

本文引文格式:黄文慧,覃娇霞,黄载中,等.口咽滴注法与滴鼻法建立铜绿假单胞菌小鼠急性肺炎模型比较[J].右江民族医学院学报,2026,48(1):13-17,22.

【论著与临床报道】

## 口咽滴注法与滴鼻法建立铜绿假单胞菌小鼠急性肺炎模型比较

黄文慧<sup>1</sup>,覃娇霞<sup>1</sup>,黄载中<sup>1</sup>,赵若阳<sup>2</sup>,石丽璐<sup>1</sup>,王可<sup>1</sup>

(1. 广西医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科,广西南宁 530021;

2. 浙江省温州市国科温州研究院,浙江温州 325000)

**摘要:**目的 建立并比较两种铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)小鼠急性肺炎模型,评价其操作简便性、成功率和实用性。方法 采用改良口咽滴注法(LED冷光源引导联合加样枪头)与传统滴鼻法分别接种PA菌悬液,以黑墨水示踪评估肺部递送效率。接种24 h后,观察肺大体病理变化、测定肺组织菌载量并进行组织病理学分析。结果 口咽滴注组肺部墨水浸染面积显著大于滴鼻组(63.10% vs 30.00%),建模成功率分别为100%和73.68%。口咽滴注组肺组织均呈现典型肺炎改变(充血、水肿、出血),菌载量显著高于滴鼻组[(6.00±0.48) log<sub>10</sub> CFU/g vs (5.37±0.38) log<sub>10</sub> CFU/g,  $P < 0.001$ ],病理切片显示更明显的肺泡出血及中性粒细胞浸润。结论 冷光源引导口咽滴注法操作快速、成本低、成功率高、重复性好,是一种更适于呼吸道感染机制研究及药物评价的小鼠肺炎建模方法。

**关键词:**肺炎模型;小鼠;铜绿假单胞菌;口咽滴注法;滴鼻法

中图分类号:R563.1

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2026)01-0013-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2026.01.003

### Comparison of oropharyngeal instillation and intranasal instillation for establishing a mouse model of acute *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia

HUANG Wenhui<sup>1</sup>, QIN Jiaoxia<sup>1</sup>, HUANG Zaizhong<sup>1</sup>, ZHAO Ruoyang<sup>2</sup>, SHI Lilu<sup>1</sup>, WANG Ke<sup>1</sup>

(1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China; 2. Wenzhou Institute, University of Chinese Academy of Sciences, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

**Abstract:** **Objective** To establish and compare two mouse models of acute *Pseudomonas aeruginosa* (PA) pneumonia, and evaluate their operational ease, success rate and practicability. **Methods** Modified oropharyngeal instillation (guided by LED cold light source combined with pipette tips) and traditional intranasal instillation were used to inoculate PA bacterial suspensions, respectively. Black ink tracing was adopted to evaluate lung delivery efficiency. At 24 hours after inoculation, gross pathological changes of the lungs were observed, bacterial load in lung tissues was determined, and histopathological analysis was performed.

**Results** Ink coverage area in the lungs of the oropharyngeal instillation group was significantly larger than that of the intranasal instillation group (63.10% vs 30.00%), with the modeling success rates of 100% and 73.68%, respectively. All lung tissues in the oropharyngeal instillation group exhibited typical pneumonic changes (hyperemia, edema, hemorrhage). The bacterial load in the oropharyngeal instillation group was significantly higher than that in the intranasal instillation group [(6.00±0.48) log<sub>10</sub> CFU/g vs (5.37±0.38) log<sub>10</sub> CFU/g,  $P < 0.001$ ]. Histopathological sections showed more obvious alveolar hemorrhage and neutrophil infiltration in the oropharyngeal instillation group. **Conclusion** The cold light source-guided oropharyngeal instillation method is rapid, low-cost, has a high success rate, and has good reproducibility. It is a more suitable method for establishing mouse pneumonia models in studies on the mechanism of respiratory tract infections and drug

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82260023)

第一作者:黄文慧,在读硕士研究生,研究方向:肺炎、胸部感染,E-mail:hwh07252022@163.com

通讯作者:王可,博士,主任医师,研究方向:肺部感染、胸膜疾病、呼吸介入,E-mail:keewang@hotmail.com

evaluation.

**Key words:** pneumonia model; mice; *Pseudomonas aeruginosa*; oropharyngeal instillation; intranasal instillation

铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*, PA)是一种条件致病菌,可导致免疫功能低下者,如慢性阻塞性肺疾病、囊性纤维化、烧伤等患者发生急性或慢性感染<sup>[1-3]</sup>。其引起的肺部感染一般病程久、治愈率低及病死率高,且 PA 对多种抗生素耐药,已然成为院内感染的一大难题<sup>[4]</sup>。为能更深入地研究 PA 的致病机制以及探究药物对细菌肺部感染的治疗效果,模拟肺部感染模型需要更贴近临床,以便评价药物治疗等方面的研究,进一步指导临床用药和新药研发提供理论和实验依据。目前,已有多种方法用于建立急性肺炎动物模型,但不同方法所构建的模型可能存在差异,常用方法有气管切开术法、气管插管法、经鼻滴入法等<sup>[5-8]</sup>,但气管切开法较容易损伤小鼠气道造成小鼠死亡。本研究旨在采用两种不同方法建立急性肺炎动物模型,即传统的滴鼻法和改良的应用冷光源发光掏耳勺辅助进行小鼠口咽滴注吸入气管的方法,并对两种方法建造的模型进行深入比较和分析,以期对相关研究提供更合适的模型选择依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验主要材料

1.1.1 菌株 PA 标准菌株 PAO1,由美国北达科他州大学免疫学实验室惠赠。

1.1.2 动物来源 C57BL/6J 小鼠,性别比例 1:1,8~10 周,体重 25~30 g,购于北京维通利华动物实验动物技术有限公司,常规饲养于实验动物中心 SPF 级小鼠饲养间内,12 h/12 h 昼夜光照,动物房温度为 22~24 ℃,湿度为 70%。本研究方案通过了广西医科大学第一附属医院医学实验动物伦理委员会的审批(2024-D281-01)。

1.1.3 主要设备器材 经过改造的桌面阅读架(用做悬吊小鼠的滴注操作台)、100  $\mu$ L 单道移液枪(eppendorf)、电泳加样枪头(QSP 1~200  $\mu$ l, USA Thermo Fisher Scientific)、带光源掏耳勺<sup>[9]</sup>(提供光源,耳勺可作为压舌板用途)。

1.1.4 主要试剂耗材及仪器 LB 肉汤及 LB 营养琼脂(均购自海博生物技术有限公司)、磷酸缓冲盐溶液(PBS,北京索莱宝科技有限公司)、各规格的 EP 管、离心管、70  $\mu$ m 细胞网筛(FALCON, USA)、异氟烷(购自山东安特牧业科技有限公司)、圆头镊子、洁净台、组织匀浆机(上海净信)、低温高速离心机(湘仪)。

1.2 实验分组与处理 将 64 只 SPF 小鼠正常饲养,按照造模方式随机分为滴鼻组 A 32 只和口咽滴注组

B 32 只,其中每组再随机分为吸入 PA 菌液组 20 只作为实验组,吸入黑墨水组 6 只作为示踪组,吸入 PBS 组 6 只作为空白对照组。口咽滴注组通过口咽滴注 30  $\mu$ L  $1 \times 10^8$  CFU/mL PA 悬液<sup>[10]</sup>,建立 PA 肺部感染模型,滴鼻组使用滴鼻法经鼻吸入等量菌液(左右鼻孔各 15  $\mu$ L)。其中在满足统计学有效性和实验可行性的前提下,为减少实验动物用量,黑墨水组和 PBS 组各设置 6 只小鼠。见表 1。

表 1 C57BL/6J 小鼠急性肺炎模型组分组

分组	数量/只	造模方法	吸入物
A1	20	滴鼻	PA 菌液
A2	6	滴鼻	黑墨水
A3	6	滴鼻	PBS
B1	20	口咽滴注	PA 菌液
B2	6	口咽滴注	黑墨水
B3	6	口咽滴注	PBS

1.3 肺部感染模型构建操作方法及步骤 操作前准备:在 50 mL 离心管底部装入 10 mL 左右空间的脱脂棉球,然后用无菌加长巴氏吸管向棉球内部滴入 5 mL 异氟烷液体<sup>[11]</sup>,使棉球湿润但不滴水(大约能麻醉 10 只小鼠),如果麻醉小鼠数量较多,需适时补充异氟烷。对小鼠进行麻醉处理过程中,观察小鼠的呼吸频率由急促转慢,即 100~200 次/分降到 60~100 次/分左右;或用无菌棉签的棉絮触碰小鼠的角膜无眨眼反应;亦或捏小鼠后肢无挣扎时即为较适合的麻醉深度。操作过程中如果小鼠苏醒,重复进行麻醉即可。操作步骤:将木架立在桌面上,待异氟烷麻醉小鼠后,上门牙挂在木架固定的手术丝线上,小鼠竖立悬挂固定于木架。右手将小鼠舌头牵拉固定后,左手持发光掏耳勺下压舌根,暴露口咽部,可看见随呼吸开闭的声门。右手持移液器,吸取 30  $\mu$ L PA 悬液,缓缓滴注在声门上方,尽可能靠近声门,持续下压小鼠舌根,观察细菌悬液随呼吸进入肺部直至无残留。将小鼠悬挂在木架上直至麻醉苏醒,放回鼠笼中正常饲养。滴鼻法也是常用于构建急性肺部感染模型的方式,麻醉后左手抓持小鼠,面向操作者,取头高脚低位,移液器吸取 30  $\mu$ L 细菌悬液,左右鼻孔交替滴注微小液滴,随呼吸进入肺部,滴鼻完毕后悬挂于线上 2~3 min,放回笼中正常饲养。操作者熟练使用发光掏耳勺及配合移液器加样枪头声门滴注后,每只小鼠的建模时间仅需 2~3 min。动物分笼饲养,每 4 h 观察小鼠的进食情况

与活动精神状态(除夜间 24:00 之后)。

1.4 标本采取与处理 接种后 24 h, 颈椎脱臼法处死小鼠, 75% 乙醇浸泡 30 s, 用无菌纱布吸去多余乙醇, 置于无菌操作台上解剖。打开胸腔观察肺脏大体病变并评分、拍照记录, 无菌分离肺组织, 放入含 2 mL PBS 或 4% 多聚甲醛的无菌离心管中。

1.5 肺大体病理观察 观察小鼠开胸取出肺脏的肺大体病理改变, 根据肺大体病理改变以及炎症严重程度分为 4 级<sup>[12]</sup>: ① I 级: 正常; ② II 级: 充血、肿胀、肺不张; ③ III 级: 胸膜粘连、实变或肺不张; ④ IV 级: 脓肿、出血、大面积实变或肺不张。肉眼观察肺脏大体病理改变, 存在充血、出血、脓肿等变化, 可初步判断肺部感染模型构建成功。

1.6 肺组织形态检测 取 1.4 中浸入 4% 多聚甲醛固定 24 h 处理后的肺组织标本, 经乙醇梯度脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋后切片(厚度 3  $\mu\text{m}$ ), 进行 HE 染色后, 在光学显微镜下观察肺组织形态学变化。

1.7 肺组织细菌学负荷测定 取保存于 PBS 离心管中的肺组织, 在 4  $^{\circ}\text{C}$  研磨成肺组织匀浆, 经过 70  $\mu\text{m}$  细胞网筛过滤去除较粗大的组织碎片后, 滤液经梯度稀释后从中取 100  $\mu\text{L}$  用涂布棒均匀地涂布在 LB 琼脂平板上, 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温静置培养 24 h, 计算肺组织中的细菌菌落总数(CFU)。即  $\text{CFU}/\text{mL} = \text{平板上菌落数} \times \text{稀释倍数} \times 20$ 。

1.8 统计学方法 使用 GraphPad Prism 8.0 进行作图和统计学分析, 以  $(\bar{x} \pm s)$  表示正态分布的计量资料数据结果, 数据采用 3 次独立重复试验的平均值。采用两独立样本  $t$  检验比较两组之间的差异。使用 ImageJ 计算面积, 数据采用 3 次独立重复试验的平均值。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肺大体病理改变 如图 1 所示, 本实验中测试了滴鼻接菌的效果, 使用滴鼻法和口咽滴注法, 让小鼠吸入黑墨水<sup>[9]</sup>。滴鼻法小鼠肺部被墨水浸染的面积较小, 平均浸染面积为 30.00%, 而口咽滴注小鼠肺部的浸染面积更广泛, 平均浸染面积为 63.10%, 说明该方法对肺给药更有效。接种 PA 的 A1 组和 B1 组小鼠的肺多为 IV 级病变。急性肺炎感染模型构建成功的小鼠在接种 PA 后 24 h 可见肺大体明显充血、水肿、出血; 接种 PBS 的 A3 组和 B3 组小鼠为正常肺组织外观, 见图 2。所有使用口咽滴注法接种 PA 的小鼠, 其中 3 只在感染后至少 8 h 死亡, 可能为感染过重, 纳入统计分析, 24 h 后存活 17 只, 解剖肺脏均可见不同程度肺出血、水肿, 表明全部建模成功。使用滴鼻法接种 PA 的小鼠, 其中 1 只在 1 h 内死亡, 感染时间短, 为非感染原因造成的死亡, 剔除该组数据, 24 h 后存活 19

只, 解剖肺脏仅有部分小鼠的肺脏可见不同程度肺出血、水肿, 未能全部建模成功。

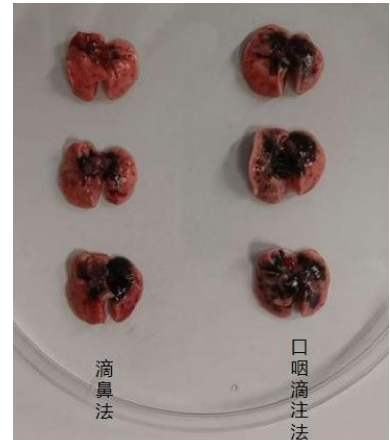


图 1 比较滴鼻法与口咽滴注法的效率

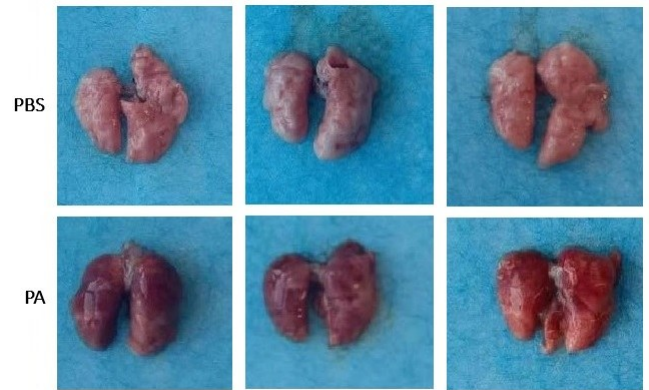
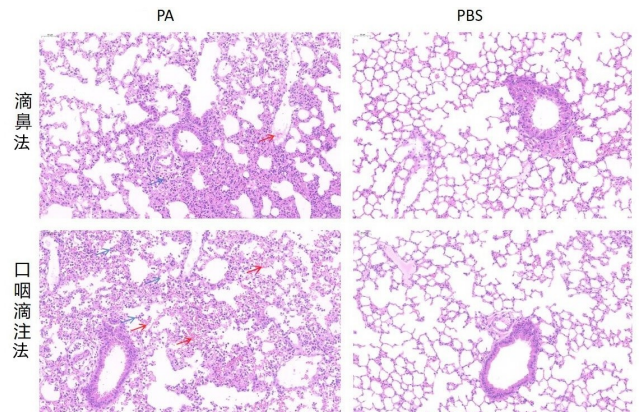


图 2 PBS 组和 PA 组肺组织大体病理改变

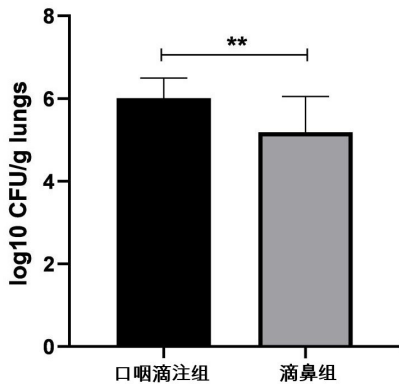
2.2 肺组织病理结果 如图 3 所示, 滴注 PA 菌液的小鼠模型组与滴注 PBS 的正常组相比, 其肺病理切片经 HE 染色后呈现急性肺炎特点, 可见肺内血管扩张充血, 肺泡腔内有大量渗出物, 以红细胞渗出和以中性粒细胞为主的炎症细胞浸润, 口咽滴注组尤为明显。



注: 蓝色箭头表示中性粒细胞浸润, 红色箭头表示红细胞渗出。

图 3 肺组织病理(HE, 标尺=50 $\mu\text{m}$ , 25.0 $\times$ )

2.3 肺组织细菌学检测 如图 4 示, A1 组和 B1 组均培养出较高浓度的 PA, 对照组 A3 和 B3 均未培养出 PA。参考构建急性肺炎成功标准, 急性肺炎模型培养出细菌量  $> 105$  CFU/g 即可证明模型构建成功<sup>[10]</sup>。按照此标准, 滴鼻法构建模型成功率为 73.68%, 口咽滴注法成功率为 100%, 高于滴鼻法。口咽滴注组菌载量显著高于滴鼻组 ( $6.00 \pm 0.48$ )  $\log_{10}$  CFU/g vs ( $5.37 \pm 0.38$ )  $\log_{10}$  CFU/g,  $P < 0.01$ 。



注: 与滴鼻组相比, \*\*  $P < 0.01$ 。

图 4 口咽滴注组和滴鼻组肺组织匀浆细菌负荷量的比较

### 3 讨论

由于肺部感染日益增加, 以细菌、病毒等居多<sup>[13]</sup>, 但抗生素使用的不规范和病原体容易发生突变导致产生耐药性<sup>[14]</sup>, 造成治疗难题。而为了解决呼吸道感染这一难题, 研究者需要借助实验动物来创造肺炎模型以求寻找更合适的药物治疗或者疫苗研发。通过呼吸道给药染菌、染毒操作的模型需求快速增长, 而小鼠是构建动物模型常用且良好的选择。虽然近年来随着各种可视化喉镜辅助, 插管成功率提高了, 但小鼠体型小, 口腔可操作空间狭小, 仍然需要多次插管才能成功<sup>[15-16]</sup>, 而多次插管容易损伤小鼠口腔黏膜, 造成黏膜水肿、分泌物增加导致窒息, 甚至导致气道穿破、软骨断裂引起漏气, 造成术后感染。所以经口气管插管操作仍然相对困难, 需要操作者练习掌握一定技术和经验才能提高成功率。大部分研究者通常采用手术法切开颈前皮肤筋膜暴露气管的气管插管操作。这种方法操作比较繁琐, 需要操作者手法娴熟, 加上麻醉深度较深, 对实验动物造成的损伤较大, 容易造成动物死亡<sup>[17-19]</sup>。也有学者使用透射灯作为光源进行引导经口直视滴注来完成造模<sup>[20]</sup>, 但透射灯所占空间比较大, 影响操作, 且需要地方固定, 对操作区域要求较高。滴鼻法作为经典建模方法, 虽然操作简便, 但成功率较低, 操作过程中小鼠可能打喷嚏或吞咽, 造成给药剂量无法准确计算, 感染程度不一致<sup>[10, 21]</sup>。其他的非手术

方式, 如气溶胶、雾化吸入法, 对实验设备要求高, 并且容易造成病原菌在空气中传播, 对环境和实验人员造成污染和伤害, 无法量化动物吸入量的问题<sup>[18, 22]</sup>。

而本实验应用冷光源发光掏耳勺和加样枪头完成的小鼠口咽滴注法具有以下优点: ①电泳加样枪头配合移液器, 操作使用简单、操作灵活、剂量准确、无样品残留, 可重复完成。加样枪头前段细长、有一定柔软度, 能进行较精细的操作, 靠近声门, 不易损伤小鼠, 对小鼠更加的安全, 是一种理想的小动物实验滴注工具; ②冷光源发光掏耳勺的冷光源不会烫伤小鼠的口腔黏膜组织, 避免了组织损伤所引起的一系列炎症反应, 前端勺柄大小恰好适合小鼠口腔, 方便伸入并作为压舌板使用, 且易获取; ③单次完成的口咽滴注实验, 使用异氟烷进行麻醉, 小鼠苏醒时间短, 可避免麻醉意外死亡。如需长时间连续性滴注实验, 可以使用戊巴比妥钠腹腔注射进行麻醉; ④冷光源照明联合加样枪头可清楚地看到声门裂的闭合状态, 能更精准定位, 将液体滴入气道。

操作的注意事项: ①为减少麻醉过深造成死亡, 需控制麻醉的深度, 观察小鼠的呼吸频率由快转慢时, 即 100~200 次/分降到 60~100 次/分, 5~10 s 后从麻醉容器中取出, 进行下一步操作; ②滴注前, 对加样枪头插管深度进行解剖观测, 大致标记插入深度; ③滴注时, 加样枪头在中线顺着上颚至咽后壁慢慢向下, 在冷光源观察下尽量靠近声门上方滴注; ④滴注过程中需持续用掏耳勺按压小鼠舌根, 防止其吞咽动作<sup>[23]</sup>, 减少滴注液进入食道, 直至全部吸入气道; ⑤吸入结束后将小鼠上门牙钩在手术线上, 悬挂 1~2 min, 使滴注液尽可能进入肺部; ⑥超过 50  $\mu$ L 体积的悬液容易导致小鼠窒息死亡。为了确保实验的成功, 通常滴注液体为 20~50  $\mu$ L, 根据不同实验的需求进行预实验摸索最佳剂量及体积。

建模成功的评定标准: ①动物一般情况观察: 感染成功的小鼠会出现精神萎靡、活动减少、摄食减少、体重减轻以及眼、口、鼻分泌物增加等现象<sup>[7]</sup>; ②肺大体病理观察: 感染成功的小鼠肺脏可见水肿、充血、出血的表现; ③病原学检测: 急性感染肺组织匀浆细菌培养阳性, 并且细菌菌落数  $> 105$  CFU/g。PA 作为多药耐药条件致病菌, 可在慢性阻塞性肺病、囊性纤维化等免疫低下患者中引起急性或慢性感染<sup>[24]</sup>, 且对现有抗生素具有高度的天然耐药性和获得性耐药性<sup>[25-26]</sup>, 这凸显了研发新型对抗策略的迫切需求。因此, 需要方便可靠的实验动物造模方法非常必要。有研究者提过, 需要优化现有的动物模型构建方法<sup>[27-28]</sup>, 以达到高效、便利的操作优势。

本实验改良的冷光源发光掏耳勺和加样枪头完成

的小鼠口服滴注法可应用在多种病原体感染小鼠肺部模型上。除了本实验中的 PA, 大肠杆菌<sup>[29]</sup>、肺孢子菌<sup>[30]</sup>、金黄色葡萄球菌<sup>[31]</sup>和肺炎克雷伯菌<sup>[32]</sup>也常用口服滴注法进行小鼠肺部感染, 因此, 该实验联合冷光源发光掏耳勺和加样枪头进行改良的方法, 也适用于其他的病原体肺炎模型, 尤其是细菌感染。

综上所述, 本实验使用常见的加样枪头和发光掏耳勺, 很好地改进和创新了小鼠肺部接种实验操作的滴注方法, 熟练这项技术只需经过数次初步的练习即可掌握并单人实施实验。因此, 应用冷光源发光掏耳勺和电泳加样枪头进行的口服气管滴注新方法可成功建立经济、操作简洁快速、安全及死亡率低、成功率高、重复性好的小鼠 PA 肺部感染模型, 能够广泛用于小鼠呼吸系统的滴注操作。这项技术可应用于其他的肺部急性细菌感染, 对深入研究各种病原体感染引起的急性肺部感染的发病机制、宿主免疫反应、宿主一病原体相互作用、病原体耐药机制和寻找、研发新的治疗策略具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] AKSAMIT T R, LOCANTORE N, ADDRIZZO-HARRIS D, et al. Five-year outcomes among U. S. bronchiectasis and NTM research registry patients[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2024, 210(1): 108-118.
- [2] ABDALLA M Y, HOKE T, SERAVALLI J, et al. Pseudomonas Quinolone signal induces oxidative stress and inhibits heme oxygenase-1 expression in lung epithelial cells[J]. *Infect Immun*, 2017, 85(9): e00176-17.
- [3] ABDI F A, MOTUMMA A N, KALAYU A A, et al. Prevalence and antimicrobial-resistant patterns of *Pseudomonas aeruginosa* among burn patients attending Yekatit 12 Hospital Medical College in Addis Ababa, Ethiopia[J]. *PLoS One*, 2024, 19(3): e0289586.
- [4] ABAVISANI M, FAZELI E, EBADPOUR N, et al. The road less traveled: unexplored targets in the quest for antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Biotechnol Adv*, 2025, 83: 108621.
- [5] 王瑜, 张定林, 冯伟, 等. 小鼠铜绿假单胞菌气管插管滴注法肺部感染模型的建立及评价[J]. *第三军医大学学报*, 2019, 41(10): 918-922.
- [6] 吕晓希, 刘姗姗, 李云炫, 等. 一种小鼠无创气管插管的方法及其应用[J]. *药科学报*, 2020, 55(6): 1187-1192.
- [7] 李夏霖, 黎俊康, 韦丽霜, 等. 气管切开法铜绿假单胞菌肺部感染动物模型的建立及评价[J]. *广西医科大学学报*, 2021, 38(3): 501-506.
- [8] 陈俭双, 朱艳慧, 胥芷灵, 等. 鼻腔滴注与气管滴注脂多糖建立小鼠急性肺损伤模型的比较研究[J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(2): 222-227.
- [9] KURODA E, MORIMOTO Y, ISHII K J. Instillation of particulate suspensions to the lungs[J]. *Bio Protoc*, 2017, 7(22): e2618.
- [10] 任彦颖, 刘莹, 费冰, 等. 铜绿假单胞菌动物感染模型的构建及研究进展[J]. *中华预防医学杂志*, 2023, 57(6): 929-934.
- [11] 杨彪, 李新鸣, 严思远, 等. 应用冷光源内窥镜和点样吸头完成的新型小鼠气管滴注法[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(4): 585-587.
- [12] JOHANSEN H K, HOUGEN H P, RYGAARD J, et al. Interferon-gamma (IFN-gamma) treatment decreases the inflammatory response in chronic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in rats[J]. *Clin Exp Immunol*, 1996, 103(2): 212-218.
- [13] 朱娟娟, 胡志军, 潘恺, 等. 153 例肺部感染患者支气管肺泡灌洗液的靶向高通量测序结果分析[J]. *安徽医学*, 2025, 46(10): 1260-1264.
- [14] ZURITA J, SEVILLANO G, SOLÍS M B, et al. *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with multidrug-resistant[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2024, 38: 332-338.
- [15] 曹婕, 高润娣, 李和权, 等. 在头戴式放大镜直视下小鼠气管插管方法的建立[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(5): 729-731.
- [16] 贾晓峰, 郭新彪. 改进型快速小鼠气管滴注法: 透射灯下经口直视滴注法研究[J]. *环境与健康杂志*, 2012, 29(3): 217-219.
- [17] 孟婕, 彭张哲, 陶立坚. 小剂量多次尾静脉注射与气管内滴注博来霉素致小鼠肺纤维化模型的比较研究[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2013, 38(12): 1228-1232.
- [18] 苑少欣, 孔雅娴, 李蕊, 等. 气管滴注法与雾化吸入法建立小鼠急性肺损伤模型及其效果比较[J]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2014, 8(2): 8-12.
- [19] HELMS M N, TORRES-GONZALEZ E, GOODSON P, et al. Direct tracheal instillation of solutes into mouse lung[J]. *J Vis Exp*, 2010(42): e1941.
- [20] 贾晓峰, 郭新彪. 改进型快速小鼠气管滴注法: 透射灯下经口直视滴注法研究[J]. *环境与健康杂志*, 2012, 29(3): 217-219.
- [21] HRAIECH S, PAPAIZIAN L, ROLAIN J M, et al. Animal models of polymicrobial pneumonia[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 3279-3292.
- [22] LIU F F, LI W L, PAULUHN J, et al. Lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats: comparative assessment of intratracheal instillation and aerosol inhalation[J]. *Toxicology*, 2013, 304: 158-166.
- [23] BERGAMINI G, PERICO ME, DI PALMA S, et al. Mouse pneumonia model by *Acinetobacter baumannii* multidrug resistant strains: comparison between intranasal inoculation, intratracheal instillation and oropharyngeal aspiration techniques[J]. *PLoS One*, 2021, 16(12): e0260627.

- DRG neurons in a mouse model of Parkinson's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2024, 459: 114787.
- [13] CHEN Y, LONG C, YANG L. Isolation and whole-cell patch-clamp recording of hippocampal microglia from adult mice[J]. *J Vis Exp*, 2024(211): e67315.
- [14] CARTNER S C, BARLOW S C, NESS T J. Loss of cortical function in mice after decapitation, cervical dislocation, potassium chloride injection, and CO<sub>2</sub> inhalation[J]. *Comp Med*, 2007, 57(6): 570-573.
- [15] ROUSTAN A, PERRIN J, BERTHELOT-RICOU A, et al. Evaluating methods of mouse euthanasia on the oocyte quality: cervical dislocation versus isoflurane inhalation[J]. *Lab Anim*, 2012, 46(2): 167-169.
- [16] LEE M, PARK J, CHO W, et al. *Lactuca sativa* L. extract enhances sleep duration through upregulation of adenosine A1 receptor and GABA(A) receptors subunits in pentobarbital-injected mice[J]. *J Med Food*, 2024, 27(7): 661-668.
- [17] SAHIN K, GENCOGLU H, KORKUSUZ A K, et al. Impact of a novel valerian extract on sleep quality, relaxation, and GABA/serotonin receptor activity in a murine model[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(6): 657.
- [18] SHIN M C, WAKITA M, IWATA S, et al. Comparative effects of pentobarbital on spontaneous and evoked transmitter release from inhibitory and excitatory nerve terminals in rat CA3 neurons[J]. *Brain Res Bull*, 2013, 90: 10-18.
- [19] OUYANG W, HEMMINGS H C. Depression by isoflurane of the action potential and underlying voltage-gated ion currents in isolated rat neurohypophysial nerve terminals[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 312(2): 801-808.
- [20] TORTURO C L, ZHOU Z Y, RYAN T A, et al. Isoflurane inhibits dopaminergic synaptic vesicle exocytosis coupled to Ca(V)<sub>2</sub>. 1 and Ca(V)<sub>2</sub>. 2 in rat midbrain neurons[J]. *eNeuro*, 2019, 6(1): ENEURO. 0278-ENEURO. 0218. 2018.

收稿日期: 2025-06-19; 修回日期: 2025-08-10

(本文编辑 覃洪含)

(上接第 17 页)

- [24] QIN S G, XIAO W, ZHOU C M, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 199.
- [25] WOOD S J, KUZEL T M, SHAFIKHANI S H. *Pseudomonas aeruginosa*: infections, animal modeling, and therapeutics[J]. *Cells*, 2023, 12(1): 199.
- [26] 王林, 张再青, 陈方舟, 等. 高毒力且高耐药铜绿假单胞菌感染小鼠肺炎模型的构建与特征分析[J]. *军事医学*, 2024, 48(2): 101-107.
- [27] SU X, LOONEY M, ROBRIQUET L, et al. Direct visual instillation as a method for efficient delivery of fluid into the distal airspaces of anesthetized mice[J]. *Exp Lung Res*, 2004, 30(6): 479-493.
- [28] ABAVISANI M, FAZELI E, EBADPOUR N, et al. The road less traveled: unexplored targets in the quest for antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Biotechnol Adv*, 2025, 83: 108621.
- [29] SU X, JOHANSEN M, LOONEY M R, et al. CD47 deficiency protects mice from lipopolysaccharide-induced acute lung injury and *Escherichia coli* pneumonia[J]. *J Immunol*, 2008, 180(10): 6947-6953.
- [30] 邓书伟, 杜春静, 张玥, 等. 肺孢子菌肺炎小鼠模型建立及免疫学评价[J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(1): 20-26.
- [31] 赵玥, 周冬生, 杨文慧, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染小鼠致肺炎的模型构建与特征分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2023, 39(5): 447-454.
- [32] 符顺丹, 符青, 符意雄. 连翘苷对肺炎克雷伯菌感染的肺炎小鼠的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(18): 2463-2467.

收稿日期: 2025-09-22; 修回日期: 2025-11-14

(本文编辑 钟琳)