

彭冬冬,董珂,厉巧,等.大鼠阴道炎模型的建立与评价[J].中国实验动物学报,2020,28(4):525-531.

Peng DD, Dong K, Li Q, et al. Establishment and evaluation of a rat model of vaginitis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(4): 525-531.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.04.013

大鼠阴道炎模型的建立与评价

彭冬冬,董珂,厉巧,周志敏,肖洒,姜德建*

(湖南省药物安全评价研究中心,新药药效与安全性评价湖南省重点实验室,长沙 410331)

【摘要】 目的 建立大鼠阴道炎模型,为阴道炎治疗药物的开发与评价提供新模型。**方法** 临床阴道加德纳菌、白色链球菌及B族链球菌患者阴道样品中分离和纯化阴道加德纳菌、白色链球菌及B族链球菌株。26只雌性大鼠上午分别给予苯甲酸雌二醇(20 mg/kg)和链霉素(每只10 μg)预处理,下午大鼠阴道内接种混合菌株,另选10只雌性大鼠皮下注射苯甲酸雌二醇(20 mg/kg)作为正常组,每天1次,连续3 d。分组前采集阴道分泌物和阴道冲洗液观察大鼠阴道混合菌感染情况,选取感染成功20只大鼠按体重和菌株负荷量随机分为模型组和药物验证组(复方甲硝唑阴道栓每只54 mg,每天1次,连续5 d),每组10只动物。正常组和模型组经阴道给予等量的0.9%氯化钠注射液。末次给药后采集阴道灌洗液检测菌株负荷情况,并采集阴道分泌物进行阴道涂片、清洁度以及pH检查。取阴道组织经HE染色观察其病理组织学改变。**结果** 模型组大鼠阴道壁变厚,复层扁平上皮细胞变性坏死脱落,固有层充血水肿明显,以中性粒细胞为主细胞,淋巴细胞和单核细胞炎细胞浸润,散在点状出血,乳头区成纤维细胞增生明显,网状纤维轻度增生。模型组阴道灌洗液混合菌数目、pH值及清洁度评分均显著大于正常组($P < 0.01$),且转阴率显著减少($P < 0.01$);复方甲硝唑阴道栓组能显著降低阴道灌洗液混合菌数目、pH值及清洁度评分,且增加阴道转阴率,同时能显著改善阴道组织病变程度。**结论** 对大鼠进行雌激素和注射用硫酸链霉素预处理后,接种混合菌可成功建立大鼠混合性阴道炎模型,为女性生殖系统的药物筛选与评价提供有效的动物模型。

【关键词】 阴道炎;SD大鼠;混合菌(阴道加德纳菌、白色链球菌及B族链球菌)

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)04-0525-07

Establishment and evaluation of a rat model of vaginitis

PENG Dongdong, DONG Ke, LI Qiao, ZHOU Zhimin, XIAO Sa, JIANG Dejian*

(Hunan Provincial Research Center for Safety Evaluation of Drugs, Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs, Changsha 410331, China)

Corresponding author: JIANG Dejian. E-mail: jiangdejian@hnse.org

【Abstract】 Objective A rat model of vaginitis was established to provide a model for developing and evaluating therapeutic drugs for vaginitis. **Methods** *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus albus* and Group B *Streptococcus* were isolated and purified from clinical vaginal samples. Twenty-six female rats were treated with 20 mg/kg estradiol benzoate and 10 μg/kg streptomycin in the morning, and mixed strains were inoculated into the vagina in the afternoon. Ten female rats serving as the control group were subcutaneously administered 20 mg/kg estradiol benzoate once daily for 3 days. Mixed bacterial infections in the vaginas of the rats were observed by collecting vaginal discharge and lavage fluid, then the rats were grouped according to body weight and strain load. Twenty rats were randomly divided into either the model group (54 mg/day compound metronidazole vaginal suppository once daily for 5 days) or the drug validation group, with 10 animals

[基金项目] 湖南省重点研究计划(2018SK2115)。

Funded by Key Research Program of Hunan Province of China(2018SK2115)。

[作者简介] 彭冬冬,男,助理研究员,本科,主要从事新药药效与评价研究。Email: pengdongdong@hnse.org

[通信作者] 姜德建,男,研究员,博士后,研究方向:新药临床前药效与安全性评价研究。Email: jiangdejian@hnse.org

per group. The control and model groups were injected vaginally with 0.9% sodium chloride. After the last drug administration, the bacterial strain loads were detected via vaginal lavage, and the vaginal smears, cleanliness and pH were examined from the vaginal discharge. The vaginal tissue was performed to observe the histomorphological changes by HE staining. **Results** In the model group, the vaginal walls became thickened, the stratified squamous epithelial cells became denatured and necrotic, and the lamina propria became engorged and edematous. Neutrophils were the primary cells, and lymphocyte and monocyte infiltration occurred, with scattered punctiform hemorrhaging, obvious fibroblast proliferation in the mastoid region, and slight reticular fiber proliferation. The mixed bacterial numbers, pH values and cleanliness scores were significantly higher in the model group than in the normal group ($P < 0.01$), and the negative conversion rate was significantly reduced ($P < 0.01$). A compound metronidazole vaginal suppository significantly reduced the numbers of mixed bacteria, pH values and cleanliness scores; increased the negative rate for vaginal bacteria and significantly attenuated the degree of the vaginal lesions. **Conclusions** After pretreatment with estrogen and streptomycin sulfate injections, a rat model of mixed vaginitis was successfully established by inoculating mixed bacteria, thus providing an effective animal model for drug screening and evaluation of female reproductive system.

【Keywords】 vaginitis; SD rats; mixed bacteria (*Gardella vaginalis*, *Streptococcus albicans* and group B *Streptococcus*)

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

阴道炎是目前妇科门诊中常见疾病,是引导粘膜及粘膜下结缔组织发生的炎症,其主要包括细菌性阴道炎、霉菌性阴道炎、滴虫性阴道炎以及细菌和真菌混合性阴道炎。临床上阴道炎病例大多是由多种菌(包括细菌和真菌)混合感染所致,以阴道黏膜易充血、肿胀,有颗粒状脓疱和小出血点等为主要临床表现。根据病原学流行病学调查结果显示,亚洲妇女阴道炎发病率如下:阴道毛滴虫 2% ~ 5%,念珠菌属 3% ~ 14%,细菌性阴道病 0% ~ 16%,细菌和真菌混合感染 50% 以上,混合性阴道炎占比逐年上升^[1]。混合性阴道炎不仅会影响女性患者的生活质量,而且会导致女性不孕症,故此类动物模型建立对该病的治疗和发病机制研究具有重要意义。因此,本研究采用 SD 大鼠通过混合菌(加德纳菌 GV10-1 菌,白色念珠菌,B 族链球菌悬液)诱导建立混合性阴道炎模型,并对其临床表现和病理生理改变进行观察,为混合性阴道炎的药物开发和评价提供新模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级约 7 周龄雌性 SD 大鼠 30 只,体重 210 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司【SCXK(湘)2019-0004】;饲养于湖南省药物安全评价研究中心 ABSL-II 生物安全实验室 IVC 系统【SYXK(湘)2015-0016】。饲养期间各组大鼠自由饮水,饲喂 SPF 鼠料(Co^{60} 消毒)由北京科澳协力饲料有限

公司【SCXK(京)2019-0003】提供。饲养环境:昼夜各半循环照明,温度 20.9 ~ 25.9℃,湿度 42.5% ~ 64%。动物实验均按照湖南省药物安全评价研究中心动物伦理与福利委员会的指导方针和批准进行(审批号:IACUC-2019(3)051)。

1.1.2 受试物

复方甲硝唑阴道栓,组份为:甲硝唑 0.45 g、四环素 50 mg、制霉菌素 30 mg。规格:每粒 3 g,批号:09191001,失效日期:2021.09。主要适应症:用于治疗滴虫性阴道炎、霉菌性阴道炎、细菌性阴道炎和老年性阴道炎、非特异性阴道炎及支原体感染、淋病双球菌感染等病症。生产单位:河北金牛原大药业科技有限公司。

1.1.3 试剂与仪器

苯甲酸雌二醇注射液,批号:20180101,规格:2 mL:4 mg,10 支/盒,失效日期:2020.01.05,生产厂家:四川金科药业有限责任公司;注射用硫酸链霉素,批号:17053101,规格:1 g(100 万单位)/瓶,失效日期:2020.04,生产厂家:瑞阳制药有限公司。革兰氏染色液试剂盒,货号:HB8278,批号:20190511,生产单位:青岛海博生物技术有限公司。

DFC 420C 型病理成像系统(德国 Leica);DM2500 型荧光显微镜(德国 Leica);3111 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo);SPL-250 型生化培养箱(天津市莱伯特瑞);TP1020 型全自动脱水机(德国 Leica);EG1150H+C 型组织包埋机(德国 Leica);RM2235 型石蜡切片机(德国 Leica);CX31 型生物显微镜(日本奥林巴斯公司);CV5030+HV 型全自

动封染一体机(德国 Leica);BX43+MD50 型生物显微镜+数码成像系统(日本奥林巴斯公司)。

1.1.4 试验菌株

阴道加德纳氏菌(BNCC 337545)和白色念珠菌(17015177)由杭州先端生物科技有限公司提供,B 族链球菌(ATCC 12386)由北纳创联生物科技有限公司提供,均来源于阴道炎患者的白带样本。所有菌株均在本中心进行培养及传代,并扩增至 10^8 CFU/mL 以上。

1.2 方法^[2-8]

1.2.1 菌株的复苏、传代/纯化

阴道加德纳氏菌:取阴道加德纳氏菌甘油冻存液,于 37℃ 水浴中轻轻摇晃,加速解冻,用一次性无菌接种环划线接种于哥伦比亚血平板(成品,购于广东环凯微生物科技有限公司)上复苏, $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 厌氧培养 48 h,形成灰白色、半透明、光滑、针尖样大小的菌落。用一次性无菌接种环于一生长良好的阴道加德纳氏菌的哥伦比亚血平板上挑取单个菌落,采用划线法转接于另一无菌哥伦比亚血平板上, $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 48 h, $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 暂存,备用。

B 族链球菌:取 B 族链球菌甘油冻存液,于 37℃ 水浴中轻轻摇晃,加速解冻,用一次性无菌接种环划线接种于血平板(成品,购于广东环凯微生物科技有限公司)上复苏, $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 24 h 后,形成灰白色、表面光滑、圆形、 β 溶血的菌落,部分菌株无明显 β 溶血环。用一次性无菌接种环于一生长良好的 B 族链球菌的血平板上挑取单个菌落,采用划线法转接于另一无菌血平板上, $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 24 h, $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 暂存,备用。

白色念珠菌:取白色念珠菌甘油冻存液,于 37℃ 水浴中轻轻摇晃,加速解冻,用一次性无菌接种环划线接种于沙氏葡萄糖琼脂(成品,购于广东环凯微生物科技有限公司。121℃, 30 min 高温高压灭菌,待冷却至 50℃ 左右,注入 20 ~ 25 mL 于 90 mm 无菌培养皿中,待凝固后方可使用)平板上复苏, $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 培养 48 h 后,生成灰白乳酪样菌落。用一次性无菌接种环于一生长良好的白色念珠菌的沙氏葡萄糖琼脂平板上挑取单个菌落,采用划线法转接于另一无菌沙氏葡萄糖琼脂平板上, $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 培养 48 h, $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 暂存,备用。

1.2.2 形态观察及革兰氏染色观察

光学显微镜下观察阴道灌洗液菌株形态和数量等。用接种环挑取 1 环蒸馏水至洁净载玻片上,

挑取 1 个单菌落,与蒸馏水混合均匀;涂布经火焰固定,加结晶紫溶液和碘液,各染 1 min 水洗,脱色液,不时摇动载玻片约 10 ~ 30 s,至无紫色脱落为止水洗,再加复染色染 1 min 水洗。干后油镜观察菌株形态。

1.2.3 大鼠混合性阴道炎模型建立

30 只大鼠分别于给药前第 1 ~ 3 天每只皮下注射 0.5 mg 的苯甲酸雌二醇注射液(每日上午进行),其中 20 只模型大鼠阴道内注入链霉素每只每次 50 μg (上午进行),然后向阴道内注入混合菌(加德纳菌 GV10-1 菌,白色念珠菌,B 族链球菌悬液) $(1 \times 10^8 \text{ CFU/mL})$ 每只每次 50 μL (下午进行),每天 1 次,连续 3 d,复制混合性阴道炎模型,空白组大鼠阴道接种 50 μL 不含菌株的半固体培养基。模型组和空白组大鼠分别于分组前向大鼠阴道内注入 50 μL 无菌 PBS,移液枪轻轻吹打 5 次后吸出冲洗液(约 250 μL),取 50 μL 用于显微镜下观察是否存在阴道混合菌感染。选取感染成功 20 只大鼠按体重和菌株负荷量随机分为模型组和药物验证组(复方甲硝唑阴道栓每只 54 mg,每天 1 次,连续 5 d),每组 10 只动物。正常组和模型组大鼠经阴道给予等量的 0.9% 氯化钠注射液。

1.2.4 观察指标

(1)分别于分组前及给药第 5 天后用棉签蘸取 SD 大鼠外阴或阴道分泌物,涂于病理载玻片上,酒精固定,常规瑞氏染色和革兰氏染色镜检,并在显微镜($\times 200$ 倍)下观察菌体和线索细胞情况。治愈(转阴):显微镜下观察不到菌丝和(或)芽孢(或)线索细胞;未愈:显微镜下观察可见菌丝和(或)芽孢(或)线索细胞。计算转阴率(转阴率 = 治愈例数/动物总例数)(2)分别于分组前及给药第 5 天后取大鼠阴道分泌物进行清洁度检查。阴道清洁度评分标准:I 度:镜下以阴道杆菌为主,并可见大量上皮细胞,计为 1 分;II 度:有部分阴道杆菌,上皮细胞亦可见,也有部分脓细胞和杂菌,计为 2 分;III 度:只见少量阴道杆菌和上皮细胞,但有大量的脓细胞和其他杂菌,计为 3 分;IV 度:镜下无阴道杆菌,几乎全是脓细胞和大量杂菌,计为 4 分。(3)于末次给药后处死大鼠,取出、吸干表面液体后称量阴道重量,计算阴道指数(阴道指数 = 阴道重量/动物体重),同时测量阴道 pH。(4)收集分组前、治疗 5 d 的阴道灌洗液,按照梯度稀释后进行培养,计数 100 μL 灌洗液中的菌落数。(5)取阴

道组织置于 10% 中性福尔马林溶液中固定,石蜡包埋、切片、HE 染色进行组织病理学观察。根据充血、水肿、出血、浸润 4 项指标进行评分,具体评分标准:黏膜上皮光滑,无坏死脱落,黏膜下无充血、水肿、出血、炎细胞浸润,阴道内无炎性渗出物,计为 0 分;黏膜上皮无坏死脱落,黏膜下充血,阴道内无炎性渗出物,计为 1 分;黏膜上皮有灶性坏死脱落,黏膜下充血、水肿,无炎细胞浸润,计为 2 分;黏膜上皮有灶性坏死脱落,黏膜下充血、水肿、点状出血、少量炎细胞浸润,计为 3 分;黏膜上皮坏死脱落,黏膜下充血、水肿、点状出血、炎细胞浸润,阴道内有大量炎性渗出物,计为 4 分。记录炎症分值并统计。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 进行数据统计,计量资料采用平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。Leven's test 方法检验方差齐性,单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行统计分析, LSD test (参数法) 进行两两比较分析。计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 阴道分泌物涂片转阴率

如图 1 和图 2 所示,正常组 10/10 例动物阴道涂片未染色和染色镜检可见少量卵圆形白色念珠菌,但均未见菌丝和线索细胞,感染率为 0;模型组 9/10 例动物阴道涂片未染色和染色镜检可见大量菌丝和球状的线索细胞,感染率 90%;复方甲硝唑阴道栓组 9/10 例动物阴道涂片未染色和染色镜检未见菌丝和线索细胞,1/10 例动物阴道涂片未染色和染色镜检可见菌丝,但不未见线索细胞,治愈率 90%。

2.2 阴道灌洗液混合菌计数

如图 3 及图 4 所示,革兰氏染色镜检,阴道加德纳氏菌染色镜检,呈革兰阴性细小杆菌,常呈球杆状;B 族链球菌呈革兰阳性球菌,单个、成双或链状排列、长短不一;白色念珠菌表层卵圆形芽生细胞,革兰染色呈阳性。如表 1 所示,与正常组比较,给药第 5 天后模型组阴道灌洗液混合菌计数显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,给药第 5 天后复方甲硝唑阴道栓组阴道灌洗液混合菌计数显著降低 ($P < 0.01$)。

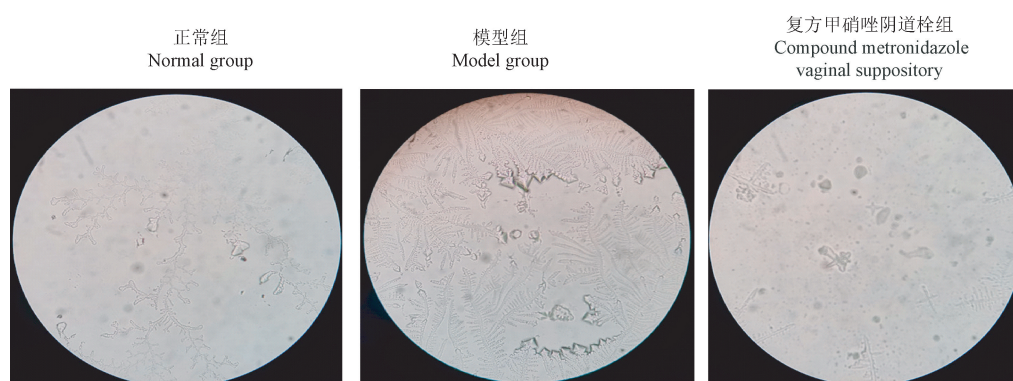


图 1 阴道涂片 ($\times 40$, 标尺 = 50 μm)

Figure 1 Vaginal smear ($\times 40$, Bar = 50 μm)

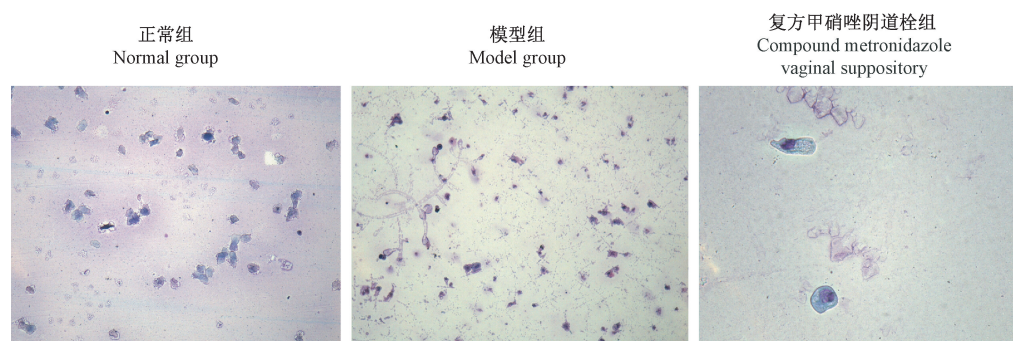


图 2 阴道涂片 (Wright's staining, $\times 10$, 标尺 = 100 μm)

Figure 2 Vaginal smear (Wright's staining, $\times 10$, Bar = 100 μm)

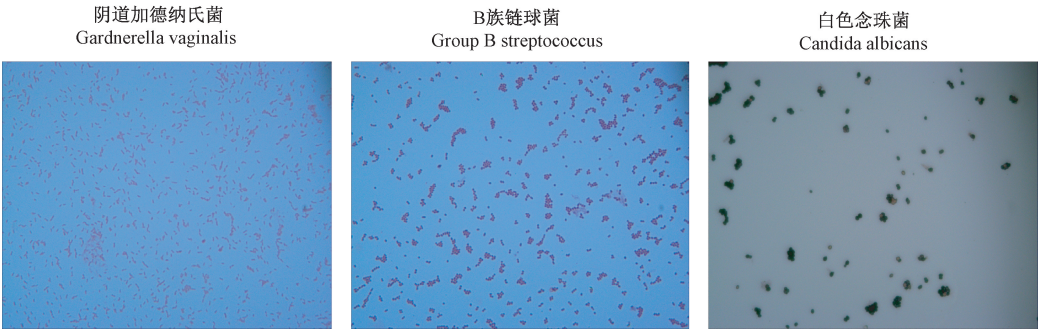
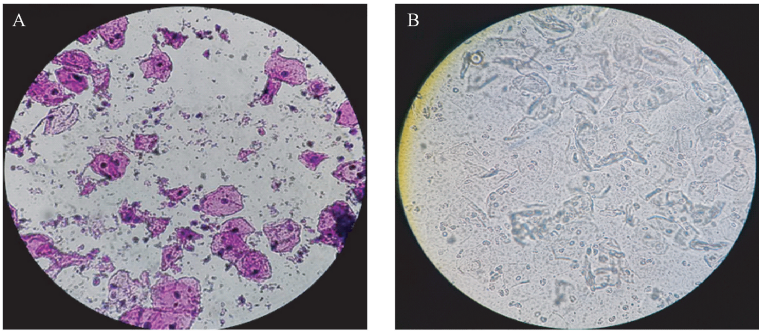


图 3 接种前菌株培养镜检(革兰氏染色, $\times 100$, 标尺 = $100\ \mu\text{m}$)

Figure 3 Microscopic examination of strain culture before inoculation (Gram's staining, $\times 100$, Bar = $100\ \mu\text{m}$)



注:A: 革兰氏染色(阴道加德纳氏菌;B 族链球菌);B: 阴道涂片(白色念珠菌)。

图 4 阴道灌洗液镜检($\times 40$, 标尺 = $50\ \mu\text{m}$)

Note. A, Gram staining (gardnerella vaginalis; group B streptococcus). B, Vaginal smear (candida albicans).

Figure 4 Transvaginal lavage($\times 40$, Bar = $50\ \mu\text{m}$)

表 1 混合性阴道炎对大鼠阴道灌洗液菌落数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of mixed vaginitis on colony count of vaginal lavage in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	剂量 Exposure	给药前 Before building	给药第 5 天 Day 5 intervention
正常组 Normal group	—	$1.24 \pm 0.12 (\times 10^2 \text{ CFU}/100\ \mu\text{L})$	$1.31 \pm 0.44 (\times 10^2 \text{ CFU}/100\ \mu\text{L})$
模型组 Model group	—	$1.44 \pm 0.23 (\times 10^3 \text{ CFU}/100\ \mu\text{L})$	$3.75 \pm 0.87 (\times 10^3 \text{ CFU}/100\ \mu\text{L})^{\Delta\Delta}$
复方甲硝唑阴道栓组 Compound metronidazole vaginal suppository	54 mg/只	$1.18 \pm 0.09 (\times 10^3 \text{ CFU}/100\ \mu\text{L})$	$0.90 \pm 0.34 (\times 10^3 \text{ CFU}/100\ \mu\text{L})^{**}$

注:与正常组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$;与模型组比较, $** P < 0.01$ 。

Note. Compared with normal group, $\Delta\Delta P < 0.01$. Compared with model group, $** P < 0.01$.

2.3 阴道清洁度检查

正常组动物阴道涂片有部分阴道杆菌,同时可见大量的上皮细胞,清洁度为 II 度,评分为 2.0 ± 0.0 ;模型组动物阴道涂片仅少见上皮细胞,无阴道杆菌,可见大量的杂菌,清洁度为 III ~ IV 度,评分为 3.7 ± 1.2 ;复方甲硝唑阴道栓组动物阴道涂片仅少量的阴道杆菌,可见部分的上皮细胞,清洁度为 II ~ III 度,评分为 2.3 ± 0.2 。提示模型组动物连续接种混合菌 3 d,致病菌经 5 d 在大鼠阴道体内不断繁殖,优势菌逐渐减少,清洁度明显增加 ($P <$

0.05);经阴道给予复方甲硝唑阴道栓治疗 5 d 后,清洁度较模型组明显降低 ($P < 0.05$)。

2.4 阴道 pH

给药前各组动物阴道分泌物经 0.1 级 pH 试纸检测,正常组、模型组及复方甲硝唑阴道栓组阴道分泌物 pH 值分别为 4.1 ± 0.9 、 4.0 ± 1.2 、 3.9 ± 1.4 ;给药第 5 天,正常组、模型组及复方甲硝唑阴道栓组阴道分泌物 pH 值分别为 4.2 ± 1.1 、 7.7 ± 2.1 、 4.5 ± 0.6 。提示模型组动物连续接种混合菌 3 d,致病菌经 5 d 在大鼠阴道体内不断繁殖,优势

菌逐渐减少, pH 值明显增加 ($P < 0.01$); 经阴道给予复方甲硝唑阴道栓治疗 5 d 后, 动物阴道 pH 值与给药前变化不大, 与同期模型组比较, pH 值明显降低 ($P < 0.01$)。

2.5 阴道组织指数

正常组、模型组及复方甲硝唑阴道栓组阴道体质量分别为 1.02 ± 0.23 、 0.98 ± 0.45 及 1.13 ± 0.17 , 模型组大鼠阴道指数与正常组比较, 差异不具有显著性; 混合性阴道炎大鼠经复方甲硝唑阴道栓治疗 5 d 后, 复方甲硝唑阴道栓组阴道指数与模型组比较, 差异不具有显著性。

2.6 阴道组织病理检查

2.6.1 一般镜下观察

如图 5 所示, 正常组: 阴道黏膜上皮细胞未见坏死, 固有层为致密结缔组织, 未见充血水肿及炎症细胞浸润。模型组: 阴道壁变厚, 上皮细胞坏死, 固有层出现充血和水肿, 以中性粒细胞为主, 淋巴细胞和单核细胞炎症细胞浸润, 纤维细胞增生明显。复方甲硝唑阴道栓组阴道分泌物减少, 镜下观察上皮连续性良好, 少见浅表糜烂, 炎症细胞浸润减少。

2.6.2 阴道组织病变评分

正常组阴道组织未见炎症细胞浸润或水肿及充血, 病变评分为 0.0 ± 0.0 ; 模型组阴道组织可见大量的炎症细胞浸润, 同时伴有炎性渗出物, 病变评分为 3.5 ± 0.4 ; 复方甲硝唑阴道栓组阴道组织可见充血, 但未见水肿和炎症细胞浸润, 病变评分为 1.0 ± 0.1 。结果显示模型组动物连续接种混合菌 3 d, 大鼠阴道组织病变程度加重 ($P < 0.01$); 经阴道给予复方甲硝唑阴道栓治疗 5 d 后, 动物阴道组织病变程度有所减轻 ($P < 0.01$)。提示复方甲硝唑阴道栓能显著改善混合性阴道炎大鼠阴道组织病变程度。

3 讨论

混合性阴道炎是指阴道受多种病菌 (如霉菌、细菌、滴虫等)、原虫感染而引起的炎症性病变, 也就是阴道菌群失调的局部表现。临床实践上多数是混合感染, 如真菌感染多继发于细菌感染或治疗之后。临床上妇科诊断主要通过阴道分泌物培养、清洁度、pH 以及胺臭味试验检查, 筛选出可能性疾病。阴道炎治疗原则主要是消除诱因, 根据患者情况选择局部或全身应用抗真菌药物, 应将抗真菌药与抗菌药联合应用。但这些药物在杀死致病菌的同时, 也杀死了起自洁作用的乳杆菌, 所以只能取得暂时缓解, 由于失去优势乳杆菌的保护, 新一轮感染很快出现, 导致迁延反复。由此可见, 阴道炎方面疾病对人类健康的危害依然严重, 其治疗任务依然艰巨, 因此建立符合临床阴道炎表现的模型对阴道炎的治疗都有着重要的意义。目前文献报道的模型有细菌性、真菌性、滴虫性和衣原体性阴道炎模型, 其中真菌性阴道炎模型研究较多, 而真菌和细菌混合感染模型报道甚少, 因此本研究主要通过大鼠经皮下注射给予苯甲酸雌二醇, 建立假动情期, 同时经阴道给予注射用硫酸链霉素处理, 能够破坏正常大鼠的阴道菌群, 再注入致病性混合菌 (加德纳菌 GV10-1 菌, 白色念珠菌, B 族链球菌悬液) 更容易定植到大鼠阴道内, 有利于混合菌的生长和繁殖, 从而复制混合性阴道炎模型。

研究显示, 混合性阴道炎模型组大鼠给药第 5 天混合感染率为 90%, 致病性菌落数显著增加, 阴道分泌物涂片转阴率显著减少, 清洁度评分显著增加, 同时阴道 pH 显著增加, 其异常症状与临床上阴道炎的临床表现相似。显微镜下观察到阴道壁变厚, 上皮细胞坏死, 固有层出现充血和水肿, 以中性粒细胞为主, 淋巴细胞和单核细胞炎症细胞浸润, 纤

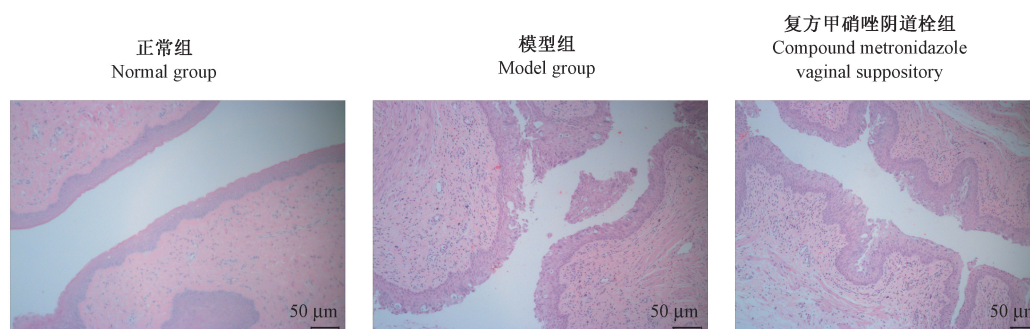


图 5 SD 大鼠阴道组织病理切片 ($\times 100$, HE 染色)

Figure 5 Vaginal histopathological sections of SD rats ($\times 100$, HE staining)

维细胞增生明显,其病理改变与临床基本一致。复方甲硝唑阴道栓含有甲硝唑、制霉菌素、四环素等多种成分,可以同时杀死细菌、霉菌和滴虫,用于治疗滴虫性阴道炎、细菌性阴道炎和霉菌性阴道炎等多种类型的阴道炎。甲硝唑的抗菌谱包括消化链球菌、韦荣球菌、梭形杆菌、真杆菌等,其中甲硝唑的硝基在特定条件下还原成一种细胞毒性物质,并参与细菌的基因代谢过程致细菌的死亡^[9-11]。制霉菌素栓剂是一种多烯型抗真菌药物,对念珠菌属的抗菌活性高,可与真菌细胞膜上甾醇结合,改变细胞膜通透性进而发挥抗菌功能^[12]。故本次研究选用复方甲硝唑阴道栓作为混合性阴道炎模型的阳性药进行验证,结果显示复方甲硝唑阴道栓能显著减轻阴道黏膜的炎症浸润,显著减少阴道分泌物和阴道灌洗液的致病菌群数目,同时降低阴道 pH 值和清洁度评分。

综上所述,对大鼠进行雌激素和注射用硫酸链霉素预处理后,接种混合菌可成功建立大鼠混合性阴道炎模型,为女性生殖系统的药物筛选与评价提供有效的动物模型。

参 考 文 献 (References)

- [1] 付东红. 生殖道感染患病率高达 57.1% [N]. 中国医药报, 2004/06/24.
Fu DH. The prevalence of genital tract infection was as high as 57.1% [N]. China Pharmaceutical News, 2004/06/24.
- [2] Schwebke JR, Gaydos CA, Nyirjesy P, et al. Diagnostic performance of a molecular test versus clinician assessment of vaginitis [J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(6): e00252-18.
- [3] 李会影, 李瑞丽, 刘建璇, 等. 参绒洁阴泡沫剂对霉菌性阴道炎模型兔阴道分泌物及阴道黏膜组织病理改变的影响 [J]. 河北中医, 2019, 41(10): 1536-1539.
Li HY, Li RL, Liu JX, et al. Effect of Shenrong Jieyin foam on vaginal secretion and pathological changes of vaginal mucosa in model rabbits with colpitis mycetica [J]. Hebei J Tradit Chin Med, 2019, 41(10): 1536-1539.
- [4] 黄瑜, 蒙春莲, 黄国爱, 等. 缩醛磷脂对混合细菌感染大鼠阴道炎的改善效果分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(18): 2731-2735.
Huang Y, Meng CL, Huang GA, et al. Effect of plasmalogen on improvement vaginitis in rats with mixed infection [J]. Chin J Nosocomiol, 2019, 29(18): 2731-2735.
- [5] 张冬梅, 李红娟, 周芹. 黄柏碱对细菌性阴道病小鼠模型的保护作用 [J]. 中草药, 2018, 49(24): 5849-5853.
Zhang DM, Li HJ, Zhou Q. Protective effect of phellodendrine on bacterial vaginosis mice [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2018, 49(24): 5849-5853.
- [6] Cai X, Kong F, Wang R, et al. Candida albicans vaginitis in a murine model is reduced by polypeptide-enriched Gastrodia elata extracts [J]. Future Microbiol, 2019, 14: 839-846.
- [7] Farage M, Maibach H. Lifetime changes in the vulva and vagina [J]. Arch Gynecol Obst, 2006, 273(4): 195-202.
- [8] Esposito E, Campolo M, Casili G, et al. Effect of pea protein plus grape seed dry extract on a murine model of Candida albicans induced vaginitis [J]. Future Microbiol, 2018, 13: 1375-1382.
- [9] 孟凡景. 阴道菌群移植及阴道益生菌组合对细菌性阴道炎的治疗及其机制研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
Meng FG. Therapy and mechanism of vaginal microbiota transplantation and combination of vaginal probiotics in the vaginal bacterial infections [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [10] 李军霞. 复方甲硝唑阴道栓治疗阴道炎的应用价值分析及评估 [J]. 中国继续医学教育, 2017, 9(20): 162-163.
Li JX. Analysis and evaluation of the application value of compound metronidazole vaginal suppository in the treatment of vaginitis [J]. Chin Cont Med Edu, 2017, 9(20): 162-163.
- [11] 王丽萍. 复方甲硝唑阴道栓治疗滴虫性阴道炎疗效观察 [J]. 临床研究, 2016, 22(2): 86-87.
Wang LP. Clinical observation of compound metronidazole vaginal suppository in the treatment of trichomonas vaginitis [J]. Psychological Doctor, 2016, 22(2): 86-87.
- [12] 雷洁, 陈小宁. 制霉菌素栓剂与凯妮汀阴道给药治疗复发性外阴阴道念珠菌病临床疗效和安全性评估 [J]. 药品评价, 2019, 16(9): 24-26, 32.
Lei J, Chen XN. Clinical efficacy and safety of nystatin suppository and canine vaginal administration in the treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis [J]. Drugs Clin, 2019, 16(9): 24-26, 32.

[收稿日期] 2020-01-31