

新型战伤急救止血剂体内抗菌活性的实验研究

吕小星 陈绍宗[△] 李学拥 赵聪颖 赵雨千 雷战军

(第四军医大学唐都医院整形烧伤外科 陕西 西安 710038)

摘要 目的 探讨新型战伤急救止血剂对家兔急性感染伤口的抗菌作用。方法 选用兔感染创面模型,分新型战伤止血剂、5A 沸石、Quiclot 和空白对照组对创面进行治疗,通过组织学观察、组织内细菌计数等方法对各组抗菌性能进行研究。结果:肉眼和组织学观察新型战伤急救止血剂治疗组动物模型伤口,炎症反应均小于其他各组,新型战伤急救止血剂治疗组织内细菌计数为 10^4 ,比其他 3 组显著减少($P<0.01$)。结论 新型战伤急救止血剂具有良好的体内抗菌性能。

关键词 战伤;止血剂;沸石;金属离子。

中图分类号:Q95-3 R63 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2011)08-1467-02

Study on Antibacterial Ability of the New Type of Hemostat for Combat Injury in Vivo

LV Xiao-xing, CHEN Shao-zong[△], LI Xue-yong, ZHAO Cong-ying, ZHAO Yu-qian, LEI Zhan-jun

(Department of plastic and burns surgery, Tang Du Hospital, Fourth Military Medical University, 710038, Shanxi, Xi'an, China)

ABSTRACT Objective: To study the antibacterial action of the new type of hemostat for combat injury on the rabbit acute infected wounds. **Methods:** Adopt the rabbit infection wound model, analytical hemostat for combat injury, 5A zeolite, quiclot and the control group to treat the wound. Study the antibacterial properties through the histological observation and the bacterial count methods in the organization. **Results:** By the naked eye and histological observation of the new type of hemostat for combat injury for acute infected wounds of the rabbits model in the treatment group, the inflammatory reaction was less than that in the other groups. The bacterial count in the treatment group was 10^4 , greatly decreased compared with the other three groups($p<0.01$). **Conclusions:** The new type of hemostat for combat injury has good antibacterial properties in vivo.

Key Words: combat injury; hemostat; zeolite; metal ion

Chinese Library Classification(CLC):Q95-3 R63 Document code:A

Article ID:1673-6273(2011)08-1467-02

伤口感染是火器伤最为严重的并发症之一,致死率仅次于失血性休克^[1],而且伤口感染后会造成后期修复的困难或无法修复甚至截肢等^[2-4]。一般将火器伤创面分为挫伤区、震荡区和震荡外区。赵东升^[5]等发现:伤后 12 小时挫伤区即有感染形成,同时血培养亦为阳性;伤后 24 小时伤口可见明显的臭味及大量脓液,创面组织细菌计数可达 $10^6\sim 10^8/\text{g}$ 以上。因此早期即行创面局部抗菌药物的治疗的十分重要。新型战伤急救止血剂是一种以 5A 沸石为主要成分的快速、稳定、多效新型止血材料,其止血性能快速、确切。本实验以兔背污染创面为模型,对其抗菌效果进行研究。

1 材料与仪器

1.1 材料

5A 沸石(国药集团化学试剂有限公司,球状,粒径 3~5mm,抗压强度 20~80N,水吸附量 $\geq 21\%$)、Quiclot(Zmedica 美国)新型战伤急救止血剂、组织匀浆器、细菌培养箱、微量移液器、培养皿、试管、接种环、琼脂培养基、脱毛剂等。

1.2 方法^[6]

新西兰大白兔 12 只,于背部脊柱两侧各形成 1 个直径为

2cm 之圆形创面,1 个/侧,深达肌层,每个创面用 1g 泥砂(森林泥土)污染后包扎,形成感染 48 个创面。随机将创面分为 4 组,即新型战伤止血剂组、5A 沸石组、Quiclot 组和空白对照组。治疗组给予按分组给予治疗(1g/创面),空白对照创面仅使用 2 块纱布包扎。72 小时后,观察创面表现。无菌操作下切取创面中心组织两块($0.3\times 0.3\times 0.3\text{cm}^3$),一块作为组织学观察,另一块分析天平称重后,95%酒精火焰组织表面消毒 5s,将组织剪碎,加入无菌生理盐水 10ml,用组织研磨器制成组织匀浆。用生理盐水将匀浆液依次稀释 10^2 、 10^4 、 10^6 倍后,取原液和各稀释液 0.1ml 分别涂布于直径为 9cm 的琼脂培养板,培养板倒置放入 37℃ 培养箱 24 小时后细菌计数。

细菌计数公式: $X=N/M\times 10^{n+2}$

其中 X 为每克组织的细菌含量(个/g 组织),N 为培养板上的菌落数, M 为组织块重量(g), n 为稀释倍数。

将所取之另一块创面组织常规固定,包埋、切片、HE 染色、观察组织内炎症反应情况。

1.3 统计学方法

数据结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS13.0 软件行方差分析,取 $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 大体观察

在创面形成 12 小时后有少量淡黄色分泌物,创周轻度肿

作者简介:吕小星,男,医学博士,主治医师,
电话:13991364742, E-mail: lvxiaoxing01@126.com;
[△]通讯作者:陈绍宗,教授,博士生导师
(收稿日期:2011-01-15 接受日期:2011-02-12)

胀。3 天后 ,见空白对照组、单纯 5A 沸石组及 Quikclot 组创内均有部分肌肉坏死和较多量黄白色粘稠分泌物。创周红肿明显 ,以单纯 5A 沸石组及 Quikclot 更为显著 ,而新型战伤急救止血剂组去除止血剂后见创内红润 ,仅少量淡黄色稀薄分泌物 ,创周无红肿。

2.2 组织学观察

空白对照组标本肌肉内微血管有血栓形成 ,肌细胞明显肿胀 ,肌细胞间有较多炎性细胞浸润 ;单纯 5A 沸石组及 Quikclot 组可见大量肌间微血管血栓形成 ,细胞间亦有大量炎细胞浸

润 ,新型战伤急救止血剂组可见肌细胞轻度肿胀 ,有少量炎细胞浸润。

2.3 组织内细菌含量

空白对照组、5A 沸石止血剂组、Quikclot 组和新型战伤急救止血剂组组织内细菌含量分别为 $2.28\pm0.17\times10^9$ 、 $2.37\pm0.16\times10^9$ 、 $2.43\pm0.15\times10^9$ 、 $8.11\pm0.26\times10^4$ (cfu/g)(见表 1)。其中单纯 5A 沸石组和 Quikclot 组组织内细菌量均达到 10^9 ,与空白对照组相比无显著差异($P>0.05$) ,而新型战伤急救止血剂组织内细菌含量为 10^4 ,比另 3 组显著减少($P<0.01$)。

表 1 创面组织内细菌含量($\bar{x}\pm s$, n=6)

Tab 1 bacterial contents of wound bed tissue($\bar{x}\pm s$, n=6)

Group	ND	5A	Quikclot	NHCI
组织内细菌含量(cfu/g)	$(2.28\pm0.17)\times10^9$	$(2.37\pm0.16)\times10^9$	$(2.43\pm0.15)\times10^9$	$(8.11\pm0.26)\times10^4$

Data presented as $\bar{x}\pm s$. ND, (no dressing); QC, (QuikClot); 5A, (5A- Zeolite); NHCI, (new type of heamostat for combat injury)

3 讨论

金属离子 Ag^+ 、 Zn^{2+} 等作为抗菌剂已有百余年历史 ,而以沸石作为附载金属离子载体形成无机抗菌剂始于 1984 年^[7-9]。沸石作为 Ag^+ 、 Zn^{2+} 的载体具有很多优点 :1、沸石具有很大的离子交换容量 2、沸石内有比较均匀的孔径 3、沸石作为一种偏硅酸盐性质稳定^[10-12]。金属离子作为杀菌剂也有很多优点 :1、抗菌谱广 2、极少产生耐药性 3、可重复杀菌。基于以上优点 ,我们选择银锌双载的 5A 沸石作为新型战伤急救止血剂的主要组份 ,使止血剂在止血的同时兼有预防创面感染的作用^[13]。

在创面感染形成过程中 ,创面组织中细菌含量是感染发生的一个重要因素。创面组织细菌含量大 ,不仅易致创面感染 ,而且易致植皮、皮瓣移植等修复手术的失败。临床上常将 $10^5/g$ 组织作为一个临界值具有科学依据 ,当细菌含量大于 $10^5/g$ 组织 ,即表示创面有感染的形成^[14-16]。从本实验结果看 ,创面用新型战伤急救止血剂治疗后 ,创面组织内组织含量低于 10^5 ,提示新型战伤急救止血剂在创面的使用 ,可以使创面达到临床无感染的标准。

稀释法创面组织细菌定量是临床常用的一种技术^[6]。对于指导创面用药 ,选择创面修复时机、方法和判断创面预后都有较大的应用价值。检测过程不需要昂贵的仪器 ,操作简单 ,有较高的信度和效度。本实验采用稀释法检测了三种止血剂在体内的抗菌作用。从实验结果看 ,新型战伤急救止血剂较单纯 5A 沸石止血剂和 Quikclot 有明显的抗菌作用。

参考文献(References)

[1] Hasan B. Alam, Elena Koustova, Peter Rhee,Combat Casualty Care Research: From Bench to the Battlefield [J]. World J Surg, 2005,2 9, S7 S11

[2] 何黎升 ,李建虎 ,刘彦普 ,等. 下颌骨爆炸性损伤致伤效应的实验研究[J]. 实用口腔医学杂志,2003,19:228-30

He Lisheng;Li Jianhu;Liu Yanpu; et. An experimental study on injury characteristics of blast injury in maxillofacial region wounded by

spherical explosive; [J] journal of practical stomatology,2003,19: 228-30(in chinese)

[3] Cunningham LL. Haug RH ,Ford J. Firearm injuries to the maxillofacial region :an overview of current thoughts regarding demographics. pathophysiology and management[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2003,61: 932-942

[4] Bartlett CS. Clinical update gunshot wound ballistics [J]. Clin Orthop Relat Res, 2003, 408:28-57

[5] 赵东升 ,裴国献 ,魏宽海 ,等. 温高湿环境下犬肢体火器伤后伤道病理学改变[J]. 解放军医学杂志, 2003,28(4) 289-292

Zhao dong-sheng, Pei guo-xian, Wei kuan-hai, et. Temperature humidity environment dog limb firearms injury after hurting tao pathology change[J]. The PLA medical journal, 2003,28(4):289-292(in chinese)

[6] 马楠 ,季君晖 ,崔德健 ,等. 纳米抗菌塑料的抗菌性能测定[J]. 中国消毒学杂志,2006,23(4):319-321

Ma nan, Ji jun-hui, Cui dei-jian, et. Determination of antimicrobial properties of nanometer antimicrobial plastics [J].Chinese Journal of Disinfection, 2006,23(4):319-321(in chinese)

[7] Kay BuchANAN, et al. Comparison of quantitative and semiquantitative culture techniques for burn biopsy. Journal of clinic Microbiology, 1986, 23(2):258

[8] 侯文生 ,张颖 ,魏丽乔 ,等. 热处理对载银 4A 沸石抗菌剂结构与性能的影响[J]. 电子显微学报, 2005,4 (4):363-363

Hou Wen-sheng; Zhang Ying, et.Effect of Heat Treatment on Antibacterial Properties of Silver Loaded Zeolite 4A Antibacterial Agent;[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2005,4 (4):363-363 (in chinese)

[9] 何丽新,赵临远,崔天顺.双金属抗菌沸石研究[J]. 非金属矿,2003,26 (1):13-15

He li-xin, Zhao lin-yuan, Cui tian-shun. Development of Antibiotic Zeolite Containing Two Kinds of Metallic Cations. [J] Nonmetallic mine, 2003,26(1):13-15(in chinese)

[10] 郑红 ,张蓓蓓 ,马鸿文 ,等. 4A 沸石分子筛对 KNO_3 和 $NH_4 NO_3$

(下转第 1463 页)

为交感神经占优势,而于发作前 5~10min 又突然转为迷走神经占优势。本研究证实,消融 RPVGP 使乙酰胆碱和儿茶酚胺诱发房颤的阈浓度增高,并降低此二类介质的房颤诱发率。对 RPVGP 进行干预后,可同时消除其内的迷走神经元及交感神经元,改变整个心房的自主神经张力,建立起新的自主神经支配平衡,从而使交感和迷走神经介导的房颤均不易发生。肺静脉节段性或环形电隔离术因其易致肺静脉狭窄,血栓栓塞,心包填塞,食管瘘等并发症。因而,心脏自主神经调节成为近年来房颤治疗的研究热点^[14,15]。Scherlag 等证实不施行肺静脉电隔离术,而仅消融位于心外膜的心脏自主神经节丛,可提高房颤治疗成功率并降低术后复发率^[16]。Tan 等对心脏外在神经丛进行冷冻后发现阵发性房颤的发生率降低^[17]。本研究亦表明对自主神经节丛进行干预可降低房颤的诱发率。因此,自主神经调节有可能成为房颤射频消融术的一个辅助治疗手段。

本研究探讨了 RPVGP 消融的急性期效应,我们仍需进一步研究 RPVGP 消融的长期效应,以确定其对迷走神经或交感神经诱发房颤究竟有何影响。

参考文献(References)

- [1] Chen PS, Tan AY. Autonomic nerve activity and atrial fibrillation[J]. Heart Rhythm, 2007 Mar; 4(3 Suppl):S61-4
- [2] Hou YL, Scherlag BJ, Lin JX, et al. Ganglionated plexi modulate extrinsic cardiac autonomic nerve input: effects on sinus rate, atrioventricular conduction, refractoriness, and inducibility of atrial fibrillation[J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50: 61-68
- [3] Chiou CW, Eble JN, Zipes DP. Efferent vagal innervation of the canine atria and sinus and atrioventricular nodes [J]. Circulation, 1997, 95: 2573-2584
- [4] Schauer P, Scherlag BJ, Pitha J, et al. Catheter ablation of cardiac autonomic nerves for prevention of vagal atrial fibrillation [J]. Circulation, 2000, 102: 2774-2779
- [5] 侯应龙, Sunny Po. 心脏自主神经系统在心房颤动发生和维持中的作用[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2008, 22(11): 189-193
- [6] Scherlag BJ, Po S. The intrinsic cardiac nervous system and atrial fibrillation[J]. Curr Opin Cardiol. 2006, 21(1): 51-54
- [7] Bakir I, Casselman FP, Brugada P, et al. Current strategies in the surgical treatment of atrial fibrillation: review of the literature and Onze Lieve Vrouw Clinic's strategy [J]. Ann Thorac Surg, 2007, 83: 331-340
- [8] Glatzer KA. Pulmonary vein ablation and ganglionic plexus: a new therapeutic approach[J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2007, 18: 91-92
- [9] Tomita T, Takei M, Saikawa Y, et al. Role of autonomic tone in the initiation and termination of paroxysmal atrial fibrillation in patients without structural heart disease [J]. J Cardiovasc Electrophysiol. 2003, 14: 565-566
- [10] Lombardi F, Tarricone D, Tundo F, et al. Autonomic nervous system and paroxysmal atrial fibrillation: a study based on the analysis of RR interval changes before, during and after paroxysmal atrial fibrillation [J]. Eur Heart J. 2004; 1242-1248
- [11] Maisel WH. Autonomic modulation preceding the onset of atrial fibrillation[J]. J Am Coll Cardiol 2003; 42: 1262-1268
- [12] Bettoni M, Zimmermann M. Autonomic tone variations before the onset of paroxysmal atrial fibrillation [J]. Circulation 2002, 105 (23) 2753-2757
- [13] Horikawa-Tanami T, Hirao K, Furukawa T, Isobe M. Mechanism of the Conversion of a Pulmonary Vein Tachycardia to Atrial Fibrillation in Normal Canine Hearts: Role of Autonomic Nerve Stimulation[J]. J Cardiovasc Electrophysiol. 2007, 18(5): 534-41
- [14] Bakir I, Casselman FP, Brugada P, Geelen P, Wellens F, Degrieck I, Van Praet F, Vermeulen Y, De Geest R, Vanermen H [J]. Current strategies in the surgical treatment of atrial fibrillation: review of the literature and Onze Lieve Vrouw Clinic's strategy. Ann Thorac Surg. 2007, 83: 331-340
- [15] Glatzer KA. Pulmonary vein ablation and ganglionic plexus: a new therapeutic approach[J]. J Cardiovasc Electrophysiol. 2007 18: 91-92
- [16] Scherlag BJ, Patterson E, Po S. The neural basis of atrial fibrillation [J]. J Cardiovasc Electrophysiol 2006; 39: S180-183
- [17] Tan AY, Zhou S, Ogawa M, et al. Neural mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation and paroxysmal atrial tachycardia in ambulatory canines[J]. Circulation. 2008, 118: 916-925

(上接第 1468 页)

的吸持作用.现代地质, 2006, 20(4): 663-667

Zheng hong, Zhang pei-pei, Ma hong-wen, et al. Occlusion of KNO₃ and NH₄NO₃ in 4A Zeolite Molecular Sieve. GEOSCIENCE. 2006 20 (4): 663-667; (in chinese)

- [11] 易发成, 金承黎, 李玉香, 等. 4A 沸石吸附模拟核素 Sr, Cs 后的组分变化和结构表征. 矿物岩石. 2005, 25, (2): 35-39

YI Fa-cheng, JIN Cheng-li, LI Xiang-yu, et al. COMPOSITION VARIATION AND STRUCTURE CHARACTERIZATION OF 4A ZEOLITE AFTER ADSORPTING SIMULANT RADIONUCLIDES OF Sr AND Cs; J MINERAL PETROL. 2005, 25, (2): 35-39; (in chinese)

- [12] 晏志军. 超微沸石的研究现状及发展趋势. 西安文理学院学报. 2005, 8(1): 35-39

YAN Zhi-jun. Superfine zeolite the present research situation and

development trend. Journal of Xi'an University of Arts & Science. 2005, 8(1): 35-39 (in chinese)

- [13] Li J, Yan W, Jing L, et al. Addition of an alginate to a modified zeolite improves hemostatic performance in a swine model of lethal groin injury. J Trauma. 2009; 66(3): 612-20

- [14] Krizek TJ. Bacterial growth and skin graft survival. surgical Forum, 1967, 18: 518

- [15] Krizek TJ, et al. Biology of surgical infection. Surgical clinics of North American, 1975, 55(6): 1261

- [16] Lindberg RB, et al. The successful control of burn wound sepsis. Journal of Trauma, 1965, 5(5): 601