

心脏移植患者磺胺甲噁唑血药浓度快速检测分析方法的构建及临床应用

王高彪, 张寒娟, 陈永妍, 韩文超, 丁蕊, 袁冬冬* (郑州市第七人民医院药学部, 郑州 450016)

摘要: 目的 探索建立心脏移植患者磺胺甲噁唑血药浓度分析方法, 以指导临床合理用药。方法 采用柱切换技术的新型二维液相色谱仪(2D-LC-UV), 使用一维色谱柱 Aston SC2(3.5 mm×25 mm, 5 μm)对血浆中磺胺甲噁唑进行在线固相萃取, 然后经中间柱 Aston SBR(3.5 mm×10 mm, 5 μm)截取保留, 随后转移至第二维色谱柱 Aston SNX4(4.6 mm×130 mm, 5 μm)对目标分析物进行完全分离检测。色谱条件: 一维流动相为乙腈-甲醇-水(10:10:70), 流速 0.8 mL·min⁻¹; 二维流动相比例为 BPI-1 碱性移动相-API-3 酸性移动相-甲醇(20:40:40), 流速为 1.2 mL·min⁻¹; 紫外检测波长为 240 nm。结果 磺胺甲噁唑浓度在 9.96~200.04 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系(相关系数 $R^2=0.999\ 6$); 低、中、高 3 个浓度的日内和日间精密度 RSD 均<15%、相对回收率为 85%~115%。对在院 56 例患者血药浓度进行测定, 仅有 30 例(53.57%)患者血样磺胺甲噁唑浓度为 100~150 μg·mL⁻¹, 其余均不满足浓度治疗窗; 泌尿系统/血液系统/肝脏等发生 III~IV 级不良反应为 0 例。结论 本方法前处理简单, 自动化程度高, 可大体积进样, 准确度、灵敏度高, 能够满足临床应用, 研究结果可为临床治疗药物监测提供方法学参考。

关键词: 磺胺甲噁唑; 二维液相色谱; 大体积; 血药浓度检测; 合理用药

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2023)13-1853-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222342

引用本文: 王高彪, 张寒娟, 陈永妍, 等. 心脏移植患者磺胺甲噁唑血药浓度快速检测分析方法的构建及临床应用[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(13): 1853-1857.

Construction and Clinical Application of An Analytical Method for Rapidly Detecting Sulfamethoxazole Plasma Concentration in Heart Transplant Patients

WANG Gaobiao, ZHANG Hanjuan, CHEN Yongyan, HAN Wenchao, DING Rui, YUAN Dongdong* (Department of Pharmacy, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou 450016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore and establish an analysis method for sulfamethoxazole blood concentration in patients with heart transplantation to guide clinical rational drug use. **METHODS** A new two-dimensional liquid chromatograph (2D-LC-UV) based on column switching technology was used. The on-line solid-phase extraction of sulfamethoxazole in serum was performed using a one-dimensional column Aston SC2(3.5 mm×25 mm, 5 μm), then it was intercepted and retained through the middle column Aston SBR(3.5 mm×10 mm, 5 μm), and the target analytes were completely separated and detected by transfer to the second-dimension column Aston SNX4(4.6 mm×130 mm, 5 μm). The chromatographic conditions were obtained by optimization. The one-dimensional mobile phase was acetonitrile-methanol-H₂O(10:10:70), the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹; the two-dimensional mobile phase ratio was BPI-1 basic mobile phase-API-3 acidic mobile phase-methanol(20:40:40) the flow rate was 1.2 mL·min⁻¹. The UV detection wavelength was 240 nm. **RESULTS** The correlation coefficient between the concentration of sulfamethoxazole and peak area was in the range of 9.96~200.04 μg·mL⁻¹ with $R^2=0.999\ 6$, it showed a good linear relationship. The intra-day and inter-day precisions(RSD) at low, medium and high concentrations were <15%, and the relative recoveries were between 85%~115%. The blood concentration of 56 patients in the hospital was measured, and only 30 patients(53.57%) had the blood sample sulfamethoxazole concentration of 100~150 μg·mL⁻¹, and the rest were not comfortable about the concentration treatment window; there were 0 cases of grade III-IV adverse reactions in the urinary system/blood system/liver, etc. **CONCLUSION** This method has a simple pre-treatment, high automation, can be sampled in large volumes, and has high accuracy and sensitivity. It can meet the requirements of clinical applications. The research results can provide a methodological reference for clinical therapeutic drug monitoring..

KEYWORDS: sulfamethoxazole; two-dimensional liquid chromatography; large volume; blood concentration monitoring; rational administration of drug

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建立项项目(LHGJ20200732, LHGJ20220851)

作者简介: 王高彪,男,主管药师

E-mail: 381840221@qq.com

*通信作者: 袁冬冬,男,硕士,副主任药师

E-mail: 44676878@qq.com

心脏移植是终末期心脏病最有效的治疗手段，由于术后应用大量的免疫抑制剂，移植后受体极易发生感染^[1]。其中，耶氏肺孢子菌病是重要的感染性并发症之一，发病率为 5%~15%^[2]。一旦感染，病情进展迅速，最终导致肺纤维化呼吸衰竭，若不及时治疗，死亡率可达 100%^[3]。因此，临床治疗中一旦确诊为耶氏肺孢子菌病，就应及时、足量给予磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole, SMZ)与甲氧苄啶的复方制剂进行治疗^[4]。临床研究表明，对于感染耶氏肺孢子菌病的治疗需要 SMZ 血药峰浓度维持在 100~150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[5-6]，但是，随着 SMZ 峰浓度升高(尤其>200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时)，其肝毒性及血液系统不良反应发生率明显增高，严重者可导致临床暂停使用 SMZ^[7]。因此，为了临床应用 SMZ 更加有效和安全，对其开展血药浓度检测非常必要^[7-8]。

高效液相二维色谱技术前处理简单，分析成本低廉，且具有传统 HPLC 的优点，鉴于此，本研究采用柱切换的高效液相二维色谱技术[新型二维液相色谱仪(2D-LC-UV)]，探索建立 SMZ 血药浓度的一种新分析方法，旨在实现对人血浆的快速纯化分离和 SMZ 浓度的准确测定，以期应用于临床，指导合理用药。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

二维液相色谱仪(2D-LC/UV)包括 FLC 2420 全自动二维液相色谱耦合仪(湖南德米特仪器有限公司)、岛津 LC20AT 液相色谱部分[SIL-20A 自动进样器、DGU-20A 真空脱气机、LC20AT 溶液传输单元(泵)和 SPD-M20A 二极管阵列检测器]；XW-80A 旋涡混合器(上海琪特分析仪器有限公司)；Mini-15K 微型高速离心机(杭州奥盛仪器有限公司)；TDZ4-WS 低速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.2 试剂

SMZ 对照品(湖南德米特仪器有限公司，批号：20210901；纯度：98%)；BPI-1 碱性移动相、API-3 酸性移动相、甲醇和乙腈(色谱级)均购于湖南德米特仪器有限公司；实验用水为纯水。

表 1 磺胺甲噁唑的色谱条件

Tab. 1 Chromatographic conditions of sulfamethoxazole

分析程序	t/min	色谱柱	流动相组成	流速/ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$
目标物在第一维在线萃取过程	0~2.0	Aston SC2(3.5 mm×25 mm, 5 μm)	一维流动相	0.8
目标物经中间柱截留、转移至第二维过程	2.0~4.7	Aston SBR(3.5 mm×10 mm, 5 μm)	一维流动相	0.8
目标物第二维色谱分离过程	4.7~11.5	Aston SNX4(4.6 mm×130 mm, 5 μm)	二维流动相	1.2

1.3 血液样品来源

56 例血液样品来自临床用药患者，其测试结果用于验证本方法解决临床问题能力的方案，经郑州市第七人民医院医学伦理委员会批准(项目编号：ZZSDQRMYY-2022-005)进行，所有患者知情并同意参与。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

精密称取 SMZ 对照品 200.0 mg，使用甲醇溶解后，定容至 100.0 mL，得到浓度为 2.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 SMZ 储备液。存放于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中备用。

2.2 样品前处理程序

将血液样品置于低速离心机中，1 238×g 离心 5 min；将得到的上层血浆 400 μL 加入盛有 1 000 μL 甲醇去蛋白剂的 EP 管中，涡旋混匀后，置于高速离心机中，14 000×g 离心 8 min；然后将离心好的上清液 1 000 μL 加入进样瓶中，等待进样分析。

2.3 色谱条件

色谱柱的选择：一维色谱柱柱 Aston SC2 (3.5 mm×25 mm, 5 μm)，中间柱 Aston SBR (3.5 mm×10 mm, 5 μm)，二维色谱柱 Aston SNX4 (4.6 mm×130 mm, 5 μm)。

一维流动相为乙腈：甲醇：水=10：10：70，流速为 0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

二维流动相为 BPI-1 碱性移动相[水(含 20.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸铵，三乙胺调 pH=7.2)]：API-3 酸性移动相[水(含 20.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸铵，磷酸调 pH=3.0)]：甲醇=20：40：40，流速为 1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

流动相洗脱方式：等度洗脱。

紫外检测波长为 240 nm，柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量为 80 μL ，具体色谱程序见表 1。

2.4 方法专属性

在优化后的色谱条件下，分别对 SMZ 对照品溶液、服用复方磺胺甲噁唑片患者的血浆和空白血浆进行测定，结果见图 1。SMZ 出峰时间为 7.77 min，并且血浆内源性基质不干扰其准确定性，说明本方法专属性良好。

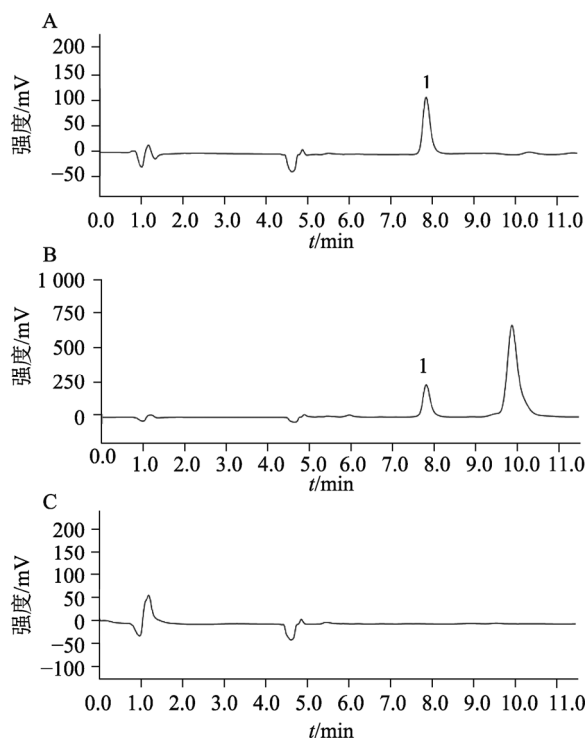


图1 专属性试验

A-对照品溶液; B-血浆样品; C-空白血浆; 1-磺胺甲噁唑。

Fig. 1 Specificity test

A-standard solution; B-serum sample; C-blank serum; 1-sulfamethoxazole.

2.5 基质效应

分别配制浓度为 $28.81 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ SMZ 对照品溶液和 $28.81 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 SMZ 加标血浆溶液(各 3 个平行样本), 按“2.2”项下方法处理后进行分析检测(进样量 $80 \mu\text{L}$), 计算加标血浆溶液的峰面积与对照品溶液的峰面积比值来评估方法的基质效应。结果表明, 基质效应 $>96\%$, 说明血浆样本经本方法处理, 基质效应得到了有效消除。

2.6 标准曲线和范围

将配制好的 SMZ 储备液加入空白血浆, 分别得到 $0.00, 9.96, 20.74, 43.21, 72.01, 120.02, 200.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列浓度溶液, 按“2.2”项下方法处理, 按“2.3”项下色谱条件进行检测分析。以 SMZ 的浓度(X)为自变量、峰面积(Y)为因变量, 得到 SMZ 标准曲线为 $Y=32\,820X-1\,970.9$, 相关系数 R^2 为 $0.999\,6$; SMZ 线性范围为 $9.96\sim 200.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限为 $9.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.7 准确度和精密度考察

将多份配制好的 SMZ 储备液分别加入空白血浆中, 稀释得到 4 个浓度的溶液分别为定量限($9.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、低($28.81 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、中($90.02 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、

高($150.03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)质控浓度, 每个浓度各做 10 个平行样品, 按“2.2”项下方法处理血样, 4 个浓度在同日内测定 5 次, 以及单日各测 1 次, 连续测定 5 d, 计算日内和日间精密度; 并将得到的浓度平均值与对应标示值比较, 计算所建立方法的准确度。结果见表 2, 日内和日间精密度 $\text{RSD}<15\%$, 相对回收率在 $85\%\sim 115\%$, 说明方法精密度和准确度良好, 定量下限为 $9.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($S/N=10$)。

表2 方法回收率及日内/间精密度

Tab. 2 Method recovery rate and intra-day or inter-day accuracy

浓度水平/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内精密度($n=5$)			日间精密度($n=5$)		
	测定值/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %	回收率/ %	测定值/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %	回收率/ %
定量限 (9.96)	10.31 ± 0.69	6.68	103.55	9.88 ± 0.90	9.10	99.24
低(28.81)	27.77 ± 2.50	8.99	96.39	27.00 ± 2.36	8.77	93.70
中(90.02)	93.07 ± 5.94	6.38	103.4	98.85 ± 6.26	6.33	109.90
高(150.03)	156.91 ± 4.32	2.76	104.6	141.45 ± 7.71	5.45	94.30

2.8 稀释可靠性和残留效应

将配制好的 SMZ 储备液加入空白血浆, 稀释得到空白样品($0.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 定量下限($9.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 高浓度样品($200.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)浓度溶液各 5 份备用。依据中国药典 2020 年版四部 9012 操作标准, 测定稀释可靠性和残留效应。按“2.2”项下方法处理, 并按“2.3”项下色谱条件进行分析。

对 5 份高浓度溶液进行稀释可靠性分析, 结果 5 个测定值准确性为(102.32 ± 2.70)%, 精密度为 2.62% , 稀释可靠性符合要求($\pm 15\%$ 之内)。

通过在注射高浓度样品之后, 注射空白样品来估计残留, 5 次空白样品中的残留不超过定量下限的 20% , 残留效应符合要求。并且经过验证, 当高浓度样品后进一步空针, 再测试空白样品, 即可消除残留效应, 该措施可进一步确保方法的准确度和精密度。

2.9 稳定性考察

取“2.7”项下低、高浓度溶液, 常温放置 24 h, -20°C 保存 30 d 后, 反复冻融 5 次, 按“2.2”项下方法处理并进行分析测试, 结果见表 3。结果表明, SMZ 样品在上述条件下准确性($\pm 11\%$ 以内)和精密度($\pm 10\%$ 以内)符合要求, 稳定性良好。

表 3 稳定性试验

Tab. 3 Test of stability

测试条件	实际浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	测定浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	准确性/ %	测定浓度 RSD/%
常温 24 h	28.81	28.34 $\pm$ 2.43	98.00 $\pm$ 8.44	8.73
	150.03	160.66 $\pm$ 4.47	107.09 $\pm$ 2.98	2.53
-20 $^{\circ}\text{C}$ 30 d	28.81	28.40 $\pm$ 3.15	98.59 $\pm$ 10.94	9.97
	150.03	155.12 $\pm$ 9.73	103.40 $\pm$ 6.48	5.31
反复冻融 5 次	28.81	29.27 $\pm$ 1.30	101.60 $\pm$ 4.51	4.44
	150.03	148.80 $\pm$ 6.56	99.18 $\pm$ 4.37	4.41

3 SMZ 血药浓度检测

收集经宏基因检测确诊为耶氏肺孢子菌感染并服用复方磺胺甲噁唑片治疗的患者血浆样本 56 份^[9], 使用本方法检测 SMZ 血药浓度。患者按照说明书推荐给药剂量给药, 并根据肌酐清除率做相应剂量调整^[10], 要求服用复方磺胺甲噁唑片 3 d 后, 于服药后 2~3 h 用 EDTA 抗凝管采血, 2 h 内送达实验室。血样按“2.2”项下方法处理后, 测定 SMZ 血药的峰浓度, 观察真实世界 SMZ 给药情况和浓度, 结果见表 4。

表 4 临床样本的测定结果

Tab. 4 Results of clinical samples

样本 编号	肌酐清除率/ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	校正日剂量/ g	推荐剂量 1, 非推荐剂量 0	样本 编号	肌酐清除率/ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	校正日剂量/ g	推荐剂量 1, 非推荐剂量 0
1	87.92	41.76	1.6	0	30	84.52	118.99	3.2	0
2	78.22	44.10	2.4	0	31	98.04	122.33	3.2	0
3	31.17	54.14	1.6	0	32	87.28	124.81	3.2	0
4	69.26	57.71	3.2	0	33	67.46	126.26	2.4	0
5	12.76	59.29	3.2	0	34	61.46	127.74	3.6	0
6	66.27	61.92	1.6	0	35	87.28	129.39	3.2	0
7	27.11	65.85	3.2	0	36	89.06	129.53	3.6	0
9	75.55	73.50	2.4	0	37	65.28	130.27	2.4	0
10	14.28	74.34	3.2	0	38	100.70	137.24	1.6	0
11	51.03	76.80	2.4	0	39	56.23	139.26	3.2	0
12	63.07	79.60	2.4	0	40	49.87	144.13	2.4	0
13	89.14	80.00	2.4	0	41	42.41	150.00	3.6	0
14	77.62	81.11	2.4	0	42	51.94	161.96	3.6	0
16	44.38	82.78	3.2	0	43	92.91	230.30	2.4	0
17	67.80	85.88	3.2	0	44	68.20	47.26	4.8	1
18	63.19	90.64	2.4	0	45	14.24	69.12	4.8	1
19	14.78	94.73	3.2	0	46	14.95	76.09	4.8	1
20	66.12	96.95	3.2	0	47	28.48	81.66	4.8	1
21	91.62	101.63	2.4	0	48	21.15	97.20	4.8	1
22	63.34	101.77	2.4	0	49	98.63	99.04	4.8	1
23	34.26	102.91	2.4	0	50	17.86	103.74	4.8	1
24	92.06	105.38	3.2	0	51	15.46	112.89	4.8	1
25	51.66	105.63	2.4	0	52	18.91	118.50	4.8	1
26	52.43	107.08	1.6	0	53	92.91	131.30	4.8	1
27	76.59	107.59	3.2	0	54	90.30	139.56	4.8	1
28	68.20	114.91	1.2	0	55	67.48	148.49	4.8	1
29	89.14	116.38	2.4	0	56	18.19	171.80	6.4	1

根据耶氏肺孢子菌的治疗需求, SMZ 峰浓度需要在 100~150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间, 结果显示: ①能够按照说明书推荐给药剂量给药的样本数为 13 例, 占 23.21%(13/56); ②满足治疗需求的样本量分别为 30, 占 53.57%(30/56); ③1 例浓度在 150~200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 占 1.79%(1/56)。导致泌尿系统/血液系统/肝脏等发生 III~IV 级不良反应 0 例。结果表明, 临床应用 SMZ 治疗耶氏肺孢子菌感染时, 有必要对 SMZ 进行常规血药浓度监测, 为临床个体化给药提供保障。

4 讨论

目前国内报道 SMZ 浓度检测的方法^[11-16]检测上限大多 <100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 不能满足临床需求(治疗峰浓度在 100~150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[5-6])。HPLC-MS^[14-15]则成本较高, 传统 HPLC 前处理复杂^[16-17], 自动化程度较低, 操作过程复杂, 临床治疗药物检测在临床的实施困难。

笔者所在课题组在既往已报道方法的优缺点的基础上, 为克服自动化程度较低、仪器操作复

杂的缺点^[18],以满足临床需要为目的,开发了本方法。本方法利用柱切换技术的二维色谱原理,使生物样本经过一维色谱柱初步去除水溶性杂质,经过中间柱将初步分离富集的物质转移至二维分析柱,做进一步分离分析,增加分析柱使用寿命,同时增加分离分析效果。实验证明,本方法回收率>90%,精密度及稳定性试验均符合方法学要求,在 9.96~200.04 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内,具有良好的线性关系($R^2=0.999\ 6$),同时,由于专属性强,不仅可以满足心脏移植患者治疗耶氏肺孢子菌感染浓度监测需求,还可以用于其他情况下 SMZ 的血药浓度监测;而且,自动化程度较高、仪器操作更简单,运行成本较低,进样量更大(误差小),色谱柱 15 min 可以平衡完毕,测定一个样本仅需 11.5 min,样品检测间不需要冲洗,极大简化了整个样品分析检测过程,能满足临床报告准确性、及时性的要求,保证血药浓度监测的实时性,克服普通高效液相色谱前处理繁琐以及试剂挥发对人体具有一定危害的问题,具有明显临床推广优势,研究结果可为临床治疗药物监测提供方法学参考。

本研究将建立好的方法应用于临床上使用 SMZ 治疗患者的血药浓度检测。按照说明书推荐给药剂量的耶氏肺孢子菌感染患者中,发现 SMZ 浓度达标率仅 53.57%。因此,提高临床治疗效果,不仅要早诊断、早治疗^[4],还需要血药浓度检测帮助临床进行个体化给药,继而改善临床结局^[5-8]。

综上,本研究采用高效液相二维色谱仪(2D-LC-UV),建立一种通过在线固相萃取富集技术,快速纯化分离分析 SMZ 血药浓度的检测方法。本方法具有前处理简单化、自动化,大体积进样,灵敏度和准确度高的优点,为临床治疗药物监测提供方法学参考。

REFERENCES

- [1] ZHANG R F, ZHAO K Y. Current situation and progress of heart transplantation[J]. J Med Res(医学研究杂志), 2008, 37(7): 4-6.
- [2] FISHMAN J A. Treatment of infection due to *Pneumocystis carinii*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(6): 1309-1314.
- [3] ZHAO T M, SHE D Y, XIE L X, et al. Clinical characteristics of *Pneumocystis pneumonia* in non-AIDS patients and approaches to diagnosis and treatment[J]. Chin J Nosocomiol (中华医院感染学杂志), 2014, 24(6): 1384-1386.
- [4] HE X Q, SHEN Y Z. Research progress in the diagnosis and treatment of *Pneumocystis pneumonia*[J]. Chin J Mycol(中国真菌学杂志), 2018, 13(4): 247-251.
- [5] BROWN G R. Cotrimoxazole - optimal dosing in the critically ill[J]. Ann Intensive Care, 2014(4): 13.
- [6] 复方磺胺甲噁唑片说明 B[Z]山东新华制药股份有限公司, 2021.
- [7] STEVENS R C, LAIZURE S C, WILLIAMS C L, et al. Pharmacokinetics and adverse effects of 20-mg/kg/day trimethoprim and 100-mg/kg/day sulfamethoxazole in healthy adult subjects[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1991, 35(9): 1884-1890.
- [8] CARMONA E M, LIMPER A H. Update on the diagnosis and treatment of *Pneumocystis pneumonia*[J]. Ther Adv Respir Dis, 2011, 5(1): 41-59.
- [9] ZHANG W, SHE D Y, XIE X W, et al. The application of next-generation sequencing in the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* in non-HIV infected patients[J]. Chin J Tuberc Respir Dis(中华结核和呼吸杂志), 2020, 43(10): 844-849.
- [10] JAY P. Sanford. 桑福德抗微生物治疗指南[M]. 范洪伟, 译. 北京: 中国协和医科大学出版社, 50 版, 2021.
- [11] 丁晨光, 郑学锋, 钟红玲, 等. HPLC 法测定人体血浆中 SMZ 和 TMP 的浓度[J]. 中国药事, 1997, 11(6): 48-49.
- [12] LIAO F L, SONG X K. Determination of the main components in compound sulfamethoxazole tablets by HPLC[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2005, 16(12): 1212-1213.
- [13] ZHAO Z L, TAN J F, ZHUO H T, et al. Pharmacokinetics and relative bioavailability of co trimexazole in healthy volunteers[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2000, 35(4): 257-259.
- [14] FENG S Y, CHEN Z, CAI L R, et al. Pharmacokinetics and bioequivalence of compound sulfamethoxazole tablets in Chinese healthy volunteers[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(16): 2019-2024.
- [15] ZHENG H, DING S P. Determination of sulfamethoxazole and trimethoprim concentration in human plasma by HPLC-MS/MS[J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2020, 36(18): 2901-2904, 2935.
- [16] SHAO J, MAO F F, TU X D. Studies on the dissolution and bioavailability of trimethoprim-sulfadiazine-sulfamethoxazole tablets[J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 1992, 27(5): 375-380.
- [17] LUO X M, XU Y, HE X X, et al. Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in human plasma in patients with *Pneumocystis carinii* pneumonia by HPLC- DAD[J]. Clin Med J(临床药物治疗杂志), 2016, 14(5): 24-28.
- [18] 中国药理学治疗药物监测研究专业委员会, 中国药学会医药生物分析专业委员会, 中国科学院大连化学物理研究所. 色谱技术用于治疗药物监测质量控制的专家共识(2021 版)[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(17): 1443-1448.

收稿日期: 2022-07-02

(本文责编: 曹粤锋)