DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.04.015

论著

文章编号:1000-5404(2000)04-0338-03

严重烧伤后特异抗白念菌IgA下降与白念菌粘附定植的关系

白晓东[1],刘贤华[2],肖光夏[1] (第三军医大学:1附属西南医院烧伤研究所;2预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所,重庆 400038)

提 要:目的 对烧伤后早期肠内特异抗白念菌IgA变化及其白念菌粘附肠粘膜的关系进行观察。方法 利用无特殊病原菌(SPF)的小鼠定植白念菌模型,致以20%TBSA Ⅲ度烧伤。ELISA法检测伤前及伤后1、2、3 d的肠内特异抗白念菌IgA水平;同时选择培养并计数盲肠及小肠粘膜表面粘附的白念菌。结果 伤前组特异IgA为(69.37±25.37)U/mg,伤后1 d为(48.84±26.47)U/mg,2 d明显降为(38.22±23.57)U/mg,3 d为(52.64±37.35)U/mg;肠内白念菌总量伤后第1天最高;伤后第2、3天粘附菌量明显升高。结论 特异IgA下降与肠粘膜表面粘附菌量增多密切相关。

关键词:烧伤;IgA;白色念珠菌;细菌定植;小鼠
中图法分类号:R392.11;R644 文献标识码:A

Study of the relationship of the decline of specific IgA to adherent colonization of Candida albicans after severe burns in mice

BAI Xiao-dong, LIU Xian-hua, XIAO Guang-xia (Institute of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the relationship of the decline of specific IgA antibody in the intestine to the adherence of *Candida albicans* to intestinal mucosa in the early stage after severe burns in mice. **Methods** SPF mice were inoculated with *Candida albicans* 14 days before the animals were inflicted with 20% TBSA full thickness burns. The level of specific IgA against *C.albicans* in the intestine was determined before and 1, 2 and 3 days after burn injury. *C.albicans* clonies on the mucous membrane of the cecum and small intestine was selectively cultured and counted. **Results** The decrease of the level of specific IgA was positively correlated to the increase of the number of *C.albicans* colonies on the intestinal mucosa. **Conclusion** The decline of specific IgA showed strong correlation to the increased amount of candida adhence to intestinal mucosa.

Key words: burns; IgA; *Candida albicans*; colonization; mouse

白色念珠菌是烧伤后常见的条件致病真菌,以往研究证实,烧伤后早期肠内即有真菌的优势定植[1]。在局部肠内屏障中,粘膜免疫抗体屏障是支柱之一,过去许多文献证实烧伤后早期局部抗体IgA有明显下降[2],但处于检测总IgA水平阶段。目前认为,不同的抗原种类诱生的IgA抗体特异性不同[3]。深入研究烧伤后肠腔内特异抗白念菌IgA水平变化与白念菌定植与粘附的相互关系,对于阐明局部抗体变化如何导致肠粘膜屏障功能下降,显然十分必要。本研究利用无特殊病原菌小鼠白念菌定植模型,对烧伤后早期局部抗体变化与白念菌定植粘附的关系进行初步探讨。

基金项目:全军"九五"攻关项目(96L042)

作者简介:白晓东(1969—),男,山西省太原市人,博士,主治医师,主要从事烧伤感染方面的研究,发表论文10篇。电话:(023)68754149-8041

收稿日期:1999-09-02;修回日期:1999-12-22

1 材料与方法

1.1 动物分组、给菌及致伤

无特殊病原菌(Special pathogene free, SPF)小鼠87只,本校动物中心提供,5周龄,(20±2)g。设正常对照组(Control),烧伤前组(Pre-burn),烧伤组(Post-burn),后两组动物给菌:白色念珠菌标准株(cmcc44104)为本所保存菌株,在沙氏平板上增菌,生理盐水冲洗收集,调菌悬液至1.5×10^9 cfu/ml,每只动物经口喂入0.5 ml菌悬液,隔离饲养。在给菌后14 d时,烧伤组动物背部剃毛后经3%凝固汽油烧7 s,致以20%烧伤总面积(Total burn surface area, TBSA)Ⅲ度烧伤。活杀:脱颈处死对照组及烧伤前组动物;烧伤组于烧伤后1、2、3 d处死。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 取材

动物活杀后，无菌取盲肠、末段回肠。其余取剩余全段小肠，在 4℃下，平铺于滤纸上，纵行剖开，充分清洗内容物，用玻片刮取粘液约 0.1 ml，－20℃保存。

1.3 白色念珠菌选择培养

盲肠内白念菌总数　取完整盲肠，称重后置于 5 ml 生理盐水匀浆，系列稀释后取 0.1 ml 均匀涂布于沙氏选择平板（内含高浓度伊米配能），37℃下培养 72 h，计数阳性菌落，并换算出每克组织的菌落数。

肠粘膜表面粘附数量[4]　取末端回肠，经无菌程序及 15 ml 灭菌生理盐水彻底冲洗肠腔，称重后入 5 ml 生理盐水混匀，取 0.1 ml 均匀涂布于沙氏选择平板表面，37℃培养 72 h，计数阳性菌落，并换算出组织中的菌落数。

1.4 肠粘液中特异抗白念菌 IgA 抗体的检测[5]

取肠粘液，用 0.5 ml PBS（pH 7.2，0.01 mol/L）充分混匀，离心 5 000 r/min，5 min，取上清待测。

白色念珠菌经 10%甲醛缓冲液固定过夜，次日用生理盐水充分洗涤。调菌液至 3.0×10^{8}/ml，每孔 100 μl 包被 96 孔酶联板，4℃，72 h 倾去，PBS 洗 3 次。用 0.5%BSA PBS 液封闭 30 min，倾去后每孔直接加入 100 μl 粘液上清，37℃，1 h。PBS 洗涤 3 次，加入 HRP 标记抗鼠 IgA（Sigma 公司，1∶250），27℃，1 h。OPD 显色半小时，2 mol/L H_2SO_4 1 滴终止，492 nm 比色读取 D_{492} 值。0.5%BSA 为阴性对照。

$$\text{阳性标准：}\frac{D_{492}-\text{对照 }D_{492}}{\text{对照 }D_{492}}>2.1$$

特异 IgA 相对定量：取经预实验已测其阳性的 10 只小鼠粘液上清，做 1∶1，1∶2，1∶8，1∶16 稀释，以 1∶1 时设定为 1 000 U/ml。以上设定标准品与样本同时测定。制定标准曲线。

粘液上清同时测总蛋白含量。

$$\text{粘液中特异抗白念菌 IgA 量(U/mg)}=\frac{\text{IgA 相对定量(U/ml)}}{\text{蛋白含量(mg/ml)}}$$

1.5 统计学处理

采用第四军医大学 SPLM 软件作方差分析。

2 结果

2.1 烧伤后白念菌数量变化

盲肠内白念菌总数在伤后变化较大，伤后 24 h 明显增加，但至伤后 2、3 d 就基本恢复正常。而粘附至肠粘膜表面的白念菌数量以伤后 2 d 最高，伤后 3 d 略有下降，但仍高于正常水平，见表 1。

2.2 伤后特异抗白念菌 IgA 的变化

定植白念菌后特异 IgA 水平明显升高，但烧伤后其含量有所降低，以伤后 2 d 最明显，仅为伤前平均水平的一半左右，见表 2。

表 1　白色念珠菌数量变化

Tab 1　Change of the amount of camdida albicans (cfu/g)

	Cecum content ($\times10^5$)	Adherence to intestine
Control (n = 19)	0	0
Pre-burn (n = 25)	3.23 ± 7.63	231.77 ± 321.64
Post-burn 1 d (n = 19)	14.77 ± 38.71△	270.57 ± 313.35
2 d (n = 12)	0.23 ± 0.16	1663.58 ± 2559.00△
3 d (n = 12)	0.26 ± 0.31	449.33 ± 353.22△

△：$P<0.05$ *vs* pre-burn

表 2　肠腔内抗白色念珠菌特异 IgA 水平

Tab 2　Specific IgA to candida in intestine

	Postive rate	IgA contents (U/mg)
Control (n = 19)	6(32%)	18.63 ± 6.87
Pre-burn (n = 25)	10(40%)	69.37 ± 25.37△
Post-burn 1 d (n = 19)	9(47%)	48.84 ± 26.47△※
2 d (n = 12)	9(57%)	38.22 ± 23.57△※
3 d (n = 12)	5(42%)	52.64 ± 37.35△※

△：$P<0.05$ *vs* control；※：$P<0.05$ *vs* pre-burn

3 讨论

本研究利用 SPF 动物模型及选择培养技术，可以直接观察肠内白色念珠菌的粘附数量变化。SPF 动物肠内本无真菌，给人外源性白色念珠菌后，真菌选择培养的结果直接反映白色念珠菌数量，这样优点有：①避免了普通动物可能携带的念珠菌对结果的影响；②可长期观察所给入白念菌的定植变化，而同位素和荧光标记菌的观察则有时限性。

烧伤特异抗白念菌 IgA 水平下降与肠粘膜表面白念菌数量密切相关：伤后 1 d，特异 IgA 与伤前相比，略有下降，此时粘膜表面粘附菌量与伤前无明显差别；伤后 2 d，特异 IgA 水平显著下降，粘附菌量也远高于伤前水平；伤后 3 d，特异 IgA 水平略有回升，粘附菌量亦降至（449.33±353.22）cfu/g。而盲肠内总菌量由粘附粘膜表面菌量和肠内容物中菌量构成，伤后总菌量亦有变化，以伤后 1 d 为最高，伤后 2、3 d 已与正常无明显差别。说明总菌量的变化与特异 IgA 以及其它一些因素有关，如肠蠕动情况。伤后第 1 天，肠内白念菌数量虽然较多，但此时肠内特异 IgA 水平尚处于较高水平，因此粘附至肠粘膜表面的白念菌数量并无明显增多；而伤后 2 d IgA 水平下降明显，粘附菌量显著增加；由此可见，特异抗白念菌 IgA 在抑制白念菌粘附肠粘膜方面起着重要作用。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

参考文献:

[1] 陈　军, 张雅萍, 肖光夏, 等. 双歧杆菌制剂防治烧伤鼠肠源性感染的初步研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1996, 16(增刊): 62－64.

[2] 白晓东, 粟永萍, 刘贤华. 严重烧伤后肠粘液成份变化与肠源性感染的关系[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1996, 12(2): 90－92.

[3] Lomm M E. Interaction of antigens and antibodys at mucosal suface[J]. Annu Rev Microbiol, 1997, 51: 311－320.

[4] 郭宁如, 沈永军, 吕桂霞, 等. 不同免疫状态下的白念珠菌对小鼠肠粘膜的粘附及影响[J]. 中华皮肤科杂志, 1994, 27(2): 86－87.

[5] Maeve M C. Simont T, Stephen J C. Immunogolbulin A, IgA1, and IgA2 antibodies to candida albican in whole and parotid saliva in human inmmunodeficiency virus infection and AIDS[J]. Infection Immun, 1994, 62(3): 892－894.

（编辑　冯崇英）

文章编号: 1000-5404(2000)04-0340-01

经验与短篇

烧伤病人临床心理分期及治疗

Clinical psycological stages and treatment of burned patients

张树堂, 张红卫, 谭秀丽, 李树仁　(郑州市第一人民医院烧伤科, 郑州　450004)

烧伤病人多由于意外伤害突然发生所致, 患者对突如其来的打击难以承受, 常产生恐惧、自卑和绝望等复杂心理变化。我们根据临床工作经验, 将烧伤病人临床心理变化及表现, 大致分为 3 个时期, 即急性应激期、心理矛盾期和康复痊愈期。针对各期特点, 提出相应对策, 以便对患者的治疗和康复有所益处。

1　急性应激期

此期由于病人被突然烧伤, 心理平衡被破坏, 随之产生震惊、焦虑、恐惧不安等反应。既怕影响工作或学习, 又怕经济负担重, 还怕疼痛, 甚至死亡。本期医护人员主要是千方百计安慰病人, 想法使病人从高度紧张的应激状态松驰下来, 避免思想激动, 主动配合治疗。

2　心理矛盾期

经过一段治疗, 病人恍恍不安的心情有所缓解, 且重新相对获得心理平衡。但此期手术、输液、输血、翻身和换药等治疗繁多, 病人对疼痛、长期卧床难以耐受, 烧伤后患者自我完整性被破坏, 在植皮手术后常产生阉割性焦虑[1], 担心影响工作学习。此时医护人员主要是做好各项治疗前的解释工作, 使病人了解烧伤治疗基本过程, 以便求得患者及家长的配合, 切忌语言或操作粗暴。只要我们根据每个病人的不同年龄、性别、职业、兴趣和受好, 做病人的知心朋友, 在医患之间建起互相信任的纽带, 就能得到事半功倍的效果。例如, 我们适时地给病人读小说、报纸, 播放音乐、相声或戏曲等, 分散病人对疼痛的注意力, 如此对治疗甚有益处。再如对长期睡翻身床的患者, 除采取上述措施外, 在其俯卧位时, 还投其所好, 在床头放置一象棋盘, 由病人指挥, 别人代运棋子, 在娱乐中几个小时过去了, 既防止了背部创面受感染, 又调解病人心情, 食欲也增加了, 抗病能力提高了, 加速了疾病康复。

3　康复痊愈期

随着病情好转, 病人对未来生活、前途考虑得很多, 尤其是四肢功能障碍、面容毁坏的病人会产生不同程度的思想顾虑, 甚至悲观失望[2]。进入康复期后, 病人心理负担减少但也会出现反复。如对毁容、疤痕, 甚至伤残等产生自卑、难过情绪。此时, 主要通过一些身残志坚的典型或同病房身边的事实, 鼓励病人向他们学习, 不断地调整自己的心态, 下决心去适应新环境, 持之以恒加强功能锻炼, 坚定信心, 再树人生风帆。

总之, 将烧伤病人临床心理变化分成上述 3 个时期, 只要我们医护人员在治疗上精心, 护理时细心, 生活上关心, 解释问题耐心, 对病人有同情心, 根据不同阶段, 采取适当的方式, 就能使病人较迅速地得到身心康复, 痊愈出院。

关键词: 烧伤; 疼痛; 心理分期

中图法分类号: R644　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 皇埔恩. 护理心理学[M]. 西安: 陕西人民出版社, 1993.99－100.

[2] 陶祥玲, 张永玲. 烧伤护理[M]. 上海: 上海科技出版社, 1982.54－55.

（编辑　陈聪连）

作者简介: 张树堂(1945－), 男, 河南省获嘉县人, 副主任医师, 主要从事大面积烧伤休克期切痂和烧伤营养方面的研究, 发表论文 36 篇。电话: (0371) 6319087

收稿日期: 1999-04-30; 修回日期: 1999-09-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net