



小鼠体外寄生虫的药浴治疗

翟青新

(南京大学医学院附属鼓楼医院动物实验中心, 南京 210008)

【摘要】 目的 伊维菌素全群药浴法治疗小鼠体外寄生虫。**方法** 近 800 只自繁自用基因工程保种小鼠, 伊维菌素药浴液浓度为 1% (L/L), 每只鼠至少药浴游泳 1 min, 中途用漏勺把鼠头按压入药液 3~4 次。10 日龄内小鼠需单独人工辅助药浴。药浴后换笼, 同时环境驱虫, 只药浴 1 次。**结果** 全群死亡率约 2%。随访 18 个月, 未再见到体外寄生虫, 鼠群健康, 繁殖正常。**结论** 伊维菌素注射液全群药浴法治疗小鼠体外寄生虫切实可行。

【关键词】 小鼠; 消灭; 体外寄生虫; 伊维菌素; 药浴

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 02-0070-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.02.013

Medicated bath for eradication of external parasites in mice

ZHAI Qing-xin

(Center of Animal Experiments, Nanjing Drum Tower Hospital, The Affiliated Hospital of
Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210008, China)

【Abstract】 Objective To report the results of medicated bath with ivermectin for eradication of external parasites in mice. **Methods** Nearly 800 genetically engineered mice which are self-used were treated with ivermectin medicated bath in concentration of 1% (L/L) to eradicate external parasites. Each mouse swims at least 1 minute, including immersing the head into solution for 3~4 times with a colander. Manual auxiliary medicated bath was needed for less than 10-day ones. All cages and materials were changed after the medicated bath, and environmental disinfection was performed at the same time. Medicated bath was used only once. **Results** Mortality rate of the mice was about 2%. The mice were followed-up for 18 months, and no reinfection with external parasites was observed. The mice were healthy and reproduction was normal. **Conclusions** Medicated bath with ivermectin is effective and feasible for eradication of external parasites in laboratory mice.

【Key words】 Mice; External parasites; Eradication; Ivermectin; Medicated bath

2014 年 11 月某实验动物使用许可单位屏障设施, 共有 8 间饲养室。其中 1 间饲养室里的独立通气饲养笼架 (IVC, individual ventilated cages) 共有 120 笼近 800 只小鼠, 用于转基因或基因敲除小鼠的研究或保种, 大多数都弥足珍贵, 已世代繁衍了近 10 年, 期间有从国内外购买、引进 (或被赠予) 的, 小鼠进入屏障时都有生产许可证和该批次实验

动物质量检测证明。但在 IVC 不锈钢平板架上, 肉眼可见寄生虫在快速爬行; 饲养笼内侧面及纸膜盖内侧, 肉眼依稀可见似芝麻大小安静的寄生虫。寄生虫可能来源于购入引进的鼠或随科研人员的物品侵入^[1], 该室鼠属于外单位寄养鼠, 运行模式是只提供场地和常规饲养服务, 思想麻痹、管理松懈。按国标要求只能全群淘汰或剖腹净化。肉眼观察

鼠,几乎正常,没有症状。为了消灭这些寄生虫,我们采用伊维菌素药浴的方法^[2],从发现疫情到全群药浴完毕共花了约 21 d 时间,又随访了近 18 个月,证明此方法效果确实,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 动物

自繁殖近 10 年用于基因工程研究的 B6 背景的小鼠近 800 只。

1.2 主要药品

消毒片(主要有效成分:三氯异氰尿酸)、市售杀虫气雾剂(胺菊酯 0.3%,氯氰菊酯 0.15%,右旋烯丙菊酯 0.1%)。伊维菌素注射液(四川恒通动物制药有限公司,批准文号:兽药字(2013)220382646,批号 20131108),规格 10 mL:10 万单位。双甲脒(江西博莱大药厂,批准文号:兽药字(2009)140061046,批号 20140810,规格 10 mL:12.5%)。

1.3 主要物品

XTS-4A 型手术显微镜(镇江光学仪器厂,10×),无菌冷水。卫生纸、漏勺、量杯 500 mL、尺、热水;药浴小桶(高 20 cm,桶底直径 14 cm,桶口直径 20 cm)、剪刀、温度计、不同颜色或做好记号的大桶(分别用来盛热水、冷水、脏水);记号笔、时钟、电吹风。以上新进入屏障的物品分别按最合适的方法进行灭菌或消毒(高压;消毒液浸泡;紫外线照射。)

1.4 方法

1.4.1 各种水的配置:擦拭消毒:约 20℃,2 片/L(有效氯浓度 1 000 mg/L)。擦拭驱虫:1 支双甲脒倒入 3 L 约 40℃ 水。药浴:3 瓶伊维菌素倒入 3 L 约(36~37)℃ 的药浴小桶,水深约 12 cm,浓度为 1% (L/L)。1 瓶伊维菌素倒入 1 L 约(36~37)℃ 的浅盘,用于人工药浴 10 日龄内的小鼠。由脉动真空灭菌器(XG1. DME-0.6B)提供无菌热水,无菌冷水(约 20℃)直接在屏障内取用。用量杯和温度计现用现配合适体积和温度的水,可在桶上画出体积刻度,便于重复配置。

1.4.2 药浴^[3]前期准备:饲养室:喷洒杀虫气雾剂重点是墙角的回风口,IVC 机箱送风口的过滤膜、与房顶相接的排风管道、IVC 不锈钢层板。洁储室:清空、喷洒杀虫气雾剂。3 h 后,对饲养室和洁储室清洁、消毒水擦拭 30 min 后再清洁。洁储室放入由灭菌器提供的以下无菌物品:饲养笼、刨花垫料、金属

网盖、饮水瓶、瓶塞、挂钩、挂牌、纸膜。⁶⁰Co 辐照灭菌的颗粒垫料。提前 2 h 调节屏障设施的温度,使室温达到(24~26)℃。

1.4.3 伊维菌素药浴后换笼,每笼鼠与挂牌一致,不能出错。有孕鼠及乳鼠的,牌上作标记,重点观察:先全部更换新挂牌。把笼 A 小鼠逐个放入小桶药浴,挂牌挂在桶边,确认只数,开始计时,中途用漏勺把鼠头按压入药液 3~4 次,每只鼠至少药浴游泳 1 min。用漏勺捞出小鼠,放入周转笼 T(主要作用是吸水:无菌带金属网盖的饲养笼,其内是无菌颗粒垫料或卫生纸),挂牌挂在笼 T 边。助手用电吹风(恒温档)隔着金属网盖轻吹鼠毛。开始药浴笼 B,药浴快结束时,助手关电吹风,周转笼 T 腾空,把笼 A 鼠放入无菌垫料笼 A'[药浴前与其接触的所有的物品(饲养笼、垫料、金属网盖、饲料、水瓶、瓶塞、水、纸膜盖、挂钩)全部更换],挂牌同步转移。确认只数。笼 A'放入安全处暂不回到原位。依次类推。3 L 水可以洗 10 笼小鼠。浴液变脏、变少、变冷后要及时更换。周转笼内的颗粒垫料潮湿要及时更换。10 日龄内的鼠需单独人工辅助药浴。

1.4.4 双甲脒擦拭、杀虫气雾剂喷洒驱虫:笼架所有面及缝隙孔洞处仔细擦拭清洁后再擦拭驱虫。一侧 60 笼的架子清空后再统一插入饲养笼。120 笼更换完毕,最后离开时,室内喷洒杀虫气雾剂。

1.5 长期疗效观察

小鼠全群药浴后,在不同天数进行肉眼观察和镜检。

2 结果

2.1 耗时

120 笼药浴共耗时 3 h。

2.2 死亡率

全群死亡率约 2%。药浴时无意外溺亡。分别在药浴 24 h、48 h 后,逐笼排查尸体。48 h 内,3 日龄内的 5 窝共 40 只,死亡 6 只;4~10 日龄内的 5 窝共 40 只,死亡 3 只;接近 12 月龄的年长鼠 20 只,死亡 5 只。48 h 后死亡只数未见增加。

2.3 孕鼠的繁殖

药浴 48 h 后观察,肉眼能识别的 10 只孕鼠,有 2 只已正常生产哺乳带仔,另外 8 只孕鼠正常。

2.4 环境中肉眼可见寄生虫

药浴换笼结束后,按常规每 7 d 换笼 1 次。18 个月来,仔细肉眼观察笼内壁、纸膜盖内侧、笼架表

面的寄生虫,均未见到。

2.5 鼠体表寄生虫

根据经典的方法^[4],每 3 个月随机抽检 20 只,18 个月来,均为阴性。

2.6 鼠群繁衍

18 个月来,一切正常。

3 讨论

3.1 蜱是暂时寄生,外界环境的灭虫工作更重要,要群防群控

从分类学的角度,节肢动物门蛛形纲蜱螨亚纲的进一步细分值得研究^[5]。但从治疗的角度可分成蜱和螨:一般来说肉眼可见是蜱,螨肉眼不可见^[6]。蜱嗅觉敏锐,依靠化学感觉寻找宿主,15 米外就能感受到宿主^[5,7]。因本次事件主要任务是消灭肉眼可见的体外寄生虫,故推测肉眼可见物是蜱。因 B6 鼠高发(黑皮黑毛)、老龄鼠高发^[8],而基因工程所用的皆为 B6 鼠,也会有接近 12 月龄的成年鼠,但其表型与是否感染寄生虫不一定一致。蜱的发育经过卵、若虫、幼虫、成虫 4 个阶段。硬蜱和软蜱生物学特性略有差异^[5];硬雌蜱交配后吸饱血离开宿主落地,软蜱只有在吸血时才在宿主身上,在外界环境中隐蔽地度过其生活史的大部分时间。由此可见蜱属于暂时寄生,不是永久寄生。这或许能解释,为什么外界环境中肉眼能见虫时,根据经典的方法^[4,5],依然在鼠身上找不到寄生虫。这也提示我们,从鼠身上查不到寄生虫,并不能说明没有寄生虫。螨是永久寄生,直接接触传播,不太容易全群爆发。

3.2 药浴

3.2.1 室温、水温及水深:为了让鼠游泳时不感到太冷,屏障室温要调得略高点,人会稍感不适,需要克服。水温要合适,低了不宜洗澡且影响药效,过高会引起中毒。水面面积要合适,太大不易兼顾到每只鼠;成年小鼠体长及尾长都在 9 cm 左右,水深约 12 cm,水太浅小鼠会蹦跳,水太深极个别不会游泳,沉底的鼠,不便于打捞抢救。

3.2.2 成年鼠、成年鼠、孕鼠、带乳母鼠及乳鼠的情况分析^[9]:成年鼠正常。成年鼠死亡率较高。孕鼠正常,特别是临产前仍可以药浴,对繁育无任何不良影响。乳鼠有一定死亡率。

3.2.3 药浴 1 次即可,先小样本试验再全群进行,其后每周换笼 1 次^[10-12];因无先例可寻,咨询信鸽

药浴浓度后,确定浓度,初次试验 100 只,观察 21 d,成功后,大规模药浴。本次全群药浴,即刻换笼。2% 死亡率,可能因个体差异及月龄不一,或有过敏(颤抖)、中毒、感冒发烧,实属正常。药浴只进行了 1 次,再也没发现体外寄生虫。观察 1.5 年来,对繁育无任何不良影响。说明本方法完全可靠。

3.3 阻断传播途径:

3.3.1 鼠药浴后,要进行换笼:与浴前鼠接触的物品全部更换。人员分工明确,药浴前后的鼠由不同的人抓取。擦拭笼架由专人负责。脏垫料焚烧。

3.3.2 老式 IVC 架比普通笼架或更易传播体外寄生虫:从阻断传播途径的角度和蜱对弱光为正反应的生物学特性^[5]。普通笼架及其饲养笼(无盖)构造简单,无死角,通透,便于彻底打扫清洁。已用了 10 年的老式 IVC 架子使 120 笼连成一片,不锈钢层板底面及与饲养笼配套的纸膜盖内侧光线极暗;平时换笼的时候,不锈钢板底面特别是送排风孔洞的卫生容易忽视,大多数纸膜盖是破的,纸膜盖也没有每次与饲养笼同步更换,与房顶相通的多褶皱排风管道也是卫生死角。此屏障设施其他饲养室为普通笼架,且饲养的是实验周期不超过 4 个月的实验鼠,这些饲养室未观察到体外寄生虫。

3.3.3 给药后必须换笼:药浴、口服(饮水^[2]、拌料^[13])、皮下注射^[14]都可以用来治疗寄生虫。皮下注射给药血药浓度较高,吸收更充分,作用时间更长,故对外寄生虫的药效强于口服给药。针对鼠群大小,可采取不同的方法。但都必须换笼,进行环境灭虫。

3.4 密闭与屏障设施的送排风

屏障的消毒、驱虫方式众多,气体消毒或喷雾理论上都需要密闭,但一般的屏障设施送排风的控制是“全或无”,不能每室独立控制。根据经验,正常的送排风对于有密闭要求的处理效果影响不大。

3.5 注意操作细节

正确认识喷雾灭虫、清洁、消毒、再清洁、擦拭驱虫、再喷雾驱虫这 6 个步骤。消毒前必须清洁到位,消毒后,要再次清洁。防止对金属的腐蚀、或降低后续杀虫剂的作用。

3.6 暴露出的问题

屏障设施的管理模式是:小鼠离开屏障就不得返回。但实际科研中,有些小鼠需要进行影像检查(X 线,CT,彩超)或放疗,而这些仪器屏障内又没有,势必要将鼠带离屏障,但其后,还要继续饲养用

于科研。现实情况是:科研人员在自己的实验室附近会有极小规模临时普通饲养室;在具有使用许可的屏障设施内有个大规模的饲养室,他们就穿梭在不同级别的饲养室之间。屏障设施各饲养室一直满负荷运转,没有空舍的时机,鼠群世代繁衍,不自检,又从不驱虫。普通设施临时饲养实验小鼠这种特殊形式将在一段时间内不会消失,只要自然界存在野鼠,寄生虫防治就是一项长期的艰巨任务。

3.7 可防可控

加强管理:排查所有穿梭在不同级别饲养室的人员,重点管理,禁止携带一切在普通饲养室使用过的物品(特别是纸箱、纸盒、纸包、纸袋、本子、笔)进入屏障设施。鼠必须带出进行实验的,须提前预约,由屏障内统一提供无菌的含垫料纸箱。因本次大规模药浴的成功,积累了足够的经验。对普通设施饲养室寄生虫防治给予科学指导,把疫病防治消灭在萌芽状态。

综上所述:伊维菌素^[15,16]具有广谱、高效、用量小和安全等优点,对体内外寄生虫特别是线虫和节肢动物均具有高效驱杀作用。此方法有其积极的实际意义,值得推广应用。

参考文献:

[1] 叶尤松,李哲丽,念昕,等. 2013 年昆明地区实验用小鼠及豚鼠寄生虫及病毒感染情况调查[J]. 实验动物科学,2015, 32(1):25-29.

[2] 曲平,景海江,仇志华. 应用伊维菌素驱杀实验动物体内外寄生虫[J]. 实验动物科学,2013,30(1): 28-30.

[3] 龚梦鹃,王立为,刘新民. 大小鼠游泳实验方法的研究概况[J]. 中国比较医学杂志,2005, 15(5): 311-314.

[4] 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. 实验动物标准汇编(第 1 版)[M]. 北京:中国质检出版社,中国标准出版社. 2011: 241-242.

[5] 孔繁瑶. 家畜寄生虫学(第 2 版)[M]. 北京:中国农业大学出版社. 2014:245,251,250,261,6,30.

[6] 侯加法. 小动物疾病学(第 1 版)[M]. 北京:中国农业出版社. 2011: 73.

[7] 黄恩炯,郭晓霞,赵彤言. 昆虫嗅觉反应机理的研究进展[J]. 寄生虫与医学昆虫学报,2008,15(2): 115-119.

[8] 郑春福,陈雅棠. 大鼠和小鼠的某些自然感染寄生虫及其影响[J]. 上海实验动物科学,1999,19(2): 184-186.

[9] 郭光. 小鼠体外寄生螨的防治试验[J]. 广西畜牧兽医,1997,13(3): 43-44.

[10] 朱旭峰,陶建平,许金俊. 小鼠皮刺螨病的诊断与防治试验[J]. 中国兽医寄生虫病,2000,8(3): 18-20.

[11] 刘占斌. 几种灭蜱药物不同浓度的灭蜱效果分析[J]. 养犬,2014,95(3): 22-24.

[12] 王健民,胡岩松,王立. 小鼠体外寄生螨虫的杀灭[J]. 黑龙江畜牧兽医,1994,(1): 35-36.

[13] 白富春,刘孝刚. 阿维菌素驱杀小鼠和大鼠体表螨实验观察[J]. 现代畜牧兽医,2005,(9): 43-44.

[14] 弓广智,张海亮,高娟. 伊维菌素长效注射液对小鼠的急性毒性试验[J]. 动物医学进展,2008,29(12): 41-42.

[15] 刘根新,王福厚,车清明,等. 伊维菌素不同制剂在兽医临床的应用[J]. 中国兽药杂志,2011, 45(12):53-55.

[16] 丁丹,盛小莉,梁孔贤. 伊维菌素纳米乳透皮制剂的研究[J]. 中国畜牧兽医,2015,42(2): 401-407.

[修回日期]2016-12-01