

· 论 著 ·

# 宁血饮对 ITP 模型小鼠血小板系统和免疫功能的影响<sup>\*</sup>

杨艳梅<sup>1</sup>,熊德上<sup>1△</sup>,徐酉华<sup>2</sup>,于 洁<sup>2</sup>,戴碧涛<sup>2</sup>

(重庆医科大学:1. 中医药学院 400016;2. 附属儿童医院 400014)

**摘 要:**目的 观察宁血饮对特发性血小板减少性紫癜(ITP)模型小鼠血小板系统及免疫功能的影响。方法 建立 ITP 模型小鼠,并分为空白对照组,模型组,血小板胶囊组,宁血饮高、低剂量组,每组 12 只。于造模后第 7 天开始分组给药,连续给药 8 d。检测各组血小板计数,外周血 T 淋巴细胞亚群、血小板相关抗体,骨髓巨核细胞计数和产板巨核细胞计数等,称脾脏质量,计算脾脏系数。结果 宁血饮高剂量组血小板计数升高,骨髓巨核细胞计数减少,产板巨核细胞计数增多,血小板相关抗体水平降低,脾脏质量及脾脏系数减少,T 淋巴细胞亚群失调得到改善,与模型组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。升血小板胶囊组血小板计数升高,骨髓巨核细胞计数减少,产板巨核细胞计数增多,与模型组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。宁血饮低剂量组血小板系统有所改善,但与模型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 宁血饮高剂量对 ITP 模型小鼠血小板系统和免疫相关指标的异常有明显改善、调节作用,而升血小板胶囊仅能改善血小板系统,宁血饮低剂量则无明显影响。

**关键词:**紫癜,血小板减少性,特发性;小鼠;血小板;免疫

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.22.006

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)22-2199-03

## Effects of Ningxueyin on platelet system and immune function of mice in ITP model<sup>\*</sup>

Yang Yanmei<sup>1</sup>,Xiong Deshang<sup>1</sup>,Xu Youhua<sup>2</sup>,Yu Jie<sup>2</sup>,Dai Bitao<sup>2</sup>

(1. School of Traditional Chinese Medicine,Chongqing 400016,China;2. Affiliated Children's Hospital, Chongqing Medical University,Chongqing 400014,China)

**Abstract:**Objective To view the effects of Ningxueyin on platelet system and immune function of mice in idiopathic thrombocytopenic purpura(ITP) model. **Methods** The ITP model was established and the mice were divided into 5 groups: blank control group, model group, platelet capsule group, low-and high-dose Ningxueyin groups. Drugs were administrated in each group 7 days after the model was established. Platelet count, peripheral blood T lymphocyte subsets and platelet associated antibodies in peripheral blood platelet were tested. Megakaryocyte and giant middle plate were accounted; spleen was weighed and its coefficient was calculated. **Results** In high-dose Nin xue yin group, platelet count was increased, megakaryocyte count was reduced but giant middle plate count was increased. The level of platelet-associated antibodies was lower. Spleen weight and spleen coefficient were decreased. T lymphocyte subsets disorder were improved, significantly different from those of control group( $P<0.05$ ). In platelet capsule group, platelet count was increased, megakaryocyte count was reduced but giant plate count was increased, significantly different from those of control group( $P<0.05$ ). In low-dose Nin xue yin group, the platelet system was improved, but no significant difference was observed compared with the control group( $P>0.05$ ). **Conclusion** High-dosed Ningxueyin can obviously regulate the abnormality of platelet and immune-related indicators in ITP mice model. Platelet capsule can only regulate hematopoietic system while low-dosed Ning has no effect on them.

**Key words:** purpura, thrombocytopenic, idiopathic; mice; blood platelets; immunity

特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)是一种最常见的出血性疾病,以血小板减少所致的皮肤黏膜出血为临床特征<sup>[1]</sup>。宁血饮是本课题组根据中医学理论,结合多年临床经验拟定之中药复方制剂,对 ITP 有较好的临床疗效,本实验通过研究宁血饮对 ITP 模型小鼠的影响,从血小板系统和免疫功能两个方面观察该复方制剂的作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 动物、药品与试剂** 选择 BALB/C 小鼠 60 只,体质量 18~22 g,8 周龄,雌雄各半,由重庆医科大学实验动物中心提供[动物合格证号:SYXK(渝)2007-0001]。小鼠饲养和实验均在清洁级动物实验室内进行[合格证号:SCXK(渝)2007-0001]。宁血饮由土大黄、黄芩、土茯苓、黄芪、生地、北沙参、丹皮、茜草组成,其水煎剂由重庆市将军血液病研究所提供,经水煎提取,

高、低剂量分别浓缩至含生药 3.818、1.909 g/mL,灭菌瓶装;升血小板胶囊(国药准字 Z20025029)由陕西郝其军制药股份有限公司生产。主要试剂:豚鼠抗小鼠血小板血清(antiplatelet serum, APS)由莱博特利生物医学科技有限公司制备, -20℃ 冰箱保存,使用时用无菌生理盐水稀释。小鼠血小板抗体 IgG、IgA、IgM 酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒;小鼠 T 淋巴细胞亚群试剂盒; FITC-CD3、PE-CD4、TC-CD8 三色荧光素标记的单克隆抗体购于莱博特利生物医学科技有限公司。主要仪器:TEK-II 型全自动血液分析仪; Synergy HT 酶标仪由 Bio-TEK 基因有限公司生产; CX40 型 OLYMPUS 摄像显微镜; Bd Facsscan 型流式细胞仪; TGL-18C-C 高速台式离心机由上海安亭科学仪器厂生产; Sartorius 微量天平由北京赛多利斯天平有限公司生产;数码照像机;手术器材等。

<sup>\*</sup> 基金项目:重庆市卫生局立项课题(2005-B-42)。 <sup>△</sup> 通讯作者, Tel:13983013877; E-mail:225146343@qq.com。

## 1.2 方法

### 1.2.1 抗小鼠血小板血清(APS)制备

按参考文献[2]制备:

(1)取 BALB/C 小鼠,乙醚麻醉后,从小鼠心脏取全血,以 EDTA-Na2 为抗凝剂,分离血小板并漂洗,用生理盐水稀释。(2)取已分离的血小板分别与等量完全福氏佐剂和不完全福氏佐剂混合成油包水状作好抗原,以含完全福氏佐剂抗原于 0 周注射于豚鼠足掌、背及皮下至少 4 点;以含不完全福氏佐剂抗原分别于 1、2、4 周按上述相应部位及点数注射。第 5 周从豚鼠心脏取不抗凝全血,560 g×10 min 离心后取上清液,即得豚鼠抗小鼠血小板抗血清(GP-APS),并贮存于一 20 ℃ 冰箱待用。(3)参照 ELISA 加以改进,用国产冻干酶联 A 蛋白纯品代替碱性磷酸酶-蛋白 A 酶标抗体检测抗血清效价。(4)将 APS 从一 20 ℃ 中取出,置 56 ℃ 水浴 30 min,用等量 BALB/C 小鼠红细胞吸附至少 2 次,用生理盐水稀释成 1:4 浓度 APS 待用。

**1.2.2 造模与分组** 将 BALB/C 小鼠 60 只,按血小板计数随机分为空白对照组,模型组,升血小板胶囊组,宁血饮高、低剂量组 5 组,每组 12 只。空白对照组常规饲养,其他组于第 1、3、5、7、9、11、13 天,按照 100 μL/20 g 剂量小鼠腹腔注射 1:4 稀释的 APS,以维持血小板持续低水平。造模后第 7 天:(1)空白对照组灌服生理盐水,按 0.2 mL/10 g 体质量剂量灌胃,每日 1 次;(2)模型组灌服生理盐水,按 0.2 mL/10 g 体质量剂量灌胃,每日 1 次;(3)升血小板胶囊组灌服剂量为 1 g/kg,每日 1 次;(4)宁血饮高剂量组灌服宁血饮(3.818 g/mL,剂量相当于临床用药量的 20 倍),每日 1 次;(5)宁血饮低剂量组灌服宁血饮(1.909 g/mL,剂量相当于临床用药量的 10 倍),每日 1 次。连续灌胃 8 d。

**1.2.3 观测指标及检测方法** (1)一般情况:观察实验中小鼠的精神活动状况、皮肤黏膜出血状况、皮毛光泽度、进食量、饮水量、大小便和死亡情况等;(2)血小板计数:分别于造模前、给药前、给药第 8 天采用断尾法取全血,用全自动血分析仪检测血小板;(3)骨髓巨核细胞和产板巨核细胞计数:处死小鼠后,迅速剥离股骨,取股骨骨髓,用 25 μL 小牛血清混匀,迅速涂片,风干后行瑞氏染色,光学显微镜下观察巨核细胞及产板巨核细胞;(4)外周血血小板相关抗体(platelet-associated antibody,PA)-Ig(A、M、G)检测:按照 ELISA 试剂盒说明书用双抗体酶联夹心法检测;(5)脾脏大小、质量及其脏器系数:5 min 内取各组小鼠脾脏,观察并比较各组脾脏的大小,称质量然后计算脏器系数;(6)T 淋巴细胞亚群:按照试剂盒说明书操作,用流式细胞仪检测。

**1.3 统计学处理** 样本均数用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用  $F$  检验。全部数据用 SAS9.1 软件进行分析。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 空白对照组小鼠反应灵活,皮毛光亮,皮下无瘀斑、瘀点,活动力强,主动觅食,大便呈条状。模型组小鼠于注 APS 后 1 周表现为反应迟钝,皮毛干枯,皮下出现瘀斑、瘀点,活动减少,进食减少,大便稀溏等,并随造模时间延长而加重。实验结束时,给药各组上述表现均有不同程度改善。其中宁血饮高剂量组改善效果更为明显。

### 2.2 血小板系统的变化

**2.2.1 血小板计数变化** 造模第 7 天时,除空白对照组外其他组小鼠血小板计数均下降,与空白对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。给药 8 d 后,各给药组血小板计数均升高,其中宁血饮高剂量组和升血小板胶囊组的小血小板计数变化与模

型组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),尤其是宁血饮高剂量效果最为显著,见表 1。

**2.2.2 骨髓巨核细胞和产板巨核细胞计数变化** 模型组与空白对照组比较巨核细胞总数大幅度增加,产板巨核细胞数明显减少( $P<0.05$ ),提示注射 APS 后虽然小鼠骨髓巨核细胞大幅度增加,却存在成熟障碍。宁血饮高剂量组和升血小板胶囊组与模型组比较,巨核细胞总数明显减少,产板巨核细胞计数增加( $P<0.05$ ),宁血饮低剂量组与模型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),提示高剂量的宁血饮和升血小板胶囊均能改善巨核细胞的成熟障碍,从而有助于血小板的生成,见表 2。

表 1 各组小鼠血小板计数比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $\times 10^9/L$ ,  $n=12$ )

| 组别      | 血小板计数        |               |               |
|---------|--------------|---------------|---------------|
|         | 造模前          | 造模第 7 天       | 给药 8 d 后      |
| 空白对照组   | 13.08±73.81  | 707.83±78.53  | 711.50±86.11  |
| 模型组     | 720.17±74.02 | 381.25±48.48* | 375.47±45.44  |
| 升血小板胶囊组 | 710.33±66.98 | 371.08±49.97* | 479.73±51.70△ |
| 宁血饮高剂量组 | 719.75±57.86 | 383.33±49.67* | 549.18±49.83△ |
| 宁血饮低剂量组 | 714.08±56.49 | 376.50±34.02* | 400.65±24.29  |

\*: $P<0.05$ ,与空白对照组比较;△: $P<0.05$ ,与模型组比较。

表 2 各组小鼠骨髓巨核细胞计数、产板巨核细胞计数比较( $\bar{x} \pm s$ , 个,  $n=12$ )

| 组别      | 巨核细胞总数       | 产板巨核细胞计数    |
|---------|--------------|-------------|
| 空白对照组   | 69.08±6.43   | 33.75±3.55  |
| 模型组     | 144.10±8.53* | 19.10±3.09* |
| 升血小板胶囊组 | 101.45±6.33△ | 24.73±3.14△ |
| 宁血饮高剂量组 | 85.09±7.24△  | 25.36±3.20△ |
| 宁血饮低剂量组 | 109.90±9.39  | 20.20±3.51  |

\*: $P<0.05$ ,与空白对照组比较;△: $P<0.05$ ,与模型组比较。

### 2.3 免疫系统的变化

**2.3.1 PA-Ig(A、M、G)变化** 模型组与空白对照组比较血小板相关抗体明显升高( $P<0.05$ )。宁血饮高剂量组与模型组比较,血小板相关抗体均有不同程度的降低( $P<0.05$ ),其他两组与模型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),提示高剂量的宁血饮能有效减少 ITP 模型小鼠的血小板相关抗体,从而对血小板起到较好的保护作用,见表 3。

表 3 各组小鼠 PA-Ig(A、M、G)水平比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/ $10^7$  PA,  $n=12$ )

| 组别      | PA-IgG      | PA-IgA      | PA-IgM      |
|---------|-------------|-------------|-------------|
| 空白对照组   | 29.79±2.53  | 10.30±2.52  | 15.85±2.52  |
| 模型组     | 60.47±6.22* | 20.09±3.77* | 30.59±3.06* |
| 升血小板胶囊组 | 56.38±5.74  | 20.72±3.53  | 30.43±3.35  |
| 宁血饮高剂量组 | 53.11±5.48△ | 14.73±2.73△ | 25.27±3.81△ |
| 宁血饮低剂量组 | 58.98±4.68  | 19.89±2.54  | 27.97±3.26  |

\*: $P<0.05$ ,与空白对照组比较;△: $P<0.05$ ,与模型组比较。

**2.3.2 脾脏大小、重量及其脏器系数的变化** 实验各组小鼠的脾脏与空白对照组比较,均可见不同程度的增大,模型组尤甚。模型组与空白对照组比较脾脏质量及其脏器系数均明显增大( $P<0.05$ ),提示注射 APS 后引起小鼠脾脏的病理改变与人类 ITP 疾病相似。宁血饮高剂量组与模型组比较,脾脏明显缩小,质量及其脏器系数均明显减小( $P<0.05$ ),其他两组与模型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),提示高剂量的宁血饮可以缓解 ITP 模型小鼠脾脏的增大,见表 4。

表 4 各组小鼠脾脏质量以及脾脏系数的比较( $\bar{x}\pm s,n=12$ )

| 组别      | 脾脏质量(mg)     | 脾脏系数(mg/10 g) |
|---------|--------------|---------------|
| 空白对照组   | 134.15±6.69  | 60.47±4.81    |
| 模型组     | 247.10±5.67* | 133.51±5.83*  |
| 升血小板胶囊组 | 243.40±6.46  | 127.75±7.17   |
| 宁血饮高剂量组 | 239.18±4.24△ | 118.49±3.78△  |
| 宁血饮低剂量组 | 245.31±6.17  | 127.41±6.44   |

\*:  $P<0.05$ ,与空白对照组比较;△:  $P<0.05$ ,与模型组比较。

表 5 各组小鼠 T 淋巴细胞亚群变化比较( $\bar{x}\pm s,n=12$ )

| 组别      | CD3 <sup>+</sup> (%) | CD4 <sup>+</sup> (%) | CD8 <sup>+</sup> (%) | CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> |
|---------|----------------------|----------------------|----------------------|------------------------------------|
| 空白对照组   | 56.26±5.14           | 44.44±4.17           | 21.92±4.45           | 2.12±0.55                          |
| 模型组     | 49.31±3.82*          | 36.09±2.25*          | 25.70±2.23*          | 1.42±0.16*                         |
| 升血小板胶囊组 | 50.99±3.30           | 37.36±3.40           | 24.75±3.13           | 1.53±0.23                          |
| 宁血饮高剂量组 | 53.18±3.20△          | 40.46±4.33△          | 22.64±2.84△          | 1.72±0.33△                         |
| 宁血饮低剂量组 | 48.84±3.96           | 36.31±2.44           | 24.58±3.07           | 1.50±0.21                          |

\*:  $P<0.05$ ,与空白对照组比较;△:  $P<0.05$ ,与模型组比较。

3 讨 论

ITP 是一种获得性自身免疫性疾病,是临床常见的、以出血和血小板减少为主要表现的一组免疫综合征,主要与体液免疫、细胞免疫功能有关<sup>[3]</sup>。ITP 虽然在祖国医学中没有与之完全对应的病名,但根据皮肤紫癜及各部位的出血症状,应归属于“血证”范畴。本课题组根据中医理论,结合多年的临床经验,拟方宁血饮。该方清热解毒除湿、凉血化淤以治标,滋阴以治本,标本兼顾;并且现代药理证明,方中用药土大黄有增强毛细血管抵抗力和促进骨髓制造血小板的功效,黄芪、土茯苓、黄芩有调节免疫系统的作用<sup>[4-6]</sup>。血小板数量减少可导致不同程度出血与出血时间延长,ITP 的治疗目的是使患者血小板计数提高到安全水平,防止严重出血<sup>[7]</sup>。该实验发现高剂量宁血饮能显著提升血小板计数,从而明显缓解 ITP 模型小鼠的皮肤出血症状。造成血小板计数减少的原因主要有两个:(1)骨髓巨核细胞成熟障碍,导致血小板产生减少;(2)ITP 患者免疫功能紊乱,产生大量抗血小板抗体,从而导致血小板破坏增多。该实验发现高剂量宁血饮能显著减少骨髓巨核细胞计数,同时促进其成熟,使产板巨核细胞计数增加。PA-Ig 在 ITP 的发病机制中起主要作用,并被列为诊断 ITP 的标准之一<sup>[8]</sup>,80%以上 ITP 患者 PA-Ig 阳性,对 ITP 的诊断有较高的敏感性<sup>[9]</sup>。ITP 患者自身免疫功能异常,导致血液中产生 PA-Ig,使血小板破坏增加,导致出血<sup>[10]</sup>。本实验结果显示,高剂量宁血饮对 ITP 模型小鼠的 PA-Ig(G、A、)M 的升高均有不同程度的改善。体外培养证实,脾是 ITP 患者 PA-Ig 的产生部位,并且外周血中血小板 1/3 滞留于脾,与 PA-Ig 结合的血小板,其表面形状发生改变,增加了血小板在脾的滞留时间及被单核-巨噬细胞清除的可能性<sup>[11]</sup>。其消除率与 PA-IgG 含量呈正相关<sup>[12]</sup>。正常情况下,脾小结很少,引起体液免疫应答时淋巴小结大量增多,体积增大<sup>[13]</sup>。本实验结果显示,高剂量宁血饮能有效缩小 ITP 模型小鼠肿大的脾脏,减轻其质量,从而对脾脏起到保护作用,并减少对血小板的破坏。既往研究发现,自身免疫性疾病与机体免疫平衡失调有关。免疫细胞中辅助 T 细胞和抑制 T 细胞相互制约、相互调节决定着机体内环境的平

衡及是否发生免疫反应。大量临床研究资料显示,ITP 患者外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 均显著低于正常对照组,CD8<sup>+</sup> 百分比则明显升高,辅助 T 细胞和抑制 T 细胞亚群比例失调。ITP 患者不仅存在体液免疫紊乱,同时存在细胞免疫功能异常。T 淋巴细胞亚群与 ITP 的发生、发展密切相关<sup>[14]</sup>。本实验结果与文献报道相似,并且发现高剂量宁血饮能提高 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>,降低 CD8<sup>+</sup> 百分比,提示宁血饮的疗效机制可能与调节细胞免疫有关。

2.3.3 T 淋巴细胞亚群变化 模型组与空白对照组比较 CD8<sup>+</sup> 明显升高,CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 明显降低( $P<0.05$ ),提示给小鼠注射 APS 后会造成 T 淋巴细胞亚群失调。宁血饮高剂量组与模型组比较,CD8<sup>+</sup> 降低,CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 升高( $P<0.05$ ),其他两组与模型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),提示高剂量的宁血饮对 ITP 模型小鼠的 T 淋巴细胞亚群失调有较好的调节作用,见表 5。

综上所述,宁血饮对 ITP 的影响主要是促进血小板的生成、减少其破坏以及调节紊乱的免疫状态,其药效的作用与药物剂量有密切的关系。

参考文献:

[1] 田子道,罗云,娄世锋.大剂量地塞米松冲击治疗特发性血小板减少性紫癜的临床观察[J].重庆医学,2008,37(19):2257-2258.

[2] 杨宇飞,周霭祥,麻柔.免疫性血小板减少性紫癜动物模型的建立[J].中华血液学杂志,1994,15(3):160-162.

[3] 张保红,肖克安,韩延凤.大剂量丙种球蛋白联合糖皮质激素治疗特发性血小板减少性紫癜的临床观察[J].中国医药指南,2008,6(16):42-43.

[4] 李庆.黄芪的药理药效研究进展[J].中国医药导报,2006,3(11):128-129.

[5] 陈红梅,秀兰,吴占全.土茯苓的化学与药理研究进展[J].中华民族医药杂志,2008,14(11):71-73.

[6] 徐玉田.黄芩的化学成分及现代药理作用研究进展[J].光明中医,2010,25(3):544-545.

[7] 肖菲菲.大剂量地塞米松联合亚临床剂量静丙球治疗 ITP 20 例分析[J].中国实用医药,2008,3(36):175.

[8] Yildirmak Y,Yanikkaya-Demirel G,Palanduz A,et al. Anti-platelet antibodies and their correlation with clinical findings in childhood immune thrombocytopenic purpura[J]. Acta Haematol,2005,113(2):109-112. (下转第 2205 页)

的处理前、后 MIC 值进行统计学分析,差异均较显著。经查阅文献,SDS 对整合子的干扰机制尚无报道,故有待于进一步的探讨。

参考文献:

[1] 胡静,姚云清,傅静亦,等. 2005~2007 年医院病原学分布和耐药性分析[J]. 重庆医学,2009,38(7):811-814.

[2] Saeed MA,Haq A,Ali A,et al. Relationship of drug resistance to phylogenetic groups of *E. coli* isolates from wound infections[J]. Infect Dev Ctries,2009,3(9):667-670.

[3] 顾兵,童明庆,刘根焰,等. 整合子介导大肠埃希菌和克雷伯菌重耐药机制的研究[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(8):725-729.

[4] 李智山,周乐翔,赵建忠,等. 大肠埃希菌 I 类整合子遗传标记研究[J]. 世界感染杂志,2008,8(2):113-114,127.

[5] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社,2006:896-912.

[6] 杨春梅,马志平,王志鹏,等. 黄连素、溴化乙锭、十二烷基硫酸钠对痢疾杆菌耐药质粒的消除作用[J]. 西北医药杂志,2000,15(2):64-65.

[7] Ahmed MO,Clegg PD,Williams NJ,et al. Antimicrobial resistance in equine faecal *Escherichia coli* isolates from North West England[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob,2010,9:12.

[8] Zhang XY,Ding LJ,Yue J. Occurrence and characteristics of class 1 and class 2 integrons in resistant *Escherichia coli* isolates from animals and farm workers in northeastern China[J]. Microb Drug Resist,2009,15(4):323-328.

[9] Yang CM,Lin MF,Lin CH,et al. Characterization of antimicrobial resistance patterns and integrons in human fecal *Escherichia coli* in Taiwan[J]. Jpn J Infect Dis,2009,62(3):177-181.

[10] Ajiboye RM,Solberg OD,Lee BM,et al. Global spread of mobile antimicrobial drug resistance determinants in human and animal *Escheria coli* and *Salmonella* strains causing community-acquired infections[J]. Clin Infect Dis,

2009,49(3):365-371.

[11] Vasilakopoulou A,Psichogiou M,Tzouvelekis L,et al. Prevalence and characterization of class 1 integrons in *Escherichia coli* of poultry and human origin[J]. Food-borne Pathog Dis,2009,6(10):1211-1218.

[12] Xu H,Su Z,Wang S,et al. Four novel resistance integron gene-cassette occurrences in bacterial isolates from Zhenjiang,China[J]. Curr Microbiol,2009,59(2):113-117.

[13] Nawaz M,Khan AA,Khan S,et al. Molecular characterization of tetracycline-resistant genes and integrons from avirulent strains of *Escherichia coli* isolated from catfish[J]. Foodborne Pathog Dis,2009,6(5):553-559.

[14] Shaheen BW,Oyarzabal OA,Boothe DM. The role of class 1 and 2 integrons in mediating antimicrobial resistance among canine and feline clinical *E. coli* isolates from the US[J]. Vet Microbiol,2010,144(3/4):363-370.

[15] Ishida Y,Ahmed AM,Mahfouz NB,et al. Molecular analysis of antimicrobial resistance in gram-negative bacteria isolated from fish farms in Egypt[J]. Vet Med Sci,2010,72(6):727-734.

[16] Verner-Jeffreys DW,Welch TJ,Schwarz T,et al. High prevalence of multidrug-tolerant bacteria and associated antimicrobial resistance genes isolated from ornamental fish and their carriage water[J]. PLoS One,2009,4(12):e8388.

[17] Krivoshein YS,Achkasova YN,Bryzgunova NI,et al. Effect of detergents on pathogenicity plasmids of *Escherichias*[J]. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol,1988,32(3):345-352.

[18] Jia AQ,Liu WH,Guo AZ,et al. Characterization of *Salmonella typhimurium* multidrug resistance and the reversal of antimicrobial resistance[J]. Wei Sheng Xue Bao,2006,46(5):789-795.

(收稿日期:2011-03-06 修回日期:2011-04-12)

(上接第 2201 页)

[9] Lin JS,Lyou YJ,Chen YJ,et al. Screening for platelet antibodies in adult idiopathic thrombocytopenic purpura: a comparative study using solid phase red cell adherence assay and flow cytometry[J]. J Chin Med Assoc,2006,69(12):569-574.

[10] 张国栋,闵捷. 细胞免疫及体液免疫在 ITP 发生发展中的作用及其机制探讨[J]. 山东医药,2007,47(17):35-36.

[11] 叶任高,陆再英,谢毅,等. 内科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2005:659.

[12] 赵增虎,黄勇,郜小兵,等. ITP 患者脾脏、骨髓的病理变

化及其与 PA-IgG 的关系[J]. 山东医药,2008,48(31):84.

[13] 王纓,夏卫军. 加味小柴胡颗粒及其组方对 ITP 模型小鼠免疫功能的影响[J]. 中国免疫学杂志,2008,24(2):131-134

[14] 林静华,蔡应木,陈彦融,等. ITP 患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化及临床意义[J]. 中国热带医学,2008,8(12):2146,2173.

(收稿日期:2011-03-09 修回日期:2011-04-22)