



# SPF级BALB/c裸小鼠的生产管理与质量控制

刘科,夏冠玲,田青鹭,杨林,饶子亮,唐小江

(广东省医学实验动物中心,广东佛山 528248)

**【摘要】** SPF级裸小鼠的饲养及质量控制涉及多方面的环节和工作。生产管理及质量控制效果,直接影响动物的数量和质量。我中心2007年开始,逐步建立了规范的SPF级BALB/c裸小鼠生产繁育体系。裸小鼠生产繁育至今,数量和质量得到较好的保证。本文通过介绍我中心SPF级BALB/c裸小鼠的设施、种群、饲养管理及质量控制的具体做法和经验体会,为SPF级BALB/c裸小鼠相关繁育和研究提供参考和借鉴。

**【关键词】** BALB/c裸小鼠;SPF级;生产管理;质量控制

**【中图分类号】** R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 01-0083-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.001.016

## Breeding management and quality control of SPF BALB/c nude mice

LIU Ke, XIA Guang-lin, TIAN Qing-lu, YANG Lin, RAO Zi-liang, TANG Xiao-jiang  
(Guangdong Medical Laboratory Animal Center, Guangdong Foshan 528248, China)

**【Abstract】** Breeding and quality control of SPF nude mice involves many links and works. The quality and quantity of animals are directly affected by breeding management and quality control. A standardized breeding system of SPF BALB/c nude mice were gradually established at the center after 2007. This paper introduces specific practices and experience in facilities, stock, breeding management, and quality control of SPF BALB/c nude mice, in order to provide the reference for related breeding and study in SPF BALB/c nude mice.

**【Key words】** BALB/c nude mice;SPF;Breeding management;Quality control

裸小鼠是先天性免疫缺陷动物,已成为医学、生物学研究领域不可缺少的实验动物模型,特别是在肿瘤学、免疫学、毒理学、遗传学等领域广泛应用<sup>[1-2]</sup>。BALB/c裸小鼠又是裸小鼠品系中发现较早,使用量较多的品系,也是我国使用最广泛的裸小鼠品系。我国在1979年开始引进,但因BALB/c裸小鼠先天性免疫缺陷,对饲养繁育条件极为严格,在微生物控制方面,难以长久维持SPF级别,至今能长期规模化提供SPF裸小鼠的单位仍较少。作者于2007年建立SPF级BALB/c裸小鼠生产种群,规范生产繁育、管理、质量控制体系,注重供应

动物质量。多年来,已在裸小鼠繁育和质量控制方面积累了实践经验。本文简介BALB/c裸小鼠生产管理与质量控制实际做法,供科研及生产人员参考和借鉴。

### 1 SPF级裸小鼠生产设施

SPF级裸小鼠饲养繁育对环境设施要求较高,生产设施必需符合国家屏障设施标准【GB14925-2010】<sup>[3]</sup>,且需实施严格的环境控制措施。为稳定的供应高质量的SPF级裸小鼠,建设了屏障配套隔离包的裸小鼠保种设施,以及2个独立SPF裸小鼠

[作者简介]广东省医学科研基金(A2014143)。

[通讯作者]唐小江(1967-),男,主任医师,博导,主要从事实验动物和毒理学研究。

扩大生产群饲养室。裸小鼠保种设施形成隔离包加屏障的双重保障,隔离包和屏障采用单独的送排风系统,以实现动物环境和人员操作的独立,良好控制,可长期维持高级别的裸小鼠种群,并为扩大生产区源源不断的提供种源。扩大生产群分 2 个独立的饲养室,可实现规模化提供 SPF 裸小鼠品系,并可随时更换质量下降饲养室种群。SPF 级裸小鼠保种配套设施(彩插 5 图 1)。

## 2 SPF 裸小鼠种群

SPF 级 BALB/c 裸小鼠种源来自国家种子中心或国家认可的种源单位,质量合格<sup>[4]</sup>。目前,BALB/c 裸小鼠种群为 3000 对,月可提供 BALB/c 裸小鼠约 4500 只,裸小鼠微生物质量符合 SPF 级别【SCXK(粤)2013-0002】。

## 3 SPF 裸小鼠饲养管理及质量控制

### 3.1 保种、生产繁殖方式

裸小鼠是一种先天性免疫缺陷型动物,雌性纯合子(nu/nu)裸小鼠母鼠母性差,乳腺发育不良,本身不能育成仔鼠。本中心采用 nu/+ 雌鼠与 nu/nu 雄鼠交配方法。保种核心群雌雄按 1:1 比例交配,采用单线法繁育方式,生产扩大群采用雌雄 2:1 比例长期同居交配,交配方式为随机交配,每对动物生产四胎后淘汰。用此繁殖方式,生产仔鼠有纯合子(nu/nu)和杂合子(nu/+ )。(nu/nu)小鼠 21 d 断奶,杂合子(nu/+ )小鼠若不留种,7 d 内(最好 3 d 内)根据胡须多少和表皮有无绒毛全部挑出,需留种的每窝杂合子不超过 2 只,若有代乳鼠母鼠,杂合子应单独代乳,从而确保纯合子小鼠正常哺乳,良好的生长发育。生产繁育设立繁殖登记卡和生产记录,对每只动物进行详细登记。

### 3.2 饲料、饮水

裸小鼠相对其他免疫功能正常小鼠而言,代谢功能较差,饲料吸收和利用率较低。所以,裸小鼠饲料蛋白质和脂肪等营养成分相对较高。SPF 级裸小鼠饲料是由饲料生产部生产的裸小鼠专用全价配合饲料【SCXK(粤)2013-0002】,饲料成分:粗蛋白 23.5%,粗纤维 3.8%,粗灰分 7.3%,粗脂肪 5.4%,钙 1.2%,磷 0.85%,钠 0.25%。饲料采用辐照剂量为 20~25 kGy 的 C<sub>60</sub> 灭菌。我们对裸小鼠用水灭菌比较谨慎,严格控制,动物饮水由净化水配置 pH2.5~3.0 的酸化水,然后再经真空高温

高压灭菌,传入屏障设施内使用。动物采用自由采食和饮水,在喂全价颗粒料的同时,每周加喂灭菌蛋黄、瓜子和黄豆各 1 次,确保裸小鼠繁育和生长良好。

### 3.3 环境控制

#### 3.3.1 温湿度

裸小鼠体表无毛或稀疏、较短的被毛,所以对温湿度较为敏感。裸小鼠饲养室内温湿度由水冷式中央空调控制,以确保屏障及隔离包内恒温恒湿。送风经初效、中效、高效 3 级过滤,符合屏障环境标准。温度控制在 22℃~24℃,湿度 50%~60%。为确保空调机组正常、稳定运行,对中央空调机组及空气处理机加装报警装置,及温湿度监控装置,设备维护人员对其 24 h 巡查。

#### 3.3.2 光照

不同光照时间影响 BALB/c 裸小鼠的繁育性能<sup>[5]</sup>,裸小鼠光照时间为 10 h/d,通过定时器自动控制开启、关闭。

#### 3.3.3 垫料

使用的垫料有杨木刨花、玉米芯和杨木片,裸小鼠繁殖鼠笼使用垫料为杨木刨花,维持或供应裸小鼠笼盒使用玉米芯和杨木片垫料。为彻底杀灭垫料中微生物,垫料需灭菌炉 132℃ 20 min 高温高压灭菌 2 次,首次高温高压灭菌后,再装入裸小鼠专用笼具,经高温高压灭菌传入屏障系统和隔离包内。

#### 3.3.4 卫生消毒

屏障设施消毒后,各项环境指标均符合屏障环境标准要求。裸小鼠饲养笼具、垫料每星期更换 1~2 次,每次更换笼具时,用消毒液对隔离包和饲养笼架做 1 次大清洁,隔离包及用品(镊子、毛刷等)每天工作后,进行清洁、消毒。屏障设施每天工作后,用消毒液进行拖地和喷雾消毒。此外设施内地面、墙壁、天花板、笼具、用品)1 周全面消毒清洁 1 次。排风口及过滤膜 1 周清洗 1~2 次,消毒液定期更换,屏障及隔离包等区域日常使用的消毒液 1 周轮换 1 次,以确保消毒液的效力。目前,我们常用消毒液有:酒精,百毒杀,强力消毒灵,过氧乙酸等。

### 3.4 人员管理

人员管理是裸小鼠高效生产繁育、供应,维持高级别和高质量的关键。裸小鼠生产工作人员严格遵守各项管理制度,按照标准操作规程开展工作,参加相关各类培训。

#### 3.4.1 生产人员严格遵守各项管理制度。生产人

员家里不能养宠物,SPF 生产人员工作期间不能接触普通级及疾病动物,患病、携带疾病及非工作人员均禁止进入裸小鼠屏障设施。时刻保持无菌意识,人员进出、物品进出、人员操作对设施和动物均不造成任何污染。

3.4.2 生产人员严格执行各项标准操作规程,严格按屏障设施、保种、繁育、饲养管理规程要求开展工作。

3.4.3 生产人员上岗前取得实验动物上岗证,并进行内部岗前培训,经考核合格后才能上岗,上岗后定期开展相关知识和技术培训,及时掌握新知识和新技术。

### 3.5 环境、微生物监测

裸小鼠自身免疫缺陷,对环境设施要求高,易受微生物感染,在饲养繁育过程要做好环境和微生物的监测。

3.5.1 设施环境监测:除按照国家标准《实验动物环境与设施》要求做好环境设施定期监测外,还要做好日常监测:包括温度、湿度、压差、送排风过滤系统,发现环境指标超出要求范围,及时调节。

1.1 3.5.2 微生物监测:我中心 3 个月对裸小鼠进行 1 次微生物质量监测,监测微生物种类和方法参照国家标准 GB 14922. 2-2011《实验动物微生物学等级及监测》<sup>[6]</sup>和 GB 14922. 1-2001《实验动物寄生虫学等级及监测》<sup>[7]</sup>。每月对裸小鼠饲料、饮水、垫料、笼具进行 1 次微生物监测,监测方法参照 GB/B 14926. 41-2001《实验动物无菌动物生活环境及粪便标本的检测方法》<sup>[8]</sup>。

## 4 裸小鼠生产繁育及质量控制情况

### 4.1 繁殖情况

严格按照上述方法对 SPF 裸小鼠进行繁育、饲养,选取 2 代裸小鼠保种群的繁育情况进行分析,结果显示裸小鼠生长、繁育良好,裸小鼠生产繁育率较高。裸小鼠不同胎次繁育情况见表 1。

### 4.2 微生物控制情况

根据自检结果,裸小鼠生产用灭菌饲料、垫料、饮水均无微生物检出。裸小鼠符合 SPF 等级,2013-2014 年 BALB/c 裸小鼠检测结果见表 2。

### 4.3 动物生理生化、脏器特性

对成年 BALB/c 裸小鼠生理、生化,脏器特性进行了测定,测定结果显示,不同性别裸小鼠血液生理生化参数、脏器指标有所不同,具体指标及测定

结果详见论文《不同性别 BALB/c 裸小鼠血液学及脏器系数观察》<sup>[9]</sup>。

表 1 SPF 级 BALB/c 裸小鼠不同胎次繁育情况

Tab. 1 The breeding of SPF BALB/c nude mice in different parity

	胎次		
	1	2	3
种母数(窝)	27	28	27
产仔总数(只)	192	229	211
产 nu/nu 仔数(只)	128	117	105
平均产仔数(只)	7.1	8.2	7.8
平均产 nu/nu 数(只)	4.7	4.2	3.9
nu/nu 离乳(只)	128	117	105
平均离乳 nu/nu 数(只)	4.7	4.2	3.9

## 5 经验体会

裸小鼠的饲养繁育及质量控制涉及多方面的环节和工作,任何一方面工作没有做到位,一个环节没有控制好,都难以繁育出高质量的动物。(1)设施的质量好坏直接影响动物的质量,裸鼠长期饲养,并维持 SPF 级,最好配置隔离包或 IVC 系统。(2)裸鼠饲养做好运行管理、设施维护、各参数指标的控制,设施、用品、动物应定时自检,并及时调整和整改。设施内使用物品做好及时、定期清洁消毒,尽量减少屏障设施及隔离器内物品的存放,做到使用的物品整齐、洁净,多余的物品及时移除。屏障设施内灭菌过的笼具、垫料尽量 3 d 内用完、开封的饲料应当天用完。(3)裸小鼠的营养需求较高,饲料最好选用辐照,且要添加辅料鸡蛋、瓜子、黄豆。(4)裸小鼠较有毛小鼠体型小和活动能力弱,饲养笼盒饲料架最好定制,饲料架底部距笼盒底部应满足裸鼠站立便可吃到饲料,否则,对裸小鼠的生长影响较大。(5)加强人员管理、培训,建立无菌意识,防止人员、物品、操作,污染设施和动物。(6)加强裸小鼠特性认知,虽裸小鼠表现为无毛、裸体,但裸小鼠并非真正意义上无毛鼠,部分个体长有稀疏被毛的现象<sup>[10]</sup>;而且,裸小鼠随着鼠龄的增加,皮肤变薄、头颈部皮皱褶、发育迟缓等特点;裸小鼠是先天性免疫缺陷,T 淋巴细胞功能缺陷,无胸腺,仅有胸腺残迹或异常上皮。

总之,裸小鼠的饲养、管理及质量控制涉及多方面的环节及工作。只有当这些条件满足后,才能保证裸小鼠质量,使繁育的动物及相关科学实验符合标准、规范。

表 2 2013 - 2014 年 BALB/c 裸小鼠微生物及寄生虫检测结果  
Tab. 2 Pathogen test result of BALB/c nude mice between 2013 to 2014

类别	检测项目	检测方法	检测结果				
			2013 年				2014 年
			2 月	5 月	9 月	12 月	2 月
病原体	沙门菌	GB/T174926. 1-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	鼠棒状杆菌	GB/T174926. 6-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	嗜肺巴斯德杆菌	GB/T174926. 12-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	肺炎克雷伯杆菌	GB/T174926. 13-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	金黄色葡萄球菌	GB/T174926. 14-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	绿脓杆菌	GB/T174926. 17-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	支原体	GB/T174926. 8-2001( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	泰泽病原体	GB/T174926. 10-2008( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
病毒	鼠痘病毒	GB/T174926. 20-2001( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	小鼠肝炎病毒	GB/T174926. 22-2001( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	仙台病毒	GB/T174926. 23-2001( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	小鼠肺炎病毒	GB/T174926. 24 - 2001( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	呼肠孤病毒 III 型	GB/T174926. 25 - 2001( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	小鼠细小病毒	GB/T174926. 28 - 2001( ELISA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
寄生虫	弓形虫	GB/T18448. 2-2008( IHA)	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	体外寄生虫	GB/T18448. 1-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	全部蠕虫	GB/T18448. 6-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	鞭毛虫	GB/T18448. 10-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
	纤毛虫	GB/T18448. 10-2001	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15

## 参考文献:

- [ 1 ] 吴细丕, 钱林法. 实验动物与肿瘤研究 [ M ]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000.
- [ 2 ] 富群华. 裸小鼠生物学特性简介 [ J ]. 上海实验动物科学, 1988, 8(1): 48 - 49.
- [ 3 ] 中国医学科学院医学实验动物研究所, 中国质检出版社第一编辑室. GB 14922. 2 - 2010 实验动物环境及设施 [ S ]. 中国质检出版社, 中国标准出版社. 2011.
- [ 4 ] 广东省人民代表大会常务委员会. 广东省实验动物管理条例 [ S ]. 2010 年 6 月 2 日公布, 2010 年 10 月 1 日实施.
- [ 5 ] 李志东, 王晖, 欧阳铁强, 等. 不同光照时间对 BALB/c 裸小鼠生长发育及繁殖影响的比较研究 [ J ]. 实验动物科学, 2008, 25(8): 13 - 15.
- [ 6 ] 中国医学科学院医学实验动物研究所, 中国质检出版社第一编辑室. GB 14925-2011 实验动物微生物学等级及监测 [ S ].

中国质检出版社, 中国标准出版社. 2011.

- [ 7 ] 中国医学科学院医学实验动物研究所, 中国质检出版社第一编辑室. GB 14922. 1-2001 实验动物寄生虫学等级及监测 [ S ]. 中国质检出版社, 中国标准出版社. 2011.
- [ 8 ] 中国医学科学院医学实验动物研究所, 中国质检出版社第一编辑室. GB/T 14926. 41-2001 实验动物无菌动物生活环境及粪便标本的检测方法 [ S ]. 中国质检出版社, 中国标准出版社. 2011.
- [ 9 ] 刘科, 刘盛来, 杨林, 等. 不同性别 BALB/c 裸小鼠血液学及脏器系数观察 [ J ]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(1): 65 - 67.
- [ 10 ] Mecklenburg L, Tychsen B, Paus R. Learning from nudity: lessons from the nude phenotype [ J ]. Exp Dermatol, 2005, 14: 797 - 810.

[ 修回日期 ] 2014-11-20