

·短篇论著·

卡氏肺孢子菌大鼠动物模型的建立

钟赛凤,吕刚,张瑞琳,李美玉,范志刚

摘要:目的 建立卡氏肺孢子菌大鼠动物模型。方法 取 Wistar 大鼠 24 只分为 4 组,设 A 组和 B 组两笼大鼠为实验组,各饲养大鼠 8 只,C 组和 D 组两笼大鼠为对照组,各饲养大鼠 4 只。A、B 组每天饲喂醋酸地塞米松,两周后随机选取 A 组和 B 组大鼠各 3 只,C 组和 D 组大鼠各 2 只,分别经右胸注入卡氏肺孢子菌肺组织匀浆各 0.2ml,饲养 6 周后解剖。结果 A、B 两组大鼠经肺组织印片检查均查到卡氏肺孢子菌,C、D 两组大鼠肺组织印片未发现卡氏肺孢子菌。结论 醋酸地塞米松可降低实验大鼠的免疫功能,从而导致卡氏肺孢子菌性肺炎(PCP),PCP 可使卡氏肺孢子菌通过空气或飞沫传播。

关键词:卡氏肺孢子菌;动物模型;免疫抑制剂

中图分类号:R512.91 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-9727(2012)6-759-02

Pneumocystis carinii bacteria rat model. ZHONG Sai-feng, LV Gang, ZHANG Rui-lin. (Experimental Center, Medical College of Tropical Medicine and Inspection, Hainan Medical College, Haikou, Hainan, 571101)

Abstract: Objective To build pneumocystis carinii rat model. Methods Twenty-four Wistar rats were divided into four groups in the experiments. Group A and Group B, which were fed daily for two weeks of Dexamethasone acetate, were the experimental groups, each with 8 rats. Group C and Group D without Dexamethasone acetate were control groups, each with 4 rats. Ten rats including each three from group A and B, each two from group C and D were randomly selected to inject 0.2 ml pneumocystis carinii bacteria in lung tissue through the right chest and dissected after six weeks' feeding. Results The rat lung tissue imprint examination revealed that pneumocystis carinii was found in Group A and B but not in Group C and D. Conclusion Dexamethasone acetate can reduce the immune function of rats and cause pneumocystis carinii pneumonia (PCP). Pneumocystis carinii bacteria can spread by the air or droplets.

Key words: Pneumocystis carinii; Animal model; Immunosuppressant

卡氏肺孢子菌性肺炎是使患者的免疫功能严重受损和最常见致死性的感染性寄生虫病,已成为 AIDS 病患者的特征性疾病^[1]。近年来我国 AIDS 感染率有明显增加的趋势,特别是海南正在建设国际旅游岛,外来海南旅游人数逐渐增多,AIDS 传染机率会随之增加,感染卡氏肺孢子菌肺炎的患者可能会明显升高,已引起有关部门的逐渐重视。本实验采用免疫抑制剂的方法,能诱发大鼠感染卡氏肺孢子菌肺炎,为下一步进行各种类型的实验研究,提供动物标本模型。现将实验结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验材料 Wistar 大鼠 24 只,鼠龄约 4 月龄,体重 200g~240g 左右,由中山大学实验动物中心提供;醋酸地塞米松(广东华南药业集团有限公司)、四环素(广东华南药业有限公司)、白糖由中山大学基础医学实验教学中心供给;卡氏肺孢子菌肺组织匀浆来自中山大学基础医学实验教学中心卡氏肺孢子菌动物模型。Giemsa 染液由中山大学基础医学实验教学中心准备室配制原液储存,临用时按 1:20 比例稀释使用。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组及方法 健康 Wistar 大鼠 24 只,分 A、B 两组实验组各 8 只,分别编 1~8 号,C、D 两组对照

组各四只,分别编 1~4 号。A、B 组分别喂养醋酸地塞米松 0.75mg、四环素 0.06g、白糖 4g,每天每笼大鼠饮用加有上述物品的水 250ml。两周后随机给 A 组的 1 号、3 号、4 号和 B 组的 5 号、6 号、8 号从右胸注入卡氏肺孢子菌肺组织匀浆各 0.2ml,C、D 组的 1 号、2 号大鼠也各注入卡氏肺孢子菌肺组织匀浆各 0.2ml,术后与其余大鼠同等条件饲养,A、B、C、D 组同一个房间饲养。

1.2.2 观察方法 用药期间,密切观察动物毛色、活动、呼吸、摄食,每周测体重 1 次,作为调节用药剂量的指标。连续用药 6 周后开始肺组织印片查找卡氏肺孢子菌包囊。

1.2.3 标本制作及染色方法 健康 Wistar 大鼠用药第 7 周,A 实验组发现死亡鼠立即解剖取出肺脏。肉眼观察肺部大体变化。肺组织切面并印片,晾干,甲醇固定,Giemsa 染色,油镜观察。

2 结果

2.1 接受免疫抑制大鼠情况 A、B 组大鼠接受醋酸地塞米松喂养 1 周后,体重基本不改变或增加 5~10g,一般情况良好;第 2 周后体重下降 5g 左右,但活动、饮食无明显异常;第 3 周后体重下降 7~13g,精神状态稍差;第 4 周后部分大鼠开始呈病态,体重下降 16~20g;第 29 天出现活动迟钝、精神萎靡、厌食、

作者单位 海南医学院热检学院实验中心 海南 海口 571101

作者简介 钟赛凤(1973~),汉族,本科,助理实验师,主要从事人体寄生虫学实验教学工作。

竖毛。第 5 周后体重下降 25~30g 精神状态差、厌食、松毛；第 6 周后体重下降 30~40g，精神状态较差、厌食、松毛，常静卧不动，第 7 周后大鼠体重下降 46~50g 左右，体毛疏松，常静卧不动，体质明显减弱，咳嗽频繁等症状。其中 A 组第 7 号大鼠体毛散乱无光泽，眼球由透亮的粉红色逐渐变浊、变暗，呼吸急促，最后因呼吸衰竭而死亡。解剖死亡实验鼠，肺组织外观充血，体积增大质地硬，有点状暗红色病灶，可检出成熟和未成熟的卡氏肺孢子菌包囊。用药第 8 周 A、B 组实验大鼠体重下降 55~60g 左右，活动和摄食均明显减少，呼吸急促，不时咳喘，精神状态差。解剖即可在部分大鼠检出成熟和未成熟的卡氏肺孢子菌包囊，用药第 9 周 A、B 实验组剩余大鼠体重下降 65~70g 左右，A、B 实验组即可在全部大鼠检出成熟和未成熟的卡氏肺孢子菌包囊，总检出率为 100%。

2.2 对照组大鼠情况 C、D 对照组精神状态良好，体毛色泽光亮，活动和饮食正常，体重均增加 30g 左右。饲养到第 7 周进行解剖取样观察。注射过病原体和未注射过病原体的大鼠，其肺部外观均未发现病灶，取肺组织印片、固定、染色后镜检均未发现卡氏肺孢子菌。

2.3 病原观察 姬氏染色法：卡氏肺孢子菌肺印片，经姬氏染色后镜检可见较多圆形或椭圆形肺孢子菌成熟和未成熟的包囊，成熟的包囊内含有 8 个新月形的囊内小体，囊内小体核成紫红色，细胞质为蓝色。未成熟的包囊内含 2、4 或 6 个囊内小体。

3 讨论

3.1 卡氏肺孢子菌能感染包括人和实验动物在内的多种哺乳动物，是引起卡氏肺孢子菌肺炎的病原体。1997 年《肺孢子菌国际研讨会》决定将其生物学分类由原来动物界的原虫定为真菌界的真菌类^[2]，当宿主的免疫功能降低时，处于潜伏状态的肺孢子菌即开始大量繁殖并在肺部扩散，形成“隐性感染被激活”，卡氏肺孢子菌有以下特点：①机会性致病菌与宿主免疫状态有密切关系；②病原体可通过飞沫直接传播，当宿主抵抗力低下时，被吸入呼吸道的病原体在肺内大量繁殖，并引起肺孢子菌肺炎^[3]。本实验给健康 Wistar 大鼠服用醋酸地塞米松使大鼠免疫降低，两周后随机给 A、B 组大鼠各 3 只从右胸注入卡氏肺孢子菌肺组织匀浆，饲养第 7 周部分健康 Wistar 大鼠开始感染上了卡氏肺孢子菌肺炎，到第 9 周 A、B 实验组剩余大鼠都感染上了肺孢子菌肺炎，说明未注入卡氏肺孢子菌肺组织匀浆的 A、B 组大鼠是通过飞沫直接传播的。本实验结果也证实与卡氏肺孢子菌特点是相符的。

3.2 使用免疫抑制药时间越长，感染卡氏孢子菌肺炎的机率愈高。本实验 Wistar 大鼠用药第 7 周后 A、B 实验大鼠肺印片即可检出卡氏肺孢子菌包囊，用药

第 8 周后 A、B 组部分大鼠都可检出卡氏肺孢子菌包囊，用药第 9 周后 A、B 组剩余大鼠全都检出卡氏肺孢子菌包囊。说明通过本实验结果证实 Wistar 大鼠是一种较为理想的实验动物，具有操作简便、且饲养方便和经济实用等优点。同时提示，人类如果长期使用激素类药物使免疫功能降低也容易感染上卡氏肺孢子菌并引起卡氏孢子菌肺炎。

3.3 免疫低下的病人容易感染卡氏肺孢子菌肺炎。据文献报导，卡氏肺孢子菌肺炎(*Pneumocystis carinii* pneumonia, PCP)是艾滋病患者最常见的机会性感染之一，也是最主要的死亡原因^[4]。本实验让 Wistar 大鼠 A、B 组服用醋酸地塞米松，降低其免疫功能，结果服用了醋酸地塞米松的大鼠都感染上卡氏孢子菌肺炎，与相关文献报导也是相符的。

3.4 卡氏肺孢子菌侵犯的主要器官是肺泡。卡氏肺孢子菌侵入动物肺脏后主要定居于肺泡，一般在 I 型肺泡上皮细胞表面粘附与增殖，造成炎症反应，肺泡腔内出现大量泡沫状渗出物，内含组织细胞、淋巴细胞和浆细胞，以及积聚成簇的滋养体和包囊。大量的虫体和渗出物如果阻塞肺泡和细支气管则可造成肺换气功能障碍，严重时可导致呼吸衰竭而死亡。还有卡氏肺孢子菌肺炎动物模型的建立，可获得大量的肺孢子菌标本，可以此为基础对卡氏肺孢子菌进行各种类型的实验研究。

参考文献：

- [1] Ruffini D, Madhi S A. The high burden of pneumocystiscarinii pneumonia In African HIV-1-infected children hospitalized for severe pneumonia [J]. AIDS 2002, 16: 105-112.
- [2] Stringer J R, Cushionand M T, Wakefield A E. New women clature for the genus pneumocystis proceedings of the seventh international workshops on opportunistic protists [J]. Euk Microbiol 2001, 184-189.
- [3] Zhang RL, Cao AL, Zheng XY et al. Application of opportunistic protozoa infected animal model in teaching human parasitology laboratory course [J]. Journal of Tropical Medicine 2006, 6(2): 176-179. (In Chinese)
(张瑞琳, 曹爱莲, 郑小英, 等. 机会致病原虫动物模型在实验教学中的应用[J]. 热带医学杂志 2006, 6(2): 176-19.)
- [4] Yao WH, Zhao W, Zhao H et al. Eight report of AIDS with pneumocystis carinii pneumonia [J]. China J AIDS/STD 2004, 10(5): 383-384. (In Chinese)
(姚文虎, 赵伟, 赵红, 等. AIDS 合并卡氏肺孢子虫肺炎 8 例报告[J]. 中国艾滋病病 2004, 10(5): 383-384.)
- [5] Liu DC. AIDS Clinical Pathology [M]. Hefei: Anhui Science & Technology Press 2005: 151-190. (In Chinese)
(刘德纯. 艾滋病临床病理学 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2002: 151-190.)

收稿日期 2012-01-30 编辑: 谢永慧