

实验动物的微生物学、寄生虫学 质量控制

陈 丽

安徽省动物中心

安徽医科大学实验动物中心



主要内容

第一节 实验动物的概念、特点及分类

第二节 普通动物的特点及应用

第三节 无特定病原体动物的特点及应用

第四节 无菌动物的特点及应用

第五节 悉生动物的特点及应用

第六节 微生物、寄生虫潜在感染对实验研究的干扰

第七节 实验动物微生物及寄生虫监测

第八节 生物安全

第九节 实验动物卫生防疫



第一节 实验动物的概念、特点及分类

一、实验动物 (Laboratory Animal, LA) 的概念

实验动物是指人工饲养，对其携带的微生物实行控制，遗传背景明确或来源清楚的，用于科学研究、教学、生产、检定及其他科学实验的动物。

国家科学技术部于2000年组织专家，对《实验动物管理条例》修订补充，其中将实验动物定义为：经人工培育、遗传背景清楚、对其质量实行控制、用于科学试验及产品生产的动物。




二、实验动物的特点

1. 从遗传角度，必须经人工培育，在特定的环境条件下，人工培育而成的动物。

2. 遗传背景明确、来源清楚。实验动物科学的涵义应是遗传限定的动物。

3. 健康状况实施监控：对其携带的微生物、寄生虫实行控制。

4. 应用范围明确，实验动物主要是应用于科学实验。有学者称之为“活的分析天平”，如同理化实验，需要精密仪器和高纯度试剂一样。生命科学研究及其相关的试验，要求实验动物对试验因素敏感性强，反应高度一致，使试验研究结果具有可靠性、精确性、可比性、可重复性和科学性。



三、实验动物分类

实验动物微生物质量控制是实验动物标准化的主要内容之一，按微生物控制标准，或根据微生物净化程度，实验动物在我国分为四类：

- 1、普通级动物（CV）亦称一级动物饲养于开放系统；
- 2、清洁级动物（CL）亦称二级动物饲养于半屏障系统；
- 3、无特定病原体动物（SPF）亦称三级动物饲养于屏障系统；
- 4、无菌及悉生动物（GF、GN）亦称四级动物饲养于隔离系统。



国际标准分级法

等级	种类	饲养条件	控制程度	备注
三级	无菌动物 Germfree animal	隔离系统 Isolation system	以封闭的无菌技术获得,用现有方法不能检出任何微生物和寄生虫的动物。	
三级	悉生动物 Gnotobiotics animal	隔离系统 Isolation system	确知已带的微生物，经无菌条件饲养的动物。	明确所带的微生物。
二级	无特定病原体动物 Specific pathogen free animal	屏障系统 Barrier system	不带有指定的致病性微生物和寄生虫的动物。	带有非特定的微生物和寄生虫
一级	普通动物 Conventional animal	开放系统 Open system	不携带所规定的人兽共患病原体 and 动物烈性传染病的病原。	对微生物携带状况不明确



第二节 普通动物的特点及应用

一、概念（**conventional animal CV**）：

不携带人兽共患病病原和动物烈性传染病病原的实验动物。

二、特点：

1、微生物控制要求最低。

2、特征：健康的外貌，正常的饮食

眼角、鼻腔 无分泌物附着

尸检无眼观病灶



三、应用

由于普通级动物是实验动物微生物控制要求较低的一类动物，对实验结果的准确性和反应性较差，因而国际上普遍认为仅可作为生物医学中教学示教之用；或作为某些科学研究为探索方法而从事的预试验之用，不可供科研、生产和检定之用。



第二节 清洁级动物的特点及应用

一、基本概念

除普通级动物应排除的病原外，不携带对动物危害大和对科学研究干扰大的病原。来源于**SPF**动物或剖腹产动物。

小鼠病原菌应排除**10**种，病毒**5**种；大鼠病原菌应排除**10**种，病毒**2**种。



二、特点和应用

1、清洁级动物比普通级动物要求排除的微生物和寄生虫多，但比SPF动物少。

2、清洁级动物饲养于温湿度恒定的十万级空气净化的一半屏障系统中。

3、国际上目前普遍认为清洁级动物仅适合于短期或部分科研实验。根据国外的实验动物工作发展状况及国内的具体条件，认为这类动物目前可适用于大多数科研实验，应是国内科研工作主要的标准级别实验动物，可应用于医学研究各个领域。



第三节 无特定病原体动物的特点及应用

一、基本概念：

无特定病原体动物 (Specific pathogen free animals, SPF) 是指动物体内无特定的微生物、寄生虫存在，但带有非特定的微生物、寄生虫的动物。主要指不携带潜在感染、条件致病和对实验干扰大的病原。来源于剖腹产动物。

小鼠病原菌应排除16种，病毒11种；大鼠病原菌应排除16种，病毒7种。

二、特点：

- 1、不携带主要潜在感染或条件致病菌和对科研干扰大的病原。
- 2、SPF动物来源于无菌动物，必须饲养在屏障系统中，实行严格的微生物控制。
- 3、笼具、饲料饮水都要经过特殊处理，并有严格的检疫、消毒、隔离制度。



目前国际上对SPF动物的要求不尽相同，质量标准也不一样。部分学者认为某种实验动物没有某种病原体，不影响实验要求就可以称为SPF动物。另有学者认为必须将常见的病原体全部排除才算真正的SPF动物。

三、应用

国际上公认SPF动物适用于所有科研实验，是国际标准级别的实验动物。它的应用价值在于它无人畜共患病，无主要传染病，无对实验研究可能产生干扰的微生物。各种疫苗生产所采用的动物应为SPF动物。



表 8-9 日本对供安全性试验动物的要求

安全性试验的种类	动物要求
I. 急性毒性试验	4 周龄的 SPF 小鼠、大鼠,经 1 周适应后使用 2.5~3.0kg 的兔,经两周适应后使用 6~7 月龄的毕克狗,经 1 周适应后使用
II. 大鼠的亚急性及慢性毒性试验 兔的亚急性毒性试验 毕克狗的亚急性及慢性毒性试验	4 周龄 SPF 大鼠,经 1 周适应后使用 约 2.5kg 的兔,经 4 周检疫适应后使用 6~7 月龄毕克狗,经 4 周检疫适应后使用
III. 生殖试验(妊娠前和妊娠初期服药反应)	5 周龄雄性和 12 周龄雌性 SPF 小鼠、大鼠,经 1 周适应检疫后用
IV. 致癌性试验	4 周龄的 SPF 小鼠和大鼠,经 1 周的检疫适应后使用
V. 生殖试验(器官形成期的服药试验) 生殖试验(产前 1 周和哺乳期服药试验)	12 周龄的雌性 SPF 小鼠和大鼠,经 1 周的检疫适应后使用,2.5kg 左右雌兔,经 4 周检疫适应后使其交配妊娠用于实验 12 周龄雌性 SPF 小鼠、大鼠,经 1 周检疫适应后,使其交配妊娠后用于实验

第四节 无菌动物的特点及应用

一、概念

无菌动物（**germfree animal GF**）：指用现有检测技术在动物体内外的任何部位均检不出任何活的微生物和寄生虫的动物。

无菌动物来源于剖腹产或无菌卵的孵化，饲养于隔离系统内。

无菌动物是一个相对的概念，只是根据现有的科学知识和检验方法在一定时期内不能检出病原体而已。随着科学技术的发展，现在认为是无菌的动物或许将来可以检出病原体而不是无菌动物。



另外，用大量抗菌素也可以使普通动物暂时无菌，但这种动物不是无菌动物，因为这种无菌状态是一时性的，某些残留的细菌在适当的条件下又会在体内增殖即使把体内的细菌全部杀死，它们给动物造成的影响却是无法消除的。如特殊性抗体的存在、网状内皮系统的活化、某些组织或器官的病理变化等。因此，无菌动物必须是生来就是无菌动物。

二、特点

1、无菌动物和普通动物外观和活动之间看不出有特别的差异，有时仅见有体重增加，但是，其功能、结构和普通动物有很大不同。主要有以下两方面的特点：

1) 形态学的改变

2) 生理学改变



形态学的改变

消化系统：变化主要在肠道上。无菌动物肠道肌层薄，更为特异的是盲肠肥大，比普通动物大5-6倍，例如无菌豚鼠的盲肠可达体重的1/3，主要是由于肠壁薄，张力低而增大，故常易导致盲肠扭转或肠壁破裂而死亡。但是如给无菌动物注入梭状芽胞杆菌等则可缩小盲肠体积，肠粘膜绒毛增多，肝脏重量相对下降，则导致解毒功能有所下降。

血液循环系统：心脏相对缩小，白细胞增加，普通动物白细胞总数波动范围大，无菌动物白细胞数值恒定。

免疫系统：胸腺网状上皮细胞体积较大。无菌兔胸腺中以小淋巴细胞为主。胸腺和淋巴结处于功能不活跃状态，脾脏缩小，无二级滤泡，网状内皮细胞功能下降。由于无菌动物几乎没有受过抗原刺激，其免疫功能基本上处于原始状态。

泌尿系统：肾脏较小。



生理学变化：

免疫功能：产生丙种球蛋白的能力很弱；由于体内无微生物和寄生虫，血中无抗体，血清杀菌力低，对微生物感染异常敏感。

生长率：无菌鸟类生长率高于同种普通鸟，无菌大、小鼠与普通鼠差不多，无菌豚鼠和无菌兔比普通的慢。因肠内无菌，不能帮助消化纤维素。

生殖：无菌条件对动物的生殖影响不大。无菌豚鼠及兔比普通的豚鼠、家兔繁殖率低，可能是大盲肠之故。

代谢：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。

营养：无菌动物体内不能合成维生素B和K，故易产生这两种维生素的缺乏症。

抗辐射能力：无菌动物抗辐射能力强。

寿命：无菌动物的寿命普遍长于普通动物。



表 12-11 GFA 的一般生物学特征

项 目	两种动物比较	项 目	两种动物比较
寿命	$GF > CV$	性成熟期晚	$GF > CV$
早期增长	$GF < CV$	产仔数	$GF < CV$
摄食和饮水量	$GF \geq CV$	仔畜成活率	$GF > CV$
微核率	$GF \ll CV$	射线耐受量	$GF > CV$

注：GF为无菌动物，CV为普通动物



表 12-14 GFA 的消化系统特征

项 目	两种动物比较	项 目	两种动物比较
盲肠重量	GF>>CV	肠内容物尿素量	GF>CV
盲肠净重	GF>CV	肠内容物乙聚糖量	GF>CV
盲肠内容物重量	GF>CV	肠内容物胰蛋白酶量	GF>CV
肠壁厚	GF<CV	肠内容物糜蛋白酶量	GF>CV
肠固有层网状细胞量	GF<CV	肠内容物乳酸酶量	GF<CV
肠壁组胺含量	GF<CV	肠内容物组织胺量	GF<<CV
肠蠕动强度	GF<CV	肠内酶活性	GF>CV
肠套叠发生率	GF>CV	十二指肠碱性磷酸酶活性	GF>CV
肝组胺含量	GF<CV	盲肠壁平滑肌张力	GF<CV
小肠粘膜上皮细胞再生率	GF<CV	盲肠内容物含水量	GF>CV

表 12-13 GFA 的血液、血生化特征

项 目	两种动物比较	项 目	两种动物比较
白细胞数	GF<CV	血液 O ₂ 分压	GF>CV
γ 球蛋白量	GF<CV	血中白蛋白量	GF>CV
嗜中性白细胞量	GF<CV	血管平滑肌活动强度	GF<CV
溶菌酶含量	GF<CV	血管平滑肌对加	CF<CV
血液 CO ₂ 分压	GF<CV	压素和肾素的反应度	—
红血球数	GF≥CV	全血量	GF<CV
		全糖值	GF≥CV

表 12-15 GFA 的免疫、感染病理特征

项 目	两种动物比较	项 目	两种动物比较
自然死亡时间	GF>CV	肠道 IgA 产生细胞数	GF<<CV
血清 γ 球蛋白量	GF<CV	对外免疫应答	GF \geq CV
血清白蛋白量	GF>CV	肠道外来菌定着度	GF \gg CV
血清 α_2 球蛋白量	GF<CV	口服沙门氏菌 LD ₅₀	GF<CV
血清 IgM 量	GF \leq CV	沙门氏菌感染肝中菌数	GF>CV
血清 IgG 量	GF<CV	结核菌感染肺肝菌数	GF>CV
血清 IgA 量	GF<CV	烧伤死亡量	GF<CV
γ 球蛋白合成率	GF<CV	龋齿齿周炎发生率	GF<CV
寄生虫感染抗体应答	GF>CV	自发肝肿瘤率	GF<CV
口服苏铁素的致癌率	GF<CV	外伤愈合率	GF>CV

三、无菌动物技术

1、无菌动物在自然界并不存在，必须人为的建成。无菌动物的理论基础和实践依据在于胎盘屏障和屏障观念，根据这个基础开展了无菌动物工作。

2、哺乳类无菌动物一般小动物作子宫切除术，大动物作子宫切开术获得幼仔。一般将临产前的健康动物用麻醉药或拉断颈椎处死后，立即浸泡在37度灭菌液中，送进无菌室（或无菌隔离器），按无菌手术进行剖腹，切除带胎子宫（子宫内首先应无菌），将其浸入消毒液里，并立即输送到另一只隔离器中，切开子宫取胎，用灭菌纱布揩拭仔体并断脐后，放入隔离器内人工喂乳或用其它品系的无菌鼠作保姆代养。



3、代乳鼠一般在隔离器内交配，在被剖腹鼠前1--2天产仔，放入剖腹取胎仔鼠时要先将其与代乳母鼠的仔鼠接触，使之有相同的气味。

4、剖腹取胎的时限为：大、小鼠9--10min, 豚鼠5min。

5、因大、小鼠等用人工喂乳非常麻烦，故采用保姆代养；豚鼠在一定程度上能自力饮乳，故人工哺乳较容易。

6、禽类、鱼类、昆虫类等，因是在卵中无菌的前提下作出的，故用药物将卵周围灭菌后移入灭菌隔离器内使其孵化即可。而且这些动物一般在出生后就能自力采食，故较易育成。关键在于消毒卵壳，因卵壳不平，不易彻底灭菌。



三、无菌动物在生物医学研究中的应用

1、微生物研究

1) 无菌动物是研究微生物与宿主相互作用，即微生物与宏生生物相互关系以及微生物之间的共生与拮抗关系的最佳动物。

2) 口服霍乱弧菌使幼龄无菌动物豚鼠死亡，口服前感染梭状芽胞杆菌，动物不发生死亡；口服福氏痢疾杆菌使幼龄无菌动物豚鼠死亡，口服前接种大肠杆菌，动物不发生死亡。

3) 炎症涉及细菌感染的多因素作用，无菌动物可把多因素变成单因素，整体反应变成局部反应。



2、动物模型研究

无菌动物可用于建立具有人正常菌丛或致病菌丛的动物模型。

3、免疫学研究

无菌动物血中无特异性抗体，适合有关免疫现象的研究，故免疫抑制剂常以无菌动物作为研究对象。



5、肿瘤研究

无菌动物在肿瘤发生与微生物的关系以及致癌物质的致癌作用研究中有重要作用。

1) 在致癌因素中，微生物引起癌变的比重较大。

2) 无菌大鼠比普通大鼠易发生激素依赖性肿瘤。

3) 无菌动物口服苏铁素不出现肿瘤，但普通动物口服苏铁素出现肿瘤。

6、药理与毒理研究

实验观察发现普通豚鼠对青霉素的敏感性高于无菌豚鼠；并且普通动物进食大豆易中毒，无菌动物则不会，提示某些物质的毒理作用常与肠道微生物代谢有关。无菌动物适用于慢性毒性实验。

7、其它


无菌动物可用于传染病学、放射生物学、微生物学、营养学、宇航医学等许多领域的研究。将培养无菌动物的原理和技术应用于临床，能有效地控制感染。

第五节 悉生动物的特点及应用

一、概念

悉生生物学是以无菌隔离技术提供的各种动物为实验对象，研究实验动物本身以及各种动物与微生物之间相互依存和制约关系的一门综合科学。

悉生动物(gnotobiotic animal GN)：或称已知菌动物，广义上把无菌动物、已知菌动物、无特定病原体动物统称悉生动物；狭义上指已知菌动物。依植入菌种数目的不同，又分为单菌、双菌、多菌动物。饲养管理与无菌动物相同。**GN**动物也必须饲养在隔离器内，其区别是隔离器内带有某一种或几种已知菌。



二、悉生动物的特点

- 1、GN动物是动物与微生物的共生复合体。
- 2、肠道存在能合成维生素和氨基酸的细菌，不会出现维生素缺乏症。
- 3、生活力、抵抗力明显增强，易于饲养。
- 4、研究正常菌群在维持机体适当特异性免疫性和非特异性免疫反应中所具有的刺激作用。



三、悉生动物与无菌动物的比较

表 12-19 GNA 及 CVA 优缺点比较

类 别	GFA	SPFA	CVA
传染病	无	无	有或可能有
寄生虫	无	无	有或可能有
试验结果	明确	明确	有疑问
应用动物数	少量	少量	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
死亡率	很少	少	高
长期实验存活率	约 100%	约 90%	约 40%
实验标准设计	可能	可能	不可能
实验结果的讨论价值	很高	高	有疑问

第六节 微生物、寄生虫潜在感染对实验研究的干扰

一、实验动物病毒对实验的干扰

1、鼠痘病毒：是危害实验小鼠最为严重的病毒之一。患急性病例的小鼠会突然死亡；患慢性病例的小鼠会出现全身症状，使实验结果混乱，并且污染环境，使病毒广泛传播，严重影响科研工作；隐性感染小鼠，无临床症状，但许多因素可以激活鼠痘病毒而使鼠痘流行。

a) 实验性结核、X射线、化学毒素、组织移植、肿瘤、运输可使隐性感染病毒激活。

b) 大量内毒素或切除脾脏可改变吞噬细胞功能，而增加小鼠对病毒的易感性。



2、仙台病毒

大、小鼠群中常见的病毒之一，急性感染多见于断乳小鼠，多数情况下呈隐性感染。

1) 饲养条件恶化、气温骤变或呼吸道细菌感染，可导致呼吸道疾病流行。

2) 严重影响体液和细胞免疫应答：抑制大鼠淋巴细胞对绵羊红细胞的抗体应答。减弱植物血凝素、刀豆素对淋巴细胞的促有丝分裂。

3) 致瘤作用的干扰：感染后的组织学改变酷似浸润性肺癌；感染可移植肿瘤，改变肿瘤细胞表面抗原和致瘤性。

4) 生殖影响：妊娠4-5天感染，胚胎被吸收；11-12天感染，妊娠期延长，新生鼠死亡率升高。



3、小鼠肝炎病毒

- 1) 在应激条件下，引起小鼠致死性肝炎、脑炎、肠炎
- 2) 改变机体各种免疫应答参数：降低血清免疫球蛋白水平和影响吞噬细胞数目。
- 3) 改变酶系统：增高或降低一些肝脏的酶活性

4、乳酸脱氢酶病毒


- 1) 污染生物材料和移植肿瘤，影响机体免疫。啮齿类动物病毒对生物材料、细胞系及可移植肿瘤的污染是一个不容忽视的问题。
 - 2) 抑制细胞免疫应答，延缓同种异体排斥，抑制移植物对宿主的反应。
 - 3) 对肿瘤研究的影响：病毒慢性感染，抑制或延缓肿瘤的形成。
 - 4) 对酶系统：小鼠感染后，一些血清酶活性升高。
- 

表 8-6 啮齿类实验动物病毒性疾病的危害作用

病 毒	人畜 共患	动物与感染		干 扰 实 验				
		传染病	隐性 感染	代谢	免疫	致肿瘤	污染生物 材料	协同 作用
脱脚病(Ect)		+	+					
仙台(Sendai)		+	+		+	+		+
鼠肝炎(MHV)		+	+	+	+	+	+	+
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(LCM)	+		+	+	+	+	+	
K 病毒(新生小鼠肺炎)			+		+		+	+
流行性出血热(EHF)	+	+	+					
呼肠孤-3(Reo-Ⅲ)			+	+		+	+	
小鼠微小病毒(MVM)			+	+	+	+	+	
多瘤病毒(Polyoma)			+			+	+	+
乳酸脱氢酶病毒(LDHV)			+	+	+	+	+	
小鼠巨细胞病毒(MCMV)			+	+	+	+		+
大鼠巨细胞病毒(RCMV)			+		+	+		
大鼠冠状病毒(RCV)			+					+
小鼠胸腺病毒(MTV)			+		+			
大鼠病毒(RV)			+		+	+	+	
H-1 病毒(Toolan H-1)			+		+	+	+	

二、实验动物细菌对实验的干扰

1、人兽共患病原菌和动物致病菌（例如沙门氏菌、布氏杆菌、结核分枝杆菌等）

1) 不仅可引起实验动物的严重疾病，而且也是人类的重要致病菌。

2) 不同品系、品种、性别和年龄的动物对不同细菌的易感性有所不同。

（例如灵长类动物对志贺氏菌、结核分枝杆菌敏感；ICR小鼠对鼠肺炎霉形体的易感性高于其他品系小鼠）

2、条件致病菌

由于饲养条件的改善和管理水平的提高，有些细菌（金黄色葡萄菌）一般不引起动物自然发病；当某些因素（免疫抑制剂的使用、射线的照射）作用下，动物机体抵抗力下降，以致疾病发生、流行。目前我国实验动物群中，人兽共患病原菌和动物致病菌已经基本得到控制，条件性细菌对动物的影响较为严重。

3、正常菌群

正常菌群受内外环境变化发生菌群失调，将产生数量和位置的改变，由非致病菌变为致病菌。

三、真菌感染对实验的干扰

病原真菌大多为人兽共患病原，病原性弱，为慢性过程，以慢性增生性炎症为主。

真菌孢子飞扬，污染环境，威胁动物和实验、饲养人员。



四、寄生虫感染对实验的干扰

1、掠夺宿主的营养

- 1) 因种类、数量、寄生部位不同，对动物影响不同。
- 2) 蛔虫寄生小肠，以半消化物质为食，导致动物发育缓慢、体重下降营养不良。
- 3) 螨皮下吸血，钩虫移位吸血导致动物慢性贫血。

2、体表寄生虫对宿主的干扰

- 1) 虱、螨吸血的同时分泌有毒素的唾液，刺激宿主神经末梢产生骚痒。



3、对宿主产生机械损伤

- 1) 虫体移行可对组织、脏器造成损伤。
- 2) 蛔虫幼虫移行，损伤肠壁、肺毛细血管和肺泡壁。
- 3) 肠道中，与粘液混合形成栓塞，引起肠梗阻或破裂。

4、产生毒性作用

即寄生虫分泌物、排泄物的毒性。如肝片吸虫导致胆管纤维变性，肝脏萎缩硬化。

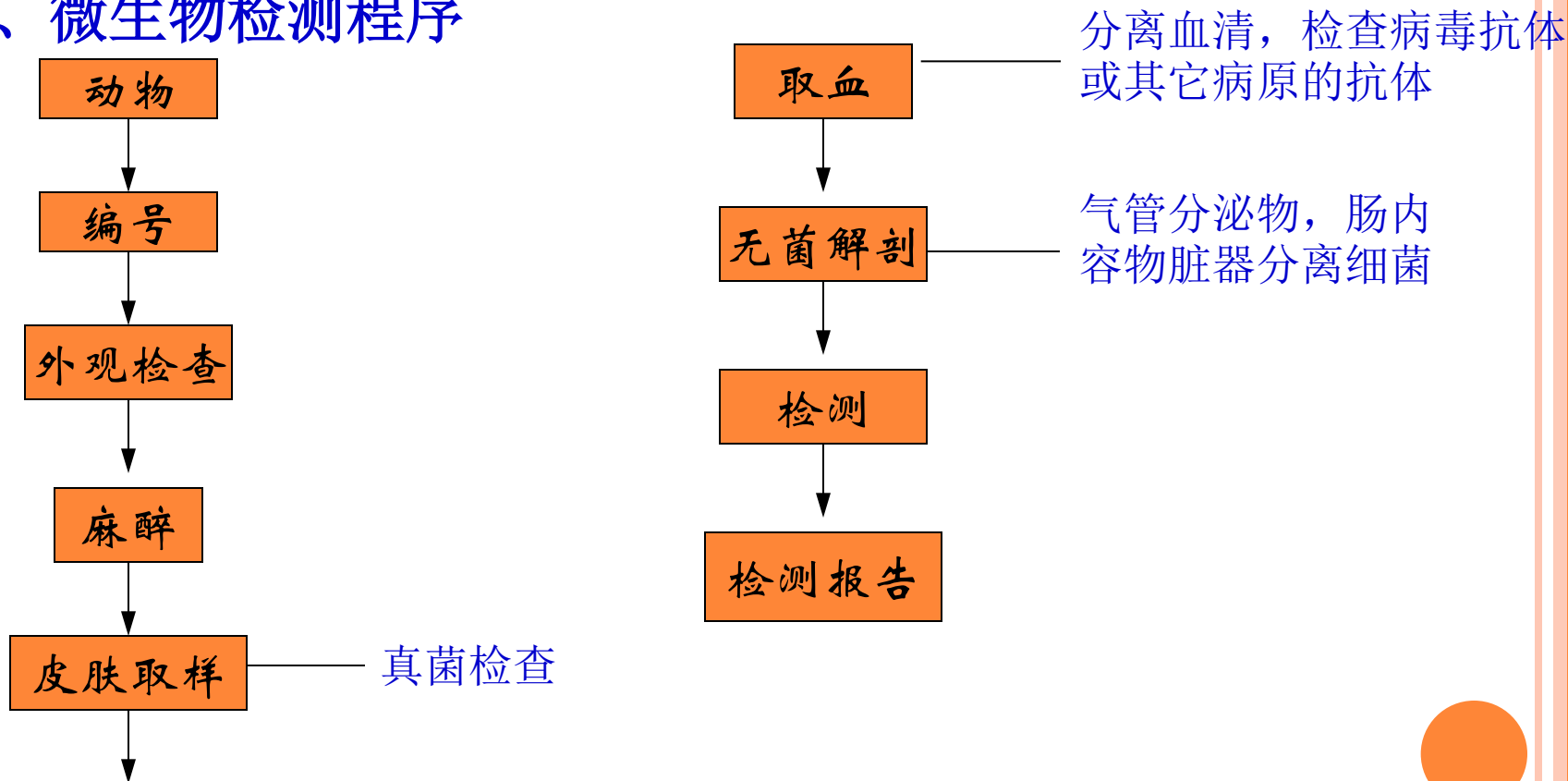
5、对生理、生化、免疫的影响



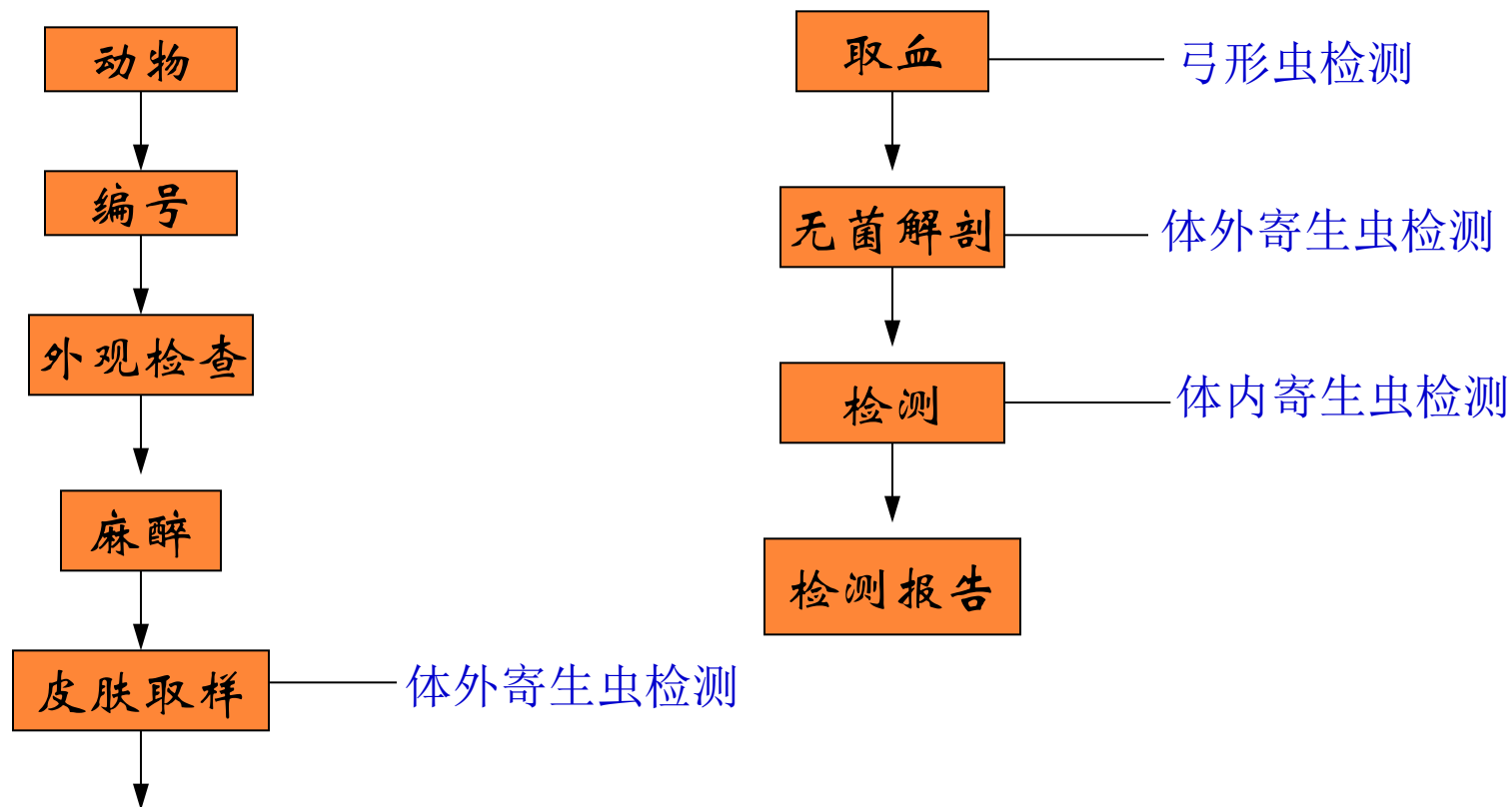
第七节 实验动物微生物及寄生虫监测

一、监测程序：

1、微生物检测程序



2、寄生虫检测程序



取样要求与监测规则：

- 1、普通动物、清洁级动物和无特定病原体动物每三个月至少检测一次。
- 2、无菌动物每年至少检测一次。
- 3、每2-4周检测一次粪便标本。



监测方法：

1、实验动物病毒检测：

1) 血清学诊断：血凝抑制试验（HI）；酶联免疫吸附试验（ELISA）。

2) 病原学检查：

接种细胞培养物观察CPE出现（鼠痘、鼠肝炎）；血吸附试验（仙台病毒）；免疫酶试验（LCM病毒）。连续三次传代未有病毒迹象为阴性。

接种敏感动物，观察发病、抗体产生、病理改变、接种动物病毒再分离。

动物组织细胞传代培养

3) 病毒颗粒、抗原和核酸的检出

光镜检查病理改变或包涵体的存在。

电镜检查组织内或排泄物中的病毒颗粒。

PAGE、PCR检查病毒核酸。

免疫法检查组织内、排泄物中的病毒抗原。



2、实验动物细菌检测：

- 1) 正常动物主要取气管或鼻咽分泌物和盲肠内容物作细菌培养。
- 2) 发病动物对发生病变的各组织和脏器做细菌检查。
- 3) 细菌监测多采用病原学方法。

3、实验动物寄生虫检测：

1) 体内寄生虫检查

直接涂片：适于肠道蠕虫虫卵、肠道原虫及血液内寄生虫。

虫卵收集：饱和生理盐水漂浮；沉淀集卵，用于吸虫卵；透明胶纸粘取，用于蛲虫卵；尿液检查，用于鼠膀胱线虫卵；尸体剖检。

2) 体外寄生虫检查

被毛检查

透明胶纸粘取

皮刮取法

黑背景法



第八节 生物安全

一、生物安全

概念：指由于职业或现代生物技术的开发和应用，造成的对人体健康和生态环境的潜在威胁及应采取的一系列有效预防和控制措施。

生物安全因素包括：病原微生物因素、转基因动物因素、变应原因素。



1. 病原微生物因素

1) 逸散方式:

天然逸散方式: 经尿液、唾液和粪便排出或从皮肤损害部位释出。

人为逸散方式: 采血、活组织检查和尸检。

2) 传播方式:

污染的针头和注射器以及直接与感染动物接触, 占引起感染的40%, 为最常见传播方式。

气容胶的形成及散播

气容胶: 是能较长时间悬浮在空气中的固态或液态微粒。

气容胶微粒越小, 在空中停留时间越长, 越易随气流运动, 越可能被吸入体内。

实验动物活动、人对动物的照料管理以及各种实验操作, 均能使微粒在外力作用下形成气容胶。

3) 感染途径:

四种途径: 摄入、吸入、粘膜接触及肠道外直接接种。

常见途径:

- a) 操作者被带有污染物的针头、刀刃刺伤、割破或擦伤, 以及被动物咬伤而直接接种;
- b) 照料动物、实验操作时吸入带污染物的气溶胶, 溅出的污染物, 污染的手和污染的表面接触操作人员的眼睛、鼻腔或口腔黏膜;
- c) 违反操作规程, 使用吸管进行操作或在工作区内进食。



2、转基因动物

1) 饲养、使用转基因动物的风险在于转入病毒全基因组的动物，病毒可能在动物体内复制，组装成完整的病毒颗粒 。

2) 其他转基因动物的风险在于如果它逃离实验室，在自然界中，它可能无法生存，也可能旺盛的繁育，甚至改变自然界的生态平衡、改变生物的多样性和破坏生态环境。



3、变应原因素

a) 变应原是引发人和动物过敏反应，甚至超敏反应的抗原性物质。其主要特征为患者的皮肤和呼吸道反应，包括鼻充血、鼻溢、喷嚏、眼部发痒、血管性水肿、哮喘和各式各样的皮肤症状。

b) 导致超敏反应的变应原，存在于小鼠的皮肤、血清和尿中，其他动物的血清(马、猫、犬、大鼠、豚鼠)，唾液(猫、犬、兔)，尿(大鼠)，脑组织(猫)中也发现了变应原。在动物房中，其他抗原也能够引起过敏反应，包括霉菌孢子和食物中可形成气溶胶的蛋白质。

c) 为了预防变应原因素引发的人的过敏反应，实验室主任对进入实验室的工作人员应作口头审查，了解家庭和个人的过敏史，对长期工作人员应定期作健康检查。

第九节 实验动物卫生防疫

一、实验动物传染病的分类

根据实验动物传染病对其自然宿主、人和其他动物的致病性，干扰生物医学研究或污染肿瘤移植物和生物制剂的严重程度，可将其所致疾病分为以下几类：

1) 对自然宿主、人和其他动物均有较强的致病性，属于人兽共患病原菌和动物致病菌，如狂犬病病毒、沙门氏菌、布氏杆菌、结核分枝杆菌等。

2) 对自然宿主致病性强，常引起爆发流行，甚至毁灭整个动物群，如鼠痘病毒等

3) 对自然宿主致病性弱，但可传染给人引起致死性感染。如流行性出血热病毒。



4) 对自然宿主无致病性，但可引起给其他动物的致死性感染。

5) 对自然宿主有一定的致病性，可引起疾病流行，影响动物的健康，并对研究工作产生严重的干扰。如小鼠肝炎病毒、仙台病毒。

6) 对自然宿主、人和其他动物均无明显的致病性，但可污染生物制剂、肿瘤移植和细胞培养物等，如鸡白血病病毒、猴病毒等。

二、实验动物传染病的发生和流行

1、疾病的发生：传染病的发生和流行的条件：

(1) 要有病原性和一定的毒力

(2) 侵入体内的病原体要达到一定的数量

(3) 病原体要有适当的侵入门户



2、传染病的传播

传染病的传播途径：

1) 直接接触传播：不通过任何媒介，健康动物和患病动物直接接触感染。如狂犬病、动物艾滋病等。它可分为水平传播（指实验动物群体相互间的传播，其途径包括消化道、呼吸道或皮肤粘膜创伤等）和垂直传播（指由母体通过卵巢、子宫而将病原体传染给胎儿）。

2) 间接接触传播：是指在外界环境因素的参与下，病原体通过传播媒介使易感动物发生传染的方式。它可分为非生物性传播媒介（包括空气、饲料、饮水和笼具）和生物性传播媒介（包括节肢动物、实验动物、野生动物、饲养人员等）



传染病传染的媒介：

- 1) 胚胎和卵传播（淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒、鸡白血病病毒——经卵细胞传播；支原体、细小病毒——胎盘感染）
- 2) 空气（飞沫、尘埃）传播（仙台病毒）
- 3) 饲料、饮水传播（沙门氏菌病）
- 4) 垫料和粪便传播（沙门氏菌病，各种寄生虫卵等）
- 5) 经羽毛、皮屑传播（鸡马立克氏病病毒、鸡传染性法氏囊病病毒）
- 6) 设备、用具传播（鸡支原体病，鸡新城疫，鸡传染性吼气管炎等）



7) 混群传播（后备群与成年群混合易造成传染病的发生）

8) 经活的媒介传播（节肢动物（苍蝇、蚊子、蟑螂、蚤、螨、虱和蜱等）；野生动物；实验动物；人（人畜共患病，如结核病，布氏杆菌病，流行性出血热等）

9) 交配传播（如布氏杆菌病）

3、易感机体在传染病发生中的作用

1) 种类（品种）

2) 年龄

3) 营养状况

4) 机体的抵抗力

5) 机体防御器官状况



4、传染病的发展阶段

- 1) 潜伏期（注意处于潜伏期的动物可能是危险的传染源）
- 2) 前驱期（一般表现：食欲减退，饮欲降低，精神不振等）
- 3) 明显期（特征性症状逐步表现出来，是疾病发展的高峰阶段）
- 4) 转归期（病因 \longleftrightarrow 机体）

传染源、传播途径和易感动物是传染病传播的三个基本环节，缺少任何一个环节，新的传染病就不可能发生，也不可能造成传染病在实验动物中的流行。而当传染病流行已经形成时，切断任何一个环节，流行即告终止。

常见实验动物细菌性疾病

- | | |
|------------|--------------|
| 1) 沙门氏菌病 | 2) 巴氏杆菌病 |
| 3) 伪结核耶氏菌病 | 4) 乙型溶血性链球菌病 |
| 5) 大肠杆菌病 | |

实验动物病毒性疾病

- | | |
|-------------|-------------|
| 1) 鼠痘 | 2) 流行性出血热 |
| 3) 大鼠细小病毒感染 | 4) 兔出血症（兔瘟） |
| 5) 犬瘟热 | 6) 狂犬病 |
| 7) 猴B病毒 | |

实验动物的寄生虫病

- | | |
|---------|----------|
| 1) 兔球虫病 | 2) 兔螨病 |
| 3) 犬螨病 | 4) 猫弓形体病 |



三、实验动物卫生防疫

在医学和兽医学研究领域，疫苗接种和药物治疗是预防传染病的有效手段。

但是实验动物一般不采取疫苗接种和药物治疗，主要由于实验动物的特殊性：

- 1、应用疫苗或治疗制剂可能干扰实验结果。

- 2、经过治疗或免疫的动物，外表健康，但可能是带菌或带毒者，可能成为潜在的传染源。

- 3、对于小型实验动物，治疗措施可能在经济上不合算

因此在实验动物饲养和动物实验过程中，只能采取严格的饲养管理和卫生防疫制度以达到预防疾病的目的。



实验动物卫生防疫主要包括以下几个方面的内容：

1、平时的预防措施

2、发生疫病时的扑灭措施

3、消毒措施

4、隔离措施



1、平时的预防措施

- 1) 饲养人员严格按照饲养管理规程和卫生防疫汇报。
- 2) 饲养人员不得接触非本场的实验动物，防止 野禽、家畜家禽，野生动物侵入场内。
- 3) 严格遵守卫生消毒制度，降低环境设施中的病原体含量。
- 4) 不从疫区引进实验动物。
- 5) 饲料、垫料的存放环境应干燥、通风，饲料 应达到相应的国家标准。
- 6) 不同种类，不同品系、不同年龄的动物应分开饲养，防止交叉感染，严防饲养人员串岗。
- 7) 外来购买或领用实验动物者不能进入饲养室。
有关人员每年进行健康检查，患有传染病的人员不能从事实验动物工作。
- 8) 定期检疫，发现情况及时按有关规定处理。
- 9) 如发现疾病，及时诊断，及时采取措施，或隔离，或淘汰



2、发生疫病时的扑灭措施

- 1) 及时发现、诊断和上报疫情，并通知邻近单位作好预防工作。
- 2) 迅速隔离患病动物，污染的环境和器具紧急消毒，正在进行实验的动物应停止实验观察或淘汰。
- 3) 若发生危害性大的疫病如鼠痘、流行性出血热等应采取封锁等综合性措施。划定封锁区域，并坚决执行封锁制度。
- 4) 病死或淘汰的动物应采取焚烧等综合性措施合理处理，及时处理传染源，切断传染病流行的环节。
- 5) 及时上报上级管理部门和防疫部门。



3、消毒措施

1) 预防性消毒：结合平时的饲养管理和卫生防疫制度，定期对实验动物房、笼具架、饮水等进行定期消毒，以达到预防一般传染病的目的。

2) 随时消毒：在发生传染病时，为了及时消灭刚从患病动物体内排出的病原体而采取的消毒措施，消毒的对象包括患病动物舍、隔离场地、被患病动物分泌物、排泄物污染的和可能被污染的一切场所、笼具等。通常在解除封锁和隔离之前进行定期的多次消毒，患病动物舍应每天和随时进行消毒。

3) 终末消毒：在患病动物解除隔离、完全痊愈或死亡后，或在疫区解除封锁之前，为了消灭疫区内可能残留的病原体所进行的全面、彻底的消毒。



消毒的种类

1、物理性消毒

- (1) 高压蒸汽消毒：饲料、垫料、器具等消毒。
- (2) 高热煮沸：器械、笼具、水瓶等消毒。
- (3) 干烤消毒：可达180-280℃，消毒效果较好。
- (4) 火焰消毒：温度可达300℃，主要用于不锈钢笼具、金属器械、墙壁的消毒。
- (5) 照射：紫外线、 γ -射线等，用于空气、饲料、垫料和器具的消毒。
- (6) 过滤消毒：主要用于空气净化和消毒，如 SPF鸡舍。
- (7) 电离辐射消毒 (8) 超声波消毒 (9) 微波消毒



2、化学性消毒：使用化学药物喷洒、浸泡、熏蒸等达到消毒灭菌的目的。

(1) 醛类消毒剂：甲醛（浸泡、熏蒸）、多聚甲醛、戊二醛等。

(2) 含氯消毒剂：二氯异氰尿酸钠（优氯净）、次氯酸钠、漂白粉等，用于环境消毒。

(3) 季铵盐类消毒剂：新洁尔灭（洗手、淋浴） 消毒宁、洗必太、消毒净。

(4) 酚类消毒剂：烷基化氯酚>烷基化酚、间 苯二酚>卤化酚、乙酚>甲酚等，常用煤酚皂溶液（来苏儿），用于脚池、车辆消毒池、地面消毒。

(5) 过氧化物类消毒剂：过氧乙酸、过氧化氢、臭氧等，常用于浸泡、喷雾、熏蒸消毒。

(6) 含碘消毒剂：碘酊、碘伏（碘与表面活性剂等的不定型结合物能逐渐释放碘以长时间杀菌），常用于消毒皮肤、伤口等。

(7) 醇类消毒剂：乙醇、丙醇、丁醇、戊醇等。常用于皮肤消毒。

(8) 其它消毒剂：如高锰酸钾（熏蒸、浸泡、喷洒）、氢氧化钠（畜舍、地面、用具、脚池）、石灰乳（墙壁、地面）等。

消毒的措施

1、动物舍外环境与车辆、人员的消毒

1) 设立消毒池

2) 车辆、人员注意消毒

2、动物舍消毒：“一扫、二冲、三喷、四熏”

3、日常带动物消毒（空气消毒）

4、饮水消毒

5、粪便消毒（发酵）



4、隔离措施

隔离的目的：控制传染源，防止健康动物继续受到传染，将疫情控制在最小的范围内。隔离患病动物和可疑感染的动物是防制传染病的重要措施。

隔离方法：

- 1) 隔离地点：不易扩散病原体、消毒处理方便。
- 2) 严格遵守隔离规定 隔离场所严禁闲杂人员和动物出入和接近。
- 3) 严格执行消毒制度 污染的和可能污染的用具、饲料、粪便等要经严格消毒方能外运。

