

Beagle 犬细菌性下尿路炎动物模型的建立

何玮 李路 余斌 兰儒竹 王少刚 李家贵 刘继红 叶章群

【摘要】 目的 建立一种简单、稳定、符合临床模式的细菌性下尿路炎 Beagle 犬动物模型。方法 选用 24 个月成年 Beagle 犬 6 条,随机分为模型组(3 条)和对照组(3 条),每次模型组采用标准致病菌大肠杆菌(ATCC25922)2.5 ml,对照组采用相同体积的灭菌生理盐水膀胱灌注。模型成功后进行细菌培养鉴定、药敏实验和病理学观察。结果 与对照组比较,模型组的细菌培养差异有统计学意义($P < 0.05$),细菌鉴定为同型大肠杆菌,对氨苄西林的耐药率最高,对美罗培南最敏感。病理切片中组织形成改变明显,镜下可见大量炎性细胞浸润。结论 大肠杆菌能导致 Beagle 犬下尿路炎,并与人类的下尿路炎具有相似性,多次膀胱灌注是建立动物模型简洁、有效的试验方法,并证实细菌的耐药性是导致下尿路感染的主要病因之一。

【关键词】 细菌性炎症; 下尿路; Beagle 犬; 模型,动物

Establishment and identification of the animal model with bacterial inflammation in the lower urinary tract of the Beagle dogs HE Wei, LI Lu, YU Xiao, LAN Ru-zhu, WANG Shao-gang, LI Ji-gui, LIU Ji-hong, YE Zhang-qun. Research Institute of Urology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: LI lu, Email: luli9988@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To establish a clinical animal model of bacterial inflammation in the lower urinary tract and to provide a research platform for the physical treatment of lower urinary tract inflammation. **Methods** Six 24-month-old adult Beagle dogs were randomly divided into model group ($n = 3$) and control group ($n = 3$). By bladder irrigation, the dogs were given the standard pathogenic *E. coli* (ATCC25922) 2.5 mL in the model group and the same dose of saline in the control group every time. Bacteria were cultured and identified cation, subjected to susceptibility testing and observed pathologically after the model was constructed. **Results** Compared with the control group, the bacterial culture in the model group was positive and the bacteria identified was the same type of *E. coli*, the resistance rate of *E. coli* to ampicillin was the highest and they to meropenem was the most sensitive. HE dyeing show that the changes of tissues were significantly and a great number of inflammatory cells infiltrated under microscope. **Conclusion** *E. coli* can cause inflammation in Beagle dogs' lower urinary tract, and the clinical and tissue changes were similarity with the human lower urinary tract inflammation. it is very effective that the multiple bladder irrigation can establish animal model, and the antimicrobial resistance of bacteria is a major cause of lower urinary tract infection.

【Key words】 Bacterial inflammation; Lower urinary tract; The Beagle dog; Model, animal

下尿路炎是泌尿外科的一种常见病,其病因、临床症状和治疗上存在许多难题,特别是药物治疗仍然相当困难。为了探讨物理方法治疗下尿路炎的可行性,我们用 Beagle 犬制作了细菌引发下尿路炎的动物模型,现将结果报道如下。

材料与方 法

1. 实验动物:健康成年 Beagle 犬,戊巴比妥钠 1 ml/kg 静脉麻醉后,消毒外生殖器及尿道外口,插入无菌 F6 尿道测压管(人用)进入膀胱,留取中段尿进行细菌培养,结果为阴性的 Beagle 犬入组,共计 6 条,

平均犬龄 24 个月,体质量 11 ~ 13 kg。所有实验犬由华中科技大学同济医学院附属同济医院实验动物中心(实验动物设施使用证明号:00023472;动物质量合格证号:00018012)提供并统一管理,饲养于清洁级环境,所有操作经同济医科大学实验动物关怀和利用委员会许可。

2. 动物模型的建立:将 Beagle 犬随机分为模型组(3 条)和对照组(3 条),采用标准致病菌大肠埃希菌(ATCC25922,由本医学院微生物实验室提供),使用前置 37 °C 培养箱内培养 18 h,无菌生理盐水配成 1.5×10^8 CFU/ml 浓度菌液。所有 Beagle 犬给予戊巴比妥钠 1 ml/kg 静脉麻醉后,固定四肢,在无菌条件下将 F6 尿道测压管插入膀胱引流尿液,模型组每次灌注菌液 2.5 ml,对照组灌注等量 0.9% 生理盐水,保留 5 min。实验初 3 d 每天 1 次,以后分别于第 5、7、9 天

DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2012.10.073

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科研究所

通信作者:李路,Email:luli9988@yahoo.com.cn

灌注,末次灌注后 72 h 随机处死两组犬,行细菌培养鉴定和病理学观察。

3. 细菌培养鉴定:以无菌方式取出膀胱和各段尿道,置于含 1 ml 灭菌生理盐水的无菌小平皿中,剪碎组织后推开,于 37 ℃ 孵箱中培养 24 ~ 48 h 后,对可疑菌落进行革兰氏染色,同时将菌落分别转种于伊红美蓝平板、蛋白胨水培养管、磷酸盐葡萄糖胨水培养管和枸橼酸盐斜面上,再次 37 ℃ 孵箱中培养 24 ~ 48 h 后,加入靛基质试液、甲基红试液和 V-P 试液,观察结果。

4. 药物敏感实验:采用纸片扩散法(K-B 法)。在 M-H 琼脂培养基上,每 2 个纸片间的中心距离不少于 24 mm。根据对抑菌环直径大小的判断标准报告敏感(>15 mm)、耐药(<10 mm)和中介(10~15 mm)。

5. 病理学观察:取出膀胱和尿道组织,10% 福马林固定,常规制片后行苏木素-伊红(HE)染色,光镜检查拍片。

结 果

1. 细菌培养鉴定:模型组所有标本均培养出边缘整齐、湿润、大的呈灰白颜色的菌落,革兰氏染色为革兰氏阴性,菌体为粗而短的杆菌。伊红美蓝平板培养基上菌落形态呈现为大而湿润、伴有紫黑色金属光泽。靛基质试验、甲基红试验、V-P 反应和枸橼酸盐利用试验(IMVC)结果分别为 +、+、-、-,为大肠埃希菌的典型生化反应。对照组所有标本无细菌生长。

2. 药物敏感实验:大肠埃希杆菌对抗生素耐药率最高的是氨苄西林(89.8%)和哌拉西林(83.3%),与文献[1-2]报道相符。其次是复方新诺明、四环素、头孢唑啉、头孢呋辛、头孢克洛、庆大霉素、头孢曲松、环丙沙星、诺氟沙星、头孢噻肟等。对抗生素最敏感的是美罗培南和亚胺培南,与文献[3-4]报道一致,其次是哌拉西林/他唑巴坦、呋喃妥因和阿米卡星。

3. 病理学观察:对照组前列腺上皮细胞多为立方或柱状,腺腔分泌物较均匀。模型组黏膜充血、水肿,呈深红色,以膀胱三角区最为明显。腺上皮呈扁平、立方与高柱状混杂,黏膜脱落,腺腔分泌物减少,毛细血管明显扩张,间质内可见大量的中性粒细胞和淋巴浸润。与正常尿道组织对比,受感染的尿道镜下表现为尿道黏膜边缘不齐,有溃疡、水肿等改变,黏膜表面有浆液性分泌物黏合,并有大量的中性粒细胞、浆细胞和淋巴细胞浸润,毛细血管明显扩张。

讨 论

尿路感染是由病原菌直接侵犯尿路而引起的炎性

病变,其发生率为 6.82%^[5],在感染性疾病中仅次于上呼吸道感染,居第 2 位^[6]。本实验模拟并采用临床上常见的泌尿系感染途径,定量、多次对 Beagle 犬进行经尿道膀胱灌注,结果显示与对照组比较,模型组的细菌培养差异显著,呈典型的大肠埃希菌生长特征,证实多次膀胱灌注法是建立下尿道炎动物模型的简洁、有效的实验方法。

临床下尿路感染常呈现反复发作,经久不愈,防治难度大且愈后不良等特性,本实验中膀胱和尿道组织 HE 染色切片证实, E. coli 致膀胱和尿道黏膜充血、水肿,表面有浆液性分泌物黏合,严重处有脱落,形成溃疡现象,毛细血管明显扩张合并大量的中性粒细胞、浆细胞和淋巴细胞浸润,此病理改变与人类的慢性尿道炎和慢性膀胱炎的病理表现特征基本相符。

预防使用抗菌药物也是引起尿路感染危险因素,不合理地使用抗菌药物可导致菌群失调、免疫功能损伤,增加条件致病菌和真菌的继发感染的机会。调查发现泌尿外科抗菌药物的使用存在不合理现象,如选择不当、用药指征掌握不明确、用药时间过长等^[7],同时由于部分尿路感染表现不明显,常常掩盖感染征象,使临床医师有倾向预防性应用抗菌药物^[8],应引起重视。我们应该注意合理使用抗菌药物,根据细菌培养及药物敏感实验选用抗菌药物。本试验通过药物敏感实验证明,大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、肠球菌是尿路感染主要致病菌,药物敏感实验以对 β-内酰胺类敏感性高,故抗感染治疗应首选美罗培南和亚胺培南,其次选用哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、氨曲南等 β-内酰胺类或喹诺酮等广谱抗生素,必要时两者联合应用。

参 考 文 献

- [1] 施金玲,蔡璇,孙端阳,等. 湖北地区三级医院近 5 年大肠埃希菌的耐药性变迁. 中华医院感染学杂志, 2010, 20: 1927-1928.
- [2] 孙莉军,郑晖. 泌尿系感染大肠埃希菌的耐药性分析. 中华医院感染学杂志, 2010, 20: 2510-2511.
- [3] 常清利,张丽娜. 215 株大肠埃希菌的分布及耐药性分析. 国际检验医学杂志, 2011, 32: 2262-2263.
- [4] 兰全学,张韶华,朱子犁,等. 临床分离大肠埃希菌的耐药性分析. 中国卫生检验杂志, 2009, 19: 2332-2333.
- [5] 才胜勇,裴琼,崔海军. 泌尿外科患者尿路感染危险因素 logistic 回归分析. 中华医院感染学杂志, 2011, 21: 3369-3371.
- [6] Dettenkofer M, Block C. Hospital disinfection: efficacy and safety issues. Curr Opin Infect Dis, 2005, 18: 320.
- [7] 王丽华,孙艳,王晓蕾. 348 例泌尿外科围手术期患者抗菌药物应用分析. 中国药业, 2009, 18: 56-57.
- [8] 叶光前. 泌尿外科医院感染管理工作探讨. 中医药管理杂志, 2008, 16: 621-622.

(收稿日期:2012-04-27)