

快速净化小鼠种群的新方法

张业彬 吴惠英 王春玲 李淑娟 邢瑞昌

(中国药品生物制品检定所,北京 100050)

摘要 本文报告不经剖腹产术,直接从大生产鼠群中挑选 1—2 日龄乳鼠,经 0.4% 新洁尔消毒处理后,引入清洁环境,用清洁级 NIH 小鼠作保姆,净化小鼠种群的简易快速新方法。

目前,我国大多数实验小鼠种群或生产种群仍处在开放环境中饲养,并且,多数种群未经微生物净化处理,在这类实验动物中,不同程度地存在各种寄生虫,致病菌及病毒,尤其是前者更为普遍,很难满足各项科研、检定工作的要求。如果采用常规的剖腹产术净化小鼠种群,不但工作量大、费时间(尤其是净化远交系动物,剖腹成功 100 只母鼠要花 1—2 年时间),费动物,而且,设备和技术要求都比较复杂,大多数饲养单位尚未具备这种条件。为解决这一矛盾,我们根据小鼠胃肠道菌丛移生和生态变化的某些规律,探讨出一种简易、快速、便于推广的新方法。

本方法是从大生产鼠群中,挑选出 1—2 日龄的乳鼠(远交系动物每窝只取 1 仔),一次选够净化动物种群所需的动物数,经 0.4% 新洁尔灭溶液(33℃ 左右)浸浴、擦净后,直接引入清洁环境,用清洁级 NIH 小鼠¹⁾作保姆代乳,每只保姆哺育 8—10 只幼仔。这一过程只需 20—30 分钟即能完成剖腹产术 1 年以上才能完成的工作量。育成后,经细菌、病毒及寄生虫检查,可以达到净化小鼠种群的目的。

(一) 材料与方法

1. 材料

(1) 消毒液 用新洁尔灭配成 0.4% 的溶液大约 5000 毫升,置干净浴盘或经灭菌的鼠盒内,使用时保持 33℃ 左右。

(2) 擦洗布 经 121℃ 30 分钟高压灭菌的

纱布数块,擦净浸浴后的乳鼠用。

(3) 灭菌衣服、口罩、拖鞋、一次性薄膜手套,供操作时使用

2. 方法

(1) 由普通小鼠饲养员穿戴清洁薄膜手套从常规昆明小鼠生产群中挑选 1—2 日龄的乳鼠,每窝只取 1 仔,一次 64 只(根据需要可多可少),迅速转交给净化人员。

(2) 把乳鼠置 33℃, 0.4% 新洁尔灭消毒液中快速浸浴几次,然后用灭菌纱布擦净,再用灭菌纱布包好,转入清洁环境。

(3) 用产仔后 1—3 天的清洁级 NIH 母鼠代乳,每只母鼠哺育 8—10 只乳鼠,共用母鼠 8 只。

(4) 净化小鼠的饲养、管理方法与清洁级动物的相同,即饮水、垫料、饲料经灭菌处理。

(5) 育成后的净化昆明小鼠,作细菌、病毒及寄生虫检查,并以生产群小鼠和保姆种群作对照。

(6) 用此法建立的清洁级昆明种群与同时用剖腹产术建立的昆明种群(净化来自同一生产群)的基因杂合程度作比较。

(二) 结果与讨论 经净化后育成的昆明小鼠(2.5 月龄)作细菌、病毒及寄生虫检查,其结果(见表 1、2、3)。从微生物检查结果看,用

1) NIH 小鼠:又名 N: NIH (Sw),来源 Swiss, 1936 年美国国立卫生研究所育成近交系,后来采用轮回交配,即远交方式繁殖,至今已有 10 多年历史。

这种方法净化的小鼠完全达到清洁级(二级)动物的要求,并接近三级动物微生物检定要求。它可以排除体内、外各种寄生虫,达到净化寄生虫的目的。从表1的细菌净化结果看,是比较满意的,在生产群中出现的念珠状链球菌是二级动物必须排除的细菌,净化后已被排除。金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌属三级动物检测项目,净化后亦被排除。这说明净化的结果远超过清洁级动物的微生物质量要求。病毒的检查结果也一样,全部结果达到阴性。

表1 细菌检查结果

细菌	净化组	保姆组	生产群
沙门氏菌 ^a	-	-	-
假结核耶氏菌 ^a	-	-	-
出血败血性巴氏杆菌 ^a	-	-	-
支气管败血性波氏杆菌 ^a	-	-	-
鼠棒状杆菌 ^a	-	-	-
念珠状链球菌 ^a	-	-	+
肺炎双球菌 ^{a,b}	-	-	-
结肠耶尔氏菌 ^{a,b}	-	-	-
肺炎克雷伯氏杆菌 ^{a,b}	-	-	+
肺炎链球菌 ^{a,b}	-	-	-
嗜肺巴氏杆菌 ^{a,b}	+	+	-
化脓性链球菌 ^{a,b}	-	-	-
金黄色葡萄球菌 ^{a,b}	-	-	+
绿脓杆菌 ^{a,b}	-	-	+

注：“a”为清洁级(二级)动物规定的检查项目；“a,b”为SPF(三级)动物规定的检查项目；“-”为阴性；“+”为阳性。以上均适用其它各表。

表2 寄生虫检查结果

寄生虫	净化组	保姆组	生产群
线虫	-	-	+
绦虫	-	-	+
体外寄生虫	-	-	+

基于上述,采用非剖腹产术净化小鼠种群的方法是快速有效的,它可以把体内、外大多数致病微生物(尤其是各种寄生虫)净化掉。

一般地说,保持在子宫内的动物(胎仔)是处于无菌状态的,出生后,其胃肠道菌丛的变

表3 病毒检查结果

病毒	净化组	保姆组	生产群
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒 ^a	-	-	-
流行性出血热病毒 ^a	-	-	-
小鼠脱却病病毒 ^a	-	-	-
鼠肝炎病毒 ^a	-	-	-
仙台病毒 ^b	-	-	-
小鼠肺炎病毒 ^b	-	-	-
呼肠孤病毒3型 ^b	-	-	-
小鼠微小病毒 ^b	-	-	±
多瘤病毒 ^b	-	-	+
脑心肌炎病毒 ^b	-	-	-
K病毒 ^b	-	-	-
小鼠腺病毒 ^b	-	-	-
小鼠脑脊髓炎病毒 ^b	-	-	-

化,受年龄、食物、环境等各种因素影响。在出生后的头几天,只有少数正常菌从移生胃肠道内,有时到两周龄才有厌氧菌(最普通的代表为大肠杆菌和产黄菌)移植到大肠繁殖(Schae-dler et al., 1965)。大约11日龄,小鼠开始摄食固体饲料^[7],两周龄时,由于食物的改变,才伴随有效和众多的梭形菌、拟杆菌、螺旋体、丙酸菌、链状细菌及其它明确表示致病的细菌定居,总共超过80种^[1-4,6]。说明致病菌不会在出生的最初几天内而在动物胃肠道内定居。这给我们探讨新的快速净化小鼠种群方法提供了依据。

对于寄生虫,一般都是由于吞食虫卵而感染,或体外寄生虫在小鼠长毛后才有立足之地。而在动物出生的头几天内,以乳为食的幼仔不可能吞食虫卵;体外寄生虫则难以在裸体上栖身,经新洁尔灭浸浴、擦净后,可以处理存在于体外表的有害寄生物。

以这种方法净化后建立的昆明种群与同时以剖腹产术净化后建立的种群比较,前者的基因杂合程度要比后者高(24:18)。这说明,从保留基因的杂合程度看,前法比后法占优势,因为,每窝取1仔避免了近亲交配的可能性,选择的基因范围也广。适合于我国目前大多数饲养单位的实际情况。

(三) 小结 直接从大生产鼠群中挑选

1—2 日龄乳鼠, 经 0.4% 新洁尔灭溶液消毒处理后, 引入清洁环境, 用清洁级 NIH 小鼠代乳。建立清洁鼠群的方法, 其优点为:

1. 净化过程的设备和技术简单易行, 根据实际情况, 可用层流架代替清洁环境, 1—2 个层流架即可达到目的;

2. 净化速度快, 几十分钟即可净化一个小鼠种群, 而剖腹产术则要花大量时间;

3. 成本低, 净化过程不需要处理母鼠, 不影响原种群的正常生产 (昆明小鼠每胎产仔 10—13 只, 只留 8—10 只); 保姆用量少, 每只保姆可哺乳 8—10 只来自不同母鼠的小仔。

4. 净化后建立的种群基因杂合程度比剖腹产术净化后建立的种群高。

参 考 文 献

- [1] Brown and Balish 1978 Gastrointestinal microecology of BALB/C nude mice. *Appl. Environ.* 36: 144—159.
- [2] Freter 1974 Interactions between mechanisms controlling the intestinal microflora. *Am. J. Clin. Nutr.* 27: 1409—1416.
- [3] Gordon and Dubos 1970 The anaerobic bacterial flora of the mouse cecum. *J. Exp. Med.* 132: 251—260.
- [4] Harris et al., 1976 Anaerobic bacteria from the large intestine of mice. *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 907—912.
- [5] Hazenberg et al 1977 The clostridial flora of conventional mice. *Z. Versuchstierkd.* 19: 167—174.
- [6] Koopman and Kennis 1977 Differentiation of bacteria isolated from mouse cecum. *Z. Versuchstierkd.* 19: 174—181.
- [7] Lee and Gemmill 1972 Changes in the mouse intestinal microflora during weaning: Role of volatile fatty acids *Infect. Immun.* 5: 1—7.

八 哥 的 繁 殖 观 察*

于 晓 平

(陕西省动物研究所, 西安 710032)

席 咏 梅

(陕西朱鹮保护观察站)

摘要 于 1988 年 3—7 月在陕西省汉中地区勉县铜钱坝乡陈家湾村 (东经 106°29', 北纬 33°06'), 对八哥的营巢、产卵、孵化和幼雏的生长发育——包括体重、体长、翅长、嘴峰、跗蹠以及飞羽和尾羽的生长等进行了初步观察。八哥树洞营巢, 窝卵数为 6, 孵化期 18 天, 育雏期约 25 天。飞羽及复羽的生长约需 17—20 天。

八哥 *Acridotheres cristatellus* 属椋鸟科八哥属, 是人们普遍喜爱的笼养鸟之一。它体形稍显粗笨, 羽色亦不甚华丽, 但其性格驯顺, 善仿他鸟音调, 能效人言^[1], 易于饲养, 很易成为饲养者的宠物。加之它可捕食大量稻蝗、金龟子、蝼蛄等农作物害虫^[2], 因此是一种很有利用和保护价值的鸟类。关于其繁殖习性仅 La Touche^[3] 和郑作新^[2]略有记载。我们于 1988 年 3—7 月在陕西省勉县铜钱坝乡陈家湾村对其繁殖进行了观察, 现报道如下:

(一) 繁殖前活动 该区为汉江上游支流、巴山山系北部的浅山丘陵农作区, 气候温暖湿润, 适于八哥活动和取食。八哥本年最早于 3 月 30 日巡视营巢地, 停留 20 分钟后离去, 常成对 (对与对又结成 4—8 只的小群) 活动于树枝间, 若干只鸟常并成一排栖于同一枝条, 和睦相处。此期活动强度不大, 叫声宏亮悦耳, 但音节

* 本文经陕西动物所史东仇副研究员热情审改, 特此致谢。