

# 实验动物质量标准化建设

罗小泉

Tel: 13879122860

江西中医学院实验动物科技中心

# 实验动物标准化建设



# 实验动物质量标准化

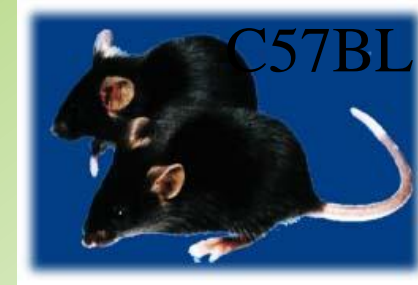
- 实验动物标准化是由实验动物生产条件的标准化、实验动物质量标准化以及动物实验条件的标准化三部分组成。
- 三个标准化均对动物实验研究结果的敏感性、准确性及重复性具有重要影响。

# 一、实验动物遗传学质量标准化

实验动物按遗传学控制标准即基因的纯合程度，

实验动物分为：

- 1、近交系实验动物
- 2、封闭群实验动物
- 3、杂交F1代实验动物
- 4、突变系实验动物



# 1、近交系(Inbred Strain)

## (1) 基本概念

**近交系实验动物**是指使用亲子或兄妹交配20代以上，近交系数达到98.6%以上，品系内所有个体都可追溯到起源于第20代或以后代数的共同祖先的一个实验动物群体。

**品系内个体差异趋于零**。在理论上其基因纯合程度可达98.6%-99.8%

## (2) 近交系的命名

用 1 ~ 4 个英文字母为首，与数字相结合的加以命名，如要指示兄妹交配的代数可在其后面加括号，在括号内用大写英文字母 **F** 加上数字表示。

例如 **C3H(F130)** 和 **NZB(F95)**。

## (3) 亚系

近交系的亚系分化是指一个近交系内各个分支的动物之间，随着时间的推移和环境变化，出现遗传差异。

### 亚系的命名：

在品系名称后加斜线(/)号，再加上数字和培育者名称缩写，或者以数字开头与缩写同时使用。例如：

**A/He(F87)**是指近交到87代由Heston培育的A品系的亚系。

**C57BL/6J(F118)**是由Jackson laboratory培育的C57BL品系的6J亚系的第118代。

## (4) 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性产生影响。这些特征可能是遗传性的，也可能是非遗传性的。

①引种到另一实验室。 ②经过某种技术处理：

代奶(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**);

人工代奶(Foster on hand-rearing ,**fh**)等。



## 支系命名:

(1) 引种到另一地方保种, 就在品系(亚系)名称后面加双斜线号, 再加上保种者名称缩写。如 **C57BL/6J//Lac** 是由英国实验动物中心(Lac)维持的 **C57BL/6J** 小鼠的支系。

(2) 如果品系经过某些技术上的处理, 则应该用小写英文字母作为相应的符号来表示。

例如 **C3HfC57BL** 表示由 **C57BL** 代奶的 **C3H** 品系。

## (5)常用近交系小鼠

### 1) BALB/c

1923年即作为近交系培育，1985年第180代从美国NIH引入中国。

**特性为：**①乳腺肿瘤发生率<sub>低</sub>，但当用乳腺肿瘤病毒诱发时发病率增高；

②易患慢性肺炎

③与其它近交系相比，肝、脾与体重的比值较大；

**用途：**肿瘤学、生理学、免疫学及单克隆抗体的制备。



## 2) C57BL/6J

黑色近交品系。1921年培育，1937年从此系中分离出C57BL/6和C57BL/10两个亚系。1985年引入中国。

### 特性为：

①乳腺肿瘤自然发生率低，化学物质难以诱发乳腺和卵巢肿瘤；②对放射物质耐受力中等；补体活性高；③对结核杆菌敏感；对鼠痘病毒有一定抵抗力，嗜酒精性高。

### 用途：

肿瘤学、生理学、  
免疫学、遗传学研究



### 3) C3H/He/Ola



- 野鼠色近交系小鼠。1920年白化雌鼠与乳腺肿瘤高发DBA系雄鼠杂交，再经近交培育而获得。C3H/He于1985年引入中国。
- **特性：**①乳腺癌发病率高，6--10月龄雌鼠乳腺癌自然发生率达85--100%，14月龄肝癌发生率为85%。②补体活性高，干扰素产量低。③血液中过氧化氢酶活性高，雄鼠对氨气、氯仿、松节油等甚为敏感，死亡率高。对狂犬病毒敏感，对炭疽杆菌有抵抗力。
- **用途：**肿瘤学、生理学、核医学和免疫学研究。

## 4) DBA/2



- 淡棕色近交系小鼠。1909年在毛色分离实验中建立，为最古老的近交系小鼠。DBA/2系于1985年引入我国。
- **DBA/2系特征：**①36日龄小鼠听源性癫痫发作为100%，55日龄后为5%；②血压较低，心脏有钙质沉着；嗜酒精性低；红细胞计数高。
- **用途：**主要用于肿瘤学、遗传学和免疫学。

## 5) AKR 高发淋巴性白血病

•1928-1936年间用A系杂交培育的高发白血病的近交系，1988年由Jax实验室引入中国。

**特性：**

①为高发白血病株小鼠，雌雄小鼠淋巴细胞白血病的发生率可达68%-90%②对Graff白血病因子敏感③血液过氧化氢酶活性高。

**用途：**用于白血病的研究。



## 6) CBA/N

1920年用Bagg白化雌性小鼠与DBA雄性小鼠交配后，经近交培育而成野鼠色近交系，1987年从NIH引入中国。



**特性：**①CBA/N携带性连锁隐性基因xid（X连锁免疫缺陷基因），该基因使小鼠脾B淋巴细胞数目减少并有缺陷，导致缺少成熟B淋巴细胞，从而对某些B淋巴细胞抗原缺乏免疫应答；②雌性小鼠乳腺肿瘤33%-65%，雄性小鼠肝细胞肿瘤发生率为25%-65%

**用途：**乳腺肿瘤、B淋巴细胞免疫功能研究。

迄今为止，已被公认的小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、兔等近交系都是经过长期高度的近亲交配和逐代反复严格选择、淘汰而培育的（纯系小鼠2500多种，大鼠近200种，豚鼠15种，地鼠38种及新西兰白兔20种）

但猪、犬、猫等若进行高度近亲交配，其繁殖力很快下降，若按其它动物的要求达到20代以上的近交程度是很困难的，因此，有人主张，猪等动物的近交系数达到80%，即可认为是近交系



## (6) 近交系的特征

### a、纯合性和一致性

纯合性指的所有动物的基因位点都应是纯合的。

一致性指的是任何可遗传的体征都完全一致。例

如：血型和组织型，体重、毛色，至今仍与原品系极相似。

## b、遗传同源稳定性(isogenicity)

近交系动物中各品系的遗传特性可世代相传。如DBA系已维持了100多年，C57BL系已维持了90多年

## c、不同近交系各具特点(individuality)

如有致癌品系(C3HA)、抗癌品系(C57)、致白血病品系(L615)等。

## d、国际上分布广泛(extensivity)

便于国内和国际间学术交流和实验重复。

e、背景资料和数据较完整可查(accessibility)

每个品系均有其详细的遗传学资料和历史资料可查，便于研究者查阅和选择应用。

## 2、封闭群closed colony(远交系outbred stock)

### (1) 概念：

以**非近亲**配种方式进行繁殖生产的一个种群，在不从外部引入新血缘条件下，至少连续繁殖**4代**以上称为一个封闭群。

也指一个动物种群在**5年以上**未从外部引进其它任何新血缘品系，是由同一血缘品系进行随意交配，并在固定场所保存繁殖的动物群。

## (2) 封闭群实验动物的命名

由于历史原因已广泛使用的保留原名称，如：

Wistar大鼠、Km小鼠等；

新动物应该用2—4个大写罗马字母进行命名，并在名称之前加上有1个大写字母和1~3个小写字母构成的培育者或保持者的符号，此符号与本品种名称用冒号隔开，如：

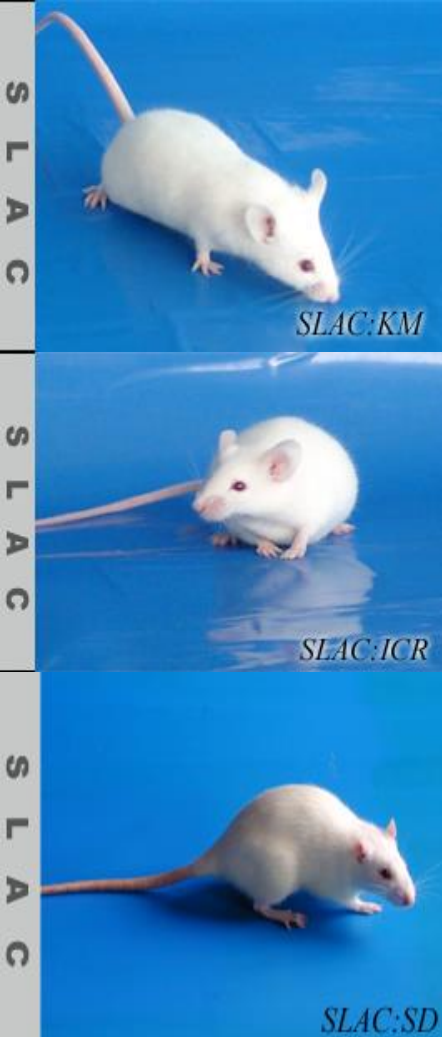
N：NIH是由美国国立卫生研究院保存的NIH小鼠，

Han：NMRI是由德国实验动物繁殖中心研究所保存的NMRI小鼠。

### (3) 常用的封闭群动物：

小鼠有KM、ICR、NIH、等，  
大鼠有SD、Wistar等

豚鼠主要有英国顿金哈德莱短毛种等，家兔有日本大耳白兔、新西兰白兔、青紫蓝兔、中国白兔等。



## (4) 封闭群实验动物的特点

**生活力、生育力和适应性均比较强** 避开了近亲交配，其基因库能保持相当程度的杂合性，从而避免了近交衰退的出现。

**容易管理** 如种群比较大的话，就无需详细记录系谱，成本低，可大量供应。

**能保持本品种特性** 不从群外引种，本品种特性经过世世代代的培育以后，能稳定的遗传给下一代，使用部门可以将这些特性作为重要的实验参考依据。

**存在个体差异**

## (5) 用途：

广泛应用于预试验、

学生教学和一般实验中。

也适宜做药物效果筛选等实验。





# 3、杂交 F 1 代动物

## (1) 概念：

是两个近交品系动物间有计划进行交配获得的第一代动物，亦称**杂交一代**，简称F1动物。

**F1动物**具有基因型相同，个体相同，表现型变异低，适应性强，反应敏感及分布广等特点，并**具有双亲共有的遗传特性**。目前广泛用于各种实验，国际上已普遍应用。

## (2) 命名

把亲代母系动物写在前面，以×连接，后面写亲代父系，再写上F1。例如：

C57BL/6×DBA/2F1表示用C57BL/6品系的雌性动物和DBA/2品系的雄性动物杂交后生育的杂交F1代动物。

C57BL/6×DBA/2F1也可以简写成B6D2F1。

### (3) 特性和应用：

杂交F1代动物有许多优点，它具有和近交系一样的特征，但在某些方面又优于近交系，具体表现在：

杂交优势

替代近交系

大量地用于肿瘤研究和发育生物学研究

作为某些疾病研究的动物模型

## 4、突变系 (mutant strain)

### (1) 概念

是指正常染色体的基因发生了变异的，形成具有各种**遗传缺陷**的动物。

突变系动物是通过**自然**突变和**人工**定向突变的方法形成的。

生物在长期的繁殖过程中，子代突然发生变异，其**变异的遗传基因等位点可以遗传下去**，或即使没有明确的遗传基因等位点，但经人工淘汰和选拔后，能维持稳定的遗传性状，从而形成突变品系动物。

## (2) 命名：

突变种的命名是在原封闭群动物名称的后面加连字号再加突变基因符号，如突变基因是以杂合状态保持的，用“+”号代表野生型基因，突变基因符号要用小写斜体。

如：N:NIH-*nu/nu*表示由美国国立卫生研究院保存的，带有纯合裸基因的NIH小鼠。

Lac:LACA-*dh/+*表示英国实验动物中心保存的带有杂合半肢畸形基因的LACA小鼠。

### (3) 应用

突变系动物由于其独特的模型性状，可供某项**特殊研究**之用，这就成为很有科学价值的模型动物。

本世纪最先而且最广泛突破的是培养了多种肿瘤的模型动物，为研究人类肿瘤的科学工作者提供了极为方便而有效的研究手段。典型的如裸鼠（先天免疫缺陷动物）。



## (4) 常用突变系小鼠

1. 裸小鼠 第11对染色体突变，无毛。



### 2. SCID小鼠

严重联合免疫缺陷小鼠。

第16号染色体上的scid隐性基因突变所致，出现T、B淋巴细胞免疫功能缺陷。



### 3. 快速老化模型小鼠（SAM小鼠）：

4-6个月后迅速出现老化诸特征。



2月龄（左）与14月龄老化小鼠（右）



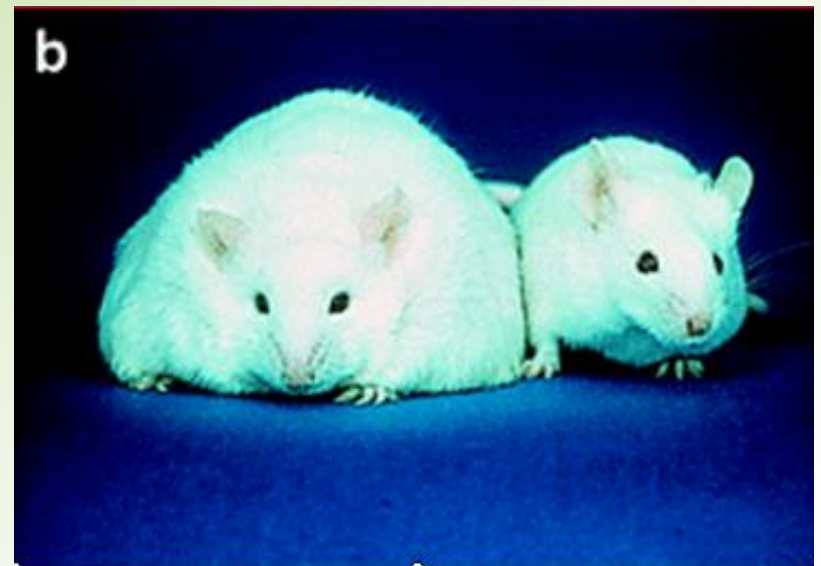
## 裸鼠长“人耳”

2001年2月26日，在北京展览馆“国家863科技成果展”上一只长“人耳”的老鼠正与公众见面。‘裸鼠’由上海组织工程研究与开发中心成功培育，“体外再生耳廓形状软骨”（俗称“体外再生耳朵”）意味着“耳朵”不仅可以大规模生产，也可直接移植到病人身上。



人耳生长在裸鼠背部

其它疾病也是这样，有的突变品系动物与人的疾病一样或相似，则更是最好的动物模型。如肥胖鼠，它与人类有相似的肥胖病和糖尿病，肌肉萎缩症小鼠、自身免疫小鼠等则与人类的相应疾病类似。



## 二、实验动物微生物质量标准化

实验动物按微生物控制程度分类：

**Conventional animal**（普通级动物）， **CV**

**Clean animal**（清洁级动物）， **CL**

**Specific pathogen free**（无特定病原体动物）， **SPF**

**Germ free animal**（无菌动物）， **GF**

**Gnotobiotic animal**(悉生动物)， **GN**

# (一) CV <sup>🌟🌟🌟</sup> (普通级动物) <sup>🌟🌟</sup>

定义

种类及要求

饲养管理

应用

# 1. CV定义

- 要求不携带所规定的人畜共患病病原和动物烈性传染病病原, 以及人畜共患寄生虫
- 特点： 是微生物和寄生虫控制级别最低的实验动物；
- 与CL相比， 排除的微生物较少， 表面上健康无病， 很可能有隐性感染的病原体存在；

## 2. 种类及要求

- 常见的普通级动物有豚鼠、地鼠、兔、犬和猴。
- 2001年版实验动物国家标准取消了普通级小鼠和大鼠等级标准，不再设普通级小鼠和大鼠等级。
- 按标准，普通级动物应排除的病毒、细菌、体外寄生虫的种类见附表。

表 8-8 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 菌 动 物                	无 特 定 病 原 体	清 洁 动 物	普 通 动 物	体外寄生虫 (节肢动物) Ectoparasites	●	●	●	
				弓形虫 <i>Toxoplasma gondii</i>	●	●	●	
					兔脑原虫 <i>Encephalitozoon cuniculi</i>	○		○
					爱美尔球虫 <i>Eimeria spp.</i>		○	○
					卡氏肺孢子虫 <i>Pneumocystis carinii</i>			●
					全部蠕虫 All Helminths	●	●	●
					鞭毛虫 Flagellates	●	●	●
					纤毛虫 Ciliates	●		
无任何可检测到的寄生虫								

表 8—6 犬、猴病毒检测项目

动物等级	病 毒	动物种类		
		犬	猴	
无 特 定 病 原 体 动 物	普 通 级 动 物	狂犬病病毒 Rabies Virus (RV)	▲	
		犬细小病毒 Canine Parvovirus (CPV)	▲	
		犬瘟热病毒 Canine Distemper Virus (CDV)	▲	
		传染性犬肝炎病毒 Infectious Canine Hepatitis Virus (ICHV)	▲	
		猕猴疱疹病毒 1 型 (B 病毒) Cercopithecine Herpesvirus Type 1 (BV)		●
		猴逆转录 D 型病毒 Simian Retrovirus D (SRV)		●
		猴免疫缺陷病毒 Simian Immunodeficiency Virus (SIV)		●
		猴 T 细胞趋向性病毒 1 型 Simian T Lymphotropic Virus Type 1 (STLV-1)		●
		猴痘病毒 Simian Pox Virus (SPV)		●
		上述 4 种犬病毒不免疫		●

注：●必须检测项目，要求阴性。▲必须检测项目，要求免疫。



### 3、饲养管理

- 普通级动物饲养在开放系统中，
- 对温度、湿度、换气次数、落下菌数、氨浓度、噪声和照明等实行控制，饲养管理上采取一定的防护措施，预防人兽共患病和动物烈性传染病的发生。



## 4、应用

- 普通级动物作实验时，刺激因素可能诱发隐性或潜伏感染的动物发生显性感染，并出现组织器官的结构、形态、生理生化、血液与免疫学改变，将不同程度的影响实验结果的准确性，

该等级动物仅供教学和科研预实验使用。





## (二)、CL (清洁动物)

定义

种类及要求

饲养管理

应用

# 1. 定义

- 除普通动物应排除的病原和寄生虫外，不携带对动物危害大和对科研干扰大的病原和寄生虫。如小鼠肝炎病毒、仙台病毒等。
- 特征：体内可以有一些微生物存在，但不具有传染性，不能有隐性感染，属于健康动物。应用广泛，培育容易，成本较低。用于一般教学和科学研究。

## 2. 来源、种类及要求

来源于SPF或无菌剖腹产动物，常见的CL有小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠和兔。

2001年版实验动物国家标准不设清洁级犬、猴标准，清洁动物应排除的病毒、细菌、体外寄生虫种类见表。

例如要求清洁大鼠必须排除5种细菌、2种病毒、3类（种）寄生虫；清洁小鼠必须排除4种细菌、3种病毒、3类（种）寄生虫。

## 实验动物 微生物学等级及监测

GB 14922.2-2001

Laboratory animal—Microbiological standards and monitoring

代替 GB 14922-1994

表1 小鼠、大鼠病原菌检测项目

动物等级		病原菌		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 <i>Salmonella spp</i>	●	●
			单核细胞增生性李斯特杆菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	○	○
			假结核耶尔森菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	○	○
			小肠结肠炎耶尔森菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	○	○
			皮肤病原真菌 <i>Pathogenic dermal fungi</i>	○	○
			念珠状链杆菌 <i>Streptobacillus moniliformis</i>	○	○
			支气管鲍特杆菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i>		●
			支原体 <i>Mycoplasma spp</i>	●	●
			鼠棒状杆菌 <i>Corynebacterium kutscheri</i>	●	●
			泰泽病原体 Tyzzer's organism	●	●
			大肠埃希菌 0115 a,C,K(B) <i>Escherichia coli</i> 0115 a,C,K(B)	○	
			嗜肺巴斯德杆菌 <i>Pasteurella pneumotropica</i>	●	●
			肺炎克雷伯杆菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	●	●
			金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	●	●
			肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	○	○
			乙型溶血性链球菌 <i>β-hemolytic streptococcus</i>	○	○
绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	●	●			
无任何可查到的细菌	●	●			

注：●必须检测项目，要求阳性；○必要时检查项目，要求阳性。

表 8-4 小鼠、大鼠病毒检测项目

动物	等级	病 毒	动物种类	
			小鼠	大鼠
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV)	○	
		汉坦病毒 Hantavirus (HV)	○	●
		鼠痘病毒 Ectromelia Virus (Ect)	●	
		小鼠肝炎病毒 Mouse Hepatitis Virus (MHV)	●	
		仙台病毒 Sendai Virus (SV)	●	●
		小鼠肺炎病毒 Pneumonia Virus of Mice (PVM)	●	●
		呼肠孤病毒III型 Reovirus type III (Reo-3)	●	●
		小鼠细小病毒 Minute Virus of Mice (MVM)	●	
		小鼠脑脊髓炎病毒 Theiler's Mouse Encephalomyelitis Virus (TMEV)	○	
		小鼠腺病毒 Mouse Adenovirus (Mad)	○	
		多瘤病毒 Polyoma Virus (POLY)	○	
		大鼠细小病毒 RV 株 Rat Parvovirus (KRV)		●
		大鼠细小病毒 H-1 株 Rat Parvovirus (H-1)		●
		大鼠冠状病毒/大鼠涎腺腺炎病毒 Rat Coronavirus (RCV)/Sialodacryoadenitis Virus (SDAV)		●
无任何可查到的病毒	●	●		

注：●必须检测项目，要求阴性；○必要时检查项目，要求阴性。

表 8-7 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    原 体 动 物	无 特 定 病 原 体	清	体外寄生虫（节肢动物）Ectoparasites	●	●
		洁	弓形虫 <i>Toxoplasma gondii</i>	●	●
		动	兔脑原虫 <i>Encephalitozoon cuniculi</i>	○	○
		物	卡氏肺孢子虫 <i>Pneumocystis carinii</i>	○	○
			全部蠕虫 All Helminths	●	●
			鞭毛虫 Flagellates	●	●
			纤毛虫 Ciliates	●	●
无任何可检测到的寄生虫			●	●	

注：●必须检测项目，要求阴性；○必要时检测项目，要求阴性。



### 3. 饲养环境的要求

- 饲养在温度、湿度相对恒定的半屏障环境中，该环境严格控制人员、物品和环境空气的进出；
- 所使用的笼器具、器械、垫料等一切用具及饲料、饮用水都需经过消毒灭菌处理；
- 进出动物室的人员必须遵守屏障环境动物室的操作规范，要淋浴、穿灭菌衣、戴灭菌手套和口罩等。



## 4 . 应用

要求排除的微生物和寄生虫多于普通级动物，在实验中受动物疾病的干扰较少，其敏感性和重复性也较好，比SPF动物容易达到质量标准。

目前，清洁动物在我国已广泛应用于科学研究和其他用途。



# (三)、SPF (无特定病原体动物)

定义

种类及要求

饲养管理

应用

# 1. 定义

- 除清洁动物应排除的病原和寄生虫外，不携带主要潜在感染或条件致病和对科学实验干扰大的病原和寄生虫。
- 如铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌等。

## 2 . SPF标准

不同的国家有不同标准

- 没有某种病原体，不影响实验结果的动物；
- 必须将所有常见的病原体，不管是否影响实验全部要求排除；
- 要求排除对实验动物可能有危害的病原体，要求排除对实验有影响的特定病原体。

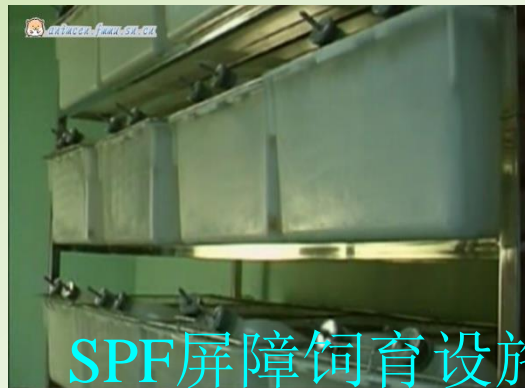
### 3. 来源、种类及要求

种群来源于无菌动物或剖腹产净化动物，常见的SPF动物有小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、兔、犬和猴。

按标准，SPF动物应排除的病毒、细菌、体外寄生虫的种类见表。



日常屏障维持(消毒液喷雾)



SPF屏障饲育设施



育成动物观察

表 8-8 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 菌 动 物 原 体	无   清   普   体外寄生虫 (节肢动物) Ectoparasites	●	●	●
	特   洁   通   弓形虫 <i>Toxoplasma gondii</i>	●	●	●
	定   动   动			
	病   物   物			
	原			
	体       兔脑原虫 <i>Encephalitozoon cuniculi</i>	○		○
	爱美尔球虫 <i>Eimeria</i> spp.		○	○
	卡氏肺孢子虫 <i>Pneumocystis carinii</i>			●
	全部蠕虫 All Helminths	●	●	●
	鞭毛虫 Flagellates	●	●	●
	纤毛虫 Ciliates	●		

无任何可检测到的寄生虫

表 8-4 小鼠、大鼠病毒检测项目

动物等级			病 毒	动物种类		
				小鼠	大鼠	
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	清 洁 动 物	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV)	○		
			汉坦病毒 Hantavirus (HV)	○	●	
			鼠痘病毒 Ectromelia Virus (Ect)	●		
			小鼠肝炎病毒 Mouse Hepatitis Virus (MHV)	●		
			仙台病毒 Sendai Virus (SV)	●	●	
				小鼠肺炎病毒 Pneumonia Virus of Mice (PVM)	●	●
				呼肠孤病毒III型 Reovirus type III (Reo-3)	●	●
				小鼠细小病毒 Minute Virus of Mice (MVM)	●	
				小鼠脑脊髓炎病毒 Theiler's Mouse Encephalomyelitis Virus (TMEV)	○	
				小鼠腺病毒 Mouse Adenovirus (Mad)	○	
				多瘤病毒 Polyoma Virus (POLY)	○	
				大鼠细小病毒 RV 株 Rat Parvovirus (KRV)		●
				大鼠细小病毒 H-1 株 Rat Parvovirus (H-1)		●
				大鼠冠状病毒/大鼠涎腺炎病毒 Rat Coronavirus (RCV)/Sialodacryoadenitis Virus (SDAV)		●
				无任何可查到的病毒	●	●

注：●必须检测项目，要求阴性；○必要时检查项目，要求阴性。



## 实验动物 微生物学等级及监测

GB 14922.2-2001

Laboratory animal—Microbiological standards and monitoring

代替 GB 14922-1994

表1 小鼠、大鼠病原菌检测项目

动物等级		病原菌		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 <i>Salmonella spp</i>	●	●
			单核细胞增生性李斯特杆菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	○	○
			假结核耶尔森菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	○	○
			小肠结肠炎耶尔森菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	○	○
			皮肤病原真菌 <i>Pathogenic dermal fungi</i>	○	○
			念珠状链杆菌 <i>Streptobacillus moniliformis</i>	○	○
			支气管鲍特杆菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i>		●
			支原体 <i>Mycoplasma spp</i>	●	●
			鼠棒状杆菌 <i>Corynebacterium kutscheri</i>	●	●
			泰泽病原体 Tyzzer's organism	●	●
			大肠埃希菌 0115 a, C, K(B) <i>Escherichia coli</i> 0115 a, C, K(B)	○	
			嗜肺巴斯德杆菌 <i>Pasteurella pneumotropica</i>	●	●
			肺炎克雷伯杆菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	●	●
			金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	●	●
			肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	○	○
			乙型溶血性链球菌 <i>β-hemolytic streptococcus</i>	○	○
绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	●	●			
无任何可查到的细菌	●	●			

注：●必须检测项目，要求阳性；○必要时检查项目，要求阳性。

# 4. 饲养环境的要求

- 饲养于屏障环境中，该环境严格控制人员、物品和环境空气的进出。
- SPF房
- 层流架(生物净化间)
- 滤过帽



# 5. SPF的应用

- 研究工作

药理学、毒理学、肿瘤免疫学、传染病等广泛应用

- 血清和疫苗制造

细菌、病毒性诊断血清，各种疫苗生产需要大量的SPFA的组织、脏器等。

- 生物学鉴定

破伤风抗病毒、百日咳菌苗、狂犬病疫苗要用SPF鼠；口蹄病疫苗、结核菌素要用SPF豚鼠；白喉抗毒素、热原试验要用SPF家兔等。

## (四)、GF (无菌动物)

定义

种类及要求

饲养管理

应用



# 1. GF定义

- 用现代的技术手段在动物体内检测不到有其他生命体的动物；
- GF是一个相对的概念，并不是真正没有。
- 垂直感染的微生物可以忽略；
- 有的微生物不能检测出来。
- 在隔离器中培育和饲养。

## 2. 来源、种类及要求

- 其来源是普通动物经无菌剖腹产手术，幼仔在无菌隔离器中人工哺育或由其他无菌动物代乳饲养而成。常见的无菌动物有小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠和兔。
- 按标准，无菌动物应排除的病毒、细菌、体外寄生虫的种类见表

## 实验动物 微生物学等级及监测

GB 14922.2-2001

Laboratory animal—Microbiological standards and monitoring

代替 GB 14922-1994

表1 小鼠、大鼠病原菌检测项目

动物等级			病 原 菌	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 <i>Salmonella spp</i>	●	●
			单核细胞增生性李斯特杆菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	○	○
			假结核耶尔森菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	○	○
			小肠结肠炎耶尔森菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	○	○
			皮肤病原真菌 <i>Pathogenic dermal fungi</i>	○	○
			念珠状链杆菌 <i>Streptobacillus moniliformis</i>	○	○
			支气管鲍特杆菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i>		●
			支原体 <i>Mycoplasma spp</i>	●	●
			鼠棒状杆菌 <i>Corynebacterium kutscheri</i>	●	●
			泰泽病原体 Tyzzer's organism	●	●
			大肠埃希菌 0115 a, C, K(B) <i>Escherichia coli</i> 0115 a, C, K(B)	○	
			嗜肺巴斯德杆菌 <i>Pasteurella pneumotropica</i>	●	●
			肺炎克雷伯杆菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	●	●
			金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	●	●
			肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	○	○
乙型溶血性链球菌 <i>β-hemolytic streptococcus</i>	○	○			
绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	●	●			
无任何可查到的细菌	●	●			

注：●必须检测项目，要求阳性；○必要时检查项目，要求阳性。

表 8-4 小鼠、大鼠病毒检测项目

动物等级			病 毒	动物种类		
				小鼠	大鼠	
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	清 洁 动 物	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV)	○		
			汉坦病毒 Hantavirus (HV)	○	●	
			鼠痘病毒 Ectromelia Virus (Ect)	●		
			小鼠肝炎病毒 Mouse Hepatitis Virus (MHV)	●		
			仙台病毒 Sendai Virus (SV)	●	●	
				小鼠肺炎病毒 Pneumonia Virus of Mice (PVM)	●	●
				呼肠孤病毒III型 Reovirus type III (Reo-3)	●	●
				小鼠细小病毒 Minute Virus of Mice (MVM)	●	
				小鼠脑脊髓炎病毒 Theiler's Mouse Encephalomyelitis Virus (TMEV)	○	
				小鼠腺病毒 Mouse Adenovirus (Mad)	○	
				多瘤病毒 Polyoma Virus (POLY)	○	
				大鼠细小病毒 RV 株 Rat Parvovirus (KRV)		●
				大鼠细小病毒 H-1 株 Rat Parvovirus (H-1)		●
				大鼠冠状病毒/大鼠涎腺腺炎病毒 Rat Coronavirus (RCV)/Sialodacryoadenitis Virus (SDAV)		●
				无任何可查到的病毒	●	●

注：●必须检测项目，要求阴性；○必要时检查项目，要求阴性。



表 8-8 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 菌 动 物  原 体	无 特 定 病 原 体	清 洁 动 物	普 通 动 物	体外寄生虫 (节肢动物) Ectoparasites	●	●	●	
				弓形虫 <i>Toxoplasma gondii</i>	●	●	●	
					兔脑原虫 <i>Encephalitozoon cuniculi</i>	○	○	
					爱美尔球虫 <i>Eimeria</i> spp.		○	○
					卡氏肺孢子虫 <i>Pneumocystis carinii</i>			●
					全部蠕虫 All Helminths	●	●	●
					鞭毛虫 Flagellates	●	●	●
					纤毛虫 Ciliates	●		
	无任何可检测到的寄生虫							



饲养员更换笼具



P3级实验室无菌工作台

 [antisept.fkmi.sn.cn](http://antisept.fkmi.sn.cn)

# 3. GF的应用

- 1 肿瘤学方面的应用
- 2 老年学方面的应用
- 3 免疫学方面的应用
- 4 微生物学方面的应用

# 3.1 苏铁素对小鼠的致癌作用

植物毒素主要有苏铁素、蕨毒素、单宁酸、槟榔素、巴豆油、细辛脑、千里光碱等。可引起膀胱癌、肠癌、樟脑、肝癌和食管癌等。

苏铁素对小鼠的致癌作用

动物	带菌情况	口服	肌注
GF小鼠	无菌	-	-
GNP小鼠	乳酸杆菌	+	-
GNP小鼠	大肠杆菌	+++	-
CV小鼠	不清	+++	-

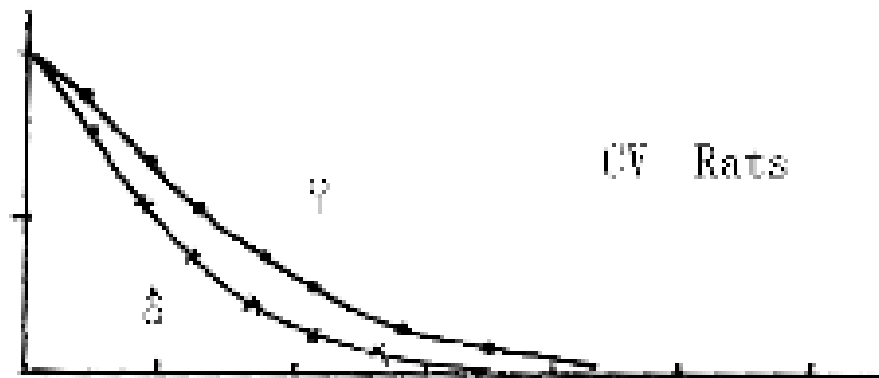
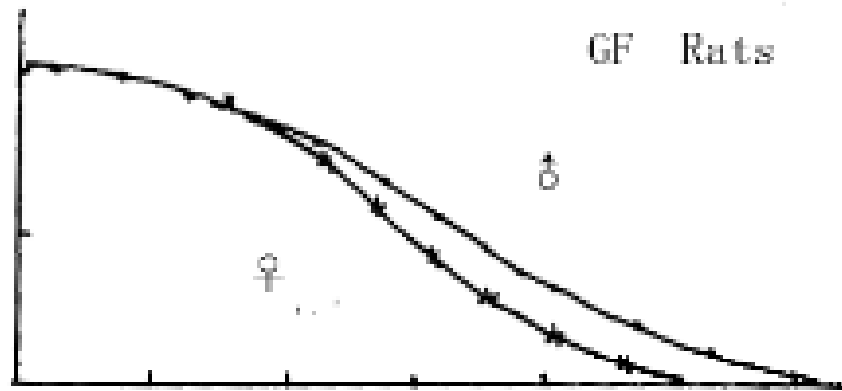
# 苏铁素的致癌作用

GF口服苏铁素不会出现肿瘤，但口服苏铁素的CV普遍可发生肿瘤，研究证明CV的肠道菌群分解苏铁素，产生致瘤物质所致。

1. 与服用方式有关；
2. 与带菌情况有关；
3. CV的肠道菌群能分解苏铁素，产生致癌物质所致。

## 3.2 老年学方面的应用

- 大量的研究资料表明，GF的寿命比CV长，GF大鼠的寿命约比CV大鼠延长1/3。
- 雌GF的寿命比雄性的短；
- CV则雌性动物比雄性动物长；
- 大量统计资料表明，人类的寿命女人比男人长。



## 3.3 口腔医学的应用

- 很早人们就认为龋齿的形成与微生物感染有关，认为乳酸杆菌在此病中起主要作用，但一直没有得到实验证明。GF的诞生，才有可能对龋齿的形成进行认真的探索。研究表明，没有微生物的参与，不可能发展成龋齿，细菌是此病的病因。
- GF无龋齿，链球菌是引起龋齿的主要菌种，而不是乳酸菌，其中各种粘液性链球菌的作用最强。近来发现细菌感染与其它牙科疾病也有关系。目前正在用GF模型进行牙周炎、齿槽脓漏的研究。



## (五). GN(悉生动物)

- 1 定义：指用现代的技术和手段从动物体内只能检测到已知菌的动物；
- 2 分类：根据植入菌的多少，可以将GN分类。

单菌动物：mono-associated animal

双菌动物：di-associated animal

多菌动物：poly-associated animal





## (六) 控制微生物的意义

- 预防隐性感染和潜伏感染；
- 防止人畜共患病；
- 避免对实验结果的影响。
- 生产标准实验动物。

# 1. 动物及实验损失

- 某些疾病如鼠痘、兔出血症、细小病毒病等的流行,可导致实验动物集体死亡或质量下降,可造成严重的经济损失,或使正常实验被迫中断。

## 2. 威胁人类健康

- 这种病许多是人畜共患的疾病,可在人与动物之间传播流行。
- 例如：汉坦病毒，B病毒，狂犬病毒等

### 3. 影响实验结果

这种病可不同程度地干扰实验结果,从而影响研究工作的准确性和可靠性,甚至得出错误的结论。

# 不同等级实验动物的比较

无菌动物、无特定病原体动物和普通动物特点比较

实验项目	无菌动物	无特定病原体动物	普通动物
传染病	无	无	有或可能有
寄生虫	无	无	有或可能有
实验结果	明确	明确	有疑问
应用动物数	少数	少数	多(或大量)
统计价值	很好	可能好	不准确
长期实验	可能好	可能好	困难
自然死亡率	很少	少	高
长期实验存活率	100%	约 90%	40%
实验的准确设计	可能	可能	不可能
实验结果的讨论价值	高	中	低

# 各国标准

中国：

**GF、GN为4级，  
SPF为3级，  
CL为2级，  
CV为1级。**

欧美：

**GF为4级  
GN为3级  
SPF为2级  
CV为1级**

## (七) 实验动物标准化的实施

- 1. 建立实验动物标准化法制体系是实验动物标准化体系是实验动物标准化实施的保证
- 2. 推行实验动物合格证制度是实验动物标准化实施的主要措施
- 3. 实行全方位的标准化实验动物生产、应用及管理系统是提高实验动物标准化工作总体水平的主要途径



感谢各位的聆听