

血吸虫感染鼠肝灌注成虫术的点滴经验*

王大坤 管晓红

(南京医学院寄生虫学研究室)

摘要 本文从处死动物方式、插管部位的选择,灌注液的选择、挑破肝门血管的时机和灌注过程中的配合手法等方面,介绍从血吸虫感染鼠肝脏灌注成虫的技术经验。

在血吸虫免疫学,生物学等研究中,考核抗血吸虫药物疗效,评价疫苗主动免疫或单克隆抗体被动保护的效果及制备成虫抗原等均需采用肝灌注成虫术,除制备成虫抗原外,其它几个项目的研究均要求有较准确的成虫收获数,若以较大的动物(如兔)为模型,易于达到此要求,但对上述目的的研究大多是选择小鼠为研究模型,而以小鼠为模型研究时,成功地灌注将受到多种因素的影响。近来,我们在以 C₅₇BL/6 和昆明鼠为模型研究自制单克隆抗体被动保护效力的试验中,进行了大量感染鼠肝灌注成虫术,从中积累了几点经验,现介绍如下:

(一) 处死动物的方式 一般惯用拉颈法处死小鼠。我们从实践中发现,该处死法的最大缺点是易于造成胸腔内血管破裂,致死灌注液外漏,给灌注带来极大的困难。为此我们选用乙醚深麻醉法处死受试动物,避免了这一问题。此外,若此死之前,需采集感染鼠血液时,切忌摘眼球,最好的采血方式是取一细塑料管,将其一端剪一斜口,将此端插入眼内眦,即可流畅放血,不致留下大创口。

(二) 插管部位的选择 由于小鼠血管较细,难以按感染鼠肝灌注成虫术的方式进行。据我们摸索,对小鼠行肝灌注术,较理想的插管部位是左心室,其主要优点是易于观察和准确插入。其简要过程是:打开胸腔,暴露心脏,可见心尖部两侧肌肉呈现不同的色泽,一侧为暗红色,此即右心室,一侧略带一点灰色,此即左心室,

用两手指轻轻稳住搏动的心脏,将小儿头皮针插入左心室,略推入少量液体,待心室充盈膨胀后,再固定好针头,进行灌注。检查灌注液是否进入大循环的主要标准是观察动物两后肢是否不停抖动,抖动即表示插针部位正确,否则,应适当调整插入针头的深浅位置,直至后肢出现抖动。

(三) 灌注液的选择 灌注液最好选用自来水。在低渗溶液条件下,使血球溶解,防止灌注的成虫被血块裹住而难以计数。在灌注时,先用一尼龙网小筛收集灌注出的成虫,灌注结束后,再用一毛笔轻轻将筛内的成虫粘入等渗溶液中备用。

(四) 挑破肝门血管的最佳时机 液体灌入鼠体后,用手轻轻拨开肠管,暴露肝门,当肝门静脉血管充盈,肝叶也开始充盈,膨大时,即可用针挑破血管,此时,血管内 50% 左右的成虫均会在这一瞬间灌出。

(五) 灌注过程中的配合手法 灌注是在高水压条件下进行的,在此过程中应配合有节奏的轻揉肠管,促进肠系膜血管内的虫子灌出。

(六) 正常灌出成虫的数目 在未作任何处理的正常对照组,两种小鼠的成虫收获数基本上为感染尾蚴条数的 75% 左右。

* (本文承蒙赵慰先教授、吴观陵副教授审阅,谨此致谢)