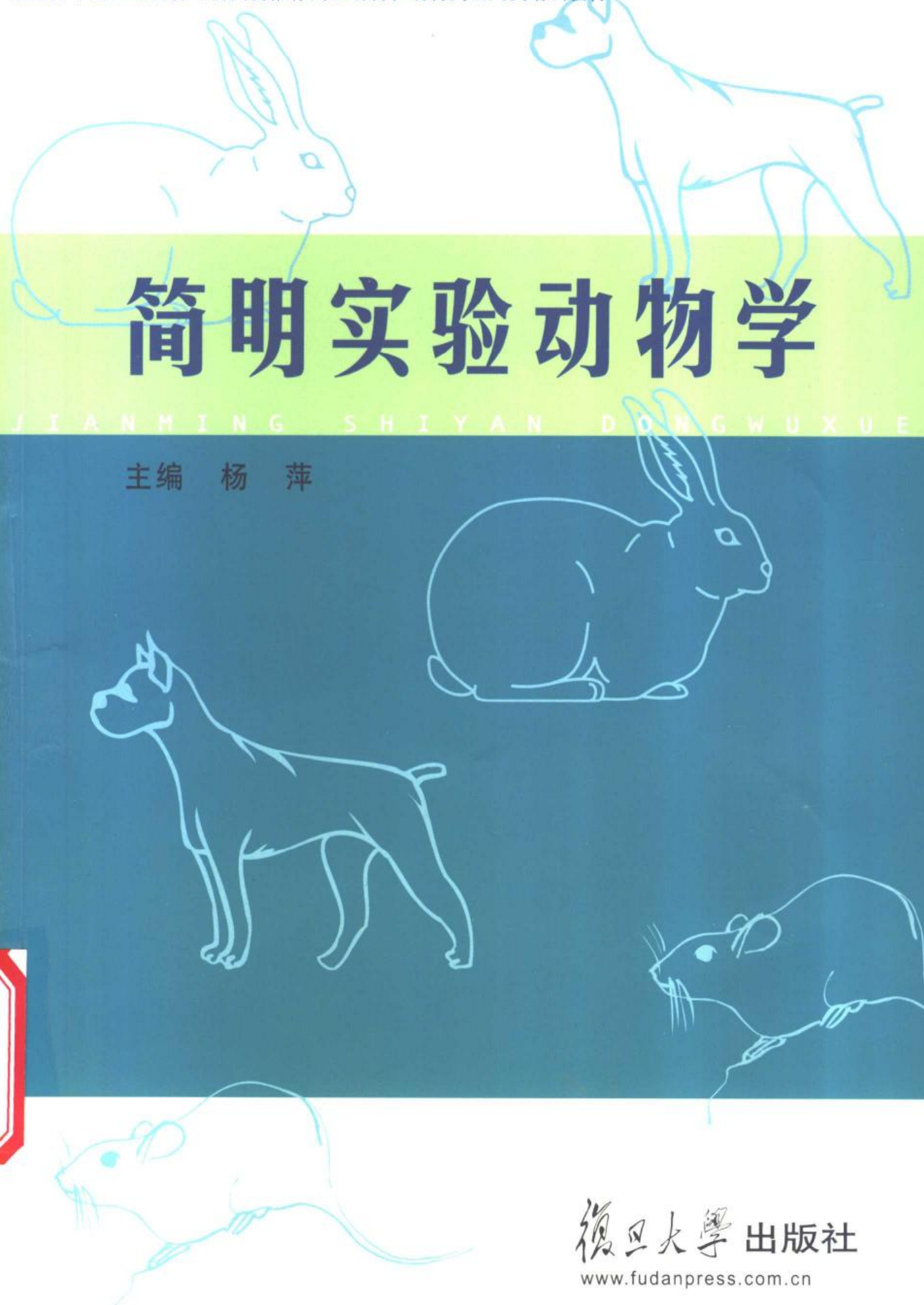


上海医学实验动物管理委员会推荐实验动物和动物实验人员培训教材



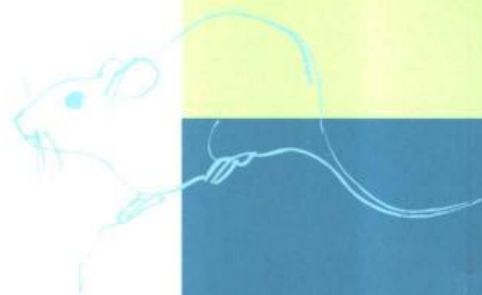
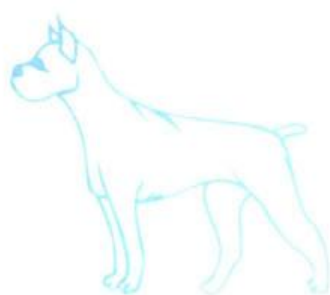
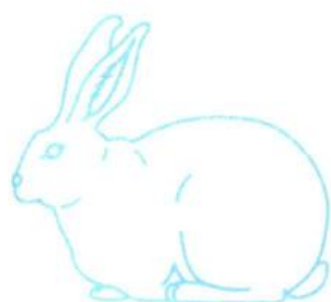
简明实验动物学

J I A N M I N G S H I Y A N D O N G W U X U E

主编 杨 萍

复旦大学出版社

www.fudanpress.com.cn



J I A N M I N G S H I Y A N D O N G W U X U E

责任编辑 魏 岚

装帧设计 马晓霞

ISBN 7-309-03742-1



9 787309 037425 >

R · 807 定价: 15.00元

上海医学实验动物管理委员会推荐实验动物和动物实验人员培训教材

简明实验动物学

主 编 杨 萍

復旦大學出版社

图书在版编目(CIP)数据

简明实验动物学/杨萍主编. —上海:复旦大学出版社,
2003.10

ISBN 7-309-03742-1

I. 简… II. 杨… III. 实验动物 IV. Q95-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 068870 号

简明实验动物学

杨 萍 主编

出版发行 复旦大学出版社

上海市国权路 579 号 邮编 200433

86-21-65118853(发行部) 86-21-65109143(邮购)

fupnet@fudanpress.com <http://www.fudanpress.com>

责任编辑 魏 岚

装帧设计 马晓霞

总 编 辑 高若海

出 品 人 贺圣遂

印 刷 上海复旦四维印刷有限公司

开 本 787×960 1/16

印 张 10.75

字 数 198 千

版 次 2003 年 10 月第一版 2003 年 10 月第一次印刷

印 数 1—3 100

书 号 ISBN 7-309-03742-1/R·807

定 价 15.00 元

如有印装质量问题,请向复旦大学出版社发行部调换。

版权所有 侵权必究

编 委 会

主 编 杨 萍(复旦大学)

副主编(按姓氏笔画为序)

许兰文(复旦大学)

杨 斐(上海中医药大学)

姚一康(上海第二医科大学)

主 审 陈天培

编 委(以姓氏笔画为序)

王国强(上海第二医科大学)

李子麟(复旦大学)

许兰文(复旦大学)

乔伟伟(复旦大学)

杨伟敏(上海第二医科大学)

杨丽萍(复旦大学)

杨 萍(复旦大学)

杨 斐(上海中医药大学)

周文江(复旦大学)

周光兴(复旦大学)

姚一康(上海第二医科大学)

胡 樱(上海中医药大学)

敖 红(复旦大学)

潘 华(复旦大学)

序

自从实验医学问世以来,实验动物和动物实验在生命科学、医学、药学、农业、畜牧、环保等方面的用途已广为人们所熟知。今日的实验动物不仅仅包括品质极高的几种啮齿类小动物(小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠),还包括非人灵长类(黑猩猩、狒狒、狨猴、食蟹猴)、经济动物(马、牛、羊、猪、犬、猫、鸡、鱼)和低等动物(两栖类、爬虫类)以及昆虫(果蝇、蚊),甚至还有寄生虫(植物线虫)和单细胞(酵母)。实验动物的作用已不仅仅是作为人类疾病的模型或是生物学测试的工具,随着生命科学等基础学科的不断发展,它已在器官水平、组织水平、细胞水平、基因水平上为探索生命的奥秘、保护地球母亲、促进人类的福祉包括生老病死和衣食住行,甚至在宇宙科学、生物战争等方面发挥越来越重要的作用。

在科学发展的历史长河里,观察与实验两种方法相辅相成。有些事物不能够用已知的手段进行实验,例如古生物学、天文学等,只能依靠观察来求证。观察是有盲区的,实验也有禁区,就是因为不允许用人体进行实验,所以发展了实验动物和比较医学。实验动物事业还要受到很多方面的制约:首先为了保持地球上的生物多样性就不能滥用动物,动物保护主义中的极端分子甚至主张废止动物实验;其次为了保证科学实验的精确性就需要善待动物,给予良好的生活环境,实验操作尽可能不引起应激反应;再者,当代数量科学和信息技术的迅速发展亦为减少使用动物数量创造了条件。例如制药系统使用马蹄蟹血测定热原代替了几代人使用的家兔反应;传统的半数致死量(LD_{50})也受到了挑战,已发展出不死小鼠的“近似半数致死量”和其他方法代替大量使用小鼠的老方法。在毒理学方面甚至已出现“电脑毒理学”,只要给予待检物的分子结构式,就能根据庞大的数据库给出相应的答案,完全取代了原来的动物实验。如果实在找不到代替物只能用动物时,也要求尽量减少使用数量,为了减少所用动物数量,就需要尽可能提高质量。

随着对实验动物的质量要求越来越严格,为了使实验组和对照组的动物具有最大的可比性,对于动物的遗传背景要求尽可能一致,遗传学要求就特别严格。当必须排除动物可能带染的生物体,以确保研究质量不受影响时,那就不但要对实验动物及其设施实行监控,而且对接触实验动物的人员也要提出更高的

要求。无论是动物育种人员、饲养人员,还是动物房管理人员,都需要培训、持证上岗,动物实验人员包括课题主持人和全体工作者以及研究生导师、科研管理人员等都需培训并持证上岗,使他们对实验动物工作有比较明确的全面认识。动物实验人员要了解动物的生物学特点和保持等级动物所需的一切知识,熟悉使用动物的目的,掌握接触动物、保定动物的技术,特别是对动物的正常与异常反应能作出界定,所以对实验动物工作者的要求不同寻常。在美国,每一个实验动物单位,都必须有一名以上持有国家实验动物工作者执照的技术人员,这是指已获得医师(MD)或兽医师(DVM)学位的本科生再考入2年制实验动物硕士班,结业后经美国实验动物学会的资格考试委员会(即7人小组)考试及格后领到证书的少数人。此证书悬于实验动物单位的大门口或实验室门口,与许可证并列,与单位资格证书同样宝贵,同等重要。

上海是我国实验动物事业的发祥地,也是我国生命科学、医学、药学、兽医学、环境科学研究最密集的地方。复旦大学实验动物科学部作为培养实验动物专业人才的基地,有着极强的师资力量和丰富的实践经验,多年来在上海医学实验动物管理委员会和各院校的领导下培养出一批批中高级实验动物从业人才,为上海,乃至全国实验动物事业贡献良多。此次,他们又根据学科发展情况和全国实验动物管理法制化需要,编纂出这本实验动物和动物实验人员培训教材——《简明实验动物学》,相信它定能为进一步提高上海市动物实验的水平做出新的贡献。

中国农业科学院研究员
上海市实验动物管理委员会副主任
《上海实验动物科学》杂志主编

刘瑞三

2003年8月

前 言

21 世纪是生命科学的世纪,实验动物作为人类的替身,已成为生命科学不可缺少的支撑保障条件。随着生命科学的进步和现代生物医药高新技术产业的发展,实验动物学作为一门独立的综合性新兴边缘学科,其作用越来越重要,已作为衡量一个国家科学技术水平高低的重要标志之一,越来越受到科学界和各国政府的重视。

在生命科学研究中,动物实验早已成为主要手段。无论生物学、医学、药学、农牧学还是环境科学,都需要运用实验动物学的理论和技术。而动物实验研究工作,分属生命科学领域中的不同学科,很多从业人员没有受过系统的实验动物学培训,且目前针对此类人员的实用、精练的快速培训教材又极少,因此在上海市卫生局的策划和资助下,在复旦大学、上海中医药大学和上海第二医科大学实验动物科学领域的专家、教授和广大教师的努力下,我们对动物实验人员培训的标准化进行了研究,在广泛调研的基础上编写了这本教材。

本教材的编写过程中,得到了刘瑞三、杨幼明、吕美铭教授的大力支持和热心帮助,在此谨表深切谢意。同时,衷心感谢方玉梅、金敏、符树交同志所做的大量编务工作。由于时间仓促、水平有限,缺点和错误在所难免,恳请各位读者和专家们批评指正,以便修正。

编 者
2003 年 8 月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 实验动物和实验动物学的基本概念	1
第二节 实验动物在生命科学研究中的重要性和运用	2
第三节 国内外实验动物科学发展概况	4
第四节 政策和法规	7
第二章 实验动物的遗传学分类	10
第一节 实验动物的遗传学分类法	10
第二节 近交系动物	11
第三节 封闭群动物	18
第四节 实验动物的遗传学质量监测	21
第三章 实验动物的微生物学分类	23
第一节 普通级动物	23
第二节 清洁级动物	23
第三节 无特定病原体动物	23
第四节 无菌动物	24
第四章 实验动物常见的传染性疾病和微生物学质量监测	25
第一节 概述	25
第二节 常见的传染性疾病	29
第三节 实验动物的微生物及寄生虫检测	33
第五章 实验动物的环境控制	36
第一节 影响实验动物的各种环境因素及其控制要求	36
第二节 实验动物的饲养条件	42
第三节 实验动物设施的类型、组成、布局和管理	44

第六章 实验动物的营养和饲料	47
第一节 实验动物的营养	47
第二节 实验动物的饲料	54
第七章 常用实验动物	59
第一节 小鼠	59
第二节 大鼠	65
第三节 豚鼠	69
第四节 家兔	71
第五节 犬	75
第六节 猪	78
第七节 非人灵长类实验动物	80
第八章 人类疾病动物模型	83
第一节 疾病动物模型概念及意义	83
第二节 诱发性疾病动物模型	85
第三节 自发性疾病动物模型	89
第四节 免疫缺陷动物模型	91
第五节 疾病转基因动物模型	95
第九章 实验动物的选择和应用	97
第一节 实验动物选择的基本原则	97
第二节 动物选择的一般规律	99
第十章 实验动物与动物实验的生物安全	101
第一节 生物安全概述	101
第二节 实验动物和动物实验研究中的生物危害	106
第三节 实验动物与动物实验中生物危害的防制	109
第四节 生物安全设施	115
第十一章 实习指导	122
第一节 常用实验动物设施、设备的操作	122
实验一 屏障系统的操作	122
实验二 层流架和超净工作台的操作	123

实验三 无菌隔离器的操作·····	124
实验四 独立通气笼盒的操作·····	125
第二节 实验动物的基本操作技术·····	126
实验一 实验动物的抓取和固定·····	126
实验二 实验动物性别的鉴定·····	129
实验三 实验动物编号的标记方法·····	129
实验四 实验动物被毛的去除方法·····	131
实验五 实验动物的给药方法·····	131
实验六 实验动物的麻醉·····	133
实验七 实验动物的采血方法·····	133
实验八 实验动物的处死方法·····	134
实验九 啮齿类动物性周期、交配情况的观察·····	135
实验十 无菌小鼠剖宫取胎手术·····	135
附录·····	137
附录一 实验动物环境设施指标·····	137
附录二 各类动物所占笼具最小面积·····	138
附录三 实验动物寄生虫学指标·····	138
附录四 实验动物微生物学等级标准·····	140
附录五 各种实验动物配合饲料营养成分指标及微生物、化学污染物 指标·····	143
附录六 试题库·····	151

第一章 绪 论

实验动物学是一门以生命科学为主体的新崛起的独立的综合性基础学科,是生命医学乃至整个生命科学的基础和重要支撑条件。随着近代生命科学技术突飞猛进的发展,实验动物科学显示了良好的发展前景。其发展和应用程度是衡量一个国家或地区科学技术水平高低的重要标志之一。

第一节 实验动物和实验动物学的基本概念

一、实验动物和实验用动物

(一) 实验动物

实验动物(laboratory animal)是指经人工饲养,对其携带的微生物实行控制,遗传背景明确或者来源清楚的用于科学研究、教学、生产、检定以及其他科学实验的动物。

实验动物是根据科学研究的需要,在一定环境条件控制下,有计划地进行人工培育而成的。目前将实验动物按遗传学控制和微生物学控制进行分类。

1. 按遗传学分类 分为近交系动物、封闭群动物、突变系动物、杂交一代动物。

2. 按照微生物控制程度分类 目前我国将实验动物的等级设定为4个等级:普通级、清洁级、无特定病原体(SPF)级、无菌级。

(二) 实验用动物

实验用动物(experimental animal)是指能够用于科学实验的所有动物。实验用动物包括以下几种。

1. 实验动物 经人工饲养而成,为保证实验的准确性、敏感性和重复性,实验动物的微生物学控制除必须控制动物的疾病外,还要控制动物的无症状性感染以及对动物虽不致病但可能干扰动物实验结果的病原体。从遗传学角度来讲,通过培育驯化,获得遗传稳定、纯合性好的实验动物;发现和保留具有不同生

物特性品种和品系,发现和保留突变性动物,培育出各种疾病动物模型。

2. 经济动物(家畜、家禽及观赏动物) 是指可以满足人类社会生活、生产需要的动物。虽属人工培育,但其微生物及遗传学控制的目的、方向、程度与实验动物不同。家畜(禽)的微生物学控制着重于疾病控制。遗传学控制着眼于高产优良品种的培育及杂交优势的利用。

3. 野生动物 是指直接从野外捕获的动物。主要用于观赏和保持自然界动物种类和生态平衡。

用家畜(禽)和野生动物进行科学实验,结果差异较大,重复性较差,因此可信程度受到影响。在科学研究中应从概念上严格区分实验动物和实验用动物。

二、实验动物学的定义及研究范畴

实验动物学是一门以生命科学为主体的、新崛起的、独立的综合性基础学科,是研究实验动物培育和应用的科学。其研究范畴包括实验动物和动物实验两大部分。具体内容包括如下5个方面。

1. 动物遗传育种学 根据遗传学的理论和方法,研究实验动物的保种和品系培育,以及家畜和野生动物的实验动物化。

2. 研究影响实验动物生存的环境与条件 包括饲养动物房舍、温度、湿度、通风、洁净度、氨浓度、噪声、照度、笼具、饲料、饮水及垫料等。

3. 实验动物医学 是研究实验动物的健康标准,微生物、寄生虫的控制,以及疾病的诊断与防治的科学。

4. 比较医学 通过比较研究人类与实验动物之间基本生命现象的异同,开发建立各种人类疾病的实验动物模型,对各种人类疾病进行类比研究。如比较解剖学、比较生理学、比较病理学、比较外科学、比较药理学、比较毒理学、比较免疫学、比较流行病学、比较心理学、比较行为学等。

5. 动物实验方法学 研究动物实验的基本条件、实验设施的建立、实验动物的选择、人类疾病动物模型的复制、动物实验的方法和基本操作技术及实验后动物的观察与记录等。

第二节 实验动物在生命科学研究中的重要性和运用

一、实验动物在生命科学研究中的重要性

实验动物是医学、生命科学研究的基础和重要支撑条件。在医学和生命科学研究领域内,进行实验研究的基本条件可概括为“AEIR”4个基本要素:“A”是指 Animal(动物);“E”是指 Equipment(设备);“I”是指 Information(信息);

“R”是指 Reagent(试剂)。从4个基本要素排序看出,实验动物是不可缺少的重要条件。在当代社会,要获得高、精、尖的仪器设备、化学试剂和所需的信息是容易办到的。但实验动物是活的“精密仪器”。国际间的学术交流、科研的相互比较和重复都要求使用标准化的合格的实验动物。如果实验动物不标准,生物制品、药品的安全性有效性评价就得不到国际承认,科研论文的科学性及可信度会降低,在国际学术界将得不到认可。由于我国实验动物科学起步较晚,在我国加入 WTO 的新形势下,生产及推广应用标准化的实验动物至关重要。

美国国立卫生研究所(NIH)在20世纪80年代,每年的研究经费为2亿~5亿美元,其中50%和实验动物相关。实验动物用量方面,1982年美国共用去小鼠8 000万只,大鼠7 000万只,豚鼠和家兔各60万~70万只;日本1970年使用小鼠1 115万只,大鼠160万只,鸡胚4 356万只。2000年我国年产实验动物总量约为1 300万只;2001年北京市每年约生产实验动物150万只,其中大鼠、小鼠、地鼠和豚鼠140万只,家兔6.4万只,犬0.3万只,小型猪0.1万只,猴0.12万只;另外,年产SPF鸡蛋87.3万枚。

二、实验动物在生命科学研究中的运用

(一) 生物医学方面

人类各种疾病发生发展十分复杂,要深入探讨疾病的发病及防治机制是不能在病人体上进行的,但可通过对动物各种疾病和生命现象的研究,进而推用到人。实验动物是人类的替身,在研究疑难病方面,实验动物疾病模型为人类提供了极好的材料。例如:在研究动脉粥样硬化和冠心病的病因时,用高脂高胆固醇饮食喂饲家兔、鸡、猴等动物造成了动物的动脉粥样硬化病变,使我们认识到控制饮食中脂肪和胆固醇的含量可预防人类动脉粥样硬化。为探讨发病机制及防病治病打下了基础。

(二) 制药工业和化学工业方面

研究药物和化工产品的不良反应,都要通过动物试验获得结果。新的药品必须用动物进行严格的安全性、有效性评价,其中包括动物急性、亚急性及慢性毒理试验,三致试验(致畸、致癌、致突变),包括以啮齿类动物、犬或猴等进行试验,证明安全可靠后,方可进入临床实验。

(三) 生物制品方面

实验动物既是生物制品(疫苗、抗血清、血液制品及组织细胞等)的原料,又是安全性检验的工具。实验动物的质量直接影响到生物制品的质量和安全性检验的结果。无论是原材料或安全性检验都需要符合标准的实验动物。

(四) 轻工业与食品工业方面

化妆品、食用保健品、饮料等的安全性评价均用动物进行实验。例如:由于小型猪的皮肤构造与人极为相近,国外培育的具有毛稀肤白特点的 Hanford 小型猪被采用来进行人皮肤化妆品的安全性评价。

(五) 畜牧科学和农业科学方面

疫苗的制备和鉴定,生理试验、胚胎学研究、饲料营养研究,家畜(禽)疾病防治及淘汰污染动物等都需要使用合格的实验动物进行实验。化学肥料、农药的残毒检测,粮食、经济作物品质的优劣,都可通过动物实验来确定。

(六) 宇航和军事科学方面

在宇宙航天科学试验、核武器爆炸试验、各种武器杀伤效果,化学、辐射、细菌、激光武器的效果试验中,实验动物作为人类的替身而取得有科学价值的

(七) 其他方面

基因与功能的研究、转基因动物的研究和生物技术工程的应用及环保(包括水源、废物、气体、光辐射)、地震的监测、进出口商品的鉴定等也都需使用实验动物。

第三节 国内外实验动物科学发展概况

一、国外实验动物科学发展概况

公元前 384 ~ 公元前 322 年,亚里士多德进行了解剖学和胚胎学实验,观察各种动物脏器的差异。公元前 304 ~ 公元前 258 年,埃拉吉斯塔特确定了猪气管是呼吸通道,肺是呼吸空气的器官。由于教会阻挠,科学实验受到阻碍。

实验动物科学实际上是从 16 世纪开始的。

1792 年, Jenner 发现牛痘可保护人不生天花,提出用牛痘免疫人以预防天花。

1813 年, Bernard 用动物研究疾病,创立了“实验医学”一词。

1885 年, Nuttall 等培育了无菌豚鼠,解决了生物在无菌条件下能否生存的问题。

1909 年,美国杰克逊研究所所长 Little 培育出第 1 株 DBA 近交系小鼠。目前,世界上至少有小鼠近交系 250 个,大鼠近交系 111 个,地鼠近交系 45 个,豚鼠近交系 14 个,家兔近交系 20 个,鸡近交系 40 个。

1915 年,金属隔离器问世,1957 年又出现塑料薄膜隔离器。

1940 年,美国圣母大学劳邦德实验室 Reyniers 等人育成无菌大鼠并建立了

繁殖种群。

20 世纪 60 年代初,实验动物模型开始被列为专题进行开发研究,发现和培育出免疫缺陷动物——裸鼠,使肿瘤学、免疫学的研究有突破性的进展。

1984 年,美国有人将牛的生长激素基因导入小鼠,利用基因工程培育出巨鼠,开辟了基因工程在实验动物研究开发中的新途径。

1944 年,美国纽约科学院召开会议将实验动物标准化提上议事日程,该会议的召开成为实验动物医学的起点。

20 世纪 40 ~ 50 年代,美国首先提出实验动物标准化问题,加快实验动物协调管理。英国、美国、日本、法国和前联邦德国先后成立了实验动物管理组织或中心。1956 年联合国教科文组织、医疗科学国际组织以及生命科学协会联合成立了国际实验动物科学委员会(ICLAS),负责国际实验动物科学事业发展的指导协调与管理。每 3 年召开 1 次国际学术讨论会。

20 世纪 70 年代早期,由于实验动物使用量骤增,动物保护者的反对和动物实验发展的实际需要,“3R”研究的问题引起了社会各界的极大关注。“3R”是指 Reduction(减少)、Replacement(替代)和 Refinement(优化)。

1. 减少 在科学研究中,使用较少量的动物获取同样多的试验数据或使用一定数量的动物能获得更多试验数据的方法。

2. 替代 使用其他方法替代用动物所进行的试验或其他课题的研究,以达到某一试验目的。或者说是使用没有知觉的试验材料代替以往使用神志清醒的活的脊椎动物进行试验的一种科学方法。

3. 优化 通过改进和完善实验程序,减轻或避免给动物造成的疼痛和不安,提高动物福利的方法。

国外在“3R”研究方面已达到较高的水平。目前,世界发达国家都颁布了相关法规条例,对实验动物进行了规范化、法制化、科学化的管理。促进了实验动物的标准化、商品化和社会化。

二、国内实验动物科学发展概况

(一) 实验动物科学发展

1918 年齐长庆饲养繁殖小鼠做实验,并从日本引进豚鼠。1919 年谢恩增用地鼠做肺炎球菌的检定,这个鼠种已被许多国家引入,称中国地鼠。1946 年,我国从印度引入小鼠,这就是当今 KM 种小鼠的原种。1948 年,蓝春霖教授从美国引入金黄地鼠。

1949 年全国解放后我国实验动物科学得到发展了,在京沪一些人的科研机构及高等医学院校建立了实验动物繁育场,在北京、武汉、上海、长春、兰州、成都

等地建立了生物制品研究所,为我国实验动物事业的发展培养了骨干。20 世纪 50 年代起李铭新、杨简和李漪教授开始了近交系小鼠的培育,育成的 TA1、TA2、615 近交系小鼠在 1985 年得到国际小鼠命名委员会承认。

70 年代末我国相继派出一批学者考察国外实验动物科学发展情况。

1982 年及 1985 年由国家科委主持召开了两次实验动物工作会议。1983 年及 1988 年卫生部召开了两次医学实验动物工作会议。北京、上海相继成立了实验动物学会。

1985 年在京沪两地试行实验动物合格证制度,同年申请加入了国际实验动物科学委员会(ICLAS)。

1988 年 7 月在北京召开了“第六届免疫缺陷动物国际研讨会”。同年经国务院批准,国家科委颁布了《实验动物管理条例》,标志着我国实验动物管理进入法治轨道。在京、沪地区成立了医学实验动物管理委员会。现各省市均已成立了实验动物管理委员会和医学实验动物管理委员会,实行颁发实验动物生产许可证和实验动物使用许可证制度。国家卫生部 1989 年制定并颁布了《医学实验动物管理实施细则》,1992 年制定并颁布了《医学实验动物标准》。1994 年国家技术监督局颁布了实施中华人民共和国实验动物质量标准,并于 2002 年重新进行修订。推动了我国实验动物科学规范化管理进程。

(二) 图书与信息

现已出版的正式刊物有《中国实验动物学报》、《中国比较医学杂志》、《上海实验动物科学》、《北京实验动物科学与管理》4 种。1989 年 11 月我国在上海首次成功地主办了“上海国际实验动物学术交流会”。现在国内外学术合作和学术交流日趋频繁。

(三) 组织机构建设

我国建立了国家实验动物种子中心及各类实验动物质量检测中心、实验动物科学部、实验动物研究所和实验室,初步形成了科研、教学与生产供应网络。

(四) 人才培养

我国已初步建立了由初级到高级实验动物专业人才的教育培训体系,许多大学已将实验动物学列为必修或选修课程,并已培养了实验动物专业的本科生。有些大学已设硕士研究生培养授权点,培养了一批高级人才。1992 ~ 1997 年中国与日本政府合作,由日本国际事业协力团(JICA)资助派专家指导,开设中国实验动物人才培训班,为中国实验动物科学事业培训了一大批科技与管理人才。

(五) 动物设施、设备、仪器的研究

已生产出真空高压灭菌器和各种不锈钢及塑料实验动物笼器具,能够设计、建造实验动物屏障环境、隔离环境及高质量的饲养设备及各式层流架、独立通气

动物笼(individually ventilated cages,简称 IVC)等。研制生产实验动物用颗粒饲料和犬、猴用膨化饲料。与国际统一标准逐步接轨。

(六) 实验动物质量监控

我国已建立了实验动物的微生物、寄生虫、遗传、营养、环境等质量检测方法和标准,中央和各地区成立了实验动物质量检测机构,负责全国和本地区实验动物质量检测工作。

(七) “3R”的研究

“3R”的研究是实验动物学科的一个重要分支,开展“3R”的系统性研究也是不断丰富和完善实验动物学科的需要。国家科技部 1997 年《关于“九五”期间实验动物发展的若干意见》中,已把对“3R”的研究列为资助的重点。

总之,随着我国实验动物科学事业的发展,国家将不断加强实验动物科技发展的领导,加快实验动物的标准化、商品化和社会化的进程,进行规范化、法制化及科学化的管理。

第四节 政策和法规

一、国外政策法规

(一) 国际组织

1956 年联合国创立了国际实验动物委员会(ICLA),1979 年改组成国际实验动物科学委员会(ICLAS)。

(二) 政策法规

培育实验动物的目的是为各类科学研究提供符合标准的实验动物。因此,对实验动物的生产和使用必须进行严格的管理。目前世界各国已成立了相应的组织机构,制定并颁布了一系列政策、法规及条例以规范实验动物科学的管理。

国外实验动物及动物实验有关法规如表 1-1。

表 1-1 国外实验动物及动物实验法规

国 家	法 规	制定部门	制定时间	备 注
美国	1.《动物福利法》	美国农业部	1966 年	于 1970、1976、1985、1990 年做过 4 次修订
	2.《实验动物饲养管理和使用指南》	美国国立卫生研究院(NIH)	1963 年	于 1965、1972、1978、1985、1996 年做过 5 次修订
	3.《国立卫生研究院人员保健与动物使用法》	NIH	1979 年	—

(续表)

国 家	法 规	制定部门	制定时间	备 注
	4.《良好实验室操作规范》	美国食品药品监督管理局 (FDA)	1978 年	用于新药临床前实验的法规, 即“GLP”规范
	5.《美国检验与实验用脊椎动物使用和管理法》	国际机构研究动物委员会	1984 年	—
	6.《应用动物进行生物医学研究与检验的管理方法》	生物医学研究基金会	1984 年	—
	7.《检验与教学用实验动物的管理与使用原则》	社会保健服务	1985 年	—
日本	1.《动物保护与管理法》	法律 105 号	1971 年	—
	2.《关于确保建筑物卫生环境的法律实施规则》	日本实验动物学会	1971 年	—
	3.《关于防止动物实验中人兽共患病的通知》	国立大学动物实验设施长会议	1979 年	—
	4.《实验动物饲养管理法》	总理府告示	1980 年	—
	5.《关于实验医药品安全性试验的标准》	厚生省	1982 年	—
	6.《实验动物设施建筑和设备》	日本实验动物协会	1983 年	—
	7.《动物实验指南》	日本实验动物学会	1987 年	—
	8.《实验动物生产设施设备管理指南》	日本实验动物协会	1987 年	—
	9.《动物处死方法指南》	总理府告示第 40 号	1995 年	—
	10.《实验动物设施建筑和设备》	日本实验动物学会	1996 年	—
英国	1.《防止虐待动物法》	—	1876 年	—
	2.《犬管理法》	—	1906 年	—
	3.《动物保护法》	—	1911 年	—
	4.《动物使用保护(麻醉)法》	—	1951、1961 年	—
	5.《善待动物法》	—	1962 年	—
	6.《医学法》	—	1968 年	—
	7.《动物法》	—	1986 年	—
澳大利亚	《实验动物管理使用法》	—	1985 年	—
瑞典	《动物保护法》	—	1944、1979 年	—
法国	1.《法国动物保护法》	—	1972 年	—
	2.《犬收容管理法》	—	1974 年	—
瑞士	《科学院科学实验动物伦理与动物实验指南》	—	1983 年	—

二、国内实验动物的法律、法规、条例与标准

我国实验动物工作由国家科技部统一管理,各省、自治区、直辖市科学技术委员会分别主管各地区工作。

全国医学实验动物管理工作是卫生部成立实验动物管理委员会,各省市成立医学实验动物管理委员会,各单位成立实验动物管理委员会,具体监督实施各项法规。同时国务院各有关部门也负责管理本部门的实验动物工作。

我国相关法律、法规、条例与标准如表 1-2 所示。

表 1-2 我国法律、法规、条例与标准

法律、法规及条例	制定部门	制定时间
《实验动物管理条例》	国家科委 2 号令	1988 年
《医学实验动物管理实施细则》	卫生部	1998 年
《国家医药管理局实验动物管理办法》	国家医管局 6 号令	1991 年
《国家医药管理局实验动物管理实施细则(草案)》	国家质量管理局	1991 年
《医学实验动物标准》	卫生部	1992 年
《卫生部实验动物管理委员会工作条例》	卫生部	1992 年
《卫生部实验动物管理委员会合格证管理办法》	卫生部	1992 年
《医学实验动物质量监测手册》	卫生部动物管理会	1992 年
《合格证管理办法》	卫生部动物管理会	1992 年
《药品非临床研究质量管理规定》	国家科委 16 号令	1993 年
《实验动物质量管理办法》	国家科技部、国家技术监督局	1997 年
《实验动物国家标准》	国家质量技术监督局	1994 年(2001 年修订)
《实验动物许可证管理办法(试行)的通知》	科技部等 7 个部局	2001 年
《上海市实验动物管理办法》	上海市人民政府批准,上海市科学技术委员会发布	1987 年
《关于上海市科学技术发展基金项目应用实验动物的有关规定(试行)的通知》	上海市科学技术委员会	2000 年

(杨 萍)

第二章 实验动物的遗传学分类

第一节 实验动物的遗传学分类法

一、实验动物种、品种与品系的概念

(一) 种

动物分类法是根据动物的形态结构和遗传性状,将动物在界(kingdom)以下分为门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)、种(species)。“种”是由自然选择形成的生物分类学上的基本单位。通常,同种雌雄动物之间交配能顺利地繁殖后代,而异种动物之间则存在生殖隔离。以小鼠为例,它属于:

脊椎动物门
 哺乳动物纲
 啮齿目
 鼠科
 小鼠属
 小鼠种

(二) 品种与品系

在实验动物中把同一种动物中具有不同遗传特性的动物再细分为不同的品种和品系,有些品系还进一步细分为亚系。

1. 品种 品种(stock)是种以下的非自然分类单位。把动物的外形和生物学特性进行改良以适应不同的需求,从而通过选择,定向培育出具备某些生物学特性的特定动物类群。品种主要是人工选择的产物,它的特性能较稳定遗传。如实验用兔可分为新西兰兔、日本大耳兔、青紫蓝兔等品种。

2. 品系 品系(strain)即“株”,为实验动物分类学的专用名词,指根据不同实验目的采用一定的交配方式繁殖且祖先明确的动物群,如近交系、突变系等。作为一个品系,必须具备独特的生物学特性、相似的外貌特征、稳定的遗传特性,并具有共同的遗传来源和一定的遗传结构。

二、实验动物的遗传学分类方法

实验动物是遗传限定的动物,从遗传学角度,根据基因类型是否相同,可将实验动物分为相同基因类型动物和不同基因类型动物两大类,相同基因类型动物主要指近交系动物,不同基因类型动物主要指封闭群动物。相同基因类型动物具有高度的同基因性和独特性,且能保持长期遗传的稳定性及表现型高度一致,分布广泛,并拥有可检定的客观指标便于分辨。而不同基因类型动物则不同。

第二节 近交系动物

一、近交系动物的历史

1907年,美国 Jackson 实验室的创始人和第1任主任 C. C. Little 开始以小鼠的毛色基因为标记,近亲交配小鼠,以获得必要的遗传均一性。2年以后,他获得带 d(dilution,淡色)、b(brown,棕色)和 a(nonagouti,非野鼠色)3个隐性基因纯合的小鼠,以后又以这些小鼠亲兄妹连续交配达20代以上,获得了世界上第1株带3个隐性毛色基因(a/a, b/b, d/d)的近交系小鼠品系,即 DBA 品系的祖先。1921年 Little 又培育出 C57BL、C57BR、C57J 等近交小鼠品系。同年 L. C. Strong 也采用全同胞兄妹交配的方式培育出 A、CBA、C3H 等近交小鼠品系。现在全世界共有近交品系近千个,其中大小鼠的近交品系占绝大多数,其用量亦列实验动物用量之首。近交系动物的育成是实验动物学的一大进步,其应用大大促进了遗传学、肿瘤学、免疫学等学科的发展。

二、近交系动物的定义

近交系动物(inbred strain animal)是指经至少连续20代的全同胞兄妹交配培育而成,品系内所有个体都可追溯到起源于第20代或以后代数的一对共同祖先的动物群。例如,常用近交系大鼠 F344、常用近交系小鼠 BALB/C 等。

近交系动物各条染色体上的基因趋于纯合,等位基因基本完全一致,其近交系数可达98.6%,血缘系数达99.6%。所以,近交系动物遗传纯合度高,品系内个体间差异趋于零,特征稳定,用于实验时重复性高,对各种应激刺激反应均一,实验结果准确,如同活的“分析天平”。目前近交系动物是全世界分布最广泛、用量最多的实验动物之一。

三、近交系动物的亚系和支系

(一) 亚系

育成的近交系在维持过程中可能由于残余杂合基因的分离或基因突变而导致部分遗传组成的改变,造成同一品系内不同分支之间在遗传上的差异,从而形成亚系(substrain)。

亚系的形成有以下几种原因:①同一品系在兄妹交配40代之前分离,很可能由于残余杂合性而导致形成亚系。②同一品系长期处于分离状态(100代以上),可能由于突变而形成亚系。③已发现有遗传差异的品系,常因品系发生遗传污染后又继续近交许多代,由此造成许多基因改变而形成亚系。

(二) 支系

当饲养环境改变或对动物进行某些技术性处理时,有可能对某些生物学特征产生影响。这些特征可能是遗传性的,也可能是非遗传性的。因此,有必要对这一类品系进行区分,再细分为支系(subline)。

支系的形成有以下几种原因:①引种到另一实验室。②经过某种技术处理,包括代乳(foster nursing, f)、受精卵或胚胎移植(egg or embryo transfer, e)、人工喂养(hand-rearing, h)、卵巢移植(ovary transplant, o)、冷冻保存(freeze preservation, p)、人工代乳(foster on hand-rearing, fh)。

四、特殊类型的近交系动物

(一) 同源突变近交系

同源突变近交系(coisogenic inbred strain)是指某个近交系在某一特定基因位点上发生基因突变,从而分离出一株与原近交系在该基因位点上带有不同的基因,而其他位点上的基因完全相同的近交系亚系。

(二) 同源导入近交系

通过杂交-互交(cross-intercross)或回交(backcross)等方式将一个基因导入到近交系中,由此形成的一个新的近交系与原来的近交系只是在一个很小的染色体片段上的基因不同,称为同源导入近交系(congenic inbred strain),又称同类近交系,简称同源导入系或同类系。

(三) 分离近交系

分离近交系(segregating inbred strain)是指在近交系培育过程中,采用特定的交配方法,以迫使其个别基因位点上的基因处于杂合状态,并能分离出在该基因位点上带有不同等位基因的两个近交系亚系。

(四) 重组近交系

重组近交系 (recombinant inbred strain) 是指由两个无关的近交系作为祖先品系, 杂交生育杂种一代之后, 杂种一代互交生育杂种二代, 从杂种二代中随机选择个体配对, 采用全同胞兄妹连续交配 20 代以上而形成的一个近交系列组品系。重组近交系既具有双亲品系的特征, 又具有重组后每个重组品系的特征。

(五) 系统杂交动物

系统杂交动物 (F1 hybrid) 是指由两个无血缘关系的近交品系有计划杂交繁殖出的第 1 代动物, 又称杂交 F1 代动物, 它具有高度的同基因性和表型一致性, 对试验反应均一性好, 所有个体的基因型均是其父母基因型的组合, 不仅常具有两系双亲的特征, 亦可产生不同的杂交组合, 且由于基因互作, 可产生不同于双亲的新性状, 成为表现症状的自发性动物模型, 因其双亲来自两个不相关的近交系, 故具有杂种优势, 生活力和抗病力优于近交系, 对环境的适应力强。

五、近交系动物的维持和生产

近交系动物育成之后, 应保持其同基因性及其基因纯合性, 维持其特定的生物学特征稳定。近交系动物的繁殖可分为基础群 (foundation stock)、血缘扩大群 (pedigree expansion stock) 和生产群 (production stock)。当近交系动物生产供应数量不是很大时, 一般不设血缘扩大群, 仅设基础群和生产群。近交系动物的维持和生产过程一般是从基础群移出种动物, 经血缘扩大群扩增后, 建立生产群, 由生产群繁殖仔鼠育成后供实验用。

(一) 基础群

设立基础群的目的, 一是保持近交系自身的传代繁衍, 二是为扩大繁殖提供种动物。要求如下:

- (1) 基础群严格以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。
- (2) 基础群应设动物个体记录卡 (包括品系名称、近交代数、动物编号、出生日期、双亲编号、离乳日期、交配日期、生育记录等) 和繁殖系谱。
- (3) 基础群动物不超过 5~7 代都应能追溯到一对共同祖先。

(二) 血缘扩大群

血缘扩大群的种动物来自基础群。要求如下:

- (1) 血缘扩大群以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。
- (2) 血缘扩大群动物应设个体繁殖记录卡。
- (3) 血缘扩大群动物不超过 5~7 代都应能追溯到其在基础群中的一对共同祖先。

(三) 生产群

设立生产群的目的是生产供实验用的近交系动物,生产群种动物来自基础群或血缘扩大群。要求如下:

- (1) 生产群动物一般以随机交配方式进行繁殖。
- (2) 生产群动物应设繁殖记录卡。
- (3) 生产群动物随机交配繁殖的代数一般不应超过4代。

六、近交系动物的特性

(一) 同和性

同和性(homozygosity)是指在一个近交品系内所有动物的所有基因位点都应该是纯合子,这样的个体与该品系中任何一个动物交配所产生的后代也应是纯合子,在这些动物中没有暗藏的隐性基因。

(二) 同基因性

同基因性(isogenicity)是指一个近交品系中任意两个个体之间在遗传上是同源的,同一品系内不同个体间的基因型完全一致,因此在同一品系内动物个体间进行皮肤或肿瘤移植不会被当作异己而排斥。

(三) 均一性

均一性(homogeneity)是指由于近交系动物是相同基因型的动物,因而任何可遗传的体征都完全一致。某些个体的差异可能是由于环境的不均一所造成。

(四) 长期的遗传稳定性

近交系动物在遗传上具有高度稳定性,人为选择不会改变其基因型,个体遗传变异仅发生在少量残留杂合基因或基因突变上,而这种概率非常低。如果近交系动物育成后坚持近交,并辅以遗传监测,及时发现和清除遗传变异的动物,则近交系动物中各品系的遗传特性可世代相传。

(五) 可分辨性

几乎每个近交品系都建立了遗传概貌,掌握了遗传监测方法,可以轻而易举地将混合在一起的两个外貌近似的品系分辨出来。

(六) 个体性

近交系动物的每个品系在遗传上都是独特的,因而具有独有的表现型,因此可在众多的近交系中筛选出对某些因子敏感和非敏感的品系以达到不同的实验目的。

(七) 分布的广泛性

近交系动物个体具备品系的全能性,任何个体均可携带该品系全部基因库,引种非常方便,仅需1~2对动物。因此,目前大部分近交系动物能广泛分布到

世界各地。

(八) 背景资料和数据较为完整

由于近交系动物在培育和保种的过程中都有详细记录,加之这些动物分布广泛,经常使用,已有相当数量的文献记载着各品系的生物学特征,这些基本数据为设计新的实验和解释实验结果提供了便利条件。

七、近交系动物的应用

近交系动物个体间极为一致,对实验反应均一,可以消除杂合遗传背景对实验结果的影响,因此在实验中,实验组和对照组都只需少量动物。近交系动物个体间组织相容性一致,因此在同一品系内动物个体间进行组织细胞或肿瘤移植不会发生免疫学排斥反应。

由于近交,隐性基因纯合性状得以暴露,可以获得大量先天性畸形及先天性疾病的动物模型。

某些近交系具有一定的自发或诱发肿瘤发生率,并可以使许多肿瘤细胞株在活体动物上传代。这些品系成为肿瘤病因学、肿瘤药理学研究的重要模型。

多个近交系同时使用可使不同研究者分析不同遗传组成对某项实验的影响,或者观察实验结果是否具有普遍意义。

八、常用近交系动物的主要生物学特性

(一) 近交系小鼠

常用的近交系小鼠品系如表 2-1 所示。

表 2-1 常用近交系小鼠

品系	毛色	主要特征	常见亚系
A	白化	雌性经产鼠乳腺癌发病率为 30% ~ 80%; 可的松诱发先天性脾裂发病率高; 对麻疹病毒高度敏感; 对 X 线非常敏感	A/J A/He
AKR	白化	淋巴细胞白血病发生率雄性为 76% ~ 90%, 雌性为 68% ~ 90%; 血液过氧化氢酶活性高; 肾上腺类脂质浓度低; 对 Graffi 白血病因子敏感	AKR/N AKR/J AKR/Cum
BALB/c	白化	乳腺肿瘤发病率低, 为 10% ~ 20%; 对放射线非常敏感; 老年雄性鼠心脏有某些病变; 常见动脉硬化, 血压较高; 肾上腺和卵巢自发性肿瘤发病率高; 几乎全部 20 月龄雄性鼠脾脏均有淀粉样病变; 易患慢性肺炎	BALB/cJ BALB/cAnN
DBA/1	淡棕色	对 DBA/2 的大部分移植瘤有抗性; 12 月龄以上的已产雌鼠和 18 月龄以上的处女鼠乳腺癌的自发率是 75%; 对接种结核杆菌敏感; 近 100% 的淘汰雌性种鼠均可见心脏钙质沉着	DBA/1N DBA/1J

(续表)

品系	毛色	主要特征	常见亚系
DBA/2	淡棕色	乳腺癌发病率雌性为 66% ; 育成雄性为 30% ; 白血病发病率雌性为 6% , 雄性为 8% ; 35 日龄小鼠 100% 有听源性癫痫发作; 55 日龄以后则为 5% ; 雄性鼠接触氯仿烟雾和乙二醇的氯化产物, 以及维生素 K 缺乏时死亡率高	DBA/2J DBA/2N DBA/2Ola
C57BL	黑色	低发乳腺癌, 对放射性耐受性强, 但照射的肝癌发生率高; 眼畸形、口唇裂的发生率达 20% , 淋巴细胞性白血病发病率为 6% , 对结核杆菌有耐受性, 嗜酒, 对化学致癌物诱导作用敏感性低; 老年鼠中有垂体腺瘤和网状细胞内肉瘤	C57BL/6 C57BL/10 C57BL/Ks
C3H	野鼠色	对致肝癌因素敏感; 14 月龄自发性肝癌发病率高达 85% ; 在 9 ~ 10 月龄的种鼠与处女鼠中乳腺癌自发率为 97% ~ 100% ; 雄鼠对松节油、氯仿易感补体活性高; 干扰素产量低; 在普通环境下易患幼鼠腹泻; 老年鼠常见膀胱扩张和自发性成骨肉瘤; 对炭疽杆菌有抵抗力	C3H/He C3H/Bi C3H/HeJ C3H/St
CBA	野鼠色	CBA/Ca 有 18% 缺第 3 下臼齿, 雄鼠对维生素 K 缺乏敏感; CBA/J 乳腺肿瘤发病率为 33% ~ 65% ; 雄性鼠肝细胞瘤发病率为 25% ~ 65% ; 对中剂量放射线有抗性对麻疹病毒高度敏感; 携带视网膜退化基因; CBA/N 带有 B 细胞缺乏的伴性免疫缺陷基因	CBA/Ca CBA/J CBA/N CBA/St
C58	黑色	高发白血病, 淋巴性白血病发生率达 95% ; 一次性排卵的数量多; 10% 的鼠肾脏发育不良; 对疟原虫感染有一定抵抗力	C58/J C58/N C58/LWN
129	灰野生色	睾丸畸胎瘤自发率为 30% ; 适用于卵巢或卵子移植, 对雌激素敏感	129/RdJ 129/Re
KK	白色	老年鼠中自发性糖尿病发病率高, 葡萄糖耐糖量异常, 血清胰岛素含量高, 对双胍类降糖药敏感	KK/Jic
SWR	白色	乳腺癌发生率低; 雄鼠在接触乙醇氧化物或维生素 K 缺乏时死亡率高; 常见动脉硬化症	/
615	深褐色	肿瘤发生率为 10% ~ 20% ; 雌性为乳腺癌, 雄性为肺癌; 对津 638 白血病病毒敏感	/
SMMC/C	白化	对疟原虫敏感; 高乳腺癌发病率	/
SMMC/B	白化	对减压病敏感; 肿瘤白发病率低	/
津白 1	白化	肿瘤白发病率低	/
津白 2	白化	乳腺癌发病率高	/
中国 1	白化	自发肿瘤少见	/
NZB	黑色	有自身免疫性溶血性贫血; 自发性高血压和高血压心血管病, 有抗核抗体; 有髓外造血现象和类狼疮性肾炎	NZB/J NZB/N
NZW	白色	NZB 与 NZW 杂交 F1 代有红斑狼疮 (LE 细胞) 和抗核抗体阳性	/

(二) 近交系大鼠

常用近交系大鼠品系如表 2-2 所示。

表 2-2 常用近交系大鼠

品 系	毛 色	主要特征
F344/N	白化	原发和继发性脾红细胞免疫反应性能低;旋转运动性低;血清胰岛素含量低,雄鼠乙基吗啡和苯胺的肝代谢率高;可做苯酮尿症动物模型。对高血压蛋白质的产生有抗性。乙烯雌酚吸收快且易引起死亡。肾脏疾病发生率低。可做周边视网膜退化模型。对囊尾蚴易感;乳腺癌自发率为雄性 23%,雌性 41%;脑垂体腺瘤发病率为雄性 24%,雌性 36%;睾丸间质细胞瘤发病率为 85%;甲状腺瘤发病率为 22%;单核细胞白血病发病率为 24%;雌性乳腺纤维腺瘤发病率为 9%;多发性子宫内膜肿瘤发病率为 21%。
Lou/CN	白化	浆细胞瘤高发系;其同类系 Lou/MN 为低发系。两者组织相容性相同,回盲部淋巴结产生的自发性淋巴瘤-免疫细胞瘤,可移植于同系大鼠和其杂交后代。60% 合成单克隆 IgG、IgA;8 月龄以上的大鼠自发浆细胞囊肿发生率雌性为 30%,雌性为 16%;产生单核免疫球蛋白 IgG 占 35%,IgE 或 IgA 占 36%;主要用于免疫学研究中的单克隆抗体制备。
ACI	黑色,腹部和脚白色	28% 的雄性和 20% 的雌性有单侧肾缺如或发育不全,或肾囊肿,自发性肿瘤发生率为:雄鼠睾丸肿瘤 46%,前列腺肿瘤 17%,脑垂体肿瘤 5%,肾上腺肿瘤 16%,皮肤、耳道及其他类型肿瘤 6%;雌鼠脑垂体瘤 21%,子宫瘤 13%,乳腺癌 11%,肾上腺瘤 6%,血清甲状腺素含量低,繁殖力低,死胎发生率为 11%。该品系大鼠呈现低血压,对变化环境适应期长,先天性泌尿生殖异常,易诱发前列腺癌。
M520	白化	收缩血压低;苯胺的肝脏代谢率低,乙基吗啡代谢率高;极易感染肾炎和囊尾蚴病。小于 18 月龄时,子宫瘤、脑垂体前叶瘤、肾上腺皮质、髓质及间质地细胞瘤的发生率在 10% 以下。大于 18 月龄时,子宫瘤的发病率为 12%~50%;肾上腺髓质瘤为 65%~85%;脑垂体前叶瘤为 20%~40%;未交配雄鼠的同质细胞瘤为 35%; α -乙酰氟胺诱发肿瘤敏感。
BN	棕色	先天性高血压发病率为 30%;肾盂积水发病率为 30%;31 月龄的大鼠心内膜疾病发生率为 7%;可发生抗实验性过敏性脑膜炎,抗自身免疫复合物性肾炎。可用于白血病骨髓移植研究。上皮肿瘤发生率雄性为 28%,雌性为 20%。雄鼠最常见的肿瘤为膀胱癌,发生率为 35%;胰岛腺瘤为 15%。雌鼠脑垂体腺瘤发病率为 26%;肾上腺皮质腺瘤为 19%;宫颈肉瘤为 15%。
LEW	白化	血清中甲状腺素、胰岛素和生长激素含量高;对实验性过敏性脑脊髓炎敏感。诱发自身免疫心肌炎高度敏感;自身免疫复合物血管球性肾炎敏感。
AGVS	白化	易感染实验性过敏性脑脊髓炎;对溶组织内阿米巴有抗性;繁殖力良好。
CAS	白化	高发龋齿;生育能力低;产仔少
BVF	白化	龋齿发病率低;白发免疫甲状腺炎;25%~30% 的中老年鼠自发脑垂体瘤,适用于肝癌研究。
WF	白化	自发性单核细胞白血病发病率较高,为 28%~36%。雌鼠自发肿瘤发病率为:脑垂体瘤 27%,乳腺癌 21%,血清中生长素含量低。
SHR	白化	高血压发生率高,且无明显原发性肾脏或肾上腺损伤,心血管疾病发生率高。尿嘌呤糖尿病能进一步使血压增高,动物对抗高血压药物有反应。循环血中的促肾上腺激素水平明显偏高。 ¹³¹ I 代谢率较正常鼠减少,甲状腺重量增加。
COP	头部被毛呈黑色头巾状	对乳腺癌有抵抗力;脑垂体小;可自发胸腺癌;对囊尾蚴有抵抗力;可用于前列腺癌的移植研究和模型建立。
GH	白化	为遗传性高血压,可能与肾及前列腺素的分解代谢有关,有心肌肥大和心血管疾病。心率快于正常血压品系的 20%,体脂肪含量较低,心脏比正常品系大 50%,是研究高血压和心血管疾病的良好模型。

(三) 近交系豚鼠

常用近交系豚鼠品系如表 2-3 所示。

表 2-3 常用近交系豚鼠

品 系	毛 色	主要特征
近交系 2 号	黑、棕、白 3 色	体重小于近交系 13 号,但脾脏、肾脏和肾上腺大于近交系 13 号,老年豚鼠胃大弯、直肠、肾脏、腹壁横纹肌、肺脏和主动脉等都有钙质沉着。对结核杆菌抵抗力强,并具有纯合的 GPI-A(豚鼠主要组织相容性复合体)、B1 抗原,血清中缺乏诱发的迟发超敏反应因子,对试验诱发自身免疫的甲状腺炎比近交系 13 号敏感。
近交系 13 号	黑、棕、白 3 色	对结核杆菌抵抗力弱,受孕率比 2 号差,体形较大。GPI-A、B1 抗原与 2 号相同,而主要组织相容性复合体 I 区与 2 号不同。对诱发自身免疫甲状腺炎抵抗力比 2 号强。血清中缺乏迟发超敏反应因子。生存期 1 年的豚鼠白血病自发率为 7%,流产率为 21%,死胎率为 45%。

第三节 封闭群动物

一、封闭群动物的定义

封闭群动物是指以非近亲交配方式进行繁殖生产的一个实验动物种群,在不从其外部引入新个体的条件下,至少连续繁殖 4 代以上。封闭群动物的关键是不从外部引进任何新的基因,同时进行随机交配,不让群体内的基因丢失,以保持封闭群一定的杂合性。在封闭群内,个体间的差异程度主要取决于其祖代来源,若祖代来自一般杂种动物,则个体差异较大,若祖代来自同一个品系的近交系动物,则差异较小。

不同基因型的动物以封闭群动物为代表,又可以分为两类:远交系(outhred stock)和突变系(mutant stock)。

(一) 远交系动物

在同一种群内,由无血缘关系的雌雄个体间通过随机交配所繁殖的后代称为远交系动物。它的遗传组成比较类似于自然状态下的动物群体结构,由于在远交系动物群体中,个体之间具有遗传杂合性而差异较大,但是从整个群体来看,封闭状态和随机交配使群体基因频率基本保持稳定不变,从而使群体在一定范围内保持有相对稳定的遗传特征。常见远交系动物有 ICR 小鼠、KM 小鼠、Wistar 大鼠、SD 大鼠、Dunkin Hatley 豚鼠、New Zealand 兔等。

(二) 突变系动物

由于自然变异或人工致突变,正常染色体上的基因发生突变而具有了

某种遗传缺陷或具备了某种独特的遗传特点的品系称为突变系。常见突变系动物有带有“dy”突变基因的肌萎缩症小鼠，带有“dw”突变基因的侏儒症小鼠，带有“Ca”突变基因的白内障大鼠，带有“di”突变基因的糖尿病大鼠等。

二、封闭群动物的维持和生产

封闭群动物的维持和生产，应尽量保持封闭群动物的基因异质性及多态性，避免近交系数随繁殖代数增加而过快上升。为保持封闭群动物的遗传异质性及基因多态性，种群动物数量要足够多，小型啮齿类封闭群动物种群数目一般不能少于25对。为保持封闭群动物的遗传基因稳定，封闭群应足够大，并尽量避免近亲交配。封闭群动物的维持和生产必须保持封闭群条件，无选择、以非近亲交配方式进行繁殖，每代近交系数上升不超过1%。

封闭群的种群大小、选种方式及交配方法是影响封闭群繁殖过程中近交系数上升速度的主要因素，应根据种群的大小选择适宜的繁殖交配方法。当封闭群中每代交配的雄性种动物数目为10~25只时，一般采用最佳避免近交法；当封闭群中每代交配的雄性种动物数目为26~100只时，一般采用循环交配法；当封闭群中每代交配的雄性种动物数目多于100只时，一般采用随选交配法。

三、封闭群动物的特点及应用

封闭群动物的特点及应用如下：

(1) 远交系动物的遗传组成具有很高的杂合性，因此在遗传中可作为选择实验的基础群体，用于对某些性状遗传力的研究。

(2) 远交系动物可携带大量的隐性有害突变基因，可用于估计群体对自发或诱发突变的遗传负荷能力。

(3) 远交系动物具有类似于人类群体遗传异质性的遗传组成，因此在人类遗传研究、药物筛选和毒性试验等方面起着不可替代的作用。

(4) 远交系动物具有较强的繁殖力和生活力，表现为每胎产仔多、胎间隔短、仔鼠死亡率低、生长快、成熟早、对疾病的抵抗力强、寿命长等，加之饲养繁殖时无需详细记录谱系，容易生产，成本低，可大量供应，因而广泛应用于预试验、学生教学和一般实验中。

(5) 突变系动物所携带的突变基因往往引起动物出现异常表现，从而成为生物医学研究的自发性模型。

四、常用封闭群动物的主要生物学特性

(一) 封闭群小鼠

常用的封闭群小鼠的生物学特性及应用如表 2-4 所示。

表 2-4 常用封闭群小鼠的生物学特性及应用

品系	毛色	来源	主要特点	应用
昆明 (KM)	白色	印度 Haffkine 研究所	高产、抗病力强、适应性强、常见的自发肿瘤为乳癌,发病率约为 25%	用于药品药理和毒理研究以及生物制品检定
NIH	白色	美国国立卫生研究院	繁殖力强、产仔存活率高、雄性好斗易致伤	用于药品药理和毒理研究以及生物制品检定
ICR	白色	美国 Hanschka 研究所	繁殖力强、产仔存活率高、雄性好斗易致伤	用于药品药理和毒理研究以及生物制品检定
LACA (CFW)	白色	英国 Carworth 公司	繁殖力强、产仔存活率高、雄性好斗易致伤	用于药品药理和毒理研究以及生物制品检定

(二) 封闭群大鼠

常用封闭群大鼠的生物学特性及应用如表 2-5 所示。

表 2-5 常用封闭群大鼠的生物学特性及应用

品系	毛色	主要特征及应用
Wistar	白化	头部较宽,耳朵较长,尾长小于身长,性周期稳定,繁殖力强,产仔多,生长发育快,性情温顺,对传染病的抵抗力较强,自发肿瘤发生率低
Sprague-Dawley (SD)	白化	头部狭长,尾长度近于身长,产仔多,生长发育较 Wistar 快,抗病能力尤以对呼吸系统疾病的抵抗力强,自发肿瘤发病率较低,对性激素感受性高,常用作营养学、内分泌学和毒理学研究
Long-Evans	白化或头、颈、尾基部黑色	基因型为 hh 时,头部毛斑如包头巾;基因型为 hbaa 时,头、颈、尾基部呈黑色
Brown-Norway	褐色	用于遗传学研究

(三) 封闭群豚鼠

常用封闭群豚鼠的品系为英国种(又称荷兰种);毛色有白、黑、棕、灰、淡黄、巧克力等单色,也有白与黑等双色或白、棕、黑等 3 色;主要特征及应用为生长迅速、生殖力强、性情活泼温顺,母鼠善于哺乳,多用于药物检定、传染病学等研究。

(四) 封闭群兔

常用封闭群兔的生物学特性如表 2-6 所示。

表 2-6 常用封闭群兔

品 系	毛 色	主要特征
日本 大耳兔	白色	眼睛红色、耳大、薄,向后方竖立,耳根细,耳端尖,形同柳叶,母兔颌下有肉髯;体型中等偏大,被毛浓密,生长快,繁殖力强,抗病力较差,适应性好
新西兰 白兔	白色	头宽圆而粗短,耳较宽厚而直立,臀圆,腰肋部肌肉丰满,四肢粗壮有力;体型中等,性情温顺,便于饲养管理,繁殖力强,产肉率高,以早期生长快而著称
青紫蓝兔	每根被毛分为3种颜色,毛根灰,中段灰白,毛尖黑色;尾、面部呈黑色,眼圈、尾底、腹部呈白色	体型中等,体质结实,腰臀丰满;繁殖性能较好,适应性好,生长快,容易饲养,用于生物制品的检验;分标准型、中型、巨型3个种群

第四节 实验动物的遗传学质量监测

一、实验动物遗传质量监测的意义

实验动物遗传质量监测是为了保证动物品种品系的遗传质量与标准一致,并使之在长期保种繁殖后遗传特征稳定不变。实验动物在培育、维持和生产等过程中可能由于基因突变和遗传漂变及遗传污染等因素引起其遗传性状的改变,因而必须定期监测实验动物的遗传质量,及时发现由各种因素造成的遗传变异或污染,以保证实验动物的遗传组成和生物学特性的稳定。对遗传质量监测方法的最根本要求是准确(exact)、简便(easy)、有效(efficient)、经济(economy),简称“4E”原则。

二、近交系动物的遗传监测

(一) 近交系动物遗传监测的目的

根据近交系动物的遗传学特点,其遗传监测的目的首先是及时发现遗传变异或污染,以保证近交系动物基因的高度纯合,并淘汰由于各种原因造成遗传变异的个体;其次应对外表特征相同(如毛色、体形等)的不同品系近交系动物做有效区分。近交系动物生产群每年至少进行一次遗传质量监测。

(二) 近交系动物遗传监测的方法

国际上用于近交系动物遗传监测的方法主要有形态学方法、免疫学方法、生物化学方法3种(表2-7)。

表 2-7 实验动物遗传质量监测常用方法

原 理	方 法	评 价
形态学	下颌骨形态分析法	较复杂,需要经过复杂计算,屠杀大量动物
	毛色基因测试法	简单,但需长时间观察
	染色体带纹分析法	较复杂,准确性较差
免疫学	同系异体植皮法	简单,有权威性,得到结果时间长
	H-2 复合体监测法	较复杂、费用高,准确性较高
	混合淋巴细胞培养	较复杂、费用高,需一定设备
生物化学	生化标记电泳法	经济、准确性较高,普遍采用

(三) 近交系动物遗传监测结果的判断与处理

近交系动物遗传监测结果的判断与处理如表 2-8 所示。

表 2-8 近交系动物遗传监测结果的判断与处理

检测结果	判 断	处 理
与标准遗传概貌完全一致	未发现遗传变异、遗传质量合格	/
有一个位点的标记基因与标准遗传概貌不一致	可疑	增加检测位点数目和增加检测方法后重检,确实只有一个标记基因改变,可命名为同源突变系
两个或两个以上位点的标记基因与标准遗传概貌不一致	不合格	淘汰、重新引种

三、封闭群动物的遗传监测

封闭群动物的遗传监测一般可从如下几个方面进行:

- (1) 观察种群的基本形态,如毛色、体形、体重等。
- (2) 测定基本生理常数,如白细胞、红细胞、血红蛋白等。
- (3) 测定基本生殖常数。
- (4) 观察发育繁殖功能,如离乳率、死亡率、幼仔发育情况、性周期等。
- (5) 测试某些生化位点和免疫遗传学标记,计算各位点的基因和基因型频率。
- (6) 测定下颌骨数量、形态数据,以判断是否保持原有群体的下颌骨形态遗传特点。

(杨 斐)

第三章 实验动物的微生物学分类

根据不同的微生物等级标准和环境控制要求,我国将实验动物分为4个等级,即普通级动物、清洁级动物、无特定病原体动物和无菌动物。

第一节 普通级动物

普通级动物(conventional animals, CV)是指无体外寄生虫(节肢动物)、无皮肤真菌、无动物自身烈性传染病(如小鼠的脱脚病、大鼠的流行性出血热)、无人兽共患传染病的动物。普通级动物饲养在开放环境中,对生活环境要求相对较低一些,因此生产成本也较低。目前一般仅限于教学实验等用途。国家及上海市对啮齿类大小鼠已经明确规定,自2002年5月起所有实验必须采用清洁级以上动物。

第二节 清洁级动物

清洁级动物(clean animals, CA)是我国特有的、介于普通级和无特定病原体级之间的实验动物级别,是指在普通级动物的基础上,进一步排除体内寄生虫、支原体、鼠肝炎病毒、巴氏杆菌、仙台病毒等病原体的动物。无论是动物饲育或者是用于动物试验,清洁级动物必须饲养在空气过滤的环境中,净化级别达到10 000级,如净化单元、层流架、层流室、独立通气笼盒(IVC)等设施设备中。饲料垫料、饮水、笼具和其他饲育器械、实验器械均必须进行有效的灭菌处理后送入饲育区或试验区;操作人员进入饲育区应严格穿戴灭菌无尘隔离衣帽鞋和口罩。清洁级动物是目前我国最广泛使用的实验动物。

第三节 无特定病原体动物

无特定病原体动物(specific pathogen free animals, SPF)是指在清洁级动物

的基础上,动物体内和体表及其生活环境不带有干扰实验研究的(特定的)微生物和寄生虫的动物。同时,SPF 动物必须排除金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌等病原体。动物种群来源于无菌动物。SPF 动物必须饲养在经高效空气过滤的环境中,净化级别要求达到 10 000 级。动物繁育和较长时间的动物实验应当在隔离器中进行,短期动物实验可以在层流架+超净工作台或 IVC+超净工作台等设备中进行。饲料、垫料、饮水、笼具和其他饲养器械、实验器械均必须进行有效的灭菌处理后送入隔离器等饲养、实验设备,饮水最好进行酸化(pH 2.5~3.0);操作人员进入饲养区应严格穿戴灭菌无尘隔离衣、帽、鞋和口罩。随着科研和实验动物科学的发展,SPF 动物在我国也已经被广泛使用。

第四节 无菌动物

无菌动物(germ free animals,GF)包括无菌动物(GF)和已知菌动物(悉生动物,gnotobiotic animals,GN)。前者指不带有任何目前能够检测出来的生命体(包括一切微生物和寄生虫);后者是在前者的基础上,根据饲养或实验的特殊需要,人为地给予某些已知的微生物。无菌动物必须饲养在经高效过滤的空气、滤过率达 99.97% 的隔离器环境中。空气洁净度为 100 级。饲料、垫料、饮水、笼具和其他饲养器械、实验器械均必须进行有效的灭菌处理后送入隔离器。

(姚一康)

第四章 实验动物常见的传染性疾病 和微生物学质量监测

第一节 概 述

一、实验动物常见的传染性疾病和微生物学质量监测的重要性

在生命科学、医疗卫生、药品鉴定等研究领域使用标准的实验动物越来越受到重视。然而要实现实验动物标准化,就必须在遗传、营养、微生物和环境等方面进行控制。其中微生物学、寄生虫学质量控制是实验动物标准化的重要内容之一。

由于实验动物常采用群体饲养,且有来自不同的易感病原,因此极易造成疾病的爆发和流行,而影响实验动物生产和动物实验结果,其重要性表现在几个方面:某些实验动物疾病的流行可引起大批实验动物的死亡和质量下降,不仅造成严重的经济损失,而且还可中断或阻碍科学研究的正常进行;有的实验动物疾病是人兽共患病,可同时引起人和动物的疾病,具有较大的危险性;某些实验动物的疾病可干扰实验结果,影响科学研究的准确性和可靠性,甚至得出错误的结论。随着生命科学的迅速发展,对实验动物的要求越来越高,因此开展实验动物传染病的监测与控制工作对保证实验动物质量及等级标准具有十分重要的意义。

二、传染性疾病的概念和分类

病原微生物循着一定的途径侵入动物体后,在机体内生长繁殖,破坏了动物的正常生理功能而引起发病,并能把病原体传染给其他同类健康动物,引起疾病流行,这类疾病称为传染病。

1. 按病原体分类 可分为病毒性、细菌性和寄生虫性传染病。
2. 根据实验动物传染病对其自然宿主、其他动物的致病性 可分为以下几

种类型:

- (1) 对自然宿主和其他动物均有较强的致病性,属人兽共患病。
- (2) 对自然宿主致病性强,常引起暴发流行,甚至毁灭整个动物群体。
- (3) 对自然宿主致病性弱,但可传染给人,引起致死性感染。
- (4) 对自然宿主无致病性,但可引起其他动物的致死性感染。
- (5) 对自然宿主有一定的致病性,可引起疾病流行,影响动物的健康,并对研究工作产生严重干扰。
- (6) 对自然宿主和其他动物均无明显致病性,但可污染生物制剂、肿瘤移植和细胞培养物等。

三、传染病的防疫原则及措施

动物传染病的发生是由于有传染源、传播途径和易感动物的存在。因此,实验动物传染病的防疫原则应该查明并杜绝传染源,切断传播途径,提高动物抵抗疾病的能力。具体措施如下:

- (1) 根据不同等级的实验动物分别制定科学的饲养管理和卫生防疫制度,并严格执行。
- (2) 根据不同等级的实验动物的要求建立合理的环境设施,严格区分实验动物繁育区与动物试验区,且各种动物要分开饲养,以防交叉感染。
- (3) 坚持平时的各项卫生消毒灭菌制度,对实验动物的房舍、用具等定期进行消毒或灭菌,杜绝各种微生物的侵入。
- (4) 力争坚持自繁自养的原则,引进的动物只有确认健康后才能与原设施内动物合群或投入使用,不得从疫区引进动物。
- (5) 外环境定期进行杀鼠灭蝇的工作,防止野生动物和昆虫进入动物饲养室或动物实验室。
- (6) 工作人员定期进行健康检查,患有传染性疾病的人员不能从事实验动物工作。
- (7) 发现疫情及时上报,迅速隔离患病动物,危害性大的疫病采取封锁、扑杀等综合性措施,将患病动物进行焚烧,污染的环境及用具应进行彻底严密的消毒或灭菌。
- (8) 开展经常性的卫生检疫,发现疫情,及时采取相应的防治措施。

四、动物健康检查

经常对动物进行健康检查,有利于及早发现和及时处理疫情。动物健康检查主要从以下几个方面进行。

1. 生活习性的观察 不同种属的动物有不同的生活习性,若习性反常,常表明动物健康有异常。

2. 身体状况的观察 健康动物应具有正常的体形和坐势,检查时应注意动物活动是否有异常,身体各部位是否正常以及动物的营养状况是否良好。

3. 精神及反应性观察 健康的实验动物精神状态良好,活泼好动,双眼明亮,对外界环境反应灵敏,对光照、响声、捕捉反应敏捷。如果出现过度兴奋或过度抑郁则为异常。

4. 皮肤及被毛观察 健康的动物被毛光泽浓密,无污染,异常时则可出现被毛粗乱、蓬松,缺少光泽,甚至有粪便污染。健康实验动物的皮肤富有弹性,手感温暖,异常时可见皮肤粗糙,缺乏弹性,甚至出现损伤。

5. 饮食及饮食行为观察 健康动物食欲旺盛,有相对固定的采食量和饮水量以及采食和饮水方式,若采食和饮水量突增或突减以及采食方式发生改变,均为异常。

6. 粪尿 正常粪便具有一定的形、色、量,尿液具有一定的色泽、气味。异常时可见粪尿过多或过少,粪稀薄或硬结,粪便中有胶冻状黏液,脱落黏膜、血液、尿中带血,颜色混浊不清。

7. 呼吸、心跳和体温检查 正常动物具有相对固定范围内的呼吸、心跳和体温,固定的呼吸式,呼吸、心跳和体温超出它的变动范围则视为异常。

8. 天然孔、分泌物及可视黏膜观察 正常动物天然孔干净无污染,分泌物少,可视黏膜湿润。如出现鼻涕、眼屎、阴户流恶露、肛门有粪便、可视黏膜充血或发汗均为异常。

9. 妊娠及哺乳 正常雌性动物经配种后出现正常妊娠和哺乳期,且在各阶段有不同的体态、行为及采食反应。异常时可见流产、早产、死产和难产,以及拒绝哺乳、离弃幼仔和吞食幼仔。

10. 生长发育观察 动物出生后经哺乳离乳至成年后均要达到一定体重,具有该品种品系的外貌特征。异常时可见发育迟缓、瘦小或出现畸形。这时除对后天环境因素做出分析外,还应对动物的遗传性能做出分析。

11. 对可疑动物进行个体检查 初步分析症状异常的原因,必要时可进行特殊检查如尸体解剖、病理学检查、微生物学检查、血液学检查、生物化学检查等。

五、实验动物的隔离与封锁

一旦发现可疑感染动物或患病动物,应马上将其进行隔离,并将场地进行封锁,这样可以控制传染源的继续传播,防止健康动物受到感染,将疫情控制在最

小范围,其具体方法如下:

(1) 进行特殊检查,确诊为传染病发生时,应及时将疫情上报,并通知有关单位做好预防工作。

(2) 迅速将可疑感染动物和患病动物进行隔离或淘汰,实验用动物应停止实验观察或淘汰,隔离时应选择不易散播病原体,且消毒灭菌处理方便的地方或房舍。

(3) 原房舍及隔离区内所有用具、饮水、粪便、垫料等,必须经过彻底的消毒、灭菌后方可运出。

(4) 患烈性传染病时,应采取疫区封锁等综合性措施,动物应合群捕杀,疫区内严格消毒灭菌,且处理后 1 个月方可解除封锁,动物尸体应进行焚烧等处理。

六、常用的消毒灭菌方法

(一) 物理消毒灭菌法

1. 火焰消毒灭菌 焚烧用于动物尸体、污染垫料及垃圾处理;灼烧用于不锈钢笼具、笼架、金属器械等。

2. 干烤消毒灭菌 可用于器皿和金属材料的消毒,也可用于饲料(普通级动物用)。

3. 煮沸或流通蒸气消毒灭菌 用于饮水瓶、衣、帽、口罩、金属器械、饮水等的消毒。一般不用于饲料消毒。

4. 高压蒸气灭菌 用于大多数耐热物品,如垫料、笼具、饮水、饮水瓶、饲具、器械等物品的消毒灭菌。

5. ^{60}Co 的照射用于饲料灭菌,器械消毒和灭菌。紫外线照射用于空气消毒; γ 线、X 线用于饲料消毒灭菌。

6. 过滤消毒除菌 空气过滤用于屏障系统、动物运输盒等,液体过滤用于薄膜滤器、维生素、氨基酸等的除菌过滤。

(二) 化学消毒灭菌法

使用化学药物喷洒、浸泡、熏蒸等以达到消毒灭菌的目的。常用化学消毒方法有药物液体浸泡、喷洒消毒,蒸气或气体熏蒸消毒。常用的消毒药品及用法如下。

1. 乙醇 70% ~ 75% 乙醇用于皮肤消毒。

2. 碘 5% 的碘酊常用于皮肤、体温计的消毒。

3. 煤酚皂 3% ~ 5% 溶液用于洗手、浸泡工作服、擦拭笼架、喷洒地面和墙壁、浸泡笼具和器械等。

4. 漂白粉 10% ~ 20% 乳剂用于动物粪便、污水、地面喷洒;0.5% ~ 1% 澄清液可作用具、青饲料的浸泡,也可喷雾消毒。

5. 苯扎溴铵 0.1% ~ 0.5% 溶液用于洗手、皮肤黏膜消毒,器械和工作衣浸泡,以及笼架、门窗、地面擦拭和空气喷雾降尘。

6. 高锰酸钾 0.01% ~ 0.02% 可作黏膜、皮肤、污物消毒除臭。

7. 甲醛 常用于房屋空气和笼、器具熏蒸消毒灭菌。

8. 过氧乙酸 属广谱、高效、快速消毒灭菌剂,在实验室中广泛应用。

9. 盐酸 pH 2.5 ~ 3.0 酸化水供动物饮用。

10. 戊二醛 以 0.3 碳酸氢钠或碳酸钠溶液调节 2% 戊二醛溶液,使 pH 达 7.5 ~ 7.8 时,用于显微镜、冰箱、层流架、超净工作台、天平等精密仪器设备的擦拭消毒。

汽化过氧消毒机(VHP)设备图见插图 1。

第二节 常见的传染性疾病

一、小鼠传染性脱脚病

小鼠传染性脱脚病又名鼠痘,是由鼠痘病毒引起的一种烈性传染病,该病毒是危害实验小鼠最为严重的病毒之一。易感动物急性死亡率极高,达 95% 以上。慢性型病例,出现全身症状,严重时引起四肢或尾部水肿、坏死、脱落,终致残废,故名“脱脚病”。本病传染性极强,易发生流行,对生产和科学研究可造成很大损失。

本病流行时可根据临床症状作初步诊断,在未出现典型症状时,可依据流行病史、死亡率或个别先驱症状来作初步考虑。实验室检测可用动物接种、病毒分离、血清学诊断、包涵体检查等方法进行确认。

本病是危害小鼠最为严重的传染病之一,控制本病应注意以下几点:禁止在疫区采购动物;购入动物应隔离 2 ~ 3 周,并随时检查,定期作血清学监测,加强日常饲养管理,定期消毒。接种牛痘苗虽可预防此病,但必须慎重。

二、流行性出血热

流行性出血热是流行性出血热病毒感染引起的一种人兽共患病。该病主要存在于野生啮齿类动物中,可通过各种途径传播给人。实验大鼠、小鼠、兔、猫等动物常为隐性感染,健康带毒,但人感染后可突发疾病。多数成年鼠感染后无症状,对雌鼠的影响是生育率下降。人患本病则表现为发热、出血、肾功能损害和外周循环衰竭,死亡率很高。

该病的诊断主要采用血清学方法,如免疫荧光法、免疫酶试验法、酶联免疫吸附法和血凝抑制试验等。还可进行病毒分离。

控制办法主要是:严格防止野鼠和感染鼠进入动物饲养室与动物实验室;防止媒介昆虫造成的虫媒传染;加强血清学监测,发现抗体阳性者,立即淘汰并采取生物净化措施;对饲养员定期体检,以保护工作人员的健康。

三、沙门菌感染

本病常见于小鼠、大鼠和豚鼠,而兔不易患此病。沙门菌包括一大群无芽胞、有鞭毛、有动力、不发酵乳糖和蔗糖、抗原构造和生化性状相似的革兰阴性肠道杆菌,是一种人兽共患传染病的病原体。

根据临床症状往往不能做出准确的诊断,可通过细菌分离培养及鉴别进行诊断。鉴别诊断包括血清学、生化学和噬菌体等方法。

本病以预防为主,应采取综合措施预防本病;饲料应妥善保管,严防野鼠、苍蝇和粪便的污染;生活环境定期消毒;饲料中的蛋白质含量不得低于20%,否则常易诱发本病;发现患病动物及时隔离,淘汰;各种实验动物应分类饲养,密度应尽量减少,以便控制和减少相互感染的机会;对实验动物群定期进行检测。

四、细菌性肺炎

引起实验动物肺炎的细菌种类很多,如肺炎双球菌、克雷伯肺炎杆菌、鼠丹毒杆菌、鼠棒状杆菌、嗜肺巴氏杆菌、出血败血性巴氏杆菌、支气管败血性波氏杆菌等。这些细菌多为条件性致病菌,存在于正常动物的呼吸道黏膜上。只有当动物抵抗力下降时,这些致病菌才可能乘虚而入,侵入组织大量繁殖,引起疾病。本病多发生在寒冷冬季或早春,特别是室温低于18℃时易发生暴发流行。

不同病原体所致的肺炎有共同的临床症状,即由肺的通气换气功能障碍引起的序列症状。在啮齿类动物主要表现为呼吸困难,呈腹式呼吸,可听见肺部发出“噜噜”声,口周黏膜青紫。其他症状有松毛、弓背、食少等。

根据临床表现、细菌培养和病理检查可以确诊。

气温的剧烈变化是本病流行的主要原因,因此在寒冷的季节务必保持一定的室温,昼夜温差不宜过大。另外动物饲养室的动物密度不宜过高。保持空气流通,及时淘汰病鼠有利于防止肺炎的流行。

五、弓形体感染

弓形体属球虫目,是一种人兽共患性寄生虫病。目前仅证实猫及猫科动物为终末宿主,中间宿主则非常广泛,包括爬行类、鱼类、昆虫类、鸟类和哺乳类等

动物及人。实验动物中大多数动物如大鼠、小鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬等均对弓形体易感。包囊是弓形虫在中间宿主之间互相传播的主要形式,也是中间宿主体内的最终形式,可存在数年甚至终生。母体在怀孕时感染,弓形体可经血液传给胎儿。

诊断方法包括直接涂片法检查病原体,血清学方法最为常用。凡在器官组织和肠内容物中查到弓形体生活史中任一形态则判为阳性。

引进动物前要进行弓形体检查,定期进行血清学检查以预防本病的传播。发现动物有弓形体感染的应及时处理。猫、犬的急性感染可使用磺胺类药物治疗。

六、狂犬病

狂犬病是由狂犬病病毒引起的一种人兽共患传染病,亦称恐水症,俗称疯狗病。主要特征为:侵害中枢神经系统,呈现狂躁不安,意识紊乱,最后麻痹死亡。临床上分为狂暴型和麻痹型。狂暴型分为分散期即前驱期、兴奋期和麻痹期3期。麻痹型的病犬以麻痹症状为主,兴奋期短。麻痹始见于头部肌肉,表现为吞咽困难,随后四肢麻痹,最终全身麻痹而死亡。犬、猫和蝙蝠可患该病。潜伏期不一致,最短的4天,最长的数月至数年。

根据典型的临床症状,结合咬伤病史,可做初步诊断。病原学检查、血清学检查可进一步确认。

应详细了解当地疫情,严禁从疫区购入动物。另外应加强动物管理,引进犬要检验,发现病犬,马上捕杀,可疑犬也应杀掉、焚烧或深埋。其次可接种狂犬疫苗进行预防。

七、犬瘟热

犬瘟热是由犬瘟病毒引起的一种犬的急性传染病。主要特征是发热、黏膜急性卡他及卡他性肺炎,有的出现皮疹或神经症状。临床症状表现为:超急性型突发高热2~3d死亡;急性型潜伏期7d,高热40℃以上;背毛粗乱,流脓性鼻涕、眼屎多,结膜炎,角膜混浊;食欲减少,有急性胃肠炎表现,呕吐,吐出有胆汁的黄色黏液块,大便恶臭,呈稀液状,混有黏液或血液;全身有如癫痫样痉挛发作呈阵发性;皮肤发生皮疹,在腹壁和腹内侧少毛处可见小的斑点,最后变成脓疱,结痂脱落。

根据临床症状、实验室检查、血清学、病毒分离、电镜检查等可做出诊断。

八、布氏杆菌病

由布氏杆菌引起的人、实验动物感染称布氏杆菌病。主要引起牛、羊、猪等动物雌畜流产,个别雄畜睾丸炎,但一般症状较轻。临床症状表现为:雌畜流产,雄性睾丸炎。犬对该种细菌敏感。感染后表现长期发热、关节痛、全身乏力,并形成带菌免疫。

根据临床症状可初步做出诊断,取阴道分泌物直接涂片或剖检动物肝、脾、淋巴结等组织直接涂片。用抗酸染色法进行染色可检出本菌。也可以血清学试验如试管凝集反应诊断。对患病动物可用链霉素、土霉素或庆大霉素注射治疗,青霉素无效。

九、犬细小病毒感染

犬细小病毒感染是由犬细小病毒引起的犬的一种急性传染病,死亡率很高,可分为肠炎型和心肌炎型。肠炎型以出血性坏死为特征,各种年龄的犬均可发生。病犬表现为抑郁、厌食和呕吐,6~24 h 开始腹泻,粪便先呈灰白色或灰黄色,而后含有血液呈番茄汁样,继因严重脱水、急性衰竭而死亡。心肌炎型以急性非化脓性心肌炎为特征。多见于2~8周龄的幼犬,病犬表现突然死亡。

根据流行病学特点,结合临床症状和病理变化可做初步诊断。病毒分离与鉴定、血凝与血凝抑制试验等血清学诊断可进一步确诊。

本病发病迅猛,应及时采取综合性防疫措施,及时隔离病犬,对犬舍及用具等反复消毒。另外可进行预防接种。

十、犬传染性肝炎

犬传染性肝炎是犬的一种接触性传染性病毒病。本病是由腺病毒科腺病毒属的犬传染性肝炎病毒所引起的急性传染病,此病又称犬腺病毒病。主要表现为肝脏受损,循环障碍以及呼吸困难、腹泻等,少数病例出现神经症状。最常发生于不到1岁的幼犬,成年犬较少发生。易感动物通过与病犬直接接触或间接接触,经消化道而引起传染,外部寄生虫也能成为传染媒介。病犬与带毒犬为主要传染源。临床上分为呼吸型和肝炎型,呼吸型体温升高到39.4~41.1℃,脉搏、呼吸加快,咳嗽,流浆液性或脓性鼻液,扁桃体肿大并伴有咽喉炎。肝炎型主要表现消化道症状。轻症仅见食欲不振,精神萎顿,体温正常或稍高;重病例临床症状加剧,食欲减退或废绝,体温升高,有腹痛表现,呕吐、腹泻,粪便带血等。

根据典型的临床症状不难做出初步诊断,对于非典型病例则要依靠病理学

检查、血凝抑制试验、病毒的分离与鉴定等方法来确诊。

预防本病主要依靠定期注射疫苗并配合兽医防治措施。使用的疫苗有两种：一种为灭活苗，另一种为弱毒苗。

十一、猫泛白细胞减少症

本病是由猫传染性粒细胞缺乏症病毒引起的猫科动物急性感染性疾病，猫感染后1~3 d可发病，仔猫较成年猫症状严重。临床症状表现为病猫体温升高，打喷嚏、咳嗽、流泪、流鼻涕、呼吸困难。

诊断可根据临床症状，病理学检查，电镜检查，病毒分离和血清学诊断。直接荧光抗体检查和其他血清学检查有助于确诊。

猫群中一旦发生猫泛白细胞减少症，很难控制流行。病猫应严格隔离或捕杀，消毒笼具，未发病猫应用广谱抗生素预防。

第三节 实验动物的微生物及寄生虫检测

一、制定实验动物的微生物及寄生虫检测标准的原则

实验动物根据微生物及寄生虫的净化等级不同可以分为无菌动物、已知菌动物（悉生动物）、无特定病原体动物（SPF动物）、清洁动物和普通动物。其中无菌动物应排除体内外的所有微生物和寄生虫，而等级最低的普通级动物也要排除人兽共患病的病原。

从这些病原体对实验动物的生产和动物实验研究的影响来看，首先必须对饲养在开放系统的普通级动物进行病原体的监测，然后是清洁级、SPF级动物、无菌动物等。检测必须要有相应的设施条件和管理措施，对无菌动物和悉生动物进行的监测设施要求最高。

理论上，动物能排除的病原体越多，则动物的微生物学等级越高。但进行监测的项目就越多，所花费的人力、物力和财力也越多。因此，一些国家和组织根据自身的情况制定了各自的实验动物微生物及寄生虫检测标准，我国国家科委和卫生部也已分别制定了相应的标准。

动物实验工作人员还应根据自己的实验要求，选择排除可能干扰生产和实验结果的其他病原体的实验动物，以保证实验结果的可靠性。如裸鼠用于免疫学研究就不能被干扰免疫系统功能的病毒感染。

二、取样原则、样本数量、检查频度和检查方法

由于微生物及寄生虫检测是用少量标本的结果来反映整个动物群中某些疾

病的流行情况,它的结果是否可靠不仅在很大程度上取决于实验方法的敏感性和特异性,而且还取决于正确的取样、取样样本数量和检查频度。

1. 取样原则 应采取随机抽样的方法。为了提高阳性检出率,检查抗体应选用成年或老年动物,病原体分离选用幼年或青年动物。

短期动物实验,且饲养设施条件较好,购买合格动物后可直接用于实验。如果是长期实验,为了确保实验结果的可靠性,需导入一些实验期间用于微生物监测的“哨兵”动物(sentinel animal)。定期处死采血检查以监视鼠群中某些疾病的流行,这些为微生物监测所设置的指示动物称为“哨兵”动物。哨兵动物还可用在一些不常用的或珍贵动物如地鼠、沙鼠、转基因动物等的血清学检查中。这时可在动物饲养室内放置一些清洁级或 SPF 小鼠,定期对这些小鼠进行检查,可反映所饲养地鼠、沙鼠、转基因动物的疾病感染情况。

2. 样本数量 动物疾病病原体的传染力和寄生虫的感染率还与动物的敏感性(品系、年龄、生理状态等、饲养密度、饲养装置等)有关。而且,流行初期、中期和后期的感染率也各不相同,当随机取样后进行检测,需将结果用统计学原理进行判断,所以样本越大,可靠性就越高。隔离器内饲养的 SPF 动物、无菌动物和悉生动物由于数量少,可依据具体情况,每个隔离器取样 1~8 只。

3. 检查频度 病原体侵入动物体内引起感染可分为潜伏期、显性感染期、恢复期这 3 个阶段。在潜伏后期和显性感染期间病原体较易检出。抗体在感染后 1~2 周开始出现,以后逐渐上升,并持续 2~3 个月以上。因此从抗体的生成变化来看,2~3 个月一次定期监测较为合适。寄生虫检测则应按不同寄生虫生活史时间确定检测频度。

4. 检查方法

(1) 细菌检测方法:检测器械使用前应消毒,检测过程要求无菌操作,标本必须新鲜采制,无污染。掌握细菌涂沫标本的亚甲蓝染色法、复红染色法、抗酸染色法等。同时要能配制各种细菌培养基,掌握细菌分离培养技术并能结合细菌的生化试验做出判断。不同病原菌采用的培养鉴定方法不尽相同,有时若要检查隐性感染的存在,还要借助免疫抑制剂。

(2) 真菌学检测方法:真菌的检测方法与细菌的检测方法相似,多采用直接镜检、分离培养、生化试验、动物试验及血清学方法。

(3) 病毒学检测方法:①病原学检测。能够确证病原,或检出动物群中潜在病毒,采用光镜、电镜直接镜检,病毒分离鉴定以及潜在病毒的激活、抗体产生试验等。②血清学检测。能够检测动物群体血清中特异性抗体水平或阳性感染率。最常用方法有血凝抑制试验(HT)、间接免疫荧光试验(IFA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)和玻片免疫酶试验(EIA)。为提高阳性率,有时可联合应用并

可辅以聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE),分子杂交或多聚酶链反应(PCR)等方法。

(4) 寄生虫检测方法:①体外寄生虫,如螨、蜱的检测方法有透明胶纸黏取法、梳毛浓集法、拔毛镜检法、黑背景(暗视野)检查法、刀片刮取法等。②体内寄生虫的检测方法有解剖检查法,动物排泄物或分泌物的直接涂片法,组织或器官剖面压印法,病变组织切片法,动物接种培养增殖法等。

总之,在分析实验结果时一定要结合临床表现和流行病学特点,考虑所用方法的敏感性及特异性,发现阳性时最好用两种以上不同的方法复检,或同一种方法重复几次实验,加以确定。

(教 红 乔伟伟)

第五章 实验动物的环境控制

实验动物的环境控制是实验动物标准化的主要内容之一。

自然界的野生动物可以四处活动以选择舒适的生活环境。而实验动物一般都较长时间甚至终身被限制在一个极其有限的环境范围内生活,这种环境就成了实验动物赖以生存的条件。为了使实验动物能够正常生长、发育、繁殖和进行良好的实验处理,必须对实验动物的环境进行控制。

实验动物环境因素比较复杂,对动物有“有利”和“有害”两方面作用。实验动物环境控制的原则是充分利用和创造那些对实验动物有利的因素,消除和防止那些有害因素。

第一节 影响实验动物的各种环境因素及其控制要求

影响实验动物的环境因素(environmental factor)很多,这里主要阐述实验动物饲养室内的环境因素(即小环境因素),指饲养室内的温度、相对湿度、气流速度、空气中颗粒物、微生物、有害气体,光照和噪声等对实验动物的影响,并列出各项环境因素的控制要求。

一、影响实验动物的各种环境因素

(一) 温度

饲养室内温度指水银或酒精等温度计显示的室内空气温度,称为干球温度。由于室外空气温度、太阳照射、室内动物散发的体热、照明,一天到晚、一年四季的变化,室内温度也在不断变化。温度的变化影响实验动物饲养及动物实验的结果。

温度的变化影响动物的生理功能。将9~10周龄ICR小鼠放置在10~30℃温度环境下观察生理反应,随着温度的升高,小鼠的脉搏数、呼吸数和发热量都呈直线下降。这表明小鼠的脉搏、呼吸、产热等生理反应对环境温度的变化是很敏感的,这也意味着温度将左右生理实验的结果。

不同温度条件下,药品和化学品对实验动物的毒性也有较大差异。如不同温度条件下,同一药品对实验动物的 LD_{50} 差别甚至可达数倍(表 5-1)。雌性 Wistar 大鼠在环境温度为 $10 \sim 30^{\circ}\text{C}$ 条件下,腹腔注射戊巴比妥钠 95 mg/kg ,发现在低温和高温时动物死亡率较 $18 \sim 28^{\circ}\text{C}$ 时显著增高。

表 5-1 两种环境温度对药物的 LD_{50} 影响 (单位: mg/kg)

药 物	26.7°C	15.5°C
苯异丙胺	90.0	197.0
盐酸脱氧麻黄碱	33.2	111.0
麻黄碱	56.5	477.1

温度过低或过高常导致雌性动物性周期紊乱。高温时对雄性动物的影响更大,精子生成能力下降,甚至出现睾丸萎缩。因此,在低温和高温环境下动物的繁殖机能下降。温度过高或过低还可能导致动物抵抗力降低、易患疾病甚至使动物死亡而影响实验结果。

为保证实验动物的均衡生产,保持实验动物条件的相对稳定以提高实验的重复性和可比性,实验动物饲养环境温度应控制在一定范围之内。不同实验动物,不同设施,温度要求范围不同。啮齿类实验动物繁育、生产屏障环境要求温度范围为 $20 \sim 26^{\circ}\text{C}$, 冬季 20°C , 夏季 26°C , 日温差 $\leq 4^{\circ}\text{C}$ 。

(二) 相对湿度

饲养室内空气含有水蒸气,是看不见的水分子。它来源于海洋、江河等表面的水分蒸发及各种生物(人、动植物等)的生理过程等。其含量变化会引起空气干湿程度不同,影响实验动物的饲养。组成地球表面空气层的各种气体在单位面积上形成的总压力称为大气压力,其中水蒸气引起的压力称为水蒸气分压力。在一定的温度下,空气所含的水蒸气量有一个最大限度,超过这一限度,多余的水蒸气就会从空气中凝结出来。此时水蒸气分压力叫做该温度下空气的饱和水蒸气分压力。实验动物饲养室恒量湿度的指标是相对湿度,指空气中实际水蒸气分压力与同温度下饱和水蒸气分压力之比,用百分率表示:

$$\text{相对湿度}(\%) = \frac{\text{实际水蒸气分压力}}{\text{饱和水蒸气分压力}} \times 100\%$$

在高温时,动物主要依靠蒸发散热来维护体温恒定,因此实验动物在高温条件下,高湿能使蒸发散热受到抑制,容易引起代谢紊乱,使机体抵抗力减弱,发病率增加。同时湿度过高有利于病原微生物和寄生虫的生长和繁殖,饲料和垫料容易发霉败坏,对实验动物健康不利。湿度高,温度再低,空气导热散热增加,也不利于实验动物饲养。如果饲养室内湿度过低(低于 40%),会使室内灰尘飞

扬,容易引起动物呼吸道疾病。有些动物不耐低湿,如大鼠(尤其是幼龄鼠)相对湿度低于40%容易发生一种表现为尾根部坏死的坏尾症,死亡率较高。在低湿条件下,大鼠、小鼠的哺乳母鼠经常发生拒哺或吃仔鼠的现象,仔鼠也常发育不良。一般饲养室内相对湿度控制在40%~70%之间,实验动物是完全可以适应的。50%±5%则为实验动物的最佳相对湿度。

(三) 气流速度

饲养室内空气流动速度为气流速度,来源于通风设备、门窗的启闭、工作人员和动物的活动、室内各区域空气温度的不一致。气流速度主要影响动物体表皮肤的蒸发和对流散热。当室内温度升高时,气流有利于对流散热和蒸发散热,对动物有良好的作用,当室温降低时,气流会增加动物的散热量,加剧寒冷的影响。另外由于大多数实验动物体型较小,其体表面积与体重的比值较大,因此对气流更加敏感。实验动物饲养室宜采用0.1~0.2 m/s的气流速度。在饲养室内保持这样的气流速度,不仅可使空气的温度、湿度及化学物质组成均匀一致,而且有利于将污浊气体排出室外。饲养室送风口和出风口处气流速度较大,因此在布置笼架、笼具时应避免在风口处饲养动物。要注意笼盒内部与饲养室空气情况差别。

(四) 空气洁净状况

饲养室空气中飘浮着颗粒物(尘埃、微生物多附着在颗粒物上)与有害气体,对动物机体可造成不同程度的危害,干扰动物实验过程。

1. 氨浓度 实验动物室内空气除受附近地区大气污染的影响外,实验动物本身也产生许多污染物,动物的粪尿及垫料如不及时更换清除,将发酵分解产生恶臭物质。动物粪尿等排泄物发酵分解产生的污染物种类很多,在日本恶臭防制法(1971年)中列出有氨、甲基硫醇、硫化氢、硫化甲基和三甲胺等5种。1976年又补加苯乙烯、乙醛和硫化二甲基等3种,共8种,这些气体都具有强烈的臭味。氨是这些污染物质中浓度最高的一种,各种动物饲养室均可测出。为判明饲养室污染状况常以氨为监测指标。当动物饲养室温湿度上升,收容动物密度增加、通风条件不良(换气次数太少),排泄物、垫料未及时清除,都可以使饲养室氨浓度急剧升高。

这种恶臭物质对人和动物有直接毒害,使正常的生理过程受到妨碍。影响人员身体健康。氨作为一种刺激性气体,当其浓度增高时,可刺激动物眼结膜、鼻腔黏膜和呼吸道黏膜而引起流泪、咳嗽,严重者甚至产生急性肺水肿而致动物死亡。长期处于高浓度氨的作用下,实验动物上呼吸道黏膜可出现慢性炎症,使这些动物失去作为实验动物的应用价值。美国、日本实验动物学界提出实验动物室氨浓度应控制在 14 mg/m^3 [相当于 20×10^{-6} (20 ppm)]以下,我国目前也采

用这一标准。

2. 空气洁净度 动物饲养室空气中颗粒物的来源主要有两个途径,其一为室外空气未经过滤处理直接带入,其二为动物体表被毛、皮屑、饲料和垫料等材料的碎屑往往可以被气流携带或动物活动扬起而在空气中悬浮,而形成颗粒物污染。

颗粒物对实验动物和人员的健康有直接影响。颗粒物落在动物与人员身上,可与皮脂腺的分泌物及细毛、皮屑、微生物等混合在一起粘在皮肤上,使动物和人员的皮肤散热功能下降,影响体热调节。颗粒物中 $5\mu\text{m}$ 以下的灰尘,经呼吸道吸入后可到达细支气管与肺泡引起呼吸道疾病。近 20 年来从接触实验动物的人员收集到的流行病学资料证实,人们因接触实验动物而发生的变态反应已成为很突出的问题。这是由于小鼠、大鼠、豚鼠、家兔、犬、猫等动物的毛、皮屑、血清、尿液等对某些敏感的人具有抗原性,通过呼吸道、皮肤、眼、鼻黏膜或消化道引起人的严重变态反应,出现不适感,甚至发生过敏性鼻炎、支气管哮喘等,应引起足够的重视。颗粒物除本身对动物产生不良影响外,还可成为微生物的载体,把各种微生物粒子包括饲料、垫料中带入的粉螨、霉菌孢子、各种细菌及其芽胞和病毒带入饲养室。因此,饲养清洁级以上实验动物的设施,进入饲养环境的空气必须经过有效的过滤,去除颗粒物使空气达到一定的洁净度。一般要求饲养无特定病原体动物(SPF)等的饲养环境空气洁净度要达到 10 000 级[即空气中 $\geq 0.5\mu\text{m}$ 的颗粒物 350 个/升,相当于英制 10 000 个/立方英尺, $\geq 5.0\mu\text{m}$ 颗粒物 2.3 个/升,相当于英制 65 个/立方英尺,落下菌数为 3 个/皿($\phi 90$)等时称 10 000 级]。

(五) 新风量和新风换气次数

为了满足实验动物生理的需要,使饲养环境内温度、湿度和气流等因素达到一定要求,同时使空气的污染降低到最低程度,动物室应有足够新鲜空气即新风量。每室每小时送入新风量与该室容积之比为新风换气次数。实验动物屏障环境动物室新风换气次数应为 10~20 次/小时。

为达到屏障环境等空气洁净度要求,动物室换气次数往往超过 20 次/小时,一般采用全新风,新风换气次数越高,室内空气越新鲜,氨浓度越低,但势必导致能量的损失增加。因此如果先期去除了粉尘颗粒物和有毒有害气体,不排除使用循环空气的可能,但再循环空气仅限于同一单元,新鲜空气不得少于 50%,新风换气次数屏障环境不得少于 10 次/小时,并保证送风的温、湿度参数。

(六) 噪声

物体振动产生声音。声音强度大而又嘈杂刺耳,可对人和动物的心理生理造成不利影响的的声音称为噪声。噪声(noise)是影响实验动物健康的重要环境

因素。饲养室内的噪声来源于：① 外界传入；② 室内机器产生的，如空调机、排风机都可产生噪声；③ 动物自身产生的，如采食、走动、争斗、鸣叫等。人能听到的声音频率为 20 ~ 20 000Hz，A 声级频率为人耳敏感的频率。动物的听觉与人不同，能听到较宽的音域，所以噪声对动物的影响不容忽视的。

噪声对实验动物的繁育带来很大影响。过强或持续不断的噪声可导致动物交配率降低，并妨碍受精卵着床，会使母鼠流产、拒绝哺乳，甚至吃仔，繁殖率下降。有人用小鼠做实验，第 1 组动物在确定阴道栓后于普通环境中饲养，其产出率为 100%，而且不发生咬仔现象；第 3 组动物在确定阴道栓后饲养于普通环境，18 d 后移到噪声为 85 dB 的环境中，产出率仍达 100%，但有 2/3 母鼠咬杀仔鼠，这可能是因母鼠在哺乳期受噪声影响使行为改变所致；第 2 组动物确认阴道栓后就饲养在噪声环境中，孕鼠产出率降低，1/3 的仔鼠被母鼠咬杀（表 5-2）。

表 5-2 噪声环境下小鼠的产出率与咬仔率

分 类	产出率	咬仔率
阴道栓确认后饲养在普通环境下	10/10 (100%)	0/10 (0%)
阴道栓确认当天起饲养在噪声环境下	3/5 (60%)	1/3 (33%)
阴道栓确认 18 d 后饲养在噪声环境下	6/6 (100%)	4/6 (67%)

高强度噪声的刺激还可能造成实验动物生理功能的变化，如对噪声感受性强的 DBA 小鼠，在噪声刺激后 5 min，其心跳数、呼吸数和血压都有明显升高。DBA/2 小鼠在 10 kHz 100 dB 刺激 2 min 会发生听源性痉挛。大鼠暴露在 95 dB 环境，中枢神经将出现损害，如暴露达 4 d，可致死。所以实验动物环境噪声要求不得超过 60 dB。

（七）采光、照明

仅占电磁波极小部分波段的可见光 (350 ~ 750 nm) 对动物机体有多种功能，特别对调节其生理活动具有重要意义。动物的活动和生理功能在一昼夜中变化很大，尤其啮齿类动物午夜活动比白天活跃（图 5-1）。实验动物不仅在采食、排粪、活动方面存在昼夜周期变化，而且在血液学、生化学及生理功能都有相应的变化。如在特殊的场合昼夜逆转，动物虽能适应，但需要较长的适应时间，哺乳类动物适应时间要 10 d 以上。

可见光的视觉效应可将 80% ~ 85% 的环境信息通过动物的视觉感受器，传入其脑内，使之对环境变化作出相应的积极反应。日光中波长较短的紫外线，对环境和动物体表具有杀菌作用，并能使动物表层组织内蓄积的麦角固醇转化为钙化醇（维生素 D₂），从而促进钙质的代谢和吸收，防止佝偻病的发生。

光照时间对动物生殖生理和繁殖也是有一定的影响。在实验动物繁殖实验

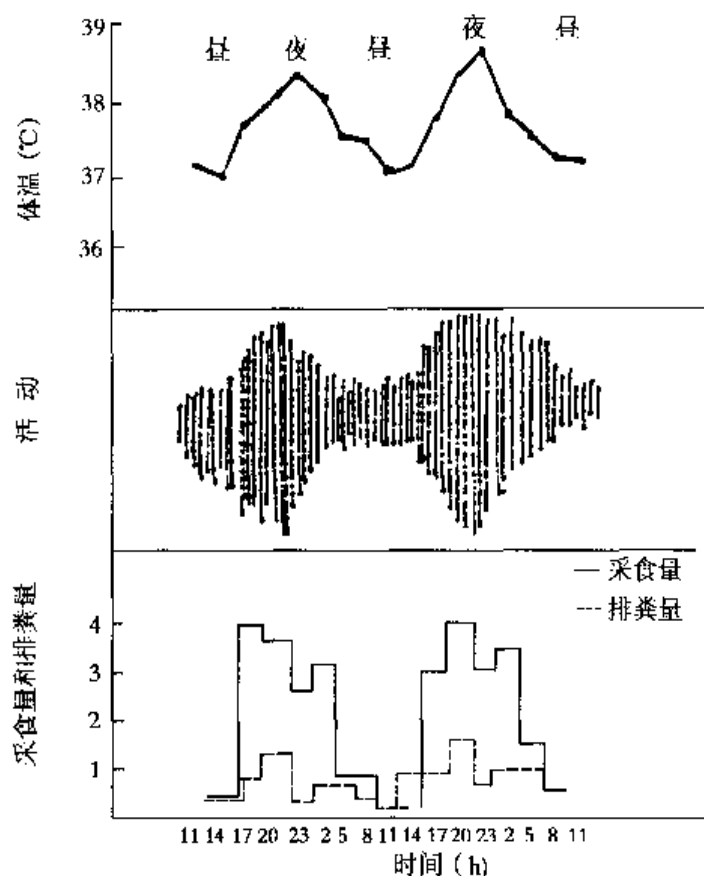


图 5-1 啮齿类动物昼夜活动情况

中,利用人工控制光照,能调节整个生殖过程,包括发情、排卵、交配、妊娠、分娩、泌乳和育仔等。

饲养室内光线要符合以下两方面的基本要求:①能维持实验动物健康和繁育条件;②满足饲养人员操作需要,如兼做动物实验则应满足实验要求。

自然光照时间长短因地区和季节不同而异。饲养室内光照明暗比应保持稳定,一般多控制在 12:12 或 10:14,明暗的交替最好采用渐暗(渐明)式,以免动物在明暗突然改变时产生短暂的“骚动”。

实验动物应避免直射阳光的照射。在封闭式的饲养室内采用人工照明。为满足饲养人员操作要求室内离地 1 m 处照度达到 150 ~ 300 Lux。

二、我国实验动物的环境标准

我国国家质量监督检验检疫总局 2001 年 8 月 29 日发布了《实验动物环境及设施国家标准(GB14925-2001)》。实验动物繁育、生产设施环境静态指标应符合附录一附表 1 所列要求。动物实验设施、设备环境静态指标应符合附录一

附表2所列要求。

第二节 实验动物的饲养条件

一、笼器具

笼具(cage)是实验动物长期生活的环境,笼具的优劣直接影响实验动物的健康。目前实验动物笼具正朝标准化和通用化方面发展,一般饲养实验动物的笼、盒和箱等笼具应符合以下要求。

1. 舒适和卫生 用金属网或多孔金属板制成的笼子具有通风条件好,笼内温度、湿度、氨的浓度与饲养室内环境基本一致,这样的动物笼具在动物饲养、育成和进行动物实验时很适用。能配于冲水式饲养装置,便于冲去动物排泄物。用聚丙烯等原料制成塑料饲养盒四周不透气,动物活动,排泄物的积存使笼盒内温度、湿度、氨浓度比盒外高,要经常更换垫料,清除排泄物。

动物饲养所需的面积和空间因饲养目的不同而有不同。如群养和单笼饲养要求不同,各种实验动物所需要的饲养面积可参考附录二。

2. 坚固耐用 笼具应坚固耐用,不易被动物损坏或变形,以免动物逃窜。门和盖应牢固,大、小鼠,地鼠常会顶开笼盖,所以盖子应有一定重量,有可靠的搭扣或栓子。灵长类及犬、猫等动物十分灵活,笼门设计应注意防止动物打开。地鼠的门齿十分锐利且善于啃咬,对编织网的金属丝应用较粗较硬的材料,不要用铝皮或太薄的材料制作笼盒。

采用高压蒸气消毒法处理的塑料饲养盒,应选用耐高温的塑料,以免因高温消毒而变形,甚至熔化。

3. 操作使用方便 在动物饲养和实验过程上,工作人员每天会多次接触动物的笼具。因此要求笼盒便于操作,包括笼、盒的启闭,动物的捉拿,添加饲料、饮水以及垫料的更换和排泄物的清除,笼盒的洗刷、清理、贮存和运输也要方便。还应注意组装式、折叠式笼具的装配和拆卸的方便。一般塑料饲养盒的4个底角为圆角,这样不易积污,便于清洗。

4. 经济实用 通常动物饲养室的笼具要占用很多资金,随着实验动物要求的改变,有时旧的笼具将不适用,所以一般不采用十分昂贵的材料制作笼具。在满足饲养或实验要求有活动插板的组装式动物笼有许多优点,可根据饲养动物种类和数量分隔空间,并在一定范围内调节其面积,具有较大的灵活性和实用性,也便于动物的隔离。

5. 笼架必须牢固、稳定、不宜过大 在笼架下安装小轮以便挪动清洗、消毒。笼架的大小应与笼具配套。有自动冲水清粪装置的笼架,可减轻饲养人员

劳动强度、提高工作效率,并可及时清扫排泄物改善饲养室卫生状况。

二、饮水设备和饮用水要求

一般采用饮水瓶(玻璃瓶或无毒塑料瓶),饮水盒或自动饮水装置。饮水瓶由于结构简单、价格低廉,便于清洗消毒等优点,现仍然是常被采用的饮水设备。饮水嘴用不锈钢材料制成,普通玻璃管容易碰碎,可能刺伤工作人员,最好不用。饮水瓶盖、吸水管均应耐高温、高压消毒。大动物饮水用盆、罐应作固定,以免被弄翻。自动饮水装置可以节省劳力,尤其在饲养大量动物时更有价值,但由于易漏水会使饲养室内湿度增加。由于小动物体力有限,送水管内水压必须调低,当动物舐吮饮水时会有少量唾液及食物碎屑进入水管,因而可造成动物疾病的交叉感染,这一点在饲养 SPF 动物时应特别注意。实验动物饮水的水质要求,一般按生活饮用水卫生标准的要求即可,但自来水中还含有少量非致病菌,不能满足屏障系统及隔离器内饲养的动物的要求。有人建议用过量氯消毒法(加氯量为 $10 \sim 15 \text{ mg/L}$)对自来水进一步消毒后供动物饮用。高温、高压灭菌水作为饮水仍被认为是最可靠的方法,是应用隔离器饲养动物时惟一的方法。

三、排泄物和垫料处置

动物排泄物是造成饲养环境恶化的重要因素,必须及时消除处理。使用冲水式笼具饲养实验动物的饲养室,每天至少冲洗一次,冲去动物排泄物,以保持饲养室良好的卫生条件。用盒、罐饲养实验动物,应使动物不接触排泄物,并使用垫料吸附动物粪、尿。饲养实验动物使用的垫料要满足以下几个条件:①垫料对动物无刺激作用或其他有毒、有害的影响;②垫料吸水性能好,并应有吸附臭气的作用;③使用方便,容易获得,价格低廉。

常用的垫料(bedding)有木屑(粗及细)、木刨花、打碎的玉米棒及秆、吸水纸及棉花等。可根据不同要求选择使用。垫料需经杀虫、灭菌后才能使用。

排泄物和垫料应及时清除,否则动物饲养环境中氨、硫化氢、甲基硫醇等恶臭有害气体浓度将会升高,对实验动物健康造成危害。更换垫料频度视饲养动物数量和通风换气条件而定,应 $2 \sim 3 \text{ d}$ 更换 1 次,每周至少更换 2 次。

动物笼架、饲养瓶、饲养笼清洗机设备图见插图 2。

四、空气调节

实验动物设施内的空气调节(air condition)的任务在任何自然环境和干扰下,将设施内空气维持在国家标准要求的一定温度、相对湿度、换气次数、气流速度、压强梯度、空气洁净度、噪声等。动物设施要达国家标准必须设置空气调节

设施。

实验动物设施环境指标必须达到国家标准要求,但在实验动物繁育、实验中,如不控制即达不到。因为设施环境有各种内外干扰,设施内生物、照明等产生热、湿和其他有害气体发生量变化,设施外太阳辐射和室外气候等条件的变化。空气调节方法是用空气调节装置送入不同状态空气,来消除来自动物设施内部和外部影响环境的干扰量,从而达到控制动物设施环境的目的。

由于实验动物设施环境指标要求较高,一般采用全空气、集中、直流式净化空气调节系统。此系统造价高、能耗大,常因运行费昂贵而无法运行。根据国家标准要求及我国国情,啮齿类实验动物屏障环境的空气调节装置可采取利用经处理的各动物室本室 50% 回风的系统,负担全部冷、热、湿负荷的新风净化空调系统及排风系统的空气调节系统方案。

动物设施空气调节主要特点:① 要求新风量大,屏障环境新风换气次数要求 10~20 次/小时。② 空气要求初、中、高效过滤的净化处理。③ 排气除消除病原微生物之外,还需除臭处理,用以保护环境。除臭方式有湿式和干式两种。通常用水洗法、活性炭吸附法、吸着法、臭气氧化法、直接燃烧法等。为保护活性炭过滤层不被阻塞及消除一些病原微生物还有中效过滤器保护过滤,有的还装冷、热量回收设置。④ 空调设备只要有动物就需一年四季连续运转,若运转停止将造成空气流通停止,环境指标达不到国家标准要求,动物生存及实验将受到影响。为了保持连续运转,空调设备、供电均要有备用系统。⑤ 在进行传染性强的感染性试验或在进行剧毒、易挥发的气体、气溶胶或低沸点的药品、化学品毒性试验和致癌试验时,以及作放射性核素强度大的试验,都应该采用负压式实验装置,以免有害因素对工作人员健康产生危害。排除的空气应经有效处置后方可排除,以免造成环境污染。

第三节 实验动物设施的类型、组成、布局和管理

一、设施的类型

实验动物设施可分为隔离环境、屏障环境和普通环境 3 种类型。

1. 隔离环境 是以隔离器(isolator)为主体及其附属装置组成的饲养环境。用作饲养无菌动物和已知菌动物。工作人员通过手套进行操作,不直接接触动物。送入隔离器的空气需经超高效过滤,洁净度达到 100 级。饲料、饮水、垫料、笼具等都应高压高温灭菌。

2. 屏障环境 这是饲养 SPF 级等动物的设施。人、实验动物、其他物品及空气均需严格的微生物控制。送入的空气需经过滤,洁净度达到 10 000 级。饲

料、饮水、垫料经灭菌后方可使用。饲养人员进入屏障系统需经充分淋浴,然后穿上无菌工作服、戴口罩和手套。要利用空气压力差防止污染,即清洁区域(如清洁走廊、SPF 动物饲养室、清洁消毒用品存室等)空气压力要大于污物区域。在屏障设施内一切操作要实行严格的微生物控制,因为屏障系统内要长期饲养 SPF 级动物,保持不被污染,而人员、物品要经常出入,其中人员又不能彻底灭菌,所以人是最大可能的污染源,因此,对人员的要求要特别严格,要有严密的操作细则。

3. 普通环境 无空气净化装置的饲养系统。饲料、饮水和垫料要求不被污染,饲养室内要有防鼠、防昆虫等措施。

普通环境的各动物室的笼具可以集中洗刷和消毒。经过消毒处理的物品与污染的物品的进出要通过不同路线,并要分开堆放,杜绝交叉。

普通环境只能饲养普通级实验动物。

二、设施的组成

一般包括以下各个组成。

1. 隔离检疫室和健康动物观察室 供由外界引入的动物隔离观察和检疫用。

2. 饲养室 为繁殖、饲养育成或实验观察用的动物室,这是实验动物设施的主体。

3. 各种实验室和处置室 外科手术、解剖、术后观察处理,疾病诊断、治疗、生理生化检查、微生物检查、饲料营养成分分析,病理检测等各种实验、测试的用房,最好是与主体分隔,独立的用房。

4. 贮存室和库房 作为贮存垫料、消耗品和器材的用房,饲料应贮存于 0 ~ 10℃ 的低温贮存室内。

5. 洗刷消毒室 作为进行笼具和用具的清洗消毒,饲料、饮水、垫料和笼具、消毒灭菌的用房或区域。

6. 工作人员用房 如办公室、休息室、更衣室、淋浴室和厕所等。

7. 走廊 最好分为清洁走廊和污物走廊。

8. 后勤用室 如机械室、配电室、锅炉房、维修室等。

9. 废物处理设施 如尸体存放处(冷存室)、污物堆放处等。

三、设施的布局

实验动物设施中各种组成应有合适的布局,其原则为:① 有利于防止疾病的传播,各种动物保持各自的独立性,避免互相干扰,相互感染;② 方便工作人

员操作；③ 人员、动物、其他物品和净化空气按“单向”路线移动。

集中于一幢建筑物内的实验动物大楼,宜将大动物安排在下层,便于管理和粪便、污水的排出。从微生物控制的角度看,级别越高的动物越需安排在高层,反之级别低者宜在中、下层。一般以使用小型实验动物为主的动物机构,高层以安排 SPF 级动物和种子动物的饲养为宜。当前在设计建造实验动物饲养用房时,要考虑到今后实验动物的升级,应留有余地。考虑到各个单位使用动物目的不同,规模大小不同,有的是新建,有的是改建,理解和掌握设施建立的基本原则后,可以因地制宜,灵活布局。

四、设施的管理

实验动物设施的使用维护对于实验动物的生产及动物实验的正常进行是必不可少的。对设施进行科学规范的管理,尤其是对使用和操作者的管理是极其重要的。即使设施完好并运行正常,管理者与操作者一次疏忽或错误,均可导致严重后果,特别是对设施的微生物污染,一旦发生,极难净化,除非中断生产或实验,对设施进行全面的消毒灭菌。因此设施的管理是设施维护的重要组成。

(李子麟)

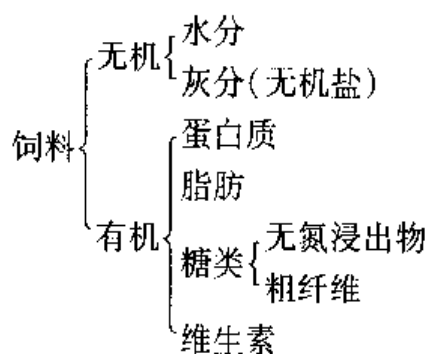
第六章 实验动物的营养和饲料

动物为维持正常的生理功能,必须从外界摄取食物。动物对食物的需要也就是对营养的需要。饲喂动物的食物称为饲料(feed)。饲料中所含的营养成分称为营养素(nutrient)。饲料所提供营养素的质和量直接影响实验动物的质量。因此供医学科学研究用的实验动物,饲喂于营养全价的标准化饲料,对保证实验顺利进行具有非常重要的意义。

第一节 实验动物的营养

一、动物所需要的营养素

实验动物所需要的营养素可概括为蛋白质、脂肪、糖类、无机盐、维生素和水等六大类。蛋白质、脂肪、糖类既是动物体的重要构成成分,又是能量的重要来源,无机盐和维生素虽然在动物体内含量甚微,但在维持机体正常生命活动中不可缺少。水是构成体液的主要成分。这些营养素在机体代谢过程中密切联系,共同参加和调节生命活动。



1. 蛋白质(protein) 蛋白质指有机物中的含氮化合物,它是纯蛋白质和非蛋白氮化合物的总称。蛋白质是构成机体组织、细胞的基本原料,又是修补组织的必需物质。动物体内蛋白质通过新陈代谢不断更新。当供给热能的糖类及脂肪不足时,蛋白质又可在体内经分解、氧化释放能量供机体生理活动,蛋白质是

实验动物所必需的一种重要营养物质。

蛋白质主要由碳、氢、氧、氮等元素组成,其含氮量约为 16%。组成蛋白质的基本单位是氨基酸。已知氨基酸有 20 多种,它们以不同的组合,形成不同的蛋白质。饲料中的蛋白质只有被消化分解为简单的氨基酸才能被实验动物吸收和利用,形成新的动物蛋白。

氨基酸通常又分为必需氨基酸与非必需氨基酸两大类。必需氨基酸(essential amino acid, EAA)是指在动物体内不能合成或合成的速度及数量不能满足正常生长需要,必须由饲料来供给者。非必需氨基酸,指在动物体内能合成,不需要由饲料来供给者。在动物饲料中保持必需氨基酸和非必需氨基酸的合适比例是相当重要的。当饲料中某一种或几种必需氨基酸缺少或数量不足,使饲料蛋白质成为机体蛋白质的过程受到限制,亦就限制了此种蛋白质营养价值,这缺乏的一种或几种氨基酸就称为限制氨基酸(limiting amino acid)。不同饲料蛋白质的限制氨基酸不同。

饲料是实验动物获得蛋白质的主要来源,饲料蛋白质中的必需氨基酸由于饲料种类不同,其含量有很大的差异,在配合饲料时,把几种饲料混合应用,则可取长补短,提高其营养价值,这种作用称作蛋白质的互补作用。氨基酸之间的这种互补作用不仅在同时饲喂时发生,在先后各次食入的蛋白质之间也有互补作用,但随着食入时间的间距加大,互补作用也随之降低。

实验动物在生命活动中,如果饲料中的蛋白质不足,动物体内蛋白质代谢就呈负氮平衡。动物体重减轻,生长速度降低,抵抗力下降,并且会影响繁殖力。如果饲料中蛋白质过多,不仅造成浪费,而且长期饲喂高蛋白质饲料会引起机体代谢混乱,造成蛋白质“中毒”。一般动物性饲料含有较丰富的粗蛋白质,植物性饲料中饼类,豆科类蛋白质的含量较多。一般植物性蛋白质的消化率比动物性蛋白质低,这与饲料中膳食纤维的量有关。

2. 脂肪(fats) 脂肪分为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸两大类。如果脂肪酸中碳原子间相互以单键连接,不能再和其他原子结合者称为饱和脂肪酸,大多系动物脂肪。如果脂肪酸中碳原子相互以双键相结合,这种脂肪酸称为不饱和脂肪酸,其中双键越多,则不饱和的程度越大,植物脂肪均属此类。不饱和脂肪酸,特别是亚油酸等高度不饱和脂肪酸,因动物体内很难形成,必须依靠饲料提供。

脂肪是供给动物能量的重要来源,饲料脂肪被动物消化吸收后,可以产生热能供动物体利用,也可转化为体脂肪储存。脂肪也是构成动物组织的重要成分,如动物的各种器官和组织、神经、肌肉、骨骼及血液中均含有脂肪,主要为卵磷脂、脑磷脂、脑糖脂和胆固醇等。饲料中的维生素 A、维生素 D、

维生素 E、维生素 K 被动物摄食后,必须溶解于脂肪中才能被动物消化、吸收和利用。如果饲料中脂肪缺乏,维生素 A、维生素 D、维生素 E、维生素 K 不能被溶解,因而发生脂溶性维生素的代谢障碍,出现维生素 A、维生素 D、维生素 E、维生素 K 的营养缺乏症状。脂肪中提供的某些不饱和脂肪酸,如亚麻酸、亚油酸和花生四烯酸等对幼龄动物的生长、发育是必需的,称为必需脂肪酸(essential fatty acid, EFA)。当饲料中缺乏脂肪时,也可引起动物严重的消化障碍,以及中枢系统的功能障碍,例如可使大鼠产生皮肤病、脱毛、尾巴坏死、停止生长。其他动物也可表现为生殖能力下降,泌乳量减少及毛无光泽、脱毛等现象。此外动物吸收脂肪储存在体内,脂肪在动物体内是一种绝缘物质,不易传热,这样皮下脂肪就能防止热的散失,具有保蓄体温的功能。另一方面,脂肪在动物体内填塞在器官周围,具有固定器官、保护器官的作用。

3. 糖类(carbohydrates) 包括无氮浸出物和粗纤维。

无氮浸出物是糖类的一部分,也由碳、氢、氧 3 种元素构成。它是实验动物能量供应的主要来源。无氮浸出物大量存在于植物性饲料中,一般禾本科谷物含量较大。

无氮浸出物在实验动物体内消化过程中需被分解为单糖(如葡萄糖)才能被吸收利用,它在动物体内构成机体组织,是组织器官不可缺少的成分,如五碳糖是细胞核酸的组成成分,半乳糖与类脂质是神经组织的必需物质,许多糖类与蛋白质化合而成糖蛋白,低级羧酸与氨基化合成氨基酸。无氮浸出物在动物体内可进行生理氧化产生热能,维持动物体温。动物为了生存及生命活动,需要进行一系列的活动,如肌肉的运动、心脏的跳动、肺的呼吸、胃肠的蠕动以及血液内循环等,这些活动均需要热能的供应,而这些热能的来源主要靠饲料中的无氮浸出物。饲料中无氮浸出物除供应动物所需要的热能之外,多余部分可以转化成体脂或者转变为肝中的肝糖原和肌肉中的肌糖原贮备起来,以备需要时利用。

在饲养实验动物时,如果饲料中无氮浸出物供应过低不能满足动物维持生存所需时,动物为保持正常的生命活动,就要动用体内的贮备物质。首先是糖原和脂肪,如仍不足,则动用蛋白质代替无氮浸出物以供给所需要的热能与机械能,在这种情况下,动物就会出现身体消瘦,体重减轻,这也说明无氮浸出物在动物营养中的重要地位。

粗纤维是糖类的另一部分,同样是由碳、氢、氧 3 种元素所组成。包括纤维素、半纤维素和木质素等几个部分,是饲料中较难消化的一种物质,纤维素是构成植物细胞壁的原料,纤维素和半纤维还比较易于消化,而木质素则几乎不能消

化或根本不消化。一些试验证明,饲料中的纤维比例越高,则其所含有的有机物质消化率越低。

实验动物对粗纤维的消化能力各不相同,食草动物最强,杂食动物次之,食肉动物最差。食草动物能大量利用粗纤维是由于在其胃或盲肠、结肠中寄生有大量的纤毛虫和细菌,它们能分解纤维细胞膜并把粗纤维消化成低级脂肪酸和葡萄糖,被动物吸收和利用,作为能量的一个来源。而杂食动物和食肉动物体内缺少这类特殊的消化器官,因此利用粗纤维的能力也较低。

4. 灰分 灰分即矿物质,它是实验动物进行正常生长发育和繁殖等生命活动不可缺少的一些金属和非金属元素。根据各种矿物质元素在动物体内含量的不同,一般可分为常量元素和微量元素两大类。如钙、磷、钠、氯、硫、镁、钾等占动物体重的0.01%以上,称为常量元素(macroelements)。又如铁、铜、锌、锰、碘等元素占动物体重的0.01%以下,称为微量元素(microelements或trace elements)。微量元素在动物体内含量虽少,但对机体的各种生理过程起着重要作用,各种常量元素的作用分述如下:

(1) 钙和磷:这两种元素占动物体内矿物质总量的60%~70%,其中99%的钙和80%的磷分布在骨骼和牙齿中,是组成骨骼和牙齿的重要成分。钙和磷在机体内以2:1的比例存在,这两种元素无论缺乏哪一种都会降低他们的营养价值。当钙、磷供给不足和缺乏时,便消耗骨中的钙和磷,而使骨骼疏松变软。钙、磷代谢的破坏是造成动物软骨病的主要因素,特别是生产期的母犬和生长期的幼犬需要钙、磷量更大。此外钙对血液和组织液的反应调节、肌肉和神经感应性的维持,血液的凝固都有重要作用。磷除了与钙结合存在于骨组织外,对糖类和脂肪的代谢、细胞代谢产物的排出、血液和组织液酸碱度的缓冲等功能均有重要作用。钙磷在各种饲料中含量不一,谷类饲料中都缺少钙,而磷的含量较多。豆类饲料含钙量比谷类饲料稍多,骨粉中含钙磷很丰富,碳酸钙也可作为供给钙的饲料。通常饲料配合中钙和磷的需要量有一定的比例, $Ca:P=1.5:1\sim2:1$ 。

(2) 氯和钠:食盐($NaCl$)是实验动物氯和钠的理想来源,它具有刺激食欲、改善饲料风味、提高饲料适口性等作用,也能促进消化液的分泌。当氯化钠缺乏时,会影响动物的生长,降低利用已消化的蛋白质和糖类的能力。但食盐过量也会产生不良的后果,引起动物氯化钠中毒。

(3) 微量元素:微量元素铁、铜、锌、锰、碘等主要作用及其缺乏时的症状如表6-1所示。

表 6-1 微量元素的主要作用和缺乏时的症状

微量元素	主要功能及作用	缺乏时的临床症状	来 源
铁(Fe)	为形成血红素和肌红蛋白所必需,并与细胞内生物氧化过程有密切关系	贫血、生长不良、皮毛粗糙、苍白及缺氧症	奶、鱼粉、肉粉、 FeSO ₄
铜(Cu)	与造血过程、色素形成、神经系统和骨骼正常发育有关	四肢软弱无力、腹泻贫血、共济失调	豆饼、豆粕、CuSO ₄
锌(Zn)	为体内多种酶的成分和胰岛素成分,参与糖类的代谢	生长不良、食欲下降、上皮角化不全症及皮癣	酵母粉、米糠、动物饲料
锰(Mn)	为骨骼正常发育所必需,与糖类和脂肪代谢有关	四肢痉挛、骨节肥大、变形腿、行动困难	米糠、麸皮、MnSO ₄
碘(I)	为甲状腺素成分,与基础代谢率密切相关,参与所有物质代谢过程	甲状腺肿、黏液性水肿	碘化食盐

5. 维生素 维生素是实验动物进行正常代谢活动和保持健康所必需的营养素。属小分子的有机化合物,以辅酶或辅酶前体参加酶系统工作。动物维生素的需要量虽然极微,但在调节新陈代谢中发挥重要作用。除个别维生素外,大多数动物体内不能合成,必须由饲料或肠道寄生的细菌提供。当饲料中维生素缺乏时,引起动物的疾病抵抗力降低,质量下降,最后产生缺乏症。

维生素有 20 多种,根据溶解性可分为两大类,即脂溶性维生素和水溶性维生素。脂溶性维生素可溶于脂肪与脂溶剂,有 A、D、E、K 4 族,水溶性维生素可分为 B 族维生素和维生素 C, B 族维生素中有维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆、维生素 B₁₂、叶酸等多种。

(1) 维生素 A(Vit A): 又名视黄醇,它的前体是胡萝卜素,对热、酸和碱均稳定,一般加热不会破坏,但易被氧化,特别在高温条件下,紫外线可促进氧化。

维生素 A 参与视网膜视紫红质的合成与再生,与正常视觉关系密切。饲料中维生素 A 长期缺乏或不足,大鼠、小鼠、牛、犬等由于眼部上皮组织的退变,泪液分泌减少产生干眼病、流产和胚胎发育不全。

维生素 A 又与上皮细胞的正常形成有关。饲料中维生素 A 缺乏,动物上皮干燥、粗糙、层叠与过度角化,有的动物产生畸形,如兔骨骼畸形、脑积水等。幼年动物生长停滞,牙齿、骨骼形成不好,可能由于影响了蛋白质的生物合成,从而影响动物的生长和骨骼形成。

维生素 A 的来源是各种动物肝脏、鱼肝油等,胡萝卜素的良好来源是有色蔬菜等。

(2) 维生素 D(Vit D): 维生素 D 的稳定性较大,中性和碱性条件下能耐高温与氧化,在 130 ℃ 加热 90 min, 仍能保存生理活性,但在酸性条件下则逐渐

分解。

维生素 D 主要包括维生素 D₂ 和维生素 D₃。酵母中含有丰富的维生素 D₂ 原——麦角固醇；鱼油中含有丰富的维生素 D₃ 原——7-脱氢胆固醇，经紫外线照射后分别转变为维生素 D₂ 和 D₃。

维生素 D 可促进钙磷在肠道的吸收，有利于钙磷沉着，促进钙磷成为骨质的基本结构。缺乏维生素 D 的动物会产生骨质疏松、软骨病和发育异常。

维生素 D 的主要来源是动物肝、脑、鱼肝油和蛋类。

(3) 维生素 C(抗坏血酸, Vit C): 维生素 C 是一种抗氧化剂, 在酸性条件下稳定, 加热和碱性条件下易破坏。

所有动物都需要维生素 C。值得注意的是灵长类动物和豚鼠, 由于它们体内都缺乏古洛糖酸氧化酶, 不能合成维生素 C, 必须由饲料加以补充。

严重缺乏维生素 C 的动物可引起维生素 C 缺乏病, 如齿龈炎、舌炎、坏死性口炎。

维生素 C 的来源是新鲜蔬菜和植物。

(4) 维生素 B₂(核黄素, Vit B₂): 维生素 B₂ 对热稳定, 酸性和中性溶液中较稳定。在 120℃ 加热 6h, 仅有少量破坏, 但在碱性溶液中则较易破坏。游离维生素 B₂ 对光敏感, 特别是紫外线, 结合型维生素 B₂ 对光较稳定。

所有动物都需要维生素 B₂, 反刍动物、马和兔可以由肠道细菌合成维生素 B₂, 满足对 B₂ 的部分或全部需要, 其他动物则应由饲料补充。

动物缺乏维生素 B₂ 的症状各异, 鸡早期表现为趾卷曲麻痹或用脚跟行走, 晚期出现两腿瘫痪, 犬缺乏引起呼吸频率减少, 体温降低, 心动过速, 昏迷以至死亡。有时还伴有角膜损害、血管增生和干鳞状皮炎; 小牛缺乏维生素 B₂, 口角裂开, 唇肿胀, 厌食, 生长不良; 怀孕小鼠表现骨骼与软组织不正常, 出现腭裂及肢体畸形等, 仔鼠重量减轻。

维生素 B₂ 的来源主要是动物内脏和酵母。

(5) 维生素 B₁(硫胺素, Vit B₁): 维生素 B₁ 耐热, 酸性条件下很稳定, 但在碱性条件下, 对热极不稳定。在 pH > 7 的情况下煮沸, 大部分被破坏, 甚至在室温下储存, 亦可逐渐破坏。

饲料缺乏维生素 B₁, 动物主要症状为多发性神经炎。早期表现为厌食、呕吐、反射降低。幼年动物生长障碍, 成年动物如鸟类, 不能行走、飞翔, 严重的甚至不能站立, 最后导致死亡。大鼠出现心动徐缓等。当及时补充维生素 B₁ 时, 症状会逐渐缓解、消失。

维生素 B₁ 的主要来源是谷类、豆类、酵母和动物内脏。

(6) 维生素 E(Vit E): 维生素 E 耐热和酸、对碱不稳定, 在空气中会缓慢地

被氧化而破坏。

维生素 E 与动物的胚胎发育和繁殖功能有关,缺乏维生素 E,大鼠、小鼠和地鼠会引起生殖系统的损害,雄鼠睾丸退化、萎缩,孕鼠胚胎吸收和死亡,而且变化是不可逆的。

维生素 E 能保持动物的骨骼肌、心肌、平滑肌和外周血管系统的结构完整和功能正常。缺乏会造成动物肌营养不良,肌肉氧耗量增加,导致肌肉麻痹、瘫痪,可引起僵羊羔(stiff lamb)病、白肌病、鸡的脑软化、猫的脂肪组织炎和貂类黄脂病。兔缺乏维生素 E 会产生核酸代谢紊乱,组织中核酸含量下降。动物缺乏维生素 E 还产生红细胞的溶血现象。

种子的胚芽、青绿饲料、绿草、干草中都含有丰富的维生素 E。

(7) 烟酸(尼克酸,菸酸):性质稳定,在高压下,120℃ 20 min 也不破坏。

烟酸以烟酰胺的形式在体内构成辅酶 I(Co I 或 NAD)及辅酶 II(Co II 或 NADP),是组织中极其重要的递氢体,在生物氧化中起着重要作用。

缺乏烟酸将引起癞皮病。典型症状是皮炎和腹泻。猪、犬和鸡缺乏烟酸表现为体重降低、腹泻、皮炎和口腔损害,犬还有“黑舌症”的报道。

癞皮病的出现与动物饲料中含大量玉米有关。玉米中烟酸含量并不低,但主要为结合型,不能被吸收利用,而且其前体色氨酸含量也很少。增加高蛋白质饲料对癞皮病有一定疗效。由于其中色氨酸含量高,在体内可转化为烟酸。有些动物如猫体内不能利用色氨酸转化为烟酸,因此饲料中应增加烟酸的含量。

烟酸广泛存在于动植物中,但含量较少,主要来源是酵母、花生、谷类、豆类和肉类。

6. 水 水在动物营养生理上的作用是很重要的,它是动物机体各种器官、组织的组成成分,是各种营养物质的溶剂和运输工具,动物机体的新陈代谢和各种生物化学反应都需要有水才能正常进行,废物的排除也要靠水来运输,水还具有调节体温和润滑的作用。当动物体内缺乏水时,由于饲料的消化和营养物质的吸收受到阻碍,使机体代谢产物的排出受到停滞,血液循环和内分泌系统失常,体内热量调节发生障碍,并处于中毒状态。试验证明,一头饥饿的动物失去大部分脂肪、蛋白质尚不致死,但脱水 10% 即可引起心脏活动减弱及体温升高,肌肉活动不协调。当失去体内水分 20% 时,会引起动物死亡,可见水分的重要性。因此,及时喂给实验动物足够的清洁饮水,是动物进行正常代谢、生长、发育和保证健康的重要条件。

二、各种实验动物的营养需要

实验动物的品种繁多,食性各异,对各种营养素的需要也不同。营养缺乏或

过剩均对实验动物的生长、繁殖不利。因此制定出不同动物、不同时期科学合理的营养标准是必要的。近年来,我国国家质量监督检验检疫总局,发布了实验动物配合饲料的质量标准。大鼠、小鼠、犬、猴、兔、豚鼠配合饲料的营养成分指标见附录五附表 10~14。

第二节 实验动物的饲料

动物必须从饲料中获得全部的营养和热能以维持身体健康并且繁殖生息。因此饲料与实验动物的关系极为密切。动物的生长、发育、繁殖等一切生命活动无不依赖于饲料和决定于饲料,给予实验动物以稳定的合乎营养的全价饲料是进行动物实验的重要保证。

一、饲料的质量要求

(一) 概念

日粮是指一只(头)动物 24 h 所摄入的饲料量。按照不同动物的营养需要,选用数量不同的几种饲料互相搭配,使其提供足够的营养和热能,称为日粮搭配。

配合饲料是指按一定饲料配方配制而成的多种成分的混合料。可因应用目的、喂饲方法及生产方式的不同而有所区别。该饲料含有全面而均衡的各种营养素,能合理满足动物对营养和热能的需要,是理想的饲料。

(二) 饲料的配合

实验动物的饲料配合一定要科学合理。近几年来我国陆续颁布了实验动物全价营养饲料的国家、部颁和地方标准。根据动物对营养的需要量,按不同类型的动物,不同生长发育阶段或不同实验用途等目的,配制成各种不同的颗粒饲料,在保证蛋白质含量的基础上促使氨基酸互补,充分发挥了营养物质的作用,对促进实验动物的科学饲养起了良好的作用。一般在配合饲料时应考虑以下 4 个问题:

- (1) 必须参考各类动物的营养需要量,并根据饲养实践灵活应用;
- (2) 要注意饲料的适口性;
- (3) 尽可能选用营养丰富,价格低廉,而本地区来源较充足的饲料;
- (4) 要考虑动物的生理特点选用适宜的饲料。

在配合饲料时,除了要知道动物对营养的需要量以外,还要了解所用饲料的营养成分,这样在配制混合料时,首先考虑的是用哪些原料,要多少数量才能达到所需要的能量和蛋白质指标。再看钙和磷含量,要加多少食盐才能满足需要。

如要求再高一些可以计算一下维生素 A 或几种主要必需氨基酸和赖氨酸、甲硫氨酸等的含量。

(三) 饲料的分类

1. 按原料的精度分类

(1) 天然饲料:用经过适当加工的谷物、麦类、脱水蔬菜、酵母、骨粉、鱼粉等原料配制而成的日粮。因其价格便宜、加工简便、广泛应用于动物的生产繁殖中。

(2) 加工饲料:原料经精炼后配制而成,如牛奶中提炼出的酪蛋白、乳白蛋白,鸡蛋中提炼出的卵白蛋白作为蛋白质的来源,蔗糖和玉米淀粉作为糖类的来源,植物或动物油作为脂肪的来源,再加上化学纯的无机盐、维生素和纤维素等配制而成。这种饲料易控制营养成分,易于重复实验。

(3) 纯化学物质:采用化学成分纯净的化合物如氨基酸、必需脂肪酸、无机盐、维生素等配制而成。这类饲料比加工饲料化学成分更明确,价格也更高,只适用于某些需要严格控制营养成分的试验。

2. 按饲料的物理性状分类 常见有粉料、颗粒料、凝胶料(半湿料)、膨化料和液状料等 5 种。

(1) 粉料:将各种原料的干粉,按不同比例配制而成。配制过程中应注意将生粉加热处理,如粮谷类粉料一般应在 120℃ 高压蒸气灭菌处理,冷却后再拌入其他粉料,添加维生素、无机盐时应采取逐步扩大法,并应反复过筛拌匀,这种饲料品质稳定、饲喂方便,但容易引起动物的挑食,造成浪费。

(2) 颗粒料:用配好的干粉加水拌匀经过蒸气加压而制成块状饲料。这种饲料密度大、体积小,便于加工贮存,易于饲料标准化,动物适口性较好。

(3) 凝胶料:将水、琼脂、明胶或其他凝胶剂加入粉料中配制而成。这类饲料适口性好,动物乐于接受。但由于饲料含水量高,易受微生物的污染,必须冷藏或需要时临时配制。

(4) 膨化料:将粉料拌以水压入模管,在高温高压下形成膨化饲料。这种饲料对猫、犬、鱼类、灵长类适口性很好。

(5) 液体饲料:用纯化学物质配制而成。供特殊试验之用,也可用于无菌动物、剖宫产幼仔等,但价格较贵,不能广泛应用。

二、饲料的消毒

由于饲料的原料比较复杂,在收获、贮存和运输过程中都有可能被病菌污染。因此饲料加工过程中进行消毒灭菌是很必要的。饲料的消毒方法有很多种,在消毒过程中,由于受外界条件的影响,饲料中的某些营养成分易受到损失,

必须引起注意。

1. 干热灭菌 饲料在 80 ~ 100 ℃ 条件下烘烤约 2 ~ 3 h。此法能使灭菌物表面温度较快达到高温,但需较长时间才能达到内部。故不仅营养成分破坏较多,且易使饲料褐变而造成浪费。

2. 高压蒸气灭菌(120 ℃ 15 ~ 20 min) 此法灭菌时间短,营养成分的损失比干热灭菌法少。能应用于大量饲料的灭菌,易于普及。但必须掌握好消毒所需的时间,饲料保存时间不能太长并要采取有效的防潮措施。

3. 射线照射灭菌(⁶⁰Co) 辐照时饲料温度不上升,俗称“冷灭菌”。射线穿透力强,饲料中营养素损失较少,工艺上极为方便,可以成批辐照处理。是理想的饲料灭菌方法。

三、饲料的污染

饲料本身并不含有有害因素,但是饲料在生产、加工、贮存、运输、直至饲喂动物前的整个过程中,由于外界各种因素、条件的作用,而含有有害的物质,使饲料的营养价值,卫生质量下降,危害动物的健康。这种有害物进入饲料的过程称为饲料污染。饲料污染按其性质可分为如下 3 类。

1. 生物性污染 微生物、寄生虫以及虫卵都可造成生物性污染。

(1) 微生物污染:微生物污染主要由细菌和细菌毒素、霉菌和霉菌毒素引起。

细菌对饲料的污染可以由致病菌或非致病菌引起,非致病菌通过水、空气、土壤、操作人员的手等污染饲料,在适宜条件下,大量生长繁殖,使饲料中的蛋白质、脂肪、糖类分解,感官性质变化,营养价值下降,产生腐败变质。若致病菌在饲料中大量生长繁殖,则可引起动物食物中毒、人畜共患病等。

真菌在自然界中分布广泛,部分菌株在适宜的环境下产生有毒的代谢物即霉菌毒素。黄曲霉素主要污染花生、花生油、玉米、大米、棉籽等。麦类在生长期适逢多雨、潮湿、极易感染赤霉病。两者除引起急性中毒外,对动物还有致突变、致癌的作用。微生物指标见附录五附表 15。

(2) 寄生虫及虫卵污染:动物感染寄生虫较普通,往往由于饲料污染而引起。常见的有兔肠球虫、肝球虫病、犬旋毛虫、钩虫和蛔虫病等。不仅造成动物质量下降,而且可能干扰动物实验结果。

(3) 昆虫污染:常见的有甲虫、螨类及蝇、蛆等。它们的生长繁殖引起饲料感官性状变化,营养质量下降。因此饲料仓库的清扫、消毒、灭虫等是重要的卫生措施。

2. 化学性污染 饲料的化学性污染涉及范围广,种类复杂。常见的有以下

几种来源：① 农药、化肥的使用不当，如有机氯、有机磷农药等。② 工业三废的不合理排放，造成重金属如铅、汞、镉对饲料污染。③ 不合卫生要求的饲料容器、包装材料、运输工具的使用。④ 其他如多环芳烃、亚硝胺等的污染。这些污染可引起实验动物的急、慢性中毒，并有致畸、致癌、致突变的报道。因此对饲料的来源及其中的污染物残留应予以严格控制。

3. 放射性污染 饲料中的放射性主要来自两个方面：一是自然界中天然存在的放射性物质，即天然本底；二是和平利用原子能和核试验产生的放射性物质，即人为的放射性污染。两者均可通过牧草、水、空气污染饲料，进入动物体内，引起动物的血液学改变、影响繁殖能力，缩短寿命。

综上所述，污染饲料的有害物质种类繁多、性质各异，对动物健康的危害也各有不同。因此我们要建立严格的质量监督制度，尽可能减少饲料中的有害因素，使饲料营养成分稳定，并对动物无毒无害。

化学污染物指标见附录五附表 16。

四、颗粒饲料的优点

1. 颗粒饲料易于消化吸收 颗粒饲料在加工过程中经过水蒸气热压后对饲料有烧煮作用。能将粉粒湿润软化，并促使组织细胞破裂，纤维撕碎，引起有些成分的结构变化，使高能量饲料发生综合作用。又使生淀粉 α 化（淀粉糊化），容易被动物消化吸收。在加热过程中，能引起蛋白质变性，降低蛋白质溶解性，增强组织蛋白食感优良性，破坏酶的生物活性和毒性蛋白。在加热过程中可抑制对生理代谢有害的物质。例如在未经煮烧过的黄豆和豆类蛋白中，有一种生长抑制剂对动物生长和生理代谢都有影响，而加热后能去除这种有害物质。通过加热，可除去腥味而增加饲料的适口性。同时蒸气又具有杀菌作用使颗粒饲料细菌数减少，饲料不易变质，食物中毒机会减少，提高了饲料质量，饲料的保存性能提高，保证了动物健康生长。

2. 饲料管理质量提高 在生产加工和饲喂过程中，不像混合粉料那样产生大量粉尘而造成损失。因减少了加工和饲喂工序，操作方便从而减轻了劳动强度。在饲料装卸和运输过程中，不会像粉料那样因饲料成分的比重不同而引起自动分级破坏其均匀状态。特别是微量成分，颗粒饲料能有效地保证其分布均匀。颗粒饲料可减少贮存和运输体积，特别是对苜蓿草等粗纤维饲料更为显著。颗粒饲料能避免动物扒食造成不必要的浪费。颗粒饲料饲喂方便，每天喂一次即可，而且饲喂量容易掌握。颗粒饲料体积小，便于密封长期保存，防止了饲料霉烂虫蛀变质。

五、饲料的管理

1. 配合饲料的质量问题 配合饲料的质量同饲料中各项原料的好坏有着极为密切的关系。任何一种原料的发霉、腐败、变质均会影响颗粒饲料的质量,而给实验动物带来重大灾难。如果各种原料保存不妥,则含水量必然会增加,特别是霉雨季节轧制出来的颗粒饲料含水量也必然较高,因而饲料就容易发霉变质。如存在有毒物质例如玉米中的黄曲霉毒素,苜蓿草发霉后的霉菌毒素,含脂量较高的鱼粉中脂肪酸变质所产生的过氧化物毒性物质,以及饲料中所含农药残留较高等,均能引起动物毒性反应而影响动物生长发育,甚至造成大批中毒,动物死亡。因此必须对饲料本身和加工过程采取严格的质量监督制度。

2. 固型饲料的保存问题 一般含水量在7%~8%的固形饲料可放在密封的容器中长期保存,几乎不发生霉变和虫蛀,在含水量10%以上时,就难以长期保存。霉雨季节往往数天后就能看到霉变现象。拆封的饲料,一旦放进食筐中,如果室温在 $(23 \pm 1.0)^{\circ}\text{C}$,湿度在60%时,那么放置1 d就会增加水分8.5%~9.5%,放置2 d会增加10.2%~12.5%,这说明高温多湿环境对饲料保存的危害性。在放置饲料的房间里,如果有少量的饲料粉末撒落在地面上,那么粉末由于受潮吸水,常会引来虫害。尤其是用麻袋或纸袋装颗粒饲料,成虫会咬破此袋,再在饲料中生长繁殖,形成虫蛀结团现象。另外,野鼠和蟑螂也同样会咬破此袋偷食并污染饲料。由此说明饲料经加工后应该装于密封的容器中较为安全。一般颗粒饲料的含水量在10%以下,只要保管适当,可保存1~3个月,其营养成分很少变化。

(许兰文)

第七章 常用实验动物

最常用实验动物是啮齿目、兔形目等动物,啮齿目动物在全球约有 1 600 多种,是哺乳纲中数量最多的一个目,医学实验常用的有鼠科、仓鼠科、天竺鼠科等。家兔在分类学上曾列为啮齿目,而后被称为兔形目。

第一节 小 鼠

小鼠在分类学上属于脊椎动物门,哺乳纲,啮齿目,鼠科,小鼠属。小鼠的祖先是普通家鼠演变而来,几个世纪以前,白化小鼠就作为观赏动物被驯养。白化是动物一种遗传缺陷疾病。小鼠作为实验动物使用开始于 18 世纪,19 世纪用于发生学实验、肿瘤移植实验及遗传实验等,到 20 世纪被广泛应用于各个研究领域,形成或培育出许多各具特色的封闭群和近交系。

一、生物学特性

(一) 一般特性

一般特性为:

(1) 小鼠面部尖突,呈锥形体,嘴脸前部有 19 根长的触须,耳耸立呈半圆形,眼睛大而鲜红,尾长约与体长相等。

(2) 小鼠胆小,但性情温顺,容易捕捉,不主动咬人。非同窝雄性易斗,常咬伤背部和尾部。

(3) 小鼠喜欢黑暗和群居,昼伏夜出,其进食、交配、分娩多发生在夜间。活动高峰为傍晚与黎明。

(4) 小鼠体形小,90 日龄的 KM 种小鼠,其体长为 90 ~ 110 mm,体重为 37 ~ 43 g。一般雄鼠大于雌鼠,近交系小鼠体型明显小于 KM 种小鼠。

(5) 对外界环境反应敏感,适应能力差,当强光或噪声刺激时,可导致哺乳母鼠神经紊乱,发生食仔现象。温度过高或过低时,生殖能力明显下降,严重时会发生死亡。

(6) 对多种毒素和病原体易感,1/100 的破伤风毒素能使小鼠致死。对致癌物敏感,自发性肿瘤多。

(二) 解剖学特点

解剖学特点为:

(1) 齿式为 2(门 1/1,犬 0/0,前臼 0/0,臼齿 3/3) = 16,上下颌各有 1 对门齿和 3 对臼齿,门齿终身生长,需经常磨损来维持齿端的长度。

(2) 小鼠下颌骨的喙状突较小,髁状突发达,其形态有品系特征,可采用下颌骨形态分析技术,进行近交系小鼠遗传质量监测。

(3) 小鼠无汗腺,尾部有 4 条明显的血管,背腹面各有 1 条动脉、静脉。尾有散热、平衡、防卫等功能。

(4) 小鼠的胃分前胃和腺胃,有嵴分隔,胃容量小,为 1~1.5 ml,不耐饥饿,肠道较短,盲肠不发达。有胆囊,脾脏有明显造血功能,雄性脾脏比雌性大约 50%。

(5) 淋巴系统发达,外界刺激可使淋巴系统增生,因此易患淋巴系统疾病。

(6) 雌性为双子宫,呈“Y”形。乳腺发达,胸部 3 对,髋部 2 对。雄性幼年时睾丸藏于腹腔,性成熟后下降到阴囊。如果性成熟以后,睾丸仍在腹腔内称隐睾,此动物无生育能力。

(7) 小鼠有褐色脂肪组织,参与代谢和增加热能。

(三) 生理学特性

1. 生殖生理 小鼠性成熟早,36 日龄左右的雄鼠附睾中就有活动的精子。雌鼠在 37 日龄即可发情排卵、受孕。雄性精囊腺、凝固腺、前列腺、尿道球腺具有分泌精液的功能,这些分泌物具有营养、保护精子的作用,并在阴道和子宫颈处遇到空气而凝固,形成阴道栓,具有阻塞精液倒流外泄的作用,提高受孕能力。

(1) 性周期 小鼠有明显的性周期,雌鼠 20 日龄后,阴道外口皮层逐渐变薄,不久即开口,36~42 日龄达到性成熟。

小鼠性周期为 4~5 d,可分为 5 期(表 7-1)。

表 7-1 小鼠性周期阴道分泌物涂片变化

阶 段	持续时间 (h)	所 见	备 注
发情前期	9~18	只有大量圆形有核上皮细胞或含有少量角化上皮细胞	阴道开口大,充血肿胀,阴道干燥
发情期	6~12	有大量角化上皮细胞无核,无白细胞	阴道口呈白色干燥状态
发情后 第 1 期	18~24	可见少量角化上皮细胞,并集聚在一起	阴道肿胀,阴道内有干酪样结块
发情后 第 2 期	12~24	角化上皮细胞周围有无数白细胞	阴道肿胀消失,阴道黏膜湿润
发情 休息期	31~42	白细胞,有核、无核上皮细胞均有,但细胞量少,混有黏液	阴道无肿胀,阴道黏膜湿润

(2) 排卵:一般在发情后 2~3 h 即可排卵。在分娩后 24 h 内排卵,如此时交配即可受孕,俗称“血配”。

2. 生长发育 小鼠生长发育的快慢与品系、母鼠的哺乳能力、生产胎次、哺乳仔数、疾病状况、营养和环境条件有关。

新生仔鼠赤裸无毛,皮肤呈肉红色,两眼未开,耳廓与皮肤粘连,头大尾短,生后即可发出声音,有触觉、嗅觉和味觉,对刺激有反应。新生小鼠体重为 1~1.5 g,生后 1~2 h 即可吃奶,可明显看到胃里充满白色的乳汁,呈透明状。3 日龄时皮肤由红色转为白色,有色品种小鼠可以看到颜色。4~6 d 两耳张开,1 周后能爬行,被毛逐渐浓密、丰富,8 日龄长出下门齿,10 日龄有听觉,12~13 日龄开眼,14 日龄长出上门齿,13~15 日龄可从窝内爬出,开始活动采食,学习饮水。3 周左右可以离乳,即能独立生活。小鼠体成熟,雌性为 65~75 日龄,雄鼠为 70~80 日龄。小鼠生长速度因雌鼠健康情况、品系、哺乳数量,饲料质量、气候条件等不同有所差异。不同日龄小鼠体重增长情况如表 7-2 所示。

表 7-2 不同日龄小鼠体重的增长情况(g)

日 龄	KM		615		C3H	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
初生	1.90	1.70	1.58	1.58	1.44	1.44
7	6.40	5.70	4.64	4.64	4.40	4.40
14	9.77	8.35	7.96	7.96	7.00	7.00
21	12.70	12.50	9.83	9.83	9.70	9.70
28	20.00	17.50	19.00	15.75	13.30	12.10
35	29.5	24.00	22.58	20.75	17.20	15.20
42	32.5	28.50	25.96	21.88	20.00	17.80
49	36.00	30.00	37.96	23.12	21.20	18.00
56	38.00	33.00	28.83	24.16	22.30	19.27
63	40.00	34.00	28.88	24.80	25.30	20.85
70	41.00	35.00	29.79	25.28	25.80	22.10

3. 寿命 小鼠寿命为 2~2.5 年。

二、饲养管理

(一) 环境

小鼠对环境变化敏感,自动调节体温的能力较差,过冷过热易诱发各种疾病。最佳温度为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度为 40%~60%,氨浓度 $\leq 14 \text{ mg/m}^3$,噪声 $\leq 60 \text{ dB}$ 。

(二) 笼具和垫料

一般采用无毒塑料制成的透明或不透明的鼠盒,不锈钢丝笼盖,饮水器为塑料瓶,瓶塞上装有可自动吸水的金属饮水管。常用可移动金属笼架,并可耐受多种方法消毒灭菌。一、二级动物常在清洁级和 SPF 级饲养室或用清洁层流柜来饲养。垫料应有强吸湿性、无毒、无刺激气体、无粉尘、不可食,并使动物感到舒服。笼具和笼架应定期灭菌消毒。垫料须灭菌后方可使用。

(三) 饲料及饮水

小鼠应饲喂全价营养颗粒饲料,并保持饲料的成分相对稳定。饲料的消毒方法有两种:一种是预真空高压湿热消毒法,易破坏其中的营养成分,特别是蛋白质和维生素;另一种方法是⁶⁰Co γ 线照射消毒法,对营养成分的破坏很小,但成本较高。饮水标准不低于城市生活饮水的卫生标准。二级以上小鼠饮水须经灭菌处理。

(四) 繁殖

1. 种鼠 种鼠可由外单位引入,也可自己保种。进入生产的种鼠要经过挑选,即选种。选种先在小鼠离乳时进行初选,种鼠应符合饲养品系的遗传学特征,无变异。双亲体质健康无疾病,亲代雄鼠配种能力强,亲代母鼠繁殖能力强(根据繁殖卡记录评定)且母性好。初选时按健康标准一般选留第 2~3 胎的仔鼠,雌雄分开饲养。在育成期中出现异常者应立即淘汰,有传染病嫌疑者,全盒淘汰。配种前按健康标准和生殖器情况进行选种,然后配种。小鼠初配的适龄期为 65~80 d。

2. 繁殖方法 有两种,如下所示:

(1) 长期同居法:又称频密繁殖法。此法在管理上较简单,可减少疾病传染机会。将 1 雄鼠与 1~3 只母鼠同居。在雌鼠分娩后几小时内再行交配受孕。一般情况每只雌鼠每月可生产 1 胎。这样可充分利用小鼠的繁殖能力(特别是利用雌鼠产后发情)。由于雌鼠边怀孕边哺乳负担过重,应注意加强营养。

(2) 定期同居法:又称非频密繁殖法。将 1 雄鼠与 6 只雌鼠编为一繁殖单元。每周向雄鼠笼放入 1 只雌鼠,即按周次使雄鼠与 1 只雌鼠同居,再将受孕雌鼠提出,置单独笼内分娩、哺乳、离乳,以此类推。此法可使 1 只雄鼠与 2~3 只雌鼠同居 14~17 d。每只雌鼠生产周期约为 42 d。此繁育哺乳仔鼠易得到充分的营养,仔鼠发育好,离乳时平均体重较前法重 1~2 g。但需经常检查种鼠的生殖能力,及时淘汰受孕低的种鼠并增补新种。

3. 妊娠和生产 小鼠受孕率一般为 80%~90%,妊娠期为 19~21 d,大部分为 19 d。产仔数多少与品系、年龄、胎次、饲养环境等条件有关。远交群的昆明种小鼠每胎仔鼠出生数 8~12 只的占 63.57%,每胎最多产仔数达 25 只之多。

4. 离乳和性别区别 哺乳 17~21 d 即可离乳。发育迟缓的仔鼠,可适当延长哺乳时间。性别区分:

- (1) 雄性生殖器突起,比雌性大。
- (2) 雄性生殖器距肛门远。
- (3) 雄鼠乳头不明显,雌鼠则非常显著。
- (4) 雌鼠肛门和生殖器之间有一无毛小沟,而雄性鼠则长毛,生殖孔呈圆形。

(五) 日常管理

饲养和管理人员必须严格遵守操作规程,并做好各项记录,包括近交谱系图、品系、个体、繁殖、体制,以及饲养室温度、湿度记录等,记录应妥善保存。

三、常用品系及其在生物医学中的应用

1. 近交系

(1) C57BL/6:1937 年育成,1975 年由日本国立肿瘤研究所引入我国。黑色,毛色基因为 aa, H-2^b。肿瘤发病率低,对放射物质耐受力强,眼畸形、口唇裂的发生率达 20%,淋巴细胞性白血病发病率为 6%。对结核杆菌、百日咳组胺易感因子敏感。嗜酒精性高。是肿瘤学、生理学、遗传学研究常用品系。

(2) C3H/He:1920 年育成,1975 年由美国引入我国,野生色。乳腺癌发病率为 97%。对致肝癌因子敏感,对狂犬病病毒敏感,对炭疽杆菌有抗力。主要用于肿瘤学、生理学、核医学、免疫学的研究。

(3) BALB/c:1932 年育成,1979 年由美国引入我国。白化,毛色基因为 b, c, H-2^d。乳腺肿瘤发生率低,但对致癌因子敏感,对放射性照射极为敏感。生产性能良好,繁殖周期长。广泛应用于肿瘤学、生理学、免疫学、核医学和单克隆抗体等研究。

(4) DBA/2:1909 年育成,是最早培育成功的第 1 个近交系,1977 年由英国实验动物中心引进我国,浅灰色。乳腺癌发生率为经产鼠 66%,未产鼠 3%。白血病发生率雌鼠为 6%,雄鼠为 8%。36 日龄小鼠听源性癫痫发病率为 100%,55 日龄后为 5%。对鼠伤寒沙门菌补体有抗力。对百日咳组胺易感因子敏感。常用于肿瘤学、遗传学和免疫学的研究。

2. 封闭群

(1) KM:白化。1946 年我国从印度 Haffkine 研究所将瑞士小鼠引入云南昆明,1952 年由昆明引入北京生物制品研究所,1954 年推广到全国各地。该鼠适应性强,抗病力强,产仔率高,母鼠哺乳性能强。一般受孕率在 98% 以上,平均产仔在 9 只以上,生育过的母鼠群中常发生自发性乳腺肿瘤。广泛应用于药理、

毒理、微生物学的研究以及药品、生物制品的检定。

(2) NIH 白化,由美国国立卫生研究院培育而成。特点是繁殖力强,产仔存活率高,雄性好斗。广泛用于药理和毒理研究以及生物制品检定。

(3) ICR 白化,起源于美国 Hauschka 研究所饲养的瑞士小鼠。该品种适应性强,繁殖力强。我国现在饲养的 ICR 小鼠是 1973 年从日本国立肿瘤研究所引进的,生育能力高。

3. 在生物医学中的选择应用 在生物医学领域中,小鼠因其自身的特点,为使用量最大的啮齿目实验动物。美国 1982 年用小鼠 8 000 万只,日本 1970 年用小鼠 1 115 万只,我国 1984 年用小鼠 227 万只,1985 年用小鼠 244 万只,应用范围遍及生物医学研究的各个领域。

(1) 药物评价和毒性试验:几乎所有药物筛选试验和生物制品检定都离不开小鼠。并广泛用于药品的毒性试验及三致(致畸、致癌、致突变)试验。

(2) 肿瘤学研究:许多近交系小鼠自发性肿瘤发病率很高,如 AKR 小鼠白血病发生率可达 90%,C3H 小鼠乳腺癌发病率达 97%。同时,小鼠对致癌物质敏感,可诱发各种肿瘤,如二乙基亚硝胺可诱发小鼠肺癌,甲基胆蒽可诱发小鼠胃癌和宫颈癌等,是研究人类肿瘤极好的模型。另外,严重免疫缺陷小鼠,如裸小鼠、SCID 小鼠可接受各种人类肿瘤细胞的植入,直接用于人类肿瘤生长、转移及治疗的研究。

(3) 传染性疾病研究:小鼠对多种病原体特别是病毒极为敏感,常用于研究这些病原体的发病机制、临床症状及治疗。例如狂犬病、脊髓灰质炎、流感、脑炎、血吸虫病、疟疾、破伤风等的研究。

(4) 遗传学和遗传性疾病的研究:小鼠毛色变化多样,其遗传学研究比较清楚,常用小鼠毛色做遗传学分析。重组近交系用于研究基因定位及其连锁关系。同源近交系用来研究多态性基因位点的多效性、基因的效应和功能以及发现新的等位基因。利用遗传工程技术将外源基因导入小鼠染色体基因组中,建立转基因小鼠,为小鼠的利用开辟了一个新的天地。此外,许多小鼠具有各种遗传疾病,如小鼠黑色素瘤、家族性肥胖、遗传性贫血、尿崩症等。这些疾病与人类发病机制相似,可用作人类遗传疾病的动物模型。

(5) 老年病学的研究:小鼠寿命短,传代时间短,随着鼠龄的增加,机体内的某些生理生化指标不断变化,特别是高龄小鼠中老年病明显增多,是老年学研究的极好材料。多用于糖质、脂质、胶原和免疫等方面的研究。

(6) 计划生育研究:小鼠繁殖力强,性周期和妊娠期短,生长快,适合计划生育等方面研究。如抗生育、抗着床、抗早孕、抗排卵等实验研究。

(7) 免疫学研究: BALB/C、AKR、C57BL/6J 等小鼠常用于单克隆抗体的制

备和研究,免疫缺陷小鼠可用于免疫机制的研究。

此外,小鼠还可用于内分泌、呼吸和消化等系统疾病的研究。

第二节 大 鼠

大鼠属于脊椎动物门,哺乳纲,啮齿目,鼠科,大鼠属,由褐家鼠演变而来。18 世纪初开始人工饲养,19 世纪中期用于动物实验。由于大鼠体型较小,遗传学较为一致,对实验条件反应也较近似,常被誉为精密的生物工具,被广泛应用于生物医学研究中的各个领域。

一、生物学特征

(一) 一般特性

一般特性为:

(1) 大鼠性情温顺,抗病力强,聪敏,易于调教和提取。但如捕捉方法粗暴使其紧张不安,难于捕捉,甚至攻击人。

(2) 大鼠嗅觉、味觉较灵敏,做条件反射等实验反应良好。食性较杂,以谷物为主兼食肉类,对营养缺乏较敏感,特别是维生素 A 和氨基酸供应不足时,可发生典型的缺乏症状。体内能合成维生素 C。

(3) 喜啃咬,喜安静环境,常夜间活动,噪声和不适光照对其繁殖影响很大。

(4) 对饲养环境中的粉尘、氨气和硫化氢等极为敏感,如果饲养室内空气卫生条件较差,在长期慢性刺激下,可引起肺部炎症。

(5) 对饲养环境中湿度极为敏感,当相对湿度低于 40%,易患环尾病,还会发生哺乳母鼠食仔现象,一般饲养室湿度应保持在 50% ~ 65% 之间。

(6) 大鼠汗腺极不发达,仅在爪垫上有汗腺,尾巴是散热器官,当周围环境温度过高时,靠流出大量唾液调节体温,但当唾液腺功能失调时,易中暑引起死亡。

(7) 大鼠缺乏呕吐反应,药理实验时应予注意。

(二) 解剖学特点

大鼠上下颌各有 2 个门齿和 6 个臼齿,齿式为 2(门 1/1,犬 0/0,前臼 0/0,臼齿 3/3) = 16,门齿终生不断生长,需磨损维持其恒定。

大鼠食管与十二指肠相距很近,胃中有一皱褶,收缩时会堵住贲门口,这是大鼠不会呕吐的原因。胃由前后两部分组成,前部薄而透明仅含黏液腺,后部壁厚由胃腺组成。肠道较短,盲肠较大,长为 6 ~ 8 cm,具有一定的消化功能。胰腺分散,位于十二指肠和胃弯曲处,似粉红色的脂肪组织。

肝脏共6叶,再生能力强,部分肝叶切除后仍可再生。无胆囊,来自各叶的胆管形成胆总管,胆总管开口于距幽门括约肌25 mm处十二指肠乳突上,胆汁排入肠管,受十二指肠端括约肌的控制。

肺结构特别,左肺为1个大叶,右肺分成4叶。

心脏和外周循环与其他哺乳动物稍有不同。心脏的血液供给既来自冠状动脉,也来自冠状外动脉,后者起源于颈内动脉和锁骨下动脉。

肾为蚕豆形,右侧比左侧稍高,靠近头侧。单乳头肾,肾脏前端有一米粒大肾上腺。

雄性腹股沟终生开放,30~40日龄时睾丸下降,有阴茎软骨,生殖器突出,副性腺很发达。雌性生殖器呈圆形,有凹沟,子宫为“Y”型双角子宫,胸部和腹部各有3对乳头。

无扁桃体。眼角膜无血管,有棕色脂肪组织。仅爪垫上有汗腺。长骨有骨髓线长期存在,不骨化。垂体位于视交叉之后,通过漏斗与脑的基部相连,易于摘除。

(三) 生理学特点

新生鼠体重为5~8 g,全身无毛,呈肉红色,耳闭合粘连皮肤,3~4 d耳与皮肤分离,并长出体毛。8~10 d长出门齿,14~17 d睁眼,16 d被毛长齐,19 d生出第1臼齿,21 d生出第2臼齿,35 d后生出第3臼齿。大鼠生长发育速度与品系、母鼠的体质、生产胎次、哺乳只数、饲料营养和环境条件等有关,一般成年雄鼠重为350~650 g,雌鼠250~400 g,寿命为2~3年。

大鼠2月龄时性成熟,为全年多发情动物,有产后发情,发情周期(性周期)4~5 d,可分为发情前期、发情期、发情后期和间情期。通过阴道涂片可判断处于哪个时期。大鼠妊娠期为19~23 d,平均为21 d或22 d,初产鼠的妊娠期略长于经产鼠。平均每窝产仔6~14只。适配鼠龄雄性为90日龄,雌性为80日龄,一般大鼠繁殖生产使用期为90~300 d。大鼠生物学、生理学参数见附录五。

大鼠心电图中没有S-T段,甚至有的导联也不见T波,这一点与小鼠相同。

二、饲养管理

大鼠的饲养管理与小鼠相同,但要注意一些大鼠特有的习性。

(一) 环境

大鼠听觉灵敏,对噪声耐受性低,饲养环境应保持安静,防止噪声。光照对大鼠生殖生理和繁殖行为影响较大,封闭饲养室多采用光照定时装置,提供适当的(12 h光照,12 h黑暗,或14 h光照,10 h黑暗)昼夜光变化周期。

大鼠对氨气和硫化氢敏感,应定时换窝,一般每周2~3次,保持室内干净卫

生,加强通风换气,尽量减少饲养室中的粉尘。在微生物控制高等级大鼠的饲养设施中,应有良好的通风设备与空气过滤系统。大鼠不耐高温,温度过高易中暑死亡。湿度过低可导致大鼠环尾症。一般饲养室温度应保持在 18 ~ 25 ℃,相对湿度应以 50% ~ 65% 为宜。

(二) 笼具和垫料

饲养大鼠的盒笼有两种,一种是实底装铺垫物的塑料盒,另一种是金属丝底带接粪盘的笼子。目前多使用塑料盒,用于饲养繁殖及实验观察。

大鼠垫料除注意消毒外,还应注意控制其物理性能。细末状垫料可导致吸入性肺炎,软木刨花可引起幼龄大鼠的肠阻塞。

(三) 饲料及饮水

大鼠对营养缺乏很敏感,饲料应保证其营养需要,严防发霉变质。饮水保持新鲜卫生,符合城市饮水卫生标准,二级以上大鼠饮水应使用酸化水、氯化水或经高压消毒灭菌用水。

(四) 生产繁殖

大鼠生产一般采用 1 雄多雌间隔同居法繁殖,当雌鼠腹部明显增大确认怀孕后,进行单笼饲养,每只母鼠可带 8 ~ 10 只仔鼠,不宜多于 10 只,以保证幼鼠有充足的乳汁。一般仔鼠出生后 21 d 离乳,雌雄分养。

抓大鼠时要轻抓轻放,对体重轻的可提其尾巴,对体重较重的应提其尾根部。对怀孕的母鼠,不应提尾巴,只能用手从大鼠的背部向其腋下抓起,再用另一只手托起其臀部。

三、常用品系及其在生物医学中的选择应用

(一) 常用大鼠

1. Wistar 1907 年由美国 Wistar 研究所育成。使用数量最多,遍及全世界。我国从日本、前苏联引进。Wistar 大鼠头部较宽,耳朵较长,尾长小于身长。该种群性周期稳定,繁殖力强,产仔多,生长发育快,性情温顺,对传染病的抵抗力较强,自发肿瘤发生率低。

2. SD 1925 年由美国 Sprague 和 Dawley 农场育成。头部狭长,尾长近于身长,产仔多,生长发育较 Wistar 快,抗病能力尤以对呼吸系统疾病的抵抗力强。自发肿瘤率较低。对性激素感受性高。常用作营养学、内分泌学和毒理学研究。

3. SHR 1963 年 Okamoto 从 Kyoto 医学院保持的 Wistar 大鼠通过近交而建成,白化(a, b, c, h)。自发性高血压,10 周龄以后动脉收缩压雄鼠为:26.7 ~ 46.3 kPa(200 ~ 350 mmHg),雌鼠为:24.0 ~ 26.7 kPa(180 ~ 200 mmHg),心血管疾病发病率高。对降压药物有反应,可作为高血压动物模型。

(二) 生物学中的选择应用

1. 生理学研究 大鼠垂体-肾上腺系统发达,垂体摘除比较容易,可用来进行肾上腺、垂体、卵巢等内分泌研究。利用大鼠对新环境易适应、有探索性、易训练、对惩罚和暗示敏感等特性进行行为学研究和高级神经活动的研究。大鼠无胆囊,但胆总管较粗大,可采用胆总管插管收集胆汁进行消化功能的研究。

2. 营养代谢性疾病研究 大鼠对营养缺乏比较敏感,是研究营养学的首选动物。常用于蛋白质、维生素和无机盐等营养代谢研究。

3. 药理学和毒理学研究 大鼠的血压和血管阻力对药物反应敏感,适合研究心血管药物的药理和药物筛选,例如用直接血压描记法研究降压药的药效,用灌流肢体血管和离体心脏研究心血管药物的药理作用。大鼠踝关节对炎症反应敏感,用于抗关节炎药物的研究。另外,大鼠足跖水肿法是最常用的筛选抗炎药物的方法。利舍平(利血平)和阿扑吗啡可诱导大鼠出现神经性异常行为,可用迷宫测验或有条件回避惩罚或获得奖励的能力测试,来筛选和评价神经病药物的药效。大鼠在药理学研究方面的应用极为广泛,几乎所有药物的药理研究都使用大鼠。同时,大鼠还广泛应用在各种药物的毒理学研究中,如急性毒性试验、长期毒性试验、生殖毒性试验和药物依赖试验等。

4. 肿瘤研究 有些大鼠品系具有较高的肿瘤自发率。还可诱发形成肝癌、肺癌、食管癌以及多种肿瘤的移植生长,可复制各种肿瘤模型。

5. 遗传疾病研究 有些大鼠品系具有自发遗传疾病,如白内障、尿崩症、肥胖、高血压、癫痫等,这些疾病具有与人类相似的特征,可作为人类这些遗传性疾病良好的动物模型。同时,大鼠具有很多毛色基因,在遗传学上应用广泛。

6. 传染病研究 多种病原体可使大鼠产生与人相似的疾病,因此,大鼠常被用于这一领域的研究。例如慢性支气管炎、病毒性肝炎、血吸虫病、钩虫病等的研究。

7. 环境污染与健康的研究 大鼠对空气污染非常敏感,例如体积分数为 $(100 \sim 500) \times 10^{-6}$ ($100 \sim 500$ ppm) 的 CO 可造成大鼠视神经和判断能力的永久性损害,体积分数为 1×10^{-6} (1 ppm) 的 NO_2 4 h 即可引起大鼠肺组织异常;体积分数为 5×10^{-6} (5 ppm) 时生活 9 个月,产生严重肺积水;在烟雾下长期生活的大鼠易发生肾病。所以,常被用作空气污染对人和动物健康影响的研究。重金属污染也可导致大鼠的病理改变,常作为这方面研究的动物模型。例如,水银对大鼠的生殖、胚胎发育、生长发育等有阻碍作用,铅污染可造成大鼠胎儿畸形,使神经和脑髓受累。此外,大鼠还可用于职业病的研究。

8. 口腔医学研究 用变异链球菌接种大鼠口腔,然后喂给蔗糖食物,大鼠牙齿上的珐琅质蛀损在宏观和微观上同人的蛀齿相似,可用来研究龋齿。

9. 心血管疾病研究 大鼠是研究心血管疾病的首选动物。目前已培育出多种不同类型的高血压的大鼠品系。还有自发性动脉硬化大鼠品系。通过诱发可使大鼠出现肺动脉高压症、心肌劳损、动脉粥样硬化、局部缺血心脏病等模型,但其结构功能、代谢与人类不完全相同。

10. 其他方面的应用 大鼠还广泛用于实验外科学、核医学、物理性损伤、计划生育、老年病学等的研究。

第三节 豚 鼠

豚鼠原产于南美洲,在分类学上属哺乳纲,啮齿目,豚鼠科,豚鼠属。实验豚鼠由野生豚鼠驯化而育成,又称天竺鼠、荷兰猪、海猪等。

一、生物学特性

(一) 一般特性

一般特性为:

(1) 豚鼠为草食性动物,喜食纤维素多的禾本科嫩草或干饲料。

(2) 豚鼠胆小、温顺、对外界刺激极为敏感。不会攀登,一般不伤人,不互相打斗。喜欢安静、干燥、清洁的环境。突然的声响、震动可引起四散奔逃,会引起孕鼠流产。

(3) 豚鼠喜活动、爱群居。需较大活动场地,单笼饲养时易发生足底溃疡。

(4) 豚鼠听觉发达,能识别多种不同的声音。当有尖锐的声音刺激时,常表现为耳廓微动,称为普莱厄反射或听觉耳动反射。

(二) 解剖学特点

解剖学特点为:

(1) 身体短粗,头大,耳朵和四肢短小,尾巴只有残迹,上唇分裂。前足4趾,后足3趾,趾端有甲,脚形似豚。

(2) 齿式为 $2(\text{门 } 1/1, \text{犬 } 0/0, \text{前臼 } 1/1, \text{臼齿 } 3/3) = 20$,门齿弓形,终身生长。成熟豚鼠约有256~261块骨。

(3) 胃壁薄,胃容量为20~30 ml,肠管约为体长的10倍,盲肠发达,约占腹腔的1/3。肝脏呈黄褐色,可分为5叶,有胆囊。胰脏呈粉红色,横位于胃的后面。脾脏位于胃大弯处。淋巴系统发达。

(4) 大脑在胚胎期42~45 d发育成熟。胸腺在颈部皮下气管两侧,易摘除。

(5) 雌鼠有左右两个完全分开的子宫角,一对乳头,两组乳腺位于腹股沟部。

(三) 生理学特点

生理学特点为:

(1) 性成熟早,雌鼠在30~45日龄,雄鼠在70日龄性成熟。性周期为15~17d,妊娠期59~72d,一般产仔3~4只,哺乳期2~3周。新生仔体重约为80g,生后即能活动,有被毛,眼耳张开,有门齿,几小时后即可自己采食。

(2) 寿命一般4~5年,最长可达8年。生长发育快,出生后上半月每日增重4~5g,2月龄体重可达350g,5月龄雌鼠体重可达700g,雄鼠体重可达750g。

(3) 红细胞计数较其他啮齿类低,外周血和骨髓细胞的形态与人相似。

(4) 自动调节体温能力较差,饲养最适温度为18~22℃。

(5) 体内缺乏古洛糖酸氧化酶,自身不能合成维生素C,必须补充青绿饲料。

二、主要品种和品系

豚鼠按毛的长短可分为短毛、长毛和刚毛豚鼠3种。一般实验用豚鼠多为短毛豚鼠。

1. 英国种 亦称荷兰种。我国使用的多为此种封闭群。其特点是毛短而光滑,毛色有白、黑、棕、灰、淡黄、巧克力等单色,也有白黑双色或白、棕、黑3色。此品种生长快,抗病力强,繁殖性能好。

2. 近交系 最广泛使用的近交系2和13是美国培育的近交系,1950年由美国国立卫生研究院(NIH)分赠给世界各地。毛色为黑棕白3色。对结核杆菌抵抗力强,具有结合的GPL-AB.1抗原,血清中缺乏诱发的迟发超敏反应因子。

三、生物学中的选择应用

(一) 免疫学研究

豚鼠血清中含有丰富稳定的补体,是所有实验动物中补体含量最多的实验动物,免疫学所用补体多来源于豚鼠。

由于致敏的豚鼠再次接触抗原会引起支气管平滑肌收缩甚至引起死亡,因而可用于研究速发型过敏性呼吸道疾病。

(二) 传染病研究

豚鼠对多种病原体敏感,可用于病原的分离、鉴别、诊断和各种抗结核病药物的筛选。

(三) 药理学

豚鼠妊娠期长,适用于药物或毒物对胎儿后期发育影响的试验。豚鼠对多种抗生素类药物非常敏感,是研究抗生素和青霉素的动物模型。还可用于研究

麻醉药及镇咳药的药效实验。

(四) 营养学

豚鼠体内不能合成维生素 C, 对其缺乏十分敏感, 是研究实验性坏血病的理想动物模型。也可用于叶酸、维生素 B₁ 和精氨酸的生理功能, 酮性酸中毒, 眼神经疾病的研究。

(五) 耳科学

豚鼠听神经对声波特别是 700 ~ 2 000 Hz 的纯音最敏感, 常用于听觉和内耳疾病的研究。如噪声对听力的影响, 药物对听神经的影响等研究。

四、饲养管理

饲养管理要求如下:

(1) 饲养环境应保持安静, 控制噪声。不应频繁将雌鼠迁往新笼舍。

(2) 豚鼠饲养室应建立严格的清洁卫生制度。每周换两次垫料, 每周刷洗食具一次, 室内要定期消毒, 每季应彻底消毒一次。清洁级以上动物应按国家标准严格进行微生物控制。

(3) 豚鼠应有独特的饲料配方, 有人用兔料代用。在饲喂中一定要注意维生素 C 的补给。需要量为 1 mg/100 g 体重, 怀孕时为 10 mg/100 g 体重。

(4) 豚鼠对外界环境变化敏感, 自动调节体温的能力较差, 如过冷或过热都易诱发疾病。最适饲养温度为 18 ~ 22 °C。

(5) 豚鼠可采用池养方式, 池高 40 cm 不需加盖, 池内垫小刨花, 垫料不宜过碎, 以免粘在生殖器黏膜上影响交配。垫料每周应换 1 ~ 2 次。塑料盒、托盘式笼架是用于繁育豚鼠较好的笼具。二级以上动物饲养应在相应的屏障设施内。

(6) 豚鼠一般采用 1 雄, 3 ~ 6 只雌鼠长期同居法, 这种方式可提高胎次, 但分不出亲子关系。另一种是一雄一雌定期同居交配, 怀孕后将雌鼠移出。

第四节 家 兔

兔属哺乳纲, 兔形目, 兔科, 真兔属。生物医学研究应用的家兔是由野生穴兔经过驯化而育成, 多为欧洲兔的后代。染色体 $2n = 44$ 。

一、生物学特性

(一) 一般特性

一般特性为:

(1) 草食性动物,性情温顺,群居性差,适于单笼饲养。

(2) 听觉、嗅觉十分灵敏,胆小怕惊。能凭嗅觉辨别非亲生仔兔,并拒绝给其哺乳。

(3) 家兔厌湿喜干,怕热,由于汗腺不发达,当气温超过 30℃ 以上或湿度过高时,易引起母兔减食、流产、拒乳。

(4) 夜行性嗜眠性,白天家兔表现安静,常闭目睡眠,夜间十分活跃,采食量占全天的 75%。若使其仰卧,全身肌肉松弛,顺毛抚摸其胸腹部并按摩太阳穴时,可使其进入睡眠状态。

(5) 有食粪特性。正常兔粪有两种,一种是常见到的圆形颗粒硬粪,另一种是表面附有黏液的小球状的软粪。软粪在晚上排出,含有较丰富的粗蛋白和维生素,家兔往往直接从肛门吞食软粪。食粪行为是一种正常的生理现象。

(二) 解剖学特点

解剖学特点为:

(1) 全身骨骼共 275 块,肌肉 300 多条。肌肉总重占体重的 35%。表皮薄,真皮较厚。被毛的颜色和长度常可作为识别品种主要特征。

(2) 口腔小,上唇分开。齿式分 2(门 2/1,犬 0/0,前臼 3/2,臼齿 3/3) = 28。唾液腺有 4 对,即腮腺、颌下腺、舌下腺和眶下腺。家兔为单胃,小肠和大肠的总长度约为体长的 10 倍。盲肠非常大,占腹腔的 1/3。在回肠和盲肠的交接处有圆小囊,是兔特有的免疫器官。囊壁富有淋巴滤泡,其黏膜不断分泌碱性液体,可以中和盲肠中微生物分解纤维素所产生的各种有机酸,便于消化吸收。

(3) 雄兔睾丸可以自由地下降到阴囊或缩回腹腔。雌兔为双子宫类型,不分子宫体和子宫角,分别开口于单一的阴道。乳头有 3~6 对。

(4) 兔的胸腔中,纵隔将胸腔分左右两室,互不相通。暴露心脏时,动物不需作人工呼吸。颈神经血管束减压神经易于分离,其末梢分布在主动脉弓血管内,属于传入性神经。

(三) 生理学特点

生理学特点为:

(1) 家兔属恒温动物,正常体温在 38.5~39.5℃ 之间,对致热物质反应敏感,适于用作热原试验。汗腺不发达,在高温环境下主要通过浅而快的喘式呼吸和耳部血管扩张来散热,维持体温恒定。适宜的环境温度因年龄而异,初生仔兔窝内温度为 30~32℃,成年兔为 (20±2)℃。

(2) 仔兔初生无毛,眼睛紧闭,耳闭塞无孔,趾趾相连,体重约为 50 g,3~4 日龄即开始长毛,4~8 日龄脚趾开始分开,6~8 日龄耳出现小孔与外界相通,10~12 日龄睁眼,出巢活动,21 日龄左右即能吃饲料,30 日龄左右被毛形成。家

兔在正常生命活动中有两种换毛现象,一种是年龄性换毛,一种是季节性换毛。

仔兔 30 d 乳毛长齐,到 100 d 左右第 1 次脱换乳毛,130 ~ 190 d 开始第 2 次换毛,此次换毛就意味着发育到成年,通称为年龄性换毛。

季节性换毛指每年春秋两季均有一次换毛现象,换毛期间兔抵抗力差,易发疾病。

(3) 属刺激性排卵动物,交配后 10 ~ 12 h 排卵,性周期一般为 8 ~ 15 d,无发情期。只有待雄性家兔交配动物刺激后,卵细胞才能移到输卵管内,准备接受精子,否则卵细胞在卵巢内被吸收消失,称诱导排卵。一年四季均可交配繁殖,妊娠期为 30 ~ 33 d,产仔数为 4 ~ 10 只,哺乳期 40 ~ 45 d。生育年龄为 5 ~ 6。平均寿命为 8 年。

二、饲养管理

实验兔的饲养要求按兔群的微生物学控制的等级提供相应的环境条件:

(1) 普通级兔开放饲养,要求兔舍通风干燥、安静、光线充足,冬暖夏凉,室温为 18 ~ 27 ℃。清洁级以上兔应饲养在相应的屏障系统内,并建立检疫、消毒、检测制度。

(2) 为保证动物质量,必须提供全价营养饲料。饲喂时定时定量,一般每日 2 次,3 个月内的幼兔少喂勤添。育成兔日粮量为 150 g,妊娠兔为 180 g,饮水自由摄取。

(3) 饲养管理过程中应作好各项记录。包括温度、湿度记录,个体记录,繁殖记录等。抓取应用右手抓住颈背部皮肤,左手托住臀部防止兔受惊挣扎。

(4) 家兔繁育生产程序(图 7-1):

1) 配种:按种群的血缘关系和供应计划编好交配组合表,每批应在 3 d 内交配完毕,这样可保证同批仔兔日龄不超过 1 周。半频密繁殖在产后 2 ~ 3 周再次交配;频密繁殖法在产后 3 ~ 4 d 内交配。每只兔交配后立即登记。

2) 妊娠诊断:在雌兔交配后 10 ~ 12 d 采用摸胎法进行诊断,怀孕兔在记录表上填入预产期,空怀的再编入下一批进行交配。

3) 分娩记录:按预产期提前 2 ~ 3 d(即交配后 27 ~ 28 d)准备好产箱放入笼内,放入产箱后每天检查一次,产后立即记录产仔日期、产仔数。如有特殊需要再记录初生体重,并按产仔多少在同批产仔雌兔间调剂代乳,寄养的仔兔需做好标志并记录。

4) 21 d 称重:一般仔兔在 21 d 龄开始采食饲料,育种学常把 21 d 龄的仔兔窝重作为衡量母兔泌乳性强弱的指标。

5) 离乳记录:一般采用半频密繁殖较多,仔兔在 6 周龄或 45 d 龄离乳;频

密繁殖时,仔兔在 28 日龄离乳。离乳时每只仔兔均按统一编码打上耳号和产期、同窝仔数、个体重、21 日龄窝重以及父、母号等一并记入仔兔登记表内。

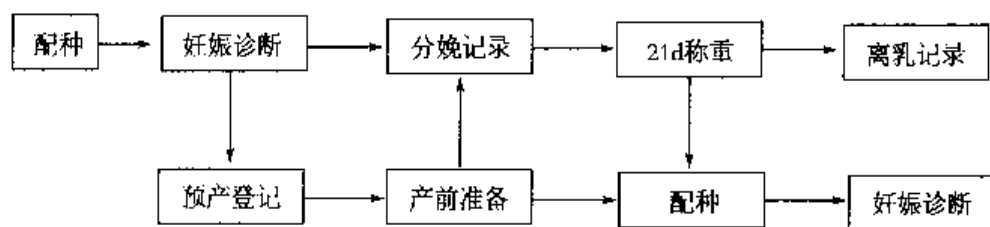


图 7-1 家兔繁育生产程序

三、主要品种和品系

实验用兔多达数十种,我国常用的为如下几种。

1. 日本大耳白兔 本兔毛色纯白,眼睛红色,头方形,四肢粗壮,耳大高举,形同柳叶。母兔颌下有肉髯。生长快,繁殖力强,成年体重为 4~8 kg。
2. 新西兰兔 新西兰兔毛色纯白,体健壮,头圆粗且短,耳厚竖立,繁殖力强,生长快,成年体重为 4~5 kg,性温顺,易于管理。
3. 青紫蓝兔 为法国育成的品种,每根毛可分为 3 段颜色,毛根灰色,中段白色,毛尖黑色。耳尖、尾、面部呈黑色,眼圈、尾底部及腹部为白色。耳一垂一竖,母兔颌下有肉髯。大型体重可达 4~6 kg。体健壮,耐寒,适应性强,生长快。
4. 中国白兔 中国白兔体型偏小、毛短而密,皮板较厚,头型小,耳短竖立。抗病力强,繁殖力强,易饲养。成年体重为 1.5~2.5 kg。

四、在生物医学中的选择应用

兔在生物医学中的应用列举如下:

- (1) 兔对细菌内毒素、化学药品、异种蛋白会产生热原反应,体温反应灵敏而恒定。广泛用于制药工业、人畜用生物制品等各类制剂的热源质检及发热解热机制研究。
- (2) 兔对许多病毒和致病菌敏感,可以建立天花、狂犬病、血吸虫、弓形虫等病的动物模型。兔血清产量多,可制备高效价和特异性强的免疫血清。
- (3) 兔颈部神经血管和胸腔构造特殊,可复制心血管病和糖尿病动物模型,例如高脂血症、主动脉粥样硬化、冠状动脉硬化、心律失常等病。
- (4) 家兔属刺激性排卵,雄兔的交配动作和注射绒毛膜促性腺激素 80~100 u 均可诱发排卵,可准确检测排卵时间并容易取得胚胎材料,常可用于避孕药研究。

(5) 家兔眼球大,是眼科研究中常用的动物。也可作口腔黏膜病、牙周病及整形材料毒性试验。

(周文江)

第五节 犬

犬属于脊椎动物门,哺乳纲,食肉目,犬科,犬属动物。作为家畜,犬的历史最长。自17世纪开始犬已被用于实验研究,被作为实验动物是从20世纪40年代开始的。为了科研的目的,已培育出数个品种专用于各类科学实验。

一、生物学特性

(一) 犬的一般生物学特性

犬的一般生物学特征如下:

(1) 犬有服从于主人的习性,能领会人的简单意图,听觉、嗅觉灵敏,反应敏捷,对外界环境适应能力强,易于饲养,可调教。能很好地配合实验研究的需要,但不合理的饲养及虐待会使其恢复野性。

(2) 犬为肉食性动物,善食肉类、脂肪和骨,也可杂食或素食。

(3) 犬的神经系统发达,能较快的建立条件反射。犬有多种神经类型,神经类型不同性格也不一样,用途也不同。雄犬喜斗,有合群欺弱的特点。

(4) 犬为单发情动物,多数在春秋季节发情,发情周期为13~19 d,发情期可持续6~10 d,妊娠期为58~63 d,哺乳期为60 d。

(5) 犬的品种多,个体差异大,寿命也因品种而异,一般寿命为10~20年。

(二) 犬的解剖与生理特征

1. 齿 犬的牙齿具备肉食动物的特点,大而锐利,能切断食物,出生后十几天开始换齿,8~10个月换齐,但1岁半后才能生长坚实。

乳犬齿式为2(门齿3/3,犬齿1/1,前臼齿3/3)=28;成年犬齿式为2(门齿3/3,犬齿1/1,前臼齿4/4,臼齿2/3)=42。

可参考犬齿更换和磨损情况来估计其年龄(表7-3)。

牙的磨损取决于饲料和好斗情况,因此在估计年龄时还要看饲养情况。喜啃骨头、啃咬以及好斗者牙磨损情况提早。

2. 骨骼 犬的头颅大多呈圆锥形,头骨连着7节颈椎、13节胸椎、9对真肋及4对假肋和一根胸骨,7节腰椎,3节脊椎融合成为骶骨,尾椎数量变化大,为8~22节,形成骨骼的纵轴,再加上四肢骨约为319块。犬无锁骨,肩胛骨由骨骼

肌连接躯体,后肢由股关节连接骨盆。阴茎骨是犬科特有的骨。

表 7-3 犬齿情况与年龄的对应

年 龄	牙齿情况
2 个月以下	仅有乳齿(白、细、尖锐)
2~4 个月	更换门齿
4~6 个月	更换犬齿(白、牙尖圆钝)
6~10 个月	更换臼齿
1 岁	牙长齐,洁白光亮,门齿有尖突
2 岁	下门齿尖突部分磨平
3 岁	上下门齿尖突部分都磨平
4~5 岁	上下门齿开始磨损呈微斜并发黄
6~8 岁	门齿磨成齿根,犬齿发黄磨损唇部,胡须发白
10 岁以上	门齿磨损,犬齿不齐全,牙根黄,唇边胡须全白

3. 内脏 犬具有发达的血液循环和神经系统,其内脏构造及其比例与人相似。

4. 生殖器官 雌犬生殖器包括卵巢、输卵管和子宫(双角子宫);雄犬的生殖器包括睾丸、附睾、输精管、前列腺等,无精囊和尿道球腺。

5. 汗腺 犬的皮肤汗腺极不发达,趾垫上有少量汗腺,散热主要靠加强呼吸频率,将舌头伸出口外以喘式呼吸,以加速散热。

6. 眼睛 视力因品种不同也有差异,一般说视力不发达,每只眼睛有单独视野,视角仅为 25° 以下。正面近距离是看不到的,这是由于犬眼的水晶体较大,眼睛测距性能差,视网膜上没有黄斑,因此没有最清晰的视觉点,一般视力仅在 20~30 m,实验证明色感也差。

7. 听觉 灵敏,范围为 50~55 000 Hz。

8. 嗅觉 嗅神经极为发达,鼻黏膜布满神经末梢,曾有人实验证实,犬的嗅觉能力超过人 1 000 倍以上。一般说按体型比例,鼻尖离嗅脑越远,则嗅觉能力越强。通常鼻尖湿润,触之有凉感。

二、饲养管理

为了动物实验的顺利进行和得到预期的实验结果,或者是繁殖犬能够正常繁殖出健康的仔犬,并正常生长发育成为合格的实验用犬,严格科学的饲养管理是极为重要的。

(一) 犬舍要求

1. 散养式(有运动场式) 饲养区可选择远离住宅和教学区的地点,以防止

互相干扰。一般分室内、室外两部分。室外是运动场,由隔墙分开。此种设施宜饲养生产犬、待用犬及慢性实验观察期犬,一般犬群不宜超过 10 只。

2. 笼养式 在室内采用高 80 cm、宽 80 cm、长 100 cm 的铁丝笼或不锈钢管笼饲养,可采用双层。此方式宜饲养仔犬和实验期犬。

犬饲养室或场要在相对独立的区域,每室及走廊都要有门,防止犬逃跑。

(二) 清洁工作

清洁工作是饲养管理及实验成功的重要因素之一。清洁工作包括犬舍、食具和犬体的清洁。

(三) 喂饲及营养

实验犬的喂饲要做到定时、定量、定质。成年犬一般每日 2 次,生产母犬或幼犬每日 3 次;每日按体重 4% 的量供应;饲料的营养必须符合相应的国标;供应清洁的饮水任其自由饮用。

(四) 调教与捕捉

要加强种犬和实验犬接触,利用条件反射的原理调教犬,以达到实验犬能配合饲养或实验的要求。在捕捉和保定犬时尽量使用手和链子,少使用犬钳或套杆,但要注意防止伤害犬,经钳过的犬要再调教比较困难。

(五) 实验犬的输入和检疫

对来源不明的实验犬必须加强检疫工作,首先犬必须来自于非疫区,并有当地兽医站的检疫证明,进入实验室或饲养场前先进行驱除体外寄生虫,然后注射狂犬病疫苗(或包括狂犬病的五联、六联和七联疫苗)和驱除体内寄生虫,并隔离观察 3 周后无异常才可供实验使用。

三、常用品系及其在生物医学中的应用

(一) 常用品系

犬的品种繁多,世界上犬的品种近 300 多种,但专用于实验的品种并不多,许多实验仍采用民养的杂种犬,国际上用于医学研究的犬主要有下述几种。

1. 毕格犬(Beagle) 毕格犬原产英国,是猎犬中较小的一种。我国从 1983 年引入并繁殖成功。毕格犬是近代培育成的专用实验犬,被国际公认,广泛地用于实验研究。它具备下列特点:性情温顺,易于调教和抓捕,体型小,利于实验操作,遗传性能稳定,实验重复性好,实验中反应的一致性好。

2. 四系杂交犬 该犬是一种外科手术用犬,由两种以上品系犬进行杂交而成。

3. 黑白斑点短毛犬 该犬可进行特殊的嘌呤代谢研究以及白细胞减少症、青光眼、白血病、肾盂肾炎等疾病的研究。

4. Labrador 犬 该犬一般用作实验外科研究。
5. 墨西哥无毛犬 可用于特殊研究,如作粉刺或黑头粉刺的研究。
6. Boxer 犬 此犬可作为红斑结节狼疮和淋巴瘤研究用。

(二) 犬在医学生物学研究中的应用

犬在医学生物学研究中的应用如下:

- (1) 实验外科学;
- (2) 基础医学实验研究;
- (3) 人类传染性疾病研究;
- (4) 药理学和毒理学研究;
- (5) 其他疾病研究。

第六节 猪

猪属偶蹄目,野猪科,猪属。猪由于在心血管、消化器官、免疫系统、泌尿系统、上皮组织,以及在解剖、组织、生理和营养代谢等方面与人极为相似,因此猪成为研究人类疾病重要的实验动物。但猪的个体大,不利于实验处理和管理,人们为了便于饲养管理和实验,培育了小型猪,到目前为止已培育了不少有价值的品系。

一、生物学特性

1. 一般特性 猪为杂食动物,喜群居,性格温顺,易于调教,嗅觉灵敏,对外界温度和湿度的变化较敏感,既怕冷又怕热。

2. 解剖学特点 猪在解剖学上比其他哺乳动物更类似于人。不仅具有与肉食动物同样发达的门齿和犬齿,齿冠尖锐突出,便于食肉;同时也具有与草食动物同样发达的臼齿,齿冠有台面,上列横纹,便于食草。吻突发达,肺及肝均分5叶,单胃,消化器官发达。颈椎7节,胸椎13~16节,腰椎5~6节,荐椎4节,尾椎21~24节。

3. 生理学特点 唾液腺发达,可分泌含量较多的唾液淀粉酶;胃肠能分泌各种消化酶;胆囊浓缩胆汁的能力低;初生猪体内没有母抗体,只能从初乳中获得。盲肠中有少量共生的有益的微生物,能广泛地利用植物性、动物性和矿物质饲料。

4. 繁殖特性 猪为常年发情的多胎动物,性成熟早,我国地方猪种一般在3月龄左右达到性成熟,发情周期21~31d,妊娠114d,平均每胎产仔10只左右。

二、饲养管理

猪生长的适宜温度为 18 ~ 25 ℃,相对湿度为 40% ~ 60%,猪舍要求冬暖夏凉,饲养人员每天认真换铺垫物,清扫洗刷猪舍。

繁殖用猪均采用公、母分圈单养,每圈面积为 6 m²。实验猪也宜采用单圈或单笼饲养。

猪饲料可采用全价配合饲料,但饲料中不得加入抗生素和激素类添加剂,每日供应清洁的饮水任其自由饮用。饲料量一般按体重的 2% ~ 3%,分 1 ~ 2 次供给。

对新购入的实验猪至少要经过 1 周的检疫,使其适应新的环境后才能进行实验。

三、常用品系及其在生物医学中的应用

(一) 常用品系

猪在生物医学研究中被选为很好的动物模型,现介绍目前常用的一些小型猪品系。

1. 国外小型猪品系

(1) 明尼苏达霍麦尔(Minnesota Hormel)小型猪:由美国明尼苏达大学从 1949 年开始经过 15 年选育而成的小型猪,是第 1 个小型猪品系。其初生重为 0.76 kg,6 月龄 22 kg,12 月龄 43 kg,48 月龄 86 kg。

(2) 皮特曼-摩尔(Pitman-Moor)小型猪:由美国皮特曼-摩尔制药公司育成的实验用小型猪。日本 1967 年从美国引入,用于日本脑炎、猪瘟、猪萎缩性鼻炎研究及皮肤、药理试验用。

(3) 亨浮德系(Hanford)小型猪:由美国俄亥俄州亨浮德研究所培育成,用于皮肤研究的实验用小型猪。

(4) 格廷根系(Gottingen)小型猪:由越南小型野猪与明尼苏达霍麦尔系小型猪杂交而成,简称 G 品系小型猪。目前用于催畸性试验、各种药物代谢、脏器移植、皮肤试验等领域中。

2. 我国小型猪品系

(1) 西双版纳近交系小耳猪;

(2) 贵州小型香猪;

(3) 广西巴马小型猪;

(4) 五指山小型猪;

(5) 李-宋种(Lee-Song)小型猪(台湾)。

(二) 在生物医学中的应用

猪在生物医学中的应用如下:

- (1) 人类活组织的供体;
- (2) 皮肤烧伤研究;
- (3) 糖尿病研究;
- (4) 心血管病研究;
- (5) 免疫学研究;
- (6) 肿瘤研究;
- (7) 畸形学和产期生物学研究;
- (8) 牙科研究;
- (9) 骨质材料的研究;
- (10) 外科手术方面的研究;
- (11) 其他方面的研究,如老年学、白血病、血友病等动物模型等。

第七节 非人灵长类实验动物

灵长类动物属哺乳纲,灵长目,分为原猴亚目和类人猿亚目。类人猿亚目又可分为阔鼻类和狭鼻类。原猴亚目主要分布于亚洲和非洲,阔鼻类分布于中、南美洲,又称为新大陆猴。狭鼻类分布于亚、非洲,又称为旧大陆猴。

一、生物学特性

1. 一般生物学特性 灵长类动物属热、亚热带动物,群栖于接近水源的林区。杂食,以植物果实、嫩叶、根茎为主,有的种类兼食昆虫。聪明伶俐,动作敏捷,好奇心和模仿力强,有较发达的智力,能操纵工具。

2. 解剖学特点 大脑发达,有很多脑回、脑沟。颈椎7节,有锁骨,胸椎、腰椎大多为19节,荐椎12节,假荐椎2~3节、尾椎13~15节。双眼并列位于头部正前方。有的灵长类动物有颊囊(猕猴类),有较长的手指和脚趾,前后肢的拇指(趾)与其他四指(趾)分开,可握物,掌面有多种不同的指纹和掌纹。乳房一对位于胸部,左右各一个,盲肠发达,单子宫,有性皮肤。

3. 生理学特点 体温白天为 $38\sim 39^{\circ}\text{C}$,夜间为 $36\sim 37^{\circ}\text{C}$;心率为 168 ± 30 次/分;呼吸数为40次/分;血压为 $16.0\pm 3.47\text{ kPa}/11.2\pm 1.60\text{ kPa}$;心率可随年龄增加而减慢。有月经现象,性皮肤在性活动期时发生肿胀,月经周期为28 d,每次行经2~3 d。

4. 繁殖特性 雄猴性成熟为2岁,体成熟为3~4岁,雌猴性成熟也为2

岁,体成熟为4岁,月经开始后12~13d排卵,妊娠期平均为165d,每次产仔1个,交配及受孕有季节性。

5. 免疫学特性 血型分两类,一类与人相似,分为A、B、O、Lewis、MN和Rh型等;另一类是猕猴特有的,有A^h、B^h、C^h、D^h等14个血型。这些血型抗原可产生同族免疫,在同种异体间输血时要做血型配合试验,但不发生新生儿溶血症和成红细胞增多症,因此,不必考虑同群中雌雄血型配合的繁殖问题。

二、饲养管理

刚进场的野生猕猴各方面均很不适应,发病率相当高。猕猴有许多传染病可以传染。为保证饲养人员和实验人员及猴群的健康,必须有严格的管理和科学饲养方法。

1. 饲料及食性 猴为杂食动物,以素食为主,有时吃一些动物性饲料,如牛奶、鸡蛋、昆虫等。调配的食物除满足日粮外,还要补充足够的新鲜蔬菜或水果。猴的主食为面粉、玉米粉、麸皮等,并添加一定比例的钙、磷、钾、钠和多种维生素制剂混合做成的窝头,为防止维生素C缺乏病的发生,应注意补充必需的维生素C。喂饲时,实行定时、定量、妥善安排餐次和喂饲时间。饲养过程中,要注意饲料、饮水、食具和饲养人员的卫生,以避免发生肠道疾病。

2. 饲养设备 实验猴一般多采用笼养方式,并有防止猴逃跑的有效装置,房间应宽敞、明亮通风。

3. 一般管理

(1) 捕捉保定:捕捉猴的一般方法是用捕猴网,较大猴可以用捕捉笼捕捉,实验猴可借助实验笼进行保定。

(2) 检疫和驯化:对新购入、新捕获及由其他猴场转入的猴都必须先进行检疫,检疫期一般需要1~3个月,检疫期间猴一律单笼饲养,检疫期内的猴不能用于实验,也不能和原猴群相混合。检疫内容主要包括:内外寄生虫检查、粪便检查、肝功能化验、血液检查、结核菌素试验、X线透视,及当地当时的疫情进行特定的病原性检疫等。在检疫中,发现有传染病,应立即隔离观察治疗,对病猴住的笼舍和各种用具都要进行严格消毒。

(3) 编号、记录、卡片:购入新猴对其来源、品种、性别、体重、特征、进入时间、特殊用途、曾患过的疾病史等,都必须有档案卡片和记录。

三、常用品系及其在生物医学中的应用

非人灵长类动物具许多生物学特性,与人极为相似,因此在生物医学的研究中用作实验动物最理想,是其他种类动物所无法代替的。猕猴类是使用最多的

一种,现介绍常用的猕猴品种。

(一) 常用品系

1. 恒河猴 最初发现在孟加拉的恒河河畔,故称恒河猴,在我国称广西猴。分布于中国、缅甸、泰国、尼泊尔、印度北部、孟加拉国、巴基斯坦等地。体重雄性为5.5~10.9 kg;雌性为4.3~10.7 kg。

2. 台湾岩猴 分布于台湾,体重雄性为10~12 kg;雌性为8~10 kg。

3. 熊猴 分布于中国、尼泊尔、缅甸、泰国、锡金、不丹、越南等地。体重雄性为10.4~12.7 kg;雌性较小。

4. 红面猴 分布于中国、缅甸、印度。体重雄性为11.7~12.0 kg;雌性为10.8~19.98 kg。

5. 日本猴 分布于中国、日本。体重雄性为11.6~18.0 kg;雌性8.3~16.3 kg。

6. 平顶猴 分布于印度、缅甸、泰国、马来西亚、苏门答腊。体重雄性为10.0~14.5 kg;雌性为4.5~10.9 kg。

7. 狮尾猴 分布于印度半岛。体重雄性为6 kg;雌性为5 kg。

8. 戴帽猴 分布于印度半岛。体重雄性为8 kg;雌性为4 kg。

9. 食蟹猴 又称爪哇猴,分布于印度、缅甸、泰国、马来西亚、苏门答腊、爪哇、加里曼丹等地。体重雄性为8 kg;雌性为5 kg。

(二) 在生物医学中的应用

猴在生物医学中的应用如下:

(1) 传染病学研究:病毒性、细菌性疾病和寄生虫病的动物模型。

(2) 营养性疾病研究。

(3) 遗传性疾病研究。

(4) 血管粥样硬化症研究。

(5) 老年病研究。

(6) 行为学和精神病及神经生物学研究。

(7) 内分泌病研究。

(8) 生殖生理研究。

(9) 环境卫生公害研究。

(10) 药理学和毒理学研究。

(11) 畸胎学研究。

(12) 肿瘤学研究。

(周文江 杨伟敏)

第八章 人类疾病动物模型

第一节 疾病动物模型概念及意义

一、定义

人类疾病动物模型(animal models for human disease)是指为生物医学研究而建立的,具有人类疾病模拟表现的动物实验对象和相关材料。在生物医学研究过程中,由于客观条件的限制,人们经常要借助动物实验的方法来进行动物模型研究。人类疾病实验动物模型作为人类相关疾病的研究对象和试验基础,人们可以通过它进行生命的反应特征、各类疾病的发生机制和发展规律、疾病疗效的观察及治疗药物的筛选等基础和临床实验研究,以寻找预防治疗疾病的有效措施。借助人类疾病动物模型的间接研究,人们既可克服疾病临床研究的各种困难和限制,又可避免直接进行人体实验在伦理道德和方法学上面临的许多问题。众多医学实践已经证明,人类许多医学知识的获得和现代医学的进步都与疾病动物模型研究密切相关。因此,疾病动物模型已经成为现代医学领域具有独特地位且不可缺少的重要实验对象,它在医学研究中具有良好地应用前景和实用价值。

随着人们对人类疾病动物模型的大量使用和不断研究,日前在模型制作和分类方面已建立了大家公认且比较完善的方法和理论。按照模型制作方法和应用范围,通常可将动物模型分为疾病动物模型(自发性疾病动物模型、诱发性疾病动物模型)、抗疾病动物模型、生物医学动物模型、转基因动物模型及免疫缺陷动物模型几类。本章根据实际情况简要介绍一些基本概念、动物模型的使用意义及一般制作方法,对于特定疾病动物模型的具体制作过程和实用性,仍需使用者查阅有关文献,反复实践。

二、使用疾病动物模型的意义

(一) 避免在人身上进行实验带来的风险

由于道义上和伦理上的原因,某些研究如外伤、中毒、肿瘤等很难在临床上

进行重复试验。生命科学的不断进展,今天已不再需要神农尝百草,许多科学数据的收集不是冒险精神所能代替的。我们可以把动物作为人类的替难者,在人为设计的特定实验条件下反复观察。例如各种药品、生物制品、化妆品等投放市场前必须通过相应的临床前研究及“三致”试验。

(二) 在方法学上可增加实验材料的可比性

除传染病外,许多疾病很难在临床上获得大量的定性材料。动物模型不仅在群体数量上易得到满足,而且可以通过对选择某一品种、品系和一定年龄、性别的动物,以及投服特定剂量的药物或移植一定数量的肿瘤细胞,人为地限定可变性,使实验条件尽可能趋于一致,从而提高实验材料的可比性,增加实验的可重复性。

(三) 简化实验操作和样品收集

动物模型作为人类疾病的“缩影”,便于研究者按课题设计需采集各种样品,及时或分批处死动物收集标本,以了解疾病全过程。这在临床上是办不到的。实验动物具有生命周期短,对疾病治疗反应快的特点,培育过程中向小型化发展的趋势都有利于实验者日常管理和实验操作。

(四) 可提供发病率较低的疾病材料

一般说遗传性、免疫性、代谢性和内分泌、血液等疾病在临床上发病率较低。此外,对于麻风病、获得性免疫缺陷综合征(AIDS)等潜伏期较长的疾病,使用动物模型将有利于疾病的早期防治进行研究。

(五) 有助于更全面地认识疾病本质

某些病原体不仅可引起人类感染,还会使多种动物发生疾病。机体各脏器的表现也可能各有特点。通过对人兽共患病的比较研究,可充分认识到同一病原体在不同机体内引起的损害,从而更全面地认识疾病的本质。

三、实验动物模型的评价

建立实验动物模型的最终目的是为人类健康服务。因此,疾病模型研究结果的可靠程度决定于动物模型与人类疾病的相似或可比拟的程度。实用价值高的动物疾病模型应具有以下几个特点:① 疾病表现应与人类疾病有类似之处,尽可能再现所要研究的人类疾病,相似性要多。② 动物模型的可利用性应表现在能否重复复制,最好能在两种动物体上得到证实,重复性一定要好。③ 所选动物的背景资料要完整,动物生命史能满足实验需要,可靠性要强。④ 模型动物应符合经济而来源充足,实验过程中应便于操作,有较好的经济性和可利用性。⑤ 模型动物的体积不宜过大,易获得标本,以便于更多研究者使用,适用性要好。一般来讲,符合以上5个特点的疾病动物模型它的实用价值较高,有较好

的比较医学价值。此外,研究者应该明确设有一种动物模型,能完全再现人类疾病的真实情况,动物体毕竟不是人体的真实摹本。复制疾病动物模型只是一种间接研究的手段,它只可能在某个局部方面与人类疾病相似。因此,在评价和分析实验结果时必须充分了解模型实验结论只是相对的,最终必须在人体上得到验证。所以模型复制过程中一旦出现人类疾病不同的情况,必须分析差异产生的原因和性质,找出相平行的共同点,对实验结果作出正确评价。

第二节 诱发性疾病动物模型

诱发性疾病动物模型是通过物理、化学、生物等因素作用,人为地诱发动物产生某些类似人类疾病的模型。例如利用胸腺切除和X线照射 $[250 \times 10^{-2} \text{ Gy} (250 \text{ RADS}) \times 4]$ 使幼年大鼠产生免疫功能缺陷和自体免疫性甲状腺炎;口服黄曲霉素诱发大、小鼠肝细胞癌等。这类模型的优点是制作方法简单,短期内可复制大量疾病模型,实验条件比较简单,其他因素容易控制。但缺点是由于疾病是通过人为限定的方式而产生的,所以多数情况下与临床存在着一定的差异,况且很多人类疾病尚不能用人工诱发的方法复制,因此有一定的局限性。诱发性疾病动物模型在以往医学研究中应用较广,特别是在药理学、毒理学、肿瘤学和传染病学等方面已广泛被研究者所接受。

已知诱发性动物模型种类繁多,在此只能选择部分有关内容简略介绍。

一、肿瘤动物模型

其数量在诱发性动物模型中占首位。一般是利用致癌物质通过口服、注入、埋藏和涂抹等方式使动物发生肿瘤。1979年,Turusov报道能诱发小鼠肝脏肿瘤的化合物就有58种之多。目前常用的诱发方法是:

(1) 反复涂抹大鼠皮肤的致癌剂可用0.2%~0.5%乙酰胺基芴的丙酮液、0.3%~0.4%的多环烃和杂环芳香化合物溶液。

(2) 在饲料中混入致癌剂可用氨基联苯和乙酰胺基芴相关化合物(1.62 mmol/kg 饲料)、4-二甲基氨基二苯代乙烯及衍生物(0.22 mmol/kg 饲料)、氨基偶氮染料(2.0~2.5 mmol/kg 饲料)、0.1%氨基甲酸乙酯及衍生物。

(3) 供小鼠注射的致癌剂有氨基偶氮甲苯(200 mg,皮下注射5~10次)、氨基甲酸乙酯及衍生物(1 mg,每周腹腔注射)、鞣酸(1%~2%水溶液,每5 d皮下注射1次)、雌酮(200 μg 油液,每周1次皮下注射)。其他常用致癌物还有2-萘胺、二氧杂环己烷、乙酰胺、二烃基亚硝胺、四氯化碳油溶液等等。

诱发所产生的肿瘤可通过移植传代而培养出所需要的肿瘤细胞株。瘤株是

一种组织学类型和生物特性已趋稳定,并能在同系或同种动物中继续传代的肿瘤细胞模型。肿瘤移植于健康动物,相当于活体组织培养,可长期保存瘤种,供试验使用。实验中常用腹水瘤和实体瘤两种方式进行移植。对于会产生腹水的肿瘤,可将其一定数量的细胞注入受体动物腹腔形成腹水瘤或产生腹水。实体瘤移植也是在无菌条件下,把实体瘤切成2~3 mm块,植于受体动物皮下。

自体或同系动物肿瘤移植不产生排异现象。同种动物移植时可结合注射肾上腺皮质激素、抗肿瘤药物和适量放射线等方法降低宿主免疫排斥反应。异体动物肿瘤移植常用下列方法:①接种于皮下和黏膜下。优点是易观察,但排斥作用大,效果欠佳。②动物肿瘤移植于鸡胚尿囊膜。优点是较易存活,但人类肿瘤无成功报道。③人类肿瘤接种于大鼠、豚鼠、兔的眼前房。缺点是细胞不能传代。④移植于动物脑内。肿瘤生长快,但难度大,不易观察。20世纪60年代以来国外已建立可移植性人体肿瘤数百种,这些瘤株能防止由传代伴随的形态和功能的退化。1969年,Rygaard首次成功地将人类肿瘤移于裸小鼠,这为异种动物肿瘤移植开辟了新局面。由于裸小鼠免疫功能缺陷,所以是极为理想的肿瘤移植模型材料。

二、心血管系统疾病模型

(一) 动脉粥样硬化模型

常用兔、大鼠、犬、鸡、鸽和猴等动物。常用制作方法有4种:①目前采用最多的是高脂肪、高胆固醇饮食法。特点是死亡率低,可长期观察,但用时久。②静脉注射胆固醇,可用于筛选降胆固醇药物,缺点是与人体发病机制不同。③胆固醇皮下注入,局部形成肉芽肿。④胆固醇膳食并采用物理、化学、免疫方法使血管壁造成损伤。如静脉注射牛血清白蛋白或气囊导管损伤血管内皮细胞,以缩短复制时间。

1980年Wilson报道,雌性SD、Wistar大鼠喂致血栓饮食,4个月后20%~30%的动物发生心肌梗死,病变仅限于左心室壁和室间隔,血浆胆固醇和其他脂质升高,这是惟一仅通过饮食方法致大量心肌梗死的模型。

(二) 高血压模型

家兔的血压不够稳定,最常用动物是大鼠。通常以刺激中枢神经系统反射性引起实验性高血压或注射加压物质,以及分次手术牵扎肾动脉,诱发肾原性高血压。

(三) 心肌缺血、心肌梗死模型

可用电刺激家兔下丘脑背内侧核或手术阻断家兔、犬的冠状动脉系统。也有在犬、鼠和家兔皮下注射异丙基肾上腺素来复制模型的。

(四) 心律失常模型

给大鼠、兔、猫、犬注射乌头碱、洋地黄、肾上腺素等药物。也可从左心耳注射 $5\text{ }\mu\text{g}$, 使豚鼠发生 II 度以上的传导阻滞。有人用 40% 甲醛刺激上腔静脉根部与心房交界处, 使 P 波消失, 复制窦房结动物模型。

三、呼吸系统疾病模型

(一) 慢性支气管肺炎和肺气肿模型

常用甲醛、二氧化硫、烟草反复熏刺激, 或用流感病毒及流行杆菌滴鼻, 也可用木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白溶解酶注入气管等方法复制。有报道用 1% 三氯化铁水溶液 1ml 静脉注射家兔, 每周 2~3 次, 也可结合手术缩窄气管等方法。

(二) 哮喘模型

多数模型是由抗原激起的支气管痉挛, 缺乏人类非特异性呼吸道过敏反应。例如用 1:3 鸡蛋白加弗氏完全佐剂雾化可使豚鼠致敏。而一种 Basenji 犬和 Grey Hound 犬的杂交后代, 可对乙酰胆碱、组胺、柠檬酸等 10 种常见的空气过敏原显示呼吸道过敏反应。

(三) 硅沉着病模型

最常用的方法是向大鼠气管内注入石英粉。SPF 大鼠吸入二氧化硅 ($12\sim44\text{ mg/m}^3$) 后, 出现与人类肺泡蛋白质沉积病相似情况, 但不形成硅沉着病。

四、消化系统疾病模型

(一) 病毒性肝炎模型

黑猩猩和绒猴对甲型肝炎病毒具有易感性, 经口或静脉注射的途径接种甲型肝炎病毒, 可使其发病。在感染的肝细胞浆中检出病毒颗粒, 并自粪便中排出病毒颗粒, 在感染动物恢复期血清中也可找到相应抗体, 近年来我国学者发现甲型肝炎病毒可在红面猴中增殖。

尽管已在黑猩猩、长臂猿、狒狒、短尾猿及多种灵长类动物中发现人类乙型肝炎病毒抗体, 只有黑猩猩对人乙型肝炎病毒最易感, 因此是目前最理想的人乙型肝炎病的动物模型。近年来在某些动物如土拨鼠、北京鸭及地松鼠等血液中, 发现与人类乙型肝炎病毒相类似的病毒, 说明与人乙型肝炎病毒相似的病毒广泛存在于某些家禽及野生动物中, 故将该组相似病毒命名为 Hepadna 病毒。感染该组病毒的动物对于研究病毒特性具有重要价值, 并且也是研究人乙型肝炎病毒的复制及致病机制的动物模型。

（二）免疫性肝炎模型

慢性或迁延性肝炎患者体内存在着抗肝细胞抗体,1959年国外有人用肝组织悬液体加弗氏佐剂免疫豚鼠,成功诱发了肝细胞变性及坏死等病变。也有报道肝膜蛋白(LSP)加佐剂分次注射,使动物产生免疫性肝炎模型。

（三）消化道溃疡模型

一般靠投服利舍平、盐酸、亚硝基胍或电烙和禁食等方法诱发。1926年已有人报道胃黏膜对异性蛋白的过敏可引起胃溃疡。1981年报道,2月龄以上非洲啮齿类 *praomys* 经卵蛋白致敏有较高发病率。

（四）胰腺炎模型

在年轻雌性小鼠中加入乙硫氨酸造成胆碱缺乏诱发出血性胰腺炎,也可用病毒感染来复制胰腺炎模型。

（五）糖尿病模型

常用动物是大鼠、兔、犬。方法是手术摘除胰腺,但缺点是与人类发病情况不同,并发症多。也可静脉或腹腔注射四氧嘧啶,但并发症多,易死亡。有报道蚕蛹作饲料使氧化不饱和脂肪酸过多而致鲤鱼糖尿病,而维生素E可预防发病。

五、神经系统疾病模型

（一）脑瘤模型

可用甲基胆蒽等致癌剂埋于皮层,或用肿瘤移植的方法复制脑肿瘤。

（二）脑囊状动脉瘤

常用壁内注射溶液或静脉囊镶嵌,也可结扎一侧或双侧颈总动脉,同时佐以升血压措施,并喂 β -氨基丙腈以增加血管脆性。

（三）脑卒中模型

常用显微外科手术结扎大鼠、猫、犬的大脑中动脉或自凝血块注入颈内动脉引起梗死。

（四）癫痫模型

给家兔肌肉注射马桑内酯或噪声刺激大鼠等方法常用作复制癫痫模型。

（五）脑水肿模型

于颈内动脉内注入伤寒内毒素制作急性模型或外力作用引起外伤性脑水肿模型。脑积水模型常用流感、蓝舌等病毒诱发。给荷兰Belted兔喂以限止维生素A(Vit A)的饮食后,可获脑积水仔兔。

第三节 自发性疾病动物模型

自发性疾病动物模型是取自动物自然发生的疾病,或由于基因突变的异常表现通过定向培育而保留下来的疾病模型。例如老年叙利亚地鼠出现动脉血栓率高达73%;12月龄时STR/IN雄性小鼠均产生骨关节炎。这类模型的优点是在一定程度上减少了人为的因素,因此更接近于自然发病的人类疾病。缺点是日前所发现的疾病数量较少,疾病动物难以饲养,因此培育费时、专业性强。近年来许多学者对自发性动物模型发生浓厚的兴趣,在遗传病、代谢病、免疫缺陷病、肿瘤等方面的应用正日益增多。应该指出,很多自发性疾病动物在饲养过程中往往被作为劣质动物而淘汰,通过分析和定向培育,人们可能从中获得更多的疾病材料。

一、肿瘤模型

动物种属、品系不同所发生肿瘤的类型和发病率也各不相同,此现象各种文献中均有报道。

纯系动物中有一些肿瘤高发品系,对人类肿瘤学研究意义很大。例如小鼠乳腺肿瘤多见于C3H、A/He、DBA/1、DBA/2,肺肿瘤多见于C3H、C3H₁、C3HeB,淋巴网状系统肿瘤多见于C58、AKR、C57L,血管内皮瘤见于HR/De、BALB/C、AKR品系,白血病发病率高达85%。

Wistar近交系大鼠多发白血病、垂体肿瘤;OM系大鼠多发乳腺肿瘤、肾上腺皮质肿瘤、卵巢肿瘤;Marshall(M520)系大鼠有肾上腺髓质肿瘤;SD系大鼠多发乳腺肿瘤。Gordon等报道一种扁鱼与剑尾鱼杂交株有遗传性恶性黑色素瘤倾向,Sinclair猪高发黑色素瘤,1岁时发生率达85%。

二、心血管系统疾病模型

大多数自发性高血压大鼠、小鼠模型是经过近交系交配而获得的。小鼠高血压品系有BALB/cJ[平均收缩13.7kPa(103mmHg)]、SWR/J[14.7kPa(110mmHg)],另有一些低血压小鼠品系可供对照,如A/J[10.9kPa(82mmHg)]、C3HeB/FeJ[9.6kPa(72mmHg)]。为了便于观察血压变化,应用最多的是大鼠高血压模型,常用品系有以下几种:①SHR(自发性高血压品系),血压高达[26.7kPa(200mmHg)]以上,似人的原发性高血压症,外周阻力明显增高,血压升高与年龄和嗜盐有关,并常见心血管并发症。②SHRSP(脑卒中易发型高血压品系),为SHR的亚系,血压升高较明显,且易发脑出血、脑栓塞。③SHR(Munster品

系),与嗜盐关系不大,但心脏肥大出现得较早。④ MHS(Milan 高血压品系),是惟一与容量因素有关的品系,有轻微高血压,与嗜盐关系不大,心脏肥大也出现较早。

大鼠高血压品系还有 SR、DS、SBH、LH、GH 等。鸡、火鸡、兔、犬也见高血压症,但较少用作自发性高血压模型。

自发性动脉粥样硬化见于兔、鸽、猴、猪等。发病率一般随年龄而增高,Gitlin 等 1954 年发现 3 年以上的猪有 16%~35% 有动脉硬化斑块,且伴有冠状动脉硬化,左侧冠状动脉病较右侧更为严重。

三、内分泌系统疾病模型

C57BL/KSJ-db 及 KK 近交系小鼠易发糖尿病。1905 年 Lang 等人报道幼年豚鼠糖尿病模型。目前使用最广的是 BBWistar 大鼠,按发病情况一般可分为 6 级,大鼠约在 85 日龄左右表现症状,发病率为 50%~70%。由于是以胰腺 β 细胞受损失为标志的敏感胰岛炎,其症状表现为高血糖、糖尿症、酮尿症、酮症、胰岛素缺乏、高血糖素亢进、体重下降,发病后需用胰岛素维持,与人类糖尿病极为相似。

1977 年,Valtin 发现 Brattleboro 大鼠有神经源性尿崩症,饮水量为正常鼠的 10 倍,注射抗利尿激素可减轻临床症状。隐性突变侏儒小鼠(dw/dw)生后 7 d 出现症状,也是临床所欢迎的动物模型。

四、消化系统疾病模型

大鼠、小鼠、地鼠由于牙结构不同于人,一般不作为牙周病模型,Beagle 犬牙龈对牙斑的反应与人相似,研究中较灵长类应用得更多。慢性胰腺炎多发于中年以上的肥胖犬和猫。消化道自发性溃疡见于牛、犬等。1964 年, Mugganfur 报道 3 753 只猪的解剖材料,60% 胃部有损伤,有 85% 发生在胃的食管端。1967 年,Williams 发现 80% 高月龄 NIB 小鼠有自发性慢性十二指肠溃疡。

五、神经系统疾病模型

曾报道地鼠、兔、犬有先天性脑积水。BN 和 C57BL/6JN 系小鼠由于第 4 脑室异常而引起双侧脑室扩大,是一种脑积水症的模型。平脑症动物的脑沟回消失,曾在多种哺乳类动物中发现,最多见于松鼠猴。另报道有一种犬,由于浦肯野细胞活力进行性衰退,常于出生后第 3~6 周出现小脑变性的各种症状。

亚急性坏死性脑脊髓病见于小鼠、兔。1975 年, Hegreferg 报道一种遗传性猫神经系统疾病,出生 2~4 周时后肢及尾出现轻微震颤,继而进行性发展至躯

干部和头部,常于10~12周死亡。犬、狒狒、沙土鼠、兔和小鼠均可出现特发性癫痫。隐性基因突变(tg)小鼠有间隙的局灶性癫痫发生,3周龄后更明显,并常出现持续性发作,是癫痫研究的较好模型。

六、泌尿系统疾病模型

Robinson 和 Dennis 1980 年整理了动物自发性肾功能缺陷疾病模型,并与人类肾脏疾病进行了比较。Leinei (1966~1968)发现增生性肾小球肾炎在尸解绵羊和山羊中有较高的发病率。1974 年,Poskett 在成年猴尸中用组织学和荧光免疫技术观察到 41% 有典型的原发性肾小球肾炎病变。在犬、猫等动物中也有类似发现,小鼠继发性肾小球肾炎见于多种疾病,包括自体免疫性疾病、糖尿病、LCM 和 LDM 病毒感染等。自体免疫性疾病合并肾小球肾炎见于一般 New Zealand 小鼠和 NZB 和 NZW 的杂交 F1 代小鼠,病情与人类十分相似,呈进行性发展,直至肾功能衰竭;对研究环境及遗传因素与全身性的红斑狼疮的关系有一定价值。

七、血液与造血系统疾病模型

人类巨幼细胞贫血是药物诱导或因叶酸、维生素 B₁₂ 缺乏所造成,均系 DNA 合成缺陷的结果。Thompson (1971) 分离出两株对温度敏感的变异小鼠 L 细胞 tsAISg 和 tsC,随温度改变而出现细胞形态和染色体复制异常,非常适合于研究细胞周期中生物化学和形态学之间的相互关系。

人类遗传性低色素贫血有 3 种相似的啮齿类动物模型,它们是小鼠性联贫血(基因符号是 sta)、小鼠遗传性小细胞贫血(mk)和 Belgrade 大鼠贫血(b)。1979 年 Kaplow 报道了一种可移植的豚鼠 L₂C 白血病。其他模型还见于小鼠 α -球蛋白生成障碍性贫血(α -地中海贫血)和 RF 小鼠粒细胞白血病、犬遗传性溶血性贫血和原发性红细胞增多症、猫急性原淋巴细胞白血病和再生障碍性贫血、F344 大鼠大颗粒淋巴细胞白血病等。

第四节 免疫缺陷动物模型

免疫缺陷动物模型是指由于基因突变的异常表现或人工方法造成动物免疫系统部分或完全缺陷的动物疾病模型。从理论上讲,免疫缺陷动物模型包括了诱发性 and 自发性动物疾病模型的两种表现形式。由于以裸小鼠和裸大鼠为代表的自发性免疫缺陷动物的众多优点和良好的实用性;目前,用人工方法诱发的免疫缺陷动物模型已经很少使用。以下介绍几种常见的免疫缺陷动物模型。

一、T 淋巴细胞功能缺陷的动物模型

1962 年, 苏格兰医师 Dssacson 和 Cattanaeh 首先发现一种全身无毛的小鼠, 后来证实是由于基因突变而造成的, 并伴有先天性胸腺发育不良, 称为裸小鼠 (nude mice)。1966 年, Feanagan 经多方面研究, 确定裸小鼠的 nude (nu) 基因位于第 11 对染色体上, 1969 年, 丹麦 Rygaard 教授首先将人体结肠癌移植裸小鼠成功, 为免疫缺陷动物研究和应用开创了新局面。

裸小鼠的一般特征是毛发缺失, 随鼠龄增加皮肤变薄, 头颈部皮肤皱褶, 发育迟缓。其免疫学特征为胸腺缺损, 在妊娠 14 ~ 15 d 可见少量胸腺痕迹器官, 并非完全无胸腺, 胸腺依赖细胞明显减少或缺失。裸小鼠 B 淋巴细胞数正常, 但功能欠正常, 免疫球蛋白主要是 IgM, 只含少量 IgG。因为 IgG 产生需要 T 淋巴细胞与巨噬细胞参与下的胸腺依赖抗原的刺激。裸小鼠 NK 细胞活力增强, 1979 年, Fogh 证明抑制裸小鼠 NK 细胞的活性可促进肿瘤生长。裸小鼠不高发肿瘤可能与 NK 细胞的作用有关。故肿瘤移植时要注意鼠龄的选择。由于免疫功能的缺陷, 裸小鼠易患鼠肝炎和病毒性肺炎等疾病。

裸小鼠与人类新生儿胸腺发育不全或 Digeorge 综合征极为相似。后者胸腺发育不全, 且淋巴结皮质周围区明显缺失, 但毛发不缺失, 是一种特发性疾病, 无家族倾向性。在应用裸小鼠移植人类肿瘤研究方面, 目前我国已建立了大量的肝癌、脑胶质瘤、肺癌、胃癌、鼻咽癌、肠腺癌、黑色素瘤等可移植肿瘤模型。

1953 年, 英国 Rowett 研究所首先在远交大鼠群中发现突变的无胸腺裸大鼠, 因在普通环境下饲养, 故仅维持了 15 ~ 16 代。1975 年再次发现纯合子裸大鼠, 证实属常染色体隐性遗传, 基因符号为 mu; 1977 年英国 MRC 实验动物中心建立了裸大鼠种群; 1978 年 Festing 首次详述了裸大鼠人癌异种移植; 1976 年, 新西兰的维多利亚大学发现另一株裸大鼠; 1979 年 Me Neilage 对其作过详细报道, 基因符号为 Nznu, 但目前较多文献采用 mu 裸大鼠。

裸大鼠的免疫器官组织学与裸小鼠极为相似。3 周龄大鼠纵隔连续切片中只见胸腺残体, 未见淋巴细胞, 淋巴结副皮质区实际上也无淋巴细胞, T 淋巴细胞功能极其缺陷, B 淋巴细胞功能基本正常; NK 细胞活力增强, NK 细胞活性的加强与干扰素的水平有关。

裸大鼠一般特征似裸小鼠, 在肿瘤移植中, 以裸大鼠代替裸小鼠具有移植瘤大、取血量多、可行某些外科手术之优越性。裸大鼠作为 T 淋巴细胞功能缺陷的动物模型也有着广泛的应用前景。

利用育种技术可将裸鼠基因 (nu 或 mu) 导入不同品系的动物。1978 年, Hansen 报道 nu 基因已导入了 21 个近交系小鼠, 至今 mu 基因导入不同品系大

鼠已达 10 余种,而不同品系的裸鼠具有不同的生物学特征。

此外,T 淋巴细胞缺陷的动物还见于牛(Beummerstedt, 1978)和豚鼠(O'Donoghue and Reed, 1981)。垂体功能减退的侏儒(dwarf)小鼠,其隐性基因 dw 位于第 16 对染色体、胸腺发育不良,T 淋巴细胞功能受损,是研究内分泌和免疫系统关系的良好模型。

二、B 淋巴细胞功能缺陷动物模型

CBA/N 小鼠起源于 CBA/H 品系,特点是 B 淋巴细胞功能减退,为 X 链隐性突变系,基因符号为 xid。1972 年,Amsdaugh 等人报道该鼠对三型肺炎球菌多糖缺乏抗体反应。其杂合型雄鼠(xid/y)和纯合型雌鼠(xid/xid)对胸腺依赖抗原缺乏抗体反应,血清中 IgG₃ 和 IgM 低下。其免疫学特征与人类 Bruton 丙种球蛋白缺乏症和 Wiskott-Aldrich 综合征相似。本模型是研究 B 淋巴细胞的发生、功能和异质性最理想的动物模型。目前已培育出 B 淋巴细胞缺陷的小鼠已不少于 15 个品系。

单项球蛋白缺乏见于 Arabian 马和 Quarter 马(perryan, 1980),血清 IgM 几乎测不到,IgG、IgG(T)、IgA 和 C₃ 浓度正常,常反复感染,并可发生淋巴瘤。在人类除遗传性外还可继发于淋巴网状系统肿瘤。其他选择性蛋白缺乏见于 IgG₂ 缺乏的丹麦红牛(Nansen, 1972),IgA 缺乏的鸡(Luster, 1977)等。

X 链的 γ 球蛋白缺乏症见于雄性种马和 1/4 杂种马,特征是 B 淋巴细胞缺乏,机体无 IgM、IgA、IgG 和 IgG(T)极度低下,T 淋巴细胞正常。婴儿 X 连锁 γ 球蛋白缺乏症是人类 X 遗传的 6 种免疫缺陷病之一,迄今本模型是酷似人类本病的惟一动物模型。

其他免疫球蛋白异常血症见于犬、猫、兔、小鼠。人类多发性骨髓瘤或 Waldenstrom 巨球蛋白血症有单克隆 γ 球蛋白病,与模型动物有很多相似之处。

三、其他免疫细胞功能缺陷动物模型

Beige 小鼠为隐性基因突变系,由美国 Oak Ridge 研究所从经放射处理的小鼠中发现,基因 bg 位于第 13 对染色体上,以后又在美国 Jackson 实验室 C57BL/6J 品系中自发产生重复突变,再经回交培育成同源系 C57BL/6J-bgJ,毛色为淡灰色;特点是内源性 NK 细胞活力缺乏,中性粒细胞对细菌的杀伤作用降低,巨噬细胞间接作用肿瘤出现较晚,缺乏细胞毒 T 淋巴细胞反应,对同种异体肿瘤细胞的体液反应受损。亚细胞结构中可见异常肿大的溶酶体颗粒,有关其膜异常的本质尚不了解。其临床表现类似人类的 Chediak-Higashi 综合征。

1856 年已有人报道无毛小鼠,1924 年英国又发现无毛(hairless)小鼠,为第

14 对染色体上隐性基因突变,基因符号为 *hr*。出生 5 周龄时毛发基本脱光。*HRS/j-hr/hr* 小鼠高发淋巴瘤,伴有 T 淋巴细胞异常,10 月龄时 45% 出现胸腺淋巴瘤。

四、联合免疫缺陷的动物模型

Mothcatten 突变系小鼠在出生 2 d 内即可出现皮肤脓肿,有严重联合免疫缺陷,突变基因(*me*)位于第 6 对染色体上。免疫学特征表现在对胸腺依赖和不依赖抗原均无反应,对 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞分裂素的增殖严重受损,细胞毒 T 淋巴细胞和 NK 细胞活性减低。纯合型小鼠(*me/me*)除免疫系统功能明显减退外,伴有自身免疫的倾向,免疫复合物可沉积在肾、肺和皮肤。虽然尚未发现本系小鼠和人类对应的免疫性疾病,但对判别生命早期免疫功能缺陷和某些自身免疫性疾病发生都是有价值的模型。

Scid 小鼠为一种严重联合免疫缺陷小鼠,突变基因(*scid*)位于第 16 对染色体,纯合型小鼠的淋巴细胞极度降低,胸腺极小,T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞功能缺陷,有低球蛋白血症。15% 纯合型产生同型 Ig,9 月龄时 10% 出现胸腺淋巴瘤。但 Scid 小鼠 NK 细胞和抗原传递细胞的功能正常。本病酷似人类严重联合免疫缺陷病,因此 Scid 小鼠已广泛得到应用。

由于联合免疫缺陷动物模型显而易见地优点,目前国内外已人工培育各种先天性免疫联合缺陷型小鼠,以提高人类肿瘤的移植成功率。如 CBA/N-*nu* 系小鼠、Beigh/*nude* 小鼠就是较为理想的该类模型之一。

五、获得性免疫缺陷病模型

综上所述,通过放射、激素、免疫抑制剂的使用和免疫器官切除等手段,以及注射抗免疫细胞血清,可以人为地抑制动物的免疫功能。目前发现很多病毒感染也同样可破坏机体的免疫功能。这些手段和形式均可复制出各种免疫缺陷动物模型,供研究者选用。

吸烟也可以引起免疫功能抑制,Holt(1978)报道小鼠接触相当于每天 20 ~ 30 支香烟的烟雾,2 周内肺内抗体产生受到明显抑制;相反,16 周时呼吸道区域淋巴结和全身免疫功能会暂时上升,最终仍出现抑制,细胞免疫也有类似变化。在停止接触烟雾 16 周内,免疫功能可恢复正常。

总之,免疫缺陷动物模型在实验动物科学史上,是继近交系动物的诞生、悉生动物的出现之后又一重大突破。这一飞跃,使免疫学、遗传学、肿瘤学、微生物学等医学研究有条件进入更高的层次。目前基因工程已在实验动物界拉开序幕,这标志着模型动物的制作,将会步入到自由王国的境界。

第五节 疾病转基因动物模型

转基因动物(transgenic animal)是指用基因工程技术将外源基因通过生殖细胞或早期胚胎导入胚胎染色体基因组内,使之稳定整合并能传给后代的动物。将外源基因导入生殖细胞或早期胚胎的方法很多,如受精卵显微注射法、胚胎干细胞介导法、精子载体法、逆转录病毒感染法及电转移法等,这些方法各有特点,在实验研究工作中都有应用,但目前最为广泛应用的仍为基因显微注射法和胚胎干细胞介导法。运用这些方法,自1980年Gordon等首次获得转基因小鼠以来,目前世界上已培育出了转基因小鼠、大鼠、鸡、兔、羊、牛、鱼等。

转基因动物研究主要应用在下述领域:①分子生物学、分子遗传学、分子免疫学、发生生物学、细胞生物学、生理学、生物化学等学科的基础性研究。②转基因动物疾病模型的研究。③实验动物、家畜、家禽、鱼类等新品种的培育和改良。④转基因动物作为“生物反应器”来生产生物制品。

一、转基因小鼠与遗传性疾病研究

采用转基因技术可以人为定向突变小鼠基因组中的某个特定基因,也可以人为加入一个或多个外源致病基因,使其发生遗传性疾病。因而转基因动物在研究遗传性疾病动物模型方面有很广泛的应用前景。目前已制成的动物模型有30多种,如镰状红细胞贫血、囊性纤维化和肾功能衰竭等。转基因动物也可用于遗传性疾病基因治疗研究。基因治疗一般是指将正常的外源基因导入生物体靶细胞内以替代所突变的基因、关闭或降低异常表达的基因,以达到治疗的目的。据估计,今后在定向制作遗传病动物模型的数量将有很大的发展。这些模型的建立为研究遗传性疾病的发病机制及基因治疗等方面具有特别的意义。

二、转基因小鼠与肿瘤学研究

建立携带有肿瘤基因的转基因小鼠是研究癌基因活性和肿瘤发生的一种重要方法。通过对这些转基因动物研究,我们可以分析某一确定组织的癌前期状态,分析研究肿瘤的发生发展过程。研究乳腺癌基因小鼠模型表明:肿瘤生长与正常细胞同样受内源激素组织内的多肽生长因子的调控。带有某种癌基因的转基因小鼠品系还可作为诱变剂的检测系统,其优点是敏感性高,结果快速可靠,实验开支节省等。随着分子生物学和肿瘤学研究的进一步深入,携带癌基因的转基因小鼠将在人们认识癌症,征服癌症的过程中扮演重要的角色。

三、转基因小鼠与心血管病研究

转基因小鼠在理解各种调节心血管功能的因子方面将起重要作用。不论是单个还是多个基因的转基因小鼠对人脂蛋白紊乱和动脉粥样硬化的研究都是较好的模型。目前已建立了突发性高血压基因小鼠模型。

四、转基因小鼠与病毒性疾病研究

转基因小鼠用于病毒性疾病研究主要有以下几个方面：① 将病毒全基因组 DNA 导入小鼠基因组，这种转基因小鼠不仅具有表达病毒蛋白能力，还能进行病毒 DNA 的复制。② 将病毒特定基因如乙肝病毒 X 基因、S 基因导入小鼠基因组，以了解特定基因表达产物的致病机制。③ 将特定病毒感染宿主的受体基因导入小鼠基因组，使转基因小鼠对特定病毒易感，从而用作治疗药物筛选和疫苗效果检测等。④ 抗病毒感染的宿主基因导入转基因小鼠，以提高抗病毒能力。

总之，转基因动物目前虽说尚处于研究阶段，在各个领域的应用也仅是初步的，但由于其不可估量的应用价值，已越来越受到科学家们的广泛关注，可以预言转基因动物将会把生物医学科学的研究水平推上一个新的台阶。

（周光兴）

第九章 实验动物的选择和应用

在生命科学和医学的研究中,以动物作为实验对象是非常普遍之事,但是由于不同种动物具有不同生物学特性,即使同一品种的不同亚系也存在一定的差异,所以必须根据实验的要求和目的选择合适的动物。实验动物的选择在动物实验中起着至关重要的作用,有时直接关系到实验的成功与否。

第一节 实验动物选择的基本原则

一、选择结构、功能、代谢以及发病机制与人相似的实验动物

在医学领域里,动物实验的基本目的就是为了了解人类疾病的发生、发展过程和相应的预防和治疗。由于人类属于高等灵长类生物,从理论上讲,非人灵长类动物(猴、狒狒、长臂猿、黑猩猩等)是理想的选择。就拿猕猴(恒河猴)来说,在进化上与猩猩类相比属于落后的,但其生殖生理与人类非常接近,月经周期也是 28 d,是研究人类生殖生理的理想动物。很多传染性疾病都有较强感染上的种属特异性,如乙型肝炎病毒(HBV)在自然情况下只感染人和黑猩猩,这样黑猩猩自然就成了动物实验对象,但黑猩猩不但数量极有限、体形大,而且还是国际上的保护动物,故只得求助于转基因动物来实现 HBV 的研究。

犬类的神经系统和血液循环系统发达,尤其是嗅觉特别灵敏;消化系统以及对大多数药物的反应也与人相似,所以犬常被用做嗅觉反射、生理学、药理学、毒理学、营养学和实验外科学等方面的研究。

猪是 20 世纪才开发的实验动物,猪的皮肤在结构与人皮肤有很多相似点,故经处理后的猪皮片常被用作严重烧伤病人的过渡性皮肤。此外,猪的心血管系统与人类也较为接近,尤其是小型猪的开发成功为猪大规模实验提供了条件。

两栖类动物,如蛙类,虽然其大脑等高级中枢神经系统不很发达,但其脊髓反射弧灵敏。由于它的反射弧结构简单,便于分析结果。

二、选择标准化的实验动物

标准的实验动物就是指动物的遗传背景清楚,体内外微生物和寄生虫确定,饲养环境得到控制的动物。在医学动物实验中切忌使用随意杂交繁殖的、未标准化的实验动物。应根据研究的目的及要求选用按国标而达到相应级别的实验动物,如在遗传上选用近交系、封闭群、突变系和 F1 动物(两个不同近交系杂交产生的第 1 代,而不是随意的两个杂种动物杂交的第 1 代)。在微生物控制上应选用清洁级、无特定病原体动物(SPF)。即使对于大、中型动物,如兔、犬、猴等也要选择无人兽共患疾病和遗传背景较为一致的健康动物(普通级动物)。目前,我国对实验动物生产和实验使用均实行许可证制度。设施条件未达标的单位不允许进行实验动物的生产和实验,用其单位所生产的动物和实验在科研成果验收时也不予以承认,而且是“一票否定制”,实验者应当引起重视。

三、选用解剖、生理上有特点的动物

对于要进行反复外科手术的动物,一般情况下选用体形稍大、耐受力较强的动物,如大鼠、人等动物。这将对于实验的成功起着重要的作用。

犬的甲状腺位于甲状腺两侧前端,位置比较固定;而兔甲状腺的位置不固定,腺体分布也比较分散,不宜做甲状腺摘除实验。但做甲状腺实验时,则应选择兔。

家兔颈部的交感神经、迷走神经和减压神经是分别单独平行行走的,而人、犬、猫、猪等减压神经是行走在交感神经和迷走神经之内而且不易分开,故用其观察减压神经对心脏的影响较为合适。

大鼠没有胆囊,不合作胆囊功能的研究,适合作胆管插管和收集胆汁实验。

大鼠、小鼠的性成熟期早,性周期和妊娠期短,产仔数多,生命周期短,故适用于避孕药、营养学、毒理、胚胎学和致畸等方面的研究。

大鼠、小鼠在心电图中没有 S-T 段, T 波也不明显,所以,在评估结果时应予以注意。

兔和猫是典型的刺激性排卵动物,即经交配刺激后才排卵。成年母兔常被作为诱发排卵观察和避孕药的研究。

兔的耳动脉、耳静脉都较明显,如需反复药物注射和血液采样,实验兔是较为理想的选择。

青紫蓝种家兔的后肢腘部和腹股沟处的淋巴结较明显,一般在体表即可触及,适合于作淋巴结内注射的免疫性研究。

约有 80% 的沙鼠左右两侧脑血管不相交通,而且排尿量和饮水量极少,适合于作脑血管疾病和肾功能的研究。

四、选用特殊生理反应的动物以符合不同的实验要求

鸽子、犬、猴和猫的呕吐反射十分灵敏,适合于作呕吐反射试验;而啮齿类动物,尤其是大鼠、小鼠则基本没有呕吐反射,故对于需灌胃的实验选择大鼠、小鼠最合适。

家兔的体温变化十分灵敏,适合于作致热原试验。而大鼠、小鼠体温调节差,不适合作致热源试验。

豚鼠体内缺乏维生素 C 合酶,故只能从饲料中得以补充,当维生素 C 的缺乏时很快出现坏血病症状,一旦予以补充则症状很快消失。由于豚鼠补体和 IgE 含量较多易于作过敏性试验。此外,豚鼠的耳蜗对声波变化十分敏感,常可引起听源性休克,在听觉研究方面除了犬以外,豚鼠是理想的动物。

第二节 动物选择的一般规律

一、年龄和体重

幼龄动物对于毒理、感染等实验较成年动物敏感性高。但如无特殊要求一般采用成年鼠。年龄与体重在同一品种或品系中基本上是成正比的(除去环境、营养不良等外界因素)。如发现体重超过 10% 以上则动物本身就存在差异,不宜选用。

二、性别

同一品种或品系的不同性别动物对同一实验的反映不完全一致。雄性动物反应较均匀些,雌性动物则受性周期、怀孕、哺乳等影响,一般情况下常采用雌雄各半的原则,也有用同一性别进行实验,大多用雄性动物。

三、生理状况

雌性动物在怀孕、哺乳期和动物在换毛季节,不适合作实验。

四、健康状况

当动物有疾病时不可用作实验,如大动物待康复再考虑是否使用;如小动物则弃之。

五、品种和品系

同一个物种内的不同品种、品系由于生物学特性的差异,对同一试验反应结果存在着差异,有时同一品系的各亚系之间差异近似不同品系。目前,最常用的小鼠 BALB/c 至少有 5 个亚系(国内),不同实验室制备出来的鼠源性单克隆抗体的效价差异很大。此外,有的品系本身就是一个良好的模型动物,如 C₃H、AKR、NZB、NZW、SHR 等,如果选错品种、品系,实验结果将是南辕北辙了。如果实验需要的是近交系动物而你却用非近交系动物,那实验肯定不可能成功。

六、微生物学级别

实验动物的微生物学级别对于实验的成功与否起着相当大的作用,它对实验背景的干扰比遗传等级要大得多,遗传等级一旦确定不会有有多大改变,而微生物学级别控制随着设备和人为等因素,差异比较大,故实验人员对于实验动物的微生物学级别应引起足够的重视,尤其是大鼠、小鼠等小动物的肿瘤学、免疫学、移植术等实验,必须用相应级别的实验动物,如 SPF 级动物、无菌动物,以保证实验的准确性。目前我国小动物的 SPF 级生产和供应已相当普遍,这为实验者提供了有力的保障。

(王国强)

第十章 实验动物与动物 实验的生物安全

科学研究工作必须严格避免对研究人员及其周围环境产生危害或对外部环境造成污染。因此,在进行各项实验动物及动物实验研究的同时,必须注意消除和控制各类生物危害,确保人员、动物、环境乃至社会的安全,这不仅是进行实验动物繁育及动物实验研究的基本要求,对于以实验动物为基础的各类生命科学研究同样具有重要意义。

第一节 生物安全概述

一、生物技术、生物危害和生物安全

(一) 生物技术

一切利用有机体的操作技术都可称为生物技术,其中,现代生物技术是以基因工程为核心,综合利用现代生物学、化学和工程学的手段,直接或间接地利用生物体、生命体系和生命活动过程生产有用物质的一门高级应用技术科学。转基因实验动物的育成是现代生物技术在实验动物领域的成功运用。

(二) 生物危害

生物危害是指包括病毒、细菌、真菌、原虫、昆虫和其他有害动植物等在内的生物因素对人类及其生存环境的危害。生物因素广泛存在于环境和各种生物体内,具有强大的变异能力以适应环境,例如产生抗药性的细菌、昆虫和鼠类等。人类有意识地使用现代生物技术进行科研和生产时,也可能产生以目前的科技知识水平无法预见的后果,从而危害人类健康、破坏生态平衡、污染自然环境等。

(三) 生物安全

狭义的生物安全是指防范由现代生物技术的开发和应用(主要是转基因技术)所产生的负面影响,即对生物多样性、生态环境和人体健康可能构成的危险或潜在风险。广义的生物安全包括更广泛的内容,大致分为3方面:① 人类的健康安全;

② 人类赖以生存的农业生物的安全；③ 与人类生活息息相关的生物多样性即环境生物安全。生物安全技术涉及生物资源保护、劳动保护、环境保护和医药食品等方面,主要解决生物技术从研究、开发、生产到实际应用整个过程中的安全性问题,使危害性降低到可以接受的程度,以保障人类的健康和环境的安全。

二、生物安全的基本内容

(一) 生物安全原理

生物安全的原理包括生物安全分级和生物安全屏障两方面。生物安全分级是对生物危害进行正确评估的依据,生物安全屏障则是对生物危害进行有效遏制的方法。生物安全的最终目的,就是通过正确的评估和适当的防范,在保障人类健康和环境安全的同时,推动生物技术的发展,使之为人类创造最大利益。

(二) 病原微生物危害性的分级

在应用实验动物开展生物医学研究时,工作人员面对的主要生物危害是来自动物或实验室的各类病原微生物。按照病原微生物对人或动物致病性的强度进行分类,既是生物安全评估的依据,也是制定生物危害防治对策的根据。世界卫生组织(WHO)对感染性微生物的危害程度分级如表 10-1 所示。

表 10-1 不同危害程度感染性微生物的分级

危害性级别	危害程度
第 1 级	对个人和社会无危害性或危害性很低,不太可能对人或动物致病的微生物。
第 2 级	对个人有中度危害性,对社会危害性低,其病原体可使人或动物致病,但对实验室工作者、社会、家畜或环境不太会造成严重危害。在实验室内接触虽有发生严重感染的可能,但有有效的治疗和预防措施,而且传播的可能性有限。
第 3 级	对个人有高度危害性,对社会有低度危害性,其病原体通常使人或动物罹患严重疾病,但一般不致传染,有有效的治疗和预防措施。
第 4 级	对个人和社会均有高度危害性,其病原体通常引起人或动物的严重疾病,且易于直接或间接传播给其他个体,通常无有效的治疗和预防措施。

WHO 对感染性微生物的危害级别划分是一般指导原则,各个国家在按照本国具体情况划分级别时还须考虑以下基本因素:

(1) 微生物的致病性程度。

(2) 病原体的传播方式和宿主范围,在这方面有可能受到人群现有免疫状况、人口密度和移动情况、传播媒介以及环境卫生水平等情况的影响。

(3) 是否具有有效预防措施,包括免疫预防和使用抗血清、卫生措施(诸如食品和饮水卫生、控制动物宿主或节肢动物的媒介、对进口有传染病动物及其产品的限制)。

(4) 是否有有效的治疗措施,包括被动免疫、接触后的应急接种、采用抗生

素及化学药物治疗,并应考虑出现耐药菌株的可能性。

我国对各类病原体的级别划分基本与 WHO 一致,只是排列顺序相反(表 10-2)。

表 10-2 我国对各类病原体的危害性分级

危害性级别	危害程度
第 1 类病原体	实验室感染机会多,感染后发病的可能性大,症状重并可危及生命,缺乏有效的预防措施,以及传染性强、对人群危害大的烈性传染病,包括国内未发现的或虽已发现但无有效防治的传染病病原体。
第 2 类病原体	实验室感染机会多,感染后症状较重可危及生命,发病后不易治疗,对人群危害较大的传染病的病原体。
第 3 类病原体	仅具一般危害性,能引起实验室感染机会较少,在一般微生物学实验室中采用一般措施能控制感染和传播,或有对之有效的免疫预防的病原体。
第 4 类病原体	可用于制造生物制品的各种减毒、弱毒及不属于上述第 1、第 2、第 3 类的各种低致病性微生物。

(三) 生物安全等级及控制

生物安全等级是针对生物危害的不同程度来确定的,通常按照生物危害级别的划分,将微生物及生物医学实验室的安全级别相应地划分为 4 级,从而针对个人、单位乃至环境保护的要求确定 4 类切实可行的生物安全等级,以适应科研、教学与临床、诊断等实验的需要。

控制是指通过一系列完整而行之有效的防护措施,对生物危害进行遏制和封闭,包括积极防止操作人员在污染环境中接触危害物质,设法封闭生物危害材料产生的根源,以防止其向操作的周围环境释放,尽量减少危害材料向周围意外释放所造成的后果等。控制可以分为物理控制和生物控制。

物理控制是从物理学角度进行控制的一种防护方法,涉及操作方法、实验设备、实验室建筑和相应设施等多方面,包括以下内容:① 实验操作规程;② 特殊操作要求;③ 封闭设备;④ 封闭实验室及相应设施。

生物控制是从生物学角度建立的一种特殊的安全防护方法,主要针对具有潜在危害的重组 DNA 有机体,根据其高度特异的生物屏障,限制载体或媒介物(质粒或病毒)侵染特定寄主,并可限制载体或媒介物在环境中的传播和生存,使它们除了在特定的人工条件下以外,在实验室外部几乎没有生存、繁殖和转移的可能,从而达到控制的目的。

物理控制和生物控制是相互补充、相辅相成的,针对不同重组体的各种实验,可以将物理控制与生物控制进行不同方式的组合,以达到不同生物安全等级。

三、在实验动物和动物实验研究中引入生物安全的必要性

在实验动物的繁育和动物实验过程中,存在许多生物危害因素,由此导致的结果轻则使相关研究和生产受挫,重则引起工作人员的感染事故及更为严重的环境污染,甚至可引发地区乃至全球生物安全危机。导致这些生物危害因素传播与扩散的原因可归纳为以下3方面。

1. 动物 实验动物是医学生物学实验研究的第1要素。使用微生物学质量不合格的动物,常常会引入各类人兽共患病和动物烈性传染病的病原体,从而在繁育和实验中通过各种途径感染工作人员和其他动物。在使用野生动物的研究中,一些野生动物携带对其自身不致病,但对人却有致命危害的病原微生物,如来源于灵长类和啮齿类野生动物的埃博拉(Ebola)病毒,由于人类对这些微生物所知甚少,故而缺乏有效的防范手段,容易导致严重的感染事故。

2. 设施设备 设施和设备是医学生物学实验研究的第2要素。没有与实验动物生产和实验研究的要求相适应的设施,污染就会扩散。对设施设备的使用不当、维护和检查不力等也是导致生物危害因素泄漏的重要原因。

3. 操作 由不当操作引发的生物危害具有一定隐蔽性,其后果可能在相当长一段时间后才显露出来,故此难以追查当时究竟是谁、什么样的操作引发了事故。在实际工作中,由于危害因素的蓄积和表达需要一定时间,因此与短期实验研究(几天或几周)相比,长期的实验(数月以上)或连续的动物繁殖生产过程中这类问题较多发生。

此外,随着现代生物技术的发展,在基因水平开展对实验动物及动物实验的研究方兴未艾,转基因和克隆动物的相继问世使“基因安全”随之成为新的生物安全问题。由于人类对基因工程技术的使用与控制尚不成熟,对基因工程产物的认识受到现有科学技术水平的限制,这些新技术、新物种的潜在危害性仍需经过一定的时间才能被人们意识到。如若对这些新技术、新物种控制不当,极可能造成对现有生态和遗传平衡的破坏,进而给人类的生存带来无法估计的严重影响。

在实验动物和动物实验中提倡生物安全,其目的不仅在于保护工作人员自身免受感染和防止传播与扩散,还在于避免因交叉污染而造成错误的实验结果。此外,作为生命科学研究的基础和重要支撑条件,实验动物的发展必须建立在保护环境、自然资源和人类赖以生存的自然生态系统的基础上,从而符合可持续发展战略的要求。能否对生物危害进行有效防制,归根结蒂取决于人的认识,即对操作对象危害程度的正确估计和对生物安全的充分重视。因此,在进行实验动物及动物实验研究,尤其是运用各项新技术、新方法时,必须充分认识其中可能存在的危害性,牢固树立生物安全的概念,采取切实有效的措施进行防范,从而

确保研究的顺利开展和保护人类、物种及环境的安全。

四、国内外生物安全管理现状和前景

(一) 世界主要发达国家的生物安全管理概况

1. 美国 美国是最早开展生物安全研究和立法工作的国家。1976年,美国颁布了由NIH制定的《重组DNA分子研究准则》,成为世界上第1个有关生物技术的安全管理规定。1986年,美国政府颁布的生物技术管理协调大纲成为美国生物安全管理政策的开端。美国的生物安全管理宗旨在于风险和产品,即认为生物技术的管理应着重于生物技术产品本身的特性和危害性而不是生产过程。目前生物安全的焦点问题是向环境中释放遗传工程体(GMOs),随着基因治疗和人类基因组计划的开展,有关人类基因操作的管理也日益受到重视。

2. 欧共体 欧共体于20世纪80年代就阐明其生物技术立法的基本原则,目前有关生物技术法律框架主要包括两部分:一是所谓“水平”法规,涉及基因工程微生物在封闭设施内的使用、GMOs的有目的释放和接触生物实际工作人员的职业安全;二是产品法规,包括医药产品、动物饲料添加剂、植保产品、新食品和种子,此外,有关生物技术知识产权保护的法规也是一个组成部分。欧共体的生物技术管理政策以技术为基础,认为生物技术对不同的产品和过程有重大影响,本身具有潜在危害性。

3. 英国 1978年,英国开始对基因工程的安全性控制制定条例。现有的法规涉及两个主要领域,即GMOs在封闭设施内的使用和有目的地释放或含有GMOs产品的上市。所有的条例均以保护人类健康和环境为目的。

4. 德国 德国是少数几个以法律形式管理生物技术的国家之一。1990年,德国颁布的《基因工程法》正式生效,其目的是保护人类和环境免遭基因工程可能带来的危害,并为基因工程技术的研究、开发及利用和促进的协调发展建立法律框架。

5. 日本 日本是较早开展生物技术立法工作的国家之一。继美国NIH准则颁布后,1979年日本制定了《重组DNA实验指导条例》,至今已经过多次修改。与美国不同的是,日本采取了基于生产过程的管理措施。

(二) 我国生物安全管理政策与法规

我国在1975年前后开展基因工程工作,20多年来我国的生物技术不论在技术研究还是成果转化和产业化方面均取得了突出的成就,然而,在我国生物技术飞速发展的同时,我国有关生物安全立法工作却相对滞后,在相当长的时期内实际处于无人管理的状态,这对我国生物技术研究、开发和产业化的深入发展十分不利。1993年12月24日,我国第1部生物技术管理法规《基因工程安全管理办法》正式颁布实施(以下简称《办法》)。《办法》除了起到类似NIH准则的

技术指南作用外,更重要的是为我国基因工程安全管理建立了一个明确、有效的管理框架,是我国有关生物安全的纲领性文件。

根据《办法》确定的原则,农业部负责我国农业生物技术的的社会管理,并于1996年7月10日颁布《农业生物技术基因工程安全管理实施办法》,采用《办法》对安全等级的划分,对安全性评价和控制措施进行了更详细的规定。

卫生部是我国医药产品审批主管部门,1990年卫生部颁布的《人用重组DNA制品质量控制要点》对医药生物技术的基本管理政策与美国FDA类似,后又遵照《办法》的指导原则制定了《新生物制品审批办法》,与1984年颁布的《新药评审办法》同为卫生部新药评审中心管理医药生物技术产品的法规依据。

(三) 生物安全管理的发展前景

随着现代生物技术,特别是基因工程技术的兴起和发展,生物安全问题逐步为全世界所认识和关注。虽然目前各项政策基本上围绕基因工程技术及其产品而制定,但已有部分发达国家如澳大利亚、新西兰、美国等开始关注并应用生物安全的广义内涵。同时,随着经济发展的全球化,生物技术及其产品市场的国际化也成为必然趋势,由于各国管理政策和措施的不同,新的生物技术产品在进入市场时可能面临额外障碍,因此生物技术的国际性协调管理成为世界各国的共识。

从生物技术管理实践看,世界各国对生物技术的管理和限制不断放宽,但这并不是简单意义上的放松管理。随着生物技术的发展,人类对有关生物技术活动的经验和科学知识不断积累,因此对风险性和安全评价产生新的认识,从而需要对确保人类健康和环境安全及促进生物技术发展的管理平衡点作出新的调整。一些本来被认为具有危险性的生物或者具有不确定性后果的活动,通过深入研究,人们发现可以对其进行更可靠的把握和操作,因而也就不再具有原先的危害性。从各国法规修改的实际情况可以看到,管理放松主要表现在属于GILSP(良好的工业性大规模实践规范)或安全等级1级的生物范围不断扩大。

第二节 实验动物和动物实验研究中的生物危害

一、对实验动物工作者个人的危害

实验动物和动物实验研究中对个人的生物危害主要表现为各种人兽共患病及实验性病原体的感染和传播。由于饲喂、换笼及各类实验操作需要与动物密切接触,从事动物实验和动物饲养的人员成为这类危害的首要受害者,其中,动物实验人员因为有更多机会接触实验状态下的非健康动物,受到感染的概率高于动物饲养人员,感染的严重程度则受到病原体的量、对人体的致病性、感染途径和人的易感性4个方面因素的影响。

(一) 人兽共患病

人兽共患病常以隐性感染的形式存在于动物体内,不表现任何临床体征和症状,因此容易被忽视而造成实验人员的感染。不携带规定的人兽共患病病原是实验动物最基本的要求,使用合格的标准化实验动物可有效避免人兽共患病的发生。然而,在实际工作中,有时也会用到尚未标准化的家禽、家畜甚至野生动物,对这些动物可能携带的人兽共患病原体必须注意防范。常用的家畜中必须排除的主要人兽共患传染病如表 10-3 所示。

表 10-3 常用家禽、家畜中必须排除的主要人兽共患传染病

疾 病	鸡	绵 羊	山 羊	猪
鹦鹉热	✓	/	/	/
Q 热	✓	✓	✓	✓
炭疽	/	✓	✓	✓
结核病	✓	✓	✓	✓
布鲁菌病	/	✓	✓	✓
水泡性口炎	/	✓	✓	✓
钩端螺旋体病	/	✓	✓	✓
新城疫	✓	/	/	/
沙门菌病	✓	/	/	/
弓形虫病	/	✓	✓	✓

注:“✓”表示必须排除的人兽共患传染病。

(二) 实验性病原体

利用有害微生物进行各类动物感染实验时,从接种病原体到实验结束,要经过数日、数周乃至数月,在饲养及实验工作的进行中,就存在实验性病原体扩散的危险。即使是相同的病原体,如果所用的动物种类和接种途径不同,其繁殖程度和排出方式也会有所不同。另外,病原体在动物体内经过繁殖后,对人体的致病性有时会得到增强。因此,对实验性病原体的安全评估必须结合实际情况,而不能简单地以它在试管内的危险性来评估其危险程度。

各类病原体的实验室危害参见附录。

(三) 引起感染的途径

1. 经呼吸道感染 大多数实验室获得性感染都是由吸入感染性气溶胶引起的。感染动物的排泄物、分泌物,如粪、尿、唾液等常含有大量病原体,清除动物笼内垫料、粗暴操作或突发响声导致动物惊慌逃窜等,产生的大量气溶胶会促成病原体的飞扬播散。动物感染实验时所用的感染接种液及剖检感染动物时的血液、体液的飞溅也有可能产生感染性气溶胶。

2. 经口感染 在动物饲养及实验室内吸烟、饮食,或用污染的手指接触嘴唇等行为均可能吞入病原体造成感染,未遵循相关的操作要求做好个人卫生和

防范工作,或违反实验操作规定的行为是导致这类感染的主要原因。

3. 创伤及黏膜接触感染 包括由于操作不慎被注射器刺伤、剖检动物时被手术刀剪等伤害、捕捉固定不当被动物抓伤、咬伤而经由创伤处发生的感染,此外,感染性物品、材料飞溅、污染的手和表面接触眼、鼻、口腔等也是引起感染的主要途径。

4. 昆虫媒介 设施的缺陷和管理的疏漏等,常导致蚊、蝇、螨等昆虫的入侵或孳生,尤其是蟑螂。通常这些昆虫携入外界的病原体污染实验室,或充当实验室内病原体的传播媒介,由此危害到实验动物工作人员。

二、对实验动物的危害

实验动物感染人兽共患病或动物传染病后,可引起非特异性死亡,或干扰实验结果,动物烈性传染病还会导致大批动物死亡,造成严重后果。实验动物繁育及动物实验设施设备的不适当和管理不善、防范不力,常导致实验动物受到外界环境中病原体的污染,如开放系统中饲养的动物常常因诸如野猫、野鼠及昆虫等的进入而遭外来病原感染或发生交叉感染,引起疾病和死亡。这样的情况在管理不善的屏障系统中同样会发生。对不同实验的动物管理混乱,隔离不当,或感染动物逃逸等也会导致动物间的交叉感染。

在诸多因素中,人是实验室污染的最大来源,人的皮肤、黏膜等处经常存在很多微生物,头发也是微生物容易停留和繁衍的处所,而鞋底贮藏的微生物最多。此外,患皮肤病或呼吸道疾病的工作人员在操作时,也会将病原体传染给实验动物。

其他因素如饲养密度过高、环境控制不达标、实验操作等也会直接或间接引发生物危害。

三、对实验动物设施周边环境的危害

实验动物设施内的危害因素向外扩散,就会引起设施周边环境的污染,甚至导致这些区域的生物灾害,引发社会安全问题。对环境的危害多来自动物饲养和实验中的“三废”,即污染的空气、动物尸体、污染垫料、注射器、手套、污水等。除了对“三废”的处理不当外,有些扩散是人为的,如将混有动物排泄物的垫料作为肥料用于生产农作物,或用动物尸体饲喂宠物。此外,管理疏漏致实验动物的逃逸,或实验动物未经完全处死即弃置,待其苏醒后逃逸,亦可将实验室内的病原或有害物质散布到外界。

四、克隆及转基因动物的潜在生物危害

克隆动物和转基因动物在生物医学研究方面具有广阔的应用前景,但同时

也存在许多安全性问题。例如转基因动物的器官移植可能增加人兽共患病的传播机会,具有某些优势性状的转基因动物释放到自然界,会对生态平衡及物种多样性造成压力等。转基因动物在生理、行为、代谢、对理化和生物因子的耐受力等方面的新特性,以及转基因动物所应用的基因重组技术,都可能产生一些超过人类防范能力的危害因素,对这些因素的增殖一旦失控,就可能带来严重后果。另一方面,克隆动物的出现,使转基因哺乳动物的个体增殖可通过无性繁殖体系实现,因而携带危害基因的个体可能大量快速增加,一则构成对人类的危害,二则可能破坏业已形成的生态和遗传平衡。

第三节 实验动物与动物实验中生物危害的防制

一、防制的一般原则

生物危害的防制,须依据研究工作所涉及生物安全的等级,设定不同的生物安全水平,某一生物安全水平由生物技术机构的实践和技术、安全设备以及所拥有的设施几方面的要求共同组成,以适应对特定生物进行安全操作和处理。世界卫生组织(WHO)对实验室的生物安全等级划分以及不同级别实验室的一般要求如表 10-4 所示。

表 10-4 生物危害级别与安全级别、实验室要求和设备的关系

危害级别	生物安全级别	实验室类型(举例)	实验室操作	安全设备
第 1 级	一般——生物安全 1 级	一般教学用实验室	GMT*	无特殊要求,开放式工作台
第 2 级	一般——生物安全 2 级	初级卫生服务、初级医院水平、诊断、教学及公共卫生实验室	GMT, 保护性衣着, 生物危害标志	开放式工作台, 另加生物安全柜(BSC**)以防止气溶胶
第 3 级	防播散——生物安全 3 级	特殊诊断实验室	同第 2 级, 另加特殊衣着, 控制进入、定向气流	所有工作均在生物安全柜和(或)其他主要防播散设备内进行
第 4 级	最高级防播散——生物安全 4 级	有危害性病原体的实验室	同第 3 级, 另加入口气锁、淋浴后退出, 污物特殊处理	Ⅲ级生物安全柜或正压服, 双门高压灭菌器, 空气过滤

注: *: 微生物学操作规程(good microbiological technique);

* *: 生物安全柜(biological safety cabinet)。

二、加强对人的生物安全教育

作为科学研究活动的主体,从业人员的生物安全意识直接影响生物安全管理目标的实现,表现在对各项操作及管理规程的遵守、对动物及各类设施设备正确选择和使用、对各类隐患的防范等方面。例如由于对研究过程中的危害性认识不足、操作不规范、缺乏或未适当使用保障生物安全的设施设备、对实验动物质量的控制不力等,都可能引起的各类生物危害,造成实验失败、人或动物受到感染甚至污染环境。其中,过分信任并单纯依赖安全设施往往会淡化人的安全意识,使操作人员忽视安全操作规范,也是导致意外伤害事故的一大原因。实验动物工作者是否具备安全意识和相应的技术,是衡量其专业水平的重要标志之一。因此,在预防和控制各类动物生产和实验中的生物危害时,对相关人员进行生物安全知识的普及是首要措施,只有通过安全普及教育,使从业人员的安全知识水平、安全防护能力及事故处理技能均得以提高,才能从根源上防范实验动物工作中的生物危害。

三、使用标准化合格的实验动物

在实验动物饲养及实验的过程中,动物本身所携带的人兽共患病及动物传染病的病原体可通过各种途径在动物饲养室内播散,危害操作人员和动物的安全。缺乏适当的动物饲养设施和完善的管理制度,动物常会感染上述各种病原微生物和寄生虫,环境、营养的控制不当也会导致实验动物健康水平下降或对一些疾病的易感性改变,还有由于遗传监测和控制工作失误发生的动物遗传质量改变等。标准化合格的实验动物在遗传学、微生物学、环境生态学和营养学上实行了严格控制,排除了这些因素的影响,因此,推广实验动物的标准化,杜绝带有各类生物安全问题的“非标”动物进入实验室,是对生物危害源头的遏制。我国《实验动物管理条例》和《医学实验动物管理实施细则》中规定,应用实验动物应当根据不同的实验目的,选用相应的合格实验动物,应用不合格实验动物取得的检定或安全评价结果无效,所生产的制品不得使用。

四、与研究工作相适宜的动物设施和管理

根据环境条件的不同,可将实验动物繁育生产和动物实验设施划分为三大类:普通环境、屏障环境和隔离环境。其中,对动物实验设施又可依据研究所涉及的病原微生物的危害级别划分为4个安全级别(见表10-4),每一安全级别的实验室都须配置与该级别的研究工作相适应的设施设备并制定标准操作规范。

(一) 实验动物繁育生产及动物实验环境的分类

我国的《实验动物环境及设施国家标准(GB 14925-2001)》将实验动物繁育生产和动物实验设施按环境条件划分为三大类,并对每一类环境的技术指标要求均作出明确规定,这3类环境分别是:

1. 普通环境 符合动物居住的基本要求,不能完全控制传染因子,适用于饲养教学等用途的普通级实验动物。

2. 屏障环境 适用于饲养清洁级实验动物及无特定病原体(SPF)实验动物,该环境严格控制人员、物品和环境空气的进出。

3. 隔离环境 采用无菌隔离装置以保存无菌或无外来污染动物。隔离装置内的空气、饲料、水、垫料和设备均为无菌,动物和物料的动态传递须经特殊的传递系统,该系统既能保证与环境的绝对隔离,又能满足转运动物时保持内环境一致。该设施适用于饲养无特定病原体(specific pathogen free, SPF)、悉生(gnotobiotic, GN)及无菌(germ free, GF)实验动物。


BIOHAZARD
生物危害

WHO92735

ADMITTANCE TO AUTHORIZED PERSONNEL
ONLY (未经批准, 不得入内)

Hazard identity
(危害因子): _____

Responsible Investigator
(研究负责人): _____

In case of emergency call
(紧急电话): _____

Daytime phone _____ Home phone: _____
(日班电话): _____ (私人电话): _____

Authorization for entrance must be obtained from
the Responsible Investigator named above

图 10-1 生物危害示警标记

(二) 不同生物安全等级的动物实验室设置及管理

根据研究涉及的病原微生物的分类等级,将动物实验室划分为与之对应的4等,即P1、P2、P3、P4实验室,分别对应我国病原微生物危险度第4、3、2、1级。P2级以上实验室的入口处均应张贴国际通用的生物危害警示标记(图10-1)。P实验室内使用的病原微生物对人及动物有不同程度的危害,因此在内操作的人员必须严格遵照标准操作规范开展实验研究。例如P3实验室的操作规范及管理主要包括以下几方面内容:①申请登记;②进入P3实验室的要求;③实验操作要求;④实验结束污染物品的处理;⑤退出实验室的要求;⑥其他注意事项。

不同生物安全等级的动物实验设施标准操作规范及设施设备要求如表10-5~8所示。

表10-5 安全度1的动物实验设施标准操作规范及设施设备要求

项 目	具 体 要 求
管理规程	1. 禁止带入食品、饮料、香烟及化妆品。 2. 动物室内应设洗手及手部消毒的设备,工作前后及离开本设施前必须洗手。 3. 用过的笼具及动物垫料、排泄物及所有废物均须经高压蒸气灭菌后再作进一步处理。 4. 工作中应尽量避免产生气溶胶。 5. 工作结束后,或发生感染性物品外溅后,必须对工作区的表面用有效的消毒剂进行消毒灭菌。 6. 动物尸体应焚烧处理。 7. 动物室内应穿着防护工作服、鞋。 8. 除与动物实验有关的人员外,应限制其他人入内。
安全设备	动物饲养笼应有防止动物逃脱的可靠装置。
动物饲养室结构	1. 感染实验区应与其他区域分开,并有可靠设施以防止外界昆虫及动物侵入。 2. 门必须向内开启,并能自动关闭。 3. 其他按《实验动物环境及设施国家标准》执行。

表10-6 安全度2的动物实验设施标准操作规范及设施设备要求

项 目	具 体 要 求
管理规程	1. 在本设施的入口处或其他适当地方应张贴国际通用的生物危害警示标记(见图10-1)。 2. 只有经批准的人员方可入内。 3. 除供实验用的动物外,禁止其他动物进入。 4. 在实验室内发生任何创伤(包括微小伤口在内)都应及时报告和记录。 5. 如发生感染性物品的明显溅泼或外溢事故时,应立即向实验室主任报告,以便及时采取适当措施并记录在案。 6. 工作人员必须戴工作帽、口罩和手套。 7. 其他同安全度1。
安全设备	1. 动物的饲养笼可加用空气过滤罩(filtercap)。 2. 对在接种或解剖等工作中可能产生气溶胶者应采用Ⅰ级或Ⅱ级生物安全柜(BSC)或在负压隔离器内进行。 3. 必须在本设施内或邻近设施设有高压蒸气灭菌装置。
动物饲养室结构	1. 如采用机械通风系统,则必须保持室内负压,并采用全新风。 2. 其他同安全度1。

表 10-7 安全度 3 的动物实验设施标准操作规范及设施设备要求

项 目	具 体 要 求
管理规程	1. 进入的人员必须严格控制。 2. 设施内应穿一次性防护工作服,离开时脱下,在废弃前应进行高压蒸气灭菌。 3. 动物饲养工作原则上由实验人员承担。 4. 尽量选用无尘垫料。 5. 应考虑到对工作人员采取有关的免疫预防措施。 6. 其他同安全度 2。
安全设备	1. 感染的动物应饲养在负压隔离器内的笼中,或于室内在其笼架后方设有通风系统的抽气口。 2. 动物实验可在 I 级或 II 级生物安全柜(BSC)或隔离器内进行。 3. 其他同安全度 2。
动物饲养室结构	1. 感染实验区的入口应设有两扇门的缓冲间,使之成为一个气阀(air lock),缓冲间内应配备洗手和淋浴的设备。 2. 应有机械通风系统,以保持室内负压,全新风并有一定的空气流向(自危险性较低的区域向潜在有高危性区域流动),排出的气体必须经高效空气过滤(HEPA),在设计通风系统时应考虑如何防止室内发生正压的意外事故,并准备好发生突然停电时的对策。 3. 其他同安全度 2。

表 10-8 安全度 4 的动物实验设施标准操作规范及设施设备要求

项 目	具 体 要 求
管理规程	1. 进入的人员必须严格控制,只有经本部门负责人指定的人员方准予进入。 2. 在本设施内不可单独一人进行工作,必须执行两人一起工作的规定。 3. 工作人员应受过微生物学家最高水平的训练,并熟知所从事工作的危险性及其预防措施。 4. 工作人员进入本设施时应脱下自己所穿的衣服,穿上特制的一次性防护工作服。工作完毕后,应将防护工作服脱下,放入一专门容器以便进行高压蒸气灭菌,然后废弃。人员必须经淋浴后方可离开。 5. 其他同安全度 3。
安全设备	1. 必须配备双扉高压蒸气灭菌器,其清洁端应在控制区之外。 2. 凡不能用高压蒸汽灭菌的物品,须经灭菌液浸泡槽或蒸熏灭菌传递柜进行灭菌。 3. 所有动物必须饲养在负压隔离器内。 4. 对动物的所有操作必须在 III 级生物安全柜(BSC)内进行。 5. 必须经常了解工作人员的健康状况,并采取适当免疫措施。 6. 其他同安全度 3。
动物饲养室结构	1. 如果本设施不是属于最高级防播散-生物安全水平 4 级(maximum containment-biosafety level 4)的实验室的一部分,则必须是隔离的独立建筑。 2. 其他同安全度 3。

五、具备规范、娴熟的操作技术

(一) 与动物接触的有关技术

1. 避免操作中气溶胶的产生 气溶胶是以胶体状态悬浮在大气中的液体或固体微粒,其直径一般为 $1 \sim 5 \mu\text{m}$,是最适宜引起感染的尺寸。病原微生物以

气溶胶为载体,扩散到空气中,被动物或人吸入达一定量即可引起感染,据统计,实验室获得性感染中80%与气溶胶有关。病原体通过动物的分泌物、排泄物如唾液、尿液、粪便等排出体外,大量蓄积在垫料中,捕捉动物或清除垫料时,随着动物的逃避和垫料被翻动,会产生大量气溶胶,并携带病原体四处散播。因此在饲养、给药等工作中,必须注意轻柔地抓取、固定动物,保持室内安静,避免突发的声响和动作惊扰动物,禁止在饲养室内清理更换下的笼具和垫料等。气溶胶的产生和动作幅度有关,所以应尽量减小动作幅度。喷雾可沉降空气中悬浮的微粒,此外,在条件许可下,尽可能使用能够减少或控制气溶胶发生和播散的安全设备进行操作。

2. 避免损伤 不适当的捕捉极易导致被动物咬伤、抓伤,动物实验特别是手术过程中,操作人员可能因动物的挣扎、操作技术不熟练、畏惧等因素被针尖、刀、剪等器械所伤,外伤往往成为进一步感染的原因。因此操作人员必须熟练掌握实验动物的捕捉固定方法和各类常用的实验技术,使用袖套、手套等个人防护用品,并借助合适的捕捉及固定设备和其他手段以防此类危害的发生。在对动物麻醉时应注意麻醉深度,以免动物过早苏醒挣扎,实验结束后也应小心解除固定,安全地送回动物。所用的注射器、手术器械应放在离动物稍远的地方,不再用的器具及时清理出去。

3. 动物剖检中的注意事项 剖检动物时,即便不是感染性的实验,也无法确定动物血液、体液、脏器中是否有繁殖的病原体,因此严禁在动物饲养室内无任何防止扩散措施的情形下进行剖检,而应到专门的实验室或在专门的设施内进行。剖检时,应将动物固定板放在盘子中,尽量减少对工作面和作业空间的污染机会。剖检前可将动物放入消毒液中浸泡一下或用乙醇擦拭动物体表,以防止动物体毛飞扬,同时可作为无菌取材前的消毒。剖检后应及时清理并消毒操作区域,各种器械、材料和废弃物按规定处理或经无害化后弃置。

(二) 其他技术与规范

1. 对动物的管理 熟知动物的正常外观及行为,对动物出现的异常体征能及时发现并采取措施,从而争取控制危害的时机;经常检查关养动物的笼器具及设施,防止动物逃逸或设施对动物造成伤害;对出逃在外的动物,即使能够确认其来源,一般也不应再放回原处,而应视实际情况作隔离观察或处死丢弃等,尤其严禁任意放入外观相同的动物中继续饲养和实验;实验中须避免搞错动物的分组,因此要养成做各类标志的良好科研习惯;防止将外观相似的不同品系动物混淆等。

2. 遵循《微生物学实验技术规范》(GMT) 该规范包括在实践中证明行之有效的生物安全技术,涉及实验室标本安全处置技术、防止感染性材料扩散技术等多方面。进行实验研究前应接受有关的技术培训以熟练掌握这些技术。

六、良好的卫生习惯及正确的个人防护

工作人员每次接触动物或生物组织等以及结束饲养观察离开前,必须彻底洗手。工作中必须正确穿戴规定的服装,戴好口罩、手套、帽子等,诸如戴口罩只掩住嘴,而把鼻子露在外的错误穿着方法必须纠正。不用手触摸面部、眼、口、鼻等部位,禁止在工作区进食、饮水、吸烟或存放食物。离开工作区域应脱下防护服,工作服应定期清洗消毒,一次性防护用品不得重复使用。

实验动物工作者应定期体检,接触有害病原微生物前视具体情况进行必要的预防接种。在工作中一旦发生损伤,须及时用 75% 乙醇或 3% 碘酒对伤口作清理、消毒,根据不同情况及时诊治;出现健康问题时应及时就诊,积极治疗,疑有感染性疾病时须避免进入动物设施从事相关工作。

七、正确处理生物危害“三废”

国家在大气、水源、土壤的环境保护和卫生防护、劳动职业卫生方面的相应法规对危害健康物质的排放有严格控制,并已有专门的机构对这些废料进行集中处置。涉及实验动物和动物实验的“三废”列举如下。

1. 废气 动物饲养室、实验室排风等。
2. 废液 动物粪尿、笼具洗涤污水、血液样品、传染性材料废水,重组 DNA 实验室废弃的含有生物危害的废水等。
3. 固体物料 各种实验操作器材如注射器、棉花、容器,动物及其局部组织、污染垫料等。

处理的方法有运用化学药剂的化学处理、使用过滤、高温灭菌焚烧等手段的物理处理以及生物处理。处理前应对废弃物进行分类管理,即按废弃物性质、类型、数量以及危害性进行评估,确定处理方案。除了废气集中排放外,所有待处理的废液和固体废料都应就地进行分类放置。含有致病菌的废液与固体物料和一般的垃圾应分开,其中又须根据处理方法的不同(如焚烧、蒸气灭活等)再行分类,例如动物尸体须集中存放焚烧,而注射器、玻璃器皿等用品则采用其他方法销毁或处理。严禁将所有的废料混在一起。废料应及时处理以免病原体孳生,同时存放地点应注意保卫,存放过程尽量减少暴露。

第四节 生物安全设施

一、生物安全设施的分类

生物安全防护策略的根本在于控制,可分为物理控制和生物控制,生物安全

— 5 — 卷五

卷五

卷五

卷五

卷五

卷五

卷五

卷五

卷五

卷五

卷五

I 级生物安全柜前面上部封闭,设置视窗,下部可以全部开启,或留有 2~4 个圆形连接长袖手套的开口,由于直接吸入的空气未经任何处理,因而对台内的操作环境和物料不能起到无菌保护作用。

2. II 级生物安全柜 II 级生物安全柜按照垂直层流原理,在柜顶装设 HEPA 过滤器,空气经过过滤除菌,自上而下以均匀速度流过操作空间,然后穿过台面前的栅格,由风机引出,通过另一台 HEPA 过滤器去除污染的气溶胶后,再排出室外或进入总排风管。在安全柜操作面开口处,这种单向流动的气流由特殊设计的唇边结构以一定流速形成气幕,使柜内污染物不致由操作面溢出而引起屏障作用,又使外界空气中的污染物不会进入柜内,对柜内器械、材料起到保护作用。

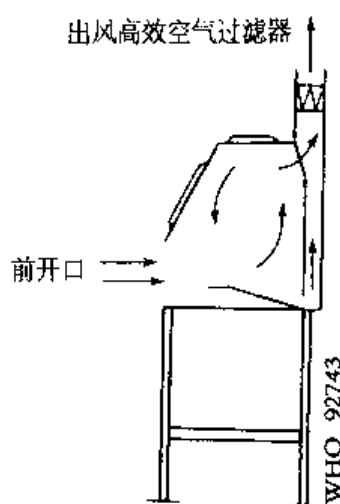


图 10-2 I 级生物安全柜

II 级生物安全柜有 A 型(1 型)和 B 型(2 型)两种结构(图 10-3、4),主要区别在于操作面开口的高度、回风循环比例、开口处吸风速度、排风方式和台内外工作压差的高低。

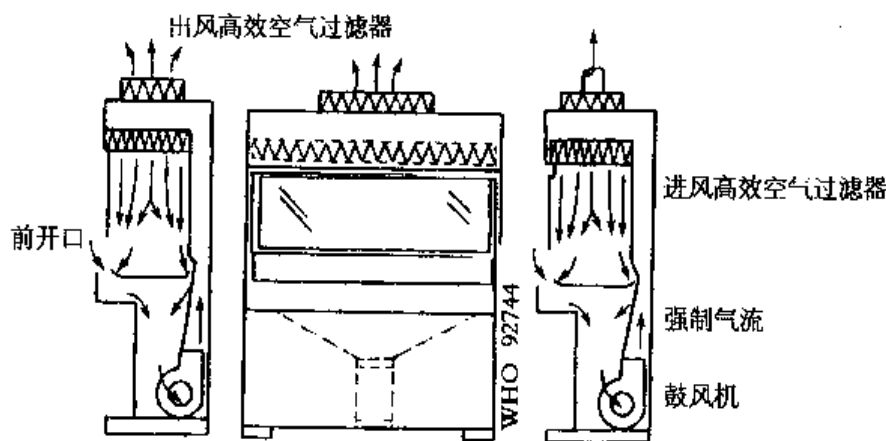


图 10-3 II 级生物安全柜(A 型)

尽管 II 级生物安全柜在操作面开口处设置的空气屏障具有双重保护功能,可以补偿气流扰动的影响,但还是避免不了空气屏障的局限性,同时,机械故障、过滤器积尘、空气进口栅阻塞等问题也会而影响屏障效果。柜内器皿、材料堆积过多,或照明热源产生的空气对流均可能干扰垂直层流,操作人员的双手或器皿、材料的接触污染,也可能在工作台开口处带进带出,影响实验操作及物料,并危害实验室的周围环境。

3. III 级生物安全柜 III 级生物安全柜(图 10-5)是由结构屏障组成的绝对

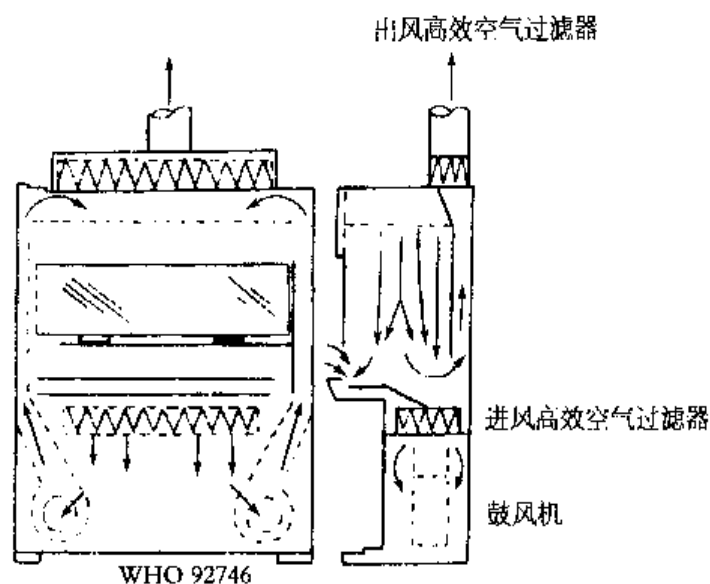


图 10-4 II 级生物安全柜(B 型)

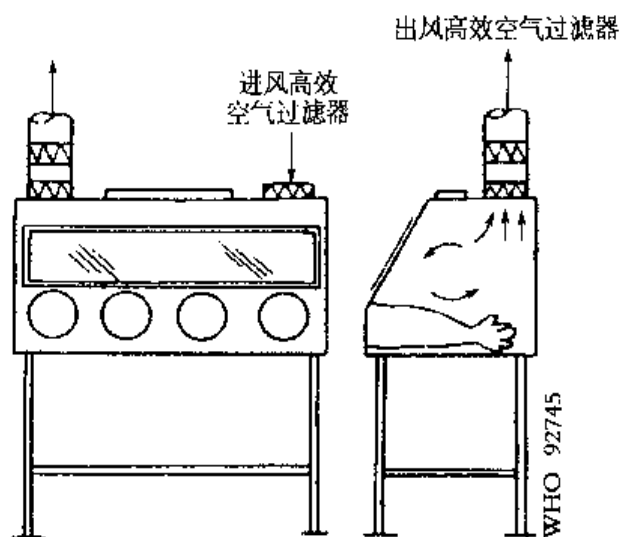


图 10-5 III 级生物安全柜

封闭系统,对外界没有直接开口,可用于处理极端危险的实验材料。III级安全柜全部由不锈钢制成,并以空气屏障作为辅助的封闭系统,不仅可以严格保护操作人员与操作环境不致受到生物危害材料的影响,而且可以保护实验本身不会受到外界环境的影响。

这类设备的进风通过 HEPA 过滤器自上而下送入台内,而排风则由两组串联的 HEPA 过滤器或一台焚烧器处理后才能排出。换气次数不得少于 10 次/小时,台内保持 125 Pa 的负压。全部操作必须通过长袖橡皮手套进行,所有进出物料

都必须通过双门高压灭菌器或盛满消毒液的浸泡槽,排出的废水必须收集在可以灭菌的容器内,经过灭菌后排入下水道。

Ⅲ级生物安全柜可以对操作人员与操作环境提供最高等级的安全防护,由于通过橡皮手套进行操作,因而可防止气溶胶暴露、料液溢出及其他接触污染,但也可能出现橡皮穿孔或柜内意外正压等情况而影响防护效果。其缺点是造价昂贵,操作维护困难,柜内空气循环不良且易于交叉污染,并有化学品爆炸危险。

(二) 隔离罩(隔离器)

隔离罩又称隔离器(isolate),也是对外没有直接开口、通过橡胶手套进行操作的密封装置,问世以来广泛应用于无菌动物的饲养繁殖、实验操作和处理后观察。可以说,有了隔离罩,才有了无菌级实验动物。隔离罩通常采用塑料薄膜制作外包裹层,内以刚性材料作构架支撑,也有以不锈钢和玻璃作外包裹层,造价较前者高。除无菌指标外,隔离罩内其他指标须在外环境调控。

用于动物繁殖及一般实验的隔离罩都采用正压,即罩内空气压力高于外界150 Pa,有利于保持罩内的无菌状态。如做烈性病原体感染研究或有毒挥发物实验,则采用负压隔离罩以保护外环境和人员安全,负压隔离罩多采用不锈钢和玻璃制作的刚性外壳。

出入隔离罩的所有物料均须灭菌,以避免内外环境的交叉污染。送入隔离罩的空气须经高效(HEPA)过滤,使其物理洁净达到100级,隔离罩排出的空气经高效过滤或采用特殊的气阀以防止空气倒流。良好的隔离罩其隔离效果可保持1~3年(即在内饲养的无菌动物1~3年内可保持无菌状态),发生泄露的原因多是橡胶手套指端磨损和各接缝处脱胶等。此外,塑料薄膜外层易发生破损和老化导致泄漏,也须经常检查。

(三) 独立通气净化笼具

独立通气净化笼具(independent ventilation cage, IVC)的特点在于为每一个单元(饲养动物的笼盒)提供相对独立的通风系统,运行时可以把每一个单元视为一个微型隔离器,有效避免人与动物以及动物之间的交叉污染,防止生物危害因素的扩散,是实验动物及动物实验研究中生物安全设施的后起之秀。

独立通气净化笼具由主机(包括送风和回风系统)、导风通道笼架和笼盒3个部分组成。外部空气经主机送风系统中、高效二级过滤进入导风通道笼架,通过即插即用的连接装置送入每个笼盒,笼盒中的废气经笼架回风管道进入主机排风系统,再经中、高效二级过滤后排放到外界,从而为动物提供统一的符合标准的微环境,并保护工作人员的安全。笼盒及各连接口的密封设计是该设备的关键,采用自闭式供排气阀及自闭式供水通道,可在取下笼盒进行操作、更换饮水时确保笼内环境密闭,同时硅胶密封圈、锁扣、过滤膜等设计的应用,也进一步

提高了密封效果。通过调节主机的送排风频率可以对笼盒内的换气次数、气流速度等进行调控以适应不同研究的需要并确保动物安全。

相对于传统的屏障系统,独立通气净化笼具具有节约能源、空间、设备维护和运行费用低等诸多优点,适宜 SPF 动物的培育、繁殖、保种和动物实验观察,尤其适用于饲养免疫缺陷动物和转基因动物,但进行实验操作须另配置生物安全柜或其他适宜的设备。

(四) 层流架(层流柜)

层流架(laminar flow rack)一般为四周封闭、前方开启的柜形构造,其侧边及背部安装空气净化系统,内部分层或分格放置动物饲养笼盒,可用于实验动物饲养和动物实验观察。

层流架相当于局部屏障系统,置于普通房间内可用作清洁级动物的短时间饲养、实验操作和观察,放置于清洁级房舍内时,可作为 SPF 级动物的养殖和实验观察设备。分层、分格的结构有助于避免交叉污染。多数情况下,层流架内空气压力高于外环境,为正压层流架。如作感染研究,为避免污染环境,层流架内气压须低于外环境,这就是负压层流架。

层流架构造简单,投资较少,适合小规模和短时间实验动物饲养和实验。但该设备本身仅能控制空气洁净和通风指标,而其他环境指标如温度湿度等,则必须在外围设施内调控,因此,层流架作为清洁级和 SPF 级动物设施尚有很大局限性。此外,该设备空间很小,开门操作时容易破坏其洁净指标,在操作时应严格遵循操作规程。

三、二级屏障系统——防播散实验设施

防播散实验设施共分 4 类,与生物安全的 4 个等级分别对应。

(一) BL1 级设施

BL1(biosafety level 1)级实验室是一种能采用标准实验操作技术对低度危害病原体进行控制的工作环境。其工程构件没有特殊要求,一般应具备符合洁净要求的实验场所,门窗、天花板、地面,耐酸、碱、有机溶剂的实验工作台等建筑设施需能经受清洗和灭菌剂处理,并有消毒柜等实验设施的安放位置。实验室内应配置洗手水槽。常规的实验操作均可在敞开的实验工作台上进行。可以配置舒适性空调或机械通风,保持室内空气循环。如果该等级实验室开窗,则应安装纱窗。该等级实验室必须与一般的办公室、食堂、病房等区域分开。

(二) BL2 级设施

BL2(biosafety level 2)级实验室结构与 BL1 级类似,在其中应不致产生严重气溶胶,一般操作可以在敞开的实验台上进行,有些指定的操作应在 I 级或 II 级

生物安全柜内进行。该类设施中还应与生物安全柜排风配套的通风系统及HEPA过滤器。设置高压灭菌器以便对实验室废物进行处理。有关实验动物、废弃物存放等一般污染区域不得与培养基配制、组织培养等区域相连。非实验人员经常出入的公共场所和办公室,必须与辅助功能区域分开。

(三) BL3 级设施

BL3(biosafety level 3)级设施要求特殊的工程构件和密闭装备,可以是单独设置的实验室,或者建筑物内的套间,甚至可以是整幢建筑。BL3 级封闭设施通常采用封闭式出入走廊、空气闸、风淋室或其他双重门的更衣淋浴室为进出口,与公共通道分开。所有技术操作都必须在生物安全柜内进行,室内的墙壁、地坪、天花板都采用密封结构,所有开孔都必须堵塞、密封以防泄露。

BL3 级实验室的实验工作台等室内设施与 BI2 级一致,但洗手水槽开关应为脚踏、肘动或自动操作;所有窗户都应关闭并予密封;通往实验室或封闭单元的门应为自关式结构;高压灭菌器最好放在实验室内。通风系统设计的排风要大于送风以维持室内负压,使室外洁净走廊的空气按照一定流向流过实验室清除有危害的污染物并排出室外,这一通风系统必须独立,防止气流循环及回风。

(四) BL4 级设施

BL4(biosafety level 4)级的设施设计极端复杂,为一种高度封闭的工作场所,用于研究可能对操作人员产生致命危险或可能导致严重流行疾病的病原体。BI4 级设施具有特殊的工程结构与控制要求。一般都是独幢的建筑物,也可以在一座建筑内建成一个隔离系统。在该等级设施内,所有指明属于 BI4 级生物剂的操作步骤都必须在Ⅲ级生物安全柜内进行,如在Ⅰ级或Ⅱ级生物安全柜内进行,工作人员必须身着正压防护服(见“个人防护用品”部分)。BI4 级设施的显著特征是设置特殊的二级屏障系统防止危害因子逸向周围环境。

四、个人防护用品

正压服(positive pressure personal suit)是近年来推广应用的最有效的个人防护用品,它外表类似潜水服,有透明的头盔,衣裤相连,腰间有一正压供气胶管,提供清洁调温的空气,气流从头盔披肩下流出。由于头盔内为正压,污染空气不能进入,从而确保操作人员的安全。

(胡 樱)

第十一章 实习指导

第一节 常用实验动物设施、设备的操作

【实验一】屏障系统的操作

一、实验目的

掌握屏障系统设施操作的基本技能,设施布局,操作流程,饲料、笼器具等灭菌方法。

二、工作人员流程

1. 实验人员和动物管理人员在屏障区域内的走向 淋浴(风淋)室
穿戴衣帽鞋和口罩→清洁走廊→动物实验室→亚清洁走廊(污染走廊)→屏障系统外。注意:箭头指向不可逆反。

屏障系统示意图如图 11-1 所示。

(1) 穿戴衣帽鞋和口罩 选用防尘防静电、耐高压灭菌工作服,衣帽联体,鞋裤联体,戴上灭菌口罩。工作服每次使用后都必须经灭菌处理。

(2) 物品打包灭菌及流程:

1) 打包和灭菌:饮水瓶及饲料装入金属罐,金属罐及笼盒(装入垫料)、必要的实验器械必须经灭菌处理后送入清洁区域。高压蒸气灭菌参考指标为:饲料、笼器具和实验器械预真空 131℃,4 min;饮水 121℃,20 min。

2) 物品流程:打包^{双扉灭菌柜}→清洁走廊→动物实验室^{使用更换}→亚清洁走廊(污染走廊)→屏障系统外。注意:箭头指向不可逆反。

2. 环境控制

(1) 温度:22℃左右。

(2) 相对湿度:60%左右。

(3) 洁净度:≤10 000 级(SPF 级);≤100 级(无菌级)。

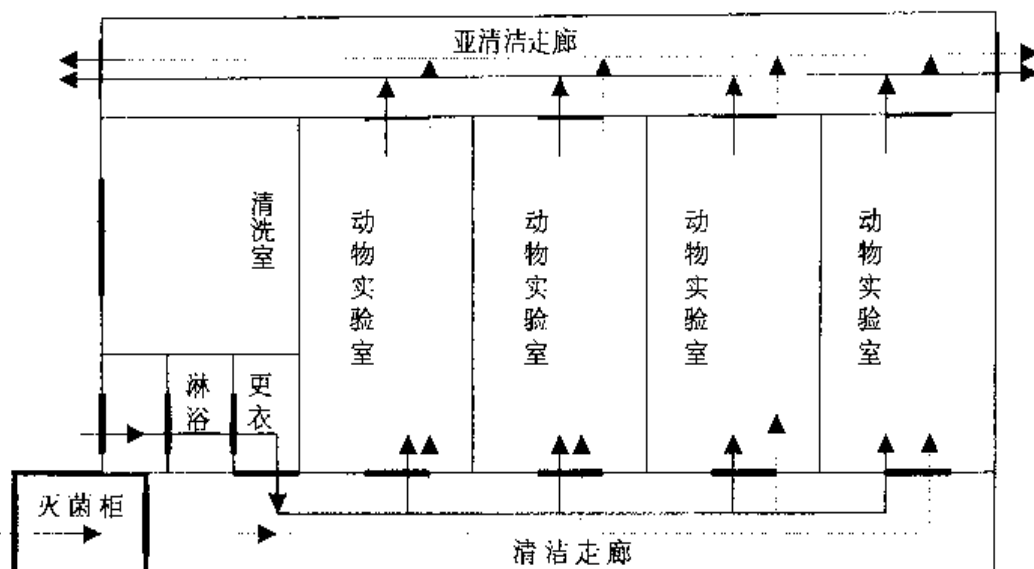


图 11-1 屏障系统示意图

三、注意事项

注意事项为:

- (1) 完善各项记录;
- (2) 实验后动物处理方法;
- (3) 废弃物处理方法。

(姚一康)

【实验二】 层流架和超净工作台的操作

一、实验目的

层流架是一种比较简易的空气屏障系统,超净工作台是在操作台上的空间局部地形成无尘无菌状态。两者配合使用适合小规模动物生产和动物实验。它们由初效、高效空气过滤系统和送风系统组合而成,通过空气过滤除去气流中的各种杂质,借助鼓风机的动力,把净化的空气均匀送向各饲养架或台面,使架面或台面的净化空气处于层流状态。层流架和超净工作台的清洁区与外界没有明显的物理界限,如果长时间维持其洁净度,更需掌握正确的使用方法。

二、操作过程

1. 层流架的消毒 启动层流架→打开紫外灯 1~2 h,用 0.2% 过氧乙酸由

内至外擦拭→2 h 后用 0.5% 的过氧乙酸由里到外擦拭(关上层流架玻璃门) 10 min→通风 1~2 h→微生物检测(培养皿)→合格者,准备使用;不合格者,重新消毒。

2. 层流架配超净工作台的操作 提前 20 min 打开超净工作台的紫外灯, 15 min 后关闭灯,同时打开通风开关。带好橡胶手套在消毒液内浸泡消毒。将高压灭菌后的物品在超净工作台上打开包装,把层流架调至强通风,依次取出鼠盒在超净工作台上换盒,加料、加水后戴上过滤帽,放入层流架内,随手关上玻璃门。整个层流架操作完毕,调至弱通风。全部工作完毕,关闭超净工作台,擦拭干净,再打开超净工作台的紫外灯 1~2 h。

三、注意事项

注意事项为:

- (1) 整个操作过程中,超净工作台不能停止送风。
- (2) 层流架在操作前后各打开一次紫外线灯。
- (3) 每操作一步,消毒一遍手套、镊子。
- (4) 层流架要随时关门,多扇门不能同时打开。
- (5) 为保持层流架的空气净化效果,每年更换中效无菌过滤膜 3~4 次。超净工作台的风机 2~3 年保养一次,依出风量更换滤材。

单向流层流架设备图见插图 3。

【实验三】 无菌隔离器的操作

一、原理

无菌隔离器是以隔离器为主体及其附属装置组成的饲养系统。用于隔离微生物,饲养无菌动物和已知菌动物,是防止微生物污染的有效屏障。其工作原理为:借助鼓风机输送空气,通过空气过滤器过滤灭菌,送入隔离器膜室内,经排气阀排出废气。目前国内使用最多的是塑料薄膜隔离器,其优点是易于观察、价格低廉、轻便、可多层放置于架上使用,缺点是容易破损导致污染,而且使用寿命较短。

二、操作

1. 无菌隔离器使用前的准备

- (1) 密闭性的检查:隔离器灭菌之前要进行两次检漏。首先对膜室检漏,其次对手套、内外盖帽等附件在安装好后检漏。膜室内充满空气,封闭所有开

口,放置7d左右,以隔离器的膨胀程度判断是否符合密闭性的要求。

(2) 隔离器的消毒:习惯采用2%过氧乙酸喷雾灭菌,持续24h以上,再通风48h,至隔离器内排出的气体不带酸味,方可使用。

2. 操作

(1) 灭菌物品的传递:将经过高压灭菌处理的水瓶、饲料、垫料放置于传递窗,用2%过氧乙酸喷雾灭菌,静置15min后,传入膜室。

(2) 动物的传递:应用运输隔离器对接将动物传入或传出隔离器。

(3) 取出粪便:将专用塑料袋固定并密封在粪便口处,打开排风孔,喷入2%过氧乙酸,静止15min后,打开粪便出口的密封门,将粪便推入塑料袋。塑料袋取下后作无害化处理。

三、注意事项

注意事项为:

(1) 隔离器的外环境必须定期消毒。

(2) 隔离器内所需物品必须经过灭菌处理。

(3) 隔离器的进风口附近放置干净的灭菌物,出风口附近放置待传出的脏物。

(4) 及时注意隔离器的供电情况和密闭性。

无菌隔离器设备图见插图4、5。

(杨丽萍)

【实验四】 独立通气笼盒的操作

一、实验原理

独立通气笼盒(individually ventilated cages, IVC)是一种新型的动物饲养和动物实验设备。IVC系统大幅度简化了大型屏障系统的操作程序,动物在笼盒内可维持SPF级洁净环境指标。由于废气集中外排,操作人员和实验人员与动物相对隔离,有效地保护了工作人员的健康。

二、操作过程

1. 操作人员要求 穿戴洁净工作衣帽鞋,戴上口罩和无菌乳胶手套。

2. IVC机械控制

(1) 检查笼盒密封性能:在保持额定换气次数的前提下,维持笼盒内正压

20 ~ 40 Pa。

(2) 检查环境控制指标:温度在 22℃ 左右;相对湿度为 60% 左右。

(3) 每次将笼盒移入超净台之前必须用消毒液仔细擦洗笼盒外表面。超净工作台宜连续运转,内表面经常用消毒液擦拭,并在操作前用紫外线照射数小时。

三、注意事项

注意事项为:

(1) 笼盒放回架上时要确保进排气孔对合严密。

(2) 物品灭菌方式 饲料笼器具和实验器械预真空 131℃, 4 min; 饮水 121℃, 20 min。

(3) 完善工作记录。

(4) 定期更换过滤材料。

(5) 定期测定设备环境控制指标,重点是尘埃粒子浓度(≤ 100 级)。

(6) 定期进行空盒落下菌测定。

独立通气笼盒设备图见插图 6 ~ 8。

(姚一康)

第二节 实验动物的基本操作技术

【实验一】 实验动物的抓取和固定

为使实验顺利进行,受试动物应保持安静。由于各种实验动物大小不同,习性各异,在抓取和固定过程中要胆大心细,确实达到抓取和固定好动物的目的。

一、小鼠

小鼠性情温顺、一般不主动咬人,但抓取不当时也可能被其咬伤。用右手将鼠尾部提起,放在笼具盖或粗糙的台面上,轻轻向后拉尾。在其向前抓行时,用左手拇指和示指抓住小鼠两耳后及头颈部皮肤,将鼠体置于左手掌心,将后肢拉直,左手无名指与小指按住尾巴与后肢(图 11-2)。在操作熟练后,可采用左手单手抓取法抓取,更为方便、快捷。

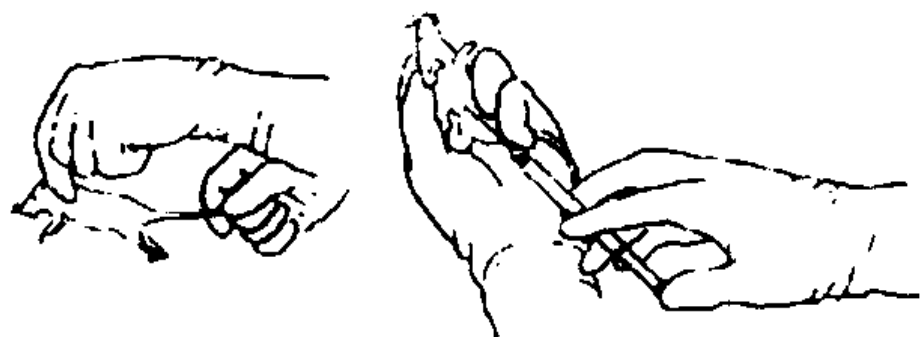


图 11-2 小鼠的抓取固定方法

二、大鼠

大鼠性情较烈,当其受威胁时,易咬伤人,故抓取时一定要特别注意。初学者应戴上纱手套以防咬伤。用右手轻提大鼠尾巴向后拉,左手迅速抓住鼠的头颈,注意手上力量,避免大鼠窒息。将鼠固定在左手中,右手即可进行实验操作。较大体形的大鼠用单手不容易固定,此时可用右手固定其后肢和尾巴,请助手协助进行实验操作。

三、豚鼠

豚鼠性情温顺、胆小,不咬人,抓取时不能用大力抓其腰腹,容易造成肝破裂而引起死亡。先用左(右)手拇指和示指握住颈部,整个手均匀用力轻轻提起,用另一手托其臀部(图 11-3)



图 11-3 豚鼠的抓取固定方法

四、兔

家兔比较驯服,不咬人,但爪较尖利,抓取方法不正确易被其抓伤。注意不要抓其两耳及拖拉四肢或提握腰部。在兔安静下来后,用右手抓住颈部的被毛与皮肤,轻轻提起,用左手托住其臀部,兔身的重量大部分落在左手上。也可用兔盒固定(图 11-4)或将兔固定在兔手术固定台上。

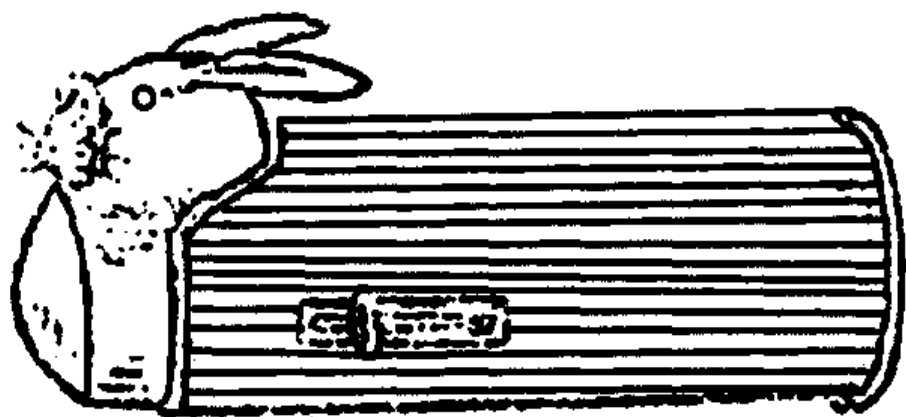


图 11-4 兔的盒式固定法

五、犬

实验用犬如毕格犬在抓取时较配合,但抓取未经调教的草狗时应特别注意安全。抓取时应用特制的钳或长柄夹夹住狗颈部,然后套上固定的皮带圈和铁链。需要进行注射或采血等操作时,可用狗夹夹住其颈部,将其压倒在地上,由助手将其四肢固定好后进行。为避免其咬人,应先绑扎住狗嘴。用绷带从颌下绕到上颌打一结,再绕向下颌打一结,最后将绷带绕至头后,在头后颈上打第 3 个结,上面再打上一个活结(图 11-5)。



图 11-5 犬嘴捆绑法

【实验二】 实验动物性别的鉴定

一、大鼠、小鼠、豚鼠

方法如下:

(1) 将动物抓取后,腹部朝上,观察比较肛门与生殖器之间的距离。距离近的为雌性,距离远的为雄性。

(2) 成年雌性动物中,大小鼠有 12 个乳头,豚鼠有 2 个乳头。

(3) 天气热时或性成熟后,雄性动物的睾丸一般会从腹腔降至阴囊内,此时易于区分。

二、兔

方法如下:

(1) 使兔下腹部朝向观察者,将生殖器周围的皮肤拨开,雄兔可见一圆孔,里面露出阴茎;雌兔为一条朝向尾部的长缝,呈椭圆形间隙,下端是阴道开口处。

(2) 雌兔乳头为 8~12 个。

(3) 天气热时或性成熟时,雄兔睾丸从腹腔降至阴囊内。

三、犬

犬类等体形较大动物的性别鉴定较容易,根据其暴露的生殖器等一般就可以区分雌雄,如雄狗有睾丸和阴茎,雌狗有乳头和阴道。

【实验三】 实验动物编号的标记方法

一、被毛染色法

常用于大鼠、小鼠等小动物的编号标记。可用苦味酸(黄色)、复红(红色)的乙醇饱和溶液染色。不同的颜色及染色部位代表不同的编号,如可用红色代表十位数,黄色代表个位数。不同部位染色代表不同的数字。一般染色部位顺序为:左前肢为 1,左腹部为 2,左后肢为 3,颈部为 4,背部中央为 5,尾根部为 6,右前肢为 7,右腹部为 8,右后肢为 9(图 11-6)。也可按照习惯采取不同的方法,应做到被毛染色清晰、易于分辨。在做长期实验时,为避免褪色,可每隔 2~3 周重染 1 次。

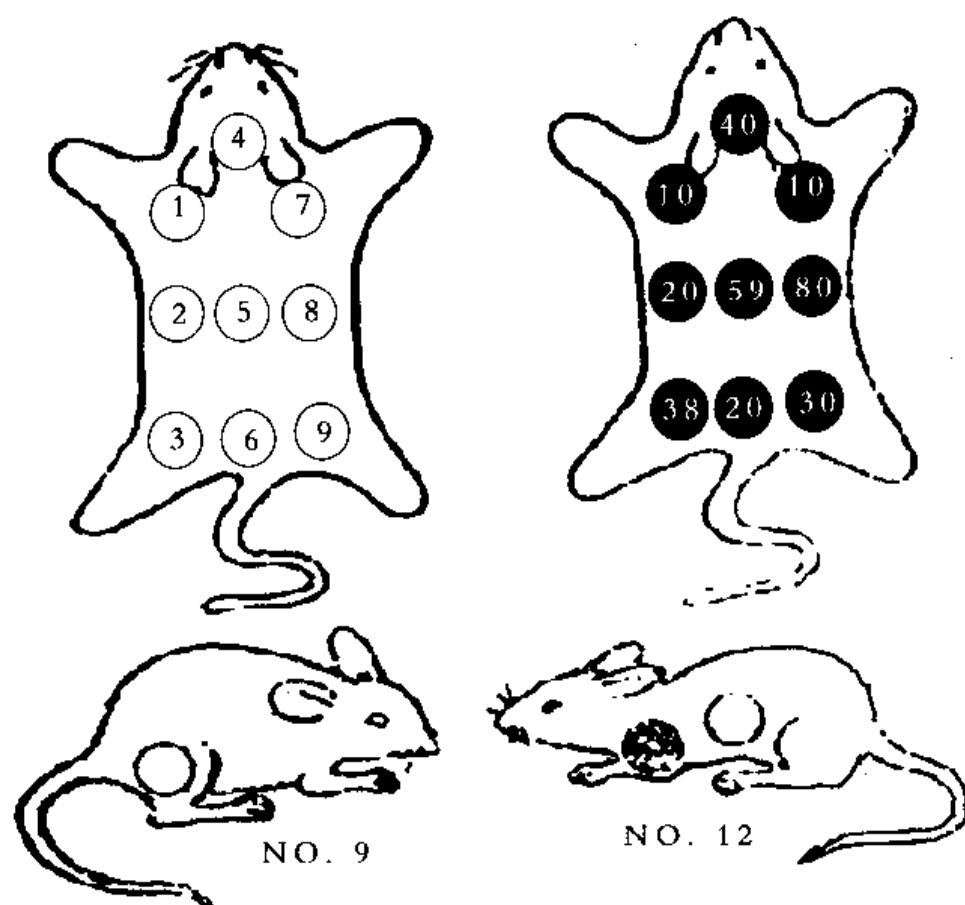


图 11-6 被毛染色标记方法

二、耳缘打孔法

用专门的打孔器在动物耳缘的不同部位打孔,用来表示特定的编号。一般左耳代表十位数,右耳代表个位数。耳缘打孔法可作终生标记,适于做长期实验用。

三、刺数钳烙印法

用刺数钳在动物耳上刺上号码,后用棉球蘸上溶于酒精中的黑墨涂在刺号上,可使号码永久固定,作为该动物的终身号,适用于长期或慢性实验的大动物编号。

四、号牌法

做较多数量的大动物实验时,可用金属制的号牌固定于实验动物耳上,或系于大动物的项圈上。

【实验四】 实验动物被毛的去除方法

一、剪毛法

将动物固定后,先用纱布蘸生理 NaCl 溶液湿润剪毛部位,用弯头剪紧贴动物皮肤将所需部位的被毛剪去,剪下的被毛应放入固定的容器内。

二、拔毛法

常用于被毛短而稀疏的部位如兔的耳缘静脉区。先将动物固定,用镊子或拇、示指将所需部位被毛拔去,涂上少量凡士林可更清楚地显示血管。

三、剃毛法

常用于大动物的手术前准备。先用肥皂水将剃毛部位充分润湿,用剃毛刀逆被毛方向剃毛。也可用专门的电动剃毛刀。

四、脱毛法

采用化学脱毛剂将动物被毛脱去。此法常用于大动物的无菌手术,或为了观察局部皮肤过敏反应等。一般用 8% 硫化钠水溶液作为脱毛剂。用干净毛笔蘸脱毛剂均匀涂在脱毛部位毛发根部,经 2 ~ 3 min 后,用温水洗去该部脱下的毛发,用干纱布将水擦干。

【实验五】 实验动物的给药方法

一、经口灌胃法

1. 大鼠、小鼠 一般用特制的灌胃针进行灌胃。用左手固定鼠,右手持注射器,灌胃针头沿一侧嘴角进入口腔,再通过食管进入胃内上部,将药液缓缓注入。如注入不通畅,动物伴有呕吐动作或强烈挣扎,表示针头未插入胃内,必须拔出后重新进行,避免注入肺内或造成食管穿孔。

2. 兔、猫 灌胃时一般先用特制张口器置于上下腭间,用布绳固定。然后用左手抓住动物的嘴,右手由张口器中央小孔处将一适当粗细的导尿管插入,沿食管进入胃上部,最后将装有药液的注射器连接上导尿管,慢慢将药物灌入胃内。

3. 犬 先用绷带绑住犬嘴,左手抓住嘴部,右手将狗一侧嘴角翻开,用灌胃管插入最后一对大白齿后的孔隙处,并顺着食管方向送入胃上部。一般达到

20 cm时即可。通过听声辨别等确定插入胃中后,即可注入药物。

二、经呼吸道吸入

1. 滴鼻法 用棉球取少量液体置于鼻下,或少量多次直接滴在鼠两侧鼻孔上,使其吸入。

2. 采用染毒瓶(柜)染毒法 染毒时将小鼠放入广口瓶内,在瓶内悬挂滴药滤纸,将一定量的易蒸发毒物滴加在滤纸上后迅速盖上瓶盖,用凡士林密封。观察动物反应,记录动物的中毒症状。染毒柜是体积较大的密闭容器,染毒原理与染毒瓶相同,适用于体积较大或数量较多的动物同时染毒。

三、经皮肤吸收

1. 大鼠、小鼠 大小鼠常采用浸尾法经皮肤给药。给药前先将动物放入特定的固定器内,尾巴露在外面。鼠尾浸入内盛药物的容器内,浸尾时间根据药物的作用而定,一般数小时,注意固定器与药物容器都要做好固定。

2. 兔、豚鼠 给药的部位一般在脊柱两侧的背部皮肤。用脱毛剂去除术部毛发,准备待用。使用前先检查皮肤是否受损。将药物直接涂于脱毛区域,使药物与皮肤充分接触,药物作用时间根据药物性状和实验要求而定。

四、注射给药

1. 皮下注射 常用的皮下注射部位有:①大、小鼠在下腹部两侧;②兔在背部脊柱两侧;③豚鼠在后大腿内侧;④犬、猫等在大腿外侧。

2. 皮内注射 此法用于观察皮肤血管通透性变化等。将注射部位的被毛去除,用带4号针头的注射器刺入皮下,然后针头向上挑,进入皮内。当药物注入皮内时,皮肤表面可见鼓起小泡。如小泡是否很快消失,说明不在皮内,应重换部位注射。

3. 肌肉注射 肌肉注射的部位一般选择肌肉丰满而无大血管、神经通过的臀部或大腿外侧。

4. 腹腔注射 多自下腹部两侧进针,针头进入腹部皮肤、肌层、腹膜后,左右晃动,避免注入脏器。

5. 静脉注射

(1) 大鼠、小鼠的尾静脉注射法:将大、小鼠用固定器固定,尾部涂抹少量酒精,使静脉充盈。用左手中指和示指卡住尾根部,拇指与中指拉直尾部。用带有4号针头的注射器刺入尾静脉。先观察有无回血,判断针头是确已进入尾静脉,然后缓慢注入药物(图11-7)。

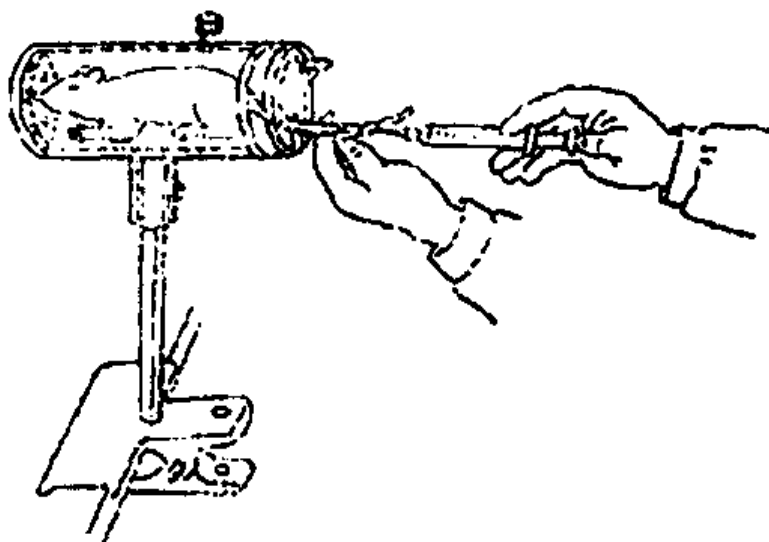


图 11-7 大鼠、小鼠尾静脉注射方法

(2) 兔耳缘静脉注射法:将兔用固定器固定,拔去耳缘部被毛,用二甲苯或酒精擦拭耳缘,使静脉充盈。用左手中指和示指压住耳根部,右手持注射器顺血流方向刺入静脉,观察有否血液回流,然后进行注射。

(3) 犬前肢内侧头静脉注射法:抓取和固定犬,将犬前肢根部用手握紧,或用胶皮管绑住,使静脉充盈。实验者左手托住狗前肢,右手持连有7号针头的注射器刺入内侧面皮下的头静脉,进针1cm后观察回血,即可注射。

【实验六】 实验动物的麻醉

一、挥发性麻醉药

常用的挥发性麻醉药有乙醚。

二、非挥发性麻醉药

非挥发性麻醉药的种类很多,最常用的是巴比妥类衍生物。一般通过腹腔、静脉等途径注射,可维持较长时间的麻醉状态,麻醉过程较平稳。也可用氯铵酮针剂。

【实验七】 实验动物的采血方法

一、大鼠、小鼠

1. 断头采血法 用拇指和示指捏紧头颈部皮肤,右手用剪子剪断颈动脉,

或把鼠头剪掉,对准盛血容器,血液即流入容器内。本方法适用于大批动物混合采血。

2. 摘眼球采血法 左手固定鼠,右手持眼科镊于眼球根部夹住把眼球摘去,将鼠倒置,眼眶内很快流出血来。此法采血量较断头法多。

3. 尾静脉切割采血法 将鼠装入固定器内,露出鼠尾。用二甲苯涂擦,使尾静脉充盈。用手术刀片切断一根尾静脉,血液即由创口流出约几滴。用此法采血量不多,一般血常规等试验用此法。

二、兔

1. 耳缘静脉采血法 采血方法同兔耳缘静脉注射法,采血后用棉球压迫止血。

2. 耳中央动脉采血法 将兔固定好,在耳中央动脉末端,沿动脉平行向心方向刺入动脉,进行采血。采血后用棉球压迫止血。

3. 心脏采血法 常用于较大动物兔、豚鼠等。固定动物,使胸部突出。用酒精局部消毒皮肤,在左侧第3~4肋间用左手示指触摸心脏搏动,辨别进针位置,选择心搏最强处进针同时观察回血,若血液回流进注射器,即可进行采血。

4. 颈总动脉、股动脉采血法 此法一般用于动物急性放血或处死。

三、犬

方法如下:

(1) 前肢内侧头静脉采血法,同注射法。

(2) 颈总动脉、股动脉采血法。

(3) 动物麻醉后,分离出所需血管,使其暴露清楚,用注射器沿血管平行(离心)方向刺入,抽取所需的血量。也可用插管或直接剪断方法,但需注意切口处血液喷溅。

【实验八】 实验动物的处死方法

一、大鼠、小鼠

1. 脊椎脱臼法 将鼠置于实验台上,左手拇指和示指按住鼠头颈部,右手抓住鼠尾根部用力向后斜上方拉,将脊髓与脑髓脱离,鼠立即死亡。

2. 急性失血法 采用摘眼球、剪断颈动脉或股动脉法造成急性大量失血而使其死亡。

3. 过量麻醉处死法 使用过量麻醉药使之死亡。

4. 气体窒息致死法 将鼠装入塑料袋等密闭容器内,通入二氧化碳或氮气等气体,使动物因缺氧窒息死亡。

二、猫、犬、兔

1. 空气栓塞法 向动物的静脉内注入一定量的空气,使之发生空气栓塞,形成严重的血液循环障碍而死亡。

2. 急性失血法 先使动物麻醉,分离股动脉或颈动脉,作动脉插管放血。

3. 化学药物致死法 注射一定量的化学药物而使动物迅速致死。常用10%氯化钾溶液静脉注射,犬用量为20~30 ml/只,兔为5~10 ml/只。

【实验九】 啮齿类动物性周期、交配情况的观察

一、啮齿类动物性周期的观察

啮齿类动物在动情周期不同阶段阴道黏膜发生比较典型的变化,可将阴道分泌物涂片染色,由此判断其所处性周期阶段:

(1) 固定大鼠,使其腹面朝上。

(2) 用滴管吸生理 NaCl 溶液 0.5 ml,插入大鼠阴道深部反复冲洗,吸出冲洗液1滴于载玻片上,推片,自然晾干。

(3) 用姬姆萨染液染色15 min,流水冲洗,镜检。

二、大鼠、小鼠交配的判断

通过对大、小鼠交配时间的确定,可以准确地推算胎鼠的鼠龄和分娩日期。

当动物交配时,精液射入雌性动物的阴道内,精液遇到空气而形成凝固物质,即“阴栓”。观察到阴栓就可以判断动物已交配。一般以阴栓出现时作为妊娠第1天。

一般大鼠在交配后1~2 h内阴栓就会从雌鼠的阴道中脱落下来,笼下面应放一个盘,以便次日清晨观察盘内是否有“阴栓”。

小鼠约在交配后的1 h,在雌鼠阴道口形成阴栓,较牢固,一般不会很快从阴道口脱落下来,可存留10~24 h。

【实验十】 无菌小鼠剖宫取胎手术

因有胎盘的屏障作用,体内的正常微生物菌群及大多数病原微生物不能通过胎盘感染胎仔,故胎仔处于“无菌”状态。通过无菌剖腹取胎获得的胎鼠可由

无菌母鼠代乳,维持在无菌隔离器中,这是获得无菌动物的惟一有效途径。操作步骤如下。

一、术前准备

1. 准备无菌代乳母鼠 选择产仔率高,母性好的无菌小鼠,它的交配日期应选择比剖宫母鼠提早 2~3 d,以利分娩后哺育胎仔。

2. 剖宫鼠的准备 清洁级小鼠,记录交配时间,预测预产期,手术安排在预产期前一到两天进行。

3. 手术隔离器准备 用 2% 过氧乙酸彻底喷洒消毒。传入经过高压灭菌的眼科镊子 2 把,眼科剪 1 把,生理 NaCl 溶液 1 瓶,玻璃培养皿若干,及其他手术器械。

二、手术过程

手术过程如下:

(1) 以颈椎脱臼法处死孕鼠,把孕鼠浸入 2% 过氧乙酸溶液中浸泡 30s 作体表灭菌。

(2) 孕鼠取仰卧位固定,用创巾覆盖孕鼠,暴露出腹部手术部位。

(3) 用眼科剪沿腹中线剪开腹部皮肤、腹肌和腹膜,暴露整个子宫。用止血钳分别夹住宫颈部、两侧子宫和卵巢韧带部位,远处剪断后取出子宫。

(4) 取下的子宫连同止血钳一起放入浸泡槽内 20 s。子宫由隔离器内从浸泡槽内端取出,生理 NaCl 溶液冲洗,剪开子宫膜将胎鼠连胎盘一起取出,放在垫上纱布的培养皿上。剥去胎衣、胎盘。

(5) 用棉球擦净幼鼠,特别是口鼻部的黏液,轻轻按摩胸腹部至新生鼠开始呼吸。

(6) 代乳:先移去代乳鼠及其亲生仔鼠,把剖宫产新生仔鼠放入原代乳鼠笼内染味 5~10 min,再放入无菌代乳鼠哺乳。

(7) 新生仔鼠存活后,作微生物检测,如各项指标均为阴性,则无菌取胎手术成功。

(潘 华 乔伟伟)

附录

附录一 实验动物环境设施指标

附表1 实验动物繁育、生产设施环境指标(静态)

项 目		指 标						
		小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠			犬、猴、猫、兔、小型猪			鸡
		普通环境	屏障环境	隔离环境	普通环境	屏障环境	隔离环境	屏障环境
温度(℃)		18~29	20~26		16~28	20~26		16~28
日温差(℃)		/	≤4		/	≤4		≤4
相对湿度(%)		≤40~70						
换气次数(次/小时)		8~10	10~20	20~50	8~10	10~20	20~50	10~20
气流速度(m/s)		0.1~0.2						
压强梯度(Pa)		/	20~50	100~150	/	20~50	100~150	20~50
空气洁净度(级)		/	10 000	100	/	10 000	100	10 000
落下菌数(个/皿)		≤30	≤3	无检出	≤30	≤3	无检出	≤3
氨浓度(mg/m ³)		≤14						
噪声(dB)		≤60						
照度	工作照度	150~300						
(lx)	动物照度	15~20			100~200			5~10
昼夜明暗交替时间(h)		12/12 或 10/14						

注:表中氨浓度为动态指示。

附表2 动物实验设施、设备环境指标(静态)

项 目	指 标										
	小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠			犬、猴、猫、兔、小型猪			鸡				
	普通环境	屏障环境	隔离环境	普通环境	屏障环境	隔离环境	隔离环境				
温度(℃)	19~26		20~25		16~26		18~22		16~26		
日温差(℃)	≤4		≤3		≤4		≤3		≤3		
相对湿度(%)	40~70										
换气次数(次/小时)	8~10		10~20		20~50		8~10		10~20	20~50	20~50
气流速度(m/s)	0.1~0.2										
压强梯度(Pa)	/		20~50		100~150		/		20~50	100~150	100~150
空气洁净度(级)	/		10 000		100		/		10 000	100	100
落下菌数(个/皿)	≤30		≤3		无检出		≤30		≤3	无检出	无检出

(续 表)

项 目		指 标						
		小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠			犬、猴、猫、兔、小型猪			鸡
		普通环境	屏障环境	隔离环境	普通环境	屏障环境	隔离环境	隔离环境
氨浓度(mg/m ³)		≤14						
噪声(dB)		≤60						
照度	工作照度	150~300						
(lx)	动物照度	15~20			100~200			5~10
昼夜明暗交替时间(h)		12/12 或 10/14						

注:表中氨浓度为动态指标。

附录二 各类动物所占笼具最小面积

附表3 各类动物所占笼具面积

项 目	小鼠(g)		大鼠(g)		豚鼠(g)		地鼠(g)		兔(kg)			
	<20	>20	<150	>150	<350	>350	<100	>100	<2.5	>2.5		
单养时(m ²)	0.006 5	0.01	0.015	0.025	0.03	0.065	0.01	0.012	0.20	0.46		
群养时(m ²)	0.016		0.08		0.09		0.09		0.93			
最小高度(m)	0.13	0.15	0.18	0.18	0.18	0.22	0.18	0.18	0.40	0.45		
项 目	猫(kg)		犬(kg)			猴(kg)			小型猪(kg)		鸡(kg)	
	<2.5	>2.5	<10	10~20	>20	<4	4~6	>6	<20	>20	<2	>2
单养时(m ²)	0.28	0.37	0.60	1.0	1.5	0.5	0.6	0.75	0.96	1.2	0.12	0.15
群养时(m ²)	/		/			/			/		/	
最小高度(m)	0.76		0.8	0.9	1.5	0.6	0.7	0.8	0.6	0.8	0.4	0.6

附录三 实验动物寄生虫学指标

附表4 小鼠和大鼠寄生虫学检测指标

动物等级			应排除寄生虫项目	动物种类	
				小 鼠	大 鼠
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	清 洁 动 物	体外寄生虫	●	●
			弓形虫	●	●
			兔脑原虫	○	○
			卡氏肺孢子虫	○	○
			全部蠕虫	●	●
			鞭毛虫	●	●
		纤毛虫	●	●	
			无任何可检测到的寄生虫	●	●

注:●为必须检测项目,要求阴性;○为必要时检查项目,要求阴性。

附表5 豚鼠、地鼠和兔寄生虫学检测指标

动物等级			应排除寄生虫项目	动物种类			
				豚鼠	地鼠	兔	
无茵动物	无特定病原体动物	清洁动物	普通动物	体外寄生虫	●	●	●
			弓形虫	●	●	●	
		普通动物	兔脑原虫	○		○	
			爱美尔球虫		○	○	
			卡氏肺孢子虫			●	
			全部蠕虫	●	●	●	
			鞭毛虫	●	●	●	
			纤毛虫	●			
		无任何可检测到的寄生虫					

注：●为必须检测项目，要求阴性；○为必要时检查项目，要求阴性。

附表6 犬和猴寄生虫学检测指标

动物等级			应排除寄生虫项目	动物种类	
				犬	猴
无特定病原体动物	普通动物	体外寄生虫	●	●	
		弓形虫	●	●	
		全部蠕虫	●	●	
		溶组织内阿米巴	○	●	
		疟原虫		●	
		鞭毛虫	●	●	

注：●为必须检测项目，要求阴性；○为必要时检查项目，要求阴性。

附录四 实验动物微生物学等级标准

附表7 小鼠、大鼠微生物学等级标准

动物等级			应排除微生物项目	动物种类	
				小鼠	大鼠
无菌动物	无特定病原体动物	清洁动物	沙门菌	●	●
			单核细胞增生性李斯特杆菌	○	○
			假结核耶尔森菌	○	○
			小肠结肠炎耶尔森菌	○	○
			皮肤病原真菌	○	○
			念珠状链杆菌	○	○
			支气管鲍特杆菌		●
			支原体	●	●
			鼠棒状杆菌	●	●
			泰泽病原体	●	●
			大肠埃希菌	○	
			淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒	○	
			汉坦病毒	○	●
			鼠痘病毒	●	
			小鼠肝炎病毒	●	
			仙台病毒	●	●
			嗜肺巴斯德杆菌	●	●
			肺炎克雷伯杆菌	●	●
			金黄色葡萄球菌	●	●
			肺炎链球菌	○	○
			乙型溶血性链球菌	○	○
			铜绿假单胞菌	●	●
			小鼠肺炎病毒	●	●
			呼肠弧病毒Ⅲ型	●	●
			小鼠细小病毒	●	
			小鼠脑脊髓炎病毒	○	
			小鼠腺病毒	○	
			多瘤病毒	○	
			大鼠细小病毒 RV 株		●
			大鼠细小病毒 H-1 株		●
			大鼠冠状病毒/大鼠涎腺腺炎病毒		●
			无任何可检测到的微生物	●	●

注：●为必须检测项目，要求阴性；○为必要时检查项目，要求阴性。

附表 8 豚鼠、地鼠和兔微生物学等级标准

动物等级				应排除微生物项目	动物种类		
					豚鼠	地鼠	兔
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	清 洁 动 物	普 通 动 物	沙门菌	●	●	●
				单核细胞增生性李斯特杆菌	○	○	○
				假结核耶尔森菌	○	○	○
				小肠结肠炎耶尔森菌	○	○	○
				皮肤病原真菌	○	○	○
				念珠状链杆菌	○	○	
				淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒	●	●	
				兔出血症病毒			▲
				多杀巴氏德杆菌	●	●	●
				支气管鲍特杆菌	●	●	
				泰泽病原体	●	●	●
				仙台病毒	●	●	
				兔出血症病毒*			●
				仙台病毒			●
				小鼠肺炎病毒	●	●	
				呼肠弧病毒Ⅲ型	●	●	
				轮状病毒			●
				嗜肺巴氏德杆菌	●	●	●
				肺炎克雷伯杆菌	●	●	●
				金黄色葡萄球菌	●	●	●
				肺炎链球菌	○	○	○
				乙型溶血性链球菌	●	○	○
				铜绿假单胞菌	●	●	●
				无任何可检测到的微生物	●	●	●

注：●为必须检测项目，要求阴性；○为必要时检查项目，要求阴性；▲为必须检测项目，可以免疫
* 为不能免疫，要求阴性。

附表9 犬、猴微生物学等级标准

动物等级			动物种类	
			犬	猴
无特定病原体动物	普通动物	沙门菌	●	●
		皮肤病原真菌	●	●
		布鲁杆菌	●	
		钩端螺旋体	△	
		志贺菌		●
		结核分枝杆菌		●
		狂犬病毒	▲	
		犬细小病毒	▲	
		犬温热病毒	▲	
		传染性犬肝炎病毒	▲	
		猕猴疱疹病毒 I 型(B 病毒)		●
		钩端螺旋体 *	●	
		小肠结肠炎耶尔森菌	○	○
		空肠弯曲杆菌	○	○
		猴逆转 D 型病毒		●
		猴免疫缺陷病毒		●
		猴 T 细胞趋向性病毒		●
		猴痘病毒		●
		上述 4 种犬病毒不免疫	●	

注:●为必须检测项目,要求阴性;○为必要时检查项目,要求阴性;△为必要时检测项目,可以免疫;▲为必须检测项目,要求免疫;*为不能免疫,要求阴性。

附录五 各种实验动物配合饲料营养成分指标 及微生物、化学污染物指标

附表 10 小鼠、大鼠配合饲料营养成分指标

指 标	维持饲料	生长繁殖饲料
水分(%)	10	10
粗蛋白(%)	18	20
粗脂肪(%)	4	4
粗纤维(%)	5	5
粗灰分(%)	8	8
钙(%)	1.0~1.8	1.0~1.8
磷(%)	0.6~1.2	0.6~1.2
钙:磷	1.2~1.7:1	1.2~1.7:1
赖氨酸(%)	0.82	1.32
甲硫氨酸+胱氨酸(%)	0.53	0.78
精氨酸(%)	0.99	1.1
组氨酸(%)	0.4	0.55
色氨酸(%)	0.19	0.25
苯丙氨酸+酪氨酸(%)	1.1	1.3
苏氨酸(%)	0.65	0.88
亮氨酸(%)	1.44	1.76
异亮氨酸(%)	0.7	1.03
缬氨酸(%)	0.84	1.17
维生素 A(IU/kg)	7 000	14 000
维生素 D(IU/kg)	800	1 500
维生素 E(IU/kg)	60	120
维生素 K(mg/kg)	3	5
维生素 B ₁ (mg/kg)	8	13
维生素 B ₂ (mg/kg)	10	12
维生素 B ₆ (mg/kg)	6	12
烟酸(mg/kg)	45	60
泛酸(mg/kg)	17	24

(续 表)

指 标		维持饲料	生长繁殖饲料
叶酸 (mg/kg)	≧	4	6
生物素 (mg/kg)	≧	0.1	0.2
维生素 B ₁₂ (mg/kg)	≧	0.2	0.022
胆碱 (mg/kg)	≧	1 250	1 250
镁 (%)	≧	0.2	0.2
钾 (%)	≧	0.5	0.5
钠 (%)	≧	0.2	0.2
铁 (mg/kg)	≧	100	120
锰 (mg/kg)	≧	75	75
铜 (mg/kg)	≧	10	10
锌 (mg/kg)	≧	30	30
碘 (mg/kg)	≧	0.5	0.5
硒 (mg/kg)		0.1 ~ 0.2	0.1 ~ 0.2

附表 11 犬配合饲料营养成分指标

指 标		维持饲料	生长繁殖饲料
水分 (%)	≧	10	10
粗蛋白 (%)	≧	20	24
粗脂肪 (%)	≧	4.5	6.5
粗纤维 (%)	≧	3	3
粗灰分 (%)	≧	9	9
钙 (%)		0.7 ~ 1	1.0 ~ 1.5
磷 (%)		0.5 ~ 0.8	0.8 ~ 1.2
钙:磷		1.2 ~ 1.4:1	1.2 ~ 1.4:1
赖氨酸 (%)	≧	0.71	1.11
甲硫氨酸 + 胱氨酸 (%)	≧	0.54	0.72
精氨酸 (%)	≧	0.69	1.35
组氨酸 (%)	≧	0.25	0.48
色氨酸 (%)	≧	0.21	0.23
苯丙氨酸 + 酪氨酸 (%)	≧	1	1.56
苏氨酸 (%)	≧	0.65	0.78

(续 表)

指 标	维持饲料	生长繁殖饲料
亮氨酸(%)	0.81	1.6
异亮氨酸(%)	0.5	0.79
缬氨酸(%)	0.54	1.04
维生素 A(IU/kg)	8 000	10 000
维生素 D(IU/kg)	2 000	2 000
维生素 E(IU/kg)	40	50
维生素 K(mg/kg)	0.1	0.9
维生素 B ₁ (mg/kg)	6	13
维生素 B ₂ (mg/kg)	4	5
维生素 B ₆ (mg/kg)	5	6
烟酸(mg/kg)	50	50
泛酸(mg/kg)	9	27
叶酸(mg/kg)	0.16	1
生物素(mg/kg)	0.2	0.2
维生素 B ₁₂ (mg/kg)	0.03	0.068
胆碱(mg/kg)	1 400	2 000
镁(%)	0.15	0.2
钾(%)	0.5	0.7
钠(%)	0.39	0.44
铁(mg/kg)	150	250
锰(mg/kg)	40	60
铜(mg/kg)	12	14
锌(mg/kg)	50	60
碘(mg/kg)	1.4	1.7
硒(mg/kg)	0.1~0.2	0.1~0.2

附表 12 猴配合饲料营养成分指标

指 标	维持饲料	生长繁殖饲料
水分(%)	10	10
粗蛋白(%)	16	21
粗脂肪(%)	4	5
粗纤维(%)	4	4
粗灰分(%)	7	7
钙	0.8~1.2	1.0~1.4
磷(%)	0.6~0.8	0.7~1.0
钙:磷	1.2~1.5:1	1.2~1.5:1
赖氨酸(%)	0.85	1.2
甲硫氨酸+胱氨酸(%)	0.6	0.79
精氨酸(%)	0.99	1.29
组氨酸(%)	0.44	0.48
色氨酸(%)	0.23	0.27
苯丙氨酸+酪氨酸(%)	1.31	1.54
苏氨酸(%)	0.63	0.79
亮氨酸(%)	1.35	1.59
异亮氨酸(%)	0.72	0.82
缬氨酸(%)	0.90	1.09
维生素 A(IU/kg)	10 000	15 000
维生素 D(IU/kg)	2 200	2 200
维生素 E(IU/kg)	55	65
维生素 K(mg/kg)	1	1
维生素 B ₁ (mg/kg)	4	16
维生素 B ₂ (mg/kg)	5	16
维生素 B ₆ (mg/kg)	5	13
烟酸(mg/kg)	50	60
泛酸(mg/kg)	13	42
叶酸(mg/kg)	0.2	2
生物素(mg/kg)	0.1	0.4
维生素 B ₁₂ (mg/kg)	0.03	0.05
维生素 C(mg/kg)	1 700	2 000

(续 表)

指 标		维持饲料	生长繁殖饲料
胆碱 (mg/kg)	≥	1 300	1 500
镁 (%)	≥	0.1	0.15
钾 (%)	≥	0.7	0.8
钠 (%)	≥	0.3	0.4
铁 (mg/kg)	≥	120	180
锰 (mg/kg)	≥	40	60
铜 (mg/kg)	≥	13	16
锌 (mg/kg)	≥	110	140
碘 (mg/kg)	≥	0.5	0.8
硒 (mg/kg)		0.1 ~ 0.2	0.1 ~ 0.2

附表 13 兔配合饲料营养成分指标

指 标		维持饲料	生长繁殖饲料
水分 (%)	≤	11	11
粗蛋白 (%)	≥	14	17
粗脂肪 (%)	≥	3	3
粗纤维 (%)	≤	10 ~ 15	10 ~ 15
粗灰分 (%)	≤	9	9
钙 (%)		1 ~ 1.5	1.0 ~ 1.5
磷 (%)		0.5 ~ 0.8	0.5 ~ 0.8
钙: 磷		1.3 ~ 2.0: 1	1.3 ~ 2.0: 1
赖氨酸 (%)	≥	0.7	0.8
甲硫氨酸 + 胱氨酸 (%)	≥	0.5	0.6
精氨酸 (%)	≥	0.7	0.8
组氨酸 (%)	≥	0.3	0.35
色氨酸 (%)	≥	0.22	0.27
苯丙氨酸 + 酪氨酸 (%)	≥	1.1	1.3
苏氨酸 (%)	≥	0.56	0.65
亮氨酸 (%)	≥	1.15	1.3

(续 表)

指 标	维持饲料	生长繁殖饲料
异亮氨酸(%)	0.6	0.72
缬氨酸(%)	0.75	0.83
维生素 A(IU/kg)	6 000	12 500
维生素 D(IU/kg)	700	1 250
维生素 E(IU/kg)	50	70
维生素 K(mg/kg)	0.3	0.40
维生素 B ₁ (mg/kg)	7.0	10.0
维生素 B ₂ (mg/kg)	8.0	15.0
维生素 B ₆ (mg/kg)	6.00	9.00
维生素 B ₁₂ (mg/kg)	0.020	0.030
烟酸(mg/kg)	40.0	55.0
泛酸(mg/kg)	12.0	19.0
叶酸(mg/kg)	1.00	3.00
生物素(mg/kg)	0.20	0.45
胆碱(mg/kg)	1 000	1 200
镁(%)	0.2	0.3
钾(%)	0.6	1.0
钠(%)	0.2	0.3
铁(mg/kg)	100	150
锰(mg/kg)	40.0	60.0
铜(mg/kg)	9.0	14.0
锌(mg/kg)	50.0	60.0
碘(mg/kg)	0.40	1.10
硒(mg/kg)	0.10 ~ 0.20	0.10 ~ 0.20

附表 14 豚鼠配合饲料营养成分指标

指 标	维持饲料	生长繁殖饲料
水分(%)	11	11
粗蛋白(%)	17	20
粗脂肪(%)	3	3
粗纤维(%)	10~15	10~15
粗灰分(%)	9	9
钙(%)	1~1.5	1.0~1.5
磷(%)	0.5~0.8	0.5~0.8
钙:磷	1.3~2.0:1	1.3~2.0:1
赖氨酸(%)	0.75	0.85
甲硫氨酸+胱氨酸(%)	0.54	0.68
精氨酸(%)	0.80	1.0
组氨酸(%)	0.34	0.40
色氨酸(%)	0.24	0.28
苯丙氨酸+酪氨酸(%)	1.20	1.50
苏氨酸(%)	0.65	0.75
亮氨酸(%)	1.25	1.35
异亮氨酸(%)	0.72	0.80
缬氨酸(%)	0.80	0.93
维生素 A(IU/kg)	7 500	12 500
维生素 D(IU/kg)	700	1 250
维生素 E(IU/kg)	50	70
维生素 K(mg/kg)	0.3	0.4
维生素 B ₁ (mg/kg)	7.0	10.0
维生素 B ₂ (mg/kg)	8.0	15.0
维生素 B ₆ (mg/kg)	6.00	9.00
维生素 B ₁₂ (mg/kg)	0.020	0.030
烟酸(mg/kg)	40.0	55.0
泛酸(mg/kg)	12.0	19.0
叶酸(mg/kg)	1.00	3.00
生物素(mg/kg)	0.20	0.45
胆碱(mg/kg)	1 000	1 200

(续表)

指 标	维持饲料	生长繁殖饲料
维生素 C (mg/kg) $\geq$	1 500	1 800
镁 (%) $\geq$	0.2	0.3
钾 (%) $\geq$	0.6	1.0
钠 (%) $\geq$	0.2	0.3
铁 (mg/kg) $\geq$	100	150
锰 (mg/kg) $\geq$	40.0	60.0
铜 (mg/kg) $\geq$	9.0	14.0
锌 (mg/kg) $\geq$	50.0	60.0
碘 (mg/kg) $\geq$	0.40	1.10
硒 (mg/kg)	0.10 ~ 0.20	0.10 ~ 0.20

附表 15 微生物指标

项 目	小鼠、大鼠	兔	豚鼠	地鼠	犬	猴
菌落总数 (cfu/g)	5×10^4	1×10^5	1×10^5	1×10^5	5×10^4	5×10^4
大肠菌群 (MPN/100g)	30	90	90	90	30	30
真菌和酵母数 (cfu/g)	100	100	100	100	100	100
致病菌 (沙门菌)	不得检出	不得检出	不得检出	不得检出	不得检出	不得检出

附表 16 化学污染物指标

项 目	指 标
砷 (mg/kg)	0.7
铅 (mg/kg)	1.0
镉 (mg/kg)	0.2
汞 (mg/kg)	0.02
六六六 (mg/kg)	0.3
滴滴涕 (mg/kg)	0.2
黄曲霉素 B1 (μ g/kg)	20.0

附录六 试题库

第一章 绪论

一、名词解释

1. 实验动物
2. 实验动物学
3. 实验用动物
4. 动物实验方法学

二、简答题

1. 实验动物学的研究范畴包括哪些内容?
2. 实验动物在生命科学研究中应用于哪些方面?
3. 何谓“三致”试验?
4. 简述“3R”。
5. 《实验动物管理条例》和《医学实验动物管理实施细则》分别于何时,由何部门制定颁布?

第二章 实验动物的遗传学

一、名词解释

1. 品系
2. 品种
3. 亚系
4. 同源突变近交系
5. 同源导入近交系
6. 重组近交系
7. 核心群
8. 近交系动物
9. 系统杂交动物
10. 封闭群动物
11. 分离近交系动物
12. 突变系动物
13. 无特定病原体(SPF)动物

二、简答题

1. 同源突变近交系动物和同源导入近交系动物之间有何区别?

2. 近交系动物具有哪些特性？常用的近交系品种有哪些？
3. 封闭群动物具有哪些特点？
4. 简述 SPF 级以上科研用动物的主要优点。
5. 简述实验动物遗传质量监测的意义及原则。
6. 简述近交系动物遗传质量监测目的及方法。

第三章 实验动物的微生物学分类

一、名词解释

1. 普通级动物
2. 清洁级动物
3. SPF 动物
4. 无菌动物

二、简答题

简述按微生物要求实验动物的分类。

第四章 实验动物常见的传染性疾病和微生物学质量监测

一、名词解释

1. 传染病
2. 人畜共患病
3. 化学消毒法
4. 小鼠传染性脱脚病
5. 流行性出血热
6. 狂犬病
7. 哨兵动物
8. 犬瘟热
9. 犬细小病毒
10. 布鲁菌病
11. 猫泛白细胞减少症

二、简答题

1. 传染病主要防疫的原则和措施有哪些？
2. 动物的健康检查应以哪几方面进行？
3. 常见的人畜共患病有哪些？应怎样预防和控制？
4. 如何进行实验动物的微生物和寄生虫检测？

第五章 实验动物的环境控制

一、名词解释

1. 相对湿度
2. 新风换气次数
3. 隔离环境
4. 屏障环境
5. 普通环境

二、简答题

1. 列出大、小鼠普通环境、屏障环境、隔离环境实验动物环境及设施国家标准各项指标,并试比较异同点。
2. 国家标准中实验动物繁育、生产设施环境是否可使用循环空气?使用循环空气条件是什么?
3. 简述实验动物的饲养条件对笼器具的要求?
4. 饲养实验动物使用的垫料要求?
5. 试述实验动物设施中各种组成布局的原则。

第六章 实验动物的营养和饲料

一、名词解释

1. 必需氨基酸
2. 限制氨基酸
3. 必需脂肪酸
4. 日粮
5. 蛋白质的互补作用
6. 配合饲料

二、简答题

1. 简述六大营养素及主要生理功能。
2. 试述配合饲料的基本要求。
3. 试比较饲料的3种消毒方法。
4. 试述颗粒饲料的优点。

第七章 常用实验动物

一、名词解释

1. 阴栓

2. 定期同居法
3. 刺激性排卵的动物

二、简答题

1. 小鼠的饲养管理需注意些什么?
2. 实验小鼠有哪些常用近交系和封闭群? 各有什么特点?
3. 实验小鼠在生物医学中的应用有哪些?
4. 试述大小鼠的生理学特性。
5. 大鼠的解剖学上有什么特点?
6. 大鼠在生物医学中的应用有哪些?
7. 试述豚鼠的生物学特性。
8. 试举例说明豚鼠在生物医学中的应用。
9. 豚鼠的饲养管理需注意哪些问题?
10. 简述兔的生物学特性。
11. 试举例说明兔在生物医学中的应用。
12. 兔的饲养管理需注意哪些问题?
13. 简述犬在医学研究中的主要应用(4 点以上)。
14. 简述犬的主要行为与习性。
15. 简述小型猪的生物学特性。
16. 简述我国主要小型猪品种。
17. 简述“性皮肤”现象。
18. 简述猕猴的主要生物学特性。
19. 简述近交系动物大量繁殖方法——“红绿灯”制。

第八章 人类疾病动物模型

一、名词解释

1. 自发性的动物模型
2. 诱发性动物模型
3. 免疫缺陷动物模型
4. 转基因动物
5. 人类疾病动物模型

二、简答题

1. 裸小鼠有哪些特点?
2. 评价动物模型共有几个方面?
3. 试述使用疾病动物模型的意义。

第九章 实验动物的选择和应用

简答题

1. 简述实验动物选择的原则。
2. 简述实验动物选择应考虑的因素。

第十章 实验动物与动物实验的生物安全

一、名词解释

1. 生物危害
2. 生物安全
3. 气溶胶

二、简答题

1. 简述生物安全的原理。
2. 确定感染性的实验微生物危害程度时须考虑哪些基本因素？
3. 简述生物安全在实验动物工作中的意义。
4. 简述实验动物工作中生物危害的表现形式及其发生原因。
5. 预防控制生物危害的一般原则是什么？
6. 如何在实验动物工作中预防控制生物危害？
7. 简述不同生物安全等级动物实验设施的标准操作规范。
8. 举例说明应用于实验动物的生物安全设施中屏障的组成。



插图1 汽化过氧消毒机(VHP)

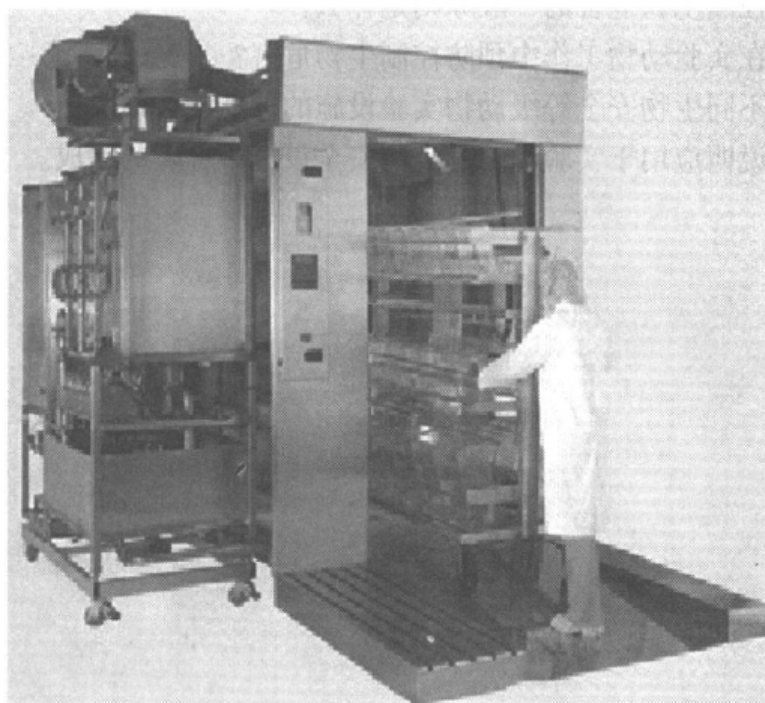


插图2 动物笼架、饲养瓶、饲养笼清洗机

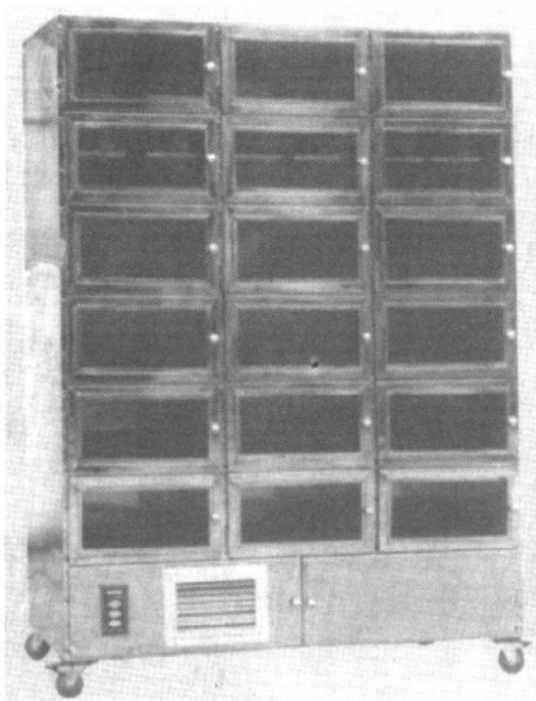


插图3 单向气流式层流架 DJB-1 型

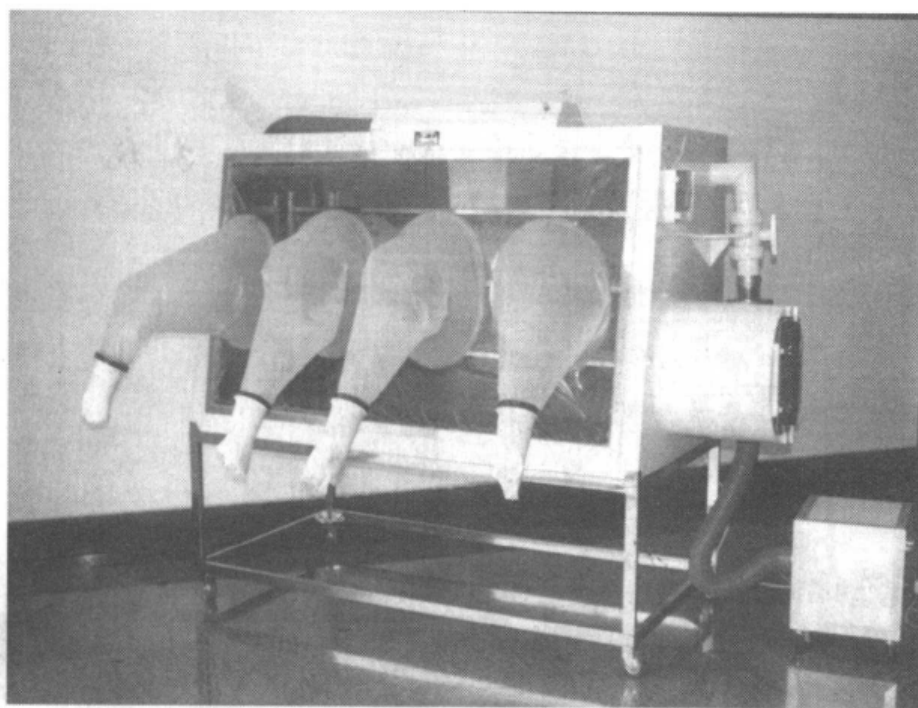


插图4 SSI 大型隔离器



插图 5 II 型 SPF 鸡隔离器



插图 6 智能化独立送回风净化笼具(I—IVC)