

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)06-0489-04

表达结核分枝杆菌 ESAT6-CFP10 融合蛋白 DNA 疫苗免疫原性

张 海¹ 师长宏¹ 王丽梅² 薛 莹² 柏银兰² 徐志凯²(第四军医大学: ¹ 实验动物研究中心, ² 基础部微生物学教研室 陕西 西安 710033)Immunogenicity of DNA vaccine expressing ESAT6-CFP10 fusion protein of *Mycobacterium tuberculosis*ZHANG Hai¹, SHI Chang-Hong¹, WANG Li-Mei², XUE Ying², BAI Yin-Lan², XU Zhi-Kai²¹Laboratory Animal Research Center, ²Department of Microbiology, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

【Abstract】 AIM: To evaluate the humoral and cellular immune response induced by the DNA vaccine expressing ESAT6-CFP10 fusion protein and to test its protective efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) challenge. **METHODS:** BALB/c mice were immunized intramuscularly three times with 100 μ g recombinant plasmid pcDNA-e6c10. Two weeks after last immunization, the specific antibody titer and the stimulation index (SI) of spleen lymphocytes from the immunized mice were measured, and the levels of IFN- γ and IL-2 and the activity of antigen-specific CTL were detected. The DNA vaccine-vaccinated BALB/c mice were infected with 1×10^5 CFU (colony forming unit) MTB H37Rv through tail vein. Four weeks later, the bacteria load in spleen was determined. **RESULTS:** The titer of serum specific antibody in BALB/c mice immunized with DNA vaccine was 1:800. The SI of DNA vaccine-immunized group (2.42 \pm 0.13) was significantly higher than that of saline-immunized group. The IFN- γ [(2449 \pm 12) ng/L] induced by DNA vaccine was not different from that in bacillus calmette guerin (BCG)-immunized group, while IL-2 [(198 \pm 16) ng/L] induced by DNA vaccine had significant difference from that of saline-immunized group and was lower than that of BCG-immunized group. The antigen-specific CTL efficacy was 42%. Compared with the saline immunized mice (bacteria load was 6.51 \pm 0.13), a dramatic reduction of MTB replication was observed in the spleen (bacteria load was 4.51 \pm 0.23, $P < 0.05$) of BALB/c mice immunized with DNA vaccine following a

subsequent challenge, but the protective efficacy of DNA vaccine was lower than that of BCG vaccine. **CONCLUSION:** DNA vaccine expressing ESAT6-CFP10 fusion protein has a immunotherapeutic effect to prevent tuberculosis.

【Keywords】 *Mycobacterium tuberculosis*; vaccines; DNA; ESAT6; CFP10; fusion protein; immunogenicity

【摘要】目的: 研究表达结核分枝杆菌 ESAT6-CFP10 融合蛋白 DNA 疫苗在小鼠体内诱导的体液和细胞免疫应答以及对结核分枝杆菌(MTB)感染小鼠的保护能力。方法: 以 100 μ g 重组质粒 pcDNA-e6c10 接种 BALB/c 小鼠腓前肌, 共免疫 3 次。末次免疫结束 2 wk 后检测免疫小鼠特异性抗体滴度、淋巴细胞增殖指数、CTL 杀伤效应以及诱导 IFN- γ 和 IL-2 水平。另一部分免疫的 BALB/c 小鼠以 1×10^5 MTB 毒株 H37Rv 经尾静脉进行攻击 4 wk 后计数脾脏细菌负荷数, 观察免疫小鼠对 MTB 抵抗作用。结果: 表达 ESAT6-CFP10 融合蛋白 DNA 疫苗免疫小鼠血清特异性抗体滴度为 1:800。淋巴细胞刺激增殖指数为 2.42 \pm 0.13, 显著高于生理盐水对照组。免疫小鼠诱导 IFN- γ 含量(2449 \pm 12) ng/L 与卡介苗(BCG)组无明显差异, IL-2 含量(198 \pm 16) ng/L 不及 BCG 免疫组, 但显著高于生理盐水对照组; 同时融合蛋白诱导的 CTL 杀伤率为 42%。与生理盐水免疫组(细菌负荷 6.51 \pm 0.13)相比较, DNA 疫苗免疫的 BALB/c 小鼠对攻击感染后 MTB 在脾脏中增殖有较明显抵抗作用(细菌负荷 4.51 \pm 0.23, $P < 0.05$), 但与 BCG 免疫组相比脾脏细菌负荷无明显减少。结论: 表达 ESAT6-CFP10 融合蛋白 DNA 疫苗能在结核病预防中有一定免疫治疗作用。

【关键词】 分枝杆菌 结核 疫苗 DNA ESAT6 CFP10 融合蛋白 免疫原性

【中图分类号】 R378.91*1 **【文献标识码】** A

0 引言

研究认为卡介苗(bacillus calmette querin, BCG)可预防并减轻儿童的严重结核病(tuberculosis, TB), 但对成人 TB 的预防作用从 0 到 80% 不等^[1]。因此急需研究一种比 BCG 更好的疫苗来控制该病的传播与蔓延。ESAT6 抗原是结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)早期分泌性低分子量蛋白, 能诱导机体产生强烈 T 细胞免疫应答和释放高水平 IFN- γ 。许多研究表明 ESAT6 蛋白具有良好的抗原刺激

收稿日期 2006-12-18; 接受日期 2006-12-31

基金项目: 国家自然科学基金(30400381), 国家 863 课题(2001AA215201)

通讯作者 徐志凯. Tel: (029) 84774523 Email: Zhikaixu@fmmu.edu.cn

作者简介 张 海. 博士, 讲师. Tel: (029) 84773229 Email: hzhang1971@yahoo.com.cn

性并能被大多数 TB 患者所识别. 近年来又发现另一种低分子质量 MTB 培养滤液蛋白 CFP10, CFP10 与 ESAT6 同属于 ESAT6 家族, 且由同一操纵子调控, 与 ESAT6 相同的是, CFP10 也是免疫优势抗原, 能诱导机体产生强烈免疫应答^[2]. 为了全面评估表达 ESAT6-CFP10 融合蛋白 DNA 疫苗免疫学特性, 我们研究了此种疫苗在小鼠体内诱导的体液和细胞免疫应答水平, 同时测定免疫小鼠对 MTB 毒株 H37Rv 攻击的保护力, 以了解其对 TB 的预防作用.

1 材料和方法

1.1 材料 pcDNA-e6c10 重组质粒^[3]由本室构建. MTB H37Rv 毒株由陕西省结核病防治研究所王瑞副主任技师馈赠. BCG 疫苗株(陕西省生物制品研究所). 鼠 IFN- γ , IL-2 ELISA 检测试剂盒(深圳晶美生物工程公司), CTL 检测试剂盒(Promega 公司). 7H9 液体培养基, BCG 培养增强剂(albumin-dextrose-catalase, ADC X Gibco 公司). 6~8 周龄 BALB/c 小鼠 80 只, 雄性(第四军医大学实验动物中心提供), 饲养于该中心 P3 实验室.

1.2 方法

1.2.1 BCG 和 MTB 毒株 H37Rv 的培养和定量 BCG 疫苗株接种到 7H9 液体培养基(含 100 g/L ADC 和 0.5 g/L Tween80) 37℃ 振荡培养 3 wk, 5000 r/min 离心 10 min, 收集细菌, 保存于 -20℃ 备用. 用 7H9 液体培养基系列稀释浓缩液, 接种于罗氏培养基 37℃ 培养 2 wk, 计数浓缩液细菌的克隆形成单位(CFU). MTB 毒株 H37Rv 接种到 7H9 液体培养基, 按以上方法培养、收集, 并计数细菌的 CFU.

1.2.2 MTB 培养滤液蛋白(CFP)的制备 取少量 MTB H37Rv 株接种于 7H9 液体培养基, 37℃ 震荡培养 3 wk, 液体培养物以 11 000 g 离心 10 min, 上清液过滤除菌后, 加入终浓度为 750 g/L 的饱和硫酸铵盐析, 沉淀溶于 PBS. 用大量 PBS 溶液透析, 再次过滤除菌后, 紫外分光光度计法计算蛋白含量, 用灭菌的 PBS 调整蛋白浓度为 25 mg/L, -20℃ 保存备用.

1.2.3 重组质粒大量提取 将 pcDNA-e6c10 阳性克隆菌接种于 5 mL LB 液体培养基(含氨苄青霉素 0.1 mg/L) 37℃ 振荡培养过夜. 次日按 1:100 的比例扩大培养 20 h. 质粒的大量提取及纯化按文献^[4]进行.

1.2.4 动物免疫 实验共分 4 组, 每组 20 只, 第 1 组以重组质粒 pcDNA-e6c10 免疫, 接种前小鼠后肢大腿内侧多点肌注 2.5 g/L 盐酸布吡卡因 50 μ L, 24 h 后在一侧同一部位多点注射质粒 50 μ g/次; 以同样的方法每隔 2 wk 在相同部位注射相同剂量, 共免

疫 3 次. 第 2 组为 BCG 免疫组, 以 0.2 mL(1×10^5 CFU)的 BCG 经尾静脉途径接种小鼠, 第 3 组为生理盐水对照组. 末次免疫结束 2 wk 后, 每组取 10 只小鼠用于测定淋巴细胞增殖指数、CTL 杀伤效应以及 IFN- γ 和 IL-2 水平. 另设一组以 0.2 mL(1×10^5 CFU)的 H37Rv 毒株只免疫一次, 仅检测其诱导的 CTL 杀伤效应. 三组免疫接种时间均与 DNA 疫苗初免时间相同.

1.2.5 小鼠血清抗体滴度的检测 间接 ELISA 方法测定免疫小鼠血清中抗 ESAT6-CFP10 融合蛋白特异性抗体滴度. 用 MTB CFP 10 μ g/孔包被酶联板进行检测.

1.2.6 脾淋巴细胞的分离与制备 将免疫小鼠断颈处死, 无菌取脾脏, 置于 200 目的钢网上, 以注射器针芯研磨, 并加入 RPMI1640 培养液冲洗, 将上述细胞悬液转入 2 倍体积的淋巴细胞分离液, 1000 r/min 离心 20 min, 吸取中间单核细胞层, 用 RPMI1640 培养液洗涤两次后计数.

1.2.7 特异性淋巴细胞增殖实验 将分离的脾淋巴细胞密度调整至 5×10^5 /L, 在 96 孔板中用 100 mL/L FCS 的 RPMI1640 完全培养液培养, 100 μ L/孔, 同时实验组每孔加入 25 mg/L ESAT6-CFP10 纯化蛋白 25 μ L, 而对照组不加此纯化蛋白, 调零孔不加脾细胞, 50 mL/L CO₂ 孵箱培养 68 h 后每孔加 20 μ L MTT(5 g/L 溶于 PBS pH 7.2, 过滤除菌), 继续培养 4 h 后弃上清, 加 DEMSO 150 μ L/孔, 振荡培养 10 min, 测定 A_{490 nm} 值. 结果用刺激指数 = 实验组 A_{490 nm}/对照组 A_{490 nm} 表示.

1.2.8 IFN- γ IL-2 的诱生及含量测定 将 5×10^5 /L 脾细胞滴入 96 孔板后加入纯化 ESAT6-CFP10 蛋白进行刺激, 培养 72 h 后收集上清, -20℃ 冻存备检. 方法参照试剂盒说明(夹心 ELISA 法)测定各标本所含 IFN- γ IL-2 浓度.

1.2.9 CTL 活性检测 CTL 检测采用乳酸脱氢酶(LDH)方法. 先确定靶细胞(稳定表达 ESAT6-CFP10 融合蛋白的 P815 细胞系)最佳细胞数, 将靶细胞按 0, 5×10^6 , 1×10^8 , 2×10^8 /L 加入 96 孔板, 检测不同细胞数量释放的 LDH, 最终确定 5×10^6 /L 为最佳细胞数. 试验中同时设立靶细胞最大 LDH 释放量、靶细胞自发 LDH 释放量、效应细胞自发 LDH 释放量、细胞培养液 LDH 释放量和 Volume Correction 作为对照, 试验组中靶细胞和效应细胞数量分别按 1:5, 1:10, 1:20, 1:50 混匀加入. 免疫小鼠脾细胞分离后调整细胞浓度进行 CTL 检测, 具体过程按试剂盒说明书进行.

1.2.10 MTB H37Rv 毒株的攻击实验 最后一次免疫完成后 2 wk, 用 MTB 毒株 H37Rv 经尾静脉感染小鼠, 剂量为 0.2 mL/只 (1×10^5 CFU) 4 wk 后, 断颈处死小鼠, 脾脏匀浆, 接种罗氏培养基培养 4 wk, 计数细菌 CFU.

统计学处理: 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计分析采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 免疫小鼠血清特异性抗体滴度 DNA 疫苗免疫 BALB/c 小鼠 3 次后, 其血清中的特异性抗体滴度平均为 1:800. BCG 免疫组中只存在抗 MTB CFP 抗体, 不存在抗 ESAT6-CFP10 融合蛋白抗体, 同时生理盐水阴性对照组的小鼠血清抗 ESAT6-CFP10 蛋白抗体全部为阴性.

2.2 免疫小鼠抗原特异性淋巴细胞增殖 DNA 疫苗能诱导免疫小鼠的脾淋巴细胞增殖, 其刺激指数为 2.42 ± 0.13 , 但其诱导淋巴细胞增殖明显不及 BCG (3.43 ± 0.13), 而生理盐水对照组淋巴细胞的增殖不显著, 刺激指数为 0.90 ± 0.16 .

2.3 脾脏淋巴细胞中诱生的 IFN- γ 水平 免疫小鼠脾淋巴细胞悬液在体外用刺激后, IFN- γ 含量显著增加, DNA 疫苗免疫组为 (2449 ± 12) ng/L, 显著高于生理盐水阴性对照组 (429 ± 16) ng/L, 与 BCG 免疫组 (2530 ± 15) ng/L 无明显差别.

2.4 脾脏淋巴细胞中诱生的 IL-2 水平 DNA 疫苗诱导免疫小鼠 IL-2 表达量增加, 含量为 (198 ± 16) ng/L, 而生理盐水对照组只有 (54 ± 16) ng/L, 均低于 BCG 免疫组 (298 ± 17) ng/L.

2.5 特异性 CTL 杀伤效应 DNA 疫苗诱导的杀伤活性为 42% (图 1), 比生理盐水组和 BCG 组高, 但不及 H37Rv 组 (62%).

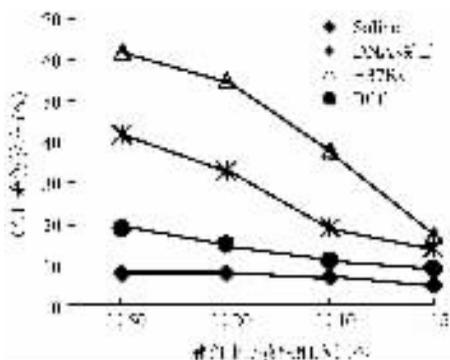


图 1 免疫小鼠脾细胞的细胞毒性活性检测

2.6 免疫小鼠对 MTB 毒株攻击的抵抗作用 MTB H37Rv 毒株感染免疫小鼠 4 wk 后, DNA 疫苗免疫组脾脏荷菌数 (4.51 ± 0.23) 对 MTB 有一定抵抗力, 但不及 BCG 免疫对照组 (4.11 ± 0.25 , $P < 0.05$), 高于生理盐水对照组 (6.51 ± 0.13).

3 讨论

在抗 MTB 感染过程中, DNA 疫苗已被证实能诱导持久保护性细胞免疫应答和体液免疫应答. DNA 疫苗则可引起强烈的 CD8⁺ T 细胞反应, 诱导产生大量的抗原特异性 CD8⁺/CD4⁻/CD44^{high} T 细胞, 分泌 IFN- γ , 引起有效的细胞免疫^[5]. MTB 的分泌蛋白 MPT64, Ag85B 和 ESAT6 是 DNA 疫苗良好的候选抗原, 研究发现这些 DNA 疫苗有较高的保护作用, 将三种重组质粒联合免疫动物所诱导的保护作用比单独使用一种质粒结果要好^[6], 提示 DNA 疫苗未来研制策略有可能向融合型基因疫苗发展. 融合型 DNA 疫苗可以是抗原-抗原融合, 也可能是抗原-细胞因子的融合. ESAT6 和 CFP10 是效应性 T 细胞的主要靶抗原, 可诱导 T 细胞迅速增殖和释放高水平的 IFN- γ , 有效地激活巨噬细胞, 控制 MTB 感染. 研究表明单独编码 ESAT6 的基因疫苗的保护作用比 MPT64 强, 但这两种 DNA 疫苗的保护作用并未达到 BCG 的免疫效果^[7], 所以需要加入其他免疫刺激源, 如细胞因子或其他保护性抗原, 才能取得良好效果. 基于此我们将 MTB 中两个保护性蛋白融合后构建成具有保护作用的基因疫苗, 试图增强基因疫苗的保护效果.

ESAT6 和 CFP10 基因仅存在于少数致病性分枝杆菌中, 而不存在于 BCG 及其他非致病分枝杆菌^[8], 因此在 BCG 免疫小鼠血清未检测到 ESAT6 和 CFP10 的抗体. 另外在检测 CTL 活性时, 由于 BCG 缺失这两个基因, BCG 免疫小鼠脾细胞不会产生针对这两种抗原的特异性免疫应答, 如以 BCG 作为融合蛋白诱导 CTL 活性的阳性对照就不能正确反应重组疫苗的免疫应答水平, 因此我们在检测 CTL 活性时除设立正常 BCG 免疫组外, 又设立了 MTB H37Rv 毒株免疫组作为阳性对照, 以正确评价重组疫苗的 CTL 活性. DNA 疫苗一般要接种 3 次, BCG 临床接种程序为 1 次, 故在保护力实验中, BCG 组毒株攻击时间是在初免后 6 wk 进行, 而 DNA 疫苗组是在末次免疫后 2 wk 进行.

Th1 型免疫应答诱发生成的 IFN- γ 是控制 MTB 在体内生长繁殖的重要因素, 它可激活单核细胞和巨噬细胞, 使其发挥杀菌作用. IFN- γ 由活化的 Th1 细

胞产生,能增强巨噬细胞的抗分枝杆菌活性,其机制可能与增加过氧化氢和 NO 产生有关。我们的研究发现 ESAT6-CFP10 融合蛋白基因疫苗能诱导较强的细胞免疫应答,诱导的 IFN- γ 与 BCG 相比也无明显差距,表明表达 ESAT6-CFP10 融合蛋白的 DNA 疫苗免疫效果较好,可在 TB 防治中发挥重要作用。

【参考文献】

- [1] Chan J, Kaufmann S. Immune mechanisms of protection in tuberculosis pathogenesis, protection and control [A]. Bloom, BR. Ed. American Society of Microbiology [M]. Washington: Kluwer Academic Publishers. 1994 9389-9415.
- [2] Berthet F, Rasmussen P, Rosenkrands I, et al. A mycobacterium tuberculosis operon encoding ESAT6 and a novel low-molecular-mass culture filtrate protein (CFP10) [J]. Microbiology, 1998, 144(11): 3195-3203.

- [3] 张海, 师长宏, 薛莹, 等. 结核分枝杆菌 esat6-cfp10 融合基因疫苗构建及表达 [J]. 第四军医大学学报, 2005 26(3): 193-195.
- [4] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. New York: cold spring harbor laboratory press: 1999: 1613-1619.
- [5] Lowrie DB, Silva CL. Enhancement of immunocompetence in tuberculosis by DNA vaccination [J]. Vaccine, 2000, 18(16): 1712-1716.
- [6] Kamath AT, Feng CG, Macdonald M, et al. Differential protective efficacy of DNA vaccines expressing secreted proteins of mycobacterium tuberculosis [J]. Infect Immun, 1999, 67(4): 1702-1707.
- [7] 潘怡, 蔡宏, 李淑霞, 等. 结核分枝杆菌组合 DNA 疫苗的免疫效果 [J]. 生物化学与生物物理学报, 2003 35(1): 71-76.
- [8] 乐军, 王洪海, 胡宏. 结核杆菌的后基因组研究进展 [J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2003 24(2): 72-73.

编辑 王睿

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2007)06-0492-01

急性乙醇中毒 39 例患者手术的麻醉处理

苏高盛 (南宁市红十字会医院麻醉科, 广西 南宁 530012)

【关键词】乙醇中毒; 手术; 麻醉; 纳络酮; 烦躁
【中图分类号】R614 【文献标识码】B

1 对象和方法

1.1 对象 本组患者 39(男 35, 女 4)例, 平均年龄 31(16~58)岁。饮酒量最多者 2 h 内饮白酒 1000 mL, 最少者 150 mL, 伤后 15 min~2 h 就诊。车祸 16 例, 坠落伤 7 例, 斗殴 16 例。其中颅脑外伤 3 例, 躯干、四肢骨折及组织血管神经损伤 22 例, 腹部外伤 8 例, 胸部外伤 6 例。兴奋狂躁 19 例, 昏睡 17 例, 昏迷 3 例。合并休克 9 例, 呼吸抑制 6 例, 呕吐 12 例。全组患者均行手术治疗。

1.2 方法 术前清理口咽呕吐物及分泌物, 保持呼吸道通畅, 如有呼吸抑制者面罩或行气管插管辅助呼吸。插胃管洗胃, 如果怀疑有胃肠穿孔者仅作胃肠减压。血气胸者行胸腔闭式引流。快速建立两条静脉输液, 全组静脉应用纳络酮 0.4~0.8 mg/次, 间隔 30~45 min 重复用药, 同时扩容抗休克, 利尿脱水, 急查血糖和电解质, 指导纠正低血糖和酸碱混乱。气管插管全麻 16 例, 硬膜外阻滞 11 例, 臂丛神经阻滞 12 例。

2 结果 经过术前的处理后 30~60 min 37 例患者清醒, 生命征平稳, 2 例合并颅脑损伤仍然处于昏迷状态。全组围术期生命征均平稳, 全麻组苏醒延迟 5 例, 在复苏期发生极度烦躁 4 例, 予静推芬太尼及丙泊酚后安静。术中低血糖 3 例。

3 讨论 乙醇中毒的救治, 纳络酮是目前治疗乙醇中毒的公认有效药物。它能有效地产生抑制 β -内啡肽效应, 解除其对呼吸和血管交感功能的抑制作用, 改善全身血液循环, 抑制自由基的释放, 减少氧自由基损伤, 还可以促进乙醇的转化, 使血中乙醇的含量明显下降, 从而逆转乙醇中毒的病理生理变化^[1]。本组 37 例患者经用纳络酮后 30~60 min 苏醒, 呼吸循环抑制得到改善。急性乙醇中毒合并颅脑损伤诊断有困难

时, 可静注纳络酮进行鉴别诊断。若无颅脑器质性损伤, 急性乙醇中毒的临床症状、体征可迅速改善。此方法方便、准确。赵龙现等^[2]指出其准确率为 96.8%。本组 2 例经用纳络酮后仍然处于昏迷患者经头颅 CT 检查证实为颅内血肿。

急性乙醇中毒患者均为饱胃, 胃内容物中含有大量的乙醇, 洗胃不但可以清除乙醇, 还可以清除食物残渣, 在抢救乙醇中毒的同时预防和减少了呕吐和气管内误吸的风险。如果伤情较轻者可以先洗胃后再麻醉, 危急者先行麻醉成功后再进行洗胃。本组 5 例危重患者就是在气管插管麻醉成功后洗胃, 但在诱导插管过程中应持续压迫环状软骨预防食物返流。发现和怀疑患者有胃肠穿孔应禁用洗胃, 用粗的胃管作胃肠减压, 可以减少胃肠内张力和预防呕吐和误吸的发生。

急性乙醇中毒合并外伤患者的病历采集往往不全面, 因此给麻醉方式的选择带来困难。我们体会是生命征平稳, 伤情较轻者可以先洗胃催醒后再麻醉。如果患者神志清醒, 安静配合而且伤在四肢及下腹会阴可以选择神经阻滞和椎管内麻醉, 反之选择气管插管全身麻醉。急性乙醇中毒合并外伤患者多有血容量不足, 麻醉前应适当补液。乙醇及其代谢产物的直接或间接作用于脑内阿片受体, 使人的痛觉迟钝和嗜睡^[3], 由此可以推理全麻药和乙醇可能有协同作用, 全麻组 5 例术后苏醒延迟也可能与此有关, 因此麻醉用药应酌减。全麻术后苏醒期有 6 例出现烦躁, 其中 4 例极度烦躁, 不听劝阻, 强行坐起或站起, 其中有 1 例跌落手术台造成两颗门牙离断, 教训深刻。6 例烦躁患者均需用芬太尼和丙泊酚推后才安静。可能是全麻使患者体内乙醇的代谢减缓, 术后仍然处于乙醇中毒的兴奋期或共济失调期。因此全麻苏醒期还要适当的镇静镇痛, 以防意外。

有报道^[4]乙醇中毒患者易发生低血糖, 甚至低血糖性昏迷。虽然创伤手术和麻醉的应激会使血糖升高, 但本组术中仍然有 3 例发生了低血糖, 因此急性乙醇中毒患者术中应按规定定期监测血糖, 及时纠正低血糖。

【参考文献】

- [1] 孟庆林, 胡长欣, 侯延奎. 盐酸纳络酮拮抗急性乙醇中毒作用机理的探讨 [J]. 中国急救医学, 1996, 16(3): 2.
- [2] 赵龙现, 陈萍. 纳络酮鉴别诊断急性乙醇中毒合并颅脑损伤的价值探讨 [J]. 中国急救医学, 2002 22(4): 201.
- [3] 李秀敏, 邓源. 乙醇的中枢神经系统损伤作用 [J]. 中国临床康复, 2005 21(9): 181-183.
- [4] 苏建玲, 田英平, 霍淑花, 等. 乙醇性低血糖的诊治体会 [J]. 中国急救医学, 2001 21(2): 83.

编辑 井晓梅

收稿日期 2006-11-20; 接受日期 2006-12-12

作者简介 苏高盛, 本科, 主治医师. Tel: (0771) 2826042 Email: sugaosh@163.com