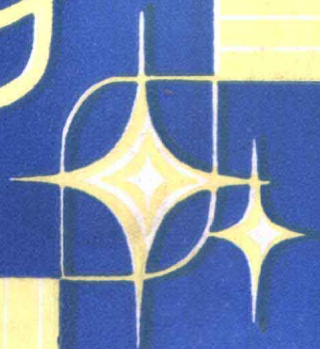




全国高等农业院校教材



实验动物
微生物学监测

● 王永坤 主编

● 实验动物专业用

农业出版社



全国高等农业院校教材

实验动物微生物学监测

王永坤 主编

(京)新登字060号

全国高等农业院校教材
实验动物微生物学监测

王永坤 主编

责任编辑 刘振生

农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)
新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

787×1092mm16 开本 13.125 印张 275 千字

1992年10月第1版 1992年10月北京第1次印刷

印数 1—2,000册 定价 3.50元

ISBN 7-109-02339-7/Q·117

目 录

绪论	1
第一章 实验动物的卫生防疫与质量控制	3
第一节 实验动物疾病的危害性	3
第二节 实验动物的卫生防疫	5
第三节 检测	8
第四节 实验动物微生物学质量控制标准	10
第二章 隔离器内细菌控制的监测	16
第一节 饲料的无菌监测	16
第二节 空气过滤器的除菌效果监测	16
第三节 隔离器内各种消毒物品的无菌监测	16
第四节 无菌实验动物及其用品的微生物学监测	17
第三章 细菌监测	19
第一节 肠杆菌	19
一、沙门氏杆菌	19
二、埃希氏大肠杆菌	21
三、伪结核耶新氏杆菌	26
四、小肠结肠炎耶新氏杆菌	29
五、志贺氏菌	32
六、肺炎克雷伯氏菌	35
第二节 球菌	37
一、金黄色葡萄球菌	37
二、肺炎双球菌	40
三、溶血性链球菌	44
第三节 革兰氏阴性需氧菌	46
一、支气管败血波氏杆菌	46
二、绿脓假单胞菌	50
三、多杀性巴氏杆菌	52
四、嗜肺巴氏杆菌	56
五、布氏杆菌	57
六、念珠状链杆菌	58
七、土拉弗氏杆菌	59
第四节 梭杆菌	62
坏死杆菌	62
第五节 芽胞杆菌	64
毛样芽胞杆菌	64

第六节 梭状芽胞杆菌	66
产气荚膜杆菌	66
第七节 革兰氏阳性无芽胞杆菌	71
一、李氏杆菌	71
二、结核分枝杆菌	73
三、棒状杆菌	77
第八节 螺旋体	78
一、钩端螺旋体	78
二、兔螺旋体	83
第四章 其他微生物监测	85
一、霉形体	85
二、皮肤真菌——皮霉	86
第五章 病毒监测	89
第一节 小核糖核酸病毒	89
小鼠脑脊髓炎病毒	89
第二节 本杨病毒	92
汉坦病毒	92
第三节 嵌杯样病毒	94
猫嵌杯样病毒	94
第四节 呼肠孤病毒	95
一、乳鼠流行性腹泻病毒	95
二、呼肠孤病毒3型	97
三、轮状病毒	99
第五节 披盖病毒	100
乳酸脱氢酶病毒	100
第六节 反转录病毒	102
猴泡沫病毒I型	102
第七节 冠状病毒	103
一、小鼠肝炎病毒	103
二、唾液腺泪腺炎病毒和大鼠冠状病毒	106
三、犬胃肠炎病毒	108
第八节 弹状病毒	109
一、狂犬病病毒	109
二、水疱性口炎病毒	111
第九节 副粘病毒	113
一、犬瘟热病毒	113
二、小鼠肺炎病毒	115
三、仙台病毒	117
四、猴副粘病毒	120
第十节 细小病毒	121
一、大鼠细小病毒	121
二、猫、犬细小病毒	123

三、小鼠细小病毒	125
第十一节 乳多空病毒	127
一、小鼠多瘤病毒	127
二、K病毒	129
三、猴空泡病毒40	130
第十二节 腺病毒	131
一、猴腺病毒	131
二、传染性犬肝炎病毒	132
三、小鼠腺病毒	134
第十三节 疱疹病毒	135
一、恒河猴B病毒	135
二、小鼠巨细胞病毒	137
三、犬疱疹病毒	138
四、猫鼻气管炎病毒	139
第十四节 痘病毒	140
一、鼠痘病毒	140
二、粘液瘤病毒	143
三、兔痘病毒	146
四、猴痘病毒	150
第十五节 砂粒病毒	151
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒	151
第十六节 未分类病毒	153
兔瘟病毒	153
第六章 实验动物的接种及检验技术	156
第一节 实验动物实验的目的及实验动物的选择	156
第二节 实验动物的保定	156
第三节 实验动物被毛的去除法	157
第四节 实验动物的接种方法	158
第五节 实验动物的剖检	159
第七章 鸡胚的接种及检验技术	161
第一节 鸡胚的发育	161
第二节 鸡胚培养注意事项和操作技术	161
第八章 细胞培养及检验技术	164
第一节 概念	164
第二节 细胞的营养	164
第三节 单层细胞培养法	165
第九章 培养基制备	171
第一节 基础培养基	171
第二节 生化试验用培养基	175
第三节 专用培养基	181
第十章 染色液的配制及染色方法	194
主要参考文献	203

绪 论

实验动物科学技术是现代科学技术的重要组成部分，是生命科学的基础和条件，近代生命科学的每项重大科研成果都要应用实验动物。生物科学工作者不仅要了解和掌握各科实验动物的知识，而且还要很好掌握各个级别实验动物的微生物监测手段。

根据1988年10月我国颁布的《实验动物管理条例》第12条明确规定，实验动物按要求和用途的不同进行分级，即普通动物（Ⅰ级）、清洁动物（Ⅱ级）、无特定病原体动物（Ⅲ级）、无菌动物和悉生动物（Ⅳ级）。

1.普通动物（Ⅰ级实验动物） 普通动物（conventional animals, CV），也叫“古典”（classic）动物，是未经微生物学控制，普通地饲养在开放条件下动物室内的动物。此级动物易遭外部微生物的污染，因饲喂未经灭菌的饲料和呼吸的空气是带菌的，饮水虽符合城市生活饮水的卫生标准，但也是带菌的。因此，普通动物的皮肤和肠道等栖居有多种正常微生物群和潜伏某些致病的病原体。如淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒、流行性出血热病毒、沙门氏杆菌、伪结核耶新氏杆菌、李氏杆菌、结核杆菌、皮肤真菌和外寄生虫。动物外观毛色光滑清洁，活泼，行动无异常，头脸不肿，眼、鼻无分泌物，四肢、尾和皮肤无缺损，背不穹起，肛门清洁。内脏各组织器官无肉眼可见的病变等指标。

2.清洁动物（Ⅱ级实验动物） 清洁动物（clean animals, CL）必须饲养在隔离罩内，以防环境中的微生物的污染。饲料、饮水、垫料、用具等均应经灭菌处理。此级动物要求必须不带人兽共患病及动物的主要传染病的病原体。如鼠痘病毒、鼠肝炎病毒、巴氏杆菌、支气管败血波氏杆菌、鼠棒状杆菌、毛样芽胞杆菌、霉形体和内寄生虫。其微生物控制标准基本与SPF级相同，不同之处虽然可能检出一定滴度病毒抗体，但不允许出现临床症状、病理变化和自然死亡。

3.无特定病原体动物（Ⅲ级实验动物） 无特定病原体动物（specific pathogen free animals, SPF）是指不存在各种致病的病原性或潜在病原性微生物和寄生虫。而只有一些非特定的微生物和寄生虫是允许存在，实际上就是指无传染病的健康动物。饲料、饮水、垫料、用具等均应经灭菌处理。动物饲养在屏障系统内，并实行严格的微生物控制。

4.无菌动物和悉生动物（Ⅳ级实验动物） 无菌动物（germ free animals, GF）是指用现有方法不能检出任何微生物和寄生虫，也就是说不携带任何体内外微生物的动物。在全封闭无菌条件下饲养。悉生动物（gnotobiotics animals, GN）在无菌动物体内，移入一种或几种已知微生物的动物。

《实验动物微生物学监测》是指通过现代生物技术监测实验动物携带或潜伏微生物的一门边缘性学科，是一门具有细胞水平和分子水平的学科。它与微生物学、免疫学、病毒学、微生态学、悉生生物学、传染病学、遗传学、营养学等学科有着极为广泛而密切的联系。

第一章 实验动物的卫生防疫与质量控制

第一节 实验动物疾病的危害性

实验动物科学技术是生命科学的基础和条件，主要是由实验动物的特点所决定的。实验动物具有已知菌丛或无菌、遗传背景清楚、模型性状稳定、纯度高、对理化因素和病原体敏感性强、实验结果反应一致、重复性好、繁殖快、产仔多等特点。由于实验动物高度集中饲养，数量多，密度大，整个生活过程均固定于笼具内，容易造成疾病的传染发生，尤其是烈性传染病，一旦流行发生，将造成严重的后果。

实验动物的疾病是一种后患，常常威胁整个动物群，一旦发生流行，引起大批发病死亡，被迫停产，全群淘汰，需另建新群，造成严重的经济损失。如根据孙靖（1990），上海1983—1989年间检测10种普通级小鼠的10种病毒性传染病血清抗体阳性结果，感染最高是细小病毒（84.8%）、肝炎病毒（61.3%）和仙台病毒（50.0%）；其次是呼肠孤病毒Ⅲ型（35.0%）；再次是鼠痘病毒（16.0%）、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒（15.8%）和脑脊髓炎病毒（GD₇）（15.4%）。又如西德中央实验动物研究所1982—1987年间对西德、挪威、保加利亚、法国、丹麦、瑞士、意大利、美国和澳大利亚等9个国家检测大小鼠血清抗体阳性结果，大鼠冠状病毒和多瘤病毒为40%，H-1病毒和细小病毒为30%，小鼠细小病毒和肺炎病毒为20—30%，泰泽氏菌大鼠为53—65%，小鼠为11%。再如1984—1985年我国流行兔瘟（又称兔病毒性出血热）时使许多研究单位因发生本病而中断，造成较大的损失和影响科研工作的前进（表1—1，表1—2）。

有疾病的实验动物群，在动物群发生流行后，总有部分动物可以耐过感染，而获得了免疫力生存下来，而这部分耐过的实验动物及后代外观正常，但用于科学实验时常造成错误的结果，或不能达到预期的要求。这种实验动物也常因有隐性感染，而当进行科学试验时受到刺激而易发病，导致整个科学试验期间动物的不规律死亡，对实验结果也将造成不应有的影响。由于实验动物不健康，生存期缩短，也影响长期实验的观察。总之有疾病的实验动物群，不但影响动物的健康和引起死亡，而且严重的干扰实验结果的准确性、规律性和重复性（表1—3）。

有疾病的实验动物除了对科学试验有严重干扰外，而有一些致病性微生物是人兽共患病的病原体。当实验动物疾病流行发生时，或者隐性感染时，很易传染给从事于实验动物工作者和饲养人员而引起危害。如1967年夏在西德和南斯拉夫几乎同时发生非洲绿猴Marburg病毒感染人的不幸事故，接触病猴的人员约30人发病，死亡7人。又如1981—

表 1-1 五种实验动物常感染的主要细菌

细菌种类	动物种类				
	小鼠	大鼠	地鼠	豚鼠	家兔
沙门氏杆菌属	+	+	+	+	+*
致病性大肠埃氏菌	+	+			+*
克雷伯氏菌属	+	+		+	
肺炎球菌	+	+		+	
波氏菌属	+	+	+	+	+*
假单胞菌属	+	+			+*
巴氏杆菌属	+	+	+	+	+
链球菌	+	+			
泰泽氏菌	+	+	+*		+
产气荚膜杆菌	+	+			+
棒状杆菌属	+	+			
钩端螺旋体	+	+			
霉形体	+	+		+	+
弗氏柠檬菌	+	+			

(孙增, 1990, *为作者加入)

表 1-2 五种实验动物常感染的主要病毒

病毒种类	动物种类				
	小鼠	大鼠	地鼠	豚鼠	家兔
细小核糖核酸病毒属	2	2			
呼肠孤病毒属	1				
冠状病毒属	1	1			
副粘病毒属	2	2		2	1
细小病毒属	2	3			
乳多空病毒属	2	1		1	3
腺病毒属	1				
疱疹病毒属	1	1	1	1	1
痘病毒属	1				3
嵌沙样病毒属	1		1	1	
未分类	5				1*

(Iclas, 1971, *为作者加入)

表 1-3 小鼠病毒性疾病的危害

病 毒	传染表现		干 扰 实 验				
	急 性	隐 性	代 谢	免 疫	致肿瘤	污染生物材料	协同作用
呼肠孤3型 (Reo)		+	+	+	+	+	
乳酸脱氢酶病毒 (LDHV)	+	+					
鼠肝炎 (MHV)	+	+					
仙台 (Sendai)	+	+	+	+	+	+	+
细小病毒 (MVM)	+	+		+	+		+
多瘤病毒 (Polyoma)		+	+	+	+	+	
K病毒 (新生小鼠肺炎)		+	+		+	+	
鼠胸腺病毒 (MTV)		+			+	+	+

(续)

病 毒	传染表现		干 扰 实 验				
	急 性	隐 性	代 谢	免 疫	致肿瘤	污染生物材料	协同作用
鼠巨细胞病毒(MCMV)		+	+	+	+	+	
鼠痘(ECT)	+	+					
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(LCM)		+		+	+	+	
流行性出血热(EHF)	+	+					

表 1—4 实验动物与人共患疾病

病 原 体	主 要 宿 主	对 人 的 感 染 途 径	人 的 症 状 及 疾 病	
细 菌	沙门氏菌	小鼠、大鼠、狗、猫、猴	经口	食物中毒
	痢 疾	猴	经口	水样或脓血性下痢
	布氏杆菌	狗	经口、皮肤、呼吸道、眼结膜	发热
	结 核 菌	狗、猫、猴	吸入、经口	发热、衰弱、咳嗽等
	伪结核耶新氏菌	豚鼠、兔、猴	经口	肠系膜淋巴结炎、阑尾炎、败血症等
	链 球 菌	猴	咬伤、经口	发热、皮疹、关节炎
	钩端螺旋体	大鼠、狗	创伤	发热、黄疸、出血、胃肠扰乱、脑膜炎症状
霉 菌	白 癣 菌	小鼠、大鼠、豚鼠、兔、狗、猫、猴	接触	皮肤小水泡、红斑、鳞屑、圆形斑脱毛
病 毒	淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒	小鼠、大鼠、豚鼠	经鼻、节肢动物媒介	流感样发热、脑膜炎症状
	B 病 毒	猴	创伤(唾液、血液)、吸入	中枢神经症状、死亡
	Marburg病毒	猴	不明(创伤、皮肤、吸入)	衰弱、呕吐、发热、肌痛、结膜炎、黄疸、出血、发疹、死亡
	猴痘病毒	猴	接触、吸入	发疹、脓疱、痂皮
	肝炎病毒	猴	经口	呕吐、发热、下痢、黄疸

(中川, 1977)

1983年间南朝鲜和日本及1984年我国发生过动物出血热病毒传染给从事于研究人员的报道(表1—4)。

实验动物在生命科学领域中, 已经被公认为是一种不可缺少的“活的精密仪器”。因此, 实验动物标准化是保证在科学实验研究中所具有的敏感性、准确性和重复性, 而实验动物微生物学监测是实现实验动物标准化主要措施之一。

第二节 实验动物的卫生防疫

在开放条件下饲养的实验动物, 易被周围环境中各种致病的或不致病的微生物所污

染。致病微生物有病毒、立克氏体、霉形体、细菌、真菌以及寄生虫等六大类。每种动物可被共性的病原体所感染，同时也可被特异的病原体所感染。有些非致病性微生物在特定的条件下亦可成为致病的病原体。这些微生物对动物体的生理代谢、组织形态、疾病抵抗力、药物效应、致癌物质的相互作用均起着重要的影响。实验动物，既有急性传染病，亦可慢性感染；在传播方式上，可分为水平传播与垂直传播；在表现形式上，可有显著的临床症状，亦可有隐性感染，特别是外表健康的带菌或带毒动物，对实验动物群的危害性更不可低估。

在医学和兽医学领域中，预防接种是预防传染病有效手段之一，但此法不适于实验动物群的应用。如危害小鼠的鼠痘，虽用接种牛痘苗可产生坚强的免疫力，制止流行，但接种痘苗后，会带来耐受该病毒的带毒鼠，一旦条件变更暴发流行更易酿成大害。在国内外曾有从“正常”鼠中分离到鼠痘病毒的报告。

随着实验动物科学技术的发展，新的实验动物疾病，越来越为广大科学工作者不断发现，面对复杂的疾病，唯一的方针，重在预防，必须经常实施严格的饲养管理：

1. 从事实验动物饲养工作的单位，必须根据遗传学、微生物学、营养学和饲养环境方面的标准，定期对实验动物进行质量监测，各项作业过程和监察数据应有完整、准确的记录，并建立统计报告制度；

2. 实验动物的饲养室、实验室除设在不同区域，并进行严格隔离外，要有科学的管理制度和操作过程；

3. 实验动物必须按照不同来源，不同品种、品系和不同的实验目的分开饲养，对其保种、饲养应采用国内或国外认可的品种、品系，并持有有效的合格证书；

4. 根据我国规定，实验动物分为普通动物、清洁动物、无特定病原体动物和无菌动物四级。因此，对不同等级的实验动物，应当按照相应的微生物控制标准进行管理；

5. 实验动物必须饲喂质量合格的全价饲料，霉烂、变质、虫蛀、污染的饲料，不得用于饲喂实验动物。直接用作饲料的蔬菜、水果等，要经过清洗消毒，并保持新鲜。关于饮水，Ⅰ级实验动物（普通动物）应当符合城市生活饮水的卫生标准，Ⅱ级（清洁动物）、Ⅲ级（无特定病原体动物）和Ⅳ级（无菌动物）实验动物的饮水，应当符合城市生活饮水的卫生标准并经灭菌处理；

6. 实验动物的垫料应当按照不同等级实验动物的需要进行相应处理，以达到清洁、干燥、吸水、无毒、无虫、无感染源、无污染目的。

实验动物疾病的流行发生是多方面的因素所致。本节主要阐述病原体所致传染病的预防。患病或带菌带毒的实验动物是主要的传染源，对整个动物群威胁最大，除了稀有价昂和珍贵的动物（如猴、良种狗，或珍贵的纯系动物）进行必要的治疗和防疫注射外，一旦发现疾病，毫不姑息地立即淘汰处理。这是杜绝传染病和减少传播原的有效方法。例如，家兔感染了兔螺旋体病，如不立即淘汰病兔，很快波及全群，最后被迫全部淘汰。又如对兔皮癣病的治疗不仅不能获得满意的疗效，而且饲养人员和治疗者常被感染。总之，患病

的实验动物经治疗转愈后，一般不能用于科学研究实验。因此，对实验动物进行检疫和防疫是非常重要的。

实验动物的检疫和防疫应按《家畜家禽防疫条例》和《动植物检疫条例》的规定处理。主要原则如下：

1. 对引入的实验动物，必须进行隔离检疫，力争自繁自用；
2. 对必须进行预防接种的实验动物（如种犬和新购入的犬必须接种狂犬病疫苗）应根据实验要求或按《条例》规定，进行预防接种，但用作生物制品原料的实验动物例外；
3. 实验动物患病死亡，应当及时查明原因，妥善处理，并记录在案。对患有传染性疾病的，必须立即视情况分别予以销毁或隔离治疗。对可能被传染的动物，进行紧急预防接种，对饲养室内外可能被污染的区域采取严格的消毒措施；
4. 实验动物饲养室、实验室及饲养用具等应定期进行消毒。严防野生动物进入实验动物饲养室，避免无关人员进入饲养室；
5. 实验动物工作单位，对直接接触实验动物的工作人员，必须定期组织身体检查。对患有传染性疾病的工作人员，应当及时调换工作。

此外，如建立无特定病原体动物群，则应严格按照保持 SPF 动物的防疫措施所制定的制度执行。

应该特别强调建立日常的清洁卫生和消毒制度。在清洁工作中着重注意笼具、笼架的清洗与定期消毒。笼具、食具的消毒以洗净后煮沸效果较好，高压灭菌最彻底。周围环境、房舍、饲养人员的个人卫生等可采用各种不同的化学消毒药剂。

表 1—5 常用化学消毒剂

药 品	性 状	优 点	缺 点	用 途	消毒方法和浓度
石炭酸	白色或淡红色针状结晶，有臭味	性稳定，消毒作用好	能强烈凝固蛋白质，排泄物深层病原体不易杀死，对金属有腐蚀性	饮水瓶的浸泡	2—3%溶液，3—5%石炭酸肥皂液可用于喷雾，湿抹
来苏儿（煤酚皂溶液）	红褐色液体，带甲酚臭味，呈碱性反应	效力较好，稳定，毒性小，价廉，并可杀虫	有臭味，对芽胞菌和结核杆菌效力不强	地面、阴沟等喷洒，洗手	喷雾，湿抹，浸泡，3—5%的溶液
乳酸	无色液体	毒性低	杀菌效力不强	空气消毒	熏蒸，10ml/m ³
漂白粉	白色粉末，有氯味，应保存在阴暗避光处，并需密封	杀菌效力强	很不稳定，易使衣服褪色	地面、阴沟等喷洒，澄清液可用于消毒青料	喷雾、湿抹、干粉，20%乳剂用于粪便的消毒
过氧乙酸	无色液体，遇热不稳定	有强力氧化作用，消毒效果好，分解时为一些无毒产物	低浓度水溶液易分解，高浓度在高温情况下易爆炸	房屋、地面、塑料制品粪尿等均能用其消毒	喷雾、湿抹、浸泡等，常用浓度0.2%

(续)

药 品	性 状	优 点	缺 点	用 途	消毒方法和浓度
福尔马林 (40%甲醛溶液)	为无色液体，有刺激性气味	杀菌效力强	刺激性气味，消毒时应密闭消毒处所	房屋	熏蒸，12.5—25ml/m ³
新洁尔灭	无色或淡黄色溶液，芳香，摇动时有泡沫	杀菌力强，对球菌、杆菌、真菌等均有效，可反复使用，无刺激性；对衣服、金属、塑料均无腐蚀作用，性稳定，可长期保存	对粪便等效果不好，肥皂、碘等能降低其效力	传染病病原体所污染物品的消毒，亦可作洗手用	浸泡、冲洗、喷雾、湿抹，一般消毒用水稀释50倍，即为0.1%

第三节 检 测

为了预防实验动物群中传染病的发生，或避免新引进实验动物对原有动物群的危害，以及了解群体的体质或是否有隐性感染等目的而进行检测。检测也是为了提高实验动物健康水平和加强饲养管理提供依据。检测内容应根据对各种实验动物危害最大、最易发生的疾病着手外，主要按实验动物微生物学品质监测标准化进行。检测包括病原体的检查、病变的检查和血清学的检测等。

一、病原体的检查

实验动物进行病原体的检查是确诊方法之一。在作活体检查，特别是检查外表健康无明显临床症状的动物是否有潜伏感染时，采取材料的种类应根据不同动物疾病的种类而定。如呼吸道疾病可采取鼻腔、气管、肺的分泌物及组织，消化道疾病可采取肠道内容物、胆汁、粪便，神经系统疾病可采取脑、脊髓等，在剖检中如局部有病灶可采取病变组织作病原检查。

在作实验动物有无隐性感染检查时，亦可采用有意识地使动物降低抵抗力的方法，如用X射线处理或注射肾上腺皮质激素，以求隐性感染激化发病，从而容易判明动物群是否潜伏病原体，这亦是检查实验动物的病原体和病变的一种手段。

二、病变检查

实验动物在处死前应进行临床体征的检查。解剖检查时注意观察组织器官的病变，根据病变的特征，可初步推测疾病原因，为病原体检查和血清学检查提供依据。

(一) 实验动物的处死 小啮齿动物可置于煤气中处死或用脱椎法处死，此方法仅引

起极轻微的病理变化。家兔及较大动物可用戊巴比妥钠静脉注射致死。

(二) 体表检查 实验动物必须于处死后30分钟内进行体表检查是否有皮肤疾患。

(三) 尸体解剖顺序和尸检要点

1. 尸体称重后检查体表有无异常现象。

2. 皮肤切开后检查内层乳腺区、腹股沟和腋窝淋巴结、颌下唾液腺和淋巴结，注意有无异常变化和肿瘤。

3. 胸部和腹部从头开始检查。胸腺区检查胸腔和气管淋巴结的变化；肺检查肺梗塞、炎症、肺腺瘤和膨胀不全等变化；纵膈检查淋巴结和纵膈的变化；心脏检查心包膜、心肌表面粗糙和钙化，心肌断面变化情况；肝称全肝重量，检查肝和胆囊的色泽、外形和组织质地及切面的变化；胃检查其大小、有无异常和其内容物；小肠和大肠检查肠管的浆膜和粘膜以及肠系膜淋巴结有无异常；脾和肾测量其大小、重量、色泽、质地和变化；肾上腺检查其大小和色泽；腰部淋巴结检查其大小、色泽、病变；性腺，卵巢或睾丸表面和断面的变化；子宫检查浆膜和粘膜以及腔内液体性状的变化；膀胱检查浆膜和粘膜变化；脑检查脑膜及脑的变化，取出脑并检查颅底。

4. 除了记录所发现的一切异常变化外，并各取异常器官组织一块，作病理组织学检查。

三、血清学的检测

血清学检测是用已知灭活的抗原检查实验动物群是否曾因感染病原体而产生相应特异性抗体，根据抗体水平可推断动物群的患病情况。它是一种经济、简便和安全的方法。血清学检测通常应用淘汰的年老繁殖性能下降的种用实验动物作检疫材料。除了采用单份血清检测外，亦常采用双份血清进行检测，可了解某种疾病在动物群中抗体消长情况。亦常采用保存不同时期的血清于一定时期内进行血清学检测作追踪疾病发生的流行病学调查。血清学的检测虽然是一项快速可靠的方法，但当发生不明病原的疾病时，常因不能及时准备相应的抗原，以供检测应用，以及由于各种疾病的血清学检测方法、判定标准、敏感性的不同，因此血清学检测必须与病原分离、临床诊断的相互关系需作具体试验而达确诊目的。

小鼠血量有限，采集血清可由心脏直接采血，或取仰位固定小鼠，切开一侧腋部，从所形成的腋凹处，切断腋血管取血，收集血液后分离血清。亦可采用摘除眼球，使血清直接滴入含有肝素的缓冲生理盐水与血液量约为2:1，摇匀后，置离心机中，使血细胞沉淀，然后将上清倒入另一试管中，这样约为1:5稀释血清，经56℃水浴30分钟灭活，加少许防腐剂，即可贮存待检。

随着我国国际间的交往日益频繁，实验动物的引进，国内动物资源的输出在所难免，一方面对国外进口的实验动物除了解品系、亚系名称、遗传和微生物状况等资料外，还要防止新病原的传入，另一方面对输出动物的体质也应有所了解，既要防疫又要保持国际声

誉，检疫工作亦是重要的一环。

第四节 实验动物微生物学质量控制标准

实验动物微生物学的质量对科学研究实验、生物制品生产和检测、药品、化学制品和食品等一系列制剂检定的影响，已成为国际上普遍重视的问题。为了达到实验动物微生物学质量控制标准的要求，许多国家做了大量的深入研究工作，并制定有明确的规程和要求。我国实验动物科学水平与国际先进国家相比，还有较大的差距，但是近数年来，在国家科委及有关部门的重视下，先后在北京、上海、长春、兰州等地的有关单位开展实验动物的生物净化，无菌动物、SPF动物、清洁级动物的培育和扩大生产的研究工作。为尽快提高我国实验动物微生物学质量奠定了基础，为推广和应用饲养清洁级以上的实验动物创造了条件，对发展我国生命科学具有重要的意义和价值。

根据不同级别实验动物微生物学的控制标准做好管理工作，才有可能生产出符合要求的动物，因此在日常工作中必须始终不渝地确立防疫卫生观点，定期进行微生物学监测，才能防止或减少疾病的流行发生，如一旦发生流行，不致造成大流行，并能迅速控制和扑灭。

表 1—6 各国实验动物科学机构有关实验小鼠微生物学监测内容

微生物名称	WHO	ICLAS	美	美、英、日	日	联邦德国	英	加拿大	澳大利亚	匈牙利	中国
脑脊髓炎病毒		✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
幼鼠流行性腹泻病毒			✓			✓		✓	✓	✓	✓
呼肠孤病毒 3 型		✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
乳酸脱氢酶病毒		✓				✓				✓	✓
鼠肝炎病毒	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
鼠肺炎病毒			✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
仙台病毒	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
细小病毒			✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
多瘤病毒			✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
K 病毒		✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
腺病毒		✓	✓			✓	✓	✓		✓	✓
巨细胞病毒			✓			✓		✓	✓		✓
鼠痘病毒	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
流行性出血热病毒								✓	✓		✓
胸腺病毒			✓					✓			
脑心肌炎病毒									✓		
沙门氏杆菌	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
大肠埃希氏杆菌 O ₁₅₇		✓	✓		✓	✓	✓				
伪结核耶新氏杆菌	✓			✓		✓	✓		✓	✓	✓
小肠结肠炎耶新氏杆菌									✓		✓

(续)

微生物名称	WHO	ICLAS	美	美、英、日	日	联邦德国	英	加拿大	澳大利亚	匈牙利	中国
肺炎克雷伯氏菌			✓			✓ ⁽¹⁾			✓	✓	✓
金黄色葡萄球菌			✓			✓			✓	✓	✓
肺炎球菌			✓	✓			✓			✓	✓
链球菌A群	✓		✓	✓	✓	✓ ⁽²⁾			✓ ⁽³⁾		✓ ⁽³⁾
支气管败血性波氏杆菌	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
绿脓杆菌		✓	✓		✓	✓			✓	✓	✓
多杀性巴氏杆菌	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
嗜肺巴氏杆菌	✓	✓		✓		✓			✓	✓	✓
念珠状链杆菌	✓		✓	✓	✓	✓			✓		✓
泰泽氏菌		✓	✓		✓	✓	✓		✓		✓
魏氏梭菌D型			✓			✓					
李氏杆菌	✓			✓		✓	✓		✓	✓	✓
结核分枝杆菌	✓			✓		✓	✓		✓	✓	✓
鼠棒状杆菌	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
钩端螺旋体	✓ ⁽⁴⁾			✓ ⁽⁴⁾		✓	✓		✓	✓ ⁽⁵⁾	
霉形体	✓	✓ ⁽⁶⁾		✓		✓			✓ ⁽⁷⁾	✓ ⁽⁷⁾	✓ ⁽⁷⁾

注：(1)Oxytoco 生化型；(2)A/C/E/G 群；(3)化脓性链球菌；(4)血清型群，拜伦，犬，七日热，黄疸出血性钩端螺旋体；(5)波摩那，猪，流感伤寒型，Sejroe，巴达维亚，mini，Tarassorj 拜伦，犬，七日热，黄疸出血性等11种钩端螺旋体；(6)肺霉形体；(7)肺，神经霉形体；✓：表示应进行监测排除项目。

表 1—7 匈牙利、日本、中国对清洁级小鼠排除病毒和细菌检测的要求

微生物名称	匈牙利	日本	中国
幼鼠流行性腹泻病毒	✓		
呼肠孤病毒 3 型	✓		
鼠肝炎病毒		✓	✓
仙台病毒	✓	✓	
鼠痘病毒	✓		✓
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒	✓		✓
流行性出血热病毒			✓
沙门氏杆菌	✓	✓	✓
大肠杆菌 O ₁₁₁		✓	
伪结核耶新氏菌			✓
肺炎克雷伯氏菌	✓	✓	
金黄色葡萄球菌	✓		
支气管败血波氏杆菌	✓		
绿脓杆菌	✓		
多杀性巴氏杆菌	✓	✓	
嗜肺巴氏菌	✓		
泰泽氏菌		✓	
李氏杆菌	✓		✓
结核分枝杆菌	✓		✓
鼠棒状杆菌	✓	✓	