

·专题交流·

从331例急性光气中毒谈现场抢救的重要性

化工部工业卫生处 王自齐

光气(COCl_2)是生产农药、塑料、军工产品的重要原料,应用广泛。我国生产和使用光气的企业达30家以上,年产量约4万吨。由于光气有着剧烈的毒性,约为氯气的10倍,发病潜伏期较短,治疗不当,常致死亡。现就我们收集到的331例光气中毒作一简要分析,以期找出抢救中的关键所在。

一、发病情况

据事故报告统计,1964年至1988年的25年间,约发生生产性光气中毒331例,其中死亡20例,病死率为6%,略高于国外文献报道的1~4%。刺激反应加中毒共704例,病死率为2.8%。

在31个生产光气的企业中,发生过光气中毒事故的15家,约为50%,说明发生光气中毒事故是十分普遍的,急性光气中毒是光气生产厂工人的常见职业病。

二、事故原因

331例光气中毒病例发生于37起事故中,其中违反操作规程而发生事故的约占64%,设备事故占30%,二者共占94%。中毒致死的20例中,因不戴面具而大量吸入光气的为12例,占致死的60%;虽戴面具,但面具失效,未起到防护作用仍大量吸入光气致死的5例,占25%;二者共占85%。

三、抢救措施

光气中毒虽为光气生产企业的主要职业中毒事故,病死率也极高,但光气中毒死亡病例中抢救不力或根本未经抢救治疗者仍占相当数量。

经分析,20例死亡病例中,可分为以下4种情况:①不了解光气毒性,因此在早期未给预防肺水肿的治疗措施者9例,占45%;②因卫生所无人值班,或根本未给抢救措施者2例,占10%;③虽经正确、及时抢救,但因病情危重致死者7例,占35%;④抢救情况不明者2例,占10%。

根据上述分析,设备事故和违章操作造成光气泄漏中毒,个人防护缺乏和现场抢救不力是造成光气中毒致死的主要原因。加强现场抢救则是抢救成功的重要环节,本组病例中65%的死亡者并未经过认真抢救。

我们认为,加强光气中毒的观察对象管理和医学监护是提高抢救成功率的关键!亦即不论何种场合,一旦确认有光气吸入,无论有无症状,均应列为观察对象,并应受到24小时严密观察治疗。观察期的病人关键在于早期预防肺水肿的发生。主要措施是给氧气吸入,早期给予足量激素,连续进行X光胸片检查,特别是严格限制体力活动。

分离肺细胞进行有关的尘肺研究

暨南大学医学院 司徒锐

吞噬砂尘的肺泡巨噬细胞和肺Ⅰ型上皮、成纤维细胞、中性白细胞之间的相互作用,在矽肺发病中是不容忽视的环节。综观矽肺结节形成发生发展的研究,矽肺结节确与下述几种细胞密切相关,即肺泡巨噬细胞、肺Ⅰ型上皮、成纤维细胞、中性白细胞、单核样细胞与淋巴细胞、浆细胞等,尤其是前3种细胞。如何将这几种细胞分别从活体状态下提取出来,在体外进行细胞与细胞之间相互关系的研究,是深入开拓尘肺研究的一个新的领域。

一、肺泡巨噬细胞的提取

肺泡巨噬细胞对 SiO_2 具强大的吞噬能力,但很快又被 SiO_2 所损伤。巨噬细胞属免疫细胞,有多种

功能,是研究细胞吞噬粉尘、细胞免疫和分子免疫学的重要对象。兹将提取步骤简介如下。

(一)完整取出气管及全肺(无菌操作)

大鼠(重约200~300g)以5%的氯胺酮(Ketamine HCl)0.6~0.75ml作腹腔注射,剃毛备皮,碘酒消毒皮肤(颈、胸、腹)后,暴露气管插入16号针头,并固定。开腹,切断下腔静脉放血后开胸,切开左房与右室。自右室切口插入带球针头,指向肺动脉,固定针头。以50ml无钙、镁的冷HBSS自右室注入作多次肺灌洗,同时自气管插管以橡皮球打气使肺膨胀,并细心使心、肺(气管插管以上)完整分离体。

(二) 收取气管、支气管、肺冲洗物(lavage)

以无钙、镁的冷HBSS 8~10ml, 无菌操作反复自气管注入并按摩冲洗6次左右, 收集的冲洗液, 一般可获 $70\sim 90\times 10^6$ 细胞, 其中肺巨噬细胞占大多数。

(三) 肺泡巨噬细胞的培养

肺泡巨噬细胞容易获得, 便于培养。上述获得的细胞可以进行纯化, 因属不繁殖型, 细胞群在良好条件下仅能生活2~3周。虽也有建成无限细胞系者, 但一般难以长期生存, 多用作初代培养。初代培养的要害是, 利用巨噬细胞极易附着于玻璃表面的特性, 使静置于培养皿数小时后, 再用培养液或PBS冲去其PMN激活的T淋巴细胞、Ⅰ型上皮细胞等, 剩余的肺泡巨噬细胞纯度可达95%。如法再次培养过夜(24小时), 其纯度可达98%。

培养用多种培养基如 Eagle, 199; NCTC-135; RPMI-1640; MEM alpha; Ham-12 等。培养基中常需加10~30%小牛血清, 最好在5%CO₂、pH7.2的环境下生长。

二、肺Ⅰ型上皮细胞的提取

在实验性矽肺的早期矽结节中常可见Ⅰ型肺泡上皮参与。事实上, 许多种尘肺病变中均见Ⅰ型肺泡上皮的存在。其存在究有何意义是值得深入研究的。近年来对提取肺Ⅰ型上皮摸索了较成熟的办法。提取的关键是使肺Ⅰ型上皮细胞酶化, 脱离基底膜。具体作法是: 在取出全肺、收取支气管及肺冲洗物后, 需进行酶化, 目的使肺Ⅰ型上皮脱离基底膜。以弹力酶-胰酶[elastase(1.17ml)-trypsin(1.25ml)]溶液15ml左右自气管注入, 并使全肺溶于37℃生理盐水20分钟(每隔5分钟加入5~10ml上述的蛋白酶溶液)。而后自水浴移出肺, 从气管注入10ml蛋白酶抑制剂。游离心、气管、大支气管与大血管后, 全肺切碎成1mm³左右的肺糜。将肺糜移入胰化瓶内, 加入30ml蛋白酶抑制剂, 置于冰盘内搅拌的同时需抽气使肺糜沉淀。以孔径160μm→37μm→15μm的尼龙纱布逐级过滤。将滤液收集于离心管(Beckman tube), 于4℃离心10分钟。倒去上清液, 将细胞沉淀悬于10ml内含20%小牛血清双抗的DMEM培养基内, 置于直径100mm的培养皿内, 在5%CO₂、37℃下培养。3小时后, 移出尚未粘连的悬浮细胞(肺Ⅰ型上皮)到直径100mm的新培养皿内, 培养24小时。以胰蛋白酶/EDTA/Hepes消化、游离收集肺Ⅰ型上皮。此时, 一般可得 $6\sim 10\times 10^6$ 细胞, 其中65~70%为肺Ⅰ型上皮。如将此皿再培养过夜, 可提高

其百分率达85~95%

证实肺Ⅰ型上皮最可靠的方法是以荧光素磷3R-phosphine作标记, 可在荧光显微镜下呈颗粒性亮绿色强荧光(板层小体)。也可作半超薄切片, Trypan blue染色或透射电镜证实。

要注意的是, 所得的肺Ⅰ型上皮, 培养4、5天即渐行停止合成肺Ⅰ型上皮特有的二棕榈酰卵磷脂(PPL), 且渐失去肺Ⅰ型上皮的形态, 故每次实验均应取其新鲜细胞。

此外, 如果具有流式激光细胞测定仪(Flow Lasser Cytometry), 可直接用3R-phosphine标记Ⅰ型上皮从混合细胞的悬液中得到其所占的百分率, 根据悬液的细胞总数即可算出其绝对数值。我们用这种测定仪证实了正常Wistar大鼠的肺Ⅰ型上皮数约 $3.0\sim 4.8\times 10^6$, 而染矽尘后的第15天可高达 $133\sim 150\times 10^6$, 客观地说明了实验性矽肺的早期确有Ⅰ型上皮的增加。

三、肺成纤维细胞的提取

按常规以肺组织作原代培养, 比较容易得到肺成纤维细胞, 但往往传至十余代时其繁殖力即渐行减弱。故一般常采用已建立的无限细胞系, 如北京生物制品研究所建立的2BS人胚肺成纤维细胞系。

参考文献

1. 司徒锐, 等。肺Ⅰ型上皮细胞与肺巨噬细胞在实验性矽肺中的动态变化。中华结核和呼吸系疾病杂志1986; 9(3), 129。
2. 司徒锐, 等。实验性矽肺中肺Ⅰ型上皮与肺泡巨噬细胞的扫描电镜观察。中华病理学杂志1988; 17(3), 179。
3. 司徒锐, 等。实验性矽肺的亚细胞研究。暨南大学学报自然科学版1981; 3, 152。
4. Mason RJ, et al. Isolation and properties of type 2 alveolar cells. Am Rev Respir Dis 1977; 115, 1915。
5. Leary JF, et al. Isolation of type 2 pneumocytes by lasser flow cytometry. Am Rev Respir Dis 1982; 125, 326。
6. Dobbes LG, Mason RJ. Pulmonary alveolar 2 cells isolated from rats. J Clin Invest 1979; 63, 378。
7. Kikkawa Y, Yoneda K. The type 2 epithelial cell of the lung, I method of isolation. Lab Invest 1974; 30, 76。