维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2000年第9卷第1期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2000, Vol.9, No.1

原发性肝泡球蚴动物模型的建立

张金辉* 温 浩 刘章锁* 苗玉清**

【摘 要】 **目的** 模拟包虫病自然感染途径，建立原发性肝泡球蚴(*Echinococcus multilocularis*，E.m)动物模型。**方法** 采用开腹直视下肝穿刺注射、经皮肝穿刺注射和门静脉系侧支血管穿刺注射E.m组织混悬液的方法，制备原发性肝E.m泡球蚴动物模型，并以腹腔穿刺接种制备继发性动物模型作为对照。**结果** 大鼠的肝脏E.m感染率根据种植方法依次为60%，62.5%，和6.4%，腹腔穿刺对照组为46.7%。长爪沙鼠肝脏的E.m感染率依次为90.9%，95.5%，和38.5%，腹腔穿刺对照组为90.9%。**结论** 开腹直视下肝穿刺，经皮肝穿刺和门静脉系侧支血管穿刺均可制备原发性肝脏E.m动物模型，其中以经皮肝穿刺注射法较门静脉注射法更为简便，并发症较少，而且感染率较高。

【关键词】 泡状棘球蚴 肝脏 动物模型 原发性感染

Establishment of animal model for primary echinococcus multilocularis infection *Zhang Jinhui, Wen Hao, Liu Zhangsuo, et al. Dept. of General Surgery and Hydatid Research Unit, The First Teaching Hospital, Xinjiang Medical University, Urumuqi 830000*

【**Abstract**】 **Objective** *Echinococcus multilocularis* (E.m) animal model for primary infection in liver has been established for imitation a natural infection with 88 Wistar rats and 136 gerbils. **Methods** E.m suspension was injected through three paths to establish primary E.m model as follows (1) abdominal opening injection, (2). percutaneous transhepatic inoculation, (3). superior mesenteric vein inoculation. And secondary infection model by peritoneal injection as control. **Results** E.m infection rates in Wistar rats were 60% in group (1), 62.5% in group (2), 6.4% in group, (3), and 46.7% in control group. 90.9%, 95.5%, and 38.5% of E.m infection rates were obtained in experimental gerbils with 90.9% in control group. **Conclusion** A primary E.m animal model can be established by above three methods. Percutaneous transhepatic inoculation was easier performed, and had high infection rate than that of superior mesenteric vein inoculation.

【**Key words**】 Echinococcus multilocularis Animal model Primary infection

包虫病是一种严重的人畜共患性疾病，呈世界性分布，遍及五大洲。我国21个省市自治区均有报道，包虫病的化疗，作为一种近10年来发展很快的辅助治疗手段，目前尚缺乏理想的药物。动物模型的制备，尤其是模拟自然感染途径，是进行包虫病研究的基础。据文献报道[1]，约70%的包虫病例发生于肝脏，为主要的病变部位。药物的分解代谢亦位于肝脏，肝包虫病的肝移植治疗，不失为一种有效的治疗途径，国外已进行多年，国内仍属空白。因此，模拟出肝脏原发性病理模型，有利于我们更准确地进行药物筛选，药物疗效的判定及肝移植等基础实验研究。

材料与方法

一、实验方法：健康Wistar大鼠97只，1～3个月，体重100～200g，长爪沙鼠136只，1～3个月，体重40～80g(新疆医科大学动物中心提供)，种鼠为3只昆明鼠，体重分别为60g、45g和38g(由新疆医科大学寄生虫教研室提供)。无菌条件下离断颈椎将种鼠处死，取出新鲜泡球蚴组织，去除中央部坏死组织，称重，剪碎，碾磨，过筛，制成细小组织匀浆，用生理盐水冲洗，沉淀，反复三次，漂洗坏死组织及血细胞成份，最后加无菌生理盐水，制成浓度约为20%的混悬液，加入0.1g氨苄青霉素，准备接种。

二、接种剂量及部位：Wistar大鼠和长爪沙鼠每只为0.1ml 20%混悬液(表1)。

1.开腹直视肝脏穿刺接种：乙醚麻醉，酒精消毒上腹部皮肤，开腹约0.5cm，直视下7号针头右肝叶穿刺，注入混悬液，然后用TH医用粘合胶肝表面粘合止血(广州白云医用胶研究所508系列)，丝线缝合关闭腹腔。

2.经皮肝穿刺接种：乙醚麻醉，取右侧肋缘下中点为穿刺点，局部消毒，针头斜向左肩部，进针深度1～1.5cm。用7号针头注入混悬液。

3.门静脉系侧支血管(回盲部静脉)穿刺接种：乙

* 作者单位：830000 乌鲁木齐市新疆医科大学附属第一医院普外科
** 动物实验室

维普资讯 http://www.cqvip.com

醚麻醉，酒精消毒右下腹部皮肤，开腹约2cm，暴露回盲部静脉血管，选择合适静脉，用4.5号针头穿刺，推注混悬液，再用TH胶粘或丝线结扎，关腹。

4.腹腔穿刺接种：右下腹酒精消毒，7号针头穿刺进腹腔，注入混悬液。

表1 感染动物种类和E.m种植方式

	开腹直视肝穿刺组	经皮肝穿刺组	回盲部静脉穿刺组	腹腔穿刺对照组
Wistar大鼠	10	15	47	15
长爪沙鼠	25	30	56	25

结 果

接种后3个月解剖大鼠和沙鼠，四种不同接种方式及不同部位之感染率，见表2～3。感染鼠泡球蚴的重量见表4。

表2 原发性肝E.m动物模型的感染率(%)

	开腹直视肝穿刺组	经皮肝穿刺组	回盲部静脉穿刺组	腹腔穿刺对照组
Wistar大鼠*	60(6/10)	87.5(10/16)	6.3(3/47)	46.7(7/15)
长爪沙鼠△	90.9(20/22)	95.5(21/22)	38.5(5/13)	90.9(20/22)

注：*：△(总体感染率)：$P<0.01$

表3 不同器官E.m病灶感染发生率(%)

	开腹直视肝穿刺组		经皮肝穿刺组		门静脉系侧支穿刺组		腹腔穿刺组	
	大鼠	沙鼠	大鼠	沙鼠	大鼠	沙鼠	大鼠	沙鼠
肝脏	72.7(8/11)*	86.4(19/22)	66.7(10/15)*	54.5(12/22)	6.3(3/47)	38.5(5/13)	21.0(3/14)	77.3(17/22)
肺脏	45.5(5/11)*	68.2(15/22)	26.7(4/15)*	77.3(17/22)	2.1(1/47)	30.8(4/13)	0(0/14)	18.2(4/22)
腹腔	18.2(2/11)*	86.4(19/22)	13.3(2/15)*	27.3(6/22)	0(0/13)	35.7(5/14)	35.7(5/14)	86.4(19/22)

注：*：$P<0.05$ vs control

表4 E.m病灶组织的重量观察(克)

	开腹直视肝穿刺接种组	经皮肝穿刺接种组	回盲部静脉系穿刺接种组	腹腔穿刺接种对照组	$x \pm s$
长爪沙鼠	18.3±14.9	8.7±9.1	22.0±18.7	8.5±0.1	25.4±14.4
大鼠	2.8±3.9	0.4±0.3	0.6±0.4	1.3±0.7	1.3±1.4

讨 论

理想动物模型的制备是各项研究的基础。Y.Sato为研究E.m引起的肢体瘫痪，制作了脑部E.m动物模型[4]。免疫诊断、药代学、药效学等的研究，需要摸拟出自然感染途径的原发性肝泡球蚴动物模型[5]，该实验研究亦基于对药物的筛选。腹腔穿刺接种方法是目前较常用的继发性E.m动物模型制备方式，但有一定的局限性，其病灶主要生长在腹腔和盆腔，不能很好地反映肝脏原发病灶的生长情况，无法准确表达肝脏对药物的吸收、分解及代谢状况。开腹直视肝穿刺及经皮肝穿刺接种方法获得了较理想的结果，是目前较成熟的方法。本实验肝脏的接种感染率分别达到了大鼠67.6%和沙鼠70.5%。与对照组相比大鼠的肝脏感染率有显著性差异，沙鼠不显著，考虑为其太易感染E.m，造成统计学上的无差异性。开腹直视肝穿刺接种需麻醉动物并打开腹腔，增加了接种的复杂性。门静脉系侧支血管穿刺接种方法模拟自然感染途径，Sahin

维普资讯 http://www.cqvip.com

1997年报道接种细粒棘球蚴获得成功[2]，我们采用此法接种E.m，虽可获得E.m感染成功，但感染率较低，长爪沙鼠为38.5%，大鼠仅仅为6.3%。分析导致低感染率的主要原因是，穿刺门静脉系侧支血管只能用较细针头(4.5#)，稍大泡球蚴组织块无法通过，因此，影响了接种E.m混悬液的浓度，再者，因死亡率较高，也影响了感染率。动物死亡的主要原因，近期为麻醉、出血、肠缺血坏死等，尤以长爪沙鼠明显、Wistar大鼠为10.2%(9/88)，长爪沙鼠为41.9%(5)7/137)。长爪沙鼠非常活跃，易撕咬伤口、肠壁血管较细、脆、较易出血及肠坏死。远期并发症为肠粘连、肠梗阻，肺部长满泡球蚴造成呼吸衰竭以及营养衰竭、饲养环境较差等。

本实验的目的是建立原发性肝泡球蚴动物模型。Wistar大鼠的感染率，肝穿刺接种，肝脏的感染率达到了61.25%。长爪沙鼠的感染率，肝穿刺接种，肝脏的感染率达到93.2%。肝穿刺接种，肝脏的原发性病灶感染率均远远高于其它方法接种。因此，用此方法接种的大鼠肝脏原发性E.m模型是作为鼠肝肝E.m病移植的理想模型。长爪沙鼠模型，因其体积较小，耐受力差，不适于作肝移植模型，但非常适于作为实验性化学治疗等实验研究。经皮肝穿刺接种不失为一种简便易行的获得原发性肝E.m动物模型的方法。

肺部E.m动物模型的意外获得，为我们建立该模型提供了思路，估计可能是因为E.m混悬液经穿刺入肝后，进入肝窦，并随血循环在肺部着床，Wistar大鼠的肺部感染率是肝部感染率的一半，长爪沙鼠二者几乎相等。腹腔穿刺接种对照组的肺部感染率Wistar大鼠为0，长爪沙鼠为18.1%，可能是因为E.m组织较难进入血循环的原因。

参 考 文 献

1. Sahin M. Experimental hydatid disease of liver. Eur J Clin Invest, 1997, 27(6): 537 - 538.
2. Sato Y, Experimental infection of larval echinococcous multilocularis in the rodent brain as a model for cerebral alveolar echinococcosis. J Helminthology, 1998, 72: 59 - 64.
3. Hao Wen. Public heath importance of cyctic echinococcosis in China. Acta Tropica, 1997, 67: 133 - 145.
4. 王静珍. 泡球蚴动物模型的研究. 地方病通报, 1988, 1: 37 - 40.
5. 赵 耘. 包虫病动物模型的建立. 中国兽医科技, 1997, 27(9): 19.

(收稿:1999-05-04)

·个 案·

一种脱蜡新方法——煮沸二甲苯脱蜡法

徐 飞* 王亚丽* 汤金梁*

常规石蜡制片时，其烤片脱蜡过程至少需要30～40分钟，现在我科介绍一种新方法、只需3～5分钟。

一、材料与方法

1. 材料：直径为12cm、功率为500W的不锈钢电热杯一个，二甲苯30～40ml，染色架一个。

2. 方法：在切片前将30～40ml二甲苯倒入电热杯中，盖好杯盖，再在杯盖上铺上一块湿毛巾，然后通电加热，此时开始切片。将切好的切片放入染色架中，揭开杯盖，将染色架放入已煮沸的二甲苯电热杯中，再盖好杯盖，同样在盖上铺上湿毛巾，继续通电加热。3～5分钟后，断电，取出染色架、同样盖好杯盖使其二甲苯在封闭条件下自然冷却。切片在二甲苯→酒精Ⅰ→酒精Ⅱ→酒精Ⅲ中过一遍后常规染色。

二、结果

1. 此方法脱蜡的切片其染色结果和常规烤片10～15分钟→二甲苯Ⅰ10分钟→二甲苯Ⅱ10分钟→酒精Ⅰ→酒精Ⅱ→酒精Ⅲ、染色后的染色效果一样。

2. 此方法既经济简便，又快速高效、不失为快速石蜡制片的一种好方法。

三、注意事项

1. 此方法中使用电热杯加热二甲苯时盖上一定要铺上一块湿毛巾，或用带有螺丝口的杯盖盖电热杯，以免二甲苯逸出，污染实验室。

2. 加热二甲苯时，周围不能有明火，特别是燃烧着的酒精灯，以防止二甲苯燃烧。

(收稿:1999-08-30)

* 作者单位:400037 重庆市第三军医大学新桥医院病理科