DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.01.050

妇炎宁栓对大鼠阴道混合感染的药效学观察

罗 东 唐先哲 刘松青 陈勇川 董 慧 高振同 (第三军医大学附属西南医院药剂科)重庆,630038
李英衢 (第三军医大学基础部药理学教研室)重庆,630038

提 要 目的:观察妇炎宁栓对大鼠混合感染阴道炎的疗效。方法:用 Wistar雌性大鼠建立白色念珠菌、阴道滴虫和大肠杆菌的混合感染阴道炎模型,随机分为妇炎宁栓4个剂量组及基质对照组,每组10只大鼠,采用阴道给药,每日1次,连续6 d以病原体的转阴率和阴道粘膜炎症的治愈程度为观察指标。结果:病原体转阴率和治愈程度与对数剂量显示量-效关系($P < 0.01$),其 ED_{50}为39.66 mg/kg,95%的可信限为(27.50~53.40)mg/kg 结论:妇炎宁栓对混合感染阴道炎有治疗作用。

关键词 妇炎宁栓;阴道炎;大鼠
中图法分类号 R711.31; R984

阴道炎是妇女常见疾病,其类型有细菌性阴道炎、霉菌性阴道炎、原虫性阴道炎及混合感染性阴道炎,而大肠杆菌、白色念珠菌和阴道滴虫是阴道常见的病原体。妇炎宁栓是我院临床使用多年的一种阴道栓剂,经临床验证对单一及混合感染性阴道炎均有较好疗效。为进一步证实妇炎宁栓对混合感染性阴道炎的临床作用,我们建立大鼠阴道混合感染的阴道炎模型,观察妇炎宁栓阴道给药对大鼠阴道混合感染的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 净化工作台(蚌埠净化设备厂),XSXH系列生物显微镜(重庆光学仪器厂),McFarland氏细菌比浊管。

1.1.2 药物 妇炎宁栓由本院药剂科自制,主要成分:酮康唑、甲硝唑、氟哌酸。

1.1.3 动物 Wistar系大白鼠,雌性,体重(197.2±5.8)g,由第三军医大学实验动物中心提供。

1.1.4 病原体 白色念珠菌(本院皮肤科提供);阴道滴虫(本院妇产科提供);大肠杆菌(本院检验科细菌室提供)。

1.2 实验方法

1.2.1 大鼠阴道白色念珠菌、阴道滴虫、大肠杆菌混合感染的模型建立 按文献[1]方法,将大鼠双侧卵巢和子宫角在无菌条件下切除后,皮下注射雌二醇建立假动情期。处于假动情期的大鼠,经阴道先后注入白色念珠菌(3×10^6/ml)、阴道滴虫(2.5×10^7/ml)和大肠杆菌(2×10^8/ml),注入量为3 μl/g体重。感染5 d后取大鼠阴道分泌物病原体检查为阳性,且肉眼和病理组织学检查阴道粘膜均发生充血、水肿、出血或浸润者为感染成功。将感染成功的大鼠随机分组治疗。

1.2.2 病原体鉴定

1.2.2.1 白色念珠菌鉴定 按文献[2]方法:① 镜检可见芽生孢子和假菌丝;② 血清芽管试验结果呈阳性。

1.2.2.2 阴道滴虫鉴定 按文献[3]方法,直接镜检大鼠阴道分泌液,可见带有鞭毛游动的呈梨形的阴道滴虫,镜检未见或有怀疑的,培养后再镜检。

1.2.2.3 大肠杆菌鉴定 按文献[4]方法:① 革兰氏染色镜检,可见 G⁻ 的无芽胞短杆菌;② 生化鉴定:乳糖发酵产酸产气;IMViC试验反应为++--。

1.2.3 实验动物分组 将阴道感染白色念珠菌、阴道滴虫和大肠杆菌的大鼠随机分组分为基质对照组(感染后不治疗)和妇炎宁栓4个剂量组,每组动物10只,各组动物每日阴道给药一次,连续6 d另设空白组(不感染不治疗),动物10只。

1.2.4 观察指标

1.2.4.1 病原体转阴率(%) 停药后第1天和第4天取大鼠阴道分泌物进行检查,两次检查病原体均为阴性定为转阴。

1.2.4.2 阴道病变治愈程度 于停药后将大鼠活杀,剖取阴道标本进行病理组织学观察。阴道标本按充血、水肿、出血、浸润四项基本指标进行评分[5],无充血、水肿、出血、浸润评0分,轻度评1分,中度评2分,重度评3分。每项指标炎症评分值的总和为炎症总分值,受试组炎症总分值与空白对照组炎症总分值之差计算感染炎症分值。以基质对照组的感染炎症分值定为100%(炎症程度),药物组与基质对照组比较,可得出药物组的炎症程度(%),100%减去炎症程度即为对阴道炎的治愈程度(100%-炎症程度%)。

2 结果

2.1 以病原体的转阴率为指标

妇炎宁栓的主药剂量为23.00 35.38 54.44 83.74 mg/kg阴道给药对大鼠阴道混合感染的转阴率分别为20%、40%、70%、90%,且显示量效关系($r = 0.9982$, $P < 0.01$),其 ED_{50}为39.66 mg/kg,95%可信限为(27.50~53.42)mg/kg,见表1。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　妇炎宁栓对大鼠阴道混合感染的转阴率 (%)

Tab 1　Negative rates of Fuyanning of vaginitis with mixed infection in rats(%)

Group	No. of rats (*n*)	Dosage (mg/kg)	Log. dosage (X)	Negative rate (%)	Probit (y)
Contral of base	10	0	–	0	–
Fuyanning Ⅰ	10	23.00	1.3617	20	4.16
Fuyanning Ⅱ	10	35.38	1.5488	40	4.75
Fuyanning Ⅲ	10	54.44	1.7359	70*	5.52
Fuyanning Ⅳ	10	83.74	1.9230	90*	6.28

** : $P < 0.01$ *vs* control of base

2.2　以阴道病变的治愈程度为指标

大鼠混合感染的阴道病变治愈程度结果: 空白组、基质对照组、妇炎宁栓 4个剂量组的感染炎症分值及炎症程度 (%),见表 2,妇炎宁栓 4个剂量组的治愈程度分别为 9%、29%、62%、95% ,对数剂量与治愈程度 (机率单位)显示量效关系 ($r = 0.9917$, $P < 0.01$),见表 3.

表 2　妇炎宁栓对大鼠混合感染阴道标本的炎症分值和炎症程度

Tab 2　The score and the degree of inflammation in vaginitis rats after administration of Fuyanning

Group	No. of rats (*n*)	Dosage (mg /kg)	Score of inflammation	Degree of inflammation (%)
Blank	10	0	0	0
Control of base	10	0	2.16	100
Fuyanning Ⅰ	10	23.00	1.97	91
Fuyanning Ⅱ	10	25.38	1.54	71
Fuyanning Ⅲ	10	54.44	0.83	38
Fuyanning Ⅳ	10	83.74	0.11	5

表 3　妇炎宁栓对阴道混合感染的大鼠阴道病变治愈程度

Tab 3　The degree of healing of rat vaginitis after treated with Fuyanning

Group	No. of rats (*n*)	Dosage (mg/kg)	Log. dosage (X)	Negative conversion rate (%)	Probit (y)
Control of base	10	0	–	0	–
Fuyanning Ⅰ	10	23.00	1.3617	9	3.66
Fuyanning Ⅱ	10	35.38	1.5488	29	4.45
Fuyanning Ⅲ	10	54.44	1.7359	62*	5.31
Fuyanning Ⅳ	10	83.74	1.9230	95**	6.64

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ *vs* control of base

3　讨论

大鼠混合感染阴道炎病理模型的建立除了检查病原体的存在外,还以肉眼观察阴道粘膜是否有出现充血、水肿、出血或糜烂的炎症症状。并对阴道切片进行了病理组织学检查,从充血、水肿、出血、浸润四个基本指标进行评定。我们在给予大鼠阴道白色念珠菌、阴道滴虫及大肠杆菌后,在大鼠阴道内,检查出有病原体的存在。肉眼观察大鼠阴道粘膜外观有不同程度的充血、水肿或出血,病理组织学观察大鼠阴道切片也出现有充血、水肿、出血或浸润。说明我们建立的大鼠混合感染阴道炎病理模型是成功的。

本实验观察到在给予混合感染阴道炎的大鼠基质对照及妇炎宁栓 4个剂量组时,基质对照组的感染大鼠仅少数有 1种或 2种病原体消失,大多数无变化,不能达到 3种病原体全部消失,说明了基质对照组对大鼠阴道混合感染无完全转阴的作用,而妇炎宁栓 4个剂量组对大鼠阴道混合感染均能达到不同程度的转阴,且妇炎宁栓Ⅲ、Ⅳ组与基质对照组相比有显著差别 ($P < 0.01$),其 ED_{50}为 39.66 mg /kg,对数剂量与转阴率 (机率单位)显示量 – 效关系 ($P < 0.01$)。妇炎宁栓 4个剂量组对大鼠阴道病变的治愈程度分别为 9%、29%、62%、95% ,妇炎宁栓Ⅲ、Ⅳ组与基质对照组相比差别有显著性意义 ($P < 0.05$或 $P < 0.01$),对数剂量与治愈程度 (机率单位)显示量 – 效关系 ($P < 0.01$),这对临床治疗混合感染性阴道炎提供了动物实

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

验依据。

(本实验承蒙本院皮肤科唐书谦教授、病理科柳凤轩教授、检验科徐咏涛老师的指导和帮助,在此表示感谢!)

参考文献

1 林 彩,李英儒,唐 水等.大白鼠阴道混合感染阴道滴虫、白色念珠菌和淋球菌模型的建立方法.第三军医大学学报,1992; 14(5): 485

2 Al-Doury Y. Laboratory medical mycology. London: Henry Kimpton Publishers, 1980: 246~ 259

3 王淑娟,周惠平,夏铁安.现代实验诊断学手册.北京:北京医科大学、北京协和医科大学联合出版社,1995: 82

4 李影林主编.临床微生物学及检验.长春:吉林科学技术出版社,1991: 178~ 186

5 刘 云,马克韶.对家兔阴道粘膜刺激反应的评价方法.中国药检药理工作通讯,1990; 2(1): 4

(收稿: 1996-05-26;修回: 1996-11-06)

(编辑 冷怀明)

Therapeutic effects of Fuyanning suppository on vaginitis in rats

Luo Dong, Tang Xianzhe, Liu Songqing, Chen Yongchuan, Dong Hui, Gao Zhentong (Department of Pyarmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Objective: To observe the therapeutic effects of Fuyanning suppository on vaginitis. Methods: After the model of vaginitis infected with *C. albicans*, *T. vaginalis* and *B. coli* was established in female Wistar rats, the animals were randomized into four groups treated with different dosages of Fuyanning suppository and there was a control group with 10 rats for each of the five groups. The drug was vaginally administered daily for 6 days. Both the negative rate of pathogens and the healing rate of the inflammatory vaginal mucosa were the criteria in the observation. Results: A dosage-dependent effect was observed when the negative rate of pathogens and the healing rate of vaginal mucosa were analyzed with the logarithm of drug dosages ($P < 0.01$). ED_{50} was 39.66 mg/kg and 95% effective limit was (27.50~ 53.40) mg/kg. Conclusion: Fu Yanning suppository can exert therapeutic effects on vaginitis infected with several kinds of bacteria.

Key words Fuyanning suppository; vaginitis; rat

人淋巴毒素 cDNA克隆及其在大肠杆菌表达的研究*

Cloning and expression in E. coli of cDNA for human lymphotoxin

张津利 朱锡华 (第三军医大学基础部免疫学教研室)重庆,630038

淋巴毒素(LT或 TNF-β)系由淋巴细胞经抗原或有丝分裂原活化后产生的一类细胞因子,它具有抗肿瘤,抗病毒活性和许多重要的免疫调节作用,是一种非常有前途的生物制剂,近年来发现的膜相关型淋巴毒素更提示 LT可能具有尚未被揭示的免疫调节活性。因此,克隆人 LT cDNA并在大肠杆菌表达重组人 LT,对于 LT的开发利用和研究其功能都具有重要意义。

本实验根据公布的人淋巴毒素 cDNA序列,设计并合成一对引物,采用 RT-PCR技术,从 PHA/PMA活化的人 T细胞系 Jurkat细胞总 RNA扩增出一 541 bp DNA片段,经 α-互补筛选、质粒小量快速抽提,限制性内切酶酶切鉴定,将该片段定向克隆于 pUC18 pUC19质粒载体。限制性内切酶图谱分析和 Sanger双脱氧链终止法序列测定表明,该 DNA片段与公布的人淋巴毒素 cDNA序列完全一致,它包括编码人淋巴毒素成熟肽的全部 cDNA序列。再进一步将该 cDNA片段克隆于原核表达载体 pBV 220,经地高辛标记探针菌落原位杂交筛选,限制性内切酶酶切鉴定方向,筛选出一阳性重组子 pBV-LT SDS-PAGE和 Western blotting分析表明,经温控诱导,该重组菌成功地表达了人淋巴毒素重组蛋白;薄层扫描分析显示该重组蛋白占细菌总蛋白的 12%,经 MTT比色法测定,重组 LT具有细胞毒活性,相当于 2×10^5 u/L菌液。本实验为重组 LT的大量生产、临床应用,为进一步研究人 LT的生物学功能奠定了基础。

关键词 人淋巴毒素; RT-PCR; cDNA;克隆; DNA序列测定;菌落原位杂交;原核表达;大肠杆菌

中图法分类号 R392.2

(收稿: 1996-11-28;修回: 1996-12-23)

(编辑 汪勤俭)

* 全军"八五"重点项目资助课题

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net