

· 短篇论著 ·

光动力抗菌化学疗法对手指人咬伤后深部感染患者
伤口菌群及创伤愈合的影响

黄素芳 王仲秋 张绪翠 王朝亮 朱涛 孙雪生

手指人咬伤在日常生活中并不少见,但由于其伤口小、出血量少,往往容易被忽视。口腔内细菌较多,手指人咬伤后创口污染较重,常合并腱鞘炎、化脓性关节炎或骨髓炎,伤口内菌群多为厌氧菌或混合感染,常伴随有血流减少、低氧血症、创面细胞表型改变等,致使抗生素治疗效果不佳,伤口经久不愈,严重者需截肢处理。光动力抗菌化学疗法具有抗菌、氧疗、促进创面愈合的优势,对于咬伤后厌氧菌感染或对甲氧西林耐药的金黄色葡萄球菌感染的指骨髓炎具有显著效果。本研究采用光动力抗菌化学疗法治疗手指人咬伤后深部感染患者 42 例,取得了良好效果,现报道如下。

一、对象与方法

(一)一般资料

入选标准:①手指人咬伤后伤口感染;②年龄 < 70 岁;③无严重全身系统并发症;④患者或家属签署治疗知情同意书。排除标准:①光过敏及卟啉症患者;②糖尿病患者;③严重免疫功能低下者;④严重心、脑、肝、肾等重要脏器功能衰竭者;⑤不配合治疗者。

选取 2005 年至 2013 年在我院就诊的手指人咬伤后伤口深部感染患者 42 例,按照随机数字表法将其分为黄柏液换药组和光动力治疗组,每组 21 例。2 组患者性别、年龄、疾病类型^[1]、疾病分期^[2]、受伤部位等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,详见表 1。

表 1 2 组患者一般资料比较

组别	例数	性别(例)		平均年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	疾病类型(例)	
		男	女		Ⅱ型	Ⅲ型
黄柏液换药组	21	18	3	41.32 ± 13.25	13	8
光动力治疗组	21	15	6	45.65 ± 14.64	17	4

组别	例数	疾病分期(例)			受伤部位(例)			
		早期	中期	晚期	拇指	示指	中指	环指
黄柏液换药组	21	3	9	9	1	6	10	4
光动力治疗组	21	4	11	6	1	4	14	2

(二)治疗方法

入院后,常规应用青霉素及先锋霉素静脉输注,根据血常规、血沉、C 反应蛋白、引流液细菌培养结果及伤口局部红肿情况决定是否停用抗生素。伤口局部清创后开放创口,充分引流,先用双氧水冲洗,再用盐水冲洗。其中黄柏液换药组采用四层无菌纱布浸透复方黄柏液(国药准字 Z10950097,专利号 Z96106739,山东汉方制药有限公司产)湿敷创面,每日换药 1 次。光动力治疗组采用四层无菌纱布浸透复方黄柏液湿敷,外

用油纱包扎,用保鲜膜封包 30 min 后用半导体激光照射,光源为上海产 FD-400-A 型 635 半导体激光治疗仪,输出波长为 635 nm,输出功率为 0 ~ 300 mW,光源照射距离为 10 ~ 15 cm,光源轴心与皮面垂直,持续照射 20 min,维持能量密度 100 J/cm²,功率密度 = (功率 × 1000) / 光斑面积。照射时,患者若感觉疼痛,可适当调低输出功率,但不能低于 150 mW,同时按总功率大小延长照光时间,间隔 8 h 后进行第 2 次照射,每日照射 2 次,连续照射 14 d 为 1 个疗程。

(三)疗效评定标准

1. 伤口愈合的评价标准:参照国内外相关文献,按治疗结束时炎症是否稳定及术后 6 个月时炎症是否复发来制订疗效评价标准,伤口愈合,伤口周围无或轻度不良反应,评定为优;伤口愈合,伤口有炎症反应,评定为良;伤口未愈,创面脓性渗出或需做切开引流,评定为差^[3-4]。

2. 免疫组化染色检测:患者入院及治疗 2 周后(治疗后),取其创缘新鲜肉芽组织,用生理盐水及磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)冲洗,无菌纱布沾干。处理后的肉芽组织采用免疫组织化学链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结法(streptavidin-peroxidase, SP)染色。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)抗体及 SP 免疫组化试剂盒均购自武汉博士德公司,免疫组化所用的试剂盒为即用型第 2 代免疫组化广谱试剂盒,遵照说明书的操作步骤,SP 染色采用半定量方法,以棕黄色作为阳性标准,用双盲法对染色结果进行评估,根据染色阳性的单核细胞数量,将其分为 4 个等级:阴性(-),阳性细胞率 < 10%(+),阳性细胞率 10% ~ 50%(++),阳性细胞率 > 50%(+++),将染色(-)、(+)、(++)归类为低表达水平,(+++)为高表达水平。

(四)统计学分析

采用 SPSS 12.0 版统计学软件进行数据处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)形式表示,组间比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

二、结果

光动力治疗组 21 例患者标本中,细菌培养阳性者 20 例,总阳性率为 95.2%,其中纯厌氧菌和纯需氧菌阳性者占阳性标本总量的 40.0% 和 5.0%,两者混合的阳性率占 52.4%,厌氧菌和需氧菌阳性率分别为 90.5% 和 57.1%。21 例标本中甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌 19 例,感染率为 90.5%。光动力治疗组患者细菌培养阳性率由治疗前的 95.2% 降至治疗后的 4.7%。光动力治疗组治疗前、后细菌培养率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。黄柏液换药组治疗前、后细菌培养率为 95.2% 和 52.4%,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与光动力治疗组比较,黄柏液换药组治疗后细菌培养率较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。光动力治疗组治疗后共 13 例患者的伤口愈合情况为优,8 例为良,与黄柏液换药组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.02.018

作者单位:271100 莱芜,泰山医学院附属莱芜医院疼痛科(黄素芳),骨科(王仲秋、张绪翠、王朝亮、朱涛、孙雪生)

通信作者:王朝亮,Email:lwwecl2003@163.com

表 2 2 组患者治疗前、后细菌培养情况(例)

组别	例数	厌氧菌 (+)	甲氧西林耐药 金黄色葡萄 球菌(+)	普通变形 杆菌(+)	溶血性链 球菌(+)	铜绿假单胞菌 (+)	克雷白菌 (+)	肠杆菌 (+)	绿脓杆菌 (+)
光动力治疗组									
治疗前	21	20	19	15	14	6	5	3	1
治疗后	21	1 ^a	1 ^a	1 ^a	0 ^a	1 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
黄柏液换药组									
治疗前	21	19	20	16	12	7	3	5	2
治疗后	21	7 ^b	8 ^{ab}	10 ^b	6 ^b	4 ^{ab}	1 ^{ab}	1 ^{ab}	1 ^{ab}

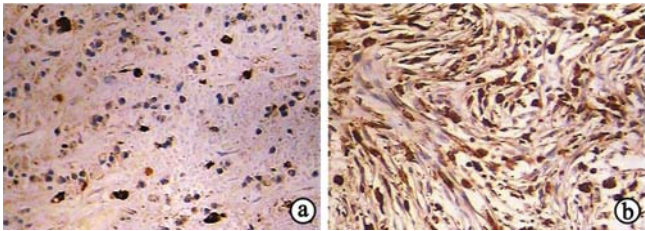
注:与组内治疗前比较,^a $P < 0.05$;与光动力治疗组治疗后比较,^b $P < 0.05$

免疫组化结果显示,EGF 染色区域主要位于胞质和细胞外基质。治疗前,光动力治疗组 EGF 低表达水平的患者共 21 例,治疗后呈现出高表达水平患者共 19 例。与组内治疗前比较,光动力治疗组治疗后创面肉芽组织 EGF 高表达水平人数较多($P < 0.05$)。与光动力治疗组治疗后比较,黄柏液换药组治疗后创面肉芽组织 EGF 高表达水平人数较少($P < 0.05$),详见表 3、图 1、图 2。

表 3 2 组患者治疗前、后 EGF 表达情况(例)

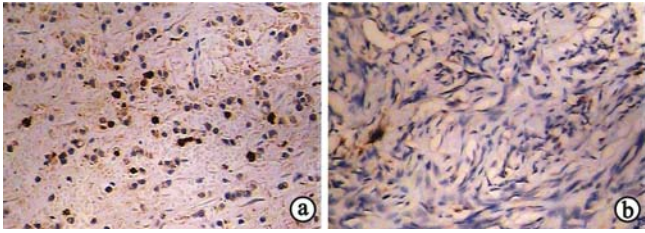
组别	例数	低表达水平	高表达水平
光动力治疗组			
治疗前	21	21	0
治疗后	21	2	19 ^a
黄柏液换药组			
治疗前	21	21	0
治疗后	21	20	1 ^b

注:与组内治疗前比较,^a $P < 0.05$;与光动力治疗组治疗后比较,^b $P < 0.05$



注:a 为光动力治疗组治疗前肉芽组织 EGF 免疫组化表达水平图;b 为光动力组治疗后肉芽组织 EGF 免疫组化表达水平图

图 1 光动力治疗组治疗前、后肉芽组织 EGF 免疫组化表达水平图(SP 染色, $\times 400$)



注:a 为黄柏液换药组治疗前肉芽组织 EGF 免疫组化表达水平图;b 为黄柏液换药组治疗后肉芽组织 EGF 免疫组化表达水平图

图 2 黄柏液换药组治疗前、后肉芽组织 EGF 免疫组化表达水平图(SP 染色, $\times 400$)

三、讨论

人咬伤是一种特殊类型的创伤,与普通创口比较,此类创伤具有较高的感染率,常常导致伤口迁延不愈^[1]。大多数咬伤伤口的感染类型为混合感染,致病菌包括厌氧菌、革兰阳性菌和革兰阴性菌,其中革兰阴性菌感染常继发于革兰阳性菌感染之后的混合感染。本研究中,患者伤口分泌物细菌培养总阳性率达 95.2%,病菌以厌氧菌、耐药金黄色葡萄球菌及普通变形杆菌属为主,此结论与大多数研究一致。目前,耐药金黄色葡萄球菌是院内感染的重要病原菌之一,其感染病例数逐年攀升,多药耐药谱逐渐扩大。本研究伤口细菌培养结果中,以甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌较多,创面一旦发生此种病原菌感染,患者的治疗难度将大大增加。

光动力疗法利用特定光源对病灶进行照射,在靶组织内诱导光敏剂发生一系列光化学反应和光生物学反应,产生氧自由基或活性氧物质,进而损伤细胞内的亚细胞器,激活相应信号通路,最终引起细胞死亡。目前,利用光动力疗法治疗恶性肿瘤已得到了广泛认可^[5]。近年来,基于光动力疗法原理的光动力抗菌化学疗法正在日益兴起,其具有杀菌范围广、安全性高、不易产生耐药性等特点^[6]。Dai 等^[7]应用光敏剂联合非相干红光照射治疗局部皮肤金黄色葡萄球菌感染,发现光动力抗菌化学疗法促进伤口愈合的时间较对照组平均缩短 8.6 d。Bisland 等^[8]发现光动力抗菌化学疗法在治疗骨髓炎方面具有较大潜力,其抗菌原理是利用光敏剂可选择性滞留于细菌上的特点,受到激光照射后便可产生单态氧和其它活性氧,直接损伤目标细菌的细胞壁及膜系统,影响其新陈代谢,最终导致其死亡。

在光敏剂的选择上,本研究选用复方黄柏液,其主要活性成分分为小檗碱、巴马汀、药根碱和黄柏碱等生物碱类化合物。黄柏抗菌的有效成分主要为小檗碱,体外试验发现,其对金黄色葡萄球菌、肺炎球菌、白喉杆菌等均具有杀菌作用。有报道,黄柏对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有较强的杀菌作用^[9]。研究者在筛选中草药抗癌光敏剂时,发现黄柏提取物具有较强的荧光特性,将人胃癌细胞株 BGC823 细胞作为目标对象,在 480 nm 和 650 nm 半导体激光照射下可见癌细胞线粒体、内质网广泛肿胀、细胞核糖体明显减少,提示黄柏提取物具有光敏活性作用^[10]。有研究证实,波长为 635 nm 的半导体激光具有抗炎、刺激组织再生、提高免疫功能、增强代谢的生物作用^[11]。黄柏提取物在 650 nm 半导体激光照射下荧光反应最强,在 15 ~ 30 min 内就能被活细胞摄取,并广泛分布到胞浆、胞核^[12]。本研究在应用复方黄柏液湿敷创面 30 min 后,用 650 nm 激光照射,在发挥黄柏杀菌作用的同时,利用其产生单态氧和其它活性

氧的特性直接损伤细菌细胞壁及膜系统,导致细菌死亡。

创伤修复涉及许多病理变化,这一过程是由多种组织细胞相互协作、共同参与完成,其中巨噬细胞、中性粒细胞的作用是进入创伤区清除失活组织及微生物。许多生长因子通过参与炎症反应,进而影响细胞周期,诱导血管形成,促进细胞外基质沉积来加速创面修复。血小板和巨噬细胞分泌一些与成纤维细胞和内皮细胞有关的生长因子,通过内分泌、自分泌和旁分泌的形式促进细胞迁移、分裂和增殖^[13]。创伤修复速度的快慢取决于上述细胞进入伤口并增生的速度,而细胞的进入和增生又依赖于趋化因子和生长因子的参与和调节。有研究发现,EGF 通过与炎性细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞及表皮细胞细胞膜上的相应受体结合,从而促进 RNA、DNA 和羟脯氨酸构建,调节蛋白质合成,完善胶原蛋白组成,同时对细胞起到趋化作用,加快创面愈合速度^[14-15]。本研究发现,利用光动力抗菌化学疗法治疗后,患者创面肉芽组织 EGF 呈高表达水平,提示黄柏提取物受到激光照射后,可能通过上调 EGF 的表达水平,从而达到促进创面愈合的目的。由于 EGF 需要与相应受体结合才能发挥作用,所以在 EGF 高水平表达的同时,是否也有 EGF 相应受体的增加,尚待进一步研究证实。

本研究证实,光动力抗菌化学疗法对于手指人咬伤后难治性厌氧菌及耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染具有特殊的杀菌作用,可有效提高创面肉芽组织 EGF 的表达水平,进而促进创面愈合。

参 考 文 献

- [1] 赵维彦,李炳万,梁丽荣. 手部人咬伤的治疗[J]. 实用手外科杂志,2007,21(1): 36-37.
- [2] Basadre JO, Parry SW. Indications for surgical débridement in 125 human bites to the hand[J]. Arch Surg, 1991, 126(1): 65-67.
- [3] 崔健,刑文钊,孙梁,等. 多网管解剖型置管灌洗法治疗骨折术后继发慢性骨髓炎[J]. 中华骨科杂志,31(8): 877-883.
- [4] Smith IM, Austin OM, Batchelor AG. The treatment of chronic osteomyelitis: a 10 year audit[J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2006, 59(1): 11-15.
- [5] 李开庭,白定群,欧云生. 光动力诱导肿瘤细胞死亡机制的研究进展[J]. 中华物理医学与康复杂志,2013,35(7): 583-586.
- [6] 张永军,方勇,姚敏. 光动力抗菌化学疗法治疗甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌感染研究进展[J]. 中华烧伤杂志,2012,28(5): 367-370.
- [7] Dai T, Tegos GP, Zhiyentayev T, et al. Photodynamic therapy for methicillin-resistant staphylococcus aureus infection in a mouse skin abrasion model[J]. Lasers Surg Med, 2010, 42(1): 38-44.
- [8] Bisland SK, Chien C, Wilson BC, et al. Pre-clinical invitro and in vivo studies to examine the potential use of photodynamic therapy in the treatment of osteomyelitis[J]. Photochem Photobiol Sci, 2006, 5(1): 31-38.
- [9] 宓伟,何深一. 抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的中药筛选[J]. 中国生化药物杂志,2011,32(1): 44-46.
- [10] 许川山. 中药光敏剂介导的光动力疗法[J]. 激光杂志,2004, 25(6): 92-93.
- [11] 马长升,尹勇,李海涛,等. 半导体激光照射对家兔皮肤伤口愈合的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志,2010,32(5): 321-323.
- [12] 廖静,鄂征,宁涛,等. 中药黄柏的光敏抗癌作用研究[J]. 首都医科大学学报,1999,20(3): 153-155.
- [13] MaGrat MH. Peptide growth factors and wound healing[J]. Clin Plas Surg, 1990, 17(3): 421-432.
- [14] Inoue M, Ono I, Taeshita T, et al. Effect of a collagen matrix containing epidermal growth factor on wound contraction[J]. Wound Repair Regen, 1998, 6(3): 213-222.
- [15] Mills BG, Frausto A, Brien E. Cytokines associated with the pathophysiology of aggressive fibromatosis[J]. J Orthop Res, 2000, 18(4): 655-662.

(修回日期:2014-11-21)

(本文编辑:凌 琛)

帕罗西汀治疗对焦虑障碍患者感觉门控 P50 的影响

王绍昌 李长安 金艺峰 张凤林 方向明 陈兴时

感觉门控是电生理学中的术语,是指相似的感觉刺激会被大脑抑制的现象。感觉门控(sensory gating)异常是导致精神疾病产生精神症状的重要证据之一。听觉诱发电位 P50(简称 P50)是最常被用来检测感觉门控的神经电生理学研究方法之一^[1]。国内外已有焦虑障碍(anxiety disorder)和其它疾病 P300

研究^[2-3],但较少焦虑障碍 P50 报道。Mann 等^[4]曾报道,5-HT 受体的改变可能引起精神分裂症患者感觉门控改变,然而,在老年期抑郁症患者中并未发现 5-HT 选择性重摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRIs)类药物引起的 P50 改变,为进一步研究感觉门控受 SSRIs 药物影响所致的改变,笔者对焦虑症患者帕罗西汀治疗前、后的 P50 改变进行了观察,现报道如下。

一、对象与方法

(一)研究对象

1. 焦虑障碍组的入选标准:①符合国际疾病分类(第 10 版)(International Classification of Diseases, tenth version, ICD-10)^[5]中的焦虑障碍诊断标准;②均为首发患者;③均未用过精

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.02.019

作者单位:322000 义乌,浙江省义乌市精神卫生中心(王绍昌、李长安、金艺峰、张凤林、方向明);上海交通大学医学院附属精神卫生中心(陈兴时)

通信作者:王绍昌,Email:wsc00007@163.com