

彭冬冬,陈相池,唐梓宁,等. 大鼠真菌性中耳炎模型建立 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 35-42.

Peng DD, Chen XC, Tang ZN, et al. Establishment of fungal otitis media model in rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(1): 35-42.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.01.005

大鼠真菌性中耳炎模型建立

彭冬冬^{1,2}, 陈相池^{1,2}, 唐梓宁^{1,2}, 肖洒^{1,2}, 彭西湘^{1,2}, 刘学武^{1,2*}

(1. 新药药效与安全性评价湖南省重点实验室,长沙 410331;2. 湖南普瑞玛药物研究中心有限公司,长沙 410331)

【摘要】 目的 建立白色念珠菌诱导的大鼠真菌性中耳炎模型,为药效评价提供动物模型支持。**方法** SD 大鼠 50 只,雌雄各半,随机分为正常对照组、空白注射组、潮湿组、免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组,每组 10 只。实验开始 1 ~ 3 d,潮湿组每日对大鼠右侧耳部滴入 2 次 0.9%氯化钠注射液,免疫抑制组每日经口灌胃给予 0.81 mg/kg 醋酸地塞米松药液,潮湿+免疫抑制组每日对大鼠右侧耳部滴入两次 0.9%氯化钠注射液的同时每日经口灌胃给予 0.81 mg/kg 醋酸地塞米松药液。第 4 天,各组麻醉后,潮湿组、免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组将 1×10^{10} CFU/mL 白色念珠菌悬液经鼓膜穿刺注入到大鼠右侧中耳腔,每只 50 μ L,空白注射组大鼠注入等体积空白培养液,正常对照组不做任何处理;每日对潮湿组、潮湿+免疫抑制组大鼠右侧耳部滴入 2 次 0.9%氯化钠注射液。造模期间,观察各组大鼠一般症状;造模第 5、10、15 天采集耳道分泌物进行白色念珠菌培养和革兰氏染色计数,造模第 15 天 ELISA 检测耳道灌洗液中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β),HE 染色观察中耳组织病理学改变。**结果** 与空白注射组相比,潮湿组、免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组大鼠均出现不同程度中耳炎症状,IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),中耳出现不同程度的黏膜充血、水肿及炎性细胞浸润现象,且免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组大鼠耳道分泌物中白色念珠菌数量均显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 本实验使用鼓膜穿刺方式注射白色念珠菌建立真菌性中耳炎大鼠模型成功,在潮湿+免疫抑制条件效果更佳,可用来进行药效学作用的评价。

【关键词】 真菌性中耳炎;大鼠;白色念珠菌;炎症因子

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 01-0035-08

Establishment of fungal otitis media model in rats

PENG Dongdong^{1,2}, CHEN Xiangchi^{1,2}, TANG Zining^{1,2}, XIAO Sa^{1,2}, PENG Xixiang^{1,2}, LIU Xuewu^{1,2*}

(1. Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs, Changsha 410331, China.
2. Hunan Prima Pharmaceutical Research Center Co. Ltd, Changsha 410331)
Corresponding author: LIU Xuewu. E-mail: liuxuewu@hnse.org

【Abstract】 Objective To establish a model of fungal otitis media induced by *Candida albicans* and provide a useful animal model for drug efficacy evaluation. **Methods** Fifty healthy adult SD rats (50% male and 50% female) were randomly divided into a normal control group, blank injection group, moist group, immunosuppressive group, and moist immunosuppressive group, with 10 rats in each group. During the first 1 ~ 3 days of the experiment, a 0.9% sodium chloride injection was administered twice daily to the right ears of the rats in the moist group, 0.81 mg/kg dexamethasone acetate was given daily by oral gavage to the immunosuppressive group, and 0.81 mg/kg dexamethasone acetate along with 0.9% sodium chloride injection by oral gavage was given twice daily into the right ear of the rats in the moist immunosuppressive group. On day 4, after the animals in each group were anesthetized with diethyl ether, the moist, immunosuppressive, and moist immunosuppressive groups were injected with 1×10^{10} CFU/mL *C. albicans* solution (50

[基金项目] 湖南省高新技术产业科技创新引领计划(2020GK4083)。
Funded by Science and Technology Innovation Leading Plan of High-Tech Industry of Hunan Province(2020GK4083)。
[作者简介] 彭冬冬(1990—),男,在读硕士研究生,研究方向:新药药效与安全性评价。Email: pengdongdong@hnse.org
[通信作者] 刘学武(1988—),男,在读博士研究生,研究方向:药理学。Email: liuxuewu@hnse.org

μL to each rat), the blank group was injected with an equal volume of saline, the blank injection group was injected with an equal volume of blank culture solution, and the normal control group was given no treatment. Subsequently, a 0.9% sodium chloride injection was administered twice daily to the right ears of rats in the moist and moist immunosuppressive groups. During the model-creation period, the general state of the rats in each group was observed. On the 5th, 10th, and 15th days of modeling, ear canal secretions were collected for *C. albicans* culture and Gram stain counting. On the 15th day of modeling, ELISA was used to detect interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin- β (IL- β) in ear canal irrigation samples. HE staining was performed to observe pathological changes to the lung and middle ear tissues, and bacterial culture counts were performed. **Results** Compared with the blank injection group, the moist, immunosuppressive, and moist immunosuppressive groups all showed different degrees of otitis media symptoms, and the levels of IL-6, TNF- α , and IL-1 β were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), with different degrees of mucosal congestion, edema, and inflammatory cell infiltration in the middle ear. The number of *C. albicans* in the ear canal secretions of rats was significantly increased in both the immunosuppressive and moist immunosuppressive groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusions** In this experiment, *C. albicans* was injected into the middle ear of rats through a tympanic membrane puncture to establish a model of fungal otitis media. The most effective model creation was under moist immunosuppressive conditions, and this model can be used to evaluate the effects of drugs.

【Keywords】 fungal otitis media; rats; *Candida albicans*; inflammatory factors

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

中耳炎是发生在中耳组织结构中的炎性病变,分为分泌性中耳炎、化脓性中耳炎、中耳胆脂瘤和特殊类型中耳炎 4 大类,该病不仅可导致注意力、认知感和听力下降,还可引起颅内并发症进而危及生命^[1-3]。近年来,随着临床上糖皮质激素和广谱抗菌药物的普遍使用,条件致病菌感染率不断增加,真菌检出率逐渐升高,真菌性中耳炎逐渐走入大众视野^[4]。真菌性中耳炎是以真菌为致病菌的中耳炎性疾病,《中耳炎临床分类和手术分型指南(2012)》首次出现这一分类,并将其归属至特殊类型中耳炎^[3]。但国内外学者对真菌相关的耳部疾病研究主要集中在外耳道真菌病方面,而真菌性中耳炎模型的建立与评价鲜有报道,这对该病的鉴别诊断和药物应用有一定阻碍^[5-6]。在临床检验中, Pajor 等^[7]和伍众文等^[8]均在部分中耳炎患者耳分泌物样本中分离到白色念珠菌。白色念珠菌不仅是常见的机会性真菌病原体,也是真菌性中耳炎的常见菌株之一^[9-10]。本研究拟采用鼓膜穿刺法将白色念珠菌注入大鼠中耳腔,建立真菌性中耳炎模型,旨在真菌性中耳炎模型的建立提供依据,为该病药物的药效作用评价提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

50 只 8 周龄 SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体重 180 ~ 220 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公

司【SCXK(湘)2019-0004】。饲养于湖南普瑞玛药物研究中心有限公司 SPF 级动物房 ABSL-Ⅱ 实验室【SYXK(湘)2020-0015】,环境室温为 24 ~ 26℃,相对湿度 40% ~ 60%,12 h 昼夜循环饲养,喂食普通饲料,自由进食、饮水。实验操作均符合湖南普瑞玛药物研究中心有限公司动物伦理审查委员会批准(IACUC-2021(3)062)。

1.1.2 实验菌株

白色念珠菌(*Candida albicans*,临床分离株),编号:17015177,由中南大学湘雅二医院赠予,在湖南普瑞玛药物研究中心有限公司 BSL-Ⅱ 实验室培养和扩增(实验室备案编号:长卫计实备字(2021)第 B010 号)。

1.1.3 主要试剂与仪器

醋酸地塞米松片,批号:2009202,规格:每片 0.75 mg,100 片/瓶,有效期至:2023 年 8 月,生产单位:安徽金太阳生化药业有限公司。0.9%氯化钠注射液,批号:21071401C,规格:每袋 100 mL,有效期至:2023 年 6 月,生产单位:湖南康源制药有限公司。沙氏葡萄糖琼脂培养基(SDA),批号:20200101,规格:每瓶 250 g,有效期至:2023 年 6 月,生产单位:青岛海博生物技术有限公司。革兰氏染色液,批号:G1060,规格:每盒 4 × 100 mL,有效期至:2022 年 7 月,生产单位:Solarbio。

BC-5000Vet 型兽用五分类血液细胞分析仪(深圳迈瑞公司)、Spectra Max i3x 型多功能酶标仪(上海美谷分子)、BCR-MI02-72-C11-PPSU 型大鼠独立

通气笼盒系统(山东新华医疗器械股份有限公司)、BSC1300-II-B2 型生物安全柜(山东新华医疗器械股份有限公司)、DMIL 倒置显微镜(德国 Leica 公司)、DFC 420C 病理成像系统(德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与造模

按性别及体重将大鼠随机分为正常对照组、空白注射组、潮湿组、免疫抑制组、潮湿+免疫抑制组,每组 10 只,雌雄各半。正常对照组及空白注射组不做任何处理,潮湿组动物仅对大鼠右侧耳部滴入适量的 0.9%氯化钠注射液,2 次/日,保持耳部潮湿;免疫抑制组大鼠上午经口灌胃给予 0.81 mg/kg 醋酸地塞米松药液;潮湿+免疫抑制组对大鼠右侧耳部滴入适量的 0.9%氯化钠注射液,2 次/日,保持耳部潮湿,并在上午经口灌胃给予 0.81 mg/kg 醋酸地塞米松药液。以上操作连续 3 d,即前处理完毕。前处理完成后次日潮湿组、免疫抑制组、潮湿+免疫抑制组大鼠经异氟烷吸入麻醉(1% ~ 4%诱导麻醉,0.25% ~ 2%维持麻醉)后,通过耳镜将 1×10^{10} CFU/mL 白色念珠菌悬液经鼓膜穿刺注入到大鼠右侧中耳腔,每只 50 μ L,空白注射组大鼠按相同的方法注入等量的空白培养液。潮湿组、潮湿+免疫抑制组大鼠右侧耳部滴入适量的 0.9%氯化钠注射液,2 次/日,保持耳部潮湿,连续 14 d。

1.2.2 观察指标

(1)一般体征观察:每天观察大鼠外耳及一般行为活动,并通过耳镜观察大鼠中耳的症状。

(2)白色念珠菌培养及革兰氏染色计数:分别于注入后的第 5、10、15 天进行采样,具体如下:麻醉大鼠后,将无菌耳拭子蘸有少量的 0.9%氯化钠注射液,通过耳镜用耳拭子取耳道病灶部位分泌物,置于无菌拭子管内,进行白色念珠菌培养和革兰氏染色。白色念珠菌培养方法:将样本均匀涂布在沙氏葡萄糖琼脂培养板上,于恒温培养箱中倒置培养 24 h,观察菌落的形态。革兰氏染色法:取样品涂布于载玻片上,通过火焰固定,加上结晶紫染色 1 min,并加上碘液后染色 1 min,加上脱色液,摇动玻片,加上番红染色 1 min,吸干或晾干后,通过油镜镜检。

(3)耳道灌洗液 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平检测:末次观察后对各组大鼠安乐死后,中耳腔以每次 100 μ L PBS 进行 3 次灌洗,收集耳道灌洗液,根据大鼠 ELISA 试剂盒说明书操作,采用酶联免疫法检测耳道灌洗液中 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平。

(4)组织病理学检查:取右侧耳部组织,置于 10%中性福尔马林溶液中固定,石蜡包埋切片,HE 染色,镜下观察中耳黏膜及骨壁组织病理学变化,根据中耳黏膜及炎性细胞浸润病变程度分为无异常(NSL)、轻度(+)、中度(++)及重度(+++)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多个样本间的比较采用单因素方差分析,根据方差齐性检验,方差齐及不齐时分别使用 LSD 法和 Tamhane's T2 分析。等级资料以频数计,采用等级资料秩和检验进行统计。 $P < 0.05$ 说明差异具有显著性, $P < 0.01$ 说明差异极具显著性。

2 结果

2.1 一般体征观察

白色念珠菌注射前,免疫抑制组及潮湿+免疫抑制组大鼠经醋酸地塞米松注射 3 d 后,大鼠均出现竖毛,自主活动减少,潮湿组、正常对照组、空白注射组大鼠均无明显异常;潮湿组、免疫抑制组及潮湿+免疫抑制组大鼠经中耳腔注入白色念珠菌后,潮湿组大鼠于注入后第 3 天外耳均出现瘙痒、红肿,第 5 天大鼠耳部有浅黄色分泌物流出,第 10 天耳部无明显异常,免疫抑制组及潮湿+免疫抑制组大鼠于注入后第 3 天耳部均出现瘙痒、红肿,第 5 天耳部有大量浅黄色分泌物流出,第 10 ~ 15 天可见分泌物堵塞整个耳道,并伴有竖毛和自主活动减少。

2.2 中耳白色念珠菌定植

2.2.1 一般培养法

取大鼠耳道分泌物进行菌种培养并确认菌种定植,白色念珠菌注入后的第 5、10、15 天,正常对照组和空白注射组大鼠耳道分泌物培养鉴定均无明显菌落生长;潮湿组、免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组的大鼠耳道分泌物经培养鉴定均为白色念珠菌且没有发现其他菌落,培养的白色念珠菌呈乳白色,表面光滑有浓酵母气味,形成菌落(见图 1)。

2.2.2 革兰氏染色法

大鼠耳道分泌物经过革兰氏染色后,可见成群革兰氏染色阳性的卵圆形孢子和假菌丝(图 2)。造模后的第 5、10 和 15 天中,潮湿+免疫抑制组大鼠耳道分泌物染色均出现白色念珠菌,且随着时间的延长而增加;而免疫抑制组和潮湿组大鼠的耳道分泌物中均发现白色念珠菌,随着时间延长,白色念珠

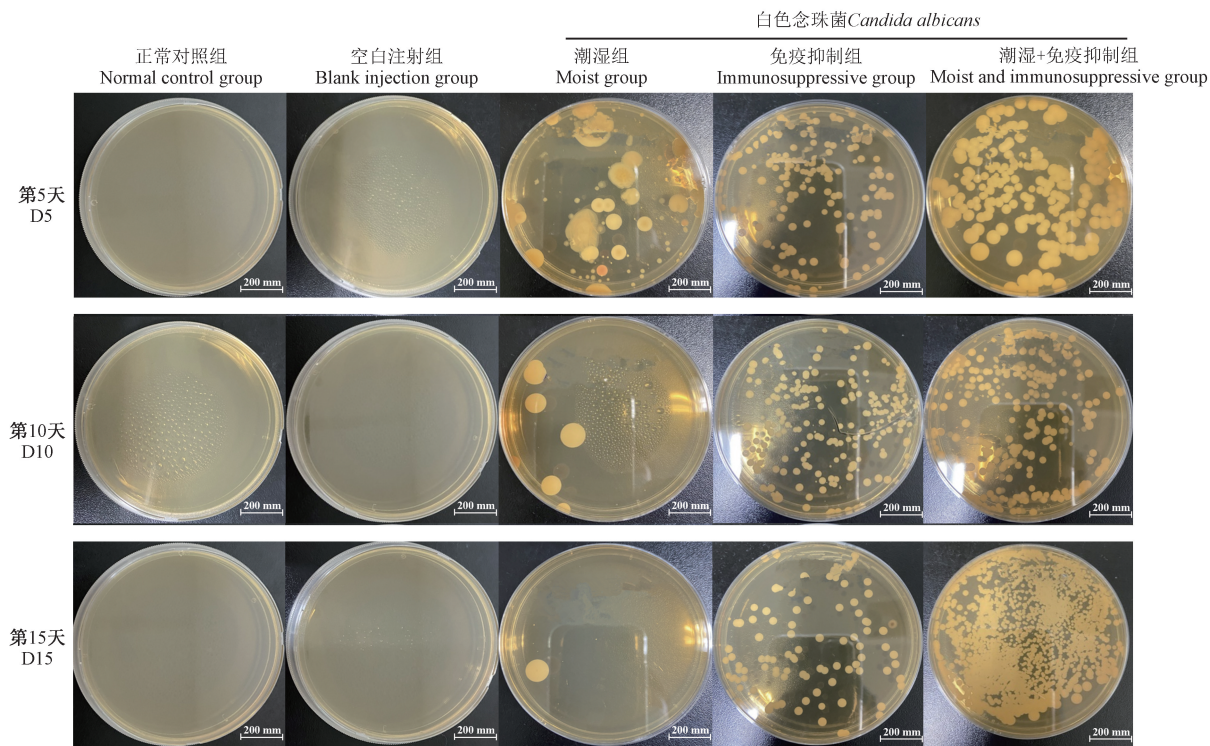


图 1 大鼠耳道分泌物培养

Figure 1 Culture of secretion from rat ear canal

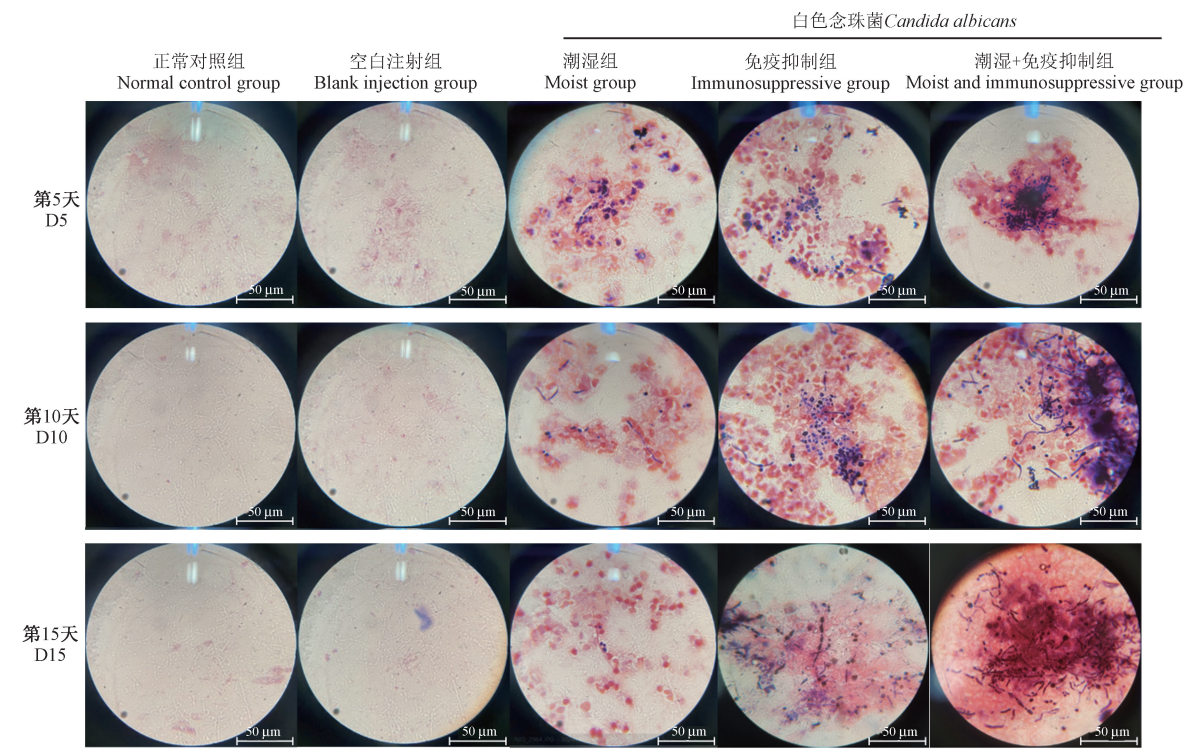
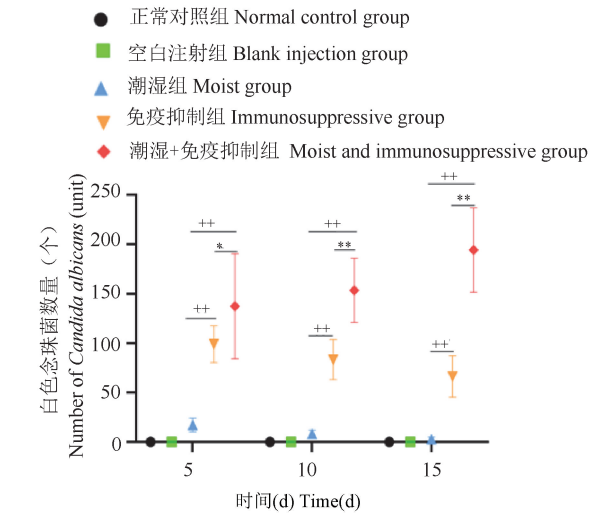


图 2 大鼠耳道分泌物(革兰氏染色, ×100)

Figure 2 Gram stain of rat ear canal secretion (Gram staining, ×100)

菌数量逐渐减少。与潮湿组比,免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组大鼠耳道分泌物白色念珠菌数量显著增加($P < 0.01$);与潮湿组和免疫抑制组比,潮湿+免疫抑制组大鼠耳道分泌物白色念珠菌数量均显著增加($P < 0.05, P < 0.01$)(图 3)。



注:与潮湿组比较,++ $P < 0.01$;与免疫抑制组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图 3 耳道分泌物白色念珠菌数量($n = 10$)

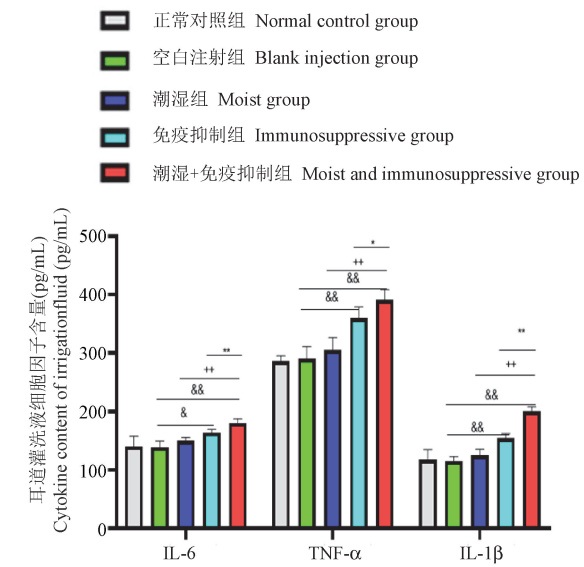
Note. Compared with the moist group,++ $P < 0.01$. Compared with immunosuppression group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.

Figure 3 Number of *Candida albicans* in ear canal secretion($n = 10$)

2.3 耳道灌洗液 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平变化

如图 4 所示,与正常对照组比,空白注射组大鼠耳道灌洗液 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均无明显差异;与空白注射组比,免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组大鼠耳道灌洗液中 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平均明显升高($P < 0.05, P < 0.01$);与潮湿组和免疫抑制组比,潮湿+免疫抑制组大鼠耳道灌洗液中 IL-6、TNF-

α 、IL-1 β 水平均明显升高($P < 0.05, P < 0.01$)。



注:与空白注射组比较,& $P < 0.05$,&& $P < 0.01$;与潮湿组比较,++ $P < 0.01$;与免疫抑制组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。(下表同)

图 4 大鼠耳道灌洗液 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平变化($n = 10$)

Note. Compared with the blank injection group,* $P < 0.05$,&& $P < 0.01$. Compared with the moist group,++ $P < 0.01$. Compared with immunosuppressive group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$. (The same in the following table)

Figure 4 Changes of IL-6, TNF- α and IL-1 β levels in rat ear canal lavage fluid($n = 10$)

2.4 中耳病理变化

2.4.1 HE 染色

大鼠中耳 HE 染色结果如图 5 所示,正常对照组和空白注射组大鼠在潮湿组大鼠中耳黏膜有充血、出血、水肿、少量炎性细胞浸润现象;在免疫抑制组大鼠中耳出现黏膜充血、水肿、大量炎性细胞浸润;在潮湿+免疫抑制组大鼠中耳黏膜充血、水肿、大量炎性细胞浸润。

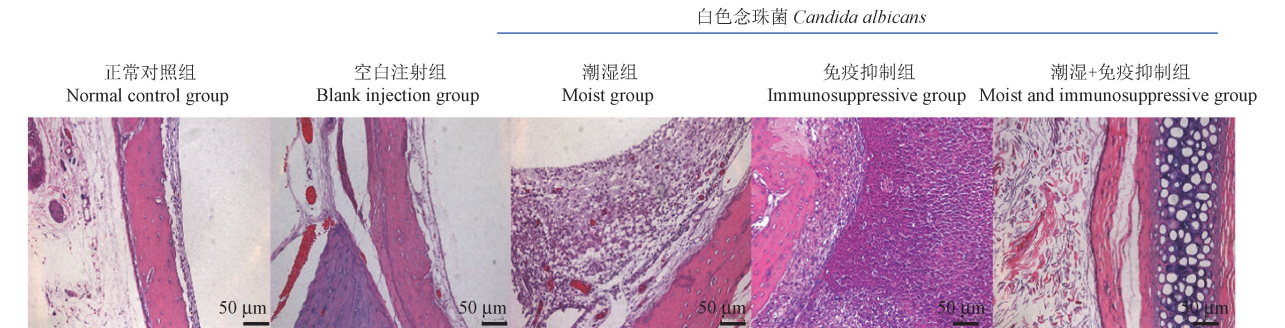


图 5 大鼠中耳组织病理切片($\times 100$, HE 染色)

Figure 5 Histopathological section of rat middle ear($\times 100$, HE staining)

2.4.2 对中耳组织病变程度的影响

正常对照组和空白注射组动物中耳组织无明显异常,潮湿组、免疫抑制组及潮湿+免疫抑制组动

物中耳组织病变程度明显加重($P < 0.01$);与潮湿组和免疫抑制组比,潮湿+免疫抑制组动物中耳组织病变程度均明显加重($P < 0.05, P < 0.01$)(表 1)。

表 1 白色念珠菌对大鼠中耳病变程度的影响($n = 10$)

组别 Groups	中耳组织病变等级 Grade of middle ear tissue lesion				P 值 P value
	NSL	+	++	+++	
正常对照组 Normal control group	10	0	0	0	--
空白注射组 Blank injection group	10	0	0	0	--
潮湿组 Moist group	1	3	4	2	0.024 ^{&}
免疫抑制组 Immunosuppressive group	1	2	3	4	0.004 ^{&&}
潮湿+免疫抑制组 Moist and immunosuppressive group	0	0	2	8	0.000 ^{&&+++*}

3 讨论

真菌性中耳炎与慢性化脓性中耳炎的临床症状极其相似,常被误诊为普通细菌性中耳炎,对其进行抗生素治疗,而广谱抗生素会抑制细菌簇,使真菌迅速繁殖,加重病情,为临床诊治带来困难,故此类动物模型的建立对真菌性中耳炎的鉴别诊断及抗真菌性中耳炎药物的评价均具有重要意义^[6,11]。因此本研究选用临床上较为常见的真菌白色念珠菌作为致病菌对大鼠进行鼓膜穿刺,建立真菌性中耳炎模型,通过观察各组大鼠体征、中耳真菌定植情况、耳道灌洗液炎症因子水平及中耳病理变化等指标,对不同处理组大鼠造模情况进行评价,筛选稳定、效果良好的真菌性中耳炎模型建立方式供研究者参考。

真菌性中耳炎的常见症状包括外耳道湿疹、耳痒、耳痛,患耳反复流白色、黄色或黑褐色脓性分泌物^[12]。本实验结果显示,每只模型组大鼠鼓膜穿刺 50 μ L 白色念珠菌悬液(1×10^{10} CFU/mL)后,潮湿组、免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组大鼠在第 3 天均出现外耳瘙痒、红肿等症状,且均于第 5 天有浅黄色分泌物流出;潮湿组大鼠耳部在第 10 天恢复正常,免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组在第 10 ~ 15 天可见分泌物堵塞整个耳道,并伴有竖毛和自主活动减少症状;结合中耳真菌定植情况可清晰发现潮湿+免疫抑制组大鼠耳道分泌物中白色念珠菌数量最

多。各模型组大鼠症状与前人对真菌性中耳炎症状描述相似,但潮湿处理组模型大鼠出现自愈趋势,提示免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组在模型建立方面效果更佳。

真菌性中耳炎分泌物中含有多种炎症因子,炎症因子与肉芽组织的生成密切相关,增生的肉芽组织常阻塞中耳,加重中耳积液,进而导致炎症分泌物吸收机化,使疾病恶性循环^[5]。在对中耳炎动物模型的研究中发现,TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 均是已知的与炎症相关的重要局部介质^[13]。Yellon 等^[14]研究发现,在中耳炎发病期间细胞因子在炎症中具有调节作用,且耳道分泌物中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的含量呈升高趋势,与中耳炎病情密切相关,其中 IL-6 和 IL-1 β 主要在中耳炎急性期发挥作用,而 TNF- α 主要在中耳炎慢性期发挥作用。本研究结果显示,造模第 15 天免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组大鼠耳道灌洗液中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的含量均明显上升,其中潮湿+免疫抑制组大鼠耳道灌洗液的炎症因子含量上升更为明显,说明免疫抑制组和潮湿+免疫抑制组大鼠中耳出现炎症反应,且组织病理学观察显示 3 个模型组中耳均出现不同程度的黏膜充血、水肿及炎症细胞浸润现象,其中白色念珠菌在潮湿环境下对免疫抑制大鼠诱导真菌性中耳炎最为严重。综合实验结果可清晰发现白色念珠菌在潮湿+免疫抑制条件下的模型建立方面效果更佳,提示两方面因素:一方面是由于白色念珠菌属

于机会性和致病性真菌,在机体免疫功能低下时引起浅表感染和侵袭性感染的频率更高;另一方面是由于白色念珠菌在干燥环境的存活率很差,而在潮湿环境中存活时间更长^[15-16]。

近年来众多学者围绕中耳炎开展了许多相关动物实验研究,有多种方式复制中耳炎模型,但少有真菌性中耳炎的构建方法,在细菌诱导中耳炎时,邹艺辉等^[17]在大鼠听泡内注射致病菌成功复制化脓性中耳炎模型;李聪等^[18]经鼓膜注入致病菌建立大鼠化脓性中耳炎模型。文献报道在临床上真菌性中耳炎主要通过咽鼓管和外耳道鼓膜两个途径感染机体,因此本研究通过借鉴细菌诱导中耳炎的方式,采用鼓膜注入白色念珠菌的方式成功构建真菌性中耳炎模型;但与前人方式所不同的是本研究所采用的感染方法强调湿润环境和免疫抑制,尽可能真实的模拟真菌性中耳炎在临床中的感染过程,并清晰地展现了不同环境下真菌性中耳炎病程的长短和疾病发生的过程。在后续研究过程中,我们将探索白色念珠菌的接种剂量和菌株浓度与真菌性中耳炎之间的关系,使真菌性中耳炎模型既能接近临床,又能保证其相对稳定和可靠,为药物研发、疾病预防和临床指导用药等方面提供更多参考依据。

4 结论

综上所述,通过对各模型组大鼠的体征、中耳真菌定植情况、耳道灌洗液炎症因子水平及中耳病理变化等指标变化结果,认为在免疫抑制和潮湿+免疫抑制条件下使用鼓膜穿刺方式注射白色念珠菌均可成功建立真菌性中耳炎大鼠模型,且潮湿+免疫抑制条件效果更佳。

参 考 文 献(References)

- [1] Wald ER, DeMuri GP. Antibiotic recommendations for acute otitis media and acute bacterial sinusitis: conundrum no more [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2018, 37(12): 1255-1257.
- [2] 肖聪聪,李博,郑体花,等. 中耳炎小鼠模型的听力学特点 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(22): 5581-5585.
Xiao CC, Li B, Zheng TH, et al. Audiological characteristics of otitis media model mouse [J]. *Chin J Gerontol*, 2019, 39(22): 5581-5585.
- [3] 孙建军,刘阳. 中耳炎临床分类和手术分型指南(2012)解读 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2013, 48(1): 5.
Sun JJ, Liu Y. Interpretation of guidelines for clinical classification and surgical classification of otitis media (2012) [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 48(1): 5.
- [4] 周详,谢鼎俊,姜顺民,等. 聚维酮碘治疗化脓性中耳炎真菌感染及对听力影响研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(14): 2194-2197, 2211.
Zhou X, Xie DJ, Jiang SM, et al. Effect of povidone iodine on treatment of suppurative otitis media patients with fungal infection and its influence on hearing [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2019, 29(14): 2194-2197, 2211.
- [5] 汪琳,张丹,张庆玲,等. 真菌性中耳炎患者血清炎症因子及中耳肉芽组织标本 TLR2、TLR4 蛋白表达与 mRNA 水平 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(2): 247-251.
Wang L, Zhang D, Zhang QL, et al. Serum inflammatory factors and expression levels of TLR2, TLR4 proteins and mRNA in middle ear granulation tissue specimens of patients with fungal otitis media [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2022, 32(2): 247-251.
- [6] 刘明贺. 真菌性中耳炎及相关变应原研究 [D]. 荆州: 长江大学; 2017.
Liu MH. Fungal otitis media and related allergens research [D]. Jingzhou: Yangtze University; 2017.
- [7] Pajor A, Durko M, Jankowski A, et al. Bacteriological evaluation in chronic otitis media [J]. *Otolaryngol Pol*, 2006, 60(5): 757-763.
- [8] 伍众文,陈玉婵,黄建宇,等. 广东省慢性化脓性中耳炎患者耳分泌物的病原体分布及药物敏感性分析 [J]. *检验医学与临床*, 2021, 18(5): 620-624.
Wu ZW, Chen YC, Huang JY, et al. Pathogen distribution and drug sensitivity analysis of ear secretions in patients with chronic suppurative otitis media in Guangdong province [J]. *Lab Med Clin*, 2021, 18(5): 620-624.
- [9] 郭东东,岳慧珍,魏羽佳,等. 白念珠菌生物被膜形成的遗传调控机制 [J]. *生物工程学报*, 2017, 33(9): 1567-1581.
Guo DD, Yue HZ, Wei YJ, et al. Genetic regulatory mechanisms of *Candida albicans* biofilm formation [J]. *Chin J Biotechnol*, 2017, 33(9): 1567-1581.
- [10] 吴学文,王凤君,高可雷,等. 我国慢性化脓性中耳炎患者的病原学及其动态变化分析 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2016, 22(3): 193-197, 202.
Wu XW, Wang FJ, Gao KL, et al. Analysis on etiology and dynamic change of chronic suppurative otitis media in China [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2016, 22(3): 193-197, 202.
- [11] 曾勇超. 真菌性中耳炎的发病危险因素分析与护理干预对策 [J]. *护理实践与研究*, 2019, 16(5): 97-98.
Zeng YC. Analysis of risk factors of fungal otitis media and nursing intervention countermeasures [J]. *Nurs Pract Res*, 2019, 16(5): 97-98.
- [12] 刘新,谷京城,张玉梅,等. 真菌性中耳炎的临床分析 [J]. *医学信息*, 2011, 24(6): 3708.

Liu X, Gu JC, Zhang YM, et al. Clinical analysis of fungal otitis media [J]. Med Inf, 2011, 24(6): 3708.

[13] Cetinkaya EA, Ciftci O, Alan S, et al. The efficacy of hesperidin for treatment of acute otitis media [J]. Auris Nasus Larynx, 2019, 46(2): 172-177.

[14] Yellon RF, Doyle WJ, Whiteside TL, et al. Cytokines, immunoglobulins, and bacterial pathogens in middle ear effusions [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1995, 121(8): 865-869.

[15] Xu QR, Yan L, Lv QZ, et al. Molecular genetic techniques for gene manipulation in *Candida albicans* [J]. Virulence, 2014, 5(4): 507-520.

[16] Blaschke-Hellmessen R. Habitats for *Candida* in medical and hygienic respects [J]. Mycoses, 1999, 42: 22-29.

[17] 邹艺辉, 黄德亮, 孙建和, 等. 听泡内注射法建立大鼠化脓性中耳炎模型 [J]. 中华耳科学杂志, 2004, 2(1): 64-66.

Zou YH, Huang DL, Sun JH, et al. Injecting pneumococci into rats' tympanic bullae for establishing a model of suppurative otitis media [J]. Chin J Otol, 2004, 2(1): 64-66.

[18] 李聪, 程雪峰, 顾健, 等. 左氧氟沙星热敏性凝胶制备及局部治疗大鼠化脓性中耳炎的研究 [J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2013, 13(6): 372-375.

Li C, Cheng XF, Gu J, et al. Preparation of levofloxacin thermosensitive gel and local treatment of suppurative otitis media in rats [J]. Chin J Ophthalmol Otorhinolaryngol, 2013, 13(6): 372-375.

[收稿日期] 2022-08-29

《中国比较医学杂志》2023 年征订启事

《中国比较医学杂志》由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与人类生命与健康密切相关的实验动物与动物实验等生命科学各分支学科,重点刊载比较医学成果和进展。要求来稿数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。开设栏目:研究报告、综述与专论、研究快报、研究简讯、技术与方法、经验交流、学术动态、国外研究进展、学术信息、简讯等。读者对象:农牧渔业、医学、药学、环保、生物、体育、国防等单位的科技工作者、教育工作者、管理人员以及有关的生产者、大专院校学生等。

刊期及订价:月刊,大 16 开本,140 页。月末出版。每期 50 元,全年 12 期,共计 600 元。邮发代号:82-917。

汇款方式:银行转帐:中国农业银行股份有限公司北京潘家园支行

帐号:11220201040003764

单位抬头全称:中国实验动物学会

请注明订刊数量,并写明刊物寄往地址及收件人。收到汇款后,我们会及时将发票寄给您。