

不良反应发生率为2.90%，显著低于对照组的14.49%，表明单纯使用光子嫩肤术治疗容易引起皮肤局部炎症反应，加速色素沉着，遗留疤痕，而联合Vc离子导入治疗明显降低了不良反应的发生率，其原因可能与Vc后续治疗作用有关。

综上所述，光子嫩肤术联合Vc离子导入治疗黄褐斑及面部美容具有更好的临床价值，一定程度上降低了不良反应的发生。

参考文献

- [1] 叶世龙. 黄褐斑病因病机研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(12): 3806-3808.
- [2] 高睿迪, 王颖, 廖春, 等. Medlite C6 激光联合左旋维生素C治疗黄褐斑的疗效及安全性分析[J]. 中国皮肤性病杂志, 2014, 28(11): 1180-1183.
- [3] 王立玉, 相恒芳. 强脉冲光在面部皮肤病变治疗中的应用分析[J]. 中国激光医学杂志, 2014, 23(2): 110-111.
- [4] 中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会色素病学组. 黄褐斑的临床诊断和疗效标准(2003年修订稿)[J]. 中华皮肤科杂志, 2004, 37(7): 440.
- [5] 朱进, 叶伟, 李宗超. 穴位注射丹参联合中药面膜及左旋维生素C外用治疗黄褐斑的临床观察[J]. 中国药房, 2014, 25(23): 2162-2164.

- [6] 张英, 王宗明. 光子嫩肤在皮肤美容中的使用效果观察[J]. 中国妇幼保健研究, 2017, 28(1): 676-677.
- [7] 陈媛媛, 李乃芳, 陈晓芳, 等. 针刺及中药面膜外敷联合IPL光子嫩肤术治疗黄褐斑的临床疗效观察[J]. 中国皮肤性病杂志, 2015, 29(7): 749-751.
- [8] 沈丽. 光子嫩肤技术治疗色素斑及面部毛细血管扩张症临床疗效分析[J]. 华南国防医学杂志, 2014, 28(3): 277-278.
- [9] 栾琪, 刘玲, 高天文. 激光和强脉冲光治疗黄褐斑的进展[J]. 中华皮肤科杂志, 2015, 48(2): 142-143.
- [10] 高彤彤, 吴燕文, 许云. 维生素C离子导入结合光子嫩肤术治疗黄褐斑疗效观察[J]. 现代预防医学, 2016, 43(2): 379-381.
- [11] 尹璐, 王璐, 张庆瑞, 等. 彩光联合皮肤透析, 维生素C导入治疗黄褐斑的疗效[J]. 临床军医杂志, 2015, 43(1): 93-94.
- [12] 张予晋, 许斌, 汤亚娥. Q开关Nd:YAG激光联合左旋维生素C离子导入治疗黄褐斑的临床观察[J]. 中国医学文摘(皮肤科学), 2015, 31(5): 539-540.
- [13] 钟淑霞, 周俊峰, 姚蕾, 等. 脉冲激光联合氢醌乳膏、左旋维C治疗色素沉着12例临床观察[J]. 中国皮肤性病杂志, 2014, 28(10): 1075-1077.

(收稿日期: 2019-01-10 修回日期: 2019-04-16)

· 临床探讨 · DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 15. 034

6种蛋白酶对红细胞Mur、S、Di^a抗原检测的影响

黄 娟¹, 向 东², 解金辉¹

1. 天津市血液中心免疫血液学研究室, 天津 300110; 2. 上海市血液中心输血研究所, 上海 200051

摘要:目的 比较6种不同的蛋白酶对Mur、S、Di^a抗原检测的影响。方法 采用2步酶法, Mur抗原阳性红细胞分别与木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、链酶蛋白酶混合, 37℃孵育10 min后3洗红细胞, 加入IgG抗-Mur, 进行抗人球蛋白试验, 记录反应强度; 对照组平行试验, 将酶替换为等量生理盐水。含有S抗原或Di^a抗原的红细胞也进行此试验, 加入的抗体与抗原相对应。结果 木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、糜蛋白酶、链酶蛋白酶减弱甚至破坏Mur抗原, 而菠萝蛋白酶、胰蛋白酶不影响它。木瓜蛋白酶、糜蛋白酶、链酶蛋白酶破坏S抗原, 而菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、胰蛋白酶不影响它。6种蛋白酶均不破坏Di^a抗原。结论 不同种类的蛋白酶对红细胞抗原检测的影响不同, 在酶法试验中应注意区分。

关键词:蛋白酶; Mur抗原; S抗原; Di^a抗原

中图法分类号: R446.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)15-2218-03

在红细胞抗原抗体反应试验中, 酶法是经典方法之一。国外常用的蛋白酶主要有木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、无花果蛋白酶、链酶蛋白酶等, 国内使用的蛋白酶主要为木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶。本文主要比较以上6种不同种类的蛋白酶对红细胞Mur、S、Di^a抗原检测效果的影响。这3种抗原虽频率不高, 但其研究具有特殊意义: Mur在东南亚人群分布显著多于其他地区^[1]; 位于血型糖蛋白B(GPB)的S抗原与位于血型糖蛋白A(GPA)的M抗原相比, 受酶的影响可能不同, 但相关研究较少; Di^a几乎为蒙古族特有抗原^[2]。

1 材料与方法

1.1 标本来源 试验用到的木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、链酶蛋白酶和抗-Di^a、抗-Mur、抗-S血清均来自上海市血液中心输血研究所。蛋白酶溶液的配制参照试剂使用说明书, 抗-Di^a、抗-Mur、抗-S血清均为IgG性质。

1.2 试剂与仪器 谱细胞(上海血液生物), 抗人球蛋白试剂卡(瑞士达亚美)。离心机(KA-2200, 日本久保田), 试剂卡离心机(瑞士达亚美), 恒温水浴箱(北京市医疗设备厂)。

1.3 方法

1.3.1 2步酶法 从谱细胞中挑选出3种Mur⁺红细胞混匀为1份,盐水洗3遍后配成2%~3%水平,分成7份,分别加入等量的木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、链酶蛋白酶,对照组加入等量盐水,37℃孵育15min后用盐水洗3遍,配成2%~3%水平。检测S、Di^a,使用的细胞改为S抗原阳性、Di^a抗原阳性红细胞各3种混匀,其他步骤相同。

1.3.2 抗人球蛋白试验 采用试管抗人球法检测6种蛋白酶和盐水对照处理后的Mur抗原阳性、S抗原阳性红细胞与抗-Mur、抗-S血清的反应,比较各管反应强度。由于试管抗人球法检测Di^a抗原阳性红细胞与抗-Di^a血清凝集强度太弱无法判读,采用抗人球蛋白凝胶卡检测6种酶处理和盐水对照的Di^a阳性红细胞与抗-Di^a血清的反应,记录凝集强度。

为检测红细胞的状态以确保试验结果可靠,采用试管法直接离心,检测上述6种酶处理及对照组的红细胞与IgG性质的抗-D血清的反应,试验采用的红细胞均为D阳性,试管法直接离心的凝集强度均为+++~++++。

2 结 果

6种蛋白酶对Mur、S、Di^a抗原检测的影响如表1所示,Mur和S试验结果均为试管抗人球法的凝集强度,Di^a为抗人球蛋白凝胶卡的结果。从凝集强度可知,木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、链酶蛋白酶、糜蛋白酶可减弱甚至破坏Mur抗原,而菠萝蛋白酶、胰蛋白酶不影响Mur抗原。木瓜蛋白酶、糜蛋白酶、链酶蛋白酶可破坏S抗原,而菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶、胰蛋白酶不影响S抗原。6种蛋白酶均不破坏Di^a抗原。

表1 不同蛋白酶处理后的凝集强度

抗原	木瓜蛋白酶	菠萝蛋白酶	无花果蛋白酶	胰蛋白酶	糜蛋白酶	链酶蛋白酶	对照组
Mur	0	+++s	0	++++	+ ^w	0	+++ ^w
S	0	+++	+++ ^w	+++ ^s	0	0	+++ ^s
Di ^a	+++ ^s	+++	+++ ^s	+++ ^w	+++	+++	+++

注:表中的^w表示略弱,^s表示略强

3 讨 论

红细胞表面的唾液酸带有负电荷,使红细胞相互排斥,某些蛋白酶可破坏红细胞表面的唾液酸结构,使得负电荷减少,红细胞距离缩短,使得某些抗原抗体反应增强^[3]。然而蛋白酶处理红细胞时可催化肽键的水解,导致某些血型抗原失活,不同种类的蛋白酶作用位点和酶切方式有差异。胰蛋白酶催化水解赖氨酸和精氨酸羧基端肽键,用它处理完整的细胞时,可使GPA蛋白的第39位氨基酸残基发生酶切,但它不能使GPB失活^[4]。糜蛋白酶又称胰凝乳蛋白酶,能水解苯丙氨酸、色氨酸等一系列芳香族氨基酸的羧基端肽键,它处理红细胞时可使GPB的N端第34位氨基酸发生酶切^[5]。木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶和菠萝蛋白酶具有广泛特异性^[6],链酶蛋白酶来自链球菌。Mur抗原属于MNS血型系统的Miltenberger系列,由唾液酸糖蛋白GYB基因的外显子3编码产生,它的分子形成可能与GPB中插入GPA片段有关。Mur与S抗原的分子基础均基于GPB,故均未被胰蛋白酶破坏,而被糜蛋白酶减弱或破坏。Di^a抗原在带3蛋白上,表现为854位上的亮氨酸。带3蛋白不是红细胞膜的主要内在蛋白,具有阴离子转运功能,Diego缺失型的健康个体未见报道,或能解释Di^a抗原不受6种酶处理的影响。

本文通过试验证明,对于不同的血型抗原(Mur、S、Di^a),6种不同种类蛋白酶的作用存在较大差异。进行不规则抗体鉴定时,考虑到酶对血型系统抗原的

影响,根据酶处理前后谱细胞反应强度的差异,有助于鉴定抗体特异性。国外有学者研究不同酶对血型抗原的不同作用,根据MARION等^[7]的研究,木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶均显示增强反应的血型系统主要有ABO、P1PK、Rh、Lewis、Kidd、H、I、Globoside、GIL、FORS等,这4种蛋白酶均显示破坏的血型系统主要有Xg、Chido/Rodgers、Indian、JMH等;这4种蛋白酶不影响的血型系统主要有Kell、Diego、Colton、Kx、Ok、Lan等,这4种蛋白酶作用有所不同的血型系统主要有MNS、Lutheran、Duffy、Yt、Scianna、Dombrock、Landsteiner-Wiener、Gerbich、Cromer、Knops、Raph、RHAG、JR等。

酶活性易受温度、保存时间等因素影响,为了验证酶处理红细胞的效果,本试验中采用试管法直接离心检测酶处理红细胞与IgG性质的抗-D血清的凝集强度,结果均为+++~++++,说明酶处理达到了效果,且红细胞D抗原免疫原性未被破坏。酶处理某种红细胞抗原的试验还可以再细化,以酶处理的时间为横轴,凝集强度为纵轴,制作酶处理红细胞抗原的时间-凝集强度变化曲线。进一步扩展,还可研究不同种类的酶对其他血型抗原检测的影响。

参考文献

[1] 龚泓颂,沈伟,王钰箐,等.中国部分人群Mur血型抗原分布及分子基础的研究[J].中国输血杂志,2015,28(8):997-1000.

[2] 林裕翔,张焯,许志远,等. 血型基因定型用于辅助鉴定高频抗原抗体的研究:附1例稀有血型 Di(a+b-)产生疑似抗-Di~b 鉴定报告[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(12): 1330-1332.

[3] 兰炯采, 俞中桥, 陈静娴. 输血免疫血液学实验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 70.

[4] 杨鹏. 低频抗-Mur 特征探讨及其引起的疑难配血一例[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(8): 1058-1060.

[5] DANIEL J. 人类血型[M]. 朱自平, 译. 北京: 科学出版社, 2007: 129-130.

[6] 郭忠慧, 李勤, 王晨, 等. 用合成肽制备鼠源性抗-GPB 单克隆抗体及特性鉴定[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(7): 778-780.

[7] MARION E R, LOMAS-FRANCIS C, MARTIN L O. The blood group antigen facts book[M]. 3 rd ed. New York: Academic Press, 2012: 82-96.

(收稿日期: 2019-11-14 修回日期: 2019-04-12)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 15. 035

某二甲中医院 2018 年重症监护室临床分离病原菌的分布特点及耐药性分析

任继欣, 吴连杰, 冯 燕

(河北省唐山市丰润区中医医院检验科, 河北唐山 064000)

摘要:目的 对某基层二甲中医院 2018 年重症监护室(ICU)分离的病原菌分布特点及其耐药性进行回顾性分析,探讨基层中医院 ICU 防控医院感染中存在的问题,为临床合理使用抗菌药物及医院感染的监控提供依据。**方法** 按照《全国临床检验操作规程》及仪器产品配套的使用说明书,采用 VITEK 2 Compact 对 2018 年 1—12 月 ICU 送检的临床标本进行鉴定、药敏分析,并收集个人资料。**结果** 2018 年 ICU 送检 1 344 份标本,分离病原菌 551 株,检出率为 40.9%,其中革兰阴性杆菌 422 株(76.6%),革兰阳性球菌 61 株(11.1%),酵母样真菌 68 株(12.3%);病原菌标本来源主要为痰液、中段尿、血液标本;革兰阴性杆菌检出率居前 5 位的依次是肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、奇异变形杆菌、大肠埃希菌;革兰阳性球菌中,优势菌为凝固酶阴性葡萄球菌、屎肠球菌和金黄色葡萄球菌;酵母样真菌以白色假丝酵母菌检出最多。药敏结果显示:分离出的主要革兰阴性杆菌均未检出对替加环素耐药菌株,但对其他多种类型抗菌药物均出现不同程度的耐药。其中肠杆菌科细菌对 β-内酰胺类多种抗菌药物耐药率高,产超广谱 β-内酰胺酶的肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌分别为 75.4%和 79.4%;产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌为 47.8%;非发酵菌的耐药性更加严峻,对多种抗菌药物呈广泛耐药;分离出的主要革兰阳性球菌未检出对万古霉素、利奈唑胺、达托霉素、替加环素等耐药,但对其他抗菌药物的敏感性不容乐观;分离出的真菌以白色假丝酵母菌最多,其中少数菌株对唑类抗真菌药物耐药(2.6%),其他酵母菌(光滑假丝酵母菌、热带假丝酵母菌)对常用的抗真菌药物敏感性高。**结论** 该院 ICU 主要病原菌分布具有自己的特点,多重耐药性已十分严重,应重视病原菌耐药性监测和筛查,加强医院感染的防控。

关键词:重症监护病房; 耐药性; 病原菌

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)15-2220-05

重症监护室(ICU)集中各科的危重患者,这些病患多伴有严重的基础疾病,自身免疫功能低下,且住院时间较长,加之侵入性诊疗较多以及广谱抗菌药物的大量使用,其病原菌构成及耐药性与非 ICU 患者有极大差异^[1]。近年来,ICU 细菌感染的发生率以及感染细菌的耐药性逐渐增高,医院感染问题也逐步受到重视^[2]。本调查对某二甲中医院 ICU 病原菌的分布特点及耐药性进行回顾性总结,以期在基层中医院防控医院感染提供参考。现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本种类及来源 收集某二甲中医院 2018 年全年 ICU 送检的各类合格标本,包括痰液、血液、中段尿、拭子(伤口)、脑脊液、各种穿刺液、体液等,同一患者 7 d 内相同标本分离出的同一菌株仅纳入第一次分

离株,避免出现重复统计的现象。

1.2 质控种类及来源 大肠埃希菌 ATCC 25922,金黄色葡萄球菌 ATCC 29213,铜绿假单胞菌 ATCC 27853,阴沟肠杆菌 ATCC 700323,铅黄肠球菌 ATCC 700327,白色假丝酵母菌 ATCC 14053,均来源于温州康泰生物,为-20℃冷冻保存的干粉,使用前应复融。

1.3 仪器与试剂 法国生物梅里埃 Back/Alert 240 全自动血培养仪,法国生物梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪及其配套使用的鉴定、药敏卡(GN GP NH GP-639 N-334 N-335),法国生物梅里埃半自动 ATB 及与之配套的真菌鉴定和药敏卡,英国 Oxoid 药敏纸片,所用培养皿均为郑州点石生物公司产品。

1.4 方法