DOI:10.16016/j.1000-5404.1980.04.008

重度呼吸道蒸气烧伤实验研究之六

呼吸道烧伤犬早期的优势病原菌

训练部微生物学教研室　周善章　艾亿玲　彭高生

吸入性烧伤病人的死亡率可高达48～80%（Achauer 1969）。病人早期24小时的呼吸道病变主要是肺水肿。气道壁充血和间质性肺炎（Stephenson 1975），往后多数病人发生革兰氏阴性杆菌的肺炎（Achauer 1973）。曾有人用庆大霉素去控制感染，用皮质激素去防治肺水肿，均未收到实效（Greeinfield 1973）。失败的原因可能是微循环失常或输液过多，也可能是伤后细菌在死亡的组织中增殖太快或者这些防治措施没有对准优势的病原菌及其代谢产物。因此需要调查呼吸道烧伤的优势病原菌。

上呼吸道常居菌的种类多，数量大，平时即可随气流下行并短时存留于下呼吸道中。这给评定呼吸道烧伤后的优势病原菌带来困难，应在实验设计中设法排除。为此我们采用定量分离培养的方法（作者，1972），并从每个实测的数据中扣除正常菌种的数量本底。所谓优势病原菌，系指一个菌种在伤后标本出现的频率高，出现的数量大而且与主要的病变（脓性炎症和肺水肿）相关。

初步的结果表明优势菌种一般在伤后24°显露出来。乙型溶血性链球菌，白色葡萄球菌，假单胞菌属和奈氏菌属，金色葡萄球菌等为脓性病变的优势病原菌。假单胞属外的不发酵革兰氏阴性杆菌可能与肺水肿有相关迹象。

一、材　料　与　方　法

（一）动物模型、致伤方法和分组　详见本研究之一。共46条犬：对照组7条；呼吸道烧伤动态观察组（动态组）22条，伤后2°活杀5条，6°活杀6条，24°活杀6条，48°活杀5条；呼吸道烧伤加30%体表烧伤（复合组）7条；单纯30%体表烧伤（单体组）5条；呼吸道烧伤连续观察（单呼组）5条。复合组、单体组和单呼组均系伤后24°活杀。

在尸检过程中用无菌法吸取总气管内容物；用一般病理解剖方法切取右肺三级支气管壁和肺叶边缘组织各一小块，取材部位力求与病理检查的标本同步。

（二）定量分离培养和鉴定的方法　先把三级支气管壁（代表气道中段）和肺叶边缘组织（下呼吸道）用无菌盐水洗三次，每次5 ml。然后移入二个无菌细砂研磨管中。磨匀后连同总气管内容物（上呼吸道）一道分别加1%胰酶3—4 ml（无菌0.2M Na_2HPO_4 临用前配制），混匀后放37℃水浴消化30分钟，少数标本延长到60分钟。最后用无菌肉汤稀释：总气管内容物按10^{-2}和10^{-4}稀释，支气管壁和肺组织按10^{-1}～10^{-2}。余液置4℃冰箱保存以备复

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

查。少数培养全阴性结果的标本要用已消化未稀释的标本液复查。最后的余液加0.1%叠氮钠放冰箱保存并用280nm测定其蛋白含量（mg/ml）。

分别取各个稀释标本液0.3ml，用无菌铂环涂抹于充分干燥的经过无菌试验的血平板和巧克力平板上（因在头几次实验中未发现流感杆菌，故后来撤消），在无菌室内待干。37℃培养48小时看结果。

根据血平板上的菌落形态和镜下形态和革兰氏染色性，初步定出每类菌落的数目，然后用灭活兔血清半固体琼脂增殖保存并进行鉴定。球菌，肠道杆菌和革兰氏阳性杆菌用常规法鉴定。革兰氏阴性不发酵糖的杆菌则按照Konter（1975）的方法并参考MacFaddin（1976）的方法进行，检查了氧化酶，动力，淀粉酶，DNA酶，10%乳糖，靛基质，尿素，H_2S，O-F发酵管，N_2，蛋光素，明胶，枸盐培养基，精胺酸利用，色素产生等项指标。不能定种的则按属定为待定株。

标本所含活菌数目按每mg标本总蛋白量来表示：

$$\text{活菌数/mg 标本总蛋白} = \frac{\text{消化标本原液内菌数/ml}}{\text{标本总蛋白mg/ml}-\text{标本内胰酶蛋白mg/ml}}$$

二、结　果

（一）烧伤前后的总菌数比较　所有实验组的总菌数均值都是上呼吸道内大，向下逐步减小。伤后48小时内总菌数有波动（F值=2.31，$F_{0.1}>P>F_{0.05}$），到24小时则在上中下呼吸道都增加，尤以下呼吸道增加显著（$P<0.05$）。48小时的总菌数看来在回降。但因标准差过大以致差异不很显著。

表 1　犬烧伤前后的呼吸道总菌数（$\times 10^3$）

标本部位	伤前（正常犬）犬数：（7）	单纯呼吸道烧伤（动态组）犬分组活杀时间（小时） 2（5）	6（6）	24（6）	48（5）	F 测验
总气管(上)	732±1308	234±442	186±334	1768±2239	427±463	F=2.31
二级支气管(中)	2.3±4.2	0.2±0.3	1.4±3.0	3.0±5.6	3.6±6.3	($F_{0.1}<P>F_{0.05}$)
边缘肺组织(下)	0.1±0.2	0.5±0.7	19.5±47*	11.0±29.4*	0.9±1.4	

NO$\times 10^3$.　*：$P<0.05$

（二）犬呼吸道菌种的正常数量本底，以及它们在烧伤前后在犬呼吸道中出现的频率

查了46条犬的126份标本共分得247个菌株，它们分属于六个菌种，四个菌属和一个菌类（表2）。大部分是正常菌丛，伤前业已存在，其数量有一个常值范围：（$\bar{x}\pm 2Sx$）$\times 10^3$。标本+%指的是某一菌种的株数/被查标本的总数。

犬的呼吸道常居菌和人的有所不同，虽经特别注意，这次在伤前的呼吸道内还是没有发现流感杆菌、肺炎球菌和甲链球菌，奈氏球菌有也不多。对照犬呼吸道没有见到乙型溶血性链球菌和金色葡萄球菌是可理解的，因这二种菌一般不属正常菌丛。下呼吸道暂带常居菌的犬在伤前的犬群中只占少数（0～28%）。伤前各种细菌的数量下限（$\bar{x}-2S$）均为"0"，

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

意指总有部分的正常犬呼吸道不带这种或那种细菌；上限（$x+2Sx$）从0.02×10^3—到2358×10^3，在不同菌种之间差异是很大的，≥上限系指因某种原因细菌在呼吸道内增多（$P<0.05$）；上下限均为“0”指该菌种不是犬的呼吸道正常菌丛，如乙型链球菌，甲型链球菌和金色葡萄球菌。本文将在表3及其以后用上述的本底上限去扣除正常菌丛对烧伤犬标本的细菌学检查结果的干扰。

伤后只有9种细菌的标本+%（表2）高于正常犬的+%。如按+%来看，伤后呼吸道

表 2　犬呼吸道菌种的数量本底，以及烧伤前后标本+%的比较

菌种	正常本底：$\bar{X}\pm2S_x$			伤前和（伤后）标本+%		
	标本部位			标本部位		
	上	中	下	上	中	下
假单胞菌属*	0-2358	0-3.5	0-0.4	14(56)	14(36)	28(39)
不发酵革氏阴性杆菌*	4.0	0.02	0.02	0(26)	0(25)	14(14)
奈氏菌属*	0	0.04	0.03	0(29)	14(25)	14(22)
白色葡萄球菌*	66	0.6	0.03	14(12)	28(20)	38(32)
乙型溶血链球菌*	0	0	0	0(29)	2(25)	0(28)
肠道菌属*	932	5.2	0	14(15)	14(20)	0(14)
微球菌*	107	1.2	0.02	18(9)	18(22)	6(14)
类白喉杆菌	1.3	2.9	0.2	14(0)	28(17)	28(6)
枯草杆菌	11.9	1.5	0.02	14(9)	23(9)	14(6)
甲链球菌*	0	0	0	0(3)	0(0)	0(6)
金色葡萄球菌*	0	0	0	0(3)	0(6)	0(6)

* 伤后+%＞伤前　　No$\times10^3$

出现菌种的次序应按表3第一列的* 号来安排。下面就这9种细菌扣除本底后进一步分析。

（三）呼吸道菌量超本底的单纯烧伤犬的+%，及其标本在病程中的分布

根据表2所列各菌的正常本底的上限核对单纯烧伤犬每份标本内的各种菌量。只将数量超上限的菌种所在标本的犬号（以“#”为记，后文同此）填入表内相应的格位，举例说明如下：在表内第四栏第二行见到32 32 32，系指单纯呼吸道烧伤犬（32号）在伤后24小时的上中下呼吸道中均有超本底的乙型溶血性链球菌。第一栏的犬+%：气道上中下任一标本带有超本底菌量的犬数/总犬数22，标本+%意义同表2。

总观上表有两点值得注意。首先，伤后2小时下呼吸道有三个菌种的数量开始超上限，但不伴有病理的表现。菌量超本底趋势在24小时达到高峰，表现在犬+%高（82%），菌种多（7种）而且上下扩散，多数标本伴有病变。48小时后这样的趋势有所削弱。其次，如按每个超本底菌种所在犬的+%来排菌种的序列（表3第一栏），其结果与表2（第一栏）所列的大不相同。两种序列的头五种细菌次序互相倒置。但也有一点相同，就是肠道杆菌，微球菌，甲链球菌，枯草杆菌和类白喉杆菌都是不关紧要，因它们+%低（<10%）。

下面将根据这五种细菌所在标本的病变性质来评定这些细菌的重要性。

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

表 3 呼吸道菌量超本底的烧伤犬＋%，及其标本在病程中的分布

菌种	＋%		单纯呼吸道烧伤犬分组活杀时间（小时）								
	犬 (22)	标本 (102)	2（5犬） 上	2（5犬） 中	2（5犬） 下	6（6犬） 上	6（6犬） 中	6（6犬） 下	24（6犬） 上	24（6犬） 中	24（6犬） 下	48（5犬） 上	48（5犬） 中	48（5犬） 下
乙型溶血链球菌	41	24				25*		40*	38*	38*		5*		56*
									32*	32*	32*	59*		
									53*	53*	53*	44*	44*	44*
白色葡萄球菌	41	20					42*	42*	32*	32*	32*			5*
										60*	60*			56*
									51,53					
奈氏菌属	45	20		36**		25*	40*		53*	53*	53*	22*	5*	56*
										51	51			
										38				
										58				
假单胞菌属	23	10		18**				26*	60*		32*			
										38*	38*			
不发酵革氏阴性杆菌	20	6				16*	48*	42*			60*			
							25*	25*						
金色葡萄球菌	13	10						40*	60*	60*	60*			
										53	53			
肠道杆菌	9	5		11**										5*
微球菌属	9	5						40*		38*	38*			
甲型链球菌	4	2				16*								
混合感染犬数				0			4			5			4	

* 菌量超本底标本所属的犬号　　No** 该标本无病变

（四）五种细菌的种类与所在标本病变性质的关系　先将单纯烧伤犬的全部标本按其病变性质分为三组：无病变，单纯脓性，化脓加水肿。再看每组标本中有多少标本带有某种细菌。

表 4 细菌的种类（5种）与标本的病变性质的关系

标本的病变性质	标本总数	乙型溶血链球菌	白色葡萄球菌	不发酵革氏阴性杆菌	假单胞菌属	奈氏球菌属
无病变	4	0	0	0	1(25)	1(25)
单纯脓性	24	7(29)	4(16.6)	3(12.5)	3(12.5)	5(20)
化脓＋水肿	44	12(30)	4(9)	11(25)	5(11)	7(16)

（ ）：＋%

从上表初步见到4点：（1）第一方框表明乙型溶血性链球菌和白色葡萄球菌只与化脓性病变有关系，因它们不在无病变标本中出现，因为它们的频率在单纯脓性和脓性加水肿二组标本之间差异不显著。（2）第二方框表明假单胞菌属外的不发酵糖的革兰氏阴性杆菌与水肿有相关迹象，因为它们不出现于无病变标本和少见于单纯脓性病变的标本中，而多见于

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

化脓加水肿的标本内。（3）其余两种细菌与病变关系不甚明确，因在无病变标本内也出现。它们虽然也出现于脓性和水肿的标本中，但不能以此肯定或否定它们与这两种病变的关系，因为有混合感染：一份标本同时出现两种以上的细菌，病变有可能由别的细菌引起。（4）根据相关的百分率高低，这五种细菌的排列次序就是上表表头所列的顺序。

（五）体表烧伤对呼吸道烧伤的加重作用在不发酵革兰氏阴性杆菌方面的表现 体表烧伤、呼吸道烧伤和二者的复合烧伤的实验犬均在伤后24小时被活杀检查。比较三组犬菌量超本底标本的＋%和它们在组间的分布。结果是在五种优势病原菌中只看见假单胞菌属外的不发酵革兰氏阴性杆菌的标本＋%表明，体表烧伤有加重单纯呼吸道烧伤的迹象。

表 5 假单胞菌属外不发酵革兰氏阴性杆菌超本底标本在三组实验犬间的比较

致伤条件	体表烧伤			呼吸道烧伤			体表+呼吸道		
标本部位	上	中	下	上	中	下	上	中	下
＋标本所在的犬号	24*					60*	35*	35*	
	52*					12*	12*	12*	12*
							29*	29*	29*
分组犬数	5			6			7		
分组犬＋%	40			16.6			43		
分组标本数	12			17			20		
分组标本＋%	16.6			0.06			40		

三、讨　论

（一）关于优势病原菌的序列（1）如不扣除本底按犬＋%和标本＋%（表2）评定，其序列是假单胞菌属，不发酵革兰氏阴性杆菌，奈氏菌属，白色葡萄球菌，乙型链球菌。（2）如按扣除本底统计的犬＋%和标本阳性率（表3），其序列则另一样：乙型链球菌，白色葡萄球菌，奈氏球菌，假单胞菌属和不发酵革兰氏阴性杆菌。（3）如按它们与病变性质的关系（表4）：与脓性病变有关系菌种的序列是乙型链球菌，白色葡萄球菌，奈氏球菌和假单胞菌属；与水肿有相关迹象的只是不发酵的革兰氏阴性杆菌。所以，全面衡量后还是上述的第三种序列合理一些，因它和第二种序列差别不大，因为它排除了正常菌短暂进入下呼吸道的干扰，再者它结合了病变的特征。金色葡萄球菌的犬＋%只有13%，标本＋%只有10%，因而不好归入上述序列。但因它出现比较集中在24小时活杀组，又一旦在呼吸道内出现总是向下蔓延（表3），并与脓性病变有关，所以仍应重视。

总观五种优势细菌的犬＋%（23—45）。标本＋%（12—24）和病变吻合率(5.5～26)都不算高，这是因为这些＋%是按单一菌种分别统计的。如把上述序列的头四种菌总起来作为化脓菌的概念再来计算则＋%分别增至78%，74%，和44%。意思是呼吸道烧伤犬的3/4，在伤后的2～48小时内出现上述的四菌之一或一种以上，而且数量超本底；在有脓性病变的标本中，近半数标本总有这四种细菌之一或一种以上而且超过本底。其余的1/4犬和半数的脓性标本没有这些细菌，其病变可能由于别的原因。

革兰氏阴性的不发酵的杆菌比较简单，它的出现与水肿有一定的吻合率(25%，表4)。它多半不是肺水肿的原发原因，因它的出现只是在复合烧伤组内突出（表5），或者说体表

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

烧伤通过未知的方式加重了它在呼吸道内的出现。

（二）五种优势菌在呼吸道烧伤中的病原学意义

1．乙型链球菌，白色和金色葡萄球菌。它们是典型的化脓球菌，它们引起急性炎症，导致血浆渗出并使之凝固；导致中性白细胞渗出后裂解，释放水解酶类和组胺。这些变化在小气道内形成阻塞；损伤粘膜表面而暴露植物神经末梢，增加反射性气道阻塞。

白色葡萄球菌是正常菌丛，乙型链球菌和金色葡萄球菌只是少数带菌者的呼吸道细菌。后两种细菌的呼吸道感染多半与医护人员的接触和空气污染有关。

乙型链球菌常被看作是呼吸道的致病菌，一般烧伤早期的败血症多见乙型链球菌和葡萄球菌，这可能暗示它们有可能来自呼吸道并与吸入性烧伤有关。

2．假单胞菌属。这个菌属现在有32个菌种，鉴定起来较为繁难，临床最常见的有绿脓杆菌等15种。本文共分得假单胞假产碱杆菌（以下假单胞三字省略）16株、产碱杆菌10、马尔妥杆菌7、P. chloraph 2、萤光杆菌1、绿脓杆菌1、待定株19个。这些菌种一般常见于五官科疾患的慢性感染病灶中。除绿脓杆菌外，其它种一般不产生外毒素，但可借其内毒素引起炎症。

假单胞菌属广泛存在于上呼吸道，对环境因素有较强的抗力。烧伤犬下呼吸道内假单胞菌属数量增加，其来源可以是内源的和(或)外源的。在肺气肿和肺心病病人的下呼吸道中常常见到大量的这属细菌，但少见它们入血。以此，一般烧伤病人晚期常见的假单胞菌败血症的来源可能与呼吸道无关。

3．不发酵革兰氏阴性杆菌。系指假单胞菌属外的那些杆菌，因此极为广泛，大约13个菌属共计上百种细菌，过去临床上一般都把它们的大多数看成开放性慢性感染病灶中的污染杂菌。本文共分得莫氏菌属的7株，波氏支气管败血杆菌6、A.Iwoffi 4、A. Oderant 1、硝酸盐阴性杆菌1、产碱杆菌1、待定株7。

和假单胞菌属一样，它们被看作条件致病菌或“非”致病菌，其侵袭力极弱，一般都不产生外毒素，所以只在局部组织毁损后才在其中增殖，极少入侵全身。可能在增殖后以其代谢产物（含内毒素）在局部组织起作用。本文见到它们较少地与单纯脓性病变相关而稍多地与脓性加水肿的病变相关（表4），这可能提示我们：它们极易在急性炎灶中被消灭，但其崩解产物促进肺水肿的发生。由于数据还不多，尚待证实。其作用机制可能与旁路活化补体释放血管活性介质有关，尚待证实。

4．奈氏菌属。本属在呼吸道内的致病菌只有流行性脑膜炎球菌一种，而这种细菌只少数带菌者才有；其他多是非致病菌，在这组实验中它们有何病原学的意义还不明白，因它们（增殖后）与无病变标本也发生关系。

四、摘　　要

对46条呼吸道烧伤犬进行定量的细菌学分离培养的检查，共查了上中下呼吸道的组织标本126份，分出10类细菌共247株。在扣除犬呼吸道正常菌种的本底数量后，计算各菌的犬+%和标本+%；分析扣除本底的菌种与中下呼吸道标本病变性质—化脓和水肿—的相关率。根据这三项指标初步认为：呼吸道烧伤犬肺内优势病原菌的序列应是：（1）乙型溶血性链球菌，白色葡萄球菌，假单胞菌，它们主要与脓性病变有关；（2）不发酵革兰氏阴性

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

杆菌与水肿发生有相关的迹象。

呼吸道内菌量增多以伤后24小时为显著，尤以下呼吸道明显。

参 考 文 献

作者：《三医大慢性气管炎研究资料汇编》P,3-1，1972

练维坤　重度呼吸道蒸气烧伤实验研究之一：实验方法和临床观察

Achauer B.M.：Ann.Surg.177:311，1973

Barrie A.:J. Trama. 18(3):188，1978

Greenfild S.:J.Clin. lnvestig. 52:2935，1973

Konter L.K.:Am.J. Med.Tech.41:3-9，1975

MacFaddin J.F.:"Biochemical Tests for identification of medical bacteria" p-235-267.1976. The williams and wilkins company Baltimore.

Stephenson B.M.:Ann.Surg. 182:652，1975

重度呼吸道蒸气烧伤实验研究之七

实验性呼吸道烧伤的病理形态学研究

I、光学显微镜观察

训练部病理解剖教研室　梁延杰　王国超　许平庆　叶光富

全身严重烧伤并发呼吸道烧伤者多见，所以呼吸道烧伤在烧伤病人的致死原因中占重要位置。国外已进行过一些呼吸道烧伤的动物实验研究①②③⑪，但国内尚缺乏这方面的材料。为了给临床提供防治呼吸道烧伤的基础资料，我们进行了实验性呼吸道烧伤的病理形态学研究。分光镜与电镜两部分。本文为光镜研究材料，而电镜研究材料将另文发表。

材 料 与 方 法

实验动物为成年雄性杂种狗，体重平均12.6Kg，共计45只。分为单纯呼吸道烧伤组(单呼组)、呼吸道复合体表烧伤组（复合组）、单纯体表组（单体组）及正常对照组（对照组）等四组，其中单呼组30只，分批活杀（伤后2、6、12及48小时活杀者各5只，伤后24小时活杀者10只）；其余三组（复合24小时、单体24小时及正常对照）活杀者各5只（共15只）。致伤条件见朱佩芳等实验模型⑱。

取材固定于10%的福马林液，行常规石腊包埋、切片、染色。部分气管及支气管组织还作了几种特染：过碘酸白复红（PAS）、阿尔斯兰（AB）、以及阿尔斯兰/过碘酸白复红（AB/PAS）染色。

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