



# 长爪沙鼠的生物净化技术

卢领群<sup>1</sup>, 宋晓明<sup>2</sup>, 戴方伟<sup>1</sup>, 周莎桑<sup>1</sup>, 李长龙<sup>3</sup>, 马伟锋<sup>1</sup>, 柯贤福<sup>1</sup>,  
楼琦<sup>1</sup>, 吕宇<sup>1</sup>, 萨晓婴<sup>1</sup>

(1. 浙江省医学科学院实验动物中心, 杭州 310013; 2. 杭州师范大学实验动物中心, 杭州 310036;  
3. 首都医科大学基础医学院实验动物学系, 北京 100069)

**【摘要】** 目的 实现长爪沙鼠微生物质量升级和实验动物化目标, 需对长爪沙鼠实施生物净化。方法 在长爪沙鼠生物净化过程中, 采取孕鼠选择和临产期判断、无菌剖宫产、仔鼠代乳以及独立通风笼盒(IVC)饲养管理等措施, 比较了ICR小鼠、SD大鼠、长爪沙鼠代乳和饲料中添加营养成分对仔鼠代乳的影响。结果 本研究共实施长爪沙鼠无菌剖宫产达85胎次, 通过ICR代乳鼠代乳并成功断乳167只。结论 本研究顺利实现了长爪沙鼠生物净化, 形成的关键技术有望为我国特色实验动物资源的生物净化提供参考。

**【关键词】** 长爪沙鼠; 生物净化; 微生物

**【中图分类号】** R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 04-0062-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.004.014

## Biological cleaning technologies for Mongolian gerbils

LU Ling-qun<sup>1</sup>, SONG Xiao-ming<sup>2</sup>, DAI Fang-wei<sup>1</sup>, ZHOU Sha-sang<sup>1</sup>, LI Chang-long<sup>3</sup>,  
MA Wei-feng<sup>1</sup>, KE Xian-fu<sup>1</sup>, LOU Qi<sup>1</sup>, LV Yu<sup>1</sup>, SA Xiao-yin<sup>1</sup>

(1. Center of Laboratory Animals, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China;  
2. Center of Laboratory Animals, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036;  
3. Department of Laboratory Animal Sciences, Capital University of Medical Sciences. Beijing 100069)

**【Abstract】** **Objective** To obtain higher microbiological quality of Mongolian gerbil colonies and realization of experimental animalization by biological cleaning. **Methods** We conducted biological cleaning of Mongolian gerbils by selection of pregnant gerbils, perinatal judgment, aseptic Caesarean section, pup milk replacer and breeding in individually ventilated cages. We also compared the results by milk replacer for pup gerbils from lactating ICR mice, rats as well as gerbils. **Results** During the present study, 85 Caesarean operations were carried out and a total of 167 gerbils were weaned. **Conclusions** We have successfully achieved the biological cleaning from a Mongolian gerbil colony in Zhejiang province, and the key techniques may provide useful reference for biological cleaning of special laboratory animal species in China.

**【Key words】** Mongolian gerbil; *Meriones unguiculatus*; Biological cleaning; Microbe

长爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*)属于啮齿目、沙鼠属(*Gerbillus*)动物。野生型沙鼠主要分布在我

**【基金项目】** 科技部“十二五”科技支撑计划项目子项目(2013BAK11B01-41), 卫生部科研基金(WKJ2010-2-002), 浙江省科技计划项目(2012C37097、2011F30009)。

**【作者简介】** 卢领群(1976-), 男, 实验师, 从事实验动物生物净化与种群建设管理等研究工作。lulingqun@sohu.com fangweidai@126.com。

**【通讯作者】** 戴方伟。E-mail: fangweidai@126.com。

国西北、华北及蒙古的干旱和半干旱地区的草原地带。1935 年由日本人开始驯化和实验动物化, 转由 Schwentker 引入美国、英国和法国等国家<sup>[1]</sup>, 于 20 世纪 60 年代开始作为实验动物应用于医学研究。长爪沙鼠具有许多特殊的生物学特性, 可作为生物学和医学研究的动物模型, 被称为“多能性”的实验动物<sup>[2]</sup>。目前国内有两个主要的长爪沙鼠群体, 分别保存于浙江省实验动物中心(命名为 Z:ZCLA)和首都医科大学<sup>[1]</sup>, 其中的 Z:ZCLA 长爪沙鼠种群经 48 代选育, 已育成一个生物学性能稳定的普通级长爪沙鼠新品系。为适应国家对我国特色品系实验动物化的整体要求, 促进长爪沙鼠品系的应用和国内特色资源的保种, 我们对长爪沙鼠群体实施微生物质量升级和实验动物化。由于采用精子体外受精技术实现生物净化客观上缺乏合适的受体鼠, 我们选择剖腹摘宫技术对长爪沙鼠进行生物净化, 该技术在实验动物的微生物净化、无菌动物的繁育等方面应用普遍<sup>[3]</sup>。因长爪沙鼠的特殊性, 整个生物净化过程需克服孕鼠选择和临产期判断、无菌剖宫产、仔鼠代乳等诸方面的技术难关, 本文就上述过程进行简要汇总, 以期为我国其他特色实验动物资源的实验动物化提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

普通级 Z:ZCLA 长爪沙鼠和清洁级 ICR 小鼠、SD 大鼠均由浙江省实验动物中心提供, 使用许可证号: SYXK(浙)2008-0114、SYXK(浙)2008-0113, 独立通风笼盒环境中饲养, 清洁级长爪沙鼠由上述普通级长爪沙鼠经生物净化建立。

### 1.2 实验材料

独立通风笼盒(IVC), 苏杭公司生产; 超净工作台由苏州净化设备有限公司生产。一般物品包括: 乳胶手套、油汀、温度计、量筒、灭菌蒸馏水、质量百分浓度为 2% 过氧乙酸消毒液(临用前用 35℃ 的蒸馏水配制)、质量百分浓度 5% NaOH 碱液; 手术用物品包括: 镊子(15 cm 规格)2 把, 眼科镊 2 把, 手术刀 1 把, 手术剪 2 把, 脱脂棉, 纱布, 止血钳 4~5 把, 以上手术器具需经 121℃ 5 磅高压蒸汽灭菌 20 min。

鼠饲料为辐照繁殖料, 由浙江省实验动物饲料生产基地提供, 质量规格:  $\phi$ 12 mm 颗粒。兔乳为泌乳期母兔分泌的乳汁, 经高压蒸汽(115℃, 15 min)

灭菌后备用。辅料的制备: 将鼠饲料碾碎成粉末, 置无菌瓶皿中, 添加灭菌后的兔乳, 充分搅拌混匀至适当湿度即可。

### 1.3 长爪沙鼠孕鼠选择和临产期判断

选择 3 月龄普通级长爪沙鼠, 按雌雄比 1:1 同居交配。通过①观察法: 观察分娩前孕鼠躁动不安、清理产床, 孕鼠下腹部膨大、外阴湿润鲜红且阴道口扩大, 待孕鼠俯卧巢内并见流血和羊水后表明即将分娩; ②触诊法: 安静自然保定分娩期孕鼠, 通过触摸其腹部, 对比感觉腹肌松弛度, 胎仔头硬度, 胎仔头和躯干大小。当胎仔头和躯干大小一致(宽度达到约 0.8~1.2 cm), 腹肌松弛, 胎仔头较硬时, 则孕鼠分娩时机成熟。在此基础上, 提前(2~3)h 对孕鼠肌内注射适当剂量的黄体酮, 并于注射后(12~24)h 内施行剖宫产手术。须注意每只动物黄体酮注射总剂量不超过 6 mg, 次数不超过 3 次。

### 1.4 剖宫产手术

整个手术应无菌操作。采用颈椎脱臼法处死孕鼠后, 迅速将其浸入质量百分浓度为 2% 过氧乙酸消毒液 5 s, 置于手术台, 固定四肢。消毒孕鼠腹部, 用灭菌剪打开腹腔, 暴露子宫。用止血钳夹住两侧输卵管前侧和子宫远端(图 1), 从远端迅速切断子宫。切取子宫后, 将其连同止血钳迅速放入 35℃ 消毒液中浸泡约 10 s。立即以质量百分浓度 5% NaOH 碱液(溶剂为水)中和消毒液, 蒸馏水冲洗后, 纱布吸干。迅速撕开子宫, 破羊膜取出胎仔, 纱布或棉签去除羊水, 擦净胎盘和胎仔, 特别是胎仔口鼻处。以湿棉签轻轻按摩胎仔胸部, 刺激其获得自主呼吸, 全过程需保温, 直至胎仔全身鲜红, 扭曲脐带, 并用纱布扯断脐带压迫止血。自主呼吸的仔鼠体色由紫红逐渐转成鲜红色, 约半小时后即可授乳或代乳。



图 1 止血钳夹住子宫示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the haemostatic forceps-clamped uterine

### 1.5 选择母鼠代乳

分别选取自然分娩第 1 天的长爪沙鼠、ICR 小鼠和 SD 大鼠作为代乳母鼠,每种代乳母鼠取 8 只,每只代乳 6 只新生长爪沙鼠。所有代乳母鼠、仔长爪沙鼠的饮水、饲料等饲养环境均保持一致,每天记录窝重和每窝存活数,连续记录 25 d,比较三种动物代乳的仔长爪沙鼠的生长曲线和存活率。

另设四组:ICR 泌乳小鼠单纯代乳剖宫产仔长爪沙鼠组、ICR 泌乳小鼠代乳配合辅料饲养剖宫产仔长爪沙鼠组、ICR 小鼠代乳自然分娩仔长爪沙鼠组和亲母鼠哺乳组。选择清洁级 ICR 泌乳小鼠作为仔长爪沙鼠的代乳母鼠提供母乳,于 17 日龄时增设辅料添加组,即含 67% (v/w, mL 兔乳/100 g 小鼠饲料粉末) 兔乳的鼠饲料粉末,每天按 5 g/只的兔乳量添加两次。代乳期间每 3 d 更换 1 次垫料。每组选 7 窝剖宫产仔长爪沙鼠,每窝留 6 只,每天记录窝重和每窝存活数,连续记录 25 d,比较四组仔鼠生长情况。

## 2 结果

### 2.1 长爪沙鼠、ICR 小鼠和 SD 大鼠代乳自然分娩的仔长爪沙鼠生长情况比较结果

SD 大鼠代乳的长爪沙鼠在 3 日龄时开始出现显著性死亡,存活率降至 80% 以下,到 11 日龄,仔鼠存活率降至 47%,在 17 日龄有 2 窝仔鼠整体淘汰。仔鼠 25 日龄时,存活率仅为 31%。在整个代乳期,仔鼠均存在陆续死亡现象。ICR 小鼠代乳的 48 只仔鼠中,有 46 只存活,25 日龄时存活率为 95%。长爪沙鼠代乳的仔鼠中,仅一组动物出现 3 只死亡,其余 45 只均存活,见图 2。

通过比较各组仔鼠平均体重(图 3),我们发现 ICR 小鼠代乳的仔鼠平均体重在 20 日龄前略高于长爪沙鼠代乳和 SD 大鼠代乳的长爪沙鼠,个别日

龄存在显著性差异,表明 ICR 小鼠代乳的长爪沙鼠生长发育情况较为理想。在 20 日龄后,与长爪沙鼠代乳的仔鼠比较,ICR 小鼠代乳动物体重增重明显变缓,这可能与 ICR 小鼠哺乳周期有关。SD 大鼠代乳的仔鼠体重变化存在较为明显的组内波动。综合上述结果,我们选择了 ICR 小鼠作为长爪沙鼠生物净化后的代乳母鼠。

### 2.2 剖宫产及代乳情况

共实施长爪沙鼠生物净化 85 胎次,通过 ICR 小鼠代乳并成功断乳 167 只,胎仔平均出生体重 2.9 g/只,窝平均胎仔数 8.4 只/窝,共完成 20 只通过生物净化后代乳与自然分娩后母乳喂养的长爪沙鼠生长曲线比较(图 4)。与母乳喂养的长爪沙鼠相比,生物净化后的代乳沙鼠体重普遍较低,从 1 日龄到 25 日龄均有统计学差异。

由图 5 可知,剖宫产仔长爪沙鼠的生长曲线普遍低于自然分娩组,提示剖宫产手术对仔长爪沙鼠的生长发育带来较大影响,添加辅料组可显著提高 17 日龄后剖宫产仔长爪沙鼠的体重增长速度,并于断奶前达到优于 ICR 小鼠代乳自然分娩仔长爪沙鼠组的体重水平,表明所添辅料有助于剖宫产手术中的仔长爪沙鼠实现正常离乳。

## 3 讨论

### 3.1 长爪沙鼠孕鼠选择和临产期判断

与大、小鼠不同,长爪沙鼠是“一夫一妻”长期同居的繁殖方式,因此选择 3 月龄普通级长爪沙鼠进行雌雄比 1:1 同居交配。小鼠的妊娠期为 19~21 d,长爪沙鼠妊娠期 24 d~26 d,代乳 ICR 小鼠的交配时间较剖宫产母鼠迟 3 d~4 d,即 ICR 代乳母鼠在剖宫产手术前 12~36 h 内分娩。由于长爪沙鼠雌鼠在受精后难发现阴栓,其预产期仅能依靠计算雌雄同居时间,结合观察法、触诊法等<sup>[4]</sup>综合方法

图 2 长爪沙鼠、ICR 小鼠和 SD 大鼠代乳的自然分娩仔长爪沙鼠每窝存活率趋势图

Fig. 2 Survival rate per litter in the groups of gerbil milked by Mongolian gerbils, ICR mice and SD rats



图 3 长爪沙鼠、ICR 小鼠和 SD 大鼠代乳自然分娩仔代长爪沙鼠的生长曲线比较

Fig. 3 Growth curves of naturally-born Mongolian gerbils milked by Mongolian gerbils, ICR mice and SD rats



图 4 通过生物净化后代乳与自然分娩后母乳喂养的长爪沙鼠生长曲线比较

Fig. 4 Growth curves of naturally-born gerbils, milked by biologically cleaned parental gerbils and of gerbils caesarean-sectioned and milked by lactating female gerbils



图 5 剖宫产仔长爪沙鼠由 ICR 小鼠单纯代乳与配合辅料饲养、自然分娩仔长爪沙鼠由 ICR 小鼠代乳和由亲母鼠代乳的生长曲线比较

Fig. 5 Growth curves of naturally-born gerbils milked by biologically cleaned parental gerbils, or by ICR lactating female mice, and of caesarean-sectioned gerbils milked by ICR lactating female mice with or without soft feed

来判定孕鼠分娩时间点,以把握最佳剖宫产时机,因此这对实验人员判断沙鼠临产期的经验要求较高。

### 3.2 黄体酮在长爪沙鼠剖腹取胎中的应用

根据胚胎发育的原理<sup>[5]</sup>,啮齿类实验动物在接近出生前的 24 h 内生长发育最旺盛,仔鼠初生时 20% 体重都是在最后 24 h 内生长的,提早几个小时进行剖宫产会对胎儿的成熟造成很大影响。为了避免判断错误,确保胎鼠发育完全,在前述诊断基础上,提前 2 h ~ 3 h 对孕长爪沙鼠肌注适当剂量的黄体酮<sup>[6]</sup>,使子宫松弛,收缩力下降,以推迟孕鼠的分娩时间。动物可于注射后 12 h ~ 24 h 内施行剖宫产术,注意给药次数不宜过多(总剂量 ≤ 6 mg, 次数 ≤ 3 次),否则易导致剖宫产仔鼠发黑,过于成熟,甚至出现死胎现象。

### 3.3 无菌剖腹摘宫技术

剖宫产手术是实现生物净化的有效途径,可有效防止病原体通过胎盘屏障引起子代的垂直感染。为确保剖宫产手术的无菌状态,应注意所有与手术有关的物品必须无菌,手术中严格执行无菌操作,注意保温,新生幼仔的剖宫取胎中手术台环境温度一般控制在 (30 ~ 33) °C 左右。并对子宫和胎盘进行微生物检验,一旦发现污染,马上弃除该批幼仔。手术应以快为原则,全过程须在 10 min ~ 15 min 内完成,操作准确、熟练,否则会影响新生鼠的成活率。

### 3.4 代乳母鼠的选择

选择经产、母性好的清洁级雌鼠为剖宫产长爪沙鼠的代乳母鼠。当确定乳母鼠怀孕后,将雄鼠移出,以免再生产,影响带乳。本研究分别选用 SD 大鼠、ICR 小鼠和普通级长爪沙鼠三种代乳母鼠进行比较。发现 SD 大鼠的产乳量多,产乳周期短,仔鼠存活率低。长爪沙鼠产乳量和产乳周期虽更符合被乳仔鼠生长需求,但现只有普通级种群,不适合作净化仔鼠代乳鼠。ICR 小鼠易获得,产乳周期较长,性情温顺,故选择母性良好的清洁级 ICR 小鼠作为净化长爪沙鼠的代乳母鼠。

### 3.5 提高仔长爪沙鼠代乳成活率方法的探索

在代乳母鼠和仔鼠初次接触时,采用合理的染味、观察等方法可提高代乳成功率。代乳技术建立前期,以生产或刚生产完的清洁级 ICR 泌乳小鼠作为代乳母鼠,发现长爪沙鼠剖腹取胎当日及 2 d 内仔长爪沙鼠成活率最低。故将产前 2 d ~ 3 d 的乳

母鼠转移到净化室适应环境,并停止更换垫料,在其产后第一天是导入被乳仔鼠的最佳时间。乳母鼠初次接触代乳时,预留亲仔 1 ~ 2 只,将仔长爪沙鼠与笼内垫料轻柔地混翻,以确保其充分染味,混养数小时后,若发现仔长爪沙鼠的腹部有白色乳液,表明授乳成功,即可将母鼠亲仔取出。

剖宫产的长爪沙鼠生长不稳定,每窝仔鼠离乳体重不一致,20 日龄后体重呈明显下降趋势,并出现一定数量的死亡。试验发现在仔鼠 17 ~ 20 日龄时开始添加辅料,每 100 g 鼠饲料粉末中含兔乳 60 mL ~ 70 mL,每天 2 ~ 5 次,视仔鼠的健康及消化情况适当增减,直至仔鼠日体重明显上升即可考虑断奶,一般在 25 ~ 30 日龄,体重达 16 g 后安全离乳。采用添加辅料法有助于剖宫产的仔长爪沙鼠实现正常离乳,并优于代乳自然分娩仔长爪沙鼠的体重水平。

### 3.6 IVC 内饲养环境控制

长爪沙鼠生性好动,垫料消耗大,且易脏。无菌草纸<sup>[7]</sup>作为垫料,易被叼于一处,造成 IVC 笼盒内气流不畅。无菌木屑较为常用,更适于新生鼠代乳期,因产粉尘多,需勤更换。使用玉米芯作为垫料,可以明显改善笼盒内环境。新生幼仔的环境温度一般控制在 30 °C ~ 33 °C 左右,5 d 后降至 24 °C ~ 27 °C 左右,湿度 40% ~ 70%。

#### 参考文献:

- [1] 李长龙,卢领群,郭红刚,等. 长爪沙鼠线粒体 DNA 控制区全序列测定及分析[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(4): 40-45.
- [2] 戴方伟,周莎桑,宋晓明,等. 生物净化前后长爪沙鼠微生物和寄生虫携带情况的比较[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 32(6): 473-476.
- [3] 李兰娟,康白,熊德鑫,等. 感染微生态学[M]. 北京:人民卫生出版社出版. 2012: 711-723.
- [4] 戴方伟,卢领群,金晓音,等. 大鼠临产期判断方法的探讨[J]. 中国比较医学杂志, 2006, 4:233-235.
- [5] 徐平. 小鼠剖宫产仔若干问题探讨[J]. 上海实验动物科学, 1990, 10(4): 222-223.
- [6] 吴为群,容中生. 哮喘,黄体酮和妊娠[J]. 国外医学内科学分册, 1993, 18(12): 557-558.
- [7] 王珑,张海峰,刘艳,等. 啮齿类实验动物垫料质量评估的研究[J]. 实验动物科学, 2011, 28(1): 30-32.

[修回日期]2014-01-10