

· 基础研究 ·

封闭负压引流早期处理软组织爆炸伤创面的实验研究

宋鹏, 薛云, 葛宝丰, 陈克明, 赵东华, 韩桂秋, 王勇
(兰州军区兰州总医院骨科研究所, 甘肃 兰州 730050)

【摘要】目的:观察封闭负压引流(vacuum-assisted closure, VAC)早期处理对软组织爆炸伤创面的影响, 为战伤早期处理提供新的思路。**方法:**选取健康 3 月龄长白猪 8 头, 体重(50±5) kg, 雌雄不拘, 用同一型号的电雷管(型号: 660929F48840-55, 含 DDNP 0.3 g, RDX 0.7 g)紧贴双侧臀部皮肤, 造成 16 个损伤程度相当的爆炸创面, 左右创面配对分成实验组和对照组。在室外暴露 3 h 后进行创面的彻底清创, 实验组用封闭负压引流处理, 负压值维持在(-50±5) Kpa; 对照组用无菌干纱布覆盖。分别于治疗前后进行大体观察、细菌学计数和革兰氏阳性(G⁺)细菌比例分析, 以及采集病理学标本进行 HE 染色和 Masson 染色。**结果:**治疗 3 d 后实验组创面细菌数为[(7.82±0.55)×10⁴] CFU/g, 对照组为[(1.07±0.14)×10⁶] CFU/g, 两组间有统计学差异(P<0.01); 实验组 G⁺细菌比例显著提高, 对照组则没有变化; 实验组创面清洁, 较对照组有更丰富的新生肉芽组织、血管和胶原, 坏死组织明显减少。**结论:**VAC 能抑制创面细菌增殖, 提高 G⁺细菌的比例, 促进创面愈合, 可用于软组织爆炸创面的早期治疗。

【关键词】 创伤和损伤; 清创; 负压疗法; 引流术; 细菌学; 病理学

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2011.07.016

Experimental studies on the early treatment of soft tissue explosion injury by vacuum-assisted closure SONG Peng, XUE Yun, GE Bao-feng, CHEN Ke-ming, ZHAO Dong-hua, HAN Gui-qiu, WANG Yong. Institute of Orthopaedics, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu, China

ABSTRACT Objective: To investigate the effect on early treatment with vacuum-assisted closure (VAC) to wound healing of acute explosion injury in pigs, and provide a new way for early treatment of battle wounds. **Methods:** Eight healthy 3-month Landrace pigs of both sexes with the body mass of (50±5) kg were selected in the study. Sixteen battle wounds were made by explosion of same type detonator (pattern number: 660929F48840-55, included DDNP 0.3 g, RDX 0.7 g) in hibateral skin of buttock of 8 pigs, which were divided into experimental group and control group (pair wounds of left and right). The raw surfaces were thorough debrided at 3 h after exposure, according to the characteristics of treatment on the battlefield, experimental group was treated with VAC under the pressure of(-50±5) Kpa after debridement and sterilization and control group was treated with routine dry sterile gauze draping. Results of bacteriology (bacterial counts and the proportion of G⁺ bacteria) and pathology (HE stain and Masson stain) were detected at every wound before and after treatment. **Results:** At the 3 days after treatment, the bacterial number in the experimental group was [(7.82±0.55)×10⁴] CFU/g, in control group was [(1.07±0.14)×10⁶] CFU/g. There was significant difference between two groups. The proportion of G⁺ bacteria in experimental group was significantly increased. The raw surface in experimental group was clean with affluent and neoformative granulation tissue, blood vessels and collagen, necrotic tissue decreased obviously by pathological observation. **Conclusion:** VAC could reduce the quantity of bacteria, improve the proportion of G⁺ bacteria, and promote the formation of granulation tissue and the healing of wound. The VAC for the treatment of battle wounds has a positive effect.

KEYWORDS Wounds and injuries; Debridement; Negative pressure therapy; Drainage; Bacteriology; Pathology
Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(7): 589-593 www.zggszz.com

由于战场环境艰苦、气候恶劣、伤员众多, 战伤救治常在医护人员紧缺的情况下进行, 因此, 早期救治措施要求具有简便易行、能达到保护创面、控制感

染和促进正常愈合的特点^[1]。近年来国际上对封闭负压引流(vacuum-assisted closure, VAC)疗法促进软组织创伤愈合已达成共识, 但 VAC 应用于战场中爆炸伤的救治研究较少。我们自 2010 年 6 月至 9 月在兰州军区总医院动物实验科模拟了爆炸所致的四肢软组织创伤, 并在简陋条件下进行彻底清创, 然后用自行研制的封闭负压引流装置对伤口进行 VAC 处

基金项目: 全军“十一五”医学科研项目课题(编号: 06G033)

Fund programs: Supported by Medical Command of General Logistics Department of Chinese PLA (No.06G033)

通讯作者: 陈克明 E-mail: chkeming@yahoo.com.cn

理,报告如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物、材料及仪器 市售健康 3 月龄长白猪 8 头,雌雄不拘,体重 (50±5) kg,购回后在本院动物实验科大型动物饲养室适应 1 周,标准猪饲料喂养(兰州军区总医院动物实验室提供)。自行研制的负压引流装置包括负压器和负压瓶(专利号:ZL 200920168550.9),雷管型号:660929F48840-55(含 DDNP 0.3 g,RDX 0.7 g),VAC 敷料(武汉维斯第医用科技有限公司),半透性贴膜(英国 S & N 公司)。盐酸氯胺酮注射液(江苏省泰兴市制药厂),戊巴比妥钠(江苏省泰兴市制药厂),Masson 染色试剂盒(上海杰美基因医药科技有限公司),显微镜(Olympus BH-2 型)。

1.2 模型制作及分组 实验前 12 h 用 8%的硫化钠溶液给猪去毛备皮。肌注氯胺酮(8 mg/kg)麻醉后,于双侧髂前上嵴后侧 2 cm 肌肉丰满处用手术刀片制成一长约 3 cm 的表层皮肤切口,将 1 枚雷管沿切口方向放置,用透明胶膜固定,引爆雷管,制造 16 个爆炸创面。在室外暴露 3 h 后(气温 30 ℃),耳缘静注 3%戊巴比妥钠(0.4 ml/kg)再次麻醉,左右配对分成实验组和对照组,每组 8 个创面,其中对照组彻底清创后,用 8~10 层纱布覆盖,每天清洗创面并更换纱布。实验组彻底清创,VSD 治疗 3 d,清创由临床经验丰富的军医根据“4C”原则(colour, consistency, contractility, capillary bleeding)进行^[2]。清创后根据创面大小和形状,修剪 VAC 敷料,引流管从伤口侧面皮肤戳孔引出、固定 VAC 敷料后,用半透性贴膜封闭创面。引流管与负压瓶对接后开始 VAC 治疗,负压值维持在(-50±5) Kpa(图 1)。



图 1 自制 VAC 装置治疗爆炸创面
Fig.1 Treatment of the wound with homemade VAC device

1.3 观察项目与方法 ①伤口大体观察:爆炸后和治疗 3 d 后,对两组创面进行观察;②创面细菌计数:治疗前和治疗 3 d 后分别在创面 3、6、9、12 点钟位置及中心处切取约 0.2 cm×0.2 cm×0.2 cm 组织,称

重后用眼科剪剪碎,加入 99 倍重量的无菌生理盐水,用玻璃匀浆器匀浆。将匀浆液按 10 倍梯度稀释(10×,100×,1 000×...),取 100 μl 稀释液接种到 10 cm 的血琼脂糖平板上,37 ℃孵育 24 h。计数平板上的细菌菌落数。每克组织内的细菌数(CFU/g)=菌落数×10³×稀释倍数。③G⁺细菌的比例:将细菌学计数的培养板划分为 4 个象限,每个象限任选 20 个菌落,分别用 0.5 ml 无菌生理盐水稀释,用无菌的接种环将稀释液点到一块无菌的载玻片上,每块载玻片上点 20 个稀释液样本。酒精灯加热快速固定,常规革兰氏染色。油镜下观察染色结果,并对 G⁺细菌菌落计数。G⁺细菌的比例(%)=4 个象限 G⁺菌数的总数/(4×20)。④病理组织学观察:将治疗前和治疗 3 d 后的创面进行矢状面病理取材,标本置于体积分数为 10%的中性甲醛溶液(0.1 mol/L,pH=7.4)中固定。固定彻底后取材,常规脱水、透明,石蜡包埋,切片后进行 HE 染色,治疗 3 d 后标本进行 Masson 氏染色。光镜观察,用 Image-Pro plus 6.0 图像扫描软件对 Masson 染色的肉芽组织中胶原(绿色)含量进行测定,胶原含量(%)=(胶原面积/总面积)×100%^[3]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析,测定结果均以均数±标准差($\bar{x}±s$)表示,组间比较采用配对 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 伤口大体观察 爆炸后创面大小在 65~85 cm²,表面有焦痂、燃烧物、金属碎屑等,污染严重,周边皮缘约 2.5 cm 范围内色泽苍白,皮肤呈哆开状,最大哆开距离 5 cm,伤口无大量出血,伤后 1~2 min,周围组织明显水肿,形成清晰的晕圈。爆炸 3 h 后,伤口形成大量凝血,两组创面无明显差异,见图 2a~2b。

治疗 3 d 后,实验组创面清洁,色泽鲜红,布满颗粒状肉芽组织,无异味,取材时创面血流丰富,无水肿和继发性坏死组织(图 2c)。对照组创面表面有大量黑色的继发性坏死组织和乳黄色黏稠状渗出物,肌肉组织形成裂痕,创面有异味,颜色苍白,水肿明显(图 2d)。

2.2 创面细菌计数结果 爆炸 3 h 后和彻底清创后两组间细菌数差异无统计学意义(*P*>0.05),治疗 3 d 后,实验组细菌数为[(7.82±0.55)×10⁴] CFU/g,未达到感染临界值 10⁵ CFU/g,对照组间细菌数为[(1.07±0.14)×10⁶] CFU/g,已超过感染临界值,两组间差异有统计学意义(*P*<0.01)。见表 1。

2.3 G⁺细菌的比例 爆炸后 3 h,两组的 G⁺细菌比例均为 37%左右,两组间无统计学差异(*P*>0.05)。实验组通过 VAC 治疗 3 d 后,创面 G⁺细菌的比例明显增高;而对照组中的 G⁺细菌比例始终维持在 37%左

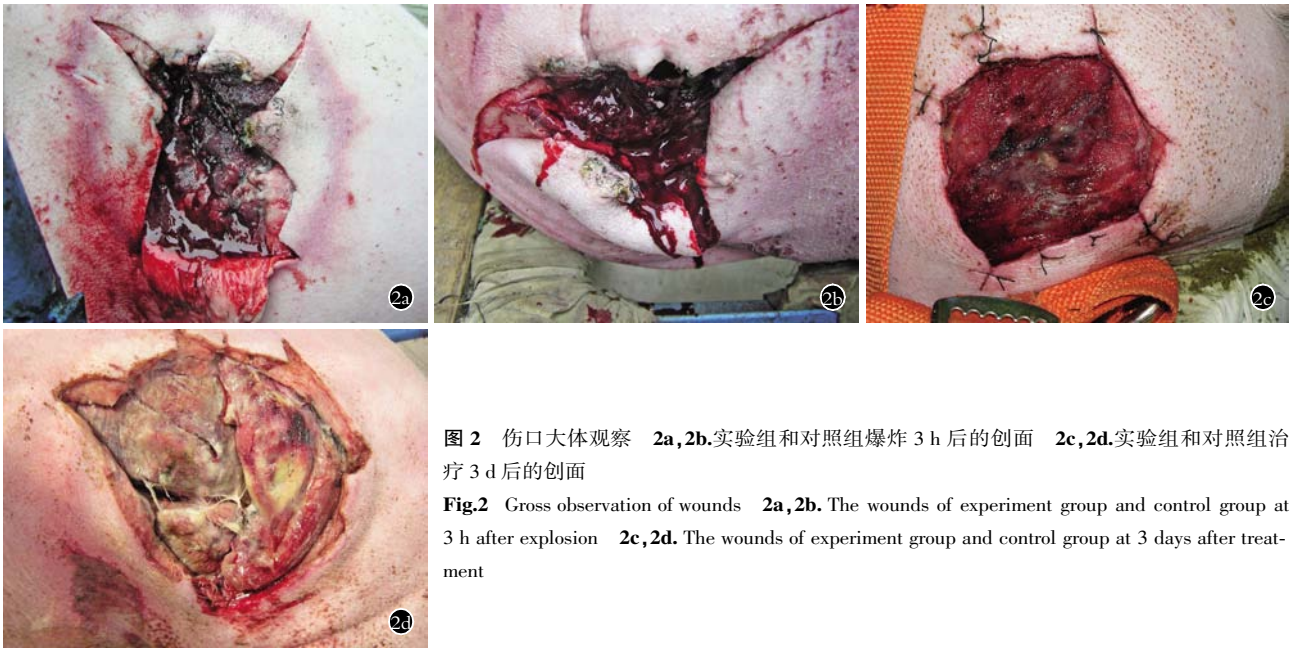


图 2 伤口大体观察 2a,2b.实验组和对照组爆炸 3 h 后的创面 2c,2d.实验组和对照组治疗 3 d 后的创面
 Fig.2 Gross observation of wounds 2a,2b. The wounds of experiment group and control group at 3 h after explosion 2c,2d. The wounds of experiment group and control group at 3 days after treatment

表 1 伤后各时间点两组创面细菌数的比较($\bar{x}\pm s$, CFU/g, n=8)

Tab.1 Comparison of bacterial number on wounds at different time points after injury between two groups
 ($\bar{x}\pm s$, CFU/g, n=8)

组别	爆炸 3 h 后	清创后	治疗 3 d 后
对照组	$(1.78\pm 0.28)\times 10^4$	$(5.03\pm 0.69)\times 10^2$	$(1.07\pm 0.14)\times 10^6$
实验组	$(1.83\pm 0.57)\times 10^4$	$(5.29\pm 1.08)\times 10^2$	$(7.82\pm 0.55)\times 10^4$
t 值	-0.282	-0.209	-49.627
P 值	0.792	0.845	9.87×10^{-7}

表 2 伤后各时间点两组创面的 G⁺菌比例($\bar{x}\pm s$, %, n=8)

Tab.1 Proportion of G⁺ bacteria at different time points after injury between two groups($\bar{x}\pm s$, %, n=8)

组别	爆炸 3 h 后	治疗 3 d 后
对照组	37.44±0.95	37.43±0.65
实验组	37.64±1.17	62.66±0.79
t 值	-0.922	-381.794
P 值	0.409	2.824×10^{-10}

右,两组间差异具有统计学意义($P<0.01$)。见表 2。

2.4 病理组织学观察结果

2.4.1 HE 染色结果 组织 HE 染色结果显示:由创面表面向内依次可分为 3 个区,即①凝固性坏死区:肌纤维变性呈均质红染、轮廓存在、无横纹结构(图 3a-3b);②组织碎裂区:肌纤维崩解成碎片,部分横纹消失,其间隙可见大量的出血和水肿(图 3c-3d);③组织变性区:肌纤维走形呈波浪状,胞核及横纹清晰,无组织出血和水肿现象(图 3e-3f)。

实验组治疗 3 d 后,在凝固性坏死区和组织碎裂区之间可见大量炎性细胞排列成带状(图 3g),一般深入新生肉芽组织 0.5 cm 左右。新生肉芽组织始于组织碎裂区,向上突入凝固性坏死区,向下与组织

变性区融合(图 3h-3i),生长良好,有大量成纤维母细胞和新生血管。在组织碎裂区和肉芽组织区之间有残留肌纤维碎片,颜色呈暗红色。对照组治疗 3 d 后,表面凝固性坏死区有大量菌落,新生肉芽组织明显较少,且含有较多炎性反应细胞(图 3j-3k)。成纤维母细胞和新生血管数量较少,并且组织中有较多由渗液形成的空泡(图 3l)。

2.4.2 Masson 染色结果 治疗 3 d 后,实验组新生肉芽组织中胶原含量为 $(52.13\pm 2.14)\%$,对照组为 $(29.76\pm 4.12)\%$,两组有统计学差异($t=-19.680, P=3.932\times 10^{-5}$);Masson 染色还显示,实验组肉芽组织中有大量新生血管,数量远较对照组丰富(图 4)。

3 讨论

20 世纪末期以来,爆炸性武器逐渐取代枪弹,成为最主要的致伤性武器。在 1990 年的美伊沙漠风暴战争中(Operation desert storm),美军 48%的伤员是爆炸伤,而枪伤仅占 10%。在 2003 年的伊拉克战争中,美军 60%的战伤属于爆炸伤^[4]。爆炸伤伤情复杂,残留异物多,污染严重,感染率极高。VAC 是一种设计思维独特,对传统外科引流做出了重大改进的新型引流技术。目前国内外对创伤治疗的研究主要集中在促进创面愈合的分子机制,而对 VAC 在战伤性爆炸伤的运用研究则比较少。

本实验模拟战场环境造成爆炸伤,并运用 VAC 进行早期处理,结果发现 VAC 对爆炸创面有良好的抑制感染和促进愈合作用。细菌学计数结果显示,治疗 3 d 后实验组创面细菌数显著低于对照组,并且未达到感染临界值,证明 VAC 可以抑制细菌增殖并防止创面感染。目前对 VAC 能有效控制创面细菌增殖的机制还不清楚,但大多数学者认为:VAC 的全

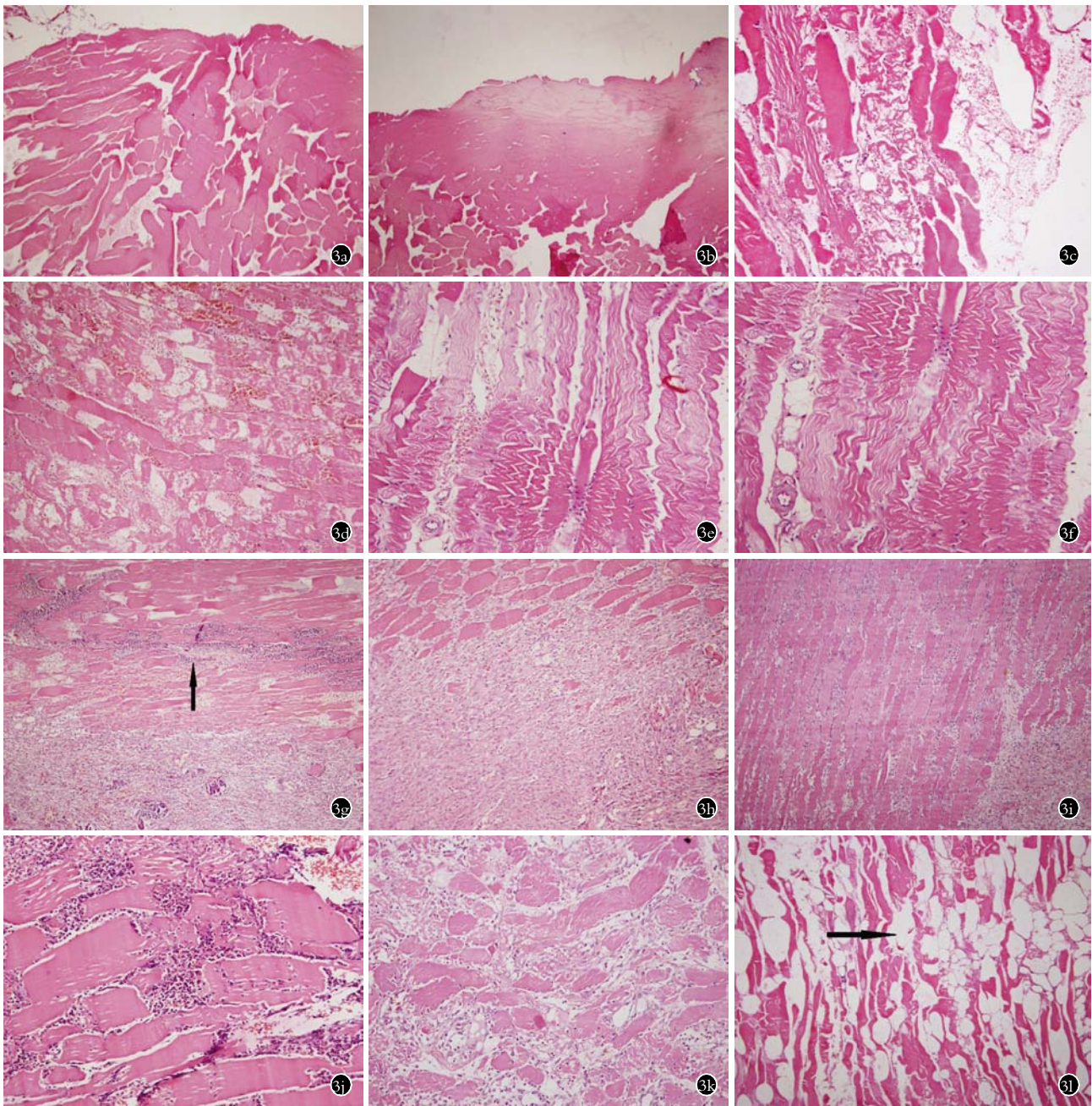


图 3 爆炸后和治疗后 3 d 后组织 HE 染色结果(x100) **3a,3b.**分别为对照组和实验组爆炸后形成的凝固性坏死区 **3c,3d.**分别为对照组和实验组爆炸后形成的组织碎裂区 **3e,3f.**分别为对照组和实验组爆炸后形成的组织变性区 **3g.**实验组治疗后的凝固性坏死区、炎症反应带、组织碎裂区和新生肉芽组织(箭头所示) **3h.**实验组治疗后形成丰富的新生肉芽组织 **3i.**实验组治疗后的组织变性区 **3j.**对照组治疗后的凝固性坏死和炎症细胞 **3k.**对照组治疗后的凝固性坏死和少量的纤维母细胞 **3l.**对照组治疗后的组织中形成的空泡(箭头所示)

Fig.3 The results of HE stain after explosion and treatment (x100) **3a,3b.** The area of coagulation necrosis formed in control group and experiment group after explosion **3c,3d.**The area of broken to pieces in tissues formed in control group and experiment group after explosion **3e,3f.** The degenerative area of tissue formed in control group and experiment group after explosion **3g.** The area of coagulation necrosis,inflammatory reaction,broken to pieces of in tissues and neoformative granulation tissue after treatment in experiment group (arrowhead point at place) **3h.** Theaffluent and neoformative granulation tissue after treatment in experiment group **3i.** The degenerative area of tissue after treatment in experiment group **3j.**The large coagulation necrosis cell and inflammatory cell after treatment in control group **3k.**The coagulation necrosis cell and slight fibroblast after treatment in control group **3l.** The vacuole formed among tissue after treatment in control group(arrowhead point at place)

方位和高负压持续引流可以将创面中的渗液、脓液和脱落的坏死组织彻底、及时地引出体外,从而减少细菌存活和繁殖的培养基^[5]。G⁺细菌比例检测的结果显示:实验组的 G⁺细菌比例提高了近 2 倍,而对

照组的比例没有变化。表明 VAC 可以抑制 G⁺细菌的增殖,从而指导我们在运用 VAC 治疗的同时,要调整抗生素的运用原则,重点应用对 G⁺细菌敏感的抗生素。实验中的病理学观察发现,VAC 早期处理爆

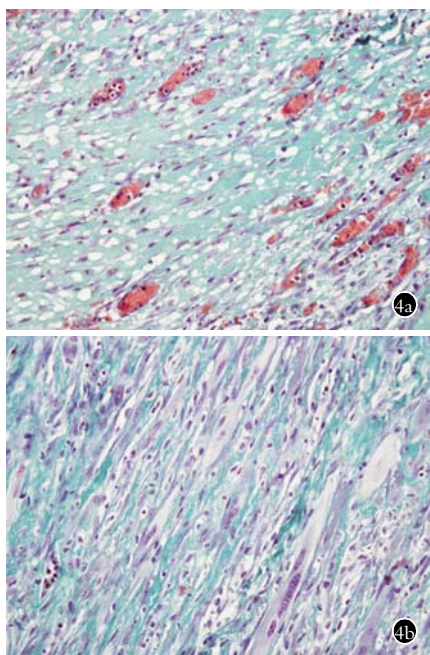


图 4 治疗后 3 d 肉芽组织 Masson 染色的结果($\times 100$) 4a. 实验组 4b. 对照组

Fig. 4 The results of granulation tissue by Masson stain after treatment($\times 100$) 4a. Experiment group 4b. Control group

炸创面,可以促进肉芽组织和毛细血管的生长,增加纤维母细胞的数量,缩短炎症反应的时间,显著降低肉芽组织填平创面的时间。胶原是纤维性修复过程中的一个重要指标,肉芽组织通过溶解和吸收坏死组织,填补组织缺损,最后转化成为以胶原纤维为主的瘢痕组织^[6]。由 Masson 染色发现,VAC 早期处理的爆炸创面比对照组胶原合成量显著提高,表明 VAC 对爆炸创面愈合过程中胶原的合成有促进作用。

有学者将皮肤缺损创面愈合过程中的肉芽组织划分为:最表层为炎症区,中间为增殖区,最下层是改建区^[7]。我们通过反复观察,认为从形态学角度可将爆炸伤创面划分为以下 3 区,即:①凝固性坏死区:这个区域有大量的坏死组织存在,是不可逆坏死区,也是创面中细菌繁殖的培养基,是清创时应重点清除的对象;②组织碎裂区:许多学者认为此区应予清除^[6],但我们发现此区可形成肉芽组织,并可见到新生肉芽组织包裹碎裂区肌纤维残迹的现象,这与我们对枪伤组织病理学观察结果相一致^[2,8]。由此我们认为:由于 VAC 抑制细菌增殖和防治创面感染的作用,此区组织应在清创时尽可能予以保留,以最大程度地保持伤肢功能;③组织变形区:该区为爆炸伤波及区域,损伤最轻,可彻底恢复。

战场救治往往在不稳定的环境下进行,医疗物资相对紧缺,医疗设备相对简单,且伤员众多,医务

人员的工作量很大^[9]。本研究表明,VAC 技术早期应用于爆炸伤创面可以达到很好的控制感染、增加伤部组织血流量、减轻创面水肿和促进肉芽组织生长的作用,对创面愈合具有良好的促进作用。VAC 操作简便,较常规处理方法可明显减少换药次数,显著减少医务人员劳动,因而非常适用于战伤救治或野外交通伤的处理^[10-11],值得进一步深入研究和推广应用。

参考文献

- [1] Wolf SJ, Beberta VS, Bonnett CJ, et al. Blast injuries[J]. Lancet, 2009, 374(9687):405-415.
- [2] 陈克明,葛宝丰. 枪伤病理分区与枪伤治疗[J]. 中国骨伤, 2010, 23(7):538-540.
Chen KM, Ge BF. Pathology division and treatment of gunshot wounds[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2010, 23(7):538-540. Chinese with abstract in English.
- [3] Jacobs S, Simhaee DA, Marsano A, et al. Efficacy and mechanisms of vacuum-assisted closure (VAC) therapy in promoting wound healing: a rodent model [J]. Plast Reconstr Aesthet Surg, 2009, 62(10):1331-1338.
- [4] Tuggle DW. Blast injury[J]. J Okla State Med Assoc, 2003, 96(9):419-421.
- [5] Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Brown EI, et al. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation[J]. Ann Plast Surg, 1997, 38(6):553-562.
- [6] 王正国. 创伤学基础与临床[M]. 武汉:湖北科学技术出版社, 2007:87-96.
Wang ZG. Fundamental and clinical of traumatology[M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 2007, 87-96. Chinese.
- [7] 李金清. VAC 促进猪皮肤软组织爆炸伤感染创面愈合的实验研究[D]. 西安:第四军医大学, 2005:90.
Li JQ. VAC for pig skin and soft tissue blast injury healing of infected wounds [D]. Xi'an: Fourth Military Medical, 2005:90. Chinese.
- [8] 葛宝丰,陈克明,白孟海. 枪伤伤道中烧伤所致凝固性坏死区及其临床意义[J]. 西北国防医学杂志, 2008, 29(3):176-179.
Ge BF, Chen KM, Bai MH. Gunshot wound track caused by coagulation necrosis in the burn area and its clinical significance[J]. Xi Bei Guo Fang Yi Xue Za Zhi, 2008, 29(3):176-179. Chinese.
- [9] 杨志焕,蒋耀光. 实用战伤救治[M]. 北京:人民军医出版社, 2008:16-29.
Yang ZH, Jiang YG. Practical treatment of war wounded[M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House, 2008:16-29. Chinese.
- [10] Mehdod AA, Ogilvie JW, Pinto MR, et al. Postoperative deep wound infection in adults after spinal fusion: management with vacuum-assisted wound closure[J]. J Spinal Disord Tech, 2005, 18(1):14-17.
- [11] Al-Qattan MM, Hashem F. Yet another use for the VAC machine [J]. Ann Plast Surg, 2004, 53(3):299.

(收稿日期:2011-02-17 本文编辑:王宏)