

无菌动物及其有关实验动物知识

翟春生

(福州军区后勤部军事医学研究所)

无菌动物 (germfree animal) 是一种新型的实验动物。普通的实验动物都受到自然界微生物或寄生虫的侵袭,有的外观健康其实却隐藏着某种疾病。用普通动物做实验,敏感性差,实验结果缺乏再现性。要提高动物实验的准确性就要对实验动物在遗传和微生物两个方面加以控制,努力提高其均一性。由兄妹间近亲交配繁殖 20 代以上建立的纯品系动物,个体差异小,实验结果比较准确。但是,用纯品系动物做实验还没有排除自然感染的微生物和寄生虫的影响。因此,在精度要求高的实验中无菌动物和用无菌动物培育的已知生物体动物 (gnotobionte)、无特定病原体动物 (specific pathogen free animal, S. P. F. 动物) 就成了理想的实验动物。

对无菌动物的研究最初只是为了探讨高等动物与体内微生物之间的关系。后来由于发现它具有独特的优越性而成为一种新型的实验动物。现在无菌动物的品种已经很多,不仅小鼠、大鼠、豚鼠和家兔等小动物已有无菌动物,而且犬、猪、绵羊和牛等大动物以及青蛙、蚕、蛇甚至苍蝇、白蚁等也都有了无菌动物。这都是为了适应科学发展的需要而培育的。本文简要介绍一点无菌动物及其有关的实验动物知识。

一、无菌动物的概念

无菌动物是体内没有任何病原菌和非病原菌的动物。它必须在完全无菌的环境中饲养,饲料、饮水、铺垫物和各种饲养工具都必须彻底消毒。无菌动物的“菌”主要是指细菌,而严格来说,还包括真菌、立克次氏体、支原体和病毒等微生物及各种寄生虫。而所谓“无”却不是绝

对的,不过是根据现有的科学知识和检查方法在一定时期内不能检出已知的微生物和寄生虫,随着科学技术的发展,现在认为是无菌的动物或许多将来还能检出目前尚未认识或者目前的技术不能检出的微生物和寄生虫。用大量抗菌素也可以使普通动物暂时无菌,但是这种动物不是无菌动物。因为这种无菌状态往往是一过性的,某些残存的细菌在适当的条件下又会在体内增殖;即使能把体内细菌全部杀死,它们给动物造成的影响(例如:特异性抗体的存在,网状内皮系统的活化,某些组织或器官的病理变化等等)却是无法消除的。因此,无菌动物必须是生来就无菌的动物。

二、无菌动物的特征

只要饲料配比适当,无菌动物发育正常,外观和普通动物相同,但是也有一些不同。

在解剖学方面,盲肠膨大,肠壁菲薄,常因盲肠扭转或肠壁破裂而死亡。

在组织学方面,网状内皮系统、淋巴组织发育不良,淋巴小结内缺乏生发中心。

在生理机能方面,由于网状内皮系统发育不良,产生丙种球蛋白的能力很弱(在检查无菌动物的无菌性时,血清丙种球蛋白阴性可以作为无菌的一个辅助证据),又因体内无微生物和寄生虫,血中无抗体,血清杀菌力低,吞噬细胞噬菌力也低,因此,对微生物感染异常敏感,某些病原性弱和必须经腹腔或颅脑接种才能感染普通动物的微生物很易感染无菌动物。此外,血中含氮量少,肠管对水的吸收率低,代谢周期比普通动物长等等。

三、无菌动物的培育方法

胎儿在胎盘的保护下一般不受细菌的侵害，因此，在妊娠动物即将分娩时剖腹取出胎儿，放在无菌隔离器中用灭菌的饲料和饮水饲喂，就可以培育成无菌动物。像小鼠这样的小动物难以做剖腹产手术，一般采用子宫摘除术，方法是：将子宫连胎儿一起摘除，放入无菌隔离器的缓冲间内在消毒液中浸泡消毒，再放入隔离器内部打开子宫，取出胎儿。小动物人工哺育的成活率很低，用已经无菌的动物代哺可以提高成活率。育成一定数量的雌雄无菌动物后用来繁殖，其后代都是无菌动物。但是，为了防止胎盘感染（尤其是病毒易通过胎盘感染）和手术中污染，必须连续观察三代以上确实证明无菌后才算真正培育成了无菌动物。

四、无菌动物的饲料

无菌动物的饲料和饮水必须符合下列要求：

1. 没有活的微生物和寄生虫或虫卵，因此，必须经过充分的灭菌。
2. 必须补充因高压灭菌而破坏的营养成分，如：维生素 B₁、维生素 C、泛酸等。补充的营养成分用滤菌器过滤后加入饲料或饮水中饲喂。为了减少营养成分的破坏，最好用放射线灭菌或环氧乙烷灭菌法代替高压灭菌法。
3. 无菌动物没有肠道常在菌丛，饲料中还需补充这些细菌合成的营养成分。
4. 饲料的组成、形态和气味等应尽可能适合动物的习性和嗜好。

五、无菌动物的饲养装置

无菌动物必须在与自然界微生物完全隔绝的无菌隔离器内饲养。旧式的无菌隔离器是用不锈钢等金属材料制成的，内部用高压蒸汽消毒，由于成本高、操作不便，现在已被塑料无菌隔离器所取代。塑料隔离器是用硬质透明塑料制成的，内部用过氧乙酸等消毒液喷雾消毒，由于成本低、便于观察、操作方便，目前已被广

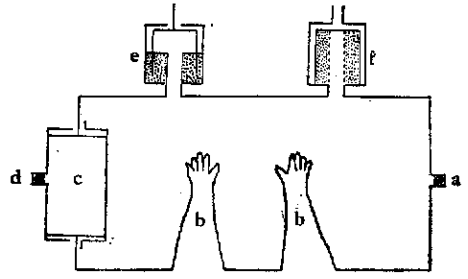


图1 塑料无菌隔离器

泛采用（见图1）。图1是塑料无菌隔离器的结构模式。其形状和大小因应用的目的和动物的品种、数量而异，但是结构原理基本相同。大体上分为收容间、缓冲间和空气交换装置三部分。收容间有一个喷雾消毒药液的孔（a）和一付密封在塑料板上的橡胶手套（b），内部各种操作都要通过手套进行。缓冲间（c）有两个严密的开口和一个喷雾消毒药液的孔（d），动物、饲料、饮水和各种用具都通过缓冲间出入，两个开口要交互打开，以防空气污染收容间。空气交换装置由空气过滤器（e）和排气阀（f）两部分构成，排气阀能阻止空气逆流，以防污染。内部的气压应比外部略高，以利于换气。

六、无菌动物的检查

为了确认无菌动物的无菌状态，及时发现污染，必须定期进行检查。检查材料以粪便为主，也可检查饲料、饮水和铺垫物等，或用消毒棉花擦拭隔离器内面和动物饮食器皿表面进行培养。培养基可用牛肉浸液、硫乙醇酸盐培养基、血液琼脂、马铃薯琼脂或沙保弱氏琼脂等，分别在 20、37、55℃ 作好气和厌气性培养。同时还要进行呼吸道支原体的检查和各种寄生虫检查。对于病毒，不可能一一进行分离培养，一般是通过临床观察、细胞培养或病理组织学检查作判定。

七、已知生物体动物和无特定病原体动物

已知生物体动物是体内微生物和寄生虫都已完全了解的动物。已知生物体动物是使无菌

动物感染已知的微生物或寄生虫后培育成的。这种动物也要在无茵隔离器中饲养，严防其他微生物或寄生虫侵入。

已知生物体动物可以弥补无茵动物的某些缺点。无茵动物抵抗力很弱，饲养管理的难度大。使无茵动物感染某种细菌后（这时动物变成已知生物体动物）其抵抗力明显增强。这种动物可用于某些特定的实验。所感染的微生物或寄生虫的种类可以适当选择，以不影响预定的实验结果为准。在免疫学实验中，无茵动物不能发生迟发性过敏反应，而感染一种大肠菌的已知生物体动物就可以发生了。

无特定病原体动物是体内没有已知的病原微生物和寄生虫的动物。这种动物是使无茵动物感染非病原微生物后培育成的。它没有无茵动物的特征，和普通动物基本相同，所不同的只是没有病原体，体质健壮，易于饲养管理，适用于不受非病原微生物影响的实验。无特定病原体动物饲养于严防病原体侵入的屏障系统即封闭系统之中。

八、无茵动物及其有关的 实验动物的应用

在基础科学方面，无茵动物多用于毒力弱或者毒力虽强但是不能通过自然途径感染的病原体的感染实验，还用于呼吸道、消化道感染机理的研究，尤其是肠道常在菌丛细菌间的相互

拮抗性、细菌和宿主间的关系的研究。无茵动物血中无特异性抗体，很适于各种免疫现象的研究。此外，在研究遗传、代谢、内分泌、衰老等问题和探讨癌症、出血性休克和龋齿的病因方面无茵动物都显示出独特的优越性。

在临床医学方面，早产儿、重度烧伤病人、急性白血病患者和极怕感染的手术（如人工股关节置换手术）患者，如果能在无茵的条件下医疗和护理将会收到很好的效果。对无茵动物的研究，尤其是对无茵饲养装置、饲料配比和空气净化法等方面的研究为这种理想的医疗护理技术提供了很有价值的资料。现在，这种无茵医疗护理技术在许多国家已经开始普及。

在畜牧业方面，由于现在机械化程度高、饲养规模大，家畜传染病经常造成极大的经济损失。用抗菌素或疫苗预防注射或者通过临床检疫净化畜群的方法都不能根除传染病。现在采用无特定病原体动物的培育方法繁育畜群，彻底消灭了传染病。先用剖腹产手术取得无茵胎儿，再使其成为无特定病原体动物，在严密封锁的畜舍内饲养繁殖，饲料、饮水和各种用具都必须彻底消毒，饲养员进入畜舍要遵守无茵操作规程（由于机械化程度高，人员很少出入）。这样饲养的家畜体质健壮、生长快、饲料报酬高、收益大。目前欧美一些国家已经实际应用于养猪、养羊业中。