

低能量脉冲电磁场对金黄色葡萄球菌生长的影响及其与抗生素的协同抑菌作用

李旭纲¹, 陈一心^{1,2}, 邱旭升^{1,2}

1. 南京中医药大学中西医结合鼓楼临床医学院, 江苏 南京 210008; 2. 南京鼓楼医院骨科, 江苏 南京 210008

【摘要】目的:探讨低能量脉冲电磁场(PEMF)对体外金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)生长的影响及其与抗生素是否有协同作用。**方法:**实验分两部分。(1)分析不同作用时长的PEMF对金黄色葡萄球菌生长的影响。将一定量金黄色葡萄球菌接种至普通营养肉汤,分为对照组和PEMF干预组(场强1Gs,频率15Hz,脉宽5 μ s,脉冲群宽5ms,脉冲群不应期62ms),两组均置于37℃温箱培养,每隔2h取样倍比稀释后接种至哥伦比亚血平板,37℃温箱培养,24h后计数。(2)分析PEMF与抗生素对金黄色葡萄球菌的联合影响。分为对照组、PEMF组、抗生素组、PEMF+抗生素组;4组均置于37℃温箱培养,8h后取样倍比稀释并接种至哥伦比亚血平板,37℃温箱培养,24h后计数。**结果:**(1)2h、4h的PEMF干预与对照组比较,菌落计数差异无统计学意义($P>0.05$);6h的PEMF干预后,菌落计数为对照组的23%($P<0.01$);8h的PEMF干预后,菌落计数为对照组的28%($P=0.01$)。(2)PEMF组、抗生素组、PEMF+抗生素组菌落计数分别是对照组的32%、34%、10%,都显著少于对照组;同时,PEMF+抗生素组菌落计数显著少于PEMF组和抗生素组。**结论:**低能量PEMF可显著抑制对数生长期金黄色葡萄球菌,同时与抗生素之间具有协同抑菌作用。

【关键词】金黄色葡萄球菌;脉冲电磁场;抗生素;协同抑菌作用

【中图分类号】R37

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2021)10-1294-05

Effects of low-energy pulsed electromagnetic field on the growth of *Staphylococcus aureus* and its synergistic antibacterial effect with antibiotics

LI Xugang¹, CHEN Yixin^{1,2}, QIU Xusheng^{1,2}

1. Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210008, China; 2. Department of Orthopaedics, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, China

Abstract: Objective To analyze the effect of low-energy pulsed electromagnetic field (PEMF) on the growth of *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) *in vitro*, and to investigate whether low-energy PEMF has synergistic antibacterial effect with antibiotics. **Methods** The experiment was divided into two parts. (1) Analyzing the effect of PEMF with different action durations on the growth of *Staphylococcus aureus*. A certain amount of *Staphylococcus aureus* was inoculated into ordinary nutrition broth, and then divided into control group and PEMF intervention group in which *Staphylococcus aureus* was intervened with PEMF with a field strength of 1 Gs, frequency of 15 Hz, pulse width of 5 μ s, pulse group width of 5 ms and pulse group refractory period of 62 ms. Both two groups were cultured in 37 °C incubator. The samples were collected every 2 hours, and after dilution, they were inoculated into Columbia blood plate in 37 °C incubator and counted after 24 hours. (2) Analyzing the synergistic antibacterial effect of PEMF and antibiotics on *Staphylococcus aureus*. The *Staphylococcus aureus* was divided into 4 groups, namely control group, PEMF group, antibiotics group, and PEMF+antibiotics group. The 4 groups were cultured in a 37°C incubator. After 8 hours, the samples were diluted and inoculated into Columbia blood plates in 37°C incubator and counted after 24 hours. **Results** (1) There was no significant difference in colony count between PEMF interventions for 2 and 4 hours and control group ($P>0.05$). After PEMF intervention for 6 hours, the colony count in PEMF group was 23% of control group ($P<0.01$), and after PEMF intervention for 8 hours, the colony count in PEMF group was 28% of control group ($P<0.01$). (2) The colony count of PEMF group, antibiotics group and PEMF+antibiotics group were 32%, 34% and 10% of control group, respectively, which were significantly less than

【收稿日期】2021-05-20

【基金项目】江苏省青年医学人才项目(QNRC2016009)

【作者简介】李旭纲,硕士研究生,研究方向:创伤骨科,E-mail: lixugang1995@126.com

【通信作者】邱旭升,博士,副主任医师,研究方向:创伤骨科,E-mail: qiu_xusheng@163.com

that of control group. Meanwhile, the colony count of PEMF+antibiotics group was significantly less than that of PEMF group and antibiotics group. **Conclusion** The low-energy PEMF can significantly inhibit *Staphylococcus aureus* in the logarithmic growth period, and has a synergistic antibacterial effect with antibiotics.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; pulsed electromagnetic fields; antibiotics; synergistic antibacterial effect

前言

感染性骨不连一直是骨科临床治疗的棘手问题,其治疗目标是消除感染、促进骨折愈合,手术治疗是目前唯一有效的治疗方法。虽然近年来由于优良的内固定材料及手术方法的改进,感染性骨不连的治疗效果有了很大的改善,但其花费高且术后仍存在感染复发、骨折不愈合的风险^[1]。因此,寻找一种无创、经济且有效的治疗方法十分必要。脉冲电磁场(Pulsed Electromagnetic Field, PEMF)用于骨不连的治疗已有40多年,其可以控制破骨细胞的形成,刺激人骨髓基质细胞,促进成骨细胞的增殖,从而加快骨不连愈合^[2-4]。如果PEMF同时具有抑菌或杀菌作用,那便为感染性骨不连的治疗提供新的思路。近年来,应用各种物理磁学抑菌的报道不少,其中包括极低频电磁场、旋转磁场、静磁场等等^[5-7]。Del Re等^[6]研究发现极低频电磁场的暴露使得大肠杆菌内热休克蛋白增多,从而促使细菌凋亡;Fojt等^[8]认为电磁场可能对细胞膜中离子通道渗透性产生影响,从而影响离子进入细胞的运输,从而导致生物体内的生物变化,另一个可能的影响是由于磁场暴露而形成自由基^[9]。而对于低能低强度PEMF对细菌的作用,尚没有相关报道。因此,本研究选用骨科感染常见致病菌金黄色葡萄球作为研究对象,研究PEMF对金黄色葡萄球菌生长的影响及其与抗生素之间的协同作用。

1 实验材料

1.1 菌种

金黄色葡萄球菌(ATCC 29213),来自南京鼓楼医院检验科。

1.2 培养基

营养肉汤培养基(南京便诊生物科技有限公司);哥伦比亚血琼脂培养基(江门市凯林贸易有限公司)。

1.3 仪器与设备

骨生长刺激仪(荷兰IMD.B.V公司,Orthopulse® Bone Growth Stimulator,能产生场强1Gs、频率15Hz、脉宽5μs、脉冲群宽5ms、脉冲群不应期62ms的PEMF);DENSICHECK比浊仪(法国生物梅埃利公司);DRP-9082型电热恒温培养箱(上海森信实验仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 菌液配制

采用接种环选取单个直径约2mm的标准金黄色葡萄球菌菌株菌落,使用平板划线接种法接种至新的哥伦比亚血琼脂培养基,置入37℃温箱培养24h。隔天取出血琼脂培养基再次选取单个直径约2mm菌落比浊至0.5麦氏度(相当于 1.0×10^8 个细菌/mL)备用。

2.2 不同作用时长的PEMF对金黄色葡萄球菌生长的影响

取无菌12孔细胞培养板,每孔加入2mL营养肉汤培养基;将备用菌液稀释 10^4 倍后加入培养板,每孔加入500μL。PEMF组培养皿置于骨生长刺激仪线圈式换能器中央,开启设备,使之充分暴露于PEMF;对照组培养皿置于骨生长刺激仪线圈式换能器中央,关闭设备。所有培养板均置于37℃恒温箱培养,每间隔2h取培养液倍比稀释后接种至哥伦比亚血琼脂培养基,37℃温箱培养24h后计菌落数(Colony Forming Unit, CFU)。分别对2、4、6、8h这4个时间点的细菌数进行计数,每个时间点各组均重复6次。

2.3 PEMF与抗生素对金黄色葡萄球菌的联合影响

实验分4组,即对照组、PEMF组、抗生素组、PEMF+抗生素组。将备用菌液稀释至 10^5 CFU/mL,头孢呋辛配至0.6875μg/mL,取无菌12孔细胞培养板。对照组与PEMF组加50μL 10^5 CFU/mL菌液、450μL生理盐水以及2mL营养肉汤培养基;抗生素组和PEMF+抗生素组加50μL 10^5 CFU/mL菌液、450μL0.6875μg/mL抗生素以及2mL营养肉汤培养基;PEMF组及PEMF+抗生素组培养皿置于骨生长刺激仪线圈式换能器中央,开启设备,使之充分暴露于PEMF;对照组、抗生素组培养皿置于骨生长刺激仪线圈式换能器中央,关闭设备。所有培养板均置于37℃恒温箱培养,8h后取培养液倍比稀释后接种至哥伦比亚血琼脂培养基,37℃温箱培养24h后计菌落数。每组重复6次。

2.4 统计学分析

采用SPSS 22.0统计学软件对上述计数结果进行分析,先进行方差齐性判断,符合正态分布的测量数据以均数±标准差表示,采用成组样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同作用时长的 PEMF 对金黄色葡萄球菌生长的影响

2 h与4 h PEMF 组与对照组之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。6 h与8 h的PEMF 干预则显著抑制了金黄色葡萄球菌的生长,差异有统计学意义($P<0.05$),6 h时PEMF 组菌落计数约为对照组的23%($P<0.001$);8 h时PEMF 组菌落计数约为对照组的28%($P=0.001$)。详见表1、图1。

表1 不同PEMF干预时长下金黄色葡萄球菌的细菌数($\bar{x} \pm s$)
Tab.1 Bacterial count of *Staphylococcus aureus* under different intervention durations of PEMF (Mean \pm SD)

| 作用时长/h | 对照组 | PEMF 组 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|--------|----------------------|----------------------|------------|------------|
| 2 | 341 \pm 33 | 315 \pm 11 | 1.657 | 0.158 |
| 4 | 2 718 \pm 661 | 2 567 \pm 448 | 0.490 | 0.644 |
| 6 | 49 567 \pm 5 462 | 11 650 \pm 4 103 | 13.192 | <0.001 |
| 8 | 298 333 \pm 61 389 | 83 000 \pm 223 334 | 6.924 | 0.001 |

细菌数=菌落数 \times 倍比稀释数

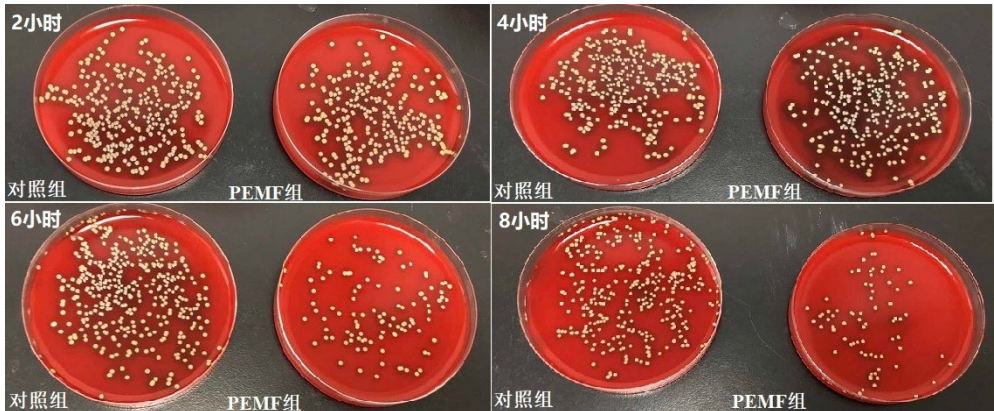


图1 PEMF不同干预时长哥伦比亚血琼脂板培养图片
Fig.1 Columbia blood agar plate culture under different intervention durations of PEMF

3.2 PEMF 与抗生素对金黄色葡萄球菌的联合影响

经倍比稀释(10^4 倍),对照组、PEMF 组、抗生素组和PEMF+抗生素组菌落计数结果分别为(65.2 ± 11.4)、(21.8 ± 7.9)、(22.8 ± 2.9)、(6.0 ± 2.9) CFU/mL。PEMF 组、

抗生素组、PEMF+抗生素组菌落计数分别是对照组的32%、34%、10%,都显著少于对照组($P<0.05$);同时PEMF+抗生素组菌落计数显著少于单独的PEMF 组和抗生素组($P<0.05$)(图2)。



图2 PEMF与抗生素对金黄色葡萄球菌的联合影响(体外干预8 h)
Fig.2 Synergistic antibacterial effect of PEMF and antibiotics on *Staphylococcus aureus* (in vitro intervention for 8 hours)

4 讨论

感染性骨不连涉及感染和骨不连,多由严重开放性骨折所致,感染是骨不连的主要原因。消除感染,促进骨折愈合是感染性骨不连治疗的目标,手术治疗是目前治疗感染性骨不连的唯一手段,但其费用昂贵,且常需二次手术治疗^[1]。作为一种被美国FDA批准应用于临床的治疗技术,PEMF拥有无创、温和、经济等优点,是一种很有希望的骨感染辅助治疗方法。

4.1 低能量PEMF的临床应用

能用于临床治疗的PEMF往往是低能低强度的。早在1981年Heckman等^[2]发现PEMF可有效促进骨折愈合;Garland等^[10]通过对139名骨不连患者的长期随访发现,经过每天至少3 h的PEMF治疗,患者骨不连愈合率约为80%。林通等^[11]发现PEMF联合双膦酸盐及钙剂治疗老年骨质疏松症在止痛及增加骨密度值方面有更好的疗效。有研究表明PEMF可通

过对一氧化氮信号传导的PEMF效应来控制伤口中内源性IL-1 β 的动力学,从而通过调节机体的抗炎途径来减少术后的疼痛和麻醉药的使用^[12-14];潘云虎等^[15]通过对糖尿病大鼠急性下肢缺血模型的实验研究发现PEMF可通过刺激血管内皮细胞释放FGF-2促进糖尿病大鼠急性下肢缺血的血管新生。Kwan等^[16]的一项临床随机对照研究发现PEMF可能改善微循环,从而促进慢性糖尿病足溃疡的伤口愈合。低能量PEMF在治疗骨质疏松、促进骨折愈合、减少术后疼痛以及改善微循环方面均有一定的积极作用。此外,亦有不少动物实验结果表明PEMF有促进神经损伤修复的功能,但缺少相应的临床研究报导支持^[17-18]。

4.2 高能量PEMF的杀菌应用

目前关于PEMF对细菌作用的研究主要集中在污水处理、食品消毒领域,其所采用的PEMF为高强度电磁场,并不能应用于人体。如Piyadasa等^[19]研究发现商用水处理器所产生的PEMF可导致细菌活力和培养能力下降;李梅等^[20]发现长时间高强度的PEMF暴露使细胞表面发生了不可修复的破损现象,造成细菌正常功能的丧失;张咪^[21]发现高强度脉冲磁场可有效杀灭食品中的李斯特菌,并认为高强度PEMF的暴露加快了钙离子的跨膜运动,胞内钙离子浓度的升高导致了李斯特菌的死亡。

4.3 低能量PEMF的杀菌作用

与已有报导的高能量PEMF杀菌报导不同,本研究采用可供临床应用的低能量PEMF,发现低能量的PEMF也同样具有杀菌作用。研究结果表明2 h和4 h的PEMF干预组计数结果无统计学差异,该时期的细菌处于迟缓期,是细菌对新环境的适应过程,代谢活跃但分裂缓慢;而6 h与8 h的PEMF干预则显著抑制了金黄色葡萄球菌的生长,此时期的细菌处于对数生长期,该时期细菌大小、形态、染色、生物活性都很典型,对外界环境因素的作用敏感^[22]。现有研究表明不同电磁场的脉冲个数、持续时间、频率都是可变的,这些因素可能导致微生物失活的不可逆电穿孔机制,如电解和释放几种自由基,从而导致单独或与电场联合杀灭微生物^[23]。同样,细菌膜电位也会随着PEMF的干预而发生改变,使细菌的代谢状态发生根本性的生物学变化^[24],这一变化可能促使细菌膜的损伤,影响细菌增殖^[25]。此外,本研究还表明PEMF与抗生素具有协同抗菌作用。Pilla等^[26]研究发现在PEMF作用下,细胞内Ca²⁺释放,导致Ca²⁺与钙调蛋白的结合增加以及与新陈代谢、炎症、细胞凋亡等相关的下游信号通路增多。可见,与药物治疗法不同,PEMF干预很可能通过几个生物级联而不是一

个狭窄的信号通路发挥作用。我们也因此猜想PEMF与抗生素之间不仅仅是单方面抑菌作用的叠加,二者之间可能也存在相互的作用。另一方面,有文献报道PEMF的干预可诱导机体产生一氧化氮,一氧化氮是为数不多的已知的气体信号分子之一,具有扩张血管、减轻炎症的作用^[27]。由于感染的骨组织血供受到破坏,因此骨组织中抗生素的浓度往往达不到最低杀菌浓度,因此单纯使用抗生素治疗骨感染效果往往不理想^[28],一氧化氮的扩血管作用可改善局部的微循环,从而提高局部抗生素浓度。所以我们猜想在体内,PEMF与抗生素的协同抑菌作用可能优于体外。

本研究也存在一定的局限性。PEMF疗法影响生物学的生物物理和细胞机制是复杂的,仍需进一步深入研究。此外,本研究仅选取了骨感染中最常见的金黄色葡萄球菌,PEMF对于骨感染中其它相关细菌是否同样存在抑制作用,值得进一步研究。

5 结 论

本研究发现低能量PEMF可以显著抑制对数生长期金黄色葡萄球菌,同时与抗生素之间具有协同抑菌作用,另一方面,PEMF对促进骨折愈合、减少术后疼痛以及改善微循环均有一定的积极作用,可应用于临床。因此,PEMF是一种很有希望的骨感染辅助治疗方法。

【参考文献】

- [1] 王海,黄游,何晓青,等.感染性骨不连的治疗现状[J].中国矫形外科杂志,2017,25(5):438-441.
WANG H, HUANG Y, HE X Q, et al. Infected nonunion: current treatment status [J]. Orthopedic Journal of China, 2017, 25(5): 438-441.
- [2] HECKMAN J D, INGRAM A J, LOYD R D, et al. Nonunion treatment with pulsed electromagnetic fields [J]. Clin Orthop Relat Res, 1981, 161: 58-66.
- [3] WANG P, TANG C, WU J, et al. Pulsed electromagnetic fields regulate osteocyte apoptosis, RANKL/OPG expression, and its control of osteoclastogenesis depending on the presence of primary cilia [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7): 10588-10601.
- [4] SELVAMURUGAN N, HE Z, RIFKIN D, et al. Pulsed electromagnetic field regulates MicroRNA 21 expression to activate TGF- β signaling in human bone marrow stromal cells to enhance osteoblast differentiation [J]. Stem Cells Int, 2017: 2450327.
- [5] ALBUQUERQUE W W, COSTA R M, FERNANDES TDE S, et al. Evidences of the static magnetic field influence on cellular systems [J]. Prog Biophys Mol Biol, 2016, 121(1): 16-28.
- [6] DEL RE B, GAROIA F, MESIRCA P, et al. Extremely low frequency magnetic fields affect transposition activity in *Escherichia coli* [J]. Radiat Environ Biophys, 2003, 42(2): 113-118.
- [7] JUNK A F, RAKOCZY R, SZYMOCZYK P, et al. Application of rotating magnetic fields increase the activity of antimicrobials against wound biofilm pathogens [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 167.
- [8] FOJT L, STRASÁK L, VETTERL V, et al. Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus* [J]. Bioelectrochemistry, 2004, 63(1-2): 337-341.

- [9] CROUZIER D, PERRIN A, TORRES G, et al. Pulsed electromagnetic field at 9.71 GHz increase free radical production in yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) [J]. *Pathol Biol (Paris)*, 2009, 57(3): 245-251.
- [10] GARLAND D E, MOSES B, SALYER W. Long-term follow-up of fracture nonunions treated with PEMFs [J]. *Contemp Orthop*, 1991, 22(3): 295-302.
- [11] 林通, 罗文君, 马菲菲, 等. 低频脉冲电磁场联合双膦酸盐和钙剂治疗老年骨质疏松症的临床研究 [J]. *西北国防医学杂志*, 2020, 41(4): 230-233.
LIN T, LUO W J, MA F F, et al. Clinical study of low frequency pulsed electromagnetic field combined with bisphosphonates and calcium in the treatment of senile osteoporosis [J]. *Medical Journal of National Defending Forces in Northwest China*, 2020, 41(4): 230-233.
- [12] ROHDE C H, TAYLOR E M, ALONSO A, et al. Pulsed electromagnetic fields reduce postoperative interleukin-1 β , pain, and inflammation: a double-blind, placebo-controlled study in tram flap breast reconstruction patients [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2015, 135(5): 808e-817e.
- [13] ROHDE C, CHIANG A, ADIPOJU O, et al. Effects of pulsed electromagnetic fields on interleukin-1 beta and postoperative pain: a double-blind, placebo-controlled, pilot study in breast reduction patients [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2010, 125(6): 1620-1629.
- [14] STOCCHERO M, GOBBATO L, DE BIAGI M, et al. Pulsed electromagnetic fields for postoperative pain: a randomized controlled clinical trial in patients undergoing mandibular third molar extraction [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2015, 119(3): 293-300.
- [15] 潘云虎, 李飞, 陈江红, 等. 低频脉冲电磁场对糖尿病大鼠急性后肢缺血微循环血管再生的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2010, 32(7): 498-502.
PAN Y H, LI F, CHEN J H, et al. The effects of low-frequency pulsed electromagnetic fields on microcirculation angiogenesis in acute hindlimb ischemia among diabetic rats [J]. *Chinese Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2010, 32(7): 498-502.
- [16] KWAN R L, WONG W C, YIP S L, et al. Pulsed electromagnetic field therapy promotes healing and microcirculation of chronic diabetic foot ulcers: a pilot study [J]. *Adv Skin Wound Care*, 2015, 28(5): 212-219.
- [17] 李子煜. 低频脉冲电磁场促进大鼠脊髓损伤后神经功能恢复 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2019.
LI Z Y. Low frequency pulsed electromagnetic field promotes the recovery of neurological function after spinal cord injury in rats [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2019.
- [18] 刘敏, 李嵩, 李玉敏, 等. LFPEMF刺激腓总神经损伤的疗效 [J]. *脑与神经疾病杂志*, 2020, 28(4): 226-230.
LIU M, LI S, LI Y M, et al. Therapeutic effect of low frequency pulsed electromagnetic field therapy on common peroneal nerve injury [J]. *Journal of Brain and Nervous Diseases*, 2020, 28(4): 226-230.
- [19] PIYADASA C, YEAGER T R, GRAY S R, et al. The effect of electromagnetic fields, from two commercially available water treatment devices, on bacterial culturability [J]. *Water Sci Technol*, 2016, 73(6): 1371-1377.
- [20] 李梅, 曲久辉, 彭永臻, 等. 扫频脉冲电磁场对污水的杀菌性能 [J]. *环境科学*, 2003, 24(5): 102-105.
LI M, QU J H, PENG Y Z, et al. Experimental study on the disinfection of waste water by swept pulsed electromagnetic field [J]. *Environmental Science*, 2003, 24(5): 102-105.
- [21] 张咪. 脉冲磁场致单核细胞增生李斯特菌失活的作用机制研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2019.
ZHANG M. Studies on the mechanism of the inactivation of *Listeria monocytogenes* treated by pulsed magnetic field [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2019.
- [22] 沈萍, 陈向东. 微生物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 135-136.
SHEN P, CHEN X D. Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 135-136.
- [23] RUBIN A E, LEVKOV K, USTA O B, et al. IGBT-based pulsed electric fields generator for disinfection: design and *in vitro* studies on *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Ann Biomed Eng*, 2019, 47(5): 1314-1325.
- [24] ONCUL S, CUCE E M, AKSU B, et al. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on bacterial membrane [J]. *Int J Radiat Biol*, 2016, 92(1): 42-49.
- [25] FAVERI M, MIQUELLETO D E, BUENO-SILVA B, et al. Antimicrobial effects of a pulsed electromagnetic field: an *in vitro* polymicrobial periodontal subgingival biofilm model [J]. *Biofouling*, 2020, 36(7): 862-869.
- [26] PILLA A, FITZSIMMONS R, MUEHSAM D, et al. Electromagnetic fields as first messenger in biological signaling: application to calmodulin-dependent signaling in tissue repair [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1810(12): 1236-1245.
- [27] BRAGIN D E, STATOM G L, HAGBERG S, et al. Increases in microvascular perfusion and tissue oxygenation via pulsed electromagnetic fields in the healthy rat brain [J]. *J Neurosurg*, 2015, 122(5): 1239-1247.
- [28] 王斌, 刁开彩. 感染性骨不连的临床治疗进展 [J]. *微创医学*, 2018, 13(4): 481-484.
WANG B, DIAO K C. Progress in clinical treatment of infectious nonunion [J]. *Journal of Minimally Invasive Medicine*, 2018, 13(4): 481-484.

(编辑: 谭斯允)