

HPLC法测定维生素A在健康受试者及肝硬化患者体内的血药浓度

徐凤梅^{1*}, 于美丽^{2#}, 苏瑞³, 陆伟^{3#} (1. 天津市第三中心医院药剂科, 天津 300170; 2. 天津市第三中心医院/天津市人工细胞重点实验室, 天津 300170; 3. 天津市第二人民医院/天津市肝病研究所, 天津 300192)

中图分类号 R969.4 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)35-4927-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.35.10

摘要 目的: 建立测定人血清中维生素A(VitA)浓度的方法, 并将其应用于健康受试者及肝硬化患者。方法: 血清样品经液-液萃取后, 采用高效液相色谱法测定。以维生素A醋酸酯为内标, 色谱柱为Kromasil C₁₈, 流动相为甲醇-水(98:2, V/V), 流速为1 ml/min, 检测波长为325 nm, 柱温为室温, 进样量为20 μl。结果: VitA血药浓度在0.012 4~3.210 μg/ml范围内线性关系良好($r=0.997 2, n=5$), 定量下限为0.012 4 μg/ml, 日内、日间RSD为1.66%~2.97%, 加样回收率为98.18%~99.56%, 提取回收率为89.59%~91.38%。采用该法测得24例健康受试者和24例肝硬化患者VitA的平均血药浓度分别为(0.71±0.08)、(0.28±0.06) μg/ml; 不同年龄段健康受试者与肝硬化患者VitA平均血药浓度比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论: 该方法简便、快速, 且灵敏度高、准确性好, 可用于健康受试者及肝硬化患者血清中VitA浓度的测定。

关键词 高效液相色谱法; 维生素A; 血药浓度; 肝硬化

Determination of Serum Concentration of Vitamin A in Healthy Volunteers and Hepatocirrhosis Patients by HPLC

XU Fengmei¹, YU Meili², SU Rui³, LU Wei³ (1. Dept. of Pharmacy, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China; 2. Tianjin Third Central Hospital/Tianjin Key Lab of Artificial Cells, Tianjin 300170, China; 3. Tianjin Second People's Hospital/Tianjin Institute of Liver Diseases, Tianjin 300192, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a method for the concentration determination of vitamin A (VitA) in human serum, and apply it in healthy volunteers and hepatocirrhosis patients. **METHODS:** After liquid-liquid extraction, serum sample was determined by HPLC. Using VitA acetic ester as internal standard, the separation was performed on Kromasil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (98:2, V/V) at the flow rate of 1 ml/min. The wavelength was set at 325 nm, and the column temperature was room temperature. The sample size was 20 μl. **RESULTS:** The linear range of VitA were 0.012 4-3.210 μg/ml ($r=0.997 2, n=5$), and the limit of quantification was 0.012 4 μg/ml. Inter-day and intra-day RSD ranged 1.66%-2.97%; sample recoveries were 98.18%-99.56%; extraction recoveries were 89.59%-91.38%. Average blood concentration of VitA were (0.71±0.08) μg/ml in 24 healthy volunteers and (0.28±0.06) μg/ml in 24 hepatocirrhosis patients. There was statistical significance in average blood concentration of VitA between healthy volunteers and hepatocirrhosis patients in different age groups ($P<0.05$). **CONCLUSIONS:** The method is simple, rapid, sensitive and accurate, and can be used for the concentration determination of VitA in serum of healthy volunteers and hepatocirrhosis patients.

KEYWORDS HPLC; Vitamin A; Blood concentration; Hepatocirrhosis

近年来,随着医学技术的发展,对维生素A(VitA)的应用研究有了新的发现,特别是其在抑制肿瘤生长、防治肝硬化甚至肝癌等方面有着无法估量的价值^[1]。因此,研究患者体内VitA水平显得尤为必要,这就要求建立一种简单、快速、准确、可行的方法来测定人体内VitA的血药浓度,以便及时掌握其在人体内不同时期的一般水平,为肝病患者合理化用药方案的制订和优化提供参考。目前,国际上比较认可的检测方法有3种,分别为紫外法、皂化紫外法和高效液相色谱(HPLC)法^[2-3]。本研究在已有文献的基础上,建立了测定人血清中VitA浓度的HPLC法,并采用该法检测不同年龄段健康受试者与肝硬化患者体内VitA的血药浓度,并将两者进行比较,以期为进一步探讨

VitA水平与肝硬化的相关性提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1100 Series HPLC仪,包括G1312A二元泵、G1314A可变波长紫外检测器、G1328B手动进样器、Rheodyne7725定量进样阀和Agilent HPLC系统化学工作站(美国安捷伦科技有限公司);OHAUS万分之一电子天平(上海精密科学仪器有限公司天平仪器厂);XH-C旋涡混合器(金坛市医疗仪器厂);GM-0.33H隔膜真空泵(天津市腾达过滤器件厂);ANKE TGL-16G高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 药品与试剂

VitA对照品(美国Sigma-Aldrich公司,批号:BCBG2044V,纯度>99%);维生素A醋酸酯对照品(内标,美国Supelco Analytica公司,批号:LB85983V,纯度:97.8%);无水乙醇、甲醇、正己烷为色谱纯;醋酸为分析纯。

1.3 空白血清来源

空白血清来源于天津市第三中心医院和天津市第二人民医院的健康受试者。采用一次性负压采血管采集所有受试者空腹静脉血2 ml,避光静置30 min后,以离心半径30 cm、转速1 500 r/min离心10 min,得空白血清,置于-20℃冰箱中冷

△ 基金项目:天津市卫生行业重点攻关项目(No.13KG110、14KG109);天津市卫生局科技基金项目(No.2015KY02);王宝恩肝硬化研究基金科研课题(No.CFHPC20151026)

* 副主任药师。研究方向:临床药学。电话:022-24132278。E-mail:3zxxzj@163.com

通信作者a:教授。研究方向:生物医用材料及色谱分析。电话:022-84112413。E-mail:yumeili8@163.com

通信作者b:教授。研究方向:肝胆内科。电话:022-27426301。E-mail:luwei1966@126.com

冻保存,备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(98:2, V/V);流速:1 ml/min;检测波长:325 nm;柱温:室温(±25 ℃);进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

精密量取VitA对照品适量,置于棕色量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释,配制成质量浓度为1.024 mg/ml的VitA贮备液。取VitA贮备液适量,用无水乙醇稀释,配制成质量浓度分别为6.420、3.210、1.605、0.819 2、0.409 6、0.204 8、0.050 7、0.024 8 μg/ml的系列标准溶液。所有溶液均置于4 ℃冰箱中避光保存。

精密量取内标对照品适量,置于棕色量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释,配制成质量浓度为3.944 μg/ml的内标溶液,置于4 ℃冰箱中避光保存。

2.3 血清样品的处理

精密吸取血清样品100 μl,置于1.5 ml离心管中,分别加入内标溶液100 μl和正己烷1 ml,涡旋混匀30 s,以离心半径3 cm、转速15 000 r/min离心10 min。精密吸取上层清液800 μl,用氮气流吹干,残渣用无水乙醇200 μl复溶,溶解后吸取上清液20 μl,进样分析。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 在“2.1”项色谱条件下,内源性物质对VitA和内标的测定均无明显干扰, VitA与内标分离完全,保留时间为6.944、9.945 min。HPLC图见图1。

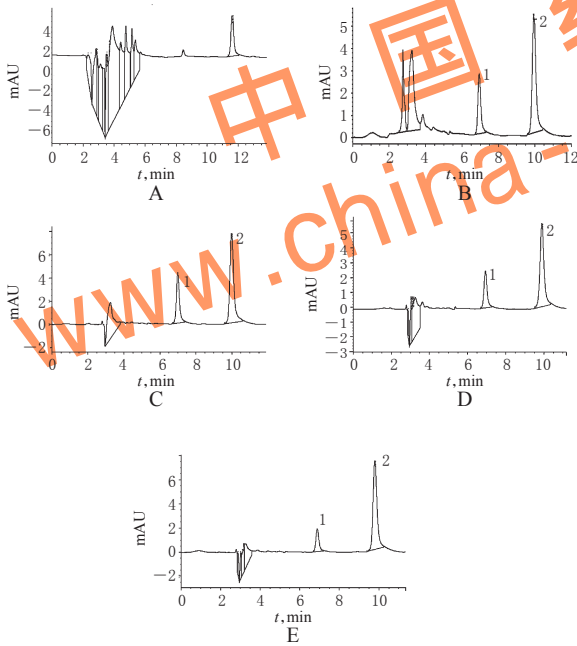


图1 高效液相色谱图

A.空白血清;B.空白血清+VitA标准溶液+内标;C. VitA标准溶液+内标;D.健康受试者血清样品+内标;E.肝硬化患者血清样品+内标;1. VitA;2.内标

Fig 1 HPLC chromatogram

A. blank serum; B. blank serum+VitA standard solution +internal standard; C. VitA standard solution+internal standard; D. serum sample of healthy subject + internal standard; E. serum sample of hepatocirrhosis subject + internal standard; 1. VitA; 2. internal standard

2.4.2 标准曲线的绘制和定量下限的考察 取“2.2”项下VitA

标准溶液各100 μl,分别加入空白血清和内标溶液各100 μl,配制成质量浓度分别为3.210、1.605、0.802 5、0.409 6、0.204 8、0.102 4、0.025 4、0.012 4 μg/ml的血清样品,按“2.3”项下方法处理后,进样分析,记录色谱图。以待测物质量浓度(x)为横坐标、待测物与内标的峰面积比值(y)为纵坐标,用最小加权二乘法(加权系数 $w=1/x^2$)进行线性回归,得回归方程为 $y=1.689 3x-0.013 6$ ($r=0.997 2, n=5$)。结果表明, VitA的血药浓度在0.012 4~3.210 μg/ml范围内线性关系良好,定量下限为0.012 4 μg/ml。

2.4.3 精密度试验 精密度以日内、日间RSD表示。分别配制高、中、低质量浓度(1.560 2、0.395 4、0.050 4 μg/ml)的VitA标准溶液,各样品每日重复进样5次,考察日内精密度;连续测定5 d,考察日间精密度。结果显示,日内RSD为1.66%~1.92%,日间RSD为2.27%~2.97%,表明该方法精密度良好。精密度试验结果见表1。

表1 精密度试验结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 1 Results of precision tests($\bar{x} \pm s, n=5$)

理论质量浓度, μg/ml	日内精密度		日间精密度	
	实测质量浓度, μg/ml	RSD, %	实测质量浓度, μg/ml	RSD, %
1.560 2	1.527 4±0.045 1	1.66	1.487 3±0.087 1	2.97
0.395 4	0.372 8±0.025 7	1.84	0.352 9±0.064 5	2.48
0.050 4	0.048 2±0.014 2	1.92	0.045 1±0.015 6	2.27

2.4.4 准确度试验 准确度以加样回收率进行验证。取等量同一血清(含VitA),分别加入适量不同质量浓度(1.560 2、0.395 4、0.050 4 μg/ml)的VitA标准溶液,配制成高、中、低质量浓度(2.212 2、1.047 4、0.702 4 μg/ml)的加标血清样品,每质量浓度分别配制5份。按“2.3”项下方法处理后,按“2.1”项下色谱条件进样分析,分别测定加标血清样品中VitA的质量浓度(c_x)和空白血清中VitA的质量浓度(c_0),加样回收率(%)= $(c_x - c_0)/c_s \times 100\%$ (c_s 为所加标准溶液的质量浓度)。结果显示,高、中、低质量浓度加标血清样品的加样回收率分别为99.56%、98.18%和98.81%(平均加样回收率为98.85%),RSD分别为3.27%、2.94%和3.01%。

2.4.5 提取回收率试验 取等量同一血清(含VitA),分别加入适量不同质量浓度(1.560 2、0.395 4、0.050 4 μg/ml)的VitA标准溶液,配制成高、中、低质量浓度(2.212 2、1.047 4、0.702 4 μg/ml)的加标血清样品,每质量浓度分别配制5份。按“2.3”项下方法处理后,进样分析,记录相应峰面积;同时测定对应质量浓度的VitA标准溶液,每质量浓度平行测定5次,记录相应峰面积。将两者峰面积进行比较,计算各样品的提取回收率。结果显示,高、中、低质量浓度加标血清样品的提取回收率分别为90.58%、89.59%和91.38%,RSD分别为3.27%、2.94%和3.01%。

2.4.6 稳定性试验 稳定性试验参照生物样品定量分析方法验证指导原则^[4]的要求,分别配制高、中、低质量浓度(2.212 2、1.047 4、0.702 4 μg/ml)的加标血清样品,每质量浓度分别配制5份,于室温下避光放置,并分别于0、2、4、6、8 h下进样测定,计算各样品的实测质量浓度,考察其稳定性。结果显示,室温放置8 h内,各样品中VitA的血药浓度变化不大,RSD为0.93%~1.38%

2.5 临床应用

选择健康受试者24例为对照组,其中男性14例,女性10例,年龄16~63岁;选择肝硬化患者24例为试验组,其中男性18例,女性6例,年龄16~68岁。两组受试者均来自于天津市第三中心医院和天津市第二人民医院。本研究方案经医院医学伦理

委员会批准,所有受试者均知情同意并签署知情同意书。

试验组所有患者均存在不同程度的脾肿大、食管静脉曲张和腹水,经临床确诊为肝硬化失代偿期。纳入标准:①年龄16~68岁;②乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性>6个月,同时血清乙型肝炎病毒(HBV)-DNA载量检测阳性;③依据临床体征、既往病史,并结合影像学 and 血常规等检查,参照2005年《慢性乙型肝炎防治指南》^[5]明确诊断为乙型肝炎后肝硬化失代偿期;④至研究结束未接受干扰素或核苷类药物抗病毒治疗的患者。排除合并甲、丙、丁、戊型肝炎和艾滋病毒感染或合并酒精性、自身免疫性、药物性肝炎者,同时排除已合并肝癌或其他系统恶性肿瘤的患者。采用上述HPLC法测定两组受试者VitA的血药浓度,采用SPSS 18.0软件处理所得数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。24例健康受试者和24例肝硬化患者VitA血药浓度测定结果见表2。

表2 24例健康受试者和24例肝硬化患者VitA血药浓度测定结果($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/ml}$)

Tab 2 Blood concentration of VitA in 24 healthy volunteers and in 24 hepatocirrhosis ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/ml}$)

组别	n	16~17岁 (n=6)	18~44岁 (n=6)	45~59岁 (n=6)	≥60岁 (n=6)	平均血药浓度 (n=24)
对照组	24	0.67±0.13	0.74±0.06	0.72±0.07	0.69±0.07	0.71±0.08
试验组	24	0.29±0.07	0.31±0.08	0.27±0.03	0.25±0.05	0.28±0.06
t		5.32	6.47	8.10	7.21	6.78
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

由表2可见,24例健康受试者和24例肝硬化患者VitA的平均血药浓度分别为(0.71±0.08)、(0.28±0.06) $\mu\text{g/ml}$;不同年龄段健康受试者VitA血药浓度与肝硬化患者比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

VitA又称视黄醇,为脂溶性维生素,大量存在于肝脏细胞中,是人体生长发育和维持机体生命活动所不可缺少的微量元素。VitA与人体正常生命活动密切相关,对其具有重要的意义。VitA在人体内不能合成,每日须从食物中获取,易出现VitA缺乏;再加之VitA缺乏并无典型的临床症状,容易被临床忽视^[6]。

VitA除具有维持正常视觉功能、维护上皮组织细胞的健康、促进免疫球蛋白的合成、维持骨骼正常生长发育、促进生长生殖和抑制肿瘤生长等作用外,还具有防治肝硬化进程及阻止肝癌发生的功能^[7-9]。近期有文献报道,连续6个月补充VitA(25 000 IU/d)可降低多发性肝硬化患者体内相关受体的表达;此外,该研究团队还发现,相对于未接受VitA治疗的多发性肝硬化患者,接受VitA治疗的患者其体内髓鞘少突细胞糖蛋白(MOG)反应性淋巴细胞数量是有所减少的,提示补充VitA可能在多发性硬化患者的治疗中具有积极作用^[9]。肝脏含储脂细胞,能够贮存大量的VitA,但当肝脏受到物理或化学伤害时,VitA会大量丢失,从而导致肝星状细胞(HSC)大量活化^[10];而VitA可通过抑制HSC的活化,抑制其向肌成纤维细胞转化^[11],有效抑制细胞外基质(ECM)的沉积,并逆转已沉积的ECM,从而减少肌成纤维细胞的形成,有效地防治了肝纤维化的发生,进而对肝硬化进程起到良好的调控作用。然而,VitA的过量摄取则会产生毒性作用,且给药时间与剂量均会对治疗产生影响^[12]。因此,对患者VitA的血药浓度进行监测,有助于医务人员及时了解其体内VitA的水平,对指导临床用药、制订合理给药方案具有极其重要的意义。

目前,国际上比较认可的VitA的检测方法有3种,分别为紫外法、皂化紫外法和HPLC法。根据VitA在紫外光区显蓝色荧光的性质,2015年版《中国药典》收录的主要测定方法为

紫外法和HPLC法。由于VitA制剂中含有稀释用油和其他杂质,采用紫外法可能会产生一定偏差,而HPLC法则可排除杂质的干扰,较好地分离杂质峰与样品峰;同时,该法可用于分析微量生物样品,且对样品破坏小,分析准确、快速^[13]。因此,VitA的血药浓度测定大多采用HPLC法^[14-15]。现国内比较常用的是外标法,以该法进行样品分析时,不必加内标物质,分析结果的准确度主要取决于进样的准确性和操作条件的稳定性;而采用内标法进行检测时,在进样量不超限(即样品不超载)的情况下,定量结果与进样量的重复性无关^[16],且只要被测组分和内标物的分离度合乎要求,即可定量,更适用于微量成分或杂质的定量分析。再加之由于微量成分(或杂质)与主成分含量相差悬殊,无法采用归一化法进行测定,故用内标法更为简便。因此,在内标物选择适当的前提下,通过样品与内标的峰面积比值来定量,能更好地消除误差,较外标法更为准确。内标法的弊端是较难选择适当的内标物,且难以确定其质量浓度。

HPLC法是检测脂溶性维生素最常用的方法,但检测VitA血药浓度的关键步骤是将其从血清中提取出来。采用固相萃取技术可去除更多的杂质,但固相萃取柱价格比较昂贵,用于大批量常规检测成本较高。本文采用液-液萃取法对样品进行前处理,成本较低;同时,改进复溶溶剂,使得色谱峰峰形更佳。选择甲醇-水(98:2, V/V)作为流动相,可使VitA的保留时间更短。在保证分离度的前提下,尽量减少分析时间,有利于临床大量样品的监测。本研究采用氮气流吹干萃取剂,以流动相作为复溶溶剂,基本消除了萃取剂对待测物的干扰,且具有较稳定的提取回收率(RSD<5%)。

本研究结果显示,不同年龄段肝硬化患者VitA血清浓度均低于健康受试者($P < 0.05$),表明当肝脏受到损伤或发生病变时,患者体内贮存的VitA会发生流失,造成血清VitA水平下降。临床治疗肝硬化等症,需及时补充VitA,而摄入过量的VitA则会导致中毒。因此,临床应根据患者体内VitA血药浓度的变化及时对给药方案进行调整。

综上,本试验所建立的HPLC法简便、快速,且灵敏度高、准确性好,可用于临床检测人血清中VitA的浓度,继而为深入研究VitA水平与肝硬化的相关性提供参考。

参考文献

- [1] 钟巍,谢渭芬. 肝纤维化治疗新策略[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(3):233.
- [2] 苏佳妍,岳青阳,于大海,等. 维生素A含量测定方法的研究[J]. 山西医药杂志,2010,39(6):557.
- [3] Schweigert FJ, Klingner J, Hurtienne A, et al. Vitamin A, carotenoid and vitamin E plasma concentrations in children from Laos in relation to sex and growth failure[J]. *Nutr J*, 2003, 2:17.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社,2015:363-368.
- [5] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南:2015年版[J]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2015,9(5):570.
- [6] 孙炜,朱晖,刁娟娟,等. 208例成人血清中维生素A、维生素E的含量检测[J]. 药学服务与研究,2013,13(1):58.
- [7] 孙增先,王海东,倪善红,等. UPLC-MS/MS法同时测定人血浆中氯吡格雷及其代谢物的浓度[J]. 中国药房,2015,26(35):4942.
- [8] 金超,邓勇,樊海宁,等. 肝纤维化的研究进展[J]. 中国现代医药杂志,2015,113(11):125.
- [9] 邱世艳,李梅,邓荆月. 维生素A与多发性硬化[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2015,9(7):1208.

我院2013—2015年烧伤患者感染的病原菌分布及耐药性分析

严炯*(无锡市第三人民医院烧伤整形科,江苏无锡 214041)

中图分类号 R826.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)35-4930-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.35.11

摘要 目的:了解我院烧伤患者感染的病原菌分布及耐药性,为临床合理使用抗菌药物提供参考。方法:采用简单随机抽样法选取2013年1月—2015年12月于我院就诊的烧伤患者389例,对其病原菌培养、鉴定及药敏试验结果进行回顾性分析。结果:我院389例烧伤患者共送检临床标本678份,有564份标本检出病原菌,阳性率为83.19%。共检出病原菌564株,其中革兰氏阴性菌367株(65.07%),以铜绿假单胞菌(158株)、大肠埃希菌(67株)、鲍曼不动杆菌(36株)和阴沟肠杆菌(31株)为主;革兰氏阳性菌177株(31.38%),以金黄色葡萄球菌(81株)、肠球菌属细菌(44株)和表皮葡萄球菌(26株)为主;真菌20株(3.55%),以白色假丝酵母菌(13株)为主。检出产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌42株(62.69%),产ESBLs肺炎克雷伯菌11株(40.74%)。革兰氏阴性菌对氨基糖苷类、 β -内酰胺类、四环素类和头孢菌素类抗菌药物的耐药率均较高;铜绿假单胞菌对硫酸粘菌素敏感,大肠埃希菌、阴沟肠杆菌和肺炎克雷伯菌对亚胺培南敏感,鲍曼不动杆菌对美罗培南敏感,耐药率均为0。革兰氏阳性菌对大多数常用抗菌药物的耐药率均较高;金黄色葡萄球菌对万古霉素敏感,表皮葡萄球菌对万古霉素、替考拉宁和米诺环素敏感,耐药率均为0。白色假丝酵母菌和热带假丝酵母菌对两性霉素B、5-氟胞嘧啶的耐药率 \leq 5%。结论:我院烧伤患者感染的主要病原菌为革兰氏阴性杆菌,以铜绿假单胞菌最为常见;主要病原菌的产酶情况和耐药情况较为严重。应进一步规范抗菌药物的临床使用,并根据病原学检查结果和患者临床症状合理选择抗菌药物。

关键词 烧伤;感染;病原菌;分布;耐药性

Analysis of Pathogen Distribution and Drug Resistance of Burn Patients in Our Hospital from 2013 to 2015
YAN Jiong(Dept. of Burns and Plastic Surgery, Wuxi Third People's Hospital, Jiangsu Wuxi 214041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the pathogen distribution and drug resistance of burn patients in our hospital, and to provide reference for rational use of antimicrobial agents in the clinic. METHODS: 389 burn patients were selected from our hospital during Jan. 2013 to Dec. 2015 by simple random sampling, and then analyzed retrospectively in respects of pathogen culture, identification and the results of sensitivity tests. RESULTS: 678 clinical specimen were collected from 389 burn patients of our hospital, 564 strains of pathogens were detected, with positive rate of 83.19%. Of 564 pathogens, there were 367 stains of Gram-negative bacteria (65.07%), mainly including *Pseudomonas aeruginosa* (158 strains), *Escherichia coli* (67 strains), *Acinetobacter baumannii* (36 strains), *Enterobacter cloacae* (31 strains); there were 177 strains of Gram-positive bacteria (31.38%), mainly including *Staphylococcus aureus* (81 strains), *Enterococcus* (44 strains) and *Staphylococcus epidermidis* (26 strains); there were 20 strains of fungus (3.55%), mainly including *Candida albicans* (13 strains). There were 42 strains of ESBLs *E. coli* (62.69%) and 11 strains of ESBLs *Klebsiella pneumoniae* (40.74%). Gram-negative bacteria were highly resistant to aminoglycosides, β -lactamase, tetracycline and cephalosporin. *P. aeruginosa* was sensitive to colistin sulphate. *E. coli*, *E. cloacae* and *K. pneumoniae* were sensitive to imipenem, *A. baumannii* was sensitive to meropenem, and their resistant rates were 0. Gram-positive bacteria were highly resistant to many common antimicrobial agents; *S. aureus* was sensitive to vancomycin, *S. epidermidis* sensitive to vancomycin, teicoplanin and minocycline, and their resistant rates were 0. Resistant rates of *C. albicans* and *C. tropicalis* to amphotericin B and 5-fluorocytosine were \leq 5%. CONCLUSIONS: Main pathogen of infection in burn patients of our hospital is Gram-negative bacteria, mainly being *P. aeruginosa*. Producing enzymes and drug resistance of main pathogens are serious. It is necessary to standardize clinical application of antimicrobial agents and choose antimicrobial agents rationally according to etiological examination and clinical symptoms.

KEYWORDS Burn; Infection; Pathogen; Distribution; Drug resistance

- [10] 王彩生,赵志清. 肝纤维化发病机制研究进展[J]. 内蒙古医学杂志, 2010, 42(3): 331.
- [11] 王伟静,谢青. 抗纤维化治疗的研究进展[J]. 肝脏, 2011, 16(1): 65.
- [12] Choi SY. Development of an educational program to prevent cervical cancer among immigrants in Korea[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(9): 5 345.
- [13] 陈东,张瑞云,杨柳桦,等. 高效液相色谱法测定微量全血中维生素A[J]. 分析实验室, 2008, 27(3): 76.
- [14] 肖志雯,曹云,周子荣. 高效液相色谱法测定人血清中维生素A的方法研究[J]. 现代预防医学, 2015, 42(4): 623.
- [15] 王娅芳,刘利亚,黄培林. 高效液相色谱法测定血浆中维生素A的测量结果的不确定度评价[J]. 卫生研究, 2011, 40(6): 768.
- [16] 马红梅. 高效液相色谱法测定血清中的视黄醇[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(11): 2 633.

* 主治医师。研究方向:烧伤整形外科。电话:0510-82607391。
E-mail: yan_wx@163.com

(收稿日期:2016-01-05 修回日期:2016-09-19)
(编辑:张元媛)