

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.09.007

文章编号: 1005-8982(2017)09-0035-04

负压引流技术治疗大鼠股骨骨髓炎的实验研究

王新泽, 杨钟华, 张山锋, 梁胜西, 叶志伟

(华中科技大学同济医学院附属武汉普爱医院, 湖北 武汉 430034)

摘要:目的 探讨负压引流技术(VSD)在大鼠股骨骨髓炎动物模型上的治疗效果,为VSD在临床上的应用提供前期的基础性实验研究。**方法** 首先将金黄色葡萄球菌注射至大鼠股骨骨髓内复制大鼠股骨骨髓炎模型。然后待模型制备成功后,将大鼠均分为5组,分别为VSD治疗1、3、5和7d组,以及模型组,VSD组采用VSD进行治疗,模型组进行普通的换药治疗。最后通过大体观察、体温、创面细菌计数,确定VSD负压治疗大鼠股骨骨髓炎的效果。**结果** 造模过程中大鼠体温上升,体重下降,精神萎靡、进食减少,双下肢活动不便,感染局部红肿,1周后伤口局部出现渗液、流脓。经过VSD治疗后小鼠体温恢复正常,创面无分泌物,并且随着治疗时间的延长,创面细菌数显著减少,且变得干燥、颜色红润,新鲜肉芽生长良好。**结论** 金黄色葡萄球菌复制大鼠股骨骨髓炎模型成功,成功率为90%;VSD负压引流治疗效果非常显著。

关键词: 负压封闭引流技术;股骨骨髓炎;金黄色葡萄球菌;细菌

中图分类号: R681.2

文献标识码: A

Experimental study of vacuum sealing drainage for treatment of rat femoral osteomyelitis

Xin-ze Wang, Zhong-hua Yang, Shan-feng Zhang, Sheng-xi Liang, Zhi-wei Ye

(Wuhan Puai Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430034, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of vacuum sealing drainage (VSD) for treatment of rat femur osteomyelitis and to provide an initial reference for its clinical application. **Methods** To prepare femur osteomyelitis model, *Staphylococcus aureus* was injected into the femoral bone marrow of rats. After the model was successfully established, the rats were divided into five groups including 1-day, 3-day, 5-day and 7-day VSD treatment groups and model group. The VSD treatment groups were treated with vacuum sealing drainage, and the model group were treated with ordinary dressing therapy. Finally, the therapeutic efficacy of VSD treatment on rat femur osteomyelitis was evaluated by gross observation, body temperature, and wound bacterial counts. **Results** In the process of modeling, the rats demonstrated significantly-increased body temperature, obviously-decreased body weight, listlessness, reduced diet, difficulty of lower limb movement, local redness and swelling, and infection. A week later, local wound started to excrete exudate and pus. After VSD treatment, the body temperature of the rats returned to normal, the wound did not have secretions. With the prolongation of treatment time, the number of bacteria in the wound dramatically decreased, the wound became dry with ruddy color, and the fresh granulation tissue grew well. **Conclusions** The model of femoral osteomyelitis induced by *Staphylococcus aureus* has been successfully prepared, the success rate of modeling reaches 90%. The treatment effect of VSD is very significant.

Keywords: vacuum sealing drainage; femur osteomyelitis; *Staphylococcus aureus*; bacteria

负压封闭引流技术(vacuum sealing drainage, VSD)是运用生物半透性薄膜覆盖在整个创面上使

收稿日期:2016-08-08

[通信作者] 杨钟华, E-mail: zh0821a@sina.com; Tel: 027-68831617

之封闭,然后通过负压引流出大量的炎症物质、坏死组织,使创面内渗液排出,利于新鲜肉芽组织生长,促进创面早日愈合^[1]。慢性骨髓炎是临床上较为常见的疾病,常常是由于创伤感染而导致的,因其低度感染、反复发作及死骨形成等特点,造成其迁延不愈,治疗难度较大^[2-3]。大量的临床治疗显示,VSD也可以用于治疗慢性骨髓炎^[4-5]。由于目前对于VSD治疗慢性骨髓炎的研究,仅限于临床上的疗效观察,而没有真正的进行实质性的基础实验研究,因而本研究通过制造大鼠股骨骨髓炎模型,运用VSD技术进行治疗并观测治疗效果,希望能够为VSD治疗骨髓炎的后期基础相关研究提供前期复制模型、疗效方面的参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

健康SD大鼠30只,鼠龄约7周,体重 200 ± 11.5 g,SD大鼠购于湖北省实验动物中心,正常饲养于SPF级实验动物中心;金黄色葡萄球菌悬液(ATCC25923,由本院检验科提供),浓度 3×10^8 CFU;鱼肝油酸钠(上海信谊金朱药业有限公司),水合氯醛(上海生工生物工程股份有限公司),硫化钡(上海生工生物工程股份有限公司),骨蜡(上海三友医疗器械有限公司),无菌敷料(美国3M公司),VSD材料(武汉维斯第医用科技有限公司)。

1.2 模型复制

10%水合氯醛0.3 ml/100 mg腹腔注射麻醉,用硫化钡脱毛,生理盐水冲洗干净后,将大鼠仰卧位固定在手术台上,碘伏消毒术区皮肤,铺无菌洞布,在股骨大转子下2 cm为切口起点,沿股骨方向做纵切口1.5 cm,切开皮肤,逐层分离皮下筋膜肌肉,剥离局部骨膜后用3.5 mm钻头的电钻,在该处钻2个纵向相连、部分重叠的骨洞,直达髓腔,制成一个矩形骨窗。随机将大鼠分成VSD组(20只)和对照组(10只),实验组先用注射器抽取骨髓后,再向髓腔内注射0.1 ml 5%鱼肝油酸钠,最后再向髓腔内注射0.3 ml金黄色葡萄球菌液(3×10^6 CFU),而对照组注射器抽取骨髓后,则向髓腔内注射0.1 ml 5%鱼肝油酸钠,再向髓腔内注射0.3 ml生理盐水。孔洞用无菌骨蜡密封,逐层缝合皮肤软组织,无菌敷料(主要成份为聚安脂)覆盖包扎,按统一标准饲养。术后第7天、第14天观察实验组和对照组的各项指标。若模型复制成功后,将VSD组再均分成5个亚组,分

别为VSD治疗1、3、5和7 d组及模型组。

1.3 VSD 治疗方法

首先对VSD组病灶进行彻底清创,完全清除坏死组织、脓液及不良肉芽等,充分止血,反复冲洗,找到复制模型时骨窗,打通骨窗。然后VSD组根据创面大小剪裁出合适的敷料将其填充于创面缺损。将多孔引流管用多头连接管合并成1个或多个出口。敷料与创面边缘间断缝合,最后用半透性黏贴薄膜黏贴密闭整个创面,使整个创面呈密闭状态。术后引流管接负压装置,予以持续定值负压引流。引流管为双芯,可持续有效进行抗生素(氨苄青霉素)冲洗。达到实验所需时间时,拆除VSD敷料,进行各项检测与观察。模型组进行彻底清创,用75%酒精轻轻擦拭,抗生素(氨苄青霉素)冲洗创口,无菌敷料包扎,1次/d。

1.4 分泌液细菌培养

在严格无菌操作下,取大鼠创面分泌液,用分区划分方法,用无菌接种环蘸取分泌液。接种于血平皿上,37℃温箱培养24 h,肉眼观察平皿培养基上沿划线处是否长出菌落,经过涂布、固定、染色及镜检,证实是否是金黄色葡萄球菌。

1.5 观察及检测指标

模型复制后进行以下检测:①大体观察伤口红肿、流脓等情况;②每天上午9:00记录各组小鼠体温变化情况;③记录手术当天、手术后第7天、第14天每只小鼠的体重;④蘸取创面分泌物进行细菌培养。VSD治疗后进行以下检测:①监控每天体温变化,并做记录;②大体观察有无引流液、创面是否干燥、有无分泌物、创面是否颜色红润及新肉芽是否生长良好;③创面细菌培养及计数,参照MORYKWAAS等^[6]方法进行细菌培养计数。

1.6 统计学方法

数据分析采用SPSS 11.0统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较用 t 检验,多组间比较用单因素重复测量设计的方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠股骨骨髓炎模型的复制

股骨骨髓炎造模过程中因操作不当,造成对照组中1只麻醉致死,实验组20只大鼠,有18只股骨骨髓炎模型复制成功,成功率达90%。术后,与对照组对比发现VSD组大鼠出现不同程度发热、精神萎

靡、进食减少,双下肢活动不便,感染局部红肿。造模第 7 天后伤口局部出现渗液、流脓(见图 1)。且与对照组相比,VSD 组体温升高(见图 2);VSD 组和对照组在术后 0、7 和 14 d 的大鼠体重比较,采用重复测量数据的方差分析,结果:① 术后不同天数的大鼠体重比较,差异有统计学意义 ($F=9.926, P=0.003$);② VSD 组大鼠体重与对照组比较,差异有统计学意义 ($F=15.752, P=0.002$),VSD 组大鼠体重减轻;③ 大鼠股骨髓炎造模 0 d 时对照组体重 200.1 ± 11.5 g, VSD 组 (201.5 ± 10.3) g,7 d 时对照组体重 (205.4 ± 10.8) g, VSD 组 (196.5 ± 12.6) g,14 d 时对照组体重 (228.1 ± 14.3) g,实验组 189.2 ± 13.1 g,两组大鼠体重变化趋势比较,差异有统计学意义 ($F=40.936, P=0.000$)(见图 3)。实验组大鼠创面分泌物细菌培养实验为阳性,均为金黄色葡萄球菌感染(见图 4)。VSD 说明在手术后 2 周大鼠股骨髓炎模型复制成功。

2.2 VSD 治疗效果

股骨髓炎模型大鼠在接受 2 种不同的治疗方式后,体温出现下降趋势,VSD 组与模型组比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$)(见图 5),VSD 治疗后体温下降与治疗天数有相关性,随着治疗时间的延长,体温渐渐恢复正常体温。通过比较两组创面的大体观察发现,随着治疗时间的增加,VSD 组创面引流液越

来越少,治疗第 5 天后创面无分泌物,颜色红润;第 7 天后创面干燥,新鲜肉芽生长良好。而模型组最开始还有新鲜血液渗出,治疗第 5 天后还有分泌物渗出,部分还有少量脓疱;第 7 天后有血痂,无分泌物。模型组和 VSD 组在 VSD 治疗 0、1、3、5 和 7 d 后创面细菌数量比较,采用重复测量数据的方差分析,结果:① VSD 治疗不同天数后创面细菌数量比较,差异有统计学意义 ($F=21435.500, P=0.000$);② VSD 组与模型组创面细菌数量比较,差异有统计学意义 ($F=8837.139, P=0.000$);③ 模型组与 VSD 组创面细菌数量变化比较,差异有统计学意义 ($F=5105.548, P=0.000$)(见附表和图 6)。说明 VSD 治疗能够有效的抑制创面细菌的生长,并且还能够清除创面细菌。而模型组接受普通换药治疗后,创面细菌数量下降幅度与 VSD 组相比较为缓慢。

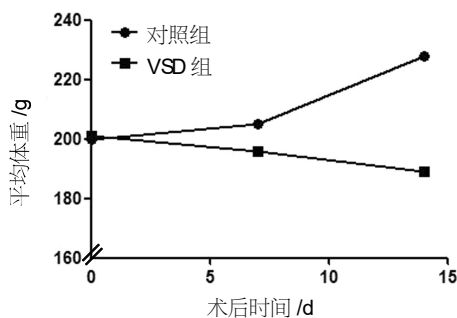


图 3 两组大鼠股骨髓炎模型复制前后的体重变化趋势



图 1 SD 大鼠股骨髓炎模型复制成功后局部脓液渗出

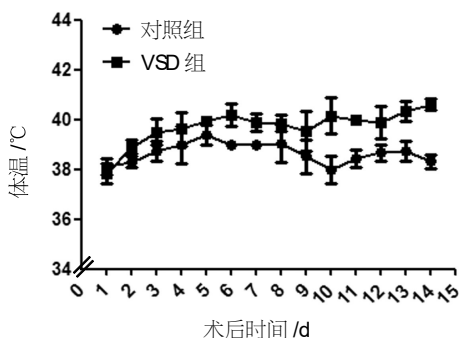


图 2 两组大鼠股骨髓炎模型复制成功后体温变化

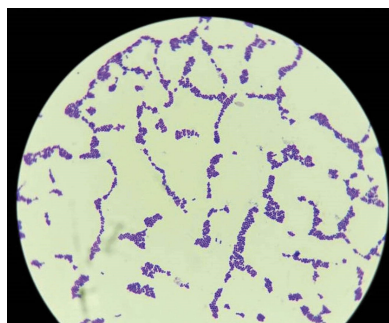


图 4 大鼠创面分泌物金黄色葡萄球菌培养 (× 10)

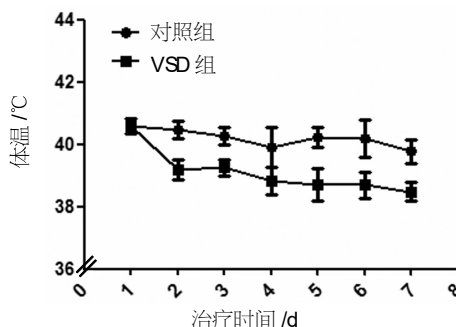


图 5 股骨髓炎大鼠 VSD 治疗后体温变化

附表 股骨骨髓炎大鼠接受不同时间治疗后创面细菌计数 (例, $\bar{x} \pm s$)

组别	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d
模型组	20 515.3 \pm 763.1	18 362.6 \pm 1024.3	11 425.7 \pm 235.2	6 520.2 \pm 120.2	2 456.2 \pm 54.4
VSD 组	20 623.4 \pm 945.4	1 002.6 \pm 112.2	201.0 \pm 29.2	40.8 \pm 10.4	2.3 \pm 0.4

注:细菌浓度为 $\times 10^3$ CFU/ml;0 d 为 VSD 开始治疗前 1 h

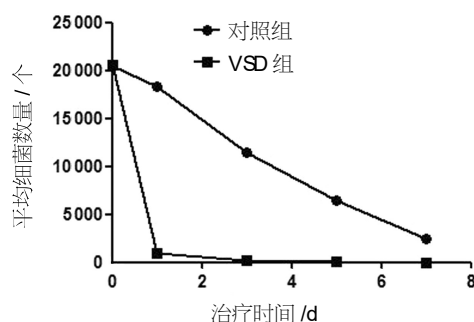


图 6 大鼠接受不同时间治疗后创面细菌变化趋势

3 讨论

在临床治疗的过程中,难愈性创面很普遍,也很棘手,治疗工作量较大,难以根除,并且反复发作。采用 VSD 治疗慢性骨髓炎,不仅效果好,而且疗程短,大大节约患者的时间和减少患者的痛苦。龚振华等^[7]运用 VSD 技术治疗各类软组织创伤,75 例 86 个创面接受 VSD 治疗,经过一段时间治疗后,创面全部愈合,且明显较对照组时间短,各项指标优于对照组。蔡永茂等^[8]在临床上运用 VSD 治疗骨髓炎,与传统手术治疗组比较,VSD 治疗临床疗效好,患者痊愈时间短,痊愈率高,并且还具操作简便、治疗费用低的特点。目前,有关 VSD 的相关研究仅局限于临床,其相关基础研究几乎没有报道。其实 VSD 治疗效果好的原因主要在于:① 促进血液循环,能够促进新鲜肉芽的生长;② 有效抑制细菌繁殖,控制感染;③ 通过外排创伤处分泌物及脓肿,能够有效减轻组织水肿;④ 能通过引力的牵扯作用,对创缘形成自然物理拉力,促进创面愈合。

有研究显示,金黄色葡萄球菌 (34%)、结核分枝杆菌 (10%)、绿脓杆菌 (6%) 和沙门菌 (7%) 是骨髓炎最常见的病原菌,因此本研究中,使用常见的钻孔开窗注射金黄色葡萄球菌的方法复制大鼠股骨骨髓炎模型,过程中发现造模组大鼠的体温上升较快,创面有分泌物甚至流脓,体重略显消瘦,创面分泌物经过细菌鉴定确定为金黄色葡萄球菌,这可能是由于金黄

色葡萄球菌感染造成大鼠发烧,体温上升较快^[9]。复制模型后的饲养过程中,与对照组大鼠体重增加比较,VSD 组的大鼠体重下降比较明显,这可能是由于大鼠感染后发烧导致大鼠食欲较差,最终导致消瘦。确定模型复制成功后,采用 VSD 治疗模型复制成功的大鼠,治疗过程中通过观察发现大鼠创面分泌物越来越少,最后变得干燥,创面红润;大鼠体温恢复正常,而且创面细菌量随着 VSD 治疗时间的延长而下降明显,说明 VSD 在动物模型水平的应用效果也是可观的,因而对于 VSD 治疗骨髓炎的机制研究而言,本研究提供较好的前期模型复制及 VSD 治疗效果参考,为后期机制研究提供较大的帮助。

参 考 文 献:

- [1] 刘三风,刘志豪,戴志波. 负压封闭引流技术 (VSD) 对各种复杂创面修复的临床研究[J]. 当代医学, 2009, 15(6): 66-68.
- [2] MARTÍN-NALDA A, ROCA I, FONTECHA C G, et al. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis and thalidomide in chronic granulomatous disease[J]. Pediatrics, 2016, 8(5): 567-569.
- [3] FRANCIS J R, ROBSON J, WONG D, et al. Chronic recurrent multifocal q fever osteomyelitis in children: an emerging clinical challenge[J]. Pediatr Infect Dis J, 2016, 11(7): 437-439.
- [4] 常炳营,李华贵,李宗一,等. 病灶清除加髓腔持续负压封闭引流治疗胫骨慢性骨髓炎[J]. 中国骨伤, 2011, 24(11): 952-954.
- [5] 杜全红,从海波,史永安,等. 封闭式负压引流技术联合开放植骨治疗胫骨创伤性骨髓炎[J]. 中国修复重建外科杂志, 2014, 28(5): 562-565.
- [6] MORYKWA M J, ARGENTA L C, SHELTON-BROWN E I, 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.
- [7] 龚振华,姚建,季建峰,等. 负压封闭引流技术治疗软组织损伤合并感染创面[J]. 中华创伤杂志, 2012, 28(1): 37-40.
- [8] 蔡永茂,洗小立. VSD 治疗骨髓炎的疗效分析[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(14): 115-116.
- [9] YE H T C, CHIU N C, LI W C, et al. Characteristics of primary osteomyelitis among children in a medical center in Taipei, 1984-2002[J]. J Formos Med Assoc, 2005, 104(1): 29-33.

(李科 编辑)