

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2018.10.003

· 论 著 ·

## 大鼠深 II 度烫伤合并创面感染模型的构建

郇科<sup>1,2</sup>, 白博<sup>1</sup>, 白晓智<sup>1</sup>, 苏菲<sup>1</sup>, 陈潇<sup>1</sup>, 桑宏勋<sup>1,3</sup>

(1 空军军医大学西京医院, 陕西 西安 710032; 2 陕西省第四人民医院, 陕西 西安 710043; 3 南方医科大学深圳医院, 广东 深圳 518101)

**[摘要]** **目的** 建立一种稳定性高、重复性好的深 II 度大鼠烫伤合并创面感染的动物模型, 用于烫伤合并创面感染的修复及治疗的研究。**方法** 选取 40 只 SD 大鼠, 随机分成 5 组, 采用自制烫伤仪(蒸汽温度 94℃)对大鼠皮肤进行烫伤, 致伤时间点分别为 4、6、8、10 和 12 s(每只大鼠脊柱两侧分别致伤 2 个相同创面), 烫伤 24 h 后观察创面组织学变化, 分析形成深 II 度烫伤创面的最佳致伤时间。选取 30 只 SD 大鼠, 随机分为 3 组, 每组 10 只, 采用最佳致伤时间形成深 II 度烫伤创面, 3 组大鼠一侧创面分别接种浓度为  $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$  和  $1 \times 10^9$  CFU/mL 铜绿假单胞菌菌液 0.3 mL, 另一侧均接种等体积生理盐水作为对照, 接种 24 h 后观察大鼠创面一般状况, 采用 HE 染色对创面进行染色并观察炎症反应, 分别于接种 1、2、4、7 和 14 d 后检测痂下细菌数量, 并记录大鼠创面愈合时间。**结果** (1)组织病理学结果显示, 致伤时间为 8 s 是形成深 II 度创面的最佳致伤时间。(2)大鼠深 II 度烫伤创面接种  $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$  CFU/mL 细菌后均有明显的炎性细胞浸润, 后者痂下炎性浸润更明显。烫伤创面接种  $1 \times 10^9$  CFU/mL 细菌 14 d 内, 痂下细菌含量均高于  $1 \times 10^5$  CFU/g, 且随着时间延长细菌含量呈持续上升趋势。大鼠创面愈合时间为  $(21.4 \pm 2.4)$  d, 较生理盐水对照组创面愈合时间  $(18.4 \pm 1.7)$  d 明显延长 ( $t = 2.72, P < 0.05$ )。**结论** 温度 94℃, 烫伤时间 8 s 为形成深 II 度烫伤的最佳致伤时间; 创面接种浓度为  $1 \times 10^9$  CFU/mL 铜绿假单胞菌可建立烫伤深度一致、重复性高、稳定性好的 SD 大鼠深 II 度烫伤合并感染模型。

**[关键词]** 烫伤; 铜绿假单胞菌; 感染; 模型; 大鼠**[中图分类号]** R644 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2018)10-0866-06**Establishment of a rat model of deep second-degree scald and burn infection**

HUAN Ke<sup>1,2</sup>, BAI Bo<sup>1</sup>, BAI Xiao-zhi<sup>1</sup>, SU Fei<sup>1</sup>, CHEN Xiao<sup>1</sup>, SANG Hong-xun<sup>1,3</sup> (1 Xi-jing Hospital, Military Medical University of the Air Force, Xi'an 710032, China; 2 The Fourth People's Hospital of Shaanxi, Xi'an 710043, China; 3 Shenzhen Hospital of Southern Medical University, Shenzhen 518101, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish a stable and high reproducibility rat model of deep second-degree scald and wound infection for the study of repair and treatment of scald and wound infection. **Methods** 40 SD rats were randomly divided into 5 groups, self-made scald instrument (steam temperature 94℃) was used to produce scald on rats' skin for 4, 6, 8, 10, and 12 seconds (identical wound at two sides of the spine of each rat), histological changes on wound was observed 24 hours after injury, the best duration for forming deep second-degree scald was analyzed. Another 30 SD rats were randomly divided into 3 groups, with 10 rats in each group, deep second-degree scald was formed with the best injury time, 0.3 mL liquid containing  $1 \times 10^7$  CFU/mL,  $1 \times 10^8$  CFU/ml, and  $1 \times 10^9$  CFU/mL *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) was respectively inoculated to the wound on one side, while the wound on the other side were inoculated with the same volume of normal saline as control, general condition of

[收稿日期] 2017-12-04

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81672180, 81270959)

[作者简介] 郇科(1982-), 男(汉族), 陕西省西安市人, 主治医师, 主要从事骨科研究。

[通信作者] 桑宏勋 E-mail: hxsang@fmmu.edu.cn

rats wound was observed 24 hours after inoculation, HE staining was used to stain the wound and observe inflammatory reaction, the number of bacteria under scar was detected after 1, 2, 4, 7, and 14 days of inoculation, wound healing time was recorded. **Results** (1) Histopathological findings showed that scald for 8 seconds was the best time for forming deep second-degree wound. (2) Inoculation of  $1 \times 10^8$  CFU/mL and  $1 \times 10^9$  CFU/mL bacteria to rat deep second-degree scald had obvious inflammatory cell infiltration, inflammatory infiltration under the scab of the latter was more obvious. The subschar bacterial count was  $1 \times 10^5$  CFU/g within 14 days after inoculation of  $1 \times 10^9$  CFU/mL bacteria to scald wound, and bacteria count showed a rising trend over time. Wound healing time of rats was significantly longer than that of the saline control group ( $[21.4 \pm 2.4]$  d vs  $[18.4 \pm 1.7]$  d,  $t = 2.72, P < 0.05$ ). **Conclusion** Temperature at  $94^\circ\text{C}$  and scald time for 8 seconds is the optimal time for forming deep second-degree scald; inoculation with *P. aeruginosa* at a concentration of  $1 \times 10^9$  CFU/mL to scald wound can establish a deep second-degree scald and infection model in SD rats with uniform depth, high reproducibility and good stability.

[Key words] scald; *Pseudomonas aeruginosa*; infection; model; rat

[Chin J Infect Control, 2018, 17(10): 866-871]

目前,烫伤已成为日常生产及生活中最常见的意外损伤之一。据统计,我国每年每百万人口中约有 5 000~10 000 人遭受烫伤<sup>[1-2]</sup>。创面感染是烫伤后最常见、最严重的并发症,引起创面感染的细菌主要为革兰阴性杆菌,其中铜绿假单胞菌是最常见的致病菌之一<sup>[3]</sup>。烫伤后创面感染如得不到及时救治,可能会引起严重后果,给患者带来沉重的精神和经济负担,患者的病死率明显升高<sup>[4-5]</sup>。动物烫伤感染模型的成功构建在创面修复方面的研究以及表面药物或敷料方面的研发中发挥着重要作用,因此,建立一种简单易行、稳定性高、重复性好的烫伤感染模型具有重要意义<sup>[6-7]</sup>。本实验应用自制烫伤仪对大鼠进行蒸汽烫伤,构建大鼠烫伤模型,排除重力、压力等因素的影响,在烫伤温度一致的情况下,烫伤时间成为控制烫伤深度的唯一因素。创面感染的病原菌选择临床上最常见的铜绿假单胞菌,其毒力稳定,易于培养分离,是制作创面感染的理想细菌。目前,对创面感染所需接种细菌浓度及接种方法方面的实验研究较少,本实验选择将 3 种不同浓度的细菌接种于烫伤创面,比较不同浓度的细菌感染大鼠深 II 度创面愈合过程中不同时间痂面下细菌含量、愈合时间长短,从而选择出细菌感染最佳浓度,同时比较两种细菌接种方法的优缺点。

## 1 材料与方 法

1.1 实验材料与试剂 雄性清洁级 SD 大鼠 90 只,体重 186~253 g,由空军军医大学实验动物中心提供;铜绿假单胞菌 ATCC 27853 由空军军医大学西京医院检验科提供;戊巴比妥钠购自美国 Sigma 公司,异氟烷购自河北九派制药有限公司,SP-CT/

218T 型蒸汽挂烫机购自上海旭博公司,旋转切片机购自德国 LEICA 公司,CX31 显微镜及摄像系统购自日本 Olympus 公司。

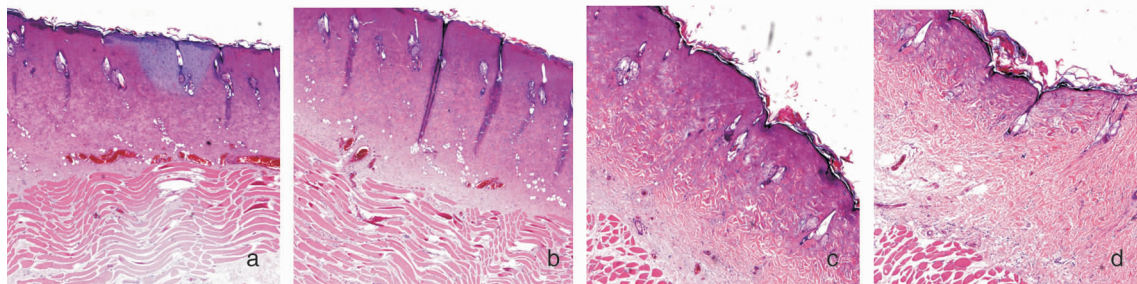
### 1.2 烫伤模型制备及最佳致伤时间分析

1.2.1 烫伤模型制备 拔掉 SP-CT/218T 型蒸汽挂烫机喷头,将容积 50 mL、开口直径 3 cm 的耐热塑料管与导气管对接并固定组成喷头,在厚度 2.5 cm 耐热塑料板上做一个直径 3.0 cm 的圆形模具开口。选取 40 只 SD 大鼠,随机分成 5 组,每组 8 只。实验前 1 天给予 10 g/L 戊巴比妥钠进行腹腔注射麻醉(40 mg/kg),麻醉后采用动物专用电剃刀剃去大鼠背部长毛,并给予 80 g/L 硫化钠进行脱毛。大鼠脱毛 2 h 后将挂烫机预热 1 min,待蒸汽温度  $94^\circ\text{C}$ ,助手将直径 3 cm 模具置于大鼠背部待烫部位并固定,挂烫机喷头垂直置于模具上方进行烫伤并计时,各组大鼠致伤时间点分别为 4、6、8、10、12 s,每只大鼠脊柱两侧分别致伤 2 个相同创面,致伤后创面未予任何处理,且立即给予大鼠腹腔注射 5 mL 生理盐水抗休克,然后将大鼠回笼后分笼饲养。

1.2.2 最佳致伤时间分析 致伤 24 h 后观察大鼠一般情况,每组选取 6 只烫伤大鼠处死,取  $1.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$  大鼠创面全层皮肤样本,采用甲醛固定 24 h 后进行切片,切片组织进行 HE 染色,根据相关文献<sup>[8]</sup>判定烫伤深度。大鼠烫伤 12 h 后,烫伤时间 4 s 时大鼠创面皮肤表皮浅层受损,可见基底细胞层;烫伤时间 6 s 时大鼠创面皮肤表皮浅层坏死,部分真皮受损;烫伤时间 8 s 时大鼠皮肤表皮深层及真皮深层受损;烫伤时间 10 s 和 12 s 时大鼠创面皮肤全层及皮下组织皮肤附件完全受损。大鼠烫伤 12 h 后创面损伤逐渐发展,各组大鼠烫伤后不同时

间点创面病理结果存在差异。大鼠烫伤 24 h 后,烫伤时间 4 s 大鼠创面皮肤表皮浅层受损,符合 I 度烫伤标准;烫伤时间 6 s 大鼠创面表皮坏死脱落,部分细胞充血水肿,白细胞浸润,胶原纤维离散肿胀,符合浅 II 度烫伤标准;烫伤时间 8 s 大鼠创面皮肤表皮细胞核固缩,真皮深层受损,胶原纤维融合,毛

囊残留,符合深 II 度烫伤标准;烫伤时间 10 s 和 12 s 大鼠创面皮肤全层及皮下组织皮肤附件完全受损,伤及肌肉层,符合 III 度烫伤标准。见图 1。烫伤时间 8 s 为深 II 度烫伤创面最佳致伤时间,组织取材最佳时间为烫伤后 24 h。



a: 烫伤时间 4 s, 表皮浅层坏死; b: 烫伤时间 6 s, 表皮深层受损; c: 烫伤时间 8 s, 真皮浅层受损; d: 烫伤时间 10 s, 真皮深层坏死

图 1 大鼠烫伤后 24 h 皮肤组织病理学观察结果(HE×100)

Figure 1 Histopathological observation of skin 24 hours after rats were scalded (HE×100)

### 1.3 细菌菌悬液制备和创面感染模型构建

1.3.1 细菌菌悬液制备 将铜绿假单胞菌 ATCC 27853 复苏后接种于琼脂培养基上,37℃ 恒温培养 18~20 h,用接种环挑取菌落接种于血培养基上,继续培养 18~20 h,采用稀释法配制浓度为  $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$  和  $1 \times 10^9$  CFU/mL 的新鲜菌悬液。

1.3.2 创面感染模型构建 随机选取 30 只大鼠,按随机数字表法分为 3 组,每组 10 只,采用最佳致伤时间 8 s 构建深 II 度烫伤创面模型。烫伤 30 min 待皮肤冷却后,烫伤大鼠创面切痂,3 组大鼠一侧创面分别接种浓度为  $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$  和  $1 \times 10^9$  CFU/mL 的铜绿假单胞菌菌悬液 0.3 mL,另一侧接种等体积生理盐水作为对照组,以无菌纱布覆盖创面,纱布边缘与正常皮肤缝合固定。

1.4 创面炎症反应、细菌定量及创面愈合时间 创面痂下接种细菌 24 h 后,观察创面状况,并取创面组织进行 HE 染色,采用显微镜观察创面炎症反应情况。每组 10 只大鼠分别于接种细菌后 1、2、4、7 和 14 d 取创面中心少许组织,放入匀浆器中,加入 2 mL 生理盐水,电动搅拌器充分匀浆,然后将匀浆液按照 1:10 比例稀释,然后取 0.1 mL 稀释液接种于琼脂平板,在 37℃ 条件下孵育 18~24 h 后进行细菌计数。含菌量(CFU/g) = 菌落数(CFU) × 稀释倍数/组织重量(g)。创面愈合标准定义为创面完全上皮化,分别记录各组大鼠创面愈合时间。

1.5 创面细菌接种方法比较 选取 20 只大鼠按随机数字表法分为 2 组,每组 10 只,按照最佳致伤时间 8 s 制成深 II 度烫伤创面模型,配制浓度  $1 \times 10^9$  CFU/mL 新鲜铜绿假单胞菌菌液。第 1 组(切痂涂抹法)大鼠创面切痂后立即接种  $1 \times 10^9$  CFU/mL 铜绿假单胞菌菌液 0.3 mL,然后以无菌纱布覆盖创面并与边缘正常皮肤缝合固定;第 2 组(痂下埋藏法)大鼠创面不切痂,用小剪刀在创面痂边缘剪开一小口,然后将含  $1 \times 10^9$  CFU/mL 0.3 mL 铜绿假单胞菌菌液的小纱条塞入痂面下,以无菌纱布覆盖后与边缘正常皮肤缝合固定。参照 1.4 的方法和步骤计算含菌量、创面愈合时间。

1.6 统计分析 所有数据应用 SPSS 18.0 软件进行分析,计数资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,多组之间比较用单因素方差分析。以  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 创面一般情况 烫伤开始至伤后 24 h 各组大鼠创面均呈圆形,直径约 3.0 cm,烫伤 8 s 时创面与正常组织分界清楚,创面高出正常皮肤,随着致伤时间延长,创面潮湿、质感较硬、色泽渐暗、创面颜色由白色变为灰白。致伤时间 8 s,大鼠伤后 24 h 创面质硬、无渗出、呈灰褐色,见图 2。



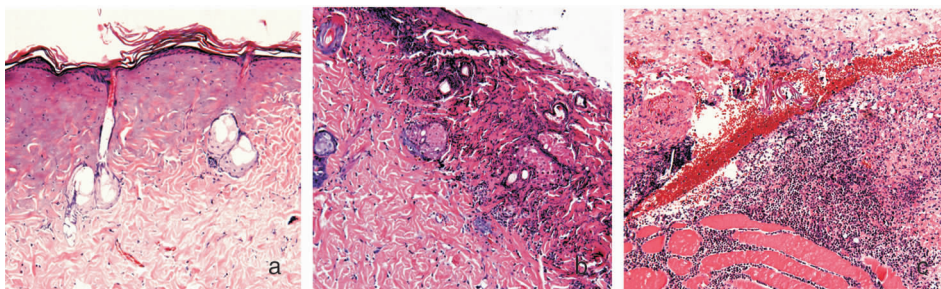
图 2 致伤时间 8 s 大鼠伤后 24 h 创面一般情况

Figure 2 General condition of wound 24 hours after 8-second injury in rats

2.2 不同浓度细菌感染创面时大鼠全身状况及创面组织学观察 3 组大鼠一般精神状态可, 进食好, 眼部无分泌物。第 1 组感染菌量为  $1 \times 10^7$  CFU/mL 的大鼠创面分泌物较少有些甚至无分泌物, 铜绿假单胞菌特有的恶臭味不明显, 显微镜下可见少许炎

性细胞浸润。第 2 组感染菌量为  $1 \times 10^8$  CFU/mL 的大鼠创面可见分泌物较多, 并可闻及明显的恶臭味, 显微镜下可见创面表皮及真皮浅层炎性细胞浸润明显。第 3 组感染菌量为  $1 \times 10^9$  CFU/mL 的大鼠创面可见大量分泌物, 恶臭味明显, 显微镜下可见弥漫性皮肤全层及肌层炎性细胞浸润, 见图 3、4。

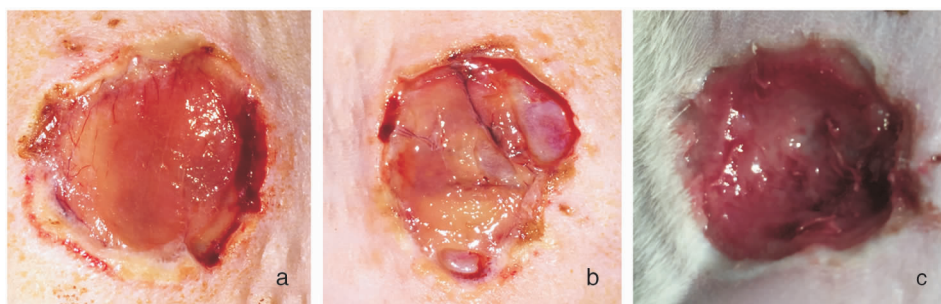
2.3 创面痂下细菌定量结果 接种  $1 \times 10^7$  CFU/mL 细菌的大鼠创面细菌含量低于  $1 \times 10^5$  CFU/g, 第 5 天后细菌含量逐渐下降。接种  $1 \times 10^8$  CFU/mL 细菌的大鼠创面细菌含量高于  $1 \times 10^5$  CFU/g, 第 7 天后细菌含量逐渐下降。接种  $1 \times 10^9$  CFU/mL 细菌大鼠创面细菌含量高于  $1 \times 10^5$  CFU/g, 接种细菌后 14 d 内细菌含量高于  $1 \times 10^5$  CFU/g, 并呈明显持续上升趋势。见表 1。



a: 接种菌量为  $1 \times 10^7$  CFU/mL 的大鼠创面未见明显炎性细胞浸润; b: 接种菌量为  $1 \times 10^8$  CFU/mL 的大鼠创面可见表皮及真皮浅层炎性细胞浸润; c: 接种菌量为  $1 \times 10^9$  CFU/mL 的大鼠创面可见皮肤全层及肌层弥漫性炎性细胞浸润

图 3 深 II 度烫伤大鼠创面接种不同浓度铜绿假单胞菌后组织学表现 (HE $\times$ 200)

Figure 3 Histological observation of wound of rats with deep second-degree scald after inoculated with different concentrations of *P. aeruginosa* (HE $\times$ 200)



a: 接种  $1 \times 10^7$  CFU/mL 细菌的大鼠创面基本红润, 有少量分泌物; b: 接种  $1 \times 10^8$  CFU/mL 细菌的大鼠创面可见的脓性分泌物; c: 接种  $1 \times 10^9$  CFU/mL 细菌的大鼠创面可见大量脓性分泌物

图 4 深 II 度烫伤大鼠创面接种不同浓度铜绿假单胞菌后外观表现

Figure 4 Appearance of wound of rats with deep second-degree scald after inoculated with different concentrations of *P. aeruginosa*

**表 1** 3 组大鼠创面接种不同浓度铜绿假单胞菌后各时间点痂下细菌含量( $\times 10^5$  CFU/g)

**Table 1** Subeschar bacterial count of 3 groups of rats at different time points after inoculated different concentrations of *P. aeruginosa* ( $\times 10^5$  CFU/g)

组别	1 d	2 d	4 d	7 d	14 d
接种 $1 \times 10^9$ CFU/mL 细菌组 ( $n = 10$ )	2.60 ± 0.99	4.60 ± 0.42	7.10 ± 0.56	27.02 ± 1.87	38.10 ± 3.39
接种 $1 \times 10^8$ CFU/mL 细菌组 ( $n = 10$ )	1.20 ± 0.55	2.40 ± 0.64	3.74 ± 1.12	5.14 ± 1.40	2.71 ± 0.79
接种 $1 \times 10^7$ CFU/mL 细菌组 ( $n = 10$ )	0.35 ± 0.11	1.20 ± 0.46	1.70 ± 0.71	0.71 ± 0.32	0.56 ± 0.11

2.4 创面愈合时间比较 接种  $1 \times 10^9$  CFU/mL 铜绿假单胞菌的大鼠创面愈合时间为(21.4 ± 2.4) d,长于对照组的创面愈合时间(18.4 ± 1.7) d( $t = 2.72, P < 0.05$ )。接种  $1 \times 10^8$  CFU/mL 铜绿假单胞菌的大鼠创面愈合时间为(19.4 ± 1.1) d,接种  $1 \times 10^7$  CFU/mL 铜绿假单胞菌的大鼠创面愈合时间为(18.3 ± 1.3) d,与对照组比较,差异均无统计学

意义( $t$  值分别为 1.33、0.16,均  $P > 0.05$ )。

2.5 两种接种方法比较 两种方法分别接种  $1 \times 10^9$  CFU/mL 细菌后 14 d,大鼠创面痂下细菌含量均高于  $1 \times 10^5$  CFU/g,呈持续上升趋势。见表 2。痂下埋藏法愈合时间(22.5 ± 1.5) d,切痂涂抹法愈合时间为(21.8 ± 1.3) d,两种接种方法愈合时间比较,差异无统计学意义( $t = 1, P > 0.05$ )。

**表 2** 两种方法接种  $1 \times 10^9$  CFU/mL 铜绿假单胞菌后各时间点大鼠创面痂下细菌含量( $\times 10^5$  CFU/g)

**Table 2** Subeschar bacterial count of rats at different time points after inoculated  $1 \times 10^9$  CFU/mL *P. aeruginosa* by two methods( $\times 10^5$  CFU/g)

组别	1 d	2 d	4 d	7 d	14 d
痂下埋藏法 ( $n = 10$ )	2.89 ± 0.14	4.72 ± 0.52	7.97 ± 0.45	28.27 ± 0.87	38.61 ± 1.80
切痂涂抹法 ( $n = 10$ )	2.32 ± 0.04	4.27 ± 0.59	6.73 ± 0.67	26.73 ± 0.68	36.73 ± 1.38

### 3 讨论

为客观的评价疗效,动物烫伤合并创面感染模型的构建在烫伤药物及敷料的研究中扮演着举足轻重的角色,因此,建立一种简便规范、可控制、重复性强,且与临床接近的动物模型,对烫伤合并创面感染的治疗和药物研究具有重要意义。

目前,国内外关于烫伤合并感染创面模型的研究较多<sup>[9-10]</sup>,其中 I 度和浅 II 度烫伤的创伤程度较轻,仅伤及表皮和真皮层,创面感染可以被自身清除,以自然愈合为主,创面的愈合过程和愈合时间接近;III 度烫伤由于创伤严重,容易造成侵袭性伤害,治疗周期长,病死率高,不适合进行动物模型相关研究<sup>[11]</sup>。深 II 度烫伤创伤程度适中,创伤达真皮乳头层,损伤部分为网状层及皮肤附件结构,愈合周期在 3 周左右,能比较出各种治疗措施的疗效,是比较理想的烫伤动物模型<sup>[12]</sup>。

近年来,制作动物烧烫伤模型常用方法包括溴钨灯光辐射及闪光粉致动物体表烧伤、凝固汽油燃烧或开水烫伤致动物体表烧伤法、磷烧伤及高温金属模具烧伤等<sup>[13-14]</sup>。烫伤对皮肤的损害程度主要与致伤温度、时间、面积等因素相关,但以上方法不同

程度上存在模型烫伤创面深度不一致、创面面积难以控制、致伤温度不恒定、操作过程繁琐等缺点,导致可重复性和实验效果均较差<sup>[15]</sup>。通过综合各种方法的优点,本研究应用的恒温蒸汽烫伤仪可在温度、时间和面积等方面达到标准化,提高动物模型构建的稳定性和可重复性。与传统模型相比,本研究建立的动物烫伤模型皮肤损伤仅由热力所致,排除了重力等因素的影响,在烫伤温度一致的情况下,烫伤时间成为控制烫伤深度的关键因素<sup>[16]</sup>。恒温蒸汽烫伤仪具有烫伤面积可控、深度均匀、创面干净、操作简单等优点,适合进行各种创面药物及敷料的比较及作用机制研究。

本实验组织病理观察可见烫伤深度随着致伤时间的延长逐渐加深。烫伤 12 h 时损伤处于进展阶段;烫伤 24 h 时创面深度稳定,同一致伤时间的病理结果一致;烫伤 48 h 时创面病理结果与伤后 24 h 比较无明显差异。烫伤对皮肤组织的损伤是动态变化的过程,因此,判定烫伤深度应以伤后 24 h 后的结果为准,其中组织学病理观察被认为是确定烫伤深度的金标准<sup>[17]</sup>。烫伤合并创面感染后,机体免疫细胞启动炎症反应,产生大量炎症细胞并聚集<sup>[18]</sup>。

细菌负荷是影响创面感染的一个重要因素,当细菌负荷大于宿主的免疫防御能力时出现感染

症状<sup>[19]</sup>。Krizek 等<sup>[20]</sup>研究证实,当感染细菌负荷水平 $<10^5$  CFU/g,伤口愈合时间才开始逐渐延长。本实验结果显示,细菌负荷高于 $1 \times 10^5$  CFU/g,愈合时间明显延长,被认为是有效感染的鉴定标准。本组实验结果显示,烫伤后创面接种细菌浓度不同创面感染程度不同,动物全身炎症反应也不同。当接种细菌浓度为 $1 \times 10^8$  CFU/mL 和 $1 \times 10^7$  CFU/mL 时,接种后 4 d 和 7 d 细菌负荷开始减少,细菌大部分可以被机体清除,炎症反应不明显;与生理盐水对照组相比,炎性细胞浸润程度无明显差别,且合并感染的创面愈合时间和生理盐水对照组相近。当接种细菌浓度为 $1 \times 10^9$  CFU/mL 时,接种细菌后 14 d 内,痂下细菌含量呈持续上升趋势,且创面炎症反应明显,炎性细胞广泛浸润;与对照组相比,创面愈合时间延长。由此可以确定,接种细菌浓度 $1 \times 10^9$  CFU/mL 符合烫伤合并创面感染的发展进程,可以用来比较药物及敷料的疗效。

比较切痂涂抹法和痂下埋藏法两种接种方法,结果显示,两种方法形成的创面愈合时间相近,痂下埋藏法与自然的创面感染不同,局部易形成脓肿,感染灶不均匀,切痂涂抹法更接近临床感染,更适合进行烫伤合并感染的研究。

综上所述,本组研究结果提示,温度 $94^\circ\text{C}$ 、烫伤时间 8 s、接种 $1 \times 10^9$  CFU/mL 浓度的铜绿假单胞菌为制作 SD 大鼠深 II 度烫伤合并铜绿假单胞菌感染创面的最佳条件。由此条件构建的模型烫伤深度一致、重复性高、稳定性好,大鼠创面感染率高、病死率低,为烫伤患者创面治疗及修复机制的研究提供了实验室依据。但是,本研究仍存在一些不足,烫伤部位选取大鼠脊柱两侧皮肤,大鼠背部身体弧度使模具与皮肤接触不均匀,导致创面中间深、周围浅,应进一步对模具及其固定方法进行改善;大鼠背部创面的敷料采用胶布固定时,动物搔抓容易脱落,用环形胶布固定时包扎过紧使动物腹压增加,影响动物进食。采用创缘与纱布缝合固定,防止动物搔抓纱布敷料引起脱落,但缝合可以加重局部损伤,再加上大鼠个体差异及对感染的耐受程度不同等因素,均可以影响愈合过程及愈合时间。

## [参 考 文 献]

[1] Zhanzeng F, Yurong Z, Chuangang Y, et al. Basic investigation into the present burn care system in China: burn units,

doctors, nurses, beds and special treatment equipment [J]. Burns, 2015, 41(2): 279-288.

- [2] Ressler RA, Murray CK, Griffith ME, et al. Outcomes of bacteremia in burn patients involved in combat operations overseas[J]. J Am Coll Surg, 2008, 206(3): 439-444.
- [3] Stoller J, Halpin L, Weis M, et al. Epidemiology of severe sepsis: 2008-2012[J]. J Crit Care, 2016, 31(1): 58-62.
- [4] Ward PA, Bosmann M. A historical perspective on sepsis[J]. Am J Pathol, 2012, 181(1): 2-7.
- [5] Tanideh N, Haddadi MH, Rokni-Hosseini MH, et al. The healing effect of scrophularia Striata on experimental burn wounds infected to *Pseudomonas aeruginosa* in rat[J]. World J Plast Surg, 2015, 4(1): 16-23.
- [6] 刘烜凯, 张绪美, 王芸, 等. 大鼠烫伤模型和烫伤后感染模型的建立[J]. 潍坊医学院学报, 2017, 39(4): 248-250.
- [7] 马春梅, 徐小涛, 黄晓星, 等. SD 大鼠烫伤铜绿假单胞菌感染模型的建立[J]. 世界临床药物, 2016, 37(7): 488-493.
- [8] 陈意生. 现代烧伤病理学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [9] 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]. 中华危重病急救医学, 2001, 13(5): 275-279.
- [10] 迟云飞, 柴家科, 马丽, 等. 三维扫描技术精确控制大鼠烫伤面积动物模型的建立[J]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2011, 6(2): 196-201.
- [11] 张大伟, 龚震宇, 彭毅志. 大鼠烫伤创面感染模型的研制[J]. 中华烧伤杂志 2011, 27(2): 104-108.
- [12] 王宫, 程佑民, 吴华嵩. 不同深度皮肤烫伤的动物模型建立[J]. 康复学报, 2013, 23(5): 21-22.
- [13] 张月, 白晓智, 芦帅, 等. 小鼠深 II 度烫伤创面模型建立及创面缺氧情况检测[J]. 中华烧伤杂志, 2013, 29(3): 277-280.
- [14] Abdullahi A, Amini-Nik S, Jeschke MG. Animal models in burn research[J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(17): 3241-3255.
- [15] Wu XW, Spies M, Chappell VL, et al. Effect of bombesin on gut mucosal impairment after severe burn[J]. Shock, 2002, 18(6): 518-522.
- [16] 姚庆君, 贾赤宇, 陈璧, 等. 一种大鼠蒸气烫伤模型的建立[J]. 中华烧伤杂志, 2004, 20(3): 168-170.
- [17] Monstrey S, Hoeksema H, Verbelen J, et al. Assessment of burn depth and burn wound healing potential[J]. Burns, 2008, 34(6): 761-769.
- [18] Fernandes AC, França JP, Gaiba S, et al. Development of experimental in vitro burn model[J]. Acta Cir Bras, 2014, 29 (Suppl 2): 15-20.
- [19] 沈娟, 金小宝, 丁静, 等. 烧烫伤创面感染的小鼠模型构建[J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(3): 65-69.
- [20] Krizek TJ, Robson MC, Kho E. Bacterial growth and skin graft survival[J]. Surg Forum, 1967, 18: 518.