DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.06.029
第17卷第6期 第三军医大学学报 Vol,17,No.6
1995年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec.1995

气管穿刺注射肺炎球菌建立动物OPSI模型的研究

技术与方法

The research of establishing OPSI animal model by intratracheal injection of pneumococci

雷 新 陈维佩 (第三军医大学基础部外科应用解剖与手术学教研究)重庆,630038

肺炎球菌是脾切除后凶险性感染(Overwhelming postsplenectomy infection,OPSI)的一种最常见病原菌[1],它是经呼吸道侵入机体,如细菌量大,毒力强,机体抵抗力下降时,细菌就可进入血流。以往国内文献报告进行肺炎球菌感染的动物实验时,多采用静脉或腹腔内注射建立败血症的模型,本文通过气管内以攻击肺炎球菌的方法造成动物模型并成功地应用于脾切除和脾移植的OPSI实验中,现将技术方法及其结果介绍如下。

1 材料与方法

1.1 菌种

Ⅰ型肺炎球菌,北京药品生物检验所出品,批号31002干燥菌种。

1.2 菌液的制备

为了保持和增强肺炎球菌的毒力,把干燥菌种血平板复苏后,经过3次小鼠腹腔转种,然后把细菌直接用一定量生理盐水从小鼠腹腔中洗出,配成不同浓度A(OD值)的菌液,血平板准确计数其菌落数。

1.3 正常大鼠LD_{50}

用乙醚将大鼠轻度麻醉后,固定,颈部消毒,迅速显露气管上段,用制备菌液进行气管内穿刺缓慢注射之后,观察其病程及死亡率,通过多次实验后,确定正常大鼠LD_{50}为6×10^7 CFU/ml浓度的菌液0.3 ml,且死亡大鼠均为肺炎球菌败血症。

1.4 动物分组

实验用Wistar大鼠60只,体重150~200 g,把动物随机分为:①假手术组;②脾切除组;③25%脾重量自体脾移植组(脾组织移植入大网膜中);④40%脾移植组;⑤60%脾移植组;⑥80%脾移植组。手术均在无菌条件下进行。

2 结果

各组动物术后6月,每组取6~10只动物,用上述方法进行肺炎球菌呼吸道途径攻击,不作任何治疗,然后观察各组动物13 d内的存活率及存活时间,从细菌攻击后12~84 h,每隔6 h各组动物尾静脉取一滴血滴入1 ml生理盐水中,经血平板培养,观察其出现菌血症的时间,另观察动物出现败血症到死亡之间的时间间隔,濒死动物在无菌条件下从心脏取血接种于血平板上培养,改良的Hiss荚膜染色鉴定[2],以确认是否为肺炎球菌败血症而死亡,再取脾、移植脾,肺等器官作HE染色病理检查。

各组动物感染肺炎球菌4 h后即出现精神差,活动少,食欲减退,毛发竖立,呼吸急促,呈典型肺炎性"蛙叫"样呼吸,脾切除组大部分动物在24h以内出现肺炎球菌败血症,但84 h以后各组动物均出现败血症,13 d后全部存活动物经血培养证实已无细菌生长。死亡动物血培养亦表明为肺炎球菌败血症,肺脏组织学检查见肺泡壁充血,内有弥漫性出血,肺间质有支气管周围炎。

在各组动物中,脾切除组动物出现败血症时间早,48 h内死亡大半,从患败血症到死亡时的时间间隔短,发病急,病情重,尸检大鼠呈典型肺炎表现,与临床OPSI病例相似。而假手术组和各脾移植组动物出现败血症时间较脾切除动物晚,死亡时间间隔长,存活率均高于脾切除组(见附表、附图)。

附表 各组动物存活率的比较

组 别	存 活 率
假手术组	89% (8/9)※
80%脾移植组	100% (8/8)△
60%脾移植组	75% (6/6)※
40%脾移植组	80% (8/10)※
25%脾移植组	50% (3/6)●
脾切除组	33%(2/6)

与脾切除组比较,△:$P<0.01$;※:$P<0.05$;●:$P>0.05$

3 讨论

3.1 肺炎球菌的保存及菌液的制备

肺炎球菌是一个易自溶,荚膜易丧失,毒力易减弱的一种细菌,如用血清肉汤直接增菌,则细菌毒力往往不够,常不足以致死动物,特别是从呼吸道途径攻击。有效的方法是将细菌经小鼠腹腔多次转种后,直接用

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

生理盐水洗出，配成菌液，但每次转种时细菌注射量和洗菌用的生理盐水量要严格固定掌握。

3.2 选择肺炎球菌攻击的合理途径

1952年King等首先报道脾切除后患者易发生暴发性感染，其中多半是肺炎球菌引起，感染途径主要是通过呼吸道进入血液循环，因此，呼吸道是第一道防线。为结合临床实际，肺炎球菌从呼吸道途径攻击，反映了肺炎球菌侵入机体的正常途径，较之静脉，腹腔内注射合理，因静脉注射使细菌直接入血，经血嗜中性粒细胞、单核细胞的处理，绕过了肺脏巨噬细胞，而腹腔内注射，细菌也经腹腔巨噬细胞处理后，经门脉吸收入肝而不是首先经肺。文献曾报道不同细菌攻击方式对其结果也有明显差异[3]，一定量细菌攻击后，经腹腔注射后动物死亡率低，而经静脉注射可致全部死亡，这也解释Schwartz在实验中得出自体脾移植对肺炎球菌感染没有保护作用的截然相反的结果[4]。

3.3 气管穿刺注射菌液为有效的呼吸道攻击方式

在经呼吸道途径攻击的方式中，国外文献报道有鼻腔细针注射细菌、密闭定流量细菌喷雾箱、不显露气管进行气管穿刺及气管切开细菌注入等办法[5]。我们认为鼻腔注射时，如动物麻醉浅则菌液外溢，效果不确切；经皮直接穿刺则难度较大，技术不易掌握；气管切开则对机体有一定损伤；定流量细菌喷雾箱则设备较复杂。本文采用显露气管上段直视下气管穿刺则操作简便易行，剂量易掌握，效果较好，但注射菌液量不宜过大，否则动物易把菌液咳出。

关键词 疾病模型，动物；肺炎球菌

中图法分类号 R363

参考文献

1 Holdsworth RJ, Irving AD, Cuschieri A. Postsplenectomy sepsis and its mortality rate: actual versus perceived risks. Br J Surg, 1991; (78)9: 1031

2 刘启富，胡承香. 一种新的细菌荚膜染色法. 第三军医大学学报，1993；15(4)：361

3 Holdsworth RJ. Regeneration of the spleen and splenic autotransplantation. Br J Surg, 1991; 78(3): 270

4 Schwartz AD, Goldthorn JF, Winkelstein JA et al. Lack of protective effect of autotransplanted splenic tissue to pneumococcal challenge. Blood, 1978; 51(3): 475

5 Livingstone CD, Levine BA, Sirinek KR. Protection from pulmonary sepsis afforded by splenic autotransplants. Surg Forum, 1992; 33; 31

(收稿：1994-11-22；修回：1995-09-20)

前牙冠根折的自体牙冠再接术

Autogenous crown rejoining for root fracture of anterior teeth crown

师幼兰 于一心 (第三军医大学附属西南医院口腔科) 重庆，630038

前牙外伤或病理性牙折，常引起前牙冠根折或牙冠缺失。传统方法是将折断的牙冠拔除，保留牙根，再行根管治疗，然后作桩冠修复。笔者自1992年来采用自体牙冠修复牙折牙齿，并用方丝托槽粘接固定外伤松动牙，几年来共治疗12例、15个牙齿，取得满意效果。

1 临床资料

本组患者12例，男7例、女5例，年龄20～59岁，12例中中切牙9个，侧切牙6个。其中病理性冠折3个；外伤致冠折、冠脱位但根牢固4个；外伤致冠折、冠脱位但根牢固4个；外伤至根折但冠根未分离者3个；冠折合并根折冠未脱位者5个。X光照片示根尖部均无破坏。

2 治疗方法

2.1 清理伤口

查看牙齿及牙龈有无明显出血，牙龈组织有无撕伤等，并处理。

2.2 X光照片

了解牙折情况及根尖周有无病变。

2.3 冠折的处理

病理性冠折及外伤于牙颈部冠折且冠脱位者，取断下之牙冠清洗、然后放入3%双氧水溶液中浸泡30～60 min后再清洗，然后磨去牙冠舌面牙体组织及舌面部分牙颈部组织，备用。牙根作根管预备，后根尖部牙胶尖充填，置入桩钉作自体牙冠桩冠修复。

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