

战伤喷剂对家兔皮肤烫伤合并感染的药效学与安全性研究

巴剑波, 徐雄利, 陈双红, 王发锁

(海军医学研究所, 上海 200433)

【摘要】 目的: 验证战伤喷剂在创伤早期抗感染的效果, 以及战伤喷剂对战创伤感染发生的影响。方法: 采用烫伤合并人工感染绿脓杆菌的家兔模型, 用战伤喷剂与溶剂组于实验前和实验后第 1、2、4、7、14 天采集家兔血清, 测量体温, 检测白细胞数、血清 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 水平、血清肿瘤坏死因子水平、血清超氧阴离子等炎性因子水平以及谷丙转氨酶、碱性磷酸酶、天冬氨酸转移酶、肌苷和尿素氮等肝肾功能指标水平。结果: 实验组药效学检测指标的升高比对照组缓慢, 最终 2 组均达到较高的感染发生指标; 器官功能的安全性指标无明显变化, 且 2 组变化大致相同。结论: 战伤喷剂在创伤早期应用可以有效延迟创伤感染的发生, 但并不能阻止感染的发生或减轻感染的程度。

【关键词】 战伤喷剂; 感染; 炎性指标; 药效学; 烫伤

【中图分类号】 R826.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1009-0754(2005)01-0005-04

Research on pharmacodynamics and safety of the combat trauma spray in the treatment of skin scald with complications in rabbits

BA Jian-bo, XU Xiong-li, CHEN Shuang-hong, et al

(Naval Medical Research Institute, Shanghai 200433, China)

Abstract: Objective: To demonstrate the effect of the combat trauma spray on anti-infection in the early stage of trauma, as well as infection occurrence following trauma. **Methods:** A rabbit model was developed with scald complicated with artificial infection of *Pseudomonas aeruginosa*. Studies were carried out by using the combat trauma spray group and the solution group. At day 1, 2, 4, 7, 14, post experiments, rabbit serum was collected, the body temperatures of animals were taken, and such inflammatory factors as white cell count, serum levels of $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, serum levels of tumor necrosis factor, serum superoxide anion, as well as GPT, AKP, aspartate carbamyl transferase, urea nitrogen were also collected to measure the functions of both the kidney and liver. **Results:** The measured data of pharmacodynamics in the experimental group rose more slowly than that of the control group. However, the 2 groups all reached a rather high infection incidence. But in the safety data of organ functions, there were no significant changes, which were identical in both groups. **Conclusion:** The application of combat trauma spray in the early stage of trauma can effectively delay the occurrence of trauma infection, nevertheless, it can neither prevent infection nor alleviate the extent of infection.

Key words: combat casualty spray; infection; inflammatory factor; pharmacodynamics; scald

战伤喷剂是应用于战创伤早期, 喷涂于创口表面的高分子生物膜, 其形成正电荷生物屏障, 可以有效杀灭自然界存在的多种带负电荷的致病性细菌, 如大肠杆菌、绿脓杆菌等。为了考察战伤喷剂在战创伤早期抗感染或延缓创口感染发生中的作用, 我们利用家兔的皮肤烫伤合并感染模型, 对战伤喷剂进行药效学与安全性试验。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立^[1]

成年家兔 12 只, 体重 2.0~2.5 kg, 购自复旦大学医学院实验动物中心。经 20% 戊巴比妥钠麻醉, 家兔背部去毛备皮, 将家兔背部浸于沸水中 12 s, 造成 20% 总体表面积的 III 度烫伤, 并以生理盐水抗休克和无菌生理盐水创面擦拭除菌。用棉签蘸取 1.0×10^9 cfu/ml 的绿脓杆菌(由第二军医大学附属长海医院烧伤科提供)溶液, 均匀涂布在烫伤创面, 然后分组进行试验。

1.2 实验分组

将致伤模型家兔随机分为实验组(C)和对照组(T), 每组 6 只, 雌雄各半。

1.3 给药方法和剂量

实验组采用战伤喷剂, 2 次/d, 每次 10 喷, 均匀覆盖烫伤创面。对照组采用无菌蒸馏水溶剂喷涂, 方法同前。

1.4 检测指标与方法

分别于家兔致伤前、致伤后第 1、2、4、7、14 天由家兔耳缘静脉抽取血样进行检测, 并随时观察家兔的症状体征。

1.4.1 观察指标 主要观察创面情况, 进行白细胞计数和体温测定并记录, 体温测定采用肛表测温法进行。

1.4.2 血清 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 水平的测定 本研究采用许氏改良法^[2]进行血清 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 水平测定, 用以指示血清一氧化氮(NO)水平。

1.4.3 血清肿瘤坏死因子的测定 采用 ELASA 夹心法^[3],应用国家卫生部北京生物制品研究所试剂盒进行血清肿瘤坏死因子的测定。

1.4.4 血清超氧阴离子的测定 采用 NBT 还原法定量测定^[4],试剂购于华美生物试剂公司。

1.4.5 器官功能指标的测定 血清谷丙转氨酶、天冬氨酸转氨酶、碱性磷酸酶、肌酐、尿素氮等指标均采用日立 7060 全自动生化分析仪测定。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 统计软件包进行 *t* 检验和方差分析。各项指标以均数 ± 标准差表示, *P* < 0.05 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 烫伤创面观察

实验前,实验家兔皮毛完整,色泽正常。烫伤模型建立后,创面皮肤发白,渐起扁平水疱,疱底颜色鲜艳,创缘不规则,界线清晰,发红,渗出多。

对照组人工染菌后,在 1~14 d 均创面发黑、干结、渗出不明显、皮肤皱褶,水疱反复出现,于 4 d 后

出现脓性分泌物,脓性分泌物在 7 d 后较多。实验家兔精神状态不佳,觅食少,活动明显减少,呼吸粗重。

实验组人工染菌后,按试验计划创面给药,1~3 d 创面颜色加深,渗出不明显,有扁平水疱,疱底颜色鲜艳,皮肤皱褶,创面因施药而略显湿润,干结不明显,实验家兔活动明显多于对照组,取食积极。3 d 开始皮肤颜色渐黑,5~6 d 创面出现脓性分泌物,施药后脓性分泌物未见明显减少,实验家兔状态渐差,与对照组症状一致。

2.2 药效学指标变化

各组实验指标均随试验的进程、感染的发生和加重而逐步升高,提示实验所选择各炎性因子能较好地反映家兔感染的进程和程度。对照组和实验组的各项指标与所观察到的实验家兔症状相吻合。对照组在人工染菌后即出现较强的机体免疫应激反应,各项炎性指标迅速增高;实验组在人工染菌并施药后,各项炎性指标呈现阶梯式增高,并在逐步上升之后较快地达到对照组水平(见表 1)。

表 1 2 组家兔人工染菌后实验药效学指标情况

时间 (h)	体温(℃)		白细胞计数($\times 10^9/ml$)		血清 NO_2^-/NO_3^- ($\mu mol/L$)		肿瘤坏死因子($fmol/L$)		血清超氧阴离子(U/L)	
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
0	38.85±0.22	39.10±0.30	10.04±1.39	9.61±0.79	54.72±4.77	54.82±7.85	25.96±5.52	26.82±6.84	792.52±33.17	787.71±25.31
1	40.47±0.73	39.50±0.24	11.61±1.64	10.08±1.10*	79.16±11.00	60.52±13.49*	80.29±16.64	48.60±20.92*	841.92±47.05	814.84±18.41
2	40.27±0.27	40.33±0.39	12.70±2.47	11.38±1.85	91.95±2.93	74.31±10.54*	82.64±17.49	64.99±23.87*	847.34±34.92	881.22±25.51
4	40.82±0.71	40.67±0.48	13.85±1.16	12.14±0.83	95.20±3.88	92.40±7.02	85.68±19.10	81.80±24.37	877.63±17.26	880.63±35.15
7	40.73±0.33	40.70±0.54	14.67±1.28	13.42±1.28	101.94±8.48	104.16±9.02	93.47±20.29	89.18±24.09	883.40±46.77	890.08±26.45
14	40.70±0.81	40.88±0.29	14.29±1.47	13.77±1.55	115.98±11.31	121.46±10.80	99.37±27.02	101.40±27.50	911.95±36.74	906.02±13.73

2 组比较, * *P* < 0.05

2.3 器官功能安全性指标变化

实验家兔在烫伤并人工染菌后,部分指标(谷丙转氨酶、天冬氨酸转氨酶、血清尿素氮等)呈现一过

性升高(见表 2),对照组与实验组的各项指标没有显著性差异。制模后的抗休克治疗有效地防止了实验家兔的死亡和重要脏器的严重损害。

表 2 主要器官功能安全性指标

时间 (h)	谷丙转氨酶(U/L)		天冬氨酸转氨酶(U/L)		碱性磷酸酶(U/L)		血清肌酐($\mu mol/L$)		血清尿素氮(mg/dl)	
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
0	3.67±11.74	115.83±30.84	29.50±7.61	26.67±7.34	11.17±3.82	14.17±10.21	167.33±37.88	195.17±21.14	36.98±9.44	30.11±8.76
1	64.17±14.57	106.33±46.77	47.83±12.58	48.33±23.11	12.50±2.59	12.67±6.47	131.00±31.27	161.33±16.05	52.5±11.63	50.91±10.06
4	80.17±24.44	60.83±11.65	40.50±7.48	34.00±7.10	10.67±2.73	19.83±18.28	115.33±34.75	114.67±16.97	36.79±6.75	32.63±9.32
7	17.33±18.77	14.83±7.31	30.50±11.73	30.83±7.88	36.33±25.68	42.83±30.12	109.50±25.19	110.67±12.09	37.69±6.78	49.91±14.41
14	65.33±37.81	73.33±30.38	38.17±12.37	35.17±14.95	21.17±3.13	20.17±7.68	124.17±11.94	125.00±18.62	31.25±7.80	13.96±6.55

3 讨论

3.1 实验结果的可信性

为了检验战伤喷剂在创伤早期抗感染的效果,选择机体感染的敏感指标尤为重要。机体对各种内源性和外源性损害都会作出炎症反应,以提高防御

能力,消除损伤以及重建受损组织结构^[5]。在损伤局部,炎症的连锁反应起始主要表现为组织巨噬细胞和血液中的单核细胞释放出肿瘤坏死因子、超氧阴离子,并刺激 NO 的释放。因此,本试验选择的炎性因子均为创伤后、感染发生早期的非特异性敏感

性因子均为创伤后、感染发生早期的非特异性敏感指标。实验中各指标的变化很好地反映了实验家兔感染发生的过程和程度。

但是,选择的炎性指标均为非特异性的,所以在结果的判读中应该考虑其他可能引起炎性指标变化的因素,并尽量减少这些因素对结果的影响。在实验条件的控制上尽量满足了对照组和实验组的各项基本条件的一致性和实验操作误差的有效控制,这样使本试验结果真实可信,具有可重复性。

3.2 血清 NO 水平、肿瘤坏死因子、超氧阴离子的检测

生物体内 NO 是由 NO 合成酶(NOS)作用于 L-精氨酸的胍基末端氮原子而产生的。由于 NO 在体内的生物半衰期约为 3~5 s,很快被氧化成稳定的氮氧化物亚硝酸盐(NO_2^-)和硝酸盐(NO_3^-)^[6]。检测 NO 最直接的方法是电子顺磁共振技术^[7],但该方法需要昂贵的仪器,故而,血清 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 水平的测定可作为检测 NO 水平和 NOS 活性的指标^[8]。目前认为 NO 是一种内源性血管舒张因子,并参与机体炎症反应及细胞组织损伤过程,起到炎症介质、血小板凝集抑制因子和神经递质的作用。当机体受到感染时,即启动全身应激反应,在多种炎症介质参与下,刺激诱导产生 NOS,继而催化产生 NO。本实验中血清 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 浓度水平的变化及时反映了试验家兔感染的发生和进展情况。实验组血清 $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 水平的陡然升高(4 d)较对照组(2 d)推迟了将近一倍时间,并在感染后期试验组达到对照组同样的高水平。提示,战伤喷剂形成的高分子正电荷膜杀灭了大部分试验用菌(绿脓杆菌),在创伤早期能迅速杀灭创口污染的致病菌,并对创伤伤口起到一定的保护作用,延迟了创面感染的发生,但是其作用时效有限,并不能阻止感染的发生,也不能减轻感染的程度和后果。一旦感染发生,战伤喷剂将无法有效地抗感染治疗。

肿瘤坏死因子和超氧阴离子的检测数据,同样反映了战伤喷剂延迟感染效应的作用,其结果分析与血清 NO 水平大致相同。

3.3 器官功能指标的检测

本实验主要检验战伤喷剂会否在创伤局部进入血液,并对人体肝脏、肾脏等主要脏器产生影响。实验数据表明,实验组和对照组的各项肝、肾指标均显示出同质性,经统计无明显差异。显示战伤喷剂在创伤创面的局部使用,将不会影响到机体脏器的功能。作为大分子聚合生物膜,其主要在创面形成生物效应膜,随创面或血流进入机体的机会很小,并不会对机体功能产生影响。战伤喷剂的人体局部使用是安全的。

3.4 对战伤喷剂的评价

战伤喷剂是一种高分子消毒剂,能在创面形成高分子正电荷生物膜,通过电中和杀灭创面污染致病菌,是一种有效的细菌繁殖体消毒剂。可以有效地杀灭创面污染致病菌,在创伤早期起到延迟感染发生的作用,但是并不能阻止感染的发生,也不能减轻感染发生的程度。一旦感染发生,战伤喷剂的抗感染作用有限,这可能和大量的感染脓性分泌物渗出,影响消毒效果有关。另外,战伤喷剂也不能杀灭未与其接触的致病菌,故而其杀灭细菌的效果应该客观看待。

战伤喷剂在战创伤早期使用具有一定的应用价值,实验证明,战伤喷剂可以将感染发生有效的延迟一倍左右时间,这对战争时期的卫生勤务后送具有重要意义,意味着在战创伤早期应用战伤喷剂可以为医疗后送和后期的清创处理争取宝贵的时间,从而减少因感染而发生的后期残疾和死亡。从时间上推断,应用战伤喷剂将可以将早期接受清创的时间从 8 h 延迟到 12~15 h,适应了未来海战医疗后送困难的具体情况。

值得提出的是,战伤喷剂的使用并非彻底解决了抗感染,依然需要将病员尽快后送,并尽快接受早期的清创处理,以免贻误治疗时机,造成感染后期不必要的致残和死亡。

[参考文献]

- [1] 李红云,姚咏明,施志国,等.烫伤后金黄色葡萄球菌感染致严重脓毒症大鼠模型的建立[J].中国危重病急救医学,2001,13(5):275.
- [2] 许宏岳,李爱红,汪晓稼,等.比色法测定血清亚硝酸和硝酸盐及初步临床应用[J].临床检验杂志,1996,1:28.
- [3] 张振龙,高梦玲,陈晓龙,等.检测 α 肿瘤坏死因子 ELISA 方法的建立及初步应用[J].中国生物制品学杂志,1996,9(3):136.
- [4] 朱晓燕,徐仁宝.单个巨噬细胞超氧阴离子水平的定量检测方法[J].中国生理病理杂志,2002,18(7):874-877.
- [5] VOLL R, BURMESTER G R.炎症的实验室指标[J].德国医学,1995,12(2):90-92.
- [6] 韩一平,白冲,刘忠令.肺部感染患者血清一氧化氮水平的测定[J].中国急诊医学杂志,1999,11(1):20.
- [7] LANGREHR J M, MULLER A R, BERGONIA H A, et al. Detection of nitric oxide by electron paramagnetic resonance spectroscopy during rejection and graft-versus-host disease after small-bowel transplantation in the rat[J]. Surgery, 1992, 112: 395.
- [8] 汪义军,刘放难,全竹富.体内一氧化氮测定技术及临床应用[J].金陵医院学报,1996,9(2):123-125.

(收稿日期:2004-08-24)

(本文编辑:王映红)