

# 内脏利什曼病鼠动物模型建立之探讨

马莹, 陆小军

(四川大学华西医院实验医学科, 成都 610041)

关键词: 动物模型; 内脏利什曼病; 资料

中图分类号: Q95-33 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083(2006)01-0174-02

内脏利什曼病是威胁病人生命的人兽共患病。近年来, 全世界内脏利什曼病的发病人数约为每年 50 万, 患病人数约 250 万<sup>[1]</sup>。在我国, 虽然解放后此病流行得到了很好的控制, 但是甘肃、四川、新疆等地的新发病例从未间断, 并且近年来又有扩大蔓延的趋势。在对内脏利什曼病治疗和预防的研究中, 动物模型是不可缺少的实验工具, 但其建立有一定的难度。在此, 我们将建立内脏利什曼病动物模型的资料进行了整理, 以供参考。

选用的动物两种, BALB/c 小鼠及金地鼠。

BALB/c 小鼠为近交系小鼠, 金地鼠为普通实验动物, 两者均被认为对利什曼原虫敏感。根据选用动物种类、病原体形态、感染数量及感染途径的不同, 分成以下 6 个实验组(表), 每组 3 只实验动物。感染后 5 周, 处死实验动物, 用 LDU 计数法计算出每只鼠脾内寄生的虫数<sup>[2]</sup>, 即取脾脏印片, 经瑞氏染色后镜检, 计数 1000 个细胞核和这些视野中的无鞭毛体数, 按下述公式分别求出脾脏内的无鞭毛体总数(LDs)。

$$LDs = \frac{\text{无鞭毛体数}/1000 \text{ 细胞核}}{1000} \times \text{脏器重量 (mg)} \times 2 \times 10^5$$

| 实验动物      | 感染病原体形态          | 感染数量                | 感染途径 | 脾脏虫数 (log10) |
|-----------|------------------|---------------------|------|--------------|
| BALB/c 小鼠 | 液氮保存的前鞭毛体复苏后扩大培养 | 1 × 10 <sup>8</sup> | 腹腔   | 未检出虫体        |
| BALB/c 小鼠 | 液氮保存的前鞭毛体复苏后扩大培养 | 5 × 10 <sup>6</sup> | 尾静脉  | 未检出虫体        |
| BALB/c 小鼠 | 液氮保存的前鞭毛体复苏后扩大培养 | 1 × 10 <sup>8</sup> | 尾静脉  | 未检出虫体        |
| BALB/c 小鼠 | 新鲜分离的前鞭毛体复苏后扩大培养 | 1 × 10 <sup>8</sup> | 尾静脉  | 未检出虫体        |
| BALB/c 小鼠 | 新鲜分离的无鞭毛体        | 1 × 10 <sup>8</sup> | 尾静脉  | 4.90         |
| 金地鼠       | 新鲜分离的无鞭毛体        | 5 × 10 <sup>6</sup> | 腹腔   | 8.44         |

从国外文献报道来看, 几乎均采用 BALB/c 小鼠为利什曼病的动物模型, 内脏利什曼病采用前鞭毛体尾静脉感染, 数量多为 10<sup>6</sup>, 而皮肤利什曼病则用前鞭毛体感染小鼠的足垫。但我们的实验结果显示, BALB/c 小鼠对我国内脏利什曼病的病原体杜氏利什曼原虫 (*Leishmania donovani*) 并不敏感。无论是液氮保存还是新鲜分离的前鞭毛体, 无论采用经腹腔还是经尾静脉感染, 即使感染数量已经大到 10<sup>8</sup>, 也无法成功建立起内脏利什曼病的动物模型。有学者提出, 体外培养的前鞭毛体可能由于丧失了某些因子而降低了感染性。所以我们又用无鞭毛体 (1 × 10<sup>8</sup>) 通过尾静脉感染 BALB/c 小鼠。虽然最后在小鼠的脾脏检获虫体, 得到脾脏的虫荷数为 10<sup>4</sup>, 但事实上小鼠的感染程度极低, 计数 1000 个细胞核和这些视野中的无鞭毛体数往往

只有 1~2 个, 如此低的感染度是很难准确地对后续实验的结果进行客观评价的。所以, 我们认为 BALB/c 小鼠并非研究我国内脏利什曼病的理想动物模型。此结论也与某些国外学者的观点相一致。但同时我们也发现, BALB/c 小鼠对于皮肤利什曼病的病原体如 *L. major* 还是敏感的, 以前鞭毛体感染小鼠的足垫即可建立起皮肤利什曼病的动物模型。

在以 BALB/c 为动物模型不理想的情况下, 我们以金地鼠进行了实验, 结果显示以无鞭毛体腹腔感染即可获得较好的结果。这一结果也与我们之前的实验经验相一致。因而对于药理实验及药品鉴定等, 完全可以采用金地鼠为动物模型。但由于金地鼠非近系鼠, 不适用于疫苗评价等实验。所以, 内脏利什曼病动物模型的建立尚需进一步探索。

## 参考文献

[1]Boelaert M, Criel B, Leeuwenburg J, et al. Visceral leishmaniasis control: A public health perspective [J]. Trans R Soc Trop Med

Hyg, 2000, 94 (4): 465~71.

[2]Stauber LH, Franchino EM, Grun J. An eight-day method for screening compounds against *Leishmania donovani* in the golden hamster [J]. J Protozool, 1958, 5: 269~273.

(上接第 170 页)

醉<sup>2</sup>，但显效时间稍长，麻醉效果中等。该方法主要优点是廉价方便，但可能出现动物心率下降和因水合氯醛对静脉的刺激导致耳部溃烂<sup>3</sup>。采用氯胺酮肌注加戊巴比妥钠腹腔麻醉，容易出现呼吸抑制，麻醉中 4 只动物有 1 只因呼吸抑制导致死亡，而且这种方法麻醉持续时间长，从用药开始到完全清醒大约需要 6 小时，手术后动物有较长时间的嗜睡期，影响动物术后采食。

猪的皮肤创伤处理过程中需要多次换药，这就需要一种快速有效，易苏醒，对猪的生理影响小的麻醉方法。本实验中采用 3 种麻醉方法，氯胺酮加戊巴比妥钠肌注组显效时间 20 分钟左右，持续时间约一个小时，这种方法可以根据换药时间要求决

定是否追加戊巴比妥钠的量，麻醉效果优良、安全。单纯戊巴比妥钠腹腔组起效较慢，持续时间较长，而且容易出现呼吸抑制。张天飞等人比较 3% 戊巴比妥不同给药途径对贵州小型猪的麻醉效果，也认为肌注是一种安全可靠的方法<sup>1</sup>。单纯使用氯胺酮麻醉起效快，但持续时间短，用量较大，麻醉效果不佳。

## 4 参考文献

[1]张天飞, 蒋登金, 左艳芳, 等. 贵州小型香猪麻醉方法的比较研究[J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14 (2): 112~114.

[2]杨小玲, 李尧清, 田英. 水合氯醛在猪外科实验中的麻醉效果[J]. 四川动物, 2001, 20 (3): 165~166.

[3]熊忠良, 李文化, 郑新民, 等. 戊巴比妥钠和水和氯醛对猪的全身麻醉[J]. 湖北畜牧兽医, 1999, (5): 7~9.

## 《四川动物》杂志第七届编委会 (依姓名拼音为序)

名誉主编: 赵尔宓

主 编: 岳碧松

副 主 编: 刘少英 彭 成 田裕中 王跃招 魏银松 张安居 张和民 张志和

编 委: 丁瑞华 费立松 冯文和 高 荣 郭 聪 龚继恩 侯 蓉 胡锦涛 黄 炎

李德生 李桂垣 冉江洪 石安静 王 强 王鸿加 王酉之 吴先智 谢幼新

杨 文 尹海林 曾晓茂 曾宗永 邹方东

## SICHUAN JOURNAL OF ZOOLOGY EDITORIAL BOARD

Honorary Editor-in-Chief: ZHAO Er-mi

Editor-in-Chief: YUE Bi-song

Deputy Editor-in-Chief: LIU Shao-ying PENG Cheng TIAN Yu-zhong WANG Yue-zhao WEI Yin-song  
ZHANG An-ju ZHANG He-ming ZHANG Zhi-he

Members: DING Rui-hua FEI Li-song FENG Wen-he GAO Rong GUO Cong GONG Ji-en HOU Rong

HU Jin-chu HUANG Yan LI De-sheng LI Gui-yuan RAN Jiang-hong SHI An-jing

WANG Qiang WANG Hong-jia WANG You-zhi WU Xian-zhi XIE You-xin YANG Wen

YIN Hai-lin ZENG Xiao-mao ZENG Zong-yong ZOU Fang-dong