

和相关细胞因子,其还能对抗 H1 受体的激活^[13-14]。应用双氯芬酸钠滴眼液 30 min 后,药物能良好浸润分布到眼组织内,其中以结膜及角膜浓度最高。其与类固醇激素作用机制不同,但效果相近,抗炎活性强,而在抑制前列腺素生成的方面远远超过类固醇激素。临床实验和动物实验证实,双氯芬酸钠安全有效、无刺激、不会引起眼压升高等不良反应,可以长期使用。

人工泪液是治疗干眼症的临床常用的替代疗法。其主要成分为透明质酸钠,具有保持眼部湿润、促进细胞修复、改善术后泪膜稳定性的作用^[15]。重建泪膜的光滑层,消除角膜表面的不规则散光,大大改善干眼症患者的视觉质量。对于白内障术后的干眼症,如眼干眼涩、异物感、烧灼感等也有缓解作用。作用机制为短期即可在角膜表面形成光滑规则的泪膜层,提高患者的对比敏感度 20%~40%。

本试验研究结果显示,双氯芬酸钠联合人工泪液使用和单纯使用人工泪液比较,在用药早期,患者的症状和各项指标差异不明显。但用药 14 d 后,联合使用较单纯使用患者眼部的自觉症状、泪膜破裂时间及角膜荧光素钠染色等改善明显,但是 Schirmer I test 变化不明显。因此,针对白内障术后的干眼症患者进行治疗时,非甾体类抗炎药联合人工泪液的应用可以有效减轻干眼症状及缩短治疗疗程。接下来还需长时间、大样本量的临床试验观察进一步证实非甾体类抗炎药物在干眼症治疗中的作用。

综上所述,本研究证实,双氯芬酸钠联合人工泪液滴眼液治疗白内障术后干眼症患者的临床疗效明显优于单纯使用人工泪液治疗,可以有效减少术后炎性渗出,有利于患者术后视功能质量的提高,促进患者术后的早期恢复,对于白内障术后临床治疗干眼症具有指导意义,值得进一步推广。

参考文献

[1] 蒋琤.干眼症患者的临床特征及疗效分析[J].国际眼科杂志,2010,10(8):1631-1632.
[2] 郑开兰.微切口超声乳化白内障手术的临床效果[J].局解手术学杂志,2012,21(6):644-646.
[3] 朱俊东,谢丽莲,陈文芳.白内障超声乳化术的并发症及处理[J].国际眼科杂志,2013,13(1):88-91.

[4] 赵堪兴,杨培增.眼科学[M].北京:人民卫生出版社,2008:80.
[5] 从晨阳,毕宏生,温颖.干眼症发病机制和治疗方法的研究进展[J].国际眼科杂志,2012,12(3):464-465.
[6] 王晓博,王静,赵晓萍,等.371 例干眼症患者临床特征调查分析[J].医学信息,2013,26(4):102.
[7] 郑金华,李志敏.睑板腺按摩联合普拉洛芬治疗干眼症 69 例疗效观察[J].贵州医药,2012,36(4):322-323.
[8] 沙代提·尔西丁.眼科门诊干眼症患病原因初步调查及结果分析[J].中国医药科学,2012,2(18):132-134.
[9] Brown SM,Bradley JC. The effect of autologous serum eye drops in the treatment of severe dry eye disease: A prospective randomized casecontrol study[J]. Am J Ophthalmol,2005,140(3):565-566.
[10] Ridder WH,LaMotte J,Hall JQ,et al. Contrast sensitivity and tear layer abeometry in dry eye patients[J]. Optom Vis Sci,2009,86(9):1059-1068.
[11] 张梅,陈家祺,刘祖国,等.干眼患者 115 例的临床特点分析[J].中华眼科杂志,2003,39(1):5-9.
[12] Wase T,Nishi Y,Oveson BC,et al . Hydrophobic versus doublesquare-edged hydrophilic foldable acrylic intraocular lens: effect on posterior capsule opacification [J]. J Cataract Refract Surg,2010,37(6):1060-1068.
[13] Marsh P,Pflugfelder SC. Topical nonpreserved methylprednisolone therapy for kerato-conjunctivitis sicca in Sjogren syndrome [J]. Ophthalmology, 1999, 106 (4): 811.
[14] Brewitt H, Sistani F. Dry eye disease: the scale of the problem[J]. Surv Ophthalmol,2001,45(S2):199-202.
[15] Granet I,IjchIenstein SJ,onofrey B,et al. An assessment of the Tolerability of moxifloxacin 0. 5% compared to azithromycin 1. 0% in durasite[J]. Clin Ophfhalmol,2007,1(4):519-525.

(收稿日期:2015-03-25 修回日期:2015-05-15)

• 临床探讨 •

教学用兔抗人全免疫血清的制备与效价测定*

张淑莉¹,武永红¹,张 琪²,李素芬³(1.西安医学院医学技术系检验中心 710021;2.陕西省核工业 417 医院,西安 710600;3.陕西省地方病研究所,西安 710003)

【摘要】 目的 探讨制备高效价兔抗人免疫血清的方法。方法 将人全血清经弗氏佐剂完全乳化,采用一定的免疫程序免疫家兔,末次加强免疫 5 d 后收集兔免疫血清,利用双向免疫扩散实验、对流免疫电泳和间接酶联免疫吸附法分别测定血清中抗体的效价。结果 家兔在全程免疫后产生了高效价抗体,效价分别达到了 1:16、1:8、1:64 000。结论 用人全血清免疫家兔,可以获得高效价的抗血清,为进一步实验教学和实验研究奠定了基础。

【关键词】 兔抗人免疫血清; 制备; 效价; 教学

DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 15. 056 文献标志码: A 文章编号:1672-9455(2015)15-2267-03

用人工免疫的方法,将抗原物质(人全血清)注入动物体(家兔)内,可刺激动物产生特异性抗体,再经多次复种后,抗体

的效价明显提高,采集其动物血液,分离析出血清,即为兔抗人免疫血清(抗体)。免疫血清的制备是一项常用的免疫学实验

* 基金项目:西安医学院校级科研基金大学生科研项目(11DXS11)。

技术,动物免疫血清也是在医学教学中,特别是在《临床免疫学与检验》实验教学中,例如沉淀实验、琼脂扩散实验(单向琼脂扩散实验、双向琼脂扩散实验)、免疫电泳实验等经常要用到的试剂,但目前市场购买到的免疫血清价格昂贵,且效价也不高,为保证实验课的教学质量,笔者选取人全血清免疫家兔,以获取较高效价的人全免疫抗血清,并取得了较好效果,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与器材

1.1.1 实验动物 健康雄性家兔 6 只,由第四军医大学实验动物中心提供,体质量 2~3 kg,年龄 8 个月,无免疫接种史,作好标记后分笼饲养。

1.1.2 主要试剂 弗氏完全佐剂,生理盐水,3%戊巴比妥钠溶液,1.5%琼脂溶液,0.05 mol/L 的碳酸盐缓冲液(pH9.6),0.05%PBST 溶液(pH7.4),1%牛血清清蛋白(BSA),酶标二抗(HRP-羊抗兔 Ab),TMB 底物溶液(A 液,B 液),终止液。

1.1.3 设备与器材 冰箱,离心机,恒温水浴箱,电泳仪,微量加样器,大剪刀(剪兔毛),止血钳,眼科手术剪(剪动脉血管),灭菌三角烧瓶,动脉导管,吸管,打孔器,载玻片,湿盒,兔解剖台,三通管,20 mL 注射器,纱布,聚苯乙烯微量反应孔等。

1.2 抗原的制备

1.2.1 人全血清抗原 混合健康人血清 20 份,其中要包括 A、B、AB、O 所有血型。人全血清乳化前用无菌生理盐水作 1:2 稀释共 10 mL。

1.2.2 佐剂抗原的制备 取弗氏完全佐剂 10 mL,加等体积稀释混合人全血清进行搅拌乳化,即用 1 个三通管的两端连接 2 个 20 mL 注射器,2 个注射器分别吸入弗氏完全佐剂和混合血清后,然后来回推注多次,使之成为乳白色黏稠的油包水乳剂。乳化剂的鉴定:将 1 滴乳化剂滴入冷水中,立刻扩散开,则为未乳化好,如果保持完整不分散,呈滴状悬浮于水面,则为乳化完全。

1.3 免疫途径和程序 初次免疫:选取健康家兔 6 只,体质量 2~3 kg,分别注射制备好的加佐剂的人全血清完全抗原;第 1 次加强免疫:于基础免疫 1 周时背部皮内多点注射人全血清(不含佐剂)抗原;第 2、3 次加强免疫,均为耳缘静脉注射人全血清(不含佐剂)抗原。见表 1。

表 1 抗人全血清免疫程序

次序	日期 (天)	抗原剂量 (mL)	免疫部位及途径	免疫原类型
1	第 1 天	1.0	后足掌注射, 每侧 0.5 mL	弗氏全完佐剂 乳化抗原
2	第 7 天	1.0	背部皮内多点注射	人全血清(不含佐剂)
3	第 14 天	1.0	耳缘静脉注射	人全血清(不含佐剂)
4	第 21 天	1.0	耳缘静脉注射	人全血清(不含佐剂)

1.4 试血 在末次免疫后第 5 天试血,用无菌注射器在家兔耳缘静脉采血 1 mL,分离血清,37℃温育 1 h,以 3 000 r/min 离心 20 min,吸取上清置于 F 管中,初步测定双向免疫扩散实验测效价大于 1:16 时,即可收获血清。

1.5 采集免疫血清 将兔子称重,以 3%浓度的戊巴比妥钠溶液,按每公斤体质量 30 mg 剂量在耳缘静脉推注麻醉药,应一边注射一边注意观察每只兔子眼睑反射、瞳孔和呼吸的变

化,麻醉好后将免疫家兔仰面固定于兔解剖台上,头部放低,暴露颈部。剃毛并消毒皮肤。沿颈部中线用手术刀切开皮肤约 10 cm,沿气管钝性分离皮下组织,直至暴露出气管两侧的胸锁乳突肌,轻轻分离胸锁乳突肌与气管间的颈三角区疏松组织,可见淡红色搏动的颈动脉并作钝性分离,小心将颈动脉和迷走神经剥离长约 5 cm,于一侧动脉分别套入两根细线,一根在远心端,一根在近心端。远心端用细线结扎,近心端用动脉夹夹住动脉,注意勿损伤血管,用眼科小剪刀在近心端动脉壁上剪一“v”形缺口,将事先用肝素浸泡的无菌动脉导管一端插入近心端动脉中并固定,动脉导管另一端放入灭菌三角烧瓶中,然后缓缓松开动脉夹,血液很快射入到灭菌三角烧瓶中。将三角烧瓶中的血液置于 37℃,并做好标记,1 h 后置于冰箱 4℃过夜,待血块自然收缩后分离血清,分装冻存保存备用。

1.6 检测兔免疫血清效价

1.6.1 双向琼脂扩散实验测定抗血清效价 取一块干净的玻片,将已融化的琼脂(1.5%)溶液 5 mL,缓慢地平铺在玻片上,使琼脂厚度约 1.5 mm,待琼脂凝固后,用打孔器打孔(孔径 3 mm,孔间距 10 mm),呈梅花形,挑去孔内琼脂,用移液器加样,中心孔加抗原原液约 20 μL,周围各孔按顺序依次加入 20 μL 倍比稀释抗血清,抗体分别是原液,1:2,1:4,1:8,1:16,1:32,注意加样时(孔加满为止)不要外溢,不要有气泡。加完样后将载玻片置于湿盒内,放入恒温箱 37℃、扩散 24 h,观察有无沉淀线产生,以出现明显沉淀线(++)的最高稀释度作为检测血清效价。

1.6.2 对流免疫电泳实验测定抗血清效价 以 pH8.6 离子强度 0.05 mol/L 巴比妥缓冲液配成 1.5%琼脂凝胶板,厚度 1.5 mm。琼脂凝固后,用打孔器成对的打孔,孔径 3 mm,孔间距 3 mm,排距 8 mm。挑去孔内琼脂,封底。加样时一对孔中,一孔加已知抗原,另一孔加待测抗体(做系列倍比稀释分别是原液,1:2,1:4,1:8,1:16,1:32),电泳时将抗原端接负极侧,抗体端接正极侧,在电场中电泳 50 min(6 V/cm)后观察结果。

1.6.3 间接酶联免疫吸附法鉴定血清效价 (1)用包被缓冲液将抗原(新鲜人全血清)作 1:100 稀释,取 12 个反应孔,酶标板各孔中加稀释抗原 200 μL,放置 4℃过夜。第 2 天弃去孔中液体,PBST 洗涤 3 次。(2)各孔加入 1%BSA 100 μL,放置 4℃封闭过夜,甩干,PBST 洗涤 3 次。(3)各孔分别依次加入倍比稀释的待测兔抗血清 100 μL(1:500,1:1 000,1:2 000,1:4 000,1:8 000,1:16 000,1:32 000,1:64 000,1:128 000),37℃温箱孵育 1 h,PBST 洗涤 5 次。(4)每孔加入 100 μL(1:1 500 稀释)的 HRP-羊抗兔 IgG,同上孵育及洗涤。(5)每孔加入底物溶液 100 μL,室温避光静置 10 min 后,每孔加入终止液 50 μL,目测观察结果。以上方法均设有 2 个阴性对照、1 个空白对照。以阳性反应的最高稀释倍数作为免疫血清的效价。

2 结果

2.1 双向免疫扩散法鉴定结果 取琼脂板在黑色背景上观察抗原抗体孔在 1:16 血清稀释处出现清晰的白色沉淀线,所以沉淀线的最高血清稀释倍数为 1:16,证明该动物易产生特异性抗体,兔抗血清效价为 1:16,表示免疫成功。

2.2 对流免疫电泳法测定结果 对流免疫电泳结果显示在 1:8 时形成一条清晰可见沉淀线。

2.3 间接酶联免疫吸附法测定血清效价结果 在酶联免疫吸附法中,随着低稀释度到高稀释度的逐渐增大,孔内的蓝色由

深逐渐变浅,为阳性反应,并且呈现一定的梯度性,而 2 个阴性对照孔和空白对照孔没有颜色显示,为阴性结果,通过目测,免疫血清抗体的效价达到 1:64 000。

3 讨 论

3.1 《临床免疫学与检验》作为医学检验专业的主干课程,对培养检验医学人才至关重要^[1-2]。实验教学是教学工作的重要组成部分,以培养学生临床操作能力、理论联系实际、分析解决问题的能力 and 科学思维方法为目的,对实现素质教育和培养创新人才具有重要意义^[3]。

3.2 用双向扩散试验检测抗体时,此法重复性好,操作简便,不需要特别仪器设备,但灵敏度不够高,可以用对流免疫电泳试验来替代抗体的检测,提高效率与灵敏度^[4-5]。对流免疫电泳由于电场的作用,限制了抗原、抗体的自由扩散,从而使其定向泳动,因而增加了试验的灵敏度,并缩短了反应时间。酶联免疫吸附法实验灵敏度高,特异性好,在临床上得到广泛应用^[6]。但是在操作中各环节对检测效果影响较大,如抗原抗体的包被浓度、待测抗体的浓度、酶结合物浓度及试剂的质量控制等,都将会影响检测结果。

3.3 本次实验使用的人全血清作为可溶性抗原,在首次注射时加入了佐剂,使得抗原的免疫原性加强,避免了免疫耐受,本实验在 1 个月内制备出较高效价的兔抗人免疫血清,具有免疫时间短、所产生兔抗人免疫血清效价高等特点,与文献^[7-10]报道比较一致。将收集的抗血清应用于免疫学沉淀反应实验教学中,发现所得的抗血清出现的沉淀反应效果明显,从实验结果看,用人全血清免疫家兔,可以获得高效价的抗血清,为进一步实验教学和实验研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 高戈,李闻文,侯珏.初探综合性大学中医学临床免疫学教学改革与实践[J].中国免疫学杂志,2012,28(8):757-759.
- [2] 顾江,罗萍,郭刚,等.临床免疫学及检验第二课堂对培养学生 and 教师综合素质的作用[J].国际检验医学杂志,2012,33(10):1275-1276.
- [3] 秦永伟,孙伟,冯金荣,等.医学院校基础实验课教学改革探索[J].基础医学教育,2011,13(9):848-850.
- [4] 陈燕飞.抗原与免疫血清的制备[J].长治医学院学报,2006,23(2):17.
- [5] 朱振久,张冉,杨惠军,等.短程免疫法制备高效价抗血清研究[J].湖南师范大学学报:医学版,2006,1(6):67-69.
- [6] 蔡玲斐.不同免疫途径制备伤寒抗血清效价的比较[J].杭州医学高等专科学校学报,2002,23(3):106-107.
- [7] 林君荣.教学用免疫血清制备的新方法[J].黑龙江医药科学,2006,29(6):106.
- [8] 马玉红,江新泉,高佩安,等.快速制备血清方法研究[J].泰山医学院学报,2008,29(9):675-677.
- [9] 陈代娣,陈友元,蒋光清.高效价兔抗人免疫血清的制备[J].卫生职业教育,2002,20(1):93.
- [10] 郭立军,王晶,申元英,等.三种免疫血清制备方法的比较[J].大理学院学报,2004,3(5):7-8.

(收稿日期:2015-02-15 修回日期:2015-03-28)

• 临床探讨 •

护理干预对宫颈癌根治术后患者泌尿系统并发症的影响

陈敏利¹,江玉凤^{2△},吴超英¹(1.海南省三亚市人民医院新生儿科 572000;2.海南省三亚市妇幼保健院 572000)

【摘要】 目的 探讨护理干预措施对宫颈癌根治术后患者的泌尿系统并发症的影响。**方法** 选取三亚市人民医院收治的患有宫颈癌的患者 72 例,随机分为对照组 36 例和观察组 36 例,观察组患者实施术后综合护理干预,对照组患者按常规方法进行宫颈癌术后常规护理,比较 2 组患者在术后尿潴留、泌尿系感染及护理满意度的情况。**结果** 观察组患者在术后发生尿潴留及泌尿系感染的概率(8.33%、5.56%)明显低于对照组(22.22%、19.44%),差异有统计学意义($P<0.05$);观察组护理总体满意度为 100.00%,明显高于对照组的 94.44%,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 加强患者术后的护理干预,可有效减少宫颈癌根治术后患者发生泌尿系统并发症的概率,提高患者治疗满意度。

【关键词】 护理干预; 泌尿系统并发症; 宫颈癌; 根治术
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.15.057 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)15-2269-03

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤疾病,在我国女性生殖系统的发病率中居于最高,其中原位癌高发年龄常为 30~35 岁,浸润癌为 45~55 岁,近年来宫颈癌的发病率正逐渐趋向年轻化^[1-2]。手术是目前治疗本病的主要措施,常用的手术方式是采取广泛的子宫切除加盆腔淋巴结清扫术。由于该手术范围大、时间长,且需要暴露盆腔脏器较长时间,导致了术中机体组织损伤和术后多项并发症的发生,尤其是术后患者的泌尿系统并发症一直处于较高的发生率。本文旨在探讨护理干预对宫

颈癌根治术后患者泌尿系统感染和尿潴留等并发症的影响,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 3 月至 2012 年 6 月三亚市人民医院妇产科收治的早期宫颈癌患者 72 例,所有患者在术前均经组织病理检查确诊为宫颈癌。将 72 例患者按随机数字法分为对照组 36 例和观察组 36 例,其中对照组患者年龄 31~60 岁,平均(44.9±1.4)岁,平均体质量(63.6±8.5)kg;观察组患

△ 通讯作者, E-mail:346786137@qq.com。