



实验动物垫料的标准化

田还成,袁慧,许超琪

(中国辐射防护研究院药物安全评价中心,太原 030006)

【摘要】 垫料与实验动物关系密切,是对实验动物产生直接作用和影响的环境因素。本文从实验动物垫料的种类和消毒、垫料质量控制与评价体系的建立、垫料的商品化等方面的问题进行探讨。为实验动物垫料的研发和完善实验动物国家标准提供重要参考依据。

【关键词】 垫料; 实验动物; 质量评价

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)10、11-0072-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.10、11.017

Standardization of Laboratory Animal Bedding

TIAN Huan-cheng, YUAN Hui, XU Chao-qi

(Drug Safety Evaluation Center China Institution for Radiation Protection, Taiyuan 030006, China)

【Abstract】 Laboratory animal bedding, which is close to laboratory animal, is one of the important environmental factors which have a direct effect and influence on laboratory animals. This paper reviews the laboratory animal bedding's species and disinfection, the building of quality control and evaluation system, the commercialization and other issues, and provides a significant reference for the development and the improvement of national standards of laboratory animal bedding.

【Key words】 Bedding; Laboratory animal; Quality evaluation

近年来随着生命科学研究的飞速发展,作为其研究中不可缺少的重要组成部分—实验动物也备受各国政府的重视和科学家的关注。动物质量的好坏是动物实验成功的最基本保证。垫料与动物直接接触,可影响实验动物的微环境进而影响动物的健康和实验结果。因此,垫料的质量评定与控制非常必要。然而我国的文献报道大多集中在多种垫料的比较、新型实验动物垫料的开发等方面^[1-5],对于垫料的质量评价是近年来才逐渐重视起来的^[6-9]。但仍尚未体现在国家标准和相关管理条例中。欧美等发达国家早已实行垫料商品化生产,有专业的工厂,并且各道工序的质量要求非常严格。但反观我国实验动物垫料的商品化才刚刚起步,远

远达不到实验动物质量要求的标准。这严重影响了我 国实验动物的发展,进而影响动物实验结果的准确性,可靠性,使得科研成果无法走向国际。因此要想使我国的实验动物的质量管理与国际接轨,实验动物垫料生产的标准化、商品化就变得至关重要。

1 垫料的种类及消毒

1.1 垫料的种类

多年来研究者大多依据实验动物的种类、来源、成本等选择更适于自身的垫料品种,因此国内垫料的种类五花八门。

首先从使用上垫料总体分为接触型和非接触

[作者简介]田还成(1961-),男,副研究员,从事毒理学、实验动物管理、GLP动物实验设施管理工作。E-mail: The8888@126.com。袁慧(1985-),女,研究实习生,从事毒理学的研究。

型两种^[10]。接触型直接铺垫在动物体下,用于吸尿、吸湿、做窝、保暖等,是啮齿类动物一生中接触最频繁的环境因子;非接触型垫料不与动物身体接触,一般放置于悬挂式动物笼具下方的托盘内,承接动物排泄物。如家兔笼具下面接粪盘中的垫料—纸板状垫料、塑料布垫料、木屑等。其次从原材料来分,垫料主要有:木屑、刨花、玉米芯、秸秆、麦糠、棉花、蒲草、稻草、纸屑等。

1.1.1 木屑(锯沫):来源广泛,单位体积吸水性强,舒适性较好。但其成分复杂,含杂质较多^[11]。有研究发现其会危害裸鼠的眼睛^[12],提高动物呼吸系统的感染率,降低繁殖力^[11]。因此木屑较适用于非接触型垫料。

1.1.2 刨花:资源丰富,价廉易得,质地松软,有良好的舒适性、吸水性和保温性能,较少污染和发霉,是国内应用较早且最广泛使用的垫料。但由于刨花来源的树种不同,其化学性和物理性有明显的差别。多数研究表明,松木、杉木属于芳香性木料,其所释放的挥发性物质对动物的肝功能和免疫系统产生影响^[13]。而泡桐刨花和白杨刨花的吸水性,舒适性都较好,更重要的是无明显毒性,安全可靠^[14]。此外,豚鼠可以通过咀嚼枫树、桦树、白杨、山毛榉等硬木削片,用唾液消化吸收补充其对维生素 C 的缺乏。可见豚鼠、大小鼠均可以选择刨花作为垫料^[15]。但不足之处是浪费木材资源。

1.1.3 玉米芯:玉米棒芯的粉碎物,较之木质垫料,其细胞毒性低、吸氨能力强、低尘埃、保暖性好,并能长期保持笼内的干燥和清洁^[16]。但硬度和大小尺寸不好控制,易被动物吃下,其中残留的农药等化学物质难免会危害动物的健康。并且在有些地区玉米芯的成本较高。因此要根据实际情况有选择的使用。

1.1.4 秸秆、稻草、麦糠等均来源于农作物,以其作为垫料可降低成本,且对环境无破坏性影响。此种垫料的动物适应性良好,无采食、无毒。但稻草的不足之处是易被动物粪便污染,表面吸附尘埃较多^[17]。麦糠的缺点是比重较大,易长虫、发霉,难保存^[13]。从而使用此类垫料需在消毒灭菌上严格把关。

1.1.5 纸质垫料是国外常用的垫料之一。其吸水性好,但有些漂白纸中存在有害物质,并且其来源有限,成本很高,以致目前我国很少应用^[9]。

1.1.6 蒲草和芦苇是近年来正在开发的新型垫料,

研究证明它们具有良好的吸水、吸氨性及保暖性并且具有柔软、蓬松、粉尘小、成本低、无公害等特点。所以应对此类环保型垫料加以开发利用和推广^[18]。

总之,无论对于何种管理和实验条件,还是对于何种动物都没有最理想的垫料。应充分利用每种垫料的优点,规避它们的缺点,根据不同的管理方式和动物种类,综合比较后选择较适合的垫料。

1.2 垫料的消毒

无论何种材料所制的垫料中均可能有昆虫、微生物等。而动物的粪便混在垫料中,加之适宜的温湿度,将会成为微生物滋生的良好场所。所以国家实验动物质量控制标准要求,无论是普通实验动物还是屏障系统内的实验动物所用的垫料都应经过消毒灭菌处理。但目前很多地方做不到这一点。消毒的方法主要有:高压灭菌法、射线照射法、化学熏蒸法、微波灭菌法、干烤灭菌法等。其中高压蒸汽灭菌法、辐照灭菌法、甲醛熏蒸 3 种方法是比较适用于实验动物垫料的消毒灭菌的^[19-20]。

1.2.1 高压蒸汽灭菌法:此法是国内应用较为普遍的一种灭菌方法。其消毒时间较短,消毒效果可靠。但高压灭菌会破坏垫料组织,导致少量水蒸气吸附从而使垫料吸水能力下降,并有利于微生物生长,因而使用时应采用适当的干燥时间和贮存条件。

1.2.2 辐照灭菌法:用⁶⁰Co 辐照灭菌能一次性处理大量垫料,省时省力。并且不会引起其中物质的变化,不会影响垫料的吸水性。我国现行的国家标准对垫料的辐照灭菌剂量没有明确的规定。周正宇等研究发现 25 kGy 的辐照剂量足以达到 SPF 实验动物垫料灭菌的要求,是比较可靠、经济的剂量。同时他还证实辐照垫料对实验动物的生长、繁殖没有影响,是一种较安全的消毒方法^[21]。

1.2.3 甲醛熏蒸法:此法杀菌广谱、杀菌力强,操作也比较简便,成本低廉,对物品无损害或损害轻微;但它对人有一定的毒性、腐蚀性、杀菌所需时间也较长,是实验动物可以选择的消毒方法之一。

2 垫料的质量要求与评价

垫料直接与实验动物机体接触,对实验动物的微环境有重大影响,是影响实验动物的质量和动物实验的结果的关键因素之一。发达国家对实验动物垫料质量研究很重视,目前已普遍使用低毒的商品化垫料。我国虽已越来越重视实验动物的质量,

提高了实验动物标准化程度和质量管理水平,但是,对于垫料的质量管理尚未标准化,未能建立质量管理体系。从而制约着我国实验动物纳入规范化、统一化、国际化的轨道。因此,当务之急是建立实验动物垫料的质量评估体系。

2.1 垫料的质量要求^[7,9]

2.1.1 物理性方面:要吸湿性强,柔软、舒适、无尘土,不能引起实验动物皮肤、粘膜的损伤,且易于高压消毒灭菌、易于贮存,最好能重复利用。动物不能采食、能筑巢。在质量评定时需评价垫料引起的粉尘,要检查颗粒的均匀性、吸水性、柔软性,有无异物、针刺物等。

2.1.2 化学性方面:应保证无异味,无芳香类、挥发性化学物质,无农药、无重金属污染等。在质量评定时,要检查化学杀虫剂,真菌毒素、亚硝胺、消毒剂的残基和重金属等。我国尚未明确规定垫料中重金属的控制指标,但根据美国标准的规定,重金属残留量控制为:汞(Hg)小于0.09 mg/kg;铅(Pb)小于0.2 mg/kg;铬(Cd)小于0.01 mg/kg。

2.1.3 生物方面:无微生物(如大肠杆菌、沙门菌、霉菌、细菌)、寄生虫、昆虫等污染,无虫蛀。在质量评定时不同级别需要检查相应的细菌、病毒、寄生虫和真菌等。

2.1.4 经济方面:价廉易得,来源清楚,节能环保。

2.2 垫料的评价

研发新型垫料及投入生产时,需从其理化性质、适用性、安全性等方面进行质量评估。

2.2.1 理化性状评价

吸水性是要求垫料具有吸收动物排泄物中的水分,保持实验动物生活环境干燥舒适的特性。将一定重量的垫料用孔径为2.0 mm × 2.0 mm的尼龙网包扎后置于水中,一定时间后取出放置于网架上,看不到滴水后称重。以每克垫料吸水克数评定垫料吸水性能。

吸氨性是以饲养笼内氨浓度作为评价指标的。用适合的塑料袋套住笼子,吸收管的橡皮管深入笼子中心点,扎住袋口,以0.5 L/min的流量集气2 min,依纳氏比色法在分光光度计测定并计算采集样品的氨浓度^[18]。国家标准中规定氨浓度不得超过14 mg/m³。垫料更换周期应根据垫料的吸氨能力制定。研究表明玉米芯的吸氨性高于其它材料^[16]。

2.2.2 适用性评价

舒适性试验方法:在不同的盒子里放不同的垫料,盒子互相连通,小鼠可自由进入任何一个盒子,根据小鼠在某种垫料的盒子里停留和睡眠时间长短,可以推断小鼠喜欢哪一种垫料^[22]。

保暖性试验方法:用动物巢内温度以及动物离巢5、10、15 min后的空巢余温评定垫料的保温性。实验表明,蒲草保暖性略高于其它材料^[18]。

干燥性试验方法:将各种垫料吸水后不同时间段进行称重,用干燥度来反应垫料的干燥快慢。实验表明,干燥速度最快的是刨花,木屑最慢^[9]。

2.2.3 安全性评价

垫料原材料本身可能含有影响动物健康的有害物质,因此在研发时必须进行垫料安全性评价。

一般毒性检测方法:一般进行垫料水浸出物、醇浸出物、醚浸出物的急性毒性实验。可以用这几种浸出物对实验动物进行灌胃、经眼、经皮等试验,观察动物状态,确定垫料对实验动物的毒性作用。还可以通过检测血液生化指标变化结合组织切片观察来确定垫料对动物机体的整体毒性^[13]。

细胞毒性检测方法:常规体外培养的小鼠Hepa-1细胞系对有害的化学物质非常敏感,从而常被用于研究垫料提取物潜在的毒性。研究表明,松木的细胞毒性最大,玉米芯的毒性最小^[8,23]。

微核试验:一般测定骨髓多染性红细胞核率来评价垫料的致畸作用;一般测定对肝微粒体酶活性的影响来确定垫料因素对实验结果是否产生影响^[24-25]。

对垫料原材料的卫生学检测^[26]:重点检测原材料内是否残留危害动物和人类的杀虫剂、杀菌、抑菌剂和重金属元素。要调查、研究、分析原材料产区可能使用的农药、防腐剂、抗生素等种类、剂量、可能的残留量、可能的重金属污染,以及微生物和毒素等。

3 垫料的商品化

近年来,我国已逐渐认识到实验动物的重要性。为了提高实验动物标准化程度和质量管理水平,我国已在此方面增加了投入并取得了一些成就,但在现行的国家标准和实验动物相关管理条例中,对于垫料的规定只有:应选用吸湿性好、尘埃少、无异味、无毒性、无油脂的材料;须经消毒、灭菌后方可使用。如此笼统的规定在一定程度上制约了我国实验动物标准不能紧跟国际标准,同时限制

了药品、生物制品、实验动物等产品的出口,还使科研论文将不能被同行接受。因此要想提高相关学科竞争力,就必须加强垫料标准化和质量控制。

标准化的重要意义是改进产品过程和服务的适用性,防止贸易壁垒,并促进技术合作^[27]。它是保证商品质量的有力证据,是新产品能有效推广的重要环节,是商品化的必要前提。我国垫料研究工作起步较晚,垫料生产仍比较零散,许多单位使用的垫料来源不清楚,所含杂质也较多,基本都未经过检验就投入使用。但经过研究者的努力,我国的垫料研究已积累了足够的理论基础,现只需统一和规范。这就要求政府部门建立垫料质量标准评价体系,制定出实验动物垫料的国家标准及其配套法规,使垫料生产标准化、法制化进而市场化。

4 小结

综上所述,从垫料的成本、环保、适应性和安全性等方面来考虑:第一,应推广使用商品化的白杨、泡桐以及玉米芯垫料,大力开发蒲草、芦苇和再生纸等新型垫料,促使其商品化。第二,垫料商品化有利于控制灭菌、包装、运输等过程中存在的问题。经综合比较后,商品化垫料均需采用⁶⁰Co 辐照灭菌,所采用的剂量为 25 kGy。第三,检测指标需根据实验动物的不同级别和垫料原材料的不同种类而设定。第四,随着能源问题日益严重,也有较少人关注垫料重复使用的可行性。但由于垫料属于帮助动物维持微环境干燥清洁的重要工具,重复使用会降低它的能力,因此不建议垫料重复使用。总而言之,实验动物垫料实行标准化、法制化及商品化已经迫在眉睫,亟需尽早出台实验动物垫料的国家标准,完善实验动物质量监管体系。

参考文献:

- [1] 周正宇,薛智谋. 白杨刨花作为实验动物垫料的实验研究[J]. 上海实验动物科学. 2003, 23(4): 215-217.
- [2] 刘军须,冯旭,张焕铃,等. 两种新型实验动物垫料的性状研究[J]. 中国比较医学志. 2006, 16(8): 472-474.
- [3] 阳建春,黄初. 几种实验动物垫料的比较研究[J]. 中山大学学报论丛. 1997, 6(1): 89-92.
- [4] 郭健,郑振辉. 应用以玉米芯为原料的清洁实验动物垫料饲养动物实验报告[J]. 实验动物科学. 1992, 9(3): 28-29.
- [5] 张宏磐,苑文英,石国锋,等. 麦糠作为小鼠新型垫料的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医. 2007, (1): 97-98.
- [6] 刘恩岐. 实验动物垫料质量的评估[J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(3): 179-184.
- [7] 于洪涛,史晓萍. 实验动物垫料的质量与控制[J]. 中国医科大学学报, 2004, (6): 236-237.
- [8] 杨旭,孙淑华,王艳蓉,等. 实验动物垫料质量标准控制指标的探讨[J]. 实验动物科学. 2007, 24(2): 52-55.
- [9] 孙永梅,郭自荣,张永侠,苍晶. 我国实验动物垫料的质量评价研究概述[J]. 东北农业大学学报. 2009, 40(1): 139-144.
- [10] Wirth H. Criteria for the evaluation of laboratory animal bedding [J]. Lab Anim. 1983, 17(2): 81-84.
- [11] 刘忠华,魏社林. 啮齿类实验动物的垫料和笼具[J]. 上海实验动物科学. 2003, 23(3): 182-185.
- [12] 张家,张周,杨秋龙,等. 裸小鼠稳产高产的经验[J]. 上海实验动物科学. 1993, 13(3): 151-153.
- [13] 饶子亮,赵士海,黄小琼,等. 垫料对小鼠血常规值和血清生化指标的影响[J]. 实验动物与比较医学. 2009, 29(1): 51-54.
- [14] 王宗保,吴端生,刘鑫,陈夕军,姚峰. 泡桐刨花用作实验小鼠垫料的研究[J]. 南华大学学报·医学版. 2001, 29(2): 116-119.
- [15] Dunham W B, Young M, T sao CS. Interference by bedding materials in animal test systems involving ascorbic acid depletion [J]. Lab Animal Science. 1994, 44(3): 283-285.
- [16] 李保文,梁春南,黎绍明. 玉米芯垫料替代刨花垫料后动物的换窝频度[J]. 实验动物科学. 2009, 26(4): 65-68.
- [17] 刘军须,蒋东升,冯旭,等. 玉米秸垫料饲养 SD 大鼠的安全性评价[J]. 中国比较医学杂志. 2007, 17(6): 345-347.
- [18] 陈洪岩,苍晶,辛晓光,等. 实验动物新型垫料的研究 I 簿草的生物学特性及吸水、吸氨、保暖性能测定[J]. 中国实验动物学杂志. 1995, 5(4): 229-234.
- [19] 张志,王晖. 啮齿类实验动物垫料的选择和消毒[J]. 动物科学与动物医学. 2004, 21(12): 37-39.
- [20] 魏社林,黄初,张钰. 实验动物垫料消毒灭菌方法的比较研究[M]. 广东实验动物科技发展十年. 广东: 广东科技出版社, 2003.
- [21] 周正宇,薛智谋,王禹斌,等. 辐照垫料的实验研究[J]. 上海实验动物科学. 2005, 25(1): 41-43.
- [22] Ago A, Gonda T, Takechi M, et al. Preferences for paper bedding material of the laboratory mice [J]. Exp Anita. 2002, 51(2): 157-161.
- [23] 刘福英,王春梅,刘军须,等. 5 种垫料物质的细胞毒性研究[J]. 中国比较医学杂志. 2003, 13(6): 349-351.
- [24] 王艳蓉,孙淑华,孟金萍,等. 实验动物垫料毒性安全评价进展[J]. 中国比较医学杂志. 2007, 17(4): 245-248.
- [25] 王春梅,刘福英,刘军须,等. 3 种垫料对大鼠血液生化指标和肝细胞色素 P450 的影响[J]. 中国比较医学杂志. 2003, 13(6): 336-340.
- [26] 李宝龙,夏长友. 实验动物垫料的质量控制与评价[J]. 畜牧兽医科技信息. 2006, (10): 39-40.
- [27] 傅江南. 加入世界贸易组织后我国实验动物行社会化商品化趋势[J]. 中国比较医学杂志. 2003, 13(3): 189-192.

(修回日期)2011-09-07