

剖腹产生物净化技术在 B6.129-H1fla^{tm3Rsjo}/J 小鼠中的应用

代路路 王 弋 龙淑娴

广东省医学科学院 (广东省人民医院) 广东广州 510180

【摘要】目的 获取 SPF 级 B6.129-H1fla^{tm3Rsjo}/J 小鼠。**方法** 使用剖腹产生物净化技术, 选择 SPF 级的 ICR 母鼠作为代乳母鼠, 对污染的 B6.129-H1fla^{tm3Rsjo}/J 小鼠进行微生物净化。**结果** 剖出仔鼠 165 只, 成功代乳 156 只, 代乳成活率达 94.55%, 成功获取符合国家标准的 SPF 级小鼠。**结论** 剖腹产生物净化技术成功应用于 B6.129-H1fla^{tm3Rsjo}/J 小鼠, 并获得符合 SPF 级。

【关键词】 剖腹产; 代乳; B6.129-H1fla^{tm3Rsjo}/J 小鼠; 净化

【中图分类号】 R719.8

【文献标识码】 A

【文章编号】 2095-9753 (2022) 04-002-02

当前评价实验动物质量的手段, 主要为微生物和寄生虫学监测^[1]。小鼠是医学实验中最常见的哺乳动物, 其质量好坏会直接影响科学实验的结果。然而小鼠也非常容易被寄生虫和微生物感染^[2], 这些外在因素会严重影响实验结果。现代科学研究, 胎盘可阻止病原微生物侵入, 具有良好的屏障作用。对小鼠进行“生物净化”就是基于以上依据, 使用无菌剖腹产手术, 从而切断疾病在母仔间的纵向传播, 此方法在“维持种群微生物级别”方面最为简单有效。^[1]

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供体鼠

B6.129-H1fla^{tm3Rsjo}/J 小鼠, 20 只雌性, 9-10 周龄; 10 只雄性, 9-10 周龄; 来源于美国 JAX 实验室, 繁育饲养地为“广东省医学实验动物中心”, 伦理号: B201804-10;

1.1.2 代乳鼠

SPF 级, ICR 小鼠, 40 只雌性, 9-10 周龄; 10 只雄性, 9-10 周龄; 实验动物质量合格证明: 44007200056230; 动物实验证明: 00200782; 伦理号: B201810-3。实验动物由广东省医学实验动物中心提供, [实验动物生产许可证号 SCXK(粤)2018-0002, 实验动物使用许可证号 SYXK(粤)2018-0002], 本实验所有实验操作程序均经过广东省医学实验动物中心实验动物伦理委员会批准。

1.1.3 实验器材与试剂

超净台 (中国苏州安泰空气有限公司)、电热恒温水浴锅 (上海一恒科学仪器有限公司)、加热恒温板 (力辰科技有限公司)、手术剪、烧杯 (蜀牛)、眼科镊子、脱脂棉球、止血钳等手术器械、滤纸、灭菌蒸馏水 (广州屈臣氏食品饮料有限公司)、生理盐水 (安徽丰原药业股份有限公司)、75% 乙醇 (南昌华鑫医药化工有限公司)、0.2% 过氧乙酸、3% 过氧乙酸;

1.2 方法

1.2.1 配种

供体鼠 B6.129-H1fla^{tm3Rsjo}/J 小鼠, 每天下午 4-5 点将小鼠按照雌性: 雄性 = 2: 1 进行合笼配种。第二天早上 8-9 点检查有无阴栓, 有栓的即为配种成功, 即为妊娠 0.5 天, 在妊娠 18.5 天左右进行剖腹产手术。代乳鼠 ICR 小鼠的配种, 提前剖腹产母鼠 2-3 天进行配种, 即在手术前 2-3 天生产。

1.2.2 剖腹产

供体母鼠颈椎脱臼处死, 浸入 0.2% 过氧乙酸溶液 5s; 迅

速取出母鼠, 至于手术台上, 腹部向上并用 75% 乙醇喷雾消毒, 沿腹中线剪开腹部, 钝性分离出子宫; 用 1 个止血钳夹住子宫颈 (近子宫端)、用剪刀切断子宫颈, 输卵管连同卵巢一起剪下、用止血钳提起子宫, 浸入 2% 过氧乙酸消毒溶液 5s, 浸入恒温的 37℃^[3] 生理盐水溶液 5s, 立即放入消毒过的带有纱布的培养皿中。放入传递窗, 喷洒 2% 过氧乙酸, 将盖子打开, 立即关闭传递窗。传递窗另一侧的操作人员迅速将子宫夹到滤纸上, 放到加热恒温板上。用眼科剪切子宫壁, 将胎仔连同带胎盘的整个羊膜取出、切开羊膜后, 用纱布或棉签仔细擦拭胎盘和胎仔, 擦拭干净时特别需要注意的是胎仔口鼻处的擦拭。

2 结果

2.1 统计剖腹产成活率、代乳成活率以及离乳率

记录 20 只供体母鼠的仔鼠数量、7 天成活率、21 天离乳率。见表 1

2.2 生物净化后的微生物和寄生虫检测

离乳后的仔鼠中, 随机抽取 1 月龄的仔鼠进行检测, 结果符合我国 SPF 级动物质量标准。见表 2

表 2: 微生物与寄生虫检测结果

检测项目	检测方法	检测结果
鼠痘病毒	GB/T 14926.20-2001 (ELISA)	阴性
小鼠肝炎病毒	GB/T 14926.22-2001 (ELISA)	阴性
仙台病毒	GB/T 14926.23-2001 (ELISA)	阴性
小鼠肺炎病毒	GB/T 14926.24-2001 (ELISA)	阴性
小鼠细小病毒	GB/T 14926.28-2001 (ELISA)	阴性
呼吸肠病毒 III 型	GB/T 14926.25-2001 (ELISA)	阴性
支原体	GB/T 14926.8-2001 (ELISA)	阴性
泰泽病原体	GB/T 14926.10-2001 (ELISA)	阴性
弓形虫	GB/T 14926.2-2001 (ELISA)	阴性
沙门菌	GB/T 14926.1-2001	阴性
鼠棒状杆菌	GB/T 14926.9-2001	阴性
嗜肺巴斯德杆菌	GB/T 14926.12-2001	阴性
肺炎克雷伯杆菌	GB/T 14926.13-2001	阴性
金黄色葡萄球菌	GB/T 14926.14-2001	阴性
绿脓杆菌	GB/T 14926.17-2001	阴性
体外寄生虫	GB/T 18228.1-2001	阴性
蠕虫	GB/T 18228.6-2001	阴性
鞭毛虫	GB/T 18228.10-2001	阴性
纤毛虫	GB/T 18228.10-2001	阴性

3 讨论

剖腹取胎的目的在于使动物净化，因此剖腹产手术的环境要求极为严格，全程操作都需要在超净工作台中进行。所用的一切器具都应该进行彻底灭菌及无菌操作，手术器械可用 121℃，30 分钟高压蒸汽灭菌。浸泡孕鼠的消毒液可以用碘酒、过氧乙酸等配制。

代乳鼠的配种，选择雌雄比例为 2：1，增大雌性小鼠同一时期的受孕率。同时为剖腹产手术时，代乳母鼠的选择预留足够的空间，可以有条件的选择仔鼠状态良好且母性好的母鼠。本实验使用的是具有经验的 ICR 母鼠，在术前 2-3 天生产^[4]。ICR 小鼠属于封闭群，具有繁殖水平高、生产周期短、生长发育快，母性强、易于发情、对环境适应性高等优点，为了保证小鼠有更好的哺乳经验，最好选用已生育繁育 2-3 胎的 ICR 母鼠。

实验中，研究数据表明 7 天的成活率是仔鼠成活的关键点。7 天内的新生仔鼠，状态比较弱，体温及进食需要母鼠主动给予。新生仔鼠 7 天内不更换饲养箱，从而减少母鼠的应激性。饲养箱内添加棉花，有助于母鼠做窝，可以更好的哺乳仔鼠。加强母鼠的营养，适当的添加鸡蛋、瓜子或黄豆。7 天后的仔鼠，状态较好，可以自主的捕食，自主性大大提高。代乳 7 天后，仔鼠良好，21 天离乳成活率明显提高。

参考文献：

[1] 刘淑霞，刘殿峰，杨淑萍，et al. 实验小鼠的净化及监测 [J]. 中国生物制品学杂志，2000(04):245-246.
[2] 赵继勋，实验动物的微生物及寄生虫净化 [J]. 实验动物科学，2011.28(04):67-70.
[3] 吴瑕，高健，王猛，et al. KM 小鼠剖腹产手术中福利保障对仔鼠的影响 [J]. 实验动物科学，2012.29(04):50-51+57.

表 1：剖腹产成活率、代乳成活率以及离乳率

供体母鼠产仔数 (只)	7 天成活数 (只)	7 天成活率 (100%)	21 天成活数 (只)	21 天成活率 (100%)	代乳母鼠代乳数 (只)	代乳率 (100%)
9	8	88.89	7	77.78	7	77.78
9	8	88.89	7	77.78	7	77.78
10	8	80.00	8	80.00	8	80.00
12	10	83.33	10	83.33	10	83.33
7	6	85.71	6	85.71	6	85.71
10	9	90.00	9	90.00	9	90.00
10	9	90.00	9	90.00	9	90.00
10	9	90.00	9	90.00	9	90.00
8	6	75.00	6	75.00	6	75.00
7	7	100.00	7	100.00	7	100.00
4	4	100.00	4	100.00	4	100.00
5	5	100.00	5	100.00	5	100.00
12	10	83.33	10	83.33	10	83.33
9	9	100.00	9	100.00	9	100.00
9	9	100.00	9	100.00	9	100.00
7	7	100.00	7	100.00	7	100.00
12	12	100.00	12	100.00	12	100.00
8	8	100.00	8	100.00	8	100.00
7	7	100.00	7	100.00	7	100.00
7	7	100.00	7	100.00	7	100.00
总计	165	158	156	94.55	156	94.55

(上接第 1 页)

的有效成分可以改善大脑皮层的活动性和脑组织能量供应，提高脑组织能量代谢，在改善认知、运动障碍等方面均有一定疗效^[3]。盐酸多奈哌齐片是一种胆碱酯酶抑制剂，主要成分为多奈哌齐，作用机制主要为抑制胆碱酯酶，胆碱酯酶可使乙酰胆碱降解，提高中枢神经系统乙酰胆碱的含量，从而改善患者的认知水平。本研究中，观察组治疗 1 个月、治疗 3 个月后 MMSE 评分均高于对照组 (P<0.05)，由此说明联合用药可提高患者的智力，降低痴呆程度。盐酸多奈哌齐是国内外权威指南推荐用药，也是治疗老年痴呆的首选用药，每天只服用一次，服用方便患者的依从率较高^[4]。本研究中，治疗 3 个月后，观察组 IPROS 评分高于对照组，ADAS-cog 评分低于对照组 (P<0.05)，由此说明两种药物联合治疗老年痴呆的效果更显著，提高患者的生活能力及认识能力。

综上所述，盐酸多奈哌齐联合奥拉西坦治疗老年痴呆的

康复效果显著，可提高患者的智力，改善认知能力值得推广应用。

参考文献：

[1] 张领军，张付方. 复方苡蓉益智胶囊联合盐酸多奈哌齐对老年痴呆症病人认知功能，MMSE 与 CDT 的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2020，18(24):4227-4229.
[2] 李瑞天，赵园园，蔡灵钰，等. 盐酸多奈哌齐对阿尔茨海默病患者认知功能及氧化应激水平的影响 [J]. 中国医药，2020，15(3):382-385.
[3] 刘拓，许琳，许庆梅. 奥拉西坦注射液治疗老年痴呆的效果观察 [J]. 中医学报，2019，21(s1):121.
[4] Marzena, Uamek-Kozio, Ryszard, et al. To treat or not to treat Alzheimer's disease by the ketogenic diet? That is the question [J]. Neural Regeneration Research, 2020, 15(05):91-92.