

无菌兔、无菌豚鼠的培育及生物学特性与应用*

王荫槐 景绍亮 王安京 周尚珍 孙淑华 刘素梅 赵 铭

(中国医学科学院实验动物研究所, 北京)

摘 要 选用新西兰种孕兔和短毛种孕豚鼠, 经剖腹产获无菌仔畜。饲养于YDG隔离器内, 前期喂以人工乳, 离乳后喂以固体饲料。使用的全部器材和饲料均经严格灭菌, 以保证动物的无菌状态。在无菌兔和无菌豚鼠培育成功的基础上对其生物学特性及应用进行了研究。

研究表明: 采用人工饲养方法和无菌状态的保持技术是成熟的。两种动物生长发育良好, 并呈现多见于无菌动物的一些生物学特征, 如盲肠异常增大, 免疫系统不发达等。

两种动物可用于宏生生物与微生物; 微生物与微生物之间相互依存竞争关系的研究。可用于制备血清抗体以及建立三级SPF动物和二级清洁级动物种群。

关键词 无菌兔 无菌豚鼠 隔离器

兔和豚鼠是重要的实验动物, 被广泛用于生物学、兽医学和医学。普通环境下饲养繁殖的兔和豚鼠, 常携带多种病原微生物和寄生虫, 这些病原体的存在无疑干扰实验结果的观察分析^[1]。无菌动物可完全排除其它生物体的干扰, 是研究宏生生物与微生物、微生物与微生物相互依存竞争的重要动物模型; 是建立SPF级和清洁级动物群的先驱动物源^[1,2,3]。

早在19世纪国外就开始了关于无菌动物的研究。由于受到当时科技水平的限制, 直至本世纪50年代末, 无菌兔和无菌豚鼠的人工培育才获得成功^[4,5]。Trexler^[6]创造了价廉可靠的塑料隔离器, 促进了无菌动物的培育和研究。

本研究旨在提高我国实验动物质量, 填补无菌动物研究的空白, 为生物医学研究提供一种新型的动物模型。自1981年起, 经多年的努力, 终于育成无菌兔和无菌豚鼠, 并测定其部分生物学特性, 以及应用进行了初步探索。

材料与amp;方法

一、无菌兔和无菌豚鼠的培育 选择临产的健康经产新西兰种孕兔和短毛种孕豚鼠, 经剖腹产(子宫切除术), 获得无菌仔畜。

使用本所研制的YDG型透明塑料薄膜隔离器。用过氧乙酸灭菌, 经微生物检测合格后使用。哺乳期环境温度 $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 育成期环境温度 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 隔离器内压 $98 \sim 196\text{Pa}$, 每小时换气 $6 \sim 12$ 次。

根据不同生长需要, 无菌兔和无菌豚鼠喂给不同人工乳和固体饲料。无菌仔兔用吮吸法进行人工授乳, 无菌仔豚鼠则自行进食。

定期采集动物的新鲜粪便和口咽拭子, 按四级动物标准进行细菌、寄生虫检测。采集血液标本进行病毒检测。

二、无菌兔和无菌豚鼠的部分生物学特性研究

*本文获中国实验动物学会第一届论文评比一等奖

1.形态学研究：动物放血致死，立刻进行大体解剖，同时采取组织标本，分别进行光镜电镜观察。所有研究均与普通动物对照进行。

2.血常规及血生化分析：使用血气分析仪，血清生化分析仪，离子分析仪和自动血球计数仪等对血液标本进行分析测定。

3.免疫学特性的研究^[7]：以聚丙烯酰胺电泳和生化法测定血液中免疫球蛋白和溶菌酶的含量。

4.心血管功能的测定：用多导生理自动记录仪测定麻醉状态下，普通兔和无菌兔的心血管功能。

5.微核的测定^[8]：取骨髓制片，Giemsa染色，光镜下观察嗜多染红细胞中的微核率。

三、无菌兔和无菌豚鼠的应用

1.抗体制备：用已知菌兔制备人肺炎霉形体和鼠伤寒抗体^[9]。

2.菌群关系的研究：以无菌豚鼠为动物模型，进行难辨梭状芽胞杆菌无毒株对有毒株的拮抗^[10]；乳酪乳杆菌对受福氏痢疾杆菌攻击的保护作用；肠道固有菌群与痢疾杆菌相互关系的研究^[12]。

3.微生物中遗传物质的转移的研究表明：在已知菌豚鼠体内就痢疾杆菌耐药性质粒传递给大肠杆菌进行了探讨。

4.无菌豚鼠胆结石的研究发现：无菌豚鼠自发胆色素结石的形成率近100%。

结果与讨论

一、无菌兔和无菌豚鼠的人工培育

共获无菌仔兔178只，最长无菌观察期为180d。30d龄体重 ≥ 370 g，60d龄体重 ≥ 850 g，剖腹产成活率近乎100%，最低离乳率为75%，最高为92%以上。

共育成无菌豚鼠261只，离乳成活率98%，4月龄体重350g以上。

二、无菌兔和无菌豚鼠部分生物学特性

1.形态学研究：两种无菌动物与同龄普通动物相比，盲肠均呈异常增大，淋巴结小，淋巴结白髓小，淋巴滤泡无或少见，肠壁肌层薄，肠绒毛细长等特点。

2.血常规及血生化分析：两种无菌动物单位白细胞数低；无菌兔血生化测定表明尿素氮等9项指标与普通兔比较有显著性统计学差异（ $P < 0.05$ ）。无菌豚鼠的血气、血生化、血液离子浓度与普通豚鼠的比较，26项指标有显著性差异（ $P < 0.05$ ）。

3.免疫学特性：两种无菌动物血清电泳均表明，球蛋白带不明显；血浆溶菌酶，葡萄糖醛酸酶含量明显低于普通动物^[7]。

4.微核的测定：两种无菌动物的骨髓嗜多染红细胞微核率明显低于普通动物（ $P < 0.001$ ）。

5.心血管功能测定：测定的9项指标中，肺动脉压等6项与普通动物有显著性差异（ $P < 0.05$ ）。

6.无菌状态检测：对两种无菌动物进行细菌、病毒和寄生虫反复多次检测未发现病毒、细菌和体内外寄生虫。证明所采用的无菌动物培育方法是成熟可行的。

综上所述:两种无菌动物,由于体内外无其它生命体共同作用,导致消化系统形态学发生较大的变化;由于无外来抗原的刺激,无菌动物的免疫系统处于不发达状态,特异性及非特异性免疫水平低下;由于无其它生命体作用,影响无菌动物的新陈代谢,致使无菌动物在生理生化多方面显示与普通动物不同。

三、无菌兔和无菌豚鼠的应用

用无菌兔制备血清抗体,呈现抗体效价出现早,效价高和持续时间长等特点是制备高质量、高效价抗体的优良实验动物。

无菌豚鼠的应用表明,不仅是研究微生物与微生物相互关系的动物模型^[10,11,12],也是研究胆色素结石的成因和治疗的较理想动物模型。

两种无菌动物均呈现为微核率低,可作为环境或药物致突变的研究模型。

无菌兔和无菌豚鼠的培育,为净化现有普通兔、普通豚鼠,建立各种不同等级实验用兔,豚鼠打下坚实的基础。

结 论

无菌兔与无菌豚鼠不仅仅是不携带其它生命体,而且有其特有的形态学和生理特性,因此可作为一种新型的动物模型,在生物学医学领域中广泛使用,在实验动物学领域中,可用净化普通动物,建立不同等级实验用兔和实验用豚鼠种群。

(本实验承卢耀增、王景宏、吴小闲、苏树芸、蒋虹、张呈生、张岩、苏卫、王德莲、陈中、秦川、施惠君等同志的帮助,谨在此一并致谢)

参 考 文 献

- 1 宫川正澄. 无菌动物. 医齿药出版株式会社. 1973
- 2 宿田幸男. 实验动物 1979; 28(1): 49
- 3 宿田幸男. 实验动物 1979; 28(1): 39
- 4 Wostmann BS. Anim Care Panel 1959; 9: 47
- 5 Pleasants JR. Lab Anim Care 1964; 14: 37
- 6 Trexler PG. Ann N Y Acad Sci 1959; 78: 29
- 7 Olson GB, et al. J Immun 1966; 97: 27
- 8 Schmid W. Agents Actions 1973; 3: 77
- 9 Olson GB, et al. J Immun 1966; 97: 275
- 10 Borreillo SP, et al. J Med Microbiol 1985; 19: 339
- 11 Helen Malmon-Ladas, et al. J Med Microbiol 1982; 15: 569
- 12 Hara E. J Nutr Sci Vitaminol 1978; 24(6): 569

Studies on Raising Germfree Rabbits and Guinea Pigs and their Biological Characteristics and Applications

Wang Yinhuai, et al

(Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

Germfree rabbits and guinea pigs were delivered by hysterotomy in New Zealand pregnant rabbits and short-haired albino guinea pigs, the entire uterus was removed into the isolator before the fetuses were dissected. During the early weeks of the life artificial milk was fed and followed by solid diets. All the materials and diets were sterilized thoroughly for the maintenance of germfree condition. Based on the successful raising of the germfree animals, investigations on the biological characteristics and applications have been done. It has been found that the procedures in hand-feeding and germ free maintenance were successful. Germfree animals grow in good condition with the significant characteristics which was seen in the most other germfree animals, i.e. enlarged cecum, undeveloped immune system, etc.

By using defined germfree animal models more researches can be done, such as studies on the relationships between macro-organisms and microorganisms, relationships between micro-organisms, the producing of antibodies and the establishments of SPF and cleaning laboratory animal stocks.

Key words Germfree rabbit Germfree guinea pig Isolator