不可能对随机误差和系统误差都有很高的灵敏度，也不可能兼顾高的误差发生和低的假失控概率，因此最理想的是采用 Westgard 多规则质控方法，临床上常用  $1_{2S}$ 、 $1_{3S}$ 、 $2_{2S}$ 、 $R_{4S}$ 、 $4_{1S}$  和  $1_{\bar{X}}$  6 条规则，其中  $1_{3S}$  和  $R_{4S}$  主要反映随机误差， $2_{2S}$ 、 $4_{1S}$  和  $1_{\bar{X}}$  主要反映系统误差，这些规则的组合对随机误差和系统误差均敏感，提高了误差检出率<sup>[16-17]</sup>。本研究绘制 Levey-Jennings 图和 Z 分数质控图对 2019 年 1~6 月替考拉宁 62 组低、中、高三种浓度的室内质控样品进行回顾性分析，并运用 Westgard 多规则法对测定结果进行评估。根据 Westgard 多规则质控流程，综合 Levey-Jennings 质控图和 Z 分数质控图，当违反  $1_{2S}$  规则时，则继续进行  $1_{3S}/2_{2S}/R_{4S}/4_{1S}/1_{\bar{X}}$  质量控制规则的程序检测。从图 3 可知，本实验室 2019 年 1~6 月随行测定低、中、高 62 组质控样品浓度都在可控范围，但有 5 个批次质控品违反  $1_{2S}$  规则，触发警报。继续进行  $1_{3S}/2_{2S}/R_{4S}/4_{1S}/1_{\bar{X}}$  质量控制规则的程序检测，结果显示本实验室 2019 年 1~6 月随行测定低、中、高 62 组质控样品浓度基本都在可控范围，未产生随机误差或系统误差。

室内质量控制活动中经常使用 Levey-Jennings 图和 Z 分数质控图来监测检测结果的误差是否在可接受的范围。Levey-Jennings 质控图主要用于同一浓度水平质控品的精密度比较，但不适用于判断准确度；而 Z 分数质控图可以将不同浓度水平质控品进行标准化后绘制在同一张质控图上，通过单值质控图连续评价实验室的质量控制能力<sup>[18-19]</sup>。观察上述质控图，可以看出 Z 分数质控图的低、中、高浓度质控品测定值在不同时间点的变化趋势与 Levey-Jennings 质控图保持一致。将 Levey-Jennings 质控图与 Z 分数质控图联合 Westgard 多规则理论可以降低假失控和假报警率，从而呈现室内质控的准确性。

本文通过 Levey-Jennings 图和 Z 分数质控图能客观显示替考拉宁血药浓度监测的室内质控分析结果均在误差允许范围内，保证了血药浓度测定的准确性和可靠性，具有较好的临床指导意义。本实验室在日常治疗药物浓度监测工作中通过及时绘制质控图进行监测，可以及时发现质控测定中出现的漂移、趋势性变化、失控等问题，也可及时发现影响测定结果准确性的潜在因素。有助于实验人员判断误差类型及排除误差原因，增加血药浓度监测结果的可靠性。

#### 参考文献:

- [1] Wilson A P. Clinical pharmacokinetics of teicoplanin[J]. Clin Pharmacokinet, 2000, 39 (3) :167-183.
- [2] Uhart M, Leroy B, Michaud A, et al. Inter-individual and intra-individual pharmacokinetic during teicoplanin



- therapy in geriatric patients[J].*Med Mal Infect*, 2013, 43 (7) :295-298.
- [3] KENSHI T,HIROAKI Y,YOSHITO Z,et al.Evaluation of factors associated with the achievement of an optimal teicoplanin trough concentration[J].*Int J Clin Pharmacol Ther*,2017,55(8):672-677.
- [4] Ramos-Martin V, Johnson A, McEntee L, et al.Pharmacodynamics of teicoplanin against MRSA[J].*J Antimicrob Chemother*, 2017, 72 (12) :3382-3389.
- [5] 注射用替考拉宁说明书 (他格适) [Z].2009年7月7日核准,2019年6月14日修改.
- [6] Wang XX, Jin PF, Li PM, et al. Interlaboratory analysis of teicoplanin plasma concentration assays among Chinese laboratories[J]. *J Clin Pharm Ther*.2020;10.1111
- [7] 何勳, 刘嘉, 周丽娟. 反相高效液相色谱法测定人血清中替考拉宁的浓度及其应用[J]. *中国医院药学杂志*, 2017,37(12):1163-1166.
- [8] 段雯婷,王荔,杨祖群,李随容,罗琼,刘晓,代珍雨.Levey-Jennings 质控图在医院感染病例监测中的应用[J]. *儿科药学杂志*,2017,23(10):44-46.
- [9] 季晓东,邱毅,刘毅菊,等.Z 分数质控图联合变异指数分数得分在本院室间质量评价中的应用[J].*中国卫生检验杂志*,2020,30(10):1263-1265+1268.
- [10] Oosterhuis WP, Bayat H, Armbruster D, et al. The use of error and uncertainty methods in the medical laboratory[J]. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(2):209-219.
- [11] 郝堂娜, 孙玲, 李镇,等. 他克莫司血药浓度监测中质控分析评价[J]. *实用药物与临床*, 2012(09):45-47.
- [12] Harel O, Schisterman EF, Vexler A, et al. Monitoring quality control: can we get better data? [J]. *Epidemiology*. 2008;19(4):621-627.
- [13] 李莎,伍洋科,颜笑,等.应用 Westgard 多规则理论评估万古霉素血药浓度监测的室内质控[J].*中国医院药学杂志*,2018,38(23):2425-2428.
- [14] 沈琮,陈文倩,张相林.替考拉宁治疗药物监测进展[J].*中国医院用药评价与分析*,2019,19(07):890-894+896.
- [15] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床检验定量测定室内质量控制: WS/T641-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [16] Varela B , Pacheco G . Comprehensive evaluation of the internal and external quality control to redefine analytical quality goals[J]. *Biochemia Medica*, 2018; 28(2): 020710.
- [17] LOCK R J. My approach to internal quality control in a clinical immunology laboratory [J]. *J Clin Pathol*, 2016, 59(7):681-684.
- [18] 温冬梅, 张秀明, 王伟佳, 等. Westgard 方法决定图在检测系统分析性能评价中的应用[J]. *实验与*

检验医学, 2010, 28(3):205-208.

[19] 吴宗勇,刘秋颖,李佳,齐军.Z分数质控图在室间质量评价报告总结中的应用[J].检验医学与临床, 2018,15(09):1239-1240+1244.