

SD大鼠失禁性皮炎动物模型的建立

赵梓佳¹, 周晓舟¹, 陈溢玲², 梁云芳¹

(广东药科大学附属第一医院 1. 护理部; 2. 呼吸内科, 广东 广州, 510080)

摘要: **目的** 通过胰蛋白酶浸渍的方法建立SD大鼠失禁性皮炎动物模型。**方法** 20只8周龄SD雄性大鼠分为实验组和对照组,各10只。对照组用生理盐水浸泡过的棉球,实验组用胰蛋白酶溶液浸泡过的棉球,应用到SD大鼠的背部皮肤。3 d后观察失禁性皮炎(IAD)的严重程度,包括皮炎发生的范围大小和严重程度评分,并记录。**结果** 成功建模的实验组大鼠皮炎面积、皮炎严重程度的评分、皮炎恢复的时间等均大于对照组($P < 0.05$)。**结论** 4 g/100 mL胰蛋白酶浸泡建模的方法,简便有效且易复制。

关键词: SD大鼠; 失禁性皮炎; 动物模型; 胰蛋白酶

中图分类号: R 758.23 文献标志码: A 文章编号: 2096-0867(2017)07-0042-03

Establishment of animal model of incontinence-associated dermatitis in SD rats

ZHAO Zijia¹, ZHOU Xiaozhou¹, CHEN Yiling², LIANG Yunfang¹

(1. Department of Nursing; 2. Department of Respiration Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong, 510080)

ABSTRACT: Objective To establish an animal model of incontinence-associated dermatitis in SD rats by trypsin impregnation, which laid the foundation for further study of incontinence-associated dermatitis. **Methods** The cotton balls soaked in saline with the control group were applied to the dorsal skin of SD rats with cotton balls soaked with trypsin solution. Three days after macroscopic the severity of IAD, including dermatitis occurrence range and severity score, were observed and recorded. **Results** The dermatitis area, the severity of dermatitis and the recovery time of dermatitis were significantly higher in the experimental group than those in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The method of 4 g/100 mL trypsin immersion modeling is a simple, effective and easy way to reproduce. It is a modeling method worthy of popularization.

KEY WORDS: SD rats; incontinence-associated dermatitis; animal model; trypsin

失禁性皮炎(IAD)以前被称为“尿布皮炎”或“会阴皮炎”^[1],2007年Gery等^[2]首次提出此概念,指会阴或皮肤长期暴露于尿或粪便中引起的皮肤炎症,临床表现为红斑,伴有或不伴有皮肤糜烂或继发性皮肤感染,可见轻度发红到大面积具有渗出物的裸露皮肤的侵蚀^[3]。IAD是因长时间皮肤接触尿液或粪便产生的过度水合或浸渍,粪便中的消化酶和尿液中的尿素与皮肤接触时,产生重复循环的化学刺激,导致炎症和皮肤分解^[4]。IAD主要表现为红斑、红疹,皮肤浸渍、糜烂甚至剥脱,伴有或不伴感染^[2,5]。本实验拟通过胰蛋白酶的浸渍建

立SD大鼠失禁性皮炎动物模型,为失禁性皮炎的进一步研究奠定基础,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取20只8周龄SPF级健康SD雄性大鼠,体质量180~220 g,购于广东省医学实验动物中心。SPF级动物房饲养,室温(22 ± 1)℃,相对湿度50%~60%,明暗周期为12 h/12 h,自由摄食饮水。SPF级大鼠维持料均购于广东省医学实验动物中心。实验前适应性喂养1周,将20只大鼠

分为2组,每组10只,分笼饲养。动物实验已通过广东药科大学附属第一医院动物伦理委员会的审批。主要试剂:水合氯醛30 mL/30 mg,来自广东药科大学附属第一医院;胰蛋白酶1:250(牛胰),来自南京奥多福尼生物制剂公司。

1.2 方法

动物模型建立:将20只SD雄性大鼠随机分为实验组和对照组,各10只;在水合氯醛腹腔注射的麻醉下进行所有程序,以避免引起动物不适。背侧选定区域,建模前以电推剪和脱毛膏除去大鼠毛发,以最少量的脱毛膏减少对皮肤的影响。对照组用浸泡过生理盐水的棉球应用到大鼠背部皮肤,实验组用浸泡过胰蛋白酶溶液的棉球应用到背部皮肤,2组均用3M透明敷料覆盖并用弹性绷带固定。在3d的建模期间内,每天分别于上午下午各1次,向大鼠的棉球部位添加对应的溶液,保持棉球的潮湿,持续覆盖于大鼠背部。胰蛋白酶溶液:4 g/100 mL,在氢氧化钠的调节下,调至pH 7.5~8.5。3d后拆除绷带,宏观观察IAD的严重程度,包括皮炎发生的范围大小和严重程度评分,并记录。

用SD大鼠进行IAD动物模型的建立过程,注意以下问题:①腹腔注射水合氯醛应注意用量,每次麻醉前进行称重,以免麻醉过度,引起大鼠死亡;进针不宜过深,容易刺进肠道,轻则因注入大鼠粪便而麻醉效果不良,重则易使麻醉后大鼠发生肠梗阻,而致大鼠死亡。②备皮应用电推剪先进行剃毛,可减少脱毛膏的使用量,减少对皮肤的干扰。③胰蛋白酶应调配至pH在7.5~8.5,放置2~8℃的冰箱保存,保持胰蛋白酶的活性。④因为棉球的大小不同,在做实验前可用注射器给棉球注水观察注水量,并根据此量进行添加液体。⑤每天2次在棉球上注射相应溶液,以维持棉球的持续潮湿时间。⑥可先将干棉球固定好后,再往其中注水,可避免因为棉球过湿,敷料固定不住的情况发生。⑦在弹性绷带固定之前,先用3M透明敷料覆盖棉球,因为弹性绷带直接缠绕大鼠背部,撕脱胶布时容易引起其他皮肤部位的撕裂伤。⑧在大鼠麻醉后把大鼠指甲剪掉磨平,减少大鼠爪子抓破弹性绷带的机会。

1.3 观察指标

①IAD严重程度评估:使用Borchert描述的IAD严重程度评估工具量表(IADS)^[6];IADS是从易发生IAD的会阴部、臀部等13个部位皮肤

发红的程度,皮肤缺失及皮疹3个方面来评估。本研究只进行一个部位的皮肤情况评估,无:0分;粉色:1分;出现红色,不伴有皮疹和皮肤缺失:2分;出现皮疹:3分;出现任何程度的皮肤缺失:4分。②IAD发生的皮肤范围大小:测量皮炎范围,用长×宽表达,单位cm,沿脊柱方向为长。与脊柱垂直的方向为宽。③IAD的恢复时间:建模成功后,每天测量皮炎范围以及进行IADS评分,直至皮炎评分为0,即可停止测量范围及评分,记录IAD的恢复时间。

1.4 统计学方法

采用SPSS 19.0软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组大鼠皮炎范围对比

实验组大鼠的皮炎面积在1.56~10.80 cm²,长1.2~3.6 cm,宽1.3~3.2 cm,对照组棉球部位的皮肤反应宏观表现很大程度上没有变化,有3只出现轻微的皮肤粉红色,面积在0.00~0.35 cm²,长0~0.5 cm,宽0~0.7 cm。实验组大鼠皮炎面积比对照组大,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表1 2组方法建模的大鼠的皮炎面积对比($\bar{x} \pm s$)

组别	n	皮炎面积/cm ²	长度/cm	宽度/cm
实验组	10	6.01 ± 2.75 *	2.36 ± 0.79	2.45 ± 0.57
对照组	10	0.07 ± 0.14	0.13 ± 0.22	0.16 ± 0.28

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.2 2组大鼠的皮炎严重程度对比

实验组大鼠的IADS评分2~4分,平均(3.20 ± 0.79)分,对照组部位的皮肤反应宏观表现很大程度上没有变化,有3只出现轻微的皮肤粉红色,评分0~1分,平均(0.30 ± 0.48)分。实验组的评分高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 大鼠皮炎的恢复时间

实验组大鼠的恢复时间在4~9 d,平均(6.60 ± 2.01)d,对照组大鼠的恢复时间在1~2 d,平均(1.67 ± 0.58)d,实验组大鼠的恢复时间较对照组时间长,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

IAD的发生率高,对患者危害大,失禁性皮炎给患者带来了极大的困扰,而且跟压疮、导管相关

尿路感染等并发症密切相关,也有相关数据显示失禁性皮炎拖延了患者出院的时间^[7]。国内外学者也在对 IAD 相关内容不断的做研究,以期更好的服务于 IAD 患者^[8]。临床上因为个体的差异性, IAD 患者的临床表现也不尽相同,若是能建立 IAD 的动物模型,并在 IAD 的动物模型上进行相关的研究,就可减少一些临床上的混杂因素,但是关于 IAD 的动物模型的建立及病理机制研究的相关报道不多见。国外可见少数的几篇,国内暂未发现。

关于动物模型建立的文章,Been 等^[9]自制了一个皮肤表面施加器,将配置好的 1 g/100 mL 的胰酶以 0.5 mL 的流速覆盖在无毛豚鼠的背部,48 h 后观察皮肤情况。建立的 IAD 模型的程度在轻微发红到严重发红之间。Mugita 等^[10]将含有蛋白酶的 1% 琼脂糖凝胶应用于雄性 SD 大鼠的背部皮肤 4 h,然后接种绿脓假单胞菌 30 min。24 h 后开始观察皮肤,皮肤发红,接种后 3 d,红色逐渐褪色,接种后 6 d 完全恢复自然颜色。Larner 等^[11]用自制的碱性合成尿液在 6 个自愿者身上做实验,用人工尿液覆盖于志愿者前臂,6 h/d,累积 3 d 的刺激可建立轻度 IAD 模型。Minematsu 等^[12]通过 1% 蛋白酶琼脂糖凝胶在人的皮肤和大鼠的脚底进行皮肤浸渍,6 h 后皮肤出现白色和肿胀。

动物模型的建立方法,需简便有效且可复制,以上方法虽有各自特色,参考起来使用却有诸多不便。Been 等^[9]是自制了一个皮肤表面施加器,没有这个施加器则难以实施他提出的模拟失禁的流速进行的建模方法。Mugita 等^[10]是需要用蛋白酶琼脂糖凝胶浸泡后,还需种植细菌,步骤较为繁琐。Larner 等^[11]用自制的碱性尿液建模而且建模的效果跟铉的浓度是相关的,但是建模 3 天后成果也只是轻度皮炎,建模成功的效果较慢。Minematsu 等^[12]的实验是在大鼠的脚底进行,而且成模的宏观表现是脚底皮肤变白和水肿,与真正临床的 IAD 的皮肤的表现相似度不高,致使对进一步的研究有所限制。

综上所述,本研究使用 4 g/100 mL 胰蛋白酶浸泡建模的方法,简便有效且易复制。成模的速度和时间较理想,效果显著。24 h 即可出现皮肤发白或部分粉红,48 h 即出现红斑,皮肤发红,72 h 已有部分皮肤破损,皮炎建模效果清晰可见,且建模成功后皮肤 24 h 不可恢复,中重度皮炎需 4~9 d 才恢复正常皮肤,有足够的时间进行实验的观察,成功建模可用于下一步的研究。本研究将大鼠麻

醉后,用棉球覆盖皮肤表面,用 3M 透明敷料覆盖并用弹性绷带包扎,每日两次添加相对应的液体,操作方便简单,所需材料容易购买,此方法能保证模型的成功建立,是值得推广的一种建模方法。

参考文献

- [1] Junkin J, Selekof, J L. Beyond "diaper rash": Incontinence-associated dermatitis: does it have you seeing red [J]. *Nursing*, 2008, 38(11): 10-11.
- [2] Gray M, Bliss D Z, Doughty D B, et al. Incontinence-associated dermatitis: a consensus [J]. *J Wound Ostomy Continence Nurs*, 2007, 34(1): 45-54, 55-56.
- [3] Corcoran E, Woodward S. Incontinence-associated dermatitis in the elderly: treatment options[J]. *Br J Nurs*, 2013, 22(8): 450-457.
- [4] Voegeli D. Incontinence-associated dermatitis: new insights into an old problem[J]. *Br J Nurs*, 2016, 25(5): 256-260.
- [5] Gray M, Beeckman D, Bliss D Z, et al. Incontinence-associated dermatitis [J]. *J Wound Ostomy Continence Nurs*, 2012, 39(1): 61-74.
- [6] Borchert K, Bliss D Z, Savik K, et al. The incontinence-associated dermatitis and its severity instrument: development and validation[J]. *J Wound Ostomy Continence Nurs*, 2010, 37(5): 527-535.
- [7] Wilczewski P, Grimm D, Gianakis A, et al. Risk factors associated with pressure ulcer development in critically ill traumatic spinal cord injury patients[J]. *J Trauma Nurs*, 2012, 19(1): 5-10.
- [8] 田素萍,戎穗冰,谢海珊,等.住院患者失禁性皮炎患病现状分析及其护理措施[J].*中华护理教育*, 2015, 12(7): 554-557.
- [9] Been RA, Bernatchez SF, Conrad-Vlasak DM, et al. In vivo methods to evaluate a new skin protectant for loss of skin integrity [J]. *Wound Repair Regen*, 2016, 24(5): 851-859.
- [10] Mugita Y, Minematsu T, Huang L, et al. Histopathology of Incontinence-Associated Skin Lesions: Inner Tissue Damage Due to Invasion of Proteolytic Enzymes and Bacteria in Macerated Rat Skin [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(9): e138117.
- [11] Larner J, Matar H, Goldman VS, et al. Development of a cumulative irritation model for incontinence-associated dermatitis [J]. *Arch Dermatol Res*, 2015, 307(1): 39-48.
- [12] Minematsu T, Yamamoto Y, Nagase T, et al. Aging enhances maceration-induced ultrastructural alteration of the epidermis and impairment of skin barrier function. [J]. *J Dermatol Sci*, 2011, 62(3): 160-168.

(本文编辑:张燕)