

解脲支原体感染动物模型优化方案研究

刘文娥¹, 张婉妮², 周 意³, 王 剑¹

(1. 湖南中医药大学第一附属医院 妇产科, 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学 2008 级七年制研究生班, 长沙 410007;
3. 湖南中医药大学 2009 级七年制研究生班, 长沙 410007)

【摘要】 目的 探索不同造模方法的优劣性, 选择最合适的解脲支原体感染动物模型方法。**方法** 选择 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠、Wistar 大鼠, 分别以小剂量 UU3 菌液多次感染、大剂量 UU3 菌液一次感染、苯甲酸雌二醇预处理为干预措施, 建立解脲支原体感染动物模型, 分别于首次接种后 14 d、28 d、42 d、56 d 取实验动物宫颈分泌物行解脲支原体培养, 取生殖器做形态学分析。**结果** ①BALB/c 小鼠与 Wistar 大鼠相比, BALB/c 小鼠总体一般情况较差, 阴道分泌物增加, 外阴溃烂明显, 而 Wistar 大鼠外阴无明显变化。②大鼠各组阴道 UU 定植率比较, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$); 小剂量雌激素组与小剂量非雌激素组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 大剂量雌激素组与大剂量非雌激素组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 小剂量雌激素组与大剂量雌激素组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 小剂量非雌激素组与大剂量非雌激素组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。小鼠各组结果同大鼠。③同样干预措施, 在小剂量雌激素处理下, 大、小鼠比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 在大剂量雌激素处理下, 大、小鼠比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明同等处理措施下小鼠阴道 UU 定植率更高。④肉眼观: 小剂量雌激素组个别大鼠生殖道组织有水肿, 其余各组大鼠生殖道组织柔软, 活动度好; 空白组小鼠生殖道组织柔软, 活动度好; 小剂量雌激素组小鼠生殖道组织充血明显, 输卵管积水, 增粗, 僵硬, 弹性差; 大剂量雌激素组小鼠以疏松水肿为主; 小剂量非雌激素组和大剂量非雌激素组仅见阴道、宫颈轻度充血水肿。⑤镜下观: 大鼠各干预组阴道组织无明显病理损伤, 部分可见疏松组织水肿。小剂量雌激素组小鼠病理损伤严重; 小剂量非雌激素小鼠组、大剂量雌激素小鼠组充血水肿程度较轻, 腺体轻度扩张, 炎性分泌物较多。**结论** BALB/c 小鼠与 Wistar 大鼠相比, 外阴损伤明显; 雌激素预处理能增加实验动物解脲支原体的定植率; 小剂量多次感染比大剂量一次感染更能增加 UU 定植率; UU 在 BALB/c 小鼠阴道 UU 定植率更高; BALB/c 小鼠病理损伤严重, 对动物实验研究价值更大。

【关键词】 解脲支原体; 动物模型; 大鼠; 小鼠; 优化方案

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 12-0038-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.12.008

Optimization of animal models of *Ureaplasma urealyticum* infection

LIU Wen-e¹, ZHANG Wan-Ni², ZHOU Yi³, WANG Jian¹

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, First Affiliated Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China; 2. The 2008 Seven-year Graduate Class; 3. The 2009 Seven-year Graduate Class of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007)

【Abstract】 Objective To explore different methods for establishing animal models of *Ureaplasma urealyticum* (UU) infection and to select the best method of establishment of this disease. **Methods** SPF female BALB/c mice and Wistar rats were multiple-infected with small dose of UU liquid or single-infected with high-dose UU liquid, pretreated with

[基金项目] 湖南省科技厅课题, 编号: 2012TT2024。

[通讯作者] 刘文娥 (1972 -), 女, 副主任医师, 硕士, 研究方向: 妇科炎症性疾病中医药防治研究, E-mail: liuwene@163.com。

estradiol benzoate, to establish models of *Ureaplasma urealyticum* infection. Cervical secretion was taken for UU culture at 14, 28, 42 and 56 days after the first time UU treatment, and the reproductive organs were taken for histopathological examination. **Results** Gross examination of the UU-infected rats showed generally less serious lesions than the mice. The low-dose estrogen group was worst, showing hyperemia and edema, cervical hypertrophy, hydrosalpinx, enlargement, and more rigid with poor elasticity. Significant differences were observed in the vaginal UU colonization rates between the low-dose estrogen and low-dose non-estrogen groups, high-dose estrogen and non-estrogen groups, low-dose estrogen and high-dose estrogen groups, low-dose estrogen and non-estrogen groups, in both the mice and rats ($P < 0.05$ for all). The same dose estrogen treatment caused a higher UU colonization rate in the mice than rats ($P < 0.05$). Histological examination showed that the low-dose estrogen treated rats had no obvious pathological changes, except loose tissue edema in some rats, but apparent pathological changes were observed in the low-dose estrogen treated mice. **Conclusions** The vulvar lesions in the mice are worse than in the rats. Estrogen pre-treatment can increase the *Ureaplasma urealyticum* colonization rate in the animals. The UU colonization rate in the vagina of mice is higher than in the rats, and multiple low-dose UU treatment produces a higher UU colonization rate than a single high-dose UU treatment. Therefore, BALB/c mice are more susceptible to *Ureaplasma urealyticum* infection, with more serious pathological changes, and are more suitable for experimental studies of related diseases.

【Key words】 *Ureaplasma urealyticum*, infection; Model, animal; Rats; Mice; Optimization research

解脲支原体(*Ureaplasma urealyticum*, UU)是女性生殖道常见的一种支原体,它既可以是寄生菌,也可以是致病菌。女性生殖道解脲支原体可正常存在,不一定发病^[1,2],当女性生殖道免疫力下降或黏膜受损时,潜伏在生殖道的 UU 便可大量繁殖而致病。UU 在性传播疾病中发病率很高,不仅可引起前庭大腺炎、阴道炎^[3,4]、宫颈炎^[5]等下生殖道感染,也可引起子宫内膜炎、输卵管炎、输卵管积水、卵巢囊肿等上生殖道感染^[6,7],导致不孕不育^[8]、异位妊娠^[9]及胎儿宫内感染、流产等^[10,11],严重影响女性的生殖健康和生活质量。本文通过对解脲支原体感染的不同造模方法进行优劣比较,探索最合适的造模方法,为今后更深入的实验研究打下基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物: BALB/c 雌性小鼠 40 只, 8 周龄, 体重(20 ± 2)g, SPF 级; 购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 生产证号: SCXK(湘)2011-0003, Wistar 雌性大鼠 20 只, 12~15 周龄, 体重(180~220)g, SPF 级。购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 生产证号: SCXK(湘)2011-0003, 使用许可证编号: SYXK(湘)2013-0005。阴道分泌物支原体培养阴性, 排除既往感染。

1.1.2 实验药物: 苯甲酸雌二醇注射液: 4 mg/mL, 苏州市苏牧动物药业有限公司生产, 批号: (2012)100862511。

1.1.3 UU 菌株: UU3 型, 由南华大学微生物学与

免疫学教研室提供。

1.1.4 主要试剂: UU 液体培养基: 2 mL/支, 由珠海银科生物工程有限公司生产。

1.1.5 主要仪器: 37℃ 恒温箱、HB-100 煮锅、超净工作台、低温冰箱、石蜡包埋机、石蜡切片机、生物组织摊片机、全封闭自动脱水机、电子分析天平、台式高速离心机、移液器、光学显微镜、高清晰度彩色病理分析系统、烧杯、量桶、眼科剪、镊子、组织剪、组织钳、止血钳等。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组: 将实验动物饲养于屏障设施中, 适应环境 1 周。将所有动物称重, 按随机数字表法将大、小鼠分别随机分为 5 组: 空白组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组, 小鼠每组 8 只, 大鼠每组 4 只。

1.2.2 实验动物预处理: 将小剂量雌激素组、大剂量雌激素组于菌液接种前颈部皮下注射苯甲酸雌二醇注射液 0.5 mg/只, 每周 1 次, 连续 4 周。其余各组动物颈部皮下注射无菌生理盐水。

1.2.3 UU3 菌液制备: 将冻干 UU3 标准株加入 2 mL UU 培养基内, 充分混匀。取 3 支高温处理的无菌小试管, 分别加入 2 mL 培养液和 UU3 标准混悬液 2 滴, 置于 37℃ 恒温培养箱中培养增菌, 当培养液颜色由黄色变为玫瑰红色时取出, 增菌产物予液体培养基稀释配制成浓度为 10^5 CCU/mL、 10^7 CCU/mL 的菌液。

1.2.4 造模方法: 于第 2 次预处理后第 2 天开始菌液接种。采用移液枪和一次性枪头, 暴露实验动物

阴道,将浓度为 10^5 CCU/mL 的菌液 $50\ \mu\text{L}$ 注入小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组,每天 1 次,连续 7 d;将浓度为 10^7 CCU/mL 的菌液 $50\ \mu\text{L}$ 注入大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组,仅注入 1 次;空白组阴道内注入等量无菌培养基。菌液接种后,将实验动物倒立 5 ~ 10 min,待菌液被阴道黏膜完全吸收后,放回笼内。

1.2.5 检测指标:

1.2.5.1 一般情况观察:观察及记录各组动物的活动度、饮食、毛发、外阴、阴道分泌物、二便等情况。

1.2.5.2 阴道分泌物 UU 培养法:分别于首次接种后 7、14、21、28、35、42、49、56 d 取实验动物阴道分泌物行解脲支原体培养。以无菌阴拭子取实验动物阴道分泌物,将阴拭子插入动物阴道内,轻轻旋转蘸取阴道分泌物,然后将阴拭子置于 2 mL UU 无菌培养基内,充分吹打混匀,盖好橡皮塞,置于 37°C 恒温培养箱中培养 24 ~ 48 h,观察颜色变化,当培养基颜色由黄色变成红色时,提示有 UU 生长。

1.2.5.3 组织形态学观察:分别于首次接种后 14、28、42、56 d 分 4 批以颈椎脱臼法处死动物(小鼠每组每批处死 2 只,大鼠每组每批处死 1 只),肉眼观察实验动物的阴道、宫颈、子宫、输卵管等组织;取

实验动物阴道组织,甲醛固定,二甲苯透明浸蜡,石蜡包埋,切片,HE 染色后,光镜下行形态学分析。

1.2.6 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件,组间数据比较采用卡方检验。

2 结果

2.1 实验动物一般情况观察

Wistar 大鼠各组外阴情况:正常组大鼠:毛发白,毛色光滑,无竖毛,外阴正常,阴道口无明显扩张,阴道分泌物无明显增加。大、小剂量非雌激素组大鼠:毛发白,毛色光滑,无竖毛,外阴正常,阴道口无明显扩张,阴道分泌物无明显增加。大、小剂量雌激素组大鼠:毛发白,毛色光滑,无竖毛,外阴无红肿溃烂,阴道口稍扩张,阴道分泌物增加(图 1)。

BALB/c 小鼠各组外阴情况:正常组小鼠:毛发白,毛色光滑,无竖毛,外阴正常,阴道口无明显扩张,阴道分泌物无明显增加。大、小剂量非雌激素组小鼠:毛发稍发黄,无竖毛,外阴红肿,部分溃烂,面积较小,阴道口稍扩张,阴道分泌物增加。大、小剂量雌激素组小鼠:毛发发黄,竖毛,外阴红肿,外阴溃烂明显,溃烂面积大,阴道分泌物明显增加(图 2)。



图 1 各组大鼠外阴的外观。由左至右分别是正常组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组。

Fig. 1 Gross appearance of the vulva of Wistar rats in each group. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.



图 2 各组 BALB/c 小鼠外阴的外观。由左至右分别是:正常组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组。

Fig. 2 Gross appearance of the vulva of the BALB/c mice in each group. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.

根据实验动物一般情况分析,雌激素预处理可以使实验动物阴道扩张,阴道分泌物增加,加重损伤程度;Wistar 大鼠与 BALB/c 小鼠相比,BALB/c 小鼠一般情况较差,阴道分泌物增加,外阴溃烂明显,而 Wistar 大鼠外阴无明显变化。

2.2 解脲支原体感染检测结果

分别于首次接种后 7、14、21、28、35、42、49、56 d 取实验动物阴道分泌物行解脲支原体培养。将每次检测数据累加后,采用卡方检验进行统计学分析。

采用卡方检验进行数据分析,各组比较差异均具有统计学意义($P = 0.000 < 0.01$)。小剂量雌激素组与小剂量非雌激素组比较, $P = 0.006 < 0.01$,差异有统计学意义;大剂量雌激素组与大剂量非雌激素组比较, $P = 0.000 < 0.01$,差异有统计学意义,说明雌激素预处理能增加大鼠阴道定植率。小剂量雌激素组与大剂量雌激素组比较, $P = 0.006 < 0.01$,差异有统计学意义;小剂量非雌激素组与大剂量非雌激素组比较, $P = 0.006 < 0.01$,差异有统计学意义,说明小剂量多次感染比大剂量一次感染更能增加大鼠 UU 定值(表 1)。

采用卡方检验进行数据分析,各组比较差异均具有统计学意义($P = 0.000 < 0.01$)。小剂量雌激素组与小剂量非雌激素组比较, $P = 0.000 < 0.01$,差异有统计学意义;大剂量雌激素组与大剂量非雌激素组比较, $P = 0.000 < 0.01$,差异有统计学意义,说明雌激素预处理能增加小鼠阴道定植率。小剂量雌激素组与大剂量雌激素组比较, $P = 0.106 > 0.05$,差异无统计学意义;小剂量非雌激素组与大剂量非雌激素组比较, $P = 0.182 > 0.05$,差异无统计学意义,说明小剂量多次感染与大剂量一次感染对

小鼠 UU 定值无影响。

同样干预措施下,对大鼠、小鼠进行统计学分析。小剂量雌激素处理下,大鼠、小鼠比较, $P = 0.018 < 0.05$,差异有统计学意义;大剂量雌激素处理下,大小鼠比较, $P = 0.000 < 0.01$,差异有统计学意义,说明同等处理小鼠阴道 UU 定植率更高(表 2)。

2.3 肉眼组织形态学观察

Wistar 大鼠生殖道组织肉眼观:正常组大鼠:生殖道组织柔软,活动度好。大、小剂量非雌激素组大鼠:生殖道组织柔软,活动度好。大剂量雌激素组大鼠:生殖道组织柔软,活动度好。小剂量雌激素组大鼠:个别大鼠生殖道组织有水肿,活动度欠佳(图 3)。

BALB/c 小鼠生殖道组织肉眼观:正常组小鼠:生殖道组织柔软,活动度好。大、小剂量非雌激素组小鼠:生殖道组织仅见阴道、宫颈轻度充血水肿。小剂量雌激素组小鼠:生殖道组织充血明显,输卵管积水,增粗,僵硬,弹性差。大剂量雌激素组小鼠:生殖道组织以疏松水肿为主(图 4)。

2.4 镜下组织形态学观察

2.4.1 HE 染色下 Wistar 大鼠阴道组织镜下观:空白组 Wistar 大鼠组、小剂量非雌激素 Wistar 大鼠组、大剂量非雌激素 Wistar 大鼠组、大剂量雌激素 Wistar 大鼠组阴道组织镜下观:阴道组织结构清晰,有少量炎症细胞浸润,上皮细胞角化部分脱落。小剂量雌激素组 Wistar 大鼠阴道组织镜下观:部分组织轻微病理损伤,炎性细胞浸润,部分可见疏松组织水肿(图 5)。

表 1 大鼠阴道分泌物解脲支原体感染情况

Tab. 1 Cases of *Ureaplasma urealyticum* infection from the rat vaginal secretions

组别 Groups	动物数 <i>n</i>	阳性数 Positive	阴性数 Negative
空白组 Blank	20	0	20
小剂量雌激素组 Low-dose estrogen	20	18	2
小剂量非雌激素组 Low-dose non-estrogen	20	10	10
大剂量雌激素组 High-dose estrogen	20	10	10
大剂量非雌激素组 High-dose of non-estrogen	20	0	20

表 2 小鼠阴道分泌物解脲支原体感染情况

Tab. 2 Cases of *Ureaplasma urealyticum* infection from mouse vaginal secretions

组别 Groups	动物数 <i>n</i>	阳性数 Positive	阴性数 Negative
空白组 Blank	40	0	40
小剂量雌激素组 Low-dose estrogen	37	37	0
小剂量非雌激素组 Low-dose non-estrogen	48	26	22
大剂量雌激素组 High-dose estrogen	44	41	3
大剂量非雌激素组 High-dose non-estrogen	56	23	33

2.4.2 HE 染色下 BALB/c 小鼠阴道组织镜下观: 空白组 BALB/c 小鼠组: 阴道组织结构清晰, 有少量炎症细胞浸润, 上皮细胞角化脱落不全。小剂量雌激素组 BALB/c 小鼠组: 阴道组织充血水肿程度严重, 炎性分泌物多, 可见大量泡沫细胞浸润, 可见大量脱落细胞及组织。小剂量非雌激素组 BALB/c 小鼠组: 充血水肿程度较重, 炎性分泌物较多, 可见大量泡沫细胞浸润, 可见大量脱落细胞及组织。大剂量雌激素 BALB/c 小鼠组: 充血水肿程度较重, 炎

性分泌物较多, 可见大量泡沫细胞浸润, 可见大量脱落细胞及组织。大剂量非雌激素组 BALB/c 小鼠组: 部分轻微病理损伤, 炎性细胞浸润, 部分可见疏松组织水肿(图 6)。

2.4.3 HE 染色下 Wistar 大鼠子宫组织镜下观: 空白组 Wistar 大鼠组、小剂量非雌激素 Wistar 大鼠组、大剂量非雌激素 Wistar 大鼠组、大剂量雌激素 Wistar 大鼠组子宫组织镜下观: 组织结构清晰, 有少量炎症细胞浸润, 腺体内可见均匀粉染的分泌物,

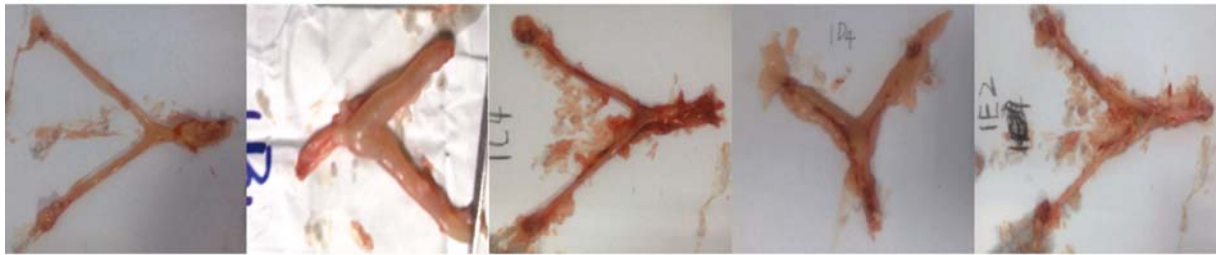


图 3 各组大鼠阴道、子宫、输卵管的外观。由左至右分别是: 大鼠正常组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组。

Fig. 3 Gross appearance of the vagina, uterus and fallopian tube of Wistar rats in each group. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.



图 4 BALB/c 小鼠各组生殖器官肉眼观(由左至右分别是小鼠正常组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组)

Fig. 4 Gross appearance of the vagina, uterus and fallopian tube of the BALB/c mice in each group. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.

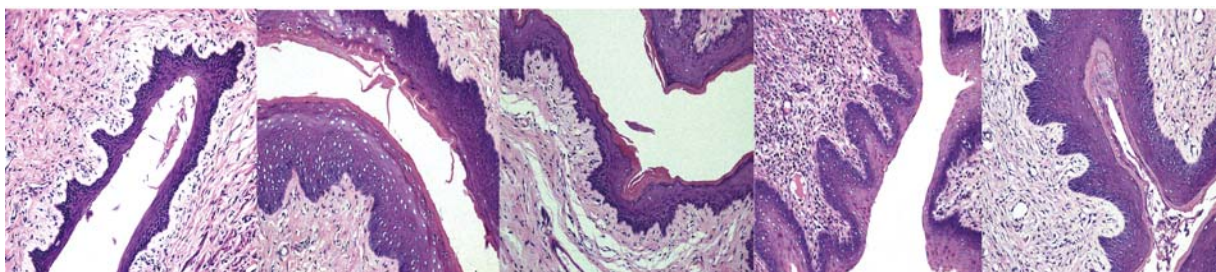


图 5 HE 染色下 Wistar 大鼠阴道组织镜下观(由左至右分别是大鼠正常组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组)放大倍数 10×20

Fig. 5 Histology of the vagina of Wistar rats. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.

上皮细胞角化不全或过度。小剂量雌激素组 Wistar 大鼠子宫组织镜下观:部分组织轻微病理损伤,炎性细胞浸润,部分可见疏松组织水肿(图 7)。

2.4.4 HE 染色下 BALB/c 小鼠子宫组织镜下观:空白组小鼠组:组织结构清晰,有少量炎症细胞浸润,腺体内可见均匀粉染的分泌物,上皮细胞角化不全或过度。小剂量雌激素组小鼠:粘膜、间质层不同程度中性粒细胞浸润,粘膜层、间质

明显疏松水肿,子宫腺体扩张或增生,宫腔粘膜及粘膜下组织可见嗜酸性粒细胞及浆细胞浸润。小剂量非雌激素小鼠组:组织充血水肿程度较轻,腺体轻度扩张,炎性分泌物较多。大剂量非雌激素小鼠组:部分轻微病理损伤,炎性细胞浸润,部分可见疏松组织水肿。大剂量雌激素小鼠组:充血水肿程度较轻,腺体轻度扩张,炎性分泌物较多(图 8)。

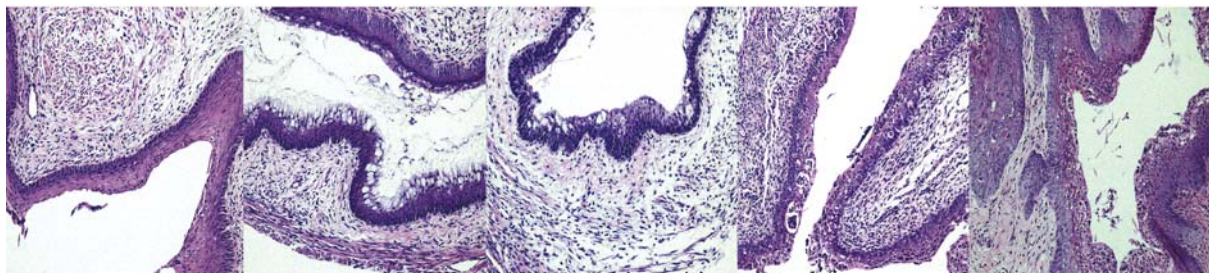


图 6 HE 染色下 BALB/c 小鼠阴道组织镜下观(由左至右分别是小鼠正常组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组)放大倍数 10×20

Fig. 6 Histology of the BALB/c mouse vagina. HE staining. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.

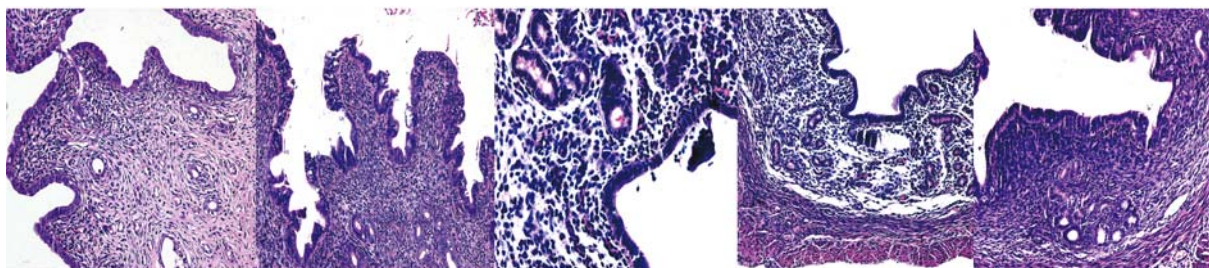


图 7 各组大鼠子宫的镜下形态。HE 染色。自左至右:正常组、低剂量雌激素组、低剂量非雌激素组、高剂量雌激素组、高剂量非雌激素组。放大倍数 10×20

Fig. 7 Histology of the rat uterus. HE staining. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.

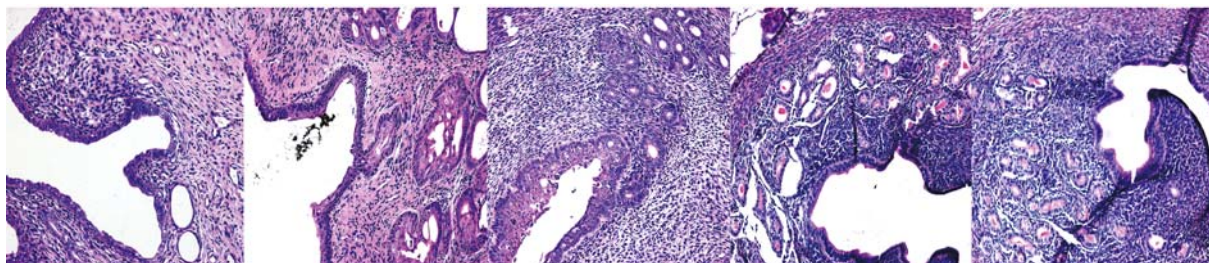


图 8 HE 染色下 BALB/c 小鼠子宫组织镜下观(由左至右分别是小鼠正常组、小剂量雌激素组、小剂量非雌激素组、大剂量雌激素组、大剂量非雌激素组)放大倍数 10×20

Fig. 8 Histology of the BALB/c mouse uterus. HE staining. From left to right: the normal group, low-dose estrogen group, low-dose non-estrogen group, high-dose estrogen group, high-dose non-estrogen group.

3 讨论

支原体是一类大小介于细菌和病毒之间、无细胞壁、呈多形性、能在无生命培养基中繁殖的原核微生物,常寄居在人体呼吸道和泌尿生殖道黏膜的表面,是引起女性泌尿生殖系统感染的常见病原体。寄居于人体泌尿生殖道黏膜的支原体以解脲支原体、人型支原体(*Mycoplasma hominis*, Mh)及生殖支原体(*Mycoplasma genitalium*, Mg)最常见,这3种支原体可正常存在于人体内,并不都致病,致病性支原体为特定血清型的支原体。UU 是一类没有细胞壁的原核细胞微生物,介于细菌和病毒之间,归属柔膜体纲支原体目,是目前发现的能够在无生命培养基中生长繁殖的最小微生物,是泌尿生殖道常见的条件致病菌。解脲支原体大小为 125 ~ 250 μm ,分子量为 4.5×10^8 ,能通过 0.45 μm 的微孔滤膜,没有细胞壁,因此在形态上呈高度多形性,在 -70℃ 冻干状态下可以保存数年之久。

近年来,UU 感染的发病率越来越高,临床上对宫颈分泌物检测 UU 阳性的患者,常常盲目使用抗生素,导致耐药现象严重,给 UU 感染的彻底治疗带来了很大的困难^[12]。目前有许多学者从 UU 的致病性、药物及治疗机理等方面进行研究,这些研究都需要建立良好的解脲支原体感染动物模型,模型的顺利建立将为以后的各种研究奠定良好的基础。国外曾有学者用解脲支原体接种多种哺乳动物未获成功,因此曾一度认为由人体分离出来的解脲支原体只能在人体内生存。直至 1989 年 Furr 与 Taylor-Robinson^[13]在接种前给予小鼠皮下注射 0.5 mg 的雌二醇,隔周 1 次,共 4 次。并于第 2 次注射后用吸液管取 50 μL 解脲支原体悬液注入阴道。实验结果显示雌二醇处理的小鼠,其阴道黏膜的多核白细胞减少或消失,解脲支原体能够定植于经激素处理的小鼠生殖道,并且能够上行播散至卵巢、肝、脾。而没有接受激素处理的小鼠,解脲支原体无法在其生殖道定植。在此基础上,国内外很多研究者^[14-16]已成功建立 UU 感染动物模型,实验动物多以大小鼠及新西兰白兔为主。

本文在其他学者的研究基础上对解脲支原体感染的不同造模方法进行优劣比较,探索最优良的造模方法。采用阴道接种菌液的方法给 Wistar 大鼠、BALB/c 小鼠同时造模,并给出不同的干预措施,观察各自的造模结果。从本实验的观察结果可

得出结论,BALB/c 小鼠较 Wistar 大鼠阴道接种解脲支原体造模成功率更高。此外,研究发现雌激素预处理及多次阴道菌液接种均能增加解脲支原体的定植率。本研究探讨的以 BALB/c 小鼠为对象,雌激素预处理、多次阴道菌液接种的造模方法较为优良,可供学者选择,并为今后更深入的实验研究提供理论基础。

参考文献:

- [1] 徐斌,孙晶,于海滨,等. 不同人群解脲支原体和人型支原体感染状况分析[J]. 吉林大学学报, 2003, 29(2): 210.
- [2] 栾瑞玲,曹慧. 女性下生殖道支原体存在情况及与疾病关系[J]. 青岛大学医学院学报, 2008, 44(6): 520-522.
- [3] Haggerty CL, Totten PA, Ferris M, et al. Clinical characteristics of bacterial vaginosis among women testing positive for fastidious bacteria [J]. Sex Transm Infect, 2009, 85(4): 242-248.
- [4] Mobley VL, Hobbs MM, Lau K, et al. Mycoplasma genitalium infection in women attending a sexually transmitted infection clinic: diagnostic specimen type, coinfections, and predictors [J]. Sex Transm Dis. 2012, 39(9): 706-709.
- [5] 幸彩梅. 解脲支原体与女性宫颈炎阴道炎的相关分析[J]. 中国现代医药杂志, 2009, 11(1): 117-118.
- [6] Khan J, Farzand R. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* among women with unexplained infertility, with and without vaginitis and cervicitis [J]. Afr J Microbiol Res, 2011, 5(8): 861-864.
- [7] Pónyai K, Mihalik N, Ostorházi E, et al. Incidence and antibiotic susceptibility of genital mycoplasmas in sexually active individuals in Hungary [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013, 32(11): 1423-1426.
- [8] Zeighami H, Peerayeh SN, Yazdi RS, et al. Prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in semen of infertile and healthy men [J]. Int J STD AIDS, 2009, 20(6): 387-390.
- [9] 黄新可,张羨,罗新. 女性下生殖道沙眼衣原体及解脲支原体感染与输卵管妊娠的相关性[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012, 28(8): 628-630.
- [10] 杨潇,荣涛,云馨,等. 女性解脲支原体和沙眼衣原体感染与流产关系分析[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(4): 678-679.
- [11] Kwak DW, Hwang HS, Kwon JY, et al. Co-infection with vaginal *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* increases adverse pregnancy outcomes in patients with preterm labor or preterm premature rupture of membranes [J]. J Matern Fetal Neonatal Med. 2014, 27(4): 333-337.
- [12] 郑华,李明成,刘天赫. 多重耐药解脲支原体与泌尿生殖道感染研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(12): 1745-1747.

(下转第 76 页)

- (5612): 1575–1578.
- [2] Fischer AE, Wu SK, Proescher JB, et al. A high-throughput drop microfluidic system for virus culture and analysis [J]. J Virol Methods, 2015, 213: 111–117.
- [3] Wobus CE, Karst SM, Thackray LB, et al. Replication of Norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages [J]. PLoS Biol, 2004, 2 (12): e432.
- [4] Compton SR, Paturzo FX, Macy JD. Effect of murine norovirus infection on mouse parvovirus infection [J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2010, 49 (1): 11–21.
- [5] Chen X, Leach D, Hunter DA, et al. Characterization of intestinal dendritic cells in murine norovirus infection [J]. Open Immunol J, 2011, 4: 22–30.
- [6] Papafragkou E, Hewitt J Park GW, et al. Challenges of culturing human norovirus in three-dimensional organoid intestinal cell culture models [J]. PLoS One, 2013, 8(6): e63485.
- [7] Herod MR, Salim O, Skilton RJ, et al. Expression of the murine norovirus (MNV) ORF1 polyprotein is sufficient to induce apoptosis in a virus-free cell model [J]. PLoS One, 2014, 9 (3): e90679.
- [8] Mähler M, Köhl W. A serological survey to evaluate contemporary prevalence of viral agents and Mycoplasma pulmonis in laboratory mice and rats in Western Europe [J]. Lab Anim (NY), 2009, 38(5): 161–165.
- [9] Ohsugi T, Matsuura K, Kawabe S, et al. Natural infection of murine norovirus in conventional and specific pathogen-free laboratory mice [J]. Front Microbiol. 2013, 4: 12.
- [10] 王吉, 卫礼, 付瑞, 等. 猫疱疹病毒 I 型实时荧光定量 PCR 方法的建立及初步应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24 (12): 47–54.
- [11] 李晓波, 付瑞, 岳秉飞, 等. 鼠诺如病毒的体外分离与鉴定 [J]. 中国病毒学杂志, 2011, 1(5): 293–296.
- [12] Goto K, Hayashimoto N, Yasuda M, et al. Molecular detection of murine norovirus from experimentally and spontaneously infected mice [J]. Exp Anim, 2009, 58 (2): 135–140.
- [13] 袁文, 王静, 赵维波, 等. 结合内标的小鼠诺如病毒荧光定量 RT-PCR 检测方法的建立及应用 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(1): 49–56.
- [14] 袁文, 张钰, 刘忠华, 等. 广东省实验小鼠自然感染鼠诺如病毒的调查 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(2): 78–82.
- [15] Xiang Z, Tian S, Tong W, et al. MNV primarily surveillance by a recombination VP1-derived ELISA in Beijing area in China [J]. J Immunol Methods, 2014, doi. org/10.1016/j.jim.2014.05.007.
- [16] 向丹丹. RT-PCR 检测实验小鼠自然和实验感染鼠诺瓦克病毒及病毒株分离[D]. 东华大学, 2013.
- [17] Kitajima M, Oka T, Takagi H, et al. Development and application of a broadly reactive real-time reverse transcription-PCR assay for detection of murine norovirus [J]. J Virol Methods, 2010, 169(2): 269–273.
- [18] Hanaki K, Ike F, Kajita A, et al. A broadly reactive one-step SYBR green I real-time RT-PCR assay for rapid detection of murine norovirus [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e98108.
- [19] Wobus CE, Thackray LB, Virgin HW 4th. Murine norovirus: a model system to study norovirus biology and pathogenesis [J]. J Virol, 2006, 80(11): 5104–5112.
- [20] Hsu CC, Riley LK, Wills HM, et al. Persistent infection with and serologic cross-reactivity of three novel murine novoviruses [J]. Comp Med, 2006, 56 (4): 247–251.

[修回日期]2016-06-16

(上接第 44 页)

- [13] Furr PM, Taylor-Robinson D. The establishment and persistence of *Ureaplasma urealyticum* in oestradiol-treated female mice [J]. J Med Microbiol. 1989, 29(2): 111–114.
- [14] 苑贺英. 妇科 II 号方治疗雌性小鼠生殖道解脲支原体感染的实验研究 [D]. 北京:北京中医药大学, 2011.
- [15] 孙源梅, 李元文, 张颖纯, 等. 解脲支原体造模问题探讨 [J]. 中国性科学, 2012, 21(3): 24–25.
- [16] Zhu GX, Lu C, Chen CJ, et al. Pathogenicity of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in the lower genital tract of female BALB/c mice [J]. Can J Microbiol. 2011, 57(12): 987–992.

[修回日期]2016-07-01