

富血小板血浆与抗生素联合应用在抑制大肠埃希菌中的作用*

宋明珠¹ 宋金凤¹ 郭刘艺¹ 许昌运¹ 蔡娟¹

[摘要] 目的:探究富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)及其与抗生素头孢呋辛钠联合应用在体外对大肠埃希菌的作用。方法:从六安市中心血站获取健康志愿者捐献的血小板作为 PRP 来源。将一定浓度的大肠埃希菌质控菌株与 PRP 及抗生素头孢呋辛钠共同培养,观察 PRP 单独应用及与抗生素头孢呋辛钠联合应用时的抑菌情况。结果:2 mg/L 头孢呋辛钠在 12 h 内无抑菌作用,4 mg/L 头孢呋辛钠可在 24 h 内发挥抑菌作用,8 mg/L 头孢呋辛钠可在 48 h 内发挥较强抑菌作用。PRP 单独应用可以在 24 h 内发挥抑菌作用,与 2 mg/L 头孢呋辛钠联合应用在 12 h 内可抑制大肠埃希菌生长,与 4 mg/L 头孢呋辛钠联合应用在 24 h 内可抑制大肠埃希菌生长,与 8 mg/L 头孢呋辛钠联合应用在 36 h 内可抑制大肠埃希菌生长。结论:PRP 单独应用在体外可抑制大肠埃希菌的生长,与抗生素联合应用可发挥抑菌作用,并减轻抗生素的使用剂量。

[关键词] 富血小板血浆;大肠埃希菌;头孢呋辛钠

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.04.010

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Role of platelet-rich plasma combined with antibiotics in inhibition of escherichia coli

SONG Mingzhu SONG Jinfeng GUO Liuyi XU Changyun CAI Juan

(Department of Blood Transfusion, Lu'an People's Hospital, the Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Lu'an, 237005, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of platelet-rich plasma (PRP) and its combination with cefuroxime sodium on Escherichia coli in vitro. **Methods:** Apheresis platelets donated by healthy volunteers were obtained from the Blood station of Lu'an Blood Center as the source of PRP. In order to explore the antibacterial effect of PRP alone or in combination with cefuroxime sodium, a certain concentration of Escherichia coli quality control strains were co-cultured with PRP and cefuroxime sodium. **Results:** 2 mg/L cefuroxime sodium had no antibacterial effect within 12 hours, 4 mg/L cefuroxime sodium had antibacterial effect within 24 hours, and 8 mg/L cefuroxime sodium had strong antibacterial effect within 48 hours. The application of PRP alone could exert antibacterial effect within 24 hours, the combination with 2 mg/L cefuroxime sodium could inhibit the growth of Escherichia coli within 12 hours, the combination with 4 mg/L cefuroxime sodium could inhibit the growth of Escherichia coli within 24 hours, and the combination with 8 mg/L cefuroxime sodium could inhibit the growth of Escherichia coli within 36 hours. **Conclusion:** Platelet-rich plasma alone could inhibit the growth of Escherichia coli in vitro, and combined with antibiotics could exert bacteriostatic effect and reduce the dosage of antibiotics.

Key words platelet-rich plasma; escherichia coli; cefuroxime sodium

富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是一种含高浓度血小板、生长因子及趋化因子等的血液制品,其应用的基本原理是基于其提供多种生物活性因子的能力,以提供再生刺激,促进愈合潜力低的组织修复^[1-2]。大肠埃希菌是慢性难愈性创面常见的革兰阴性兼性厌氧菌^[3]。目前,临床对创面治疗仍然使用抗生素,随着广谱抗生素的使用,耐药菌逐渐增多,大肠埃希菌对头孢类抗生素的耐药

率逐渐增高^[4]。因而,迫切寻找减少抗生素使用的方法非常重要。目前,富血小板血浆在抑菌方面的研究越来越多,可以抑制金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌等慢性难愈性创面处细菌的生长^[5-6]。因而,基于抗生素的抑菌作用,考虑将 PRP 单用或将其与抗生素联合应用,可能对减少抗生素应用剂量和时长均有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

标准大肠埃希菌质控菌株(ATCC25922)来源于美国典型菌种保藏中心。

*基金项目:六安市人民医院院级科研课题(NO:2021kykt08)

¹安徽医科大学附属六安医院输血科(安徽六安,237005)

1.2 试剂和仪器

营养肉汤液体培养液为我科自制。血细胞计数仪(日本希森美康公司),哥伦比亚琼脂血平板(上海科玛嘉微生物技术有限公司),Densicheck Plus 麦氏浊度仪(法国生物梅里埃 Biomerieux),数显电热恒温培养箱(上海三发科学仪器有限公司)。抗生素选择注射用头孢呋辛钠。

1.3 抗生素抑菌实验

取 0.5 g 头孢呋辛钠将其溶于 5 mL 无菌生理盐水,制备成浓度为 0.5 g/mL 的头孢呋辛钠液,将其用无菌生理盐水稀释成一定浓度(13.333 $\mu\text{g}/\text{mL}$,6.666 $\mu\text{g}/\text{mL}$,3.333 $\mu\text{g}/\text{mL}$)(图 1)。试验分为 7 组,分别为 PRP 组、2 mg/L 抗生素组、4 mg/L 抗生素组、8 mg/L 抗生素组、PRP+2 mg/L 抗生素组、PRP+4 mg/L 抗生素组、PRP+8 mg/L 抗生素组。分别选取 900 μL (PRP 与抗生素联合应用的各取一半),加入 500 μL 实验室自制肉汤培养液,再加入 100 μL 0.5 麦氏比浊度的大肠埃希菌(其中抗生素终浓度分别为 2、4、8 mg/L,细菌终浓度为 10^7 CFU/mL)。37 $^{\circ}\text{C}$ 混合培养 12、24、36 h,48 h 后,从各组中取 25 μL 用无菌生理盐水稀释 200 倍,再取稀释后悬液 50 μL 并用一次性接种环涂布平板,培养 16~24 h 取出平板观察各组细菌生长情况。

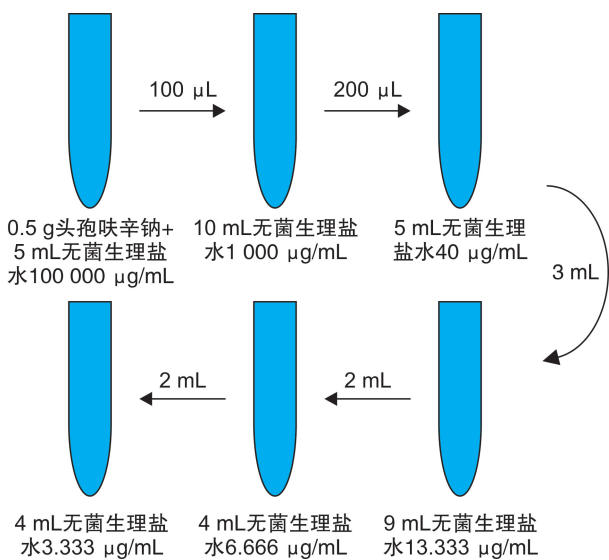


图 1 不同浓度的抗生素稀释流程图

2 结果

PRP 单独应用可在 24 h 内抑制大肠埃希菌生长,2 mg/L 头孢呋辛钠在 12 h 内即无抑菌作用,4 mg/L 头孢呋辛钠在 24 h 内发挥抑菌作用,8 mg/L 头孢呋辛钠在 48 h 内发挥较强抑菌作用。PRP 与 2 mg/L 头孢呋辛钠联合应用在 12 h 内以

抑制大肠埃希菌生长,与 4 mg/L 头孢呋辛钠联合应用在 24 h 内可抑制大肠埃希菌生长,与 8 mg/L 头孢呋辛钠联合应用在 36 h 内可抑制大肠埃希菌生长,见图 2。

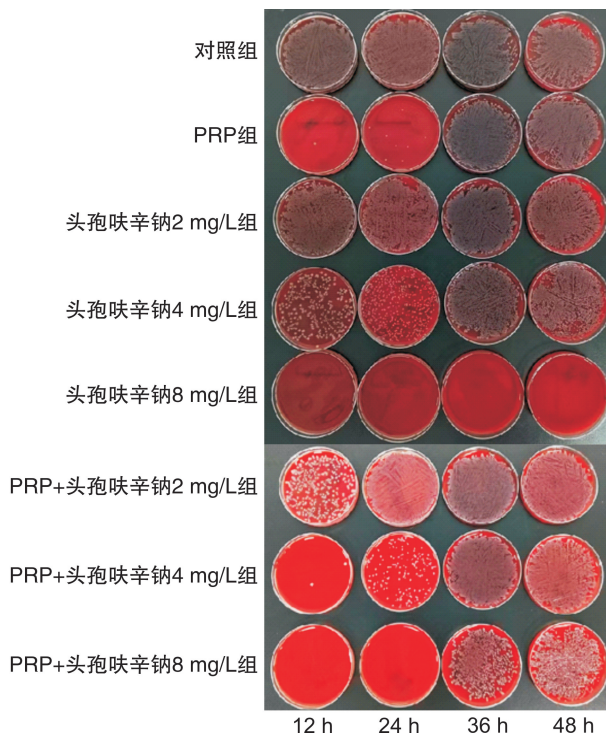


图 2 PRP 单用及与抗生素联合应用抑菌效果

3 讨论

PRP 是一种新型生物技术,通过离心技术从全血中提取,活化后可以释放多种生长因子、细胞因子、抗菌蛋白及相关信号分子,在组织再生中发挥重要作用,目前已经广泛应用在临床治疗的各个方面^[7]。研究表明,激活后的 PRP 可以通过释放各种生物活性分子来发挥杀死病原体、分解坏死组织,以及促进伤口愈合的作用^[8]。

糖尿病足溃疡、压疮等慢性难愈性创面主要以革兰阴性菌感染为主,且耐药率较高^[9]。大肠埃希菌是骨科创伤及术后感染最常见的革兰阴性细菌,传统的治疗方法包括手术清创和抗生素治疗,但长期使用抗生素可能导致耐药菌定植和其他不良反应,为临床治疗带来了困难^[10-11]。大肠埃希菌亦是肛周脓肿主要的病原菌,目前针对肛周脓肿采用的方法仍然是以切开引流为主,抗生素的应用增加了产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)细菌的产生,而 ESBLs 大肠埃希菌对头孢类耐药率的增长最为突出^[12-15]。大肠埃希菌对大部分抗菌药物的耐药率维持在较高水平,且多药耐药现象越来越严重,亟需找到减少抗生素应用的方法^[16]。有研究表明,PRP 具有抗菌特性,其在抑制金黄色葡萄球菌、表

皮葡萄球菌、无乳链球菌以及大肠埃希菌等细菌的生长都有抑制作用,PRP的抗菌性能已被证实对耐药革兰阴性细菌具有更有效的抑菌作用^[17-18]。目前,国内尚无文献报道,国外也鲜有研究,有报道称自体PRP在肛周克罗恩病患者的治疗中是安全有效的^[19-20]。未来治疗若采用传统治疗方法联合自体PRP注射,或将传统治疗、PRP与抗生素联合应用可能是治疗肛周脓肿的新方向。

新兴的PRP和其他血小板衍生制品是除抗生素治疗、清创、负压伤口治疗、高压氧治疗和其他治疗方案外有希望替代治疗糖尿病足感染的工具^[21]。而利用PRP的抗菌性能联合抗生素在治疗感染性骨缺损、慢性创面等均在临床应用中取得了较好的效果^[22-23]。研究表明,PRP与抗生素具有协同作用,在治疗抗生素耐药菌时具有独特优势,但其抗菌强度短效,弱于抗生素,二者的协同作用提示它们可以一起用于治疗细菌感染^[24]。本研究将PRP与抗生素联合应用探讨体外抑菌情况,并表明PRP与头孢唑辛钠联合应用能够抑制大肠埃希菌生长,并在一定程度上减少抗生素的使用,为临床治疗提供相关理论参考。

PRP在预防和治疗感染方面的应用前景广阔,但是由于个体和疾病种类之间存在差异,PRP治疗感染方面是否有效,目前相关报道仍然存在可变性。如一项荟萃研究表明,PRP与安慰剂在感染发生率之间的差异无统计学意义^[25]。因而,仍需基础实验和动物研究为PRP作为抗菌剂提供理论依据,以明确PRP在特定疾病以及各类型创面中的作用。而局部应用自体PRP治疗安全有效,在减少抗生素的剂量、使用频率和使用时间方面意义重大,是一种控制耐药多病原体的合适选择。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Lin MY, Lin CS, Hu S, et al. Progress in the Use of Platelet-rich Plasma in Aesthetic and Medical Dermatology [J]. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2020, 13(8):28-35.
- [2] Wu PI, Diaz R, Borg-Stein J. Platelet-Rich Plasma[J]. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 2016, 27(4):825-853.
- [3] 江琰笛,张勇,陶崑,等.慢性感染性创面分离的多重耐药菌分布研究[J]. *中国消毒学杂志*, 2020, 37(8):570-572.
- [4] 王灿灿.创面感染病原微生物种类及分布对临床抗生素应用的影响[J]. *实用医技杂志*, 2022, 29(6):646-650.
- [5] 吴日钊,霍景山,刘海燕,等.富血小板血浆对MRSA的体外抑菌作用研究[J]. *中国医药科学*, 2020, 10(9):198-202.
- [6] Chen L, Wang C, Liu H, et al. Antibacterial effect of autologous platelet-rich gel derived from subjects with diabetic dermal ulcers in vitro [J]. *J Diabetes Res*, 2013, 2013:269527.
- [7] Hasiba-Pappas SK, Tuca AC, Luze H, et al. Platelet-Rich Plasma in Plastic Surgery: A Systematic Review [J]. *Transfus Med Hemother*, 2022, 49(3):129-142.
- [8] Smith OJ, Wicaksana A, Davidson D, et al. An evaluation of the bacteriostatic effect of platelet-rich plasma [J]. *Int Wound J*, 2021, 18(4):448-456.
- [9] 任少强,杨静,闫萍,等.177例慢性难愈性创面病原体感染现状及耐药性的回顾分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(15):2348-2352.
- [10] 孙永宁,石莉娜,张丹晨,等.骨科创面感染产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌的耐药性及产酶因素分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(11):1670-1673.
- [11] Tang R, Wang S, Yang J, et al. Application of platelet-rich plasma in traumatic bone infections [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2021, 19(7):867-875.
- [12] 高强,唐晶.肛周脓肿病原菌分布及对抗菌药物的耐药性分析[J]. *中国医学创新*, 2022, 19(13):161-165.
- [13] 宋思惠,秦建平.肛周脓肿的诊治进展[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(32):47-50.
- [14] 柴瑞琪,樊志敏.345例首发肛周脓肿患者脓液中病原菌分布及耐药性分析[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2018, 5(28):45-46.
- [15] 俞善春.293株大肠埃希菌临床分布及耐药性分析[J]. *安徽医学*, 2022, 21(1):92-94.
- [16] 菅记涌,解泽强,全秀秀,等.大肠埃希菌临床分布和耐药性变化[J]. *临床血液学杂志*, 2017, 30(4):263-266.
- [17] Attili AR, Iacoucci C, Serri E, et al. Antibacterial Properties of Canine Platelet-Rich Plasma and Other Non-Transfusional Hemo-Components: An in vitro Study [J]. *Front Vet Sci*, 2021, 8:746809.
- [18] Maghsoudi O, Ranjbar R, Mirjalili SH, et al. Inhibitory Activities of Platelet-Rich and Platelet-Poor Plasma on the Growth of Pathogenic Bacteria [J]. *Iran J Pathol*, 2017, 12(1):79-87.
- [19] de la Portilla F, Jiménez-Salido A, Araujo-Míguez A, et al. Autologous Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Perianal Fistula in Crohn's Disease [J]. *J Gastrointest Surg*, 2020, 24(12):2814-2821.
- [20] Göttgens KW, Smeets RR, Stassen LP, et al. Treatment of Crohn's disease-related high perianal fistulas combining the mucosa advancement flap with platelet-rich plasma: a pilot study [J]. *Tech Coloproctol*, 2015, 19(8):455-459.
- [21] Çetinkaya RA, Yenilmez E, Petrone P, et al. Platelet-rich plasma as an additional therapeutic option for infected wounds with multi-drug resistant bacteria: in vitro antibacterial activity study [J]. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2019, 45(3):555-565.

地中海贫血患者发生慢性肾病的临床特征与风险评估

葛艳芬¹ 赵越¹ 刘均如¹ 李文敏¹ 沈璐桦¹ 林婷¹

[摘要] **目的:**分析地中海贫血(简称地贫)与慢性肾病的相关性,并对地贫患者发生慢性肾病进行风险评估,为临床诊断提供参考依据。**方法:**收集 2019 年 1 月—2021 年 12 月广东省人民医院肾内病区及门诊、妇产科与遗传优生门诊已检测地贫项目地贫慢性肾病、非地贫慢性肾病与地贫非慢性肾病患者共 220 例的信息资料及临床检验数据,并采用 SPSS 22.0 统计软件分析地贫与慢性肾病的相关性;地贫慢性肾病、非地贫慢性肾病与地贫非慢性肾病的指标分析。**结果:**地贫与慢性肾病间存在相关性,其是导致慢性肾病发生的独立影响因素($OR = 1.75, P < 0.001$),地贫患者发生慢性肾病的风险性大于非地贫患者。地贫慢性肾病与非地贫慢性肾病患者红细胞、血红蛋白、平均红细胞体积、铁蛋白比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);地贫慢性肾病与地贫非慢性肾病的血红蛋白、白蛋白、尿素、肌酐等指标比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。2 种不同基因型 α 和 β 地贫患者发生慢性肾病的风险性差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**地贫患者可能是导致其慢性肾病发生的危险因素,其患慢性肾病的风险性较大,要定期监测患者各项相关指标,从而达到早防治的目的。

[关键词] 地中海贫血;慢性肾病;相关性;风险评估;指标分析

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.04.011

[中图分类号] R556 **[文献标志码]** A

Clinical characteristics and risk assessment of chronic kidney disease in patients with thalassemia

GE Yanfen ZHAO Yue LIU Junru LI Wenmin XIAN Luhua LIN Ting

(Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial People's Hospital [Guangdong Academy of Medical Sciences] Southern Medical University, Guangzhou, 510080, China)

Abstract Objective: To analyze the correlation between thalassemia and chronic nephropathy, and evaluate the risk of thalassemia patients with chronic nephropathy, so as to provide reference for clinical diagnosis. **Methods:** The clinical data of 220 patients with chronic kidney disease of thalassemia, chronic kidney disease of non-thalassemia and non chronic kidney disease of thalassemia who had been tested for thalassemia in nephrology and outpatient department, obstetrics and gynecology department and genetic prenatal outpatient department were collected from January 2019 to December 2021, and SPSS 22.0 was used for analysis. **Results:** There was a correlation between thalassemia and chronic nephropathy, which was an independent factor leading to chronic nephropathy ($OR = 1.75, P < 0.001$), and the risk of chronic nephropathy in thalassemia patients was greater than that in non-thalassemia patients. There were statistically significant differences in RBC, HGB, MCV, Ferr between patients with thalassemia chronic nephropathy and non-thalassemia chronic nephropathy ($P < 0.05$). HGB, ALB, Urea, CREA of thalassemia non-chronic nephropathy patients were significant than those of the control group ($P < 0.05$). There was no difference in the risk of chronic nephropathy patients between genotypes of α and β thalassemia ($P > 0.05$). **Conclusion:** Thalassemia patients may be a risk factor for the occurrence of chronic nephropathy. Clinicians need to raise awareness and regularly monitor the relevant indicators of patients, so as to achieve the purpose of early prevention and treatment.

Key words thalassemia; chronic nephropathy; correlation; risk assessment; indicator analysis

¹南方医科大学附属广东省人民医院(广东省医学科学院)检验科(广州,510080)

引用本文:葛艳芬,赵越,刘均如,等.地中海贫血患者发生慢性肾病的临床特征与风险评估[J].临床血液学杂志,2023,36(4):274-278. DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.04.011.

- [22] 费军,薛超.富血小板血浆负载抗生素联合 Masquelet 技术治疗感染性骨缺损的相关问题[J].中华创伤杂志,2021,37(4):295-300.
- [23] 赵东军,王晗,杨森,等.抗生素骨水泥填充技术联合自体富血小板血浆对慢性创面修复效果及病人生活质量的影响[J].安徽医药,2022,26(8):1558-1561.
- [24] Zhang W, Guo Y, Kuss M, et al. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Tissue Infection: Preparation and Clinical Evaluation[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2019,

25(3):225-236.

- [25] Li FX, Li Y, Qiao CW, et al. Topical use of platelet-rich plasma can improve the clinical outcomes after total knee arthroplasty: A systematic review and meta-analysis of 1316 patients[J]. Int J Surg, 2017, 38: 109-116.

(收稿日期:2022-08-29)

(本文编辑:叶莎)