

论著·临床研究

HPLC-MS/MS 法在白血病患者血浆维生素 C 水平测定中的临床应用*

孙文利¹, 王欣俞², 田文君³, 李明花¹, 陈佳琦¹, 王磊¹, 张建平¹, 刘红星^{1△}

(1. 河北燕达陆道培医院, 河北廊坊 065201; 2. 河北燕达医院检验科, 河北廊坊 065201;

3. 山东省立医院临床检验医学部, 山东济南 250021)

摘要:目的 建立测定白血病患者血浆维生素 C 水平的高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS/MS)法,并应用于临床。方法 采用 HPLC-MS/MS 法, L-Ascorbic Acid-1-¹³C 为内标, XBridge[®] C18(4.6 mm×50.0 mm, 5 μm)色谱柱, 流动相为(0.1%甲酸)甲醇-(2 mmol/L 乙酸铵-0.1%甲酸)水, 梯度洗脱, 流速为 0.8 mL/min, 柱温 60 °C, 进样量 10 μL。采用电喷雾电离源, 以多反应监测(MRM)方式进行负离子检测。并对 123 份白血病患者标本及 407 份健康志愿者标本进行了检测, 测定结果用 *t* 检验进行比较分析。结果 维生素 C 的水平在 0.5~50.0 μg/mL 范围内线性关系良好($r>0.990\ 0$), 日内及日间精密度(RSD)均小于 5%, 回收率在 90%~110%; 与健康人相比, 患者体内维生素 C 水平明显偏低[(8.8±3.0) vs. (2.4±3.9) μg/mL, $P<0.01$]。结论 该方法快速、准确、灵敏度高、操作简单, 适用于临床中患者血浆中维生素 C 水平的检测。建议白血病患者应适当补充维生素 C。

关键词: 维生素 C; 高效液相色谱-串联质谱; 治疗药物监测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.07.008 中图法分类号: R969.1

文章编号:1673-4130(2019)07-0798-05

文献标识码: A

The clinical application of determination of ascorbic acid concentration
in leukemia patient plasma by HPLC-MS/MS*

SUN Wenli¹, WANG Xinyu², TIAN Wenjun³, LI Minghua¹, CHEN Jiaqi¹,WANG Lei¹, ZHANG Jianping¹, LIU Hongxing^{1△}

(1. Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang, Hebei 065201, China; 2. Department of
Clinical Laboratory, Hebei Yanda Hospital, Langfang, Hebei 065201, China; 3. Department of
Clinical Laboratory, Shangdong Province-owned Hospital, Ji'nan, Shandong 250021, China)

Abstract: **Objective** To develop a HPLC-MS/MS method for determination of ascorbic acid in leukemia patient, and make it used in clinic trial. **Methods** HPLC-MS/MS method was adopted. L-Ascorbic Acid-1-¹³C as the internal standard, the separation was performed on a XBridge[®] C18(4.6 mm×50.0 mm, 5 μm) column with a mobile phase of water(containing 2 mmol/L ammonium acetate and 0.1% formic acid and methanol(containing 0.1% formic acid) at flow rate of 0.8 mL/min and column temperature of 60 °C. The way of eluting was gradient. The injection volume was 10 μL. Mass spectrum detection method was ESI negative ion mode and multiple reaction monitoring was used. 123 leukemia patients and 407 healthy volunteers samples were monitored, and the results were analyzed by *t*-test. **Results** The standard curve of ascorbic acid was linear over the range of 0.5–50.0 μg/mL($r=0.990\ 0$). RSDs of intra- and inter-day validation were all less than 5%. The relative recovery was among the range of 90%–110%. Compared with healthy people, the concentration of vitamin C in leukemia patients was significantly lower [(8.8±3.0) vs. (2.4±3.9) μg/mL, $P<0.01$]. **Conclusion** This method is rapid, accurate, sensitivity, and simple. It was suitable for determination of ascorbic acid concentration in plasma of leukemia patients. It is suggested that leukemia patients should take vitamin C supplements appropriately.

Key words: ascorbic acid; HPLC-MS/MS; therapeutic drug monitoring

* 基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2016HP02)。

作者简介: 孙文利, 女, 药师, 主要从事临床药学方面的研究。△ 通信作者, E-mail: lhongxing@gmail.com。

本文引用格式: 孙文利, 王欣俞, 田文君, 等. HPLC-MS/MS 法在白血病患者血浆维生素 C 水平测定中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(7): 798-802.

维生素 C 又称抗坏血酸,用于治疗抗坏血病。人类自身不能合成维生素 C,只能通过食用新鲜的蔬菜、水果及药物等途径获得。维生素 C 是一种高效的抗氧化剂,大量文献研究报道维生素 C 在抵御癌症上起着重要的作用,其作用机制是维生素 C 可以阻断致癌物 N-亚硝基化合物合成,预防癌症^[1-5];还可以通过清除氧自由基保护细胞免受损伤及对肿瘤细胞的杀伤作用^[6]。维生素 C 能用来靶向并且杀灭癌症干细胞^[7],增加人体食用维生素 C 可以降低人们肺癌风险^[8],高水平的维生素 C 可以有效抑制携带 KRAS 和 BRAF 突变基因的恶性结直肠癌^[9]。此外,越来越多的证据表明维生素 C 可以促进造血干细胞死亡,用于治疗白血病^[10]。LIU 等^[11]研究发现,维生素 C 会增强地西他滨(5-aza-2'-deoxycytidine)的抗肿瘤作用,推测维生素 C 对某些恶性血液肿瘤治疗有辅助效果;砷剂联合维生素 C 治疗急性早幼粒细胞白血病具有良好的临床疗效^[12];此外,在部分白血病患者中存在 TET2 基因突变,促进白血病干细胞分化为成熟的最终会死亡的血细胞,CIMMINO 等^[13]研究证明维生素 C 具有激活 TET2 的功能从而用于白血病的治疗。未服用维生素 C 制剂的白血病患者严重缺乏维生素 C(血清维生素 C<11.4 μmol/L)^[11],因此,对于血液病患者,适当补充维生素 C 有一定治疗意义。目前,测定血液病患者体内维生素 C 水平的文献较少,且国内多采用高效液相色谱法测定维生素 C 水平^[14-17],本文建立了快速的、灵敏的、准确的超高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS/MS)法,用于测定血液病患者血浆中维生素 C 的水平,为临床上白血病患者营养及治疗上提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 主要仪器包括 Qtrap 4000 离子阱检测器(美国 AB 公司),岛津 HPLC 20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),色谱化学工作站(美国 AB 公司),Vortex-Genie2 涡旋振荡器(美国 Scientific Industries 公司),全自动高速冷冻离心机(Thermo Fisher),电子天平(瑞士 Sartorius 公司)。试剂包括维生素 C 标准品(批号:6-EOD-174-1,规格:100 mg),L-Ascorbic Acid-1-¹³C 标准品(内标,批号:4-DXX-93-1,规格:5 mg),均购自 Toronto Research Chemicals Canada;甲醇为色谱纯(Thermo Fisher),水为超纯水(屈臣氏蒸馏水),偏磷酸(批号:K11871,规格:500 mg,含量 99%)为分析纯,购自山东西亚化学工业有限公司,甲酸为色谱纯,乙酸铵为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 色谱与质谱条件 (1)色谱条件。色谱柱 XBridge® C18(4.6 mm×50.0 mm,5 μm)(Waters, Made in Ireland),流动相 A:0.1%甲酸的甲醇溶液,

流动相 B:2 mMol/L 乙酸铵-0.1%甲酸的水溶液,梯度洗脱(0.01~0.5 min,50%B→95%B;0.5~1 min,95%B 保持 0.5 min;1~1.5 min,95%B→50%B;1.5~2 min,50%B 保持 0.5 min),流速为 0.8 mL/min,柱温 60℃,进样量 10 μL。(2)质谱条件。采用电喷雾离子源(ESI);以多重反应监测方式(MRM)扫描,负离子方式检测;离子喷射电压(IS):4 500 V;离子源温度(TEM):450℃;源内气体 1(GS1,N₂)压力:55,气体 2(GS2,N₂)压力:55 V;Curtain gas:20;碰撞气压力:Medium;去簇电压(DP)电压:90V;碰撞能量(CE)20 V;入口电压 10 V;出口电压 15 V;用于定量分析离子对 175.0→115.1(维生素 C),176.0→115.8(内标 L-Ascorbic Acid-1-¹³C)。

1.2.2 溶液制备 (1)精密称取维生素 C 标准品 10 mg,用 10%的偏磷酸溶液定容至 10 mL,摇匀,得到浓度为 1mg/mL 的维生素 C 储备液,再用偏磷酸将其稀释,配制所需质量浓度的维生素 C 标准溶液,放置-20℃冰箱保存,备用。(2)精密称取内标 L-Ascorbic Acid-1-¹³C 标准品 5 mg,用 10%的偏磷酸溶液定容至 10 mL,摇匀,得到浓度为 0.5 mg/mL 的内标储备液,再用偏磷酸将其稀释,配制质量浓度为 10 μg/mL 的内标溶液,备用。

1.2.3 受试者选择 随机选取河北燕达陆道培医院及山东省立医院的白血病患者 123 例,男 76 例,女 47 例,年龄 1~60 岁。同时选取 407 名健康志愿者,男 59 例,女 348 例,年龄 21~53 岁。受试者均知情同意。

1.2.4 血浆样品处理

1.2.4.1 标准曲线样品处理 取 20 μL 相应质量浓度的标准溶液,加 180 μL 空白血浆,加入 500 μL 含有 10 μg/mL 内标溶液的 10%偏磷酸溶液,涡旋混合 1 min,13 000 r/min 离心 8 min,取上清液用 0.22 μm 滤膜过滤后进样分析。

1.2.4.2 待测血浆样品处理 取 200 μL 待测血浆样品,加入 500 μL 含有 10 μg/mL 内标溶液的 10%偏磷酸溶液,涡旋混合 1 min,13 000 r/min 离心 8 min,取上清液用 0.22 μm 滤膜过滤后进样分析。

1.2.5 方法学考察

1.2.5.1 专属性 取空白血浆 200 μL,按“1.2.4.2”项下处理(不含内标);在空白血浆中加入一定量的维生素 C 及内标 L-Ascorbic Acid-1-¹³C 的标准溶液,同样按“1.2.4.2”项下处理;取患者血浆样品,按同样的方法处理,进样分析,考察方法的专属性。

1.2.5.2 标准曲线及定量下线 取空白血浆 180 μL,分别加入 20 μL 相应质量浓度的标准溶液,配制相当于维生素 C 质量浓度为 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0 μg/mL 的血浆样品,按“1.2.4.1”项

下条件处理,以维生素 C 与内标峰面积之比(Y)作纵坐标,以血浆维生素 C 浓度(X)为横坐标,用加权($W=1/x^2$)最小二乘进行线性方程回归分析。

1.2.5.3 精密度与回收率试验 取空白血浆及维生素 C 标准溶液适量,配置成浓度为 1、25、40 $\mu\text{g/mL}$ 的质量控制(QC)样品,按“1.2.4.2”项下条件进行操作,每一浓度测定 5 个样本分析,连续测定 3 d,用当日的标准曲线测定 QC 样品质量浓度,计算出回收率、日内及日间精密度。

1.2.5.4 稳定性 随机选取 6 例本院健康职工血浆样本,分别考察维生素 C 在血浆样品中放置室温 0、1、2、4、6 h 的稳定性,按“1.2.4.2”项下条件进行操作。

1.2.5.5 临床应用 对选取的 123 例白血病患者及 407 名健康志愿者,用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管采血,3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,按“1.3.4.2”项条件进行处理,进行样本测定分析。同时取本院 407 名健康志愿者血浆,均未服用维生素 C 药物,按同样的方法进行处理测定。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 对患者和健康志愿者两组检测结果进行统计学分析,采用秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 维生素 C 及内标的质谱图 见图 1。

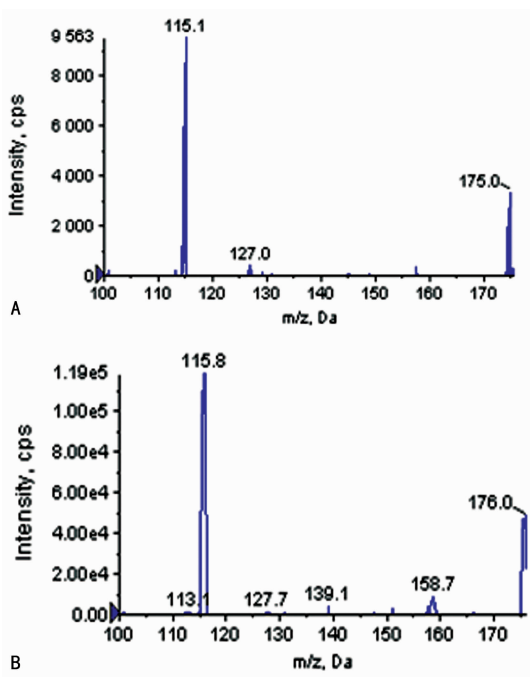
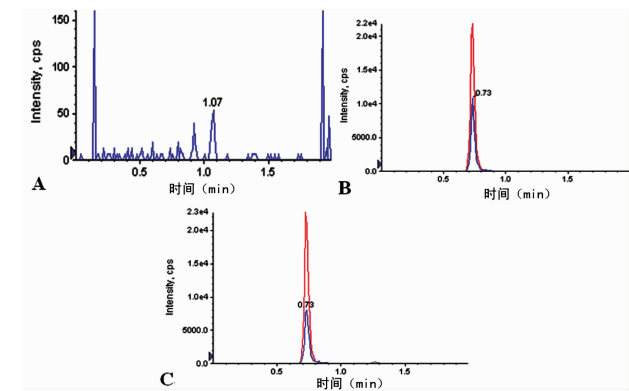


图 1 维生素 C(A)、内标 L-Ascorbic Acid-1-¹³C(B)二级扫描质谱图

2.2 方法学的考察

2.2.1 专属性 维生素 C 及内标 L-Ascorbic Acid-1-¹³C 的测定均不受内源性物质的干扰,专属性良好。典型色谱图见图 2。



注:A 表示空白血浆;B 表示空白血浆+维生素 C+内标 L-Ascorbic Acid-1-¹³C;C 表示患者血浆样品

图 2 维生素 C 和 L-Ascorbic Acid-1-¹³C 色谱图

2.2.2 标准曲线及定量下线 回归方程为 $Y=0.098\ 3X+0.002\ 78$, $r=0.994\ 2$ 。结果表明,血浆中维生素 C 质量浓度在 0.5~50.0 $\mu\text{g/mL}$ 内线性关系良好,其定量下线为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2.3 精密度与回收率试验 日内及日间相对标准偏差均小于 5%,方法回收率在 90%~110%,见表 1。

表 1 精密度及回收率结果($n=5, \bar{x} \pm s$)

加入质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	日内精密度		日间精密度		回收率 (%)
	测得质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%)	测得质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%)	
1	1.07 ± 0.04	4.02	1.06 ± 0.03	3.00	106.45
25	23.66 ± 0.48	2.04	23.96 ± 0.77	3.22	95.83
40	40.67 ± 0.65	1.60	40.33 ± 0.74	1.83	100.83

2.2.4 稳定性 6 例标本随着在室温放置时间的延长,血浆中维生素 C 的水平逐渐下降,4 例标本在放置 4 h 时维生素 C 质量浓度已降至初始质量浓度 80%,6 h 时几乎全部降至 80%以下,甚至降至初始质量浓度的一半。见图 3。

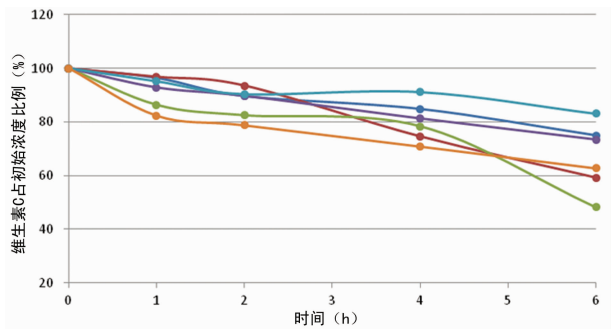


图 3 维生素 C 血浆样本在室温的稳定性($n=6$)

2.2.5 临床应用 测得患者及志愿者血浆中维生素 C 的浓度并分析其分布情况,见表 2、图 4、5(比例分布)。80%白血病患者血浆中维生素 C 浓度在 2 $\mu\text{g/mL}$ 以下,10%的患者血浆中维生素 C 浓度在 2~4 $\mu\text{g/mL}$,仅有 10%的患者在 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上;而志愿者血浆中维生素 C 平均浓度为 $(8.8 \pm 3.0) \mu\text{g/mL}$,92%

均在 4~15 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,两组结果比较差异有统计学意义($P<0.01$)。

表 2 维生素 C 的质量浓度测定结果($n=530$)

维生素 C 质量 浓度($\mu\text{g/mL}$)	患者		健康志愿者	
	[(2.4 $\pm$ 3.9) $\mu\text{g/mL}$, $n=123$]		[(8.8 $\pm$ 3.0) $\mu\text{g/mL}$, $n=407$]	
	样本例数(n)	比例(%)	样本例数(n)	比例(%)
<1	86	70	0	0
1~<2	13	10	5	1
2~<4	12	10	19	5
4~15	10	9	376	92
>15	2	1	7	2

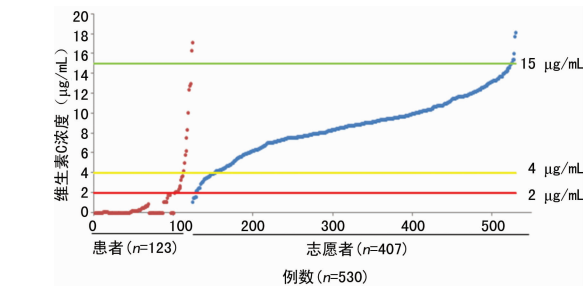
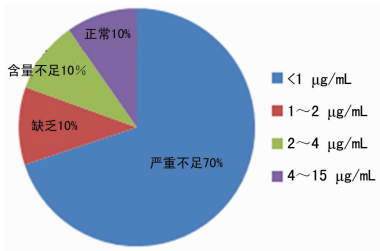


图 4 血浆中维生素 C 浓度结果散点图($n=530$)



注:白血病患者体内维生素 C 浓度在 4~15 $\mu\text{g/mL}$ 为正常, 2~<4 $\mu\text{g/mL}$ 为水平不足, 1~<2 $\mu\text{g/mL}$ 为缺乏, 低于 1 $\mu\text{g/mL}$ 为严重不足

图 5 白血病患者血浆中维生素 C 浓度结果分布图($n=123$)

3 讨 论

维生素 C 具有烯醇式己糖内酯立体结构,其烯醇式羟基极易解离出 H⁺,具有有机酸的性质,遇到空气中氧、热、光、碱性物质及金属离子存在时易氧化分解,为增加维生素 C 的稳定性,在溶液的配制及样品前处理均采用 10% 的偏磷酸作为溶剂及沉淀剂^[17]。目前关于人血浆中维生素 C 浓度的测定,大多采用 HPLC 法^[14-17],一般容易受到其他物质的干扰,且分析时间较长(>10 min),本文建立了一种快速、灵敏、专属性强的适合测定人体血浆中维生素 C 的 HPLC-MS/MS 方法,分析时间短(2.0 min),在内标的选择上,比较了 L-Ascorbic Acid-1-¹³C 和左旋多巴,综合考虑保留时间、响应值后,选择 L-Ascorbic Acid-1-¹³C 作为维生素 C 浓度测定内标物。实验采用室温放置 24 h 的血浆作为空白血浆,排除了内源性维生素 C 的

干扰^[18],且通过实验验证空白血浆中维生素 C 水平低于方法的定量下线。为避免维生素 C 的快速降解,且为了满足本院临床标本的检测,本文仅对血浆中维生素 C 在室温条件下的稳定性进行了考察,维生素 C 浓度呈直线下降,建议临床在采血后尽快送检(2 h 内),最长不超过 4 h,维生素 C 在其他条件下的稳定性还需进一步进行考察。该方法作为维生素 C 水平测定的分析方法,为患者在营养学评价及生理病理条件下提供临床意义。

健康人血浆中维生素 C 浓度在 4~15 $\mu\text{g/mL}$ (正常范围 26~84 $\mu\text{mol/L}$),2~<4 $\mu\text{g/mL}$ 为维生素 C 水平不足,低于 2 $\mu\text{g/mL}$ 为维生素 C 缺乏,低于 1 $\mu\text{g/mL}$ 时有可能引起坏血病^[11,17,19-20]。测定的 123 份白血病患者样本中,维生素 C 水平在 2 $\mu\text{g/mL}$ 以下的占总数的 80%,仅有 12 名患者血浆中维生素 C 水平在 4 $\mu\text{g/mL}$ 以上,而健康志愿者血浆中维生素 C 浓度几乎全在 4~15 $\mu\text{g/mL}$,同时对结果偏低的健康志愿者进行了膳食调查,有志愿者处于哺乳或怀孕阶段,推测这可能是导致维生素 C 浓度过低的原因之一,当生理状况发生改变时应注意维生素 C 的变化,此外有两名志愿者有 8 年以上的吸烟史,有研究称吸烟会导致体内维生素 C 的减少^[20-21],所以应该减少吸烟。同时对 530 例样本检测结果做了散点图(图 4),图中显示志愿者维生素 C 浓度明显高于白血病患者($P<0.01$),从而充分说明患者体内维生素 C 总体水平偏低,大多数白血病患者饮食上可能比较单一,导致其体内缺乏维生素 C。

4 结 论

已有实验证明,维生素 C 可以提高白血病患者免疫力、诱导白血病细胞凋亡^[12,22],本实验结果也为维生素 C 在白血病治疗上的作用提供参考依据,因此对于白血病患者应适当多食用新鲜水果、蔬菜或维生素 C 制剂来补充维生素 C,为其临床治疗提供帮助。

参考文献

[1] DOSKEY C M, BURANASUDJA V, WAGNER B A, et al. Tumor cells have decreased ability to metabolize H₂O₂: Implications for pharmacological ascorbate in cancer therapy[J]. Redox Biol, 2016, 10(2): 274-284.

[2] 李军袖, 郭朝瑞, 封帆, 等. 维生素 C 在肿瘤治疗中的研究概况[J]. 海峡药学, 2016, 28(9): 1-4.

[3] 刘祚仁, 郭恭. 维生素 C 抗癌作用的临床试验研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(13): 2358-2360.

[4] SCHOENFELD J D, SIBENALLER Z A, MAPUSKAR K A, et al. O₂- and H₂O₂- Mediated disruption of Fe metabolism causes the differential susceptibility of NSCLC and GBM cancer cells to pharmacological ascorbate[J]. Cancer Cell, 2017, 31(4): 487-500.

[5] DABROWSKA-UFNIARZ E, DZIENISZEWSKI J, JAROSZ

- M, et al. Vitamin C concentration in gastric juice in patients with precancerous lesions of the stomach and gastric cancer[J]. *Med Sci Monit*, 2002, 8(2): 96-103.
- [6] SCHNEIDER M, DIEMER K, ENGELHART K, et al. Protective effects of vitamins C and E on the number of micronuclei in lymphocytes in smokers and their role in ascorbate free radical formation in plasma[J]. *Free Radic Res*, 2001, 34(3): 209-219.
- [7] BONUCCELLI G, DE FRANCESCO E M, DE BOER R, et al. NADH autofluorescence, a new metabolic biomarker for cancer stem cells: Identification of Vitamin C and CAPE as natural products targeting "stemness"[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 20667-20678.
- [8] SHARECK M, ROUSSEAU M C, KOUSHIK A, et al. Inverse association between dietary intake of selected carotenoids and vitamin C and risk of lung cancer[J]. *Front Oncol*, 2017, 7(1): 23.
- [9] YUN J, MULLARKY E, LU C, et al. Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH[J]. *Science*, 2015, 350(6266): 1391-1396.
- [10] AGATHOCLEOUS M, MEACHAM C E, BURGESS R J, et al. Ascorbate regulates haematopoietic stem cell function and leukaemogenesis [J]. *Nature*, 2017, 549(7673): 476-481.
- [11] LIU M, OHTANI H, ZHOU W, et al. Vitamin C increases viral mimicry induced by 5-aza-2'-deoxycytidine[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(37): 10238-10244.
- [12] 施海涛, 王雪峰, 孙伟正. 砷剂联合维生素 C 治疗急性早幼粒细胞白血病的机理[J]. *中医药学报*, 2008, 25(4): 61-62.
- [13] CIMMINO L, DOLGALEV I, WANG Y B et al. Restoration of TET2 function blocks aberrant Self-Renewal and leukemia progression[J]. *Cell*, 2017, 170(6): 1079-1095.
- [14] 焦建杰, 张文军, 朱学慧, 等. 高效液相色谱-电化学检测法测定人血浆中维生素 C 的浓度[J]. *天津医科大学学报*, 2003, 22(3): 343-345.
- [15] 刁娟娟, 孟磊, 孙炜, 等. RP-HPLC 法测定人血清中维生素 C 的含量[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(1): 55-58.
- [16] 陈永明, 刘放南, 鲍扬. 反相高效液相色谱法测定血浆中维生素 C 浓度[J]. *肠外与肠内营养*, 1998, 20(3): 41-42.
- [17] 钟大放, 韩峰超, 刘阳, 等. 大学生维生素 C 稳态血浆浓度分析[J]. *沈阳药科大学学报*, 2001, 18(5): 341-344.
- [18] LIAU L S, LEE B L, NEW A L, et al. Determination of plasma ascorbic acid by high-performance liquid chromatography with ultraviolet and electrochemical detection [J]. *J Chromat*, 1993, 612(1): 63-70.
- [19] JAMAATI H R, PAJOUH P, NAYEBI M, et al. Ascorbic acid concentration in plasma and white blood cells of patients with bronchial asthma[J]. *Tanaffos*, 2006, 5(4): 29-35.
- [20] SCHLEICHER R L, CARROLL M D, FORD E S, et al. Serum vitamin C and the prevalence of vitamin C deficiency in the United States: 2003-2004 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)[J]. *Am J Clin Nutr*, 2009, 90(5): 1252-1263.
- [21] 孙宁亚, 郭芳珍, 钱志君, 等. 吸烟与血浆维生素 C, E, β -胡萝卜素关系探讨[J]. *浙江预防医学*, 1998, 20(12): 710-713.
- [22] ZHANG J, ZHANG J, FU Z D, et al. Effects of Selenium and vitamin C on proliferation and cytotoxicity of leukemic cell lines HL-60 and K₅₆₂[J]. *J Shanghai Tiedao University (Medical Science)*, 1997, 11(3): 176-180.

(收稿日期: 2018-10-25 修回日期: 2019-01-12)

(上接第 797 页)

- pattern of common isolates of neonatal sepsis, Ho Municipality, Ghana-2016 [J]. *Mater Heal Perinatol*, 2018, 4(1): 2.
- [9] 殷娜, 邓小明. 外科重症监护病房腹腔感染相关脓毒症病原菌分布及耐药性分析[J]. *重庆医学*, 2014, 43(7): 812-815.
- [10] 刘毅, 宋诗铎, 王洪霞. ICU 医院感染相关脓毒症病原菌分布及耐药性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(3): 421-423.
- [11] 匡红, 曾琳, 刘书蓉, 等. 重症监护病房病原菌种类及耐药性监测分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(15): 2118-2120.
- [12] 王征, 曹涛, 秦俭, 等. 降钙素原和乳酸动态变化对急诊老年严重脓毒症和脓毒性休克患者预后的评估价值[J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(5): 741-744.
- [13] FERRERUELA M, MARIA RAURICH J, AYESTARAN I A. Hyperlactatemia in ICU patients: Incidence, causes and associated mortality[J]. *J Crit Care*, 2017, 42(1): 200-205.
- [14] MAHMOODPOOR A, SHADVAR K, SAGHALEINI S H, et al. Which one is a better predictor of ICU mortality in septic patients? Comparison between serial serum lactate concentrations and its removal rate[J]. *J Crit Care*, 2018, 44(1): 51-56.
- [15] LEE Y C, HSIAO C Y, HUNG M C, et al. Bacteremic urinary tract infection caused by Multidrug-Resistant enterobacteriaceae are associated with severe sepsis at admission implication for empirical therapy [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(20): e3694.

(收稿日期: 2018-09-25 修回日期: 2018-12-21)