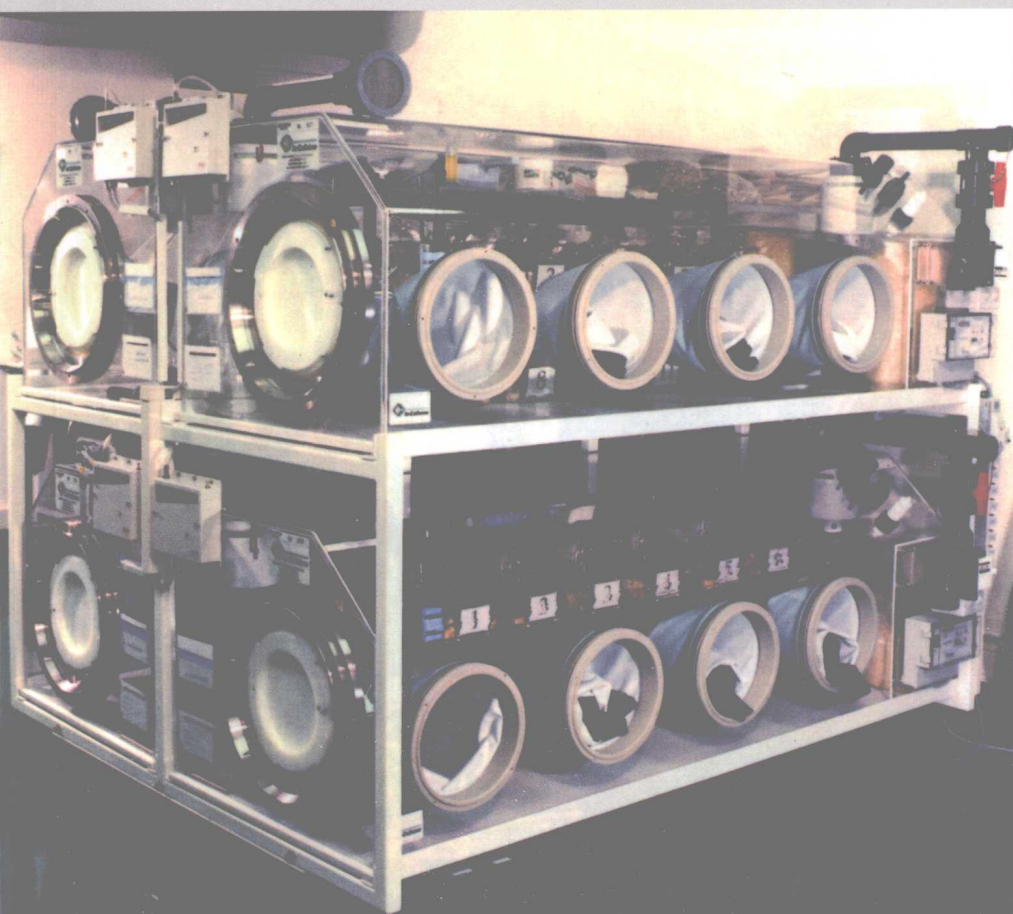


悉生动物学

XISHENG DONGWUXUE

王荫槐 王 钜 编著



辽宁大学出版社

悉生动物学

王荫槐 王钜 编著

XISHENG DONGWUXUE

辽宁大学出版社



© 王荫槐 王 钜 2007

图书在版编目 (CIP) 数据

悉生动物学/王荫槐, 王钜编著. —沈阳: 辽宁大学出版社, 2007. 12
ISBN 978-7-5610-5503-8

I. 悉… II. ①王… ②王… III. 微生物学 IV. Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 190981 号

出 版 者: 辽宁大学出版社

(地址: 沈阳市皇姑区崇山中路 66 号 邮政编码: 110036)

印 刷 者: 抚顺光辉彩色广告印刷有限公司

发 行 者: 辽宁大学出版社

幅面尺寸: 185mm × 260mm

印 张: 13.25

字 数: 320 千字

印 数: 1 ~ 1000 册

出版时间: 2007 年 12 月第 1 版

印刷时间: 2007 年 12 月第 1 次印刷

责任编辑: 贾海英

封面设计: 邹本忠

版式设计: 海 水

责任校对: 陈晓东

书 号: ISBN 978-7-5610-5503-8

定 价: 35.00 元

联系电话: 024-86864613

网 址: <http://press.lnu.edu.cn>

邮购热线: 024-86830665

电子邮件: LnuPress@vip.163.com

序

1885年，法国著名微生物学家 Pasteur 提出：“脊椎动物肠道中的菌群作用对宿主是重要的，如果没有肠道菌群参与，生命活动的维持将是难以设想的”，从此展开了无菌动物的实验性培育研究。由于受当时科学技术水平的限制，研究进展十分缓慢，直至 20 世纪 50 年代，Reyniers 培育繁殖无菌大鼠获得成功以及 Trexler 研制的廉价轻便的塑料隔离器问世和投入应用，促进了涉及微生物学和动物学之间的边缘学科——悉生动物学的诞生。

悉生动物学研究悉生动物（Gnotobiotic animals）的培育、饲养和生物学特征，以及栖息生物与宿主（微生物与宏生生物）或栖息生物借助宿主为载体（微生物与微生物）展开的相互拮抗、竞争的复杂的生态过程和这种过程导致结果的控制和利用。目前已把研究扩展到植物学方面，统称为悉生生物学。

20 世纪 50 年代，科学技术的迅速发展，孕育了作为科学技术发展支撑条件的实验动物科学的现代化运动。其核心是对实验动物的生产和实验应用进行遗传和环境控制。环境控制的主要内容是对动物体内外栖息体的控制。悉生动物学的诞生，为实验动物的生物控制提供了理论和技术支持。

王荫槐研究员和王钜教授一直从事悉生动物学和实验动物的教学与研究，在工作中积累了丰富的理论知识和实践经验。他们结合各自的学科领域，从实验动物的角度论述了悉生动物的发展史、悉生工程、悉生动物营养、悉生动物的培育饲养、悉生动物的生物学特征及悉生动物的应用和未来展望。该书是一本与实验动物相结合、对实际工作具有指导意义的参考书。该书的出版发行，将进一步推动我国实验动物净化技术的发展，提高屏障设施系统的运行管理水平，继而提高实验动物质量。



2007 年 12 月

内 容 提 要

本书共分十九章，由紧密相关的两部分内容组成。第一部分内容叙述隔离器、SPF 和层流屏障系统的结构、原理、消毒灭菌和应用。第二部分内容的前半部叙述悉生动物的各种培育、饲养、生物检测和运输的原理、方法和注意事项，后半部介绍悉生动物的生物学特征及各领域的应用。

本书可供从事悉生生物学、实验动物学、微生物学、微生态学、医药卫生研究的科研工作者和畜牧兽医工作者参考。

目 录

第一章 悉生动物概念与发展	1
第一节 无菌动物的发展史	1
第二节 实验动物的现代化运动	4
第三节 对“悉生动物分类”的己见	5
第四节 我国悉生动物科学发展的沿革	7
第二章 隔离器屏障设施系统	10
第一节 隔离器屏障设施系统的发展史	10
第二节 隔离器的组成及原理	14
第三节 塑料薄膜隔离器的组装	17
第四节 隔离器屏障设施系统的应用	18
第三章 SPF 屏障设施系统	20
第一节 SPF 屏障设施系统的设计	21
第二节 SPF 屏障设施系统的分类	24
第三节 SPF 屏障设施系统的运行	26
第四节 SPF 屏障设施系统维持的限度	29
第四章 独立通气盒屏障设施系统	30
第一节 IVCS 的组成及原理	31
第二节 IVCS 的应用	32
第三节 使用 IVCS 的优势和注意事项	33
第五章 消毒与灭菌	37
第一节 清洗、消毒、灭菌和过滤的基本概念	37
第二节 物理方法消毒与灭菌	38
第三节 化学消毒与灭菌	43
第四节 物理、化学的消毒与灭菌小结	47
第五节 过滤除菌	49
第六节 消毒灭菌效果的确定	49
第七节 选择消毒灭菌方法的原则	50
第六章 GN 动物的营养与饲料	51
第一节 营养素与饲料	51
第二节 饲料原料的成分	53

第三节	GN 动物的饲料配方	54
第四节	人工乳和固体饲料的消毒灭菌	67
第七章	哺乳类实验动物的净化方法	70
第一节	哺乳类实验动物的药物净化	70
第二节	哺乳类实验动物的剖腹产净化	71
第三节	实验动物的胚胎(受精卵)移植净化	78
第四节	哺乳类实验动物剖腹产净化小结	79
第八章	大小鼠的剖腹产净化	80
第一节	剖腹产前的准备	80
第二节	剖腹子宫摘取术	81
第三节	剖腹产仔鼠的哺育	83
第四节	净化鼠的生物学监测	86
第九章	豚鼠和家兔的剖腹产净化	87
第一节	剖腹产前的准备	87
第二节	豚鼠兔的剖腹子宫摘取术	89
第三节	剖腹产仔畜的哺育	90
第四节	离乳后的饲养管理	93
第十章	犬和猪的剖腹产净化	95
第一节	猪的术前的准备	95
第二节	猪的剖腹产手术	97
第三节	GF 猪的饲养	98
第四节	GF 仔猪的 SPF 化	98
第五节	犬的剖腹产净化	99
第六节	GN 犬和猪的生物学监测	100
第十一章	实验鸡的药物净化	101
第一节	鸡卵的净化	101
第二节	鸡群的净化	102
第三节	鸡卵与鸡群的同步净化	103
第四节	GN 鸡的饲养与卫生	105
第十二章	实验用蚕的药物净化	107
第一节	蚕的生物学特征	107
第二节	蚕的药物净化准备	108
第三节	实验蚕的药物净化	109
第四节	无菌蚕的实验和生产应用	112
第十三章	悉生动物的生物学监测	115
第一节	悉生动物生物学监测的重要性	115
第二节	悉生动物的生物学监测	115
第三节	实验动物与悉生动物在生物学监测上的差别	119

第十四章	GF 和 GNP 动物的饲养管理	121
第一节	对 GF 和 GNP 动物饲养管理人员的要求	121
第二节	隔离器屏障设施启用前的准备	122
第三节	隔离器内外物品动物的传入传出	122
第四节	隔离器屏障设施内实验动物的饲养	124
第五节	隔离器房的管理	125
第六节	空气过滤器及手套的更换	125
第七节	GF 和 GNP 动物的生物监测	126
第八节	隔离器内动物的实验操作	126
第十五章	SPF 动物的饲养管理	127
第一节	对 SPF 动物饲养管理人员的要求与培训	127
第二节	SPF 动物的饲养管理	128
第三节	SPF 动物屏障设施系统维持的限度	131
第四节	SPF 动物及屏障内环境的监测	131
第十六章	悉生动物的运输	133
第一节	悉生动物的运输容器	133
第二节	悉生动物的输出与接收	137
第十七章	悉生动物的生物学特征	139
第一节	一般生物学特征	139
第二节	解剖学特征	141
第三节	组织学特征	145
第四节	免疫学特征	147
第五节	生化特征	150
第六节	血液学特征	153
第七节	心血管功能	156
第八节	致瘤特征	158
第九节	GN 动物的疾患	161
第十节	GN 动物的其他特征	162
第十一节	GN 动物生物学特征小结	165
第十八章	悉生动物的应用	168
第一节	在实验动物科学方面的应用	168
第二节	在微生物学方面的应用	169
第三节	在免疫学方面的应用	172
第四节	在肿瘤学方面的应用	174
第五节	在老年学方面的应用	177
第六节	在口腔医学方面的应用	178
第七节	在致伤方面的应用	180
第八节	在放射学方面的应用	181
第九节	在新陈代谢方面的应用	183

第十节 悉生蚕的应用	186
第十一节 在其他方面的应用	188
第十二节 悉生动物的应用小结	192
第十九章 悉生动物学展望	194
第一节 悉生动物的未来发展	194
第二节 悉生技术和悉生植物的未来发展	196
主要参考文献	198

第一章 悉生动物概念与发展

悉生动物 (Gnotobiotic animals) 的培育、悉生状态的维持、悉生动物与其体内外栖息体或栖息体间以宿主为载体展开的相互竞争、拮抗的复杂生态过程, 以及这种过程导致的后果的控制和利用, 为悉生动物学 (Gnotobiojoology)。

我国著名的微生物学家魏義教授曾指出, 悉 (Gnot) 是已知、晓得、明白、知悉, 生 (bio) 是生物体, 动物体内外栖息的其他微生物和寄生虫是已知的, 故称悉生动物。研究动物和植物与其栖息体相互关系的科学则称悉生生物学 (Gnotobiolog)。研究建立与保持悉生生物呈悉生状态和保持悉生生物在悉生状态下的应用的屏障设施系统的科学被称为悉生工程学 (Gnotobiotechnology)。

实验动物在现代化运动过程中, 吸取悉生动物的净化与悉生工程的屏障技术, 发展了以控制微生物寄生虫为核心的实验动物的环境控制。以这种生物控制为标准, 把实验动物分成无菌动物 (包括已知菌动物)、无特定病原体动物 (SPF)、清洁级动物和普通级动物四个等级, 大大提高了实验动物的质量, 满足了现代生命科学发展的需要。悉生动物的研究已经成为现代实验动物科学研究的重要领域, 是相关生命科学研究的重要的模型动物。

第一节 无菌动物的发展史

一、Pasteur 的假设

据估计, 人类生活的地球约有 50 万种微生物存在。在 85 公里的高空, 11 公里的海底, 1~2 公里地层下, 人类都曾发现有微生物。已经被研究过的约有 10 万种之多。微生物种类繁多, 个体微小, 繁殖快, 无所不在, 无孔不入。当胎仔破羊膜, 进入产道, 第一次呼吸, 第一声啼哭, 微生物便迅速侵入动物体, 占据适当部位开始了定植繁衍。与宿主构成寄生的微生物影响损害宿主, 轻者致病, 重者导致死亡, 称为有害微生物; 与宿主共栖, 既不损害宿主也无益于宿主的称为非致病微生物; 与宿主共生, 为宿主提供某些营养素的微生物称为有益微生物。体内外微生物与生物体共同构建起微生态免疫屏障, 抵御有害微生物入侵, 保护着宿主的健康。动物体内以共栖和共生微生物为主。动物与其体内外微生物共同构建起来的微生态区系, 不是永远不变的, 随着机体的生理变化而变化, 微生物区系环境的改变, 非致病菌也能转化成致病菌。宿主与微生物间的相互作用始终处于动态变化, 相对平衡, 又由相对平衡向动态变化不断转化。这种微生物区系随动物食物变化、地理变迁、生长发育的不同阶段而变化, 并在新的条件下建立起新的平衡。

法国杰出的微生物学家 Pasteur 研究了各种微生物与宿主相互复杂的作用后认为,“人和动物食物的消化需要通过细菌的发酵后才能被机体利用”,并于 1885 年提出“哺乳动物肠道菌丛的存在极为重要,没有微生物的存在和作用,哺乳动物生命的维持将难以想象”的观点。

二、关于无菌动物培育的两派之争

Pasteur 以其个人在科学界的成就和影响力引发了当时科学界不同观点两派甚至多派的质疑和争论。Pasteur 的弟子和多数微生物学家认为,“哺乳动物终生生活在一个微生态区系中,而体内外的微生物数约为 10^{14} 个,动物体细胞数约为 10^{13} 个,处在微生物数多于动物细胞数的环境之中,很难想象微生物与动物的生存能没有关系”。持相反观点的多半是生物学家,他们认为动物食物的消化是靠胃肠分泌的消化酶,微生物的消化纯属二次消化。并认为细菌消化的最终产物是不饱和脂肪酸、碳酸、酚类、氨类、甲烷和硫化氢等非营养物质,动物不仅不能吸收利用,有些甚至对宿主有害。实验是验证假设最有效最有说服力的方法。为此,两派纷纷展开了无菌动物的培育研究,借此来证明自己的论点。

三、无菌动物的培育

1885 年, Pasteur 把刚出生的兔、豚鼠、犬和鸡等动物放在无菌条件下饲养未获成功。与此同时, Duclaux 报告植物栽种在灭菌的有机质土壤中不能萌发。此后, Kijanizin 无菌代谢试验笼内饲养兔,给予无菌空气、饲料和水,兔的体重逐渐下降,并因负氮平衡而死亡。上述结果增强了 Pasteur 维护自己观点的信心。波兰出身的 Nencki 竭力反对 Pasteur 的论断,指出蛋白质、淀粉和脂类是靠胃肠的分泌液消化,而胃肠液的分泌与细菌存在无关。柏林大学的 Nuttal 和 Thierfelder 坚决支持 Nencki 的观点,进一步指出,营养物质在肠道内被酶分解成易吸收的物质,然后被肠黏膜吸收。微生物的作用仅仅是进行二次消化。消化的最终产物是一些无营养价值的物质,有些甚至对动物有害。1895 年,他们经剖腹产获得豚鼠,饲养于玻璃罩内,每小时人工哺以灭菌牛奶和纯动物性饲料一次,共计 10 天,动物外观健康,将此动物于第 8 天处死,其肠内容物没有检出细菌。1932 年, Glimstedt 继续开展无菌豚鼠的研究,终于把无菌豚鼠养活了两个月。1959 年, Teah 在 Notre Dame 大学已能使无菌豚鼠繁殖。

四、饲养装置的不断改进

随着无菌动物研究的开展,无菌动物的饲养装置也不断地改进。1915 年,柏林大学的 Kuster 首次创造无菌动物培育隔离器。1928 年,美国印第安纳州圣母大学 Lobund 实验室的 Reyniers 创造了不锈钢制的无菌动物大型隔离器。这为后来开展无菌动物的系统实验研究提供了保障。1930 年,瑞典科学家 Gustafsson 设计了第二型隔离器,整个隔离器是不锈钢制的。1946 年,日本科学家开始培育无菌动物,1959 年,宫川用不锈钢做隔离器的主体部分,并附有小的玻璃观察窗和灵敏的机械手,使不锈钢隔离器达到比较完善的地步。但这种隔离器既笨重造价又昂贵,不可能大量推广使用,因而也限制了无菌动物培育工作的开展。20 世纪 50 年代,发明了用过氧乙酸进行表面灭菌的方法;1957 年, P. C. Trexler 在美国 Lobund 实验室里创造了塑料膜隔离器,用无毒聚氯乙烯薄膜制造隔离器的主体部分。由于这类隔离器制作简便,既轻便又实用,所需费用又不高,仅为不锈钢隔离器的几十分之一,加之灭

菌方法简便, 因此日渐广泛地得到应用, 促进了无菌动物研究的发展。

五、关注无菌动物营养素配给的改进

科学家们在总结前一阶段实验后发现, 培育无菌动物失败的主要原因是动物营养素不够齐全, 以及简陋的饲养屏障不能抵御微生物侵袭。1922 年, Baeot 和 Harden 发现无菌蝇蛆必须饲喂 B 族维生素才能正常生长, 证明了无菌动物对 B 族维生素的需要, 因为无菌动物肠内没有细菌存在, 自身不能合成 B 族维生素。1937 年, Balzam 在无菌鸡的维生素 B 族缺乏症及在鸡体内能否合成 B 族维生素的研究中, 更加清楚地证明了这个问题。无菌动物对 B 族维生素需要的发现是很有价值的, 使以后更加重视细菌对动物无菌生长的影响, 更加重视无菌动物营养素以及无菌屏障技术, 从而促使无菌动物培养工作更加成熟, 并最终走向成功。

六、无菌动物培育走向成功

Reyniers 在 Trexler 的帮助下, 设计了价格昂贵的最先进的不锈钢无菌动物饲养隔离器。凭借先进的技术装备, Reyniers 采用大鼠剖腹子宫摘取术, 使用胃管法人工哺乳剖腹产仔畜, 终于在 1945 年完成了前所未有的无菌大鼠的培育, 直至繁殖成功。无菌大鼠的培养成功, 证明哺乳动物可不依赖微生物生存繁衍, 结束了半个多世纪无菌哺乳动物是否能生存的争论。但受条件所限, 当时能从事无菌动物培育的只有美国的 Lobund 实验室、瑞典的 Gustafsson 实验室和日本的宫川实验室等, 从事无菌动物培育研究的人员也非常有限。1955 年, Trexler 利用当时新发展起来的塑料工业成就, 创造性地发明制作了透明塑料薄膜隔离器和过氧乙酸灭菌法。隔离器的特点是透明易观察、可折叠、便于携带、价格低廉, 有利于推广使用。受 Reyniers 人工培育无菌大鼠的成功和廉价隔离器问世的支持和影响, 吸引了众多的专家学者投身于各种无菌动物的培育研究。之后, 相继培育成功的有无菌小鼠、无菌鸡直至无菌猪和马等大动物 (表 1-1)。现在, 美国有 48 个无菌动物研究单位, 仅国立卫生研究院的 5 个研究所里, 就分别设有无菌动物研究室。在日本现有 24 个单位从事无菌动物研究工作, 仅在东京就有 9 个无菌动物研究单位。

随着各种无菌动物的培育成功, 人们开始关注无菌动物。除不携带细菌与普通动物的差别外, 无菌动物和普通动物在生理功能、形态结构上到底有无差别, 成为人们研究的重点。开始由无菌动物的培育、饲养、繁殖转向无菌动物生物学特征的研究观察。通过大量无菌动物与普通动物的比较研究发现: 无菌动物的免疫系统与普通动物一样完整, 但免疫功能低下, 处于“休眠”状态, 抵抗力弱, 表现在无菌动物普通化后, 极易被微生物感染导致死亡; 无菌动物血清 γ 球蛋白、血液白细胞含量比普通动物明显减少; 无菌动物的肠壁比普通动物薄而盲肠比普通动物显著增大; 无菌动物的寿命比同种普通动物长。无菌动物有许多有别于普通动物的生理形态学的特征, 这些生理特征成为以后无菌动物应用的重要基础资料。

表 1-1 无菌动物培育史

年代	培育者	培育动物	年代	培育者	培育动物
1895	Nuttal 等	试培育无菌豚鼠	1965	光岡等	无菌鸡成熟
1899	Schottelius	无菌鸡孵出	1966	Reyniers 等	无菌鹌鹑成熟
1913	Kuester	无菌山羊饲育 35 天	1966	Wolf	无菌猴饲育 10 个月
1933	Glimstedt	无菌豚鼠饲育 30 天	1966	Smith	无菌牛离乳
1937	Balzani	无菌鸡饲育 59 天	1966	Rohovsky	无菌猫离乳
1942	Reyniers	无菌猴饲育 30 天	1966	波岡等	无菌猪成熟
1945	Reyniers	无菌大鼠繁殖	1967	宿田	无菌小鼠繁殖
1948	Reyniers	无菌鸡产卵, 孵化	1970	唐 沢	无菌兔育成
1959	Pleasant	无菌小鼠繁殖	1971	Alexander 等	无菌羊育成
1955	Gustafsson	无菌大鼠繁殖	1971	Tavernor 等	无菌牛育成
1957	宫川	无菌豚鼠饲育 305 天	1972	Mebus	无菌牛育成
1959	Teah	无菌豚鼠繁殖	1973	Trexler	无菌马育成
1959	Newton	无菌豚鼠繁殖	1973	宿田	无菌兔繁殖
1959	Pleasant	无菌兔	1974	Trust	无菌蛙育成
1960	Landy 等	无菌豚鼠离乳	1976	Stecavage 等	无菌型小猪育成
1962	伊藤智夫等	无菌蚕的饲育	1976	Vale 等	无菌狗育成
1963	Griesmer 等	无菌犬成熟	1976	Timmons 等	无菌蛙育成
1963	宫川	无菌豚鼠离乳	2004	Jeffrey 等	无菌斑马鱼育成

第二节 实验动物的现代化运动

20 世纪初, 对于用于科学研究与生产上的动物, 人们既不了解其遗传背景, 也不清楚动物体内外的栖息体, 称其为实验用动物 (Experimental animals)。用这些动物进行实验, 往往用量多, 重现性差, 且实验结果无法交流, 难以对实验结果作出科学的评估。悉生动物技术成就引发了现代实验动物科学的崛起。根据生命科学研究的需要开展的针对实验用动物的研究、开发和生产成为实验动物现代化运动的核心内容。

第二次世界大战结束后, 各国经济全面复苏, 并逐渐走向繁荣。代表新生产力发展的科学技术, 尤其是生命科学迅速发展, 催生了实验动物研究作为新型的、独立的、交叉的、应用性学科的兴起, 首先在经济发达的美国, 继之波及欧洲和日本。

实验动物科学现代化的基本内容是: 1. 凡用于科学研究或生产的实验动物都必须要进行遗传学、生物学和环境控制, 应是遗传和生物学背景清楚。使简单意义上的实验用动物成为真正的实验动物 (Laboratory animals)。2. 实验动物的生产和应用纳入了法制化管理, 凡进行实验动物生产和应用必须依法施行, 违者将受到法律追究。3. 成立实验动物国际协会组织, 负责国际实验动物技术交流、人员培训, 推进实验动物的生产和应用逐步走向规模化、产业化和国际化。4. 人道地使用与善待实验动物, 积极开展 3R 运动。实验动物的现代化运动, 促进了国际范围的科学技术交流合作, 加速科学技术的发展, 同时也进一步促进了实验动物科学的发展。

实验动物质量控制是现代实验动物科学的主要内容。实验动物的遗传控制, 是把实验动

物分为纯系动物、封闭群动物、突变系动物和杂交群动物四大类，并保持稳定不变；实验动物的环境控制是控制温度、湿度、噪声、氨浓度等物理和化学因素可能对实验结果产生的影响，创造适合实验动物的生活环境；营养质量控制是保障实验动物正常生活的营养需求和稳定；而其中微生物和寄生虫控制是要排除各种微生物寄生虫对实验动物生产和动物实验的不良影响。目前，国内把生物控制分成无菌动物（Gree-free animal，简称 GF 动物），其中包括悉生动物（Gnotobiotec animal，简称 GN 动物）；无特定病原体动物（Specific pathogen free animal，简称 SPF 动物）；清洁级动物（Clean animal，简称 CL 动物）和普通动物（Conventional animal，简称 CV 动物）。生物学控制分类可概括成以下几种（见表 1-2）。

表 1-2 按生物学控制的实验动物分类

名称	净化方法	要 求
无抗体动物	剖腹产（胎生）	在隔离器屏障内维持，食无抗原食物
无菌动物	药物（卵生）	或食无菌饲料经检测无抗体无菌或有已知菌
悉生动物		上述三种属无菌级
SPF 动物	剖腹产或药物	在 SPF 屏障内维持，食灭菌饲料，经检测符合 SPF 级
清洁级动物	剖腹产或药物	清洁屏障内维持，食消毒饲料，经检测符合清洁级
普通级动物	自然产	普通设施中维持，食普通饲料属普通级

自然界并不存在悉生动物，是经人工培育而成。哺乳动物经无菌剖腹产，在无菌隔离器内，进行人工哺乳培育，经严格的微生物和寄生虫监测证明为无菌动物。卵生动物则进行严格的药物净化获得无菌动物。无菌动物饲喂无抗原食物，经检测无抗体或抗体水平很低便成无抗体动物，从微生物和寄生虫控制分类上仍属无菌级动物。无菌动物植入已知生物体（病毒、细菌或寄生虫）并定植被称悉生动物或称已知菌动物。植入一种称单菌动物，植入两种的称双菌动物、植入三种以上的称多菌动物。已知菌动物要成为无菌动物，必须经剖腹产净化。植入无菌动物的非病原体便成 SPF 动物。不携带病原体的已知菌动物也可转化为成 SPF 或普通级动物，但带有病原体动物的不能转化成 SPF 和普通级动物。普通级动物与悉生动物的相互关系归纳如下（见图 1-1）。

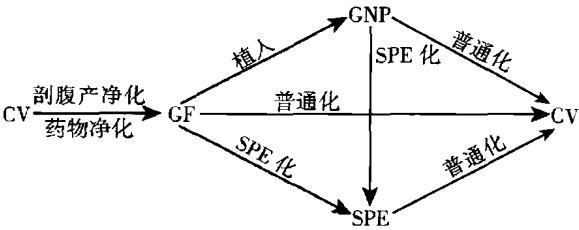


图 1-1 普通级动物与悉生动物的相互关系

第三节 对“悉生动物分类”的己见

1949 年，美国无菌动物学家 Reyniers 提出，悉生生物学（gnotobiology）是一门研究宏生生物与微生生物相互联系的新兴生态学。它研究人、动物和植物与微生物相互关系，以及这

种关系所导致的结果。另一位美国动物学家 Luckey 进一步指出, 悉生动物学是研究独立生活的生物或与别种生物共同生活而又无任何他种生物参加生活的一门科学。独立生活的生物即指: 动物不携带其他生物体, 独立生活。与别种生物共同生活而又无任何他种生物参加生活即指: 动物携带已知生物体, 而不带其他生物体生活的动物。前苏联学者沙切夫指出: 以严格控制生物环境收容的动物都称悉生动物 (Gnotobiotics)。根据其不同特点可分为 5 大类。

1. 无菌动物, 即不带有活的体内外栖息体, 如病毒、细菌、真菌、原虫和寄生虫的动物。
2. 无抗体动物, 即终生在体内未有微生物性或食源性抗体形成。
3. 带已知菌动物, 即带有一种或数种已知微生物的动物, 他用 Gnotophorics 表示定植形成, 以区别 Gnotobiotics。这种动物又可分为单共生体、双共生体或多共生体动物。
4. 无特定病原体动物, 即带有非致病微生物动物。
5. 常规动物或称普通动物, 即在非屏障设施系统中维持的动物。普通动物归类在严格控制生物环境收容的悉生动物内, 显然不妥。另一前苏联学者巴特洛切夫指出, 悉生动物包括无菌动物、无抗原动物和无特定病原体动物。他忽略了已知生物体动物。日本学者则把 Germ-free and Gnotobiology 统称为无菌生物。

国内有关悉生动物的分类并不统一。有一种把悉生动物分成无菌动物、悉生动物和 SPF 动物三类。在这一个分类中出现两个完全相同的悉生动物, 容易混淆。另一种把悉生动物称为已知菌动物, 外文名还是沿用 “Gnotobiotic”, 这样, 在一个分类内出现了两个 “Gnotobiotec”, 不很明析。根据对 Reyniers、Luckey 以及其他学者观点的理解综合, 作者认为: 悉生动物应分成无生物体动物 (Germ-free animal, 简称 GF 动物), 即无病毒、细菌、真菌和寄生虫等一切生物体。无抗体动物 (Antibody-free animal, 简称 ABF 动物), 即终生在体内未有微生物性或食源性抗体形成。已知生物体动物, 用 “Gnotophoric animal” 表示 (简称 GNP 动物), 以区别于 “Gnobiote animal”, 其中又可分单共生体动物 (mono-associated animal)、双共生体动物 (di-associated animal) 和多共生体动物 (poly-associated animal)。无特定病原体动物 (Specific pathogen-free animal 简称 SPF 动物), 即体内外无任何其他病原栖息体。前三种都在隔离器屏障设施系统中维持, 第四种即在 SPF 屏障设施系统内维持, 概括如下 (见图 1-2)。显然, 普通级动物体内外的栖息体是未知的, 不在屏障设施系统中维持, 故不能包括在悉生动物范畴中。

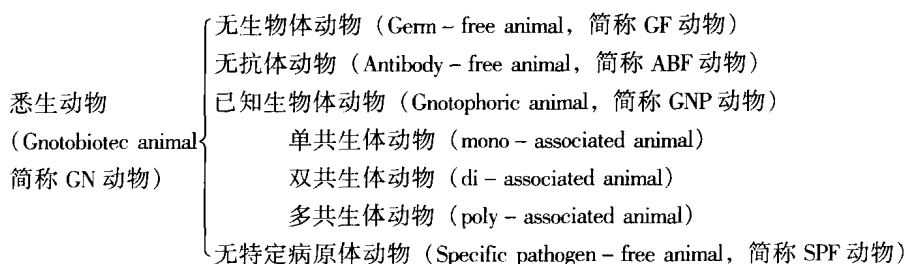


图 1-2 悉生动物 (GN 动物) 的分类

上述分类, 中外文都互不重叠, 在内容和形式上都能涵盖其义, 比较明确, 一目了然。上述是作者从事悉生动物工作, 对悉生动物分类的一些理解认识, 供大家参考。

为叙述方便, 本书将统一把无抗体动物用 ABF 动物表示; 无生物体动物用 GF 动物表示; 已知生物体动物用 GNP 动物表示; 无特定病原体动物用 SPF 动物表示; 清洁级动物 (Clean animal) 用 CL 动物表示; 普通级动物 (Conventional animal) 用 CV 动物表示; 植入 GF

动物已知生物体或把 GF 动物暴露于自然环境中,使成普通动物 (Conventionalized),作为 GF 动物实验对照用时,用 CVZ 表示。

第四节 我国悉生动物科学发展的沿革

20 世纪 50 年代,我国一批从事实验动物科学研究的爱国知识分子回到祖国,以满腔热忱,因地制宜开始研发中国实验动物资源,从此孕育了我国悉生动物学的发展。到了 20 世纪 80 年代,实验动物法制化建设为悉生动物学的发展提供了前所未有的机遇,我国资源实验动物中心的建立也为悉生动物学的研究提供了良好技术平台,专业队伍的建设又提供了人才的支持与保障,科研经费的投入推动了科研水平不断提高。

一、实验动物工作的法制化建设

悉生动物是实验动物科学技术事业的重要组成部分,它的发展是伴随着我国实验动物法制化建设而发展的。我国实验动物科学的发展实行统一领导三级管理体制。第一级由国家科技部统一管理全国实验动物工作,国务院各部委参与具体实施实验动物科学的行业管理。第二级由各省市区成立的实验动物管理委员会负责本地区管理。第三级为各单位成立的实验动物管理委员会具体执行管理。

1988 年 10 月,经国务院批准,国家科技部颁布了《实验动物管理条例》。这是我国的第一部有关实验动物的法规,这一法规的建立,翻开了实验动物向法制化、标准化迈进的新篇章。一些省和直辖市开始颁布地方实验动物法规。1996 年,北京市颁布了《北京市实验动物管理条例》和配套规章。各省、市、自治区和有关部门发布了符合地区、行业特点的《实验动物管理办法》行政规章。1994 年,国家质量技术监督局颁布了《实验动物国家标准》。国家科技部又分别在 1997 年和 2001 年先后颁布了《实验动物质量管理办法》和《实验动物许可证管理办法(试行)》两部配套规章。为了适应实验动物工作全球化的需要,2001 年,国家质量技术监督局颁布了经修订的实验动物国家标准。2006 年,国家科技部颁布了《关于善待实验动物的指导性意见》。这些实验动物法律、法规、规章和国家标准的建立形成了自上而下的立体实验动物管理网络,协调有序地、不断地推动我国实验动物工作向前发展。实验动物社团建设在推动我国实验动物工作法制化进程中也发挥着重要作用。创办的学术刊物对于推动实验动物学术交流也提供了良好平台。

二、我国的实验动物资源研究和开发中心的建立

实验动物作为生命科学发展的主要支撑条件的实验动物现代化,体现在各地实验动物研究中心的成立和建设。1980 至 1990 年间,建成的主要实验动物中心有:中国医学科学院实验动物研究所,卫生部药品生物制品检定所实验动物中心,上海生物制品研究所实验动物中心,天津市实验动物中心,上海市实验动物中心,全国医学灵长类实验动物研究中心,北京市与澳大利亚合作兴建的北京实验动物中心,上海计生所与英国 BK 环球实验动物集团合资建立的第一个非国有制上海西普尔-必凯实验动物有限公司。各高等医药院校也建立了相应的实验动物科学部。与此同时,实验动物用品厂纷纷建立,为实验用品的更新换代打下结实的基础。当我国进入“九五”和“十五”以后,开始有计划系统引进、研究和开发实验动物

资源,国家级的实验动物种质资源中心得到迅速发展,建立了国家啮齿类实验动物种子中心、国家遗传工程小鼠资源库、实验动物禽类种质资源基地、实验用小型猪种质资源基地、实验兔种质资源基地、实验犬种质资源基地等,使我国实验动物资源无论从数量、种类和质量都得到了促进和发展。

三、实验动物科学专业队伍建设

我国实验动物科学技术专业队伍建设开始于20世纪80年代中叶。中国农业大学开办了第一届实验动物学本科专业,北京等一些较大的医药系统开始举办实验动物学从业人员上岗培训班。20世纪90年代,我国开始尝试引进发达国家和地区实验动物学从业人员上岗培训项目。1992年,我国与日本政府合作,在中国医学科学院实验动物研究所建立了中国实验动物人才培训中心,由日本国际专业协力团(JICA)资助,派专家指导,开展培训实验动物人才工作。1999年,引进国际实验动物理事会(ICLAS)合作项目,结合澳大利亚、美国、日本等国家实行的培训内容和程序,在首都医科大学举办了北京地区实验动物学培训教师培训班。进入21世纪后,我国开始建立实验动物人才培养体系和实验动物学从业人员培训体系。以中国农业大学、扬州大学、首都医科大、中国医科大学为代表的高等农业院校和医学院校开办了培养实验动物学专业或相关专业的研究生教育、本科生教育和高等职业教育,北京、上海、广州及辽宁等地广泛开展的从业人员上岗培训、在职培训成了具有我国特色的教育、培训体系,整体实验动物从业人员的素质显著提高。

四、我国悉生动物科学研究

我国悉生动物和屏障设施研究开发起步较晚。中国医学科学院实验动物研究所和上海生物制品研究所,在中国南北方展开了无菌隔离器屏障设施的研制,并于80年代初研制成功塑料薄膜隔离器,投入批量生产。北京实验动物中心与澳大利亚合作研制成功的玻璃钢隔离器,为早期悉生动物的研究开发提供了强有力的物质支持,也为悉生动物的引进,悉生动物的生产与应用,提供了强有力的物质保证。1981年,我国开始了悉生动物人工培育研究开发。20多年里,我国经剖腹产人工哺乳或药物净化开发的GF动物、SPF动物如下(见表1-3)。

20多年来,我国在悉生工程和悉生动物的研究与应用方面虽做了一些工作,取得不少可喜的成绩,但与国外同行相比,还有较大的差距,从业人员少而分散,资源利用还不充分。今后,我们必须整合人力物力资源,在有条件的实验动物中心,设立悉生动物研究开发室,瞄准国际水平,培育具有我国知识产权的悉生动物,为我国迅速发展的国民经济和科学技术服务。

悉生动物学与悉生工程学不仅在实验动物科学中有广泛用途,在微生物学、疫苗制备、畜禽养殖业、养蚕业、医药学、环境科学等诸多方面也都有不可替代的广泛用途。