

吴朋朋,张彩勤,赵勇,等. 2017~2021年陕西省实验动物使用单位SPF级大、小鼠质量监测结果分析与评估[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(1): 70-77.

Wu PP, Zhang CQ, Zhao Y, et al. Analysis and evaluation of quality monitoring results of SPF rats and mice in Shaanxi province from 2017 to 2021 [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(1): 70-77.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.01.009

2017~2021年陕西省实验动物使用单位SPF级大、小鼠质量监测结果分析与评估

吴朋朋,张彩勤,赵勇,谭邓旭,师长宏,白冰*

(空军军医大学实验动物中心,西安 710032)

【摘要】 目的 分析2017~2021年陕西省部分实验动物使用单位无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级大、小鼠微生物和寄生虫质量检测结果,了解各单位大、小鼠病原微生物学质量状况,为实验动物质量管理与监测提供参考依据。方法 按照现行国家标准GB 14922.2-2011、GB/T 14926-2001和GB/T 14926.21-2008,由陕西省实验动物质量监督检测中心对大、小鼠进行病原微生物和寄生虫抽样检测并分析质量状况。结果 2017年~2021年累计抽检109家单位的小鼠2549只,45家单位的大鼠503只。检测结果显示,小鼠体外寄生虫(螨虫)检出率由5.26%降为0.15%,肠道鞭毛虫由10.53%降为0.45%,肠道蠕虫由0.40%升至2.39%,沙门菌由2.78%降至无检出,泰泽病原体抗体阳性率由1.38%降至无检出;大鼠体外寄生虫(螨虫)检出率由7.07%降至无检出;肠道鞭毛虫由11.50%降为0.83%,蠕虫由3.79%升至7.50%,金黄色葡萄球菌由1.77%降至无检出。小鼠病毒血清抗体阳性率,2017年检出小鼠肝炎病毒(4.71%)、仙台病毒(1.39%)和小鼠细小病毒(2.22%),2021年出小鼠肝炎病毒(0.30%)和仙台病毒(0.15%),小鼠肺炎病毒阳性率则由1.11%升至2.39%,小鼠呼肠孤病毒Ⅲ型由0.17%升至0.45%。大鼠仙台病毒阳性率由7.07%降为0.83%,大鼠细小病毒和大鼠冠状病毒仅2017年和2018年在个别单位有检出,大鼠肺炎病毒则由0.88%增长为10.00%。结论 近5年的检测结果表明,陕西省实验动物使用单位的大、小鼠病原微生物质量逐年提升,但仍存在一定问题,应持续采取严格的生物安全防护措施,加强动物实验过程,确保各单位在实验周期内动物质量合格。

【关键词】 SPF级大、小鼠;质量监测;微生物学;寄生虫学;分析与评估

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2023)01-0070-08

Analysis and evaluation of quality monitoring results of SPF rats and mice in Shaanxi province from 2017 to 2021

WU Pengpeng, ZHANG Caiqin, ZHAO Yong, TAN Dengxu, SHI Changhong, BAI Bing*
(Laboratory Animal Center, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

【Abstract】 Objective To determine the current pathogenic microbiology quality status of experimental rats and mice in Shaanxi province, we analyzed quality monitoring result from 2017 to 2021 to provide a reference for health screening of laboratory rats and mice. **Methods** Using the current national standards GB 14922.2-2011, GB/T 14926-2001, and GB/T 14926.21-2008, the Laboratory Animal Quality Supervision and Testing Center of Shaanxi carried out pathogenic microbial and parasite quality sampling tests on SPF rats and mice in all licensed companies and research

[基金项目]军队实验动物专项科研课题(SYDW[2018]08号);陕西省科技资源开放共享平台项目(2022PT-36)。

[作者简介]吴朋朋(1987—),男,助理实验师,研究方向:实验动物质量检测及疾病研究。E-mail:wpp217@163.com

[通信作者]白冰(1980—),男,高级兽医师,研究方向:实验动物质量检测及疾病研究。E-mail:bone_1999@163.com

institutes, and then analyzed the result. **Results** From 2017 to 2021, 2549 SPF mice and 503 SPF rats were collected from 109 and 45 organizations, respectively. Mouse parasite detection showed a reduction of mites from 5.26% to 0.15%, intestinal flagellates from 10.53% to 0.45%, *Salmonella* and Tyzzer's organism from 2.78% and 1.38%, respectively, to undetected. Intestinal helminths increased from 0.40% to 2.39%. In rats, there were declines in mites and *Staphylococcus aureus* from 7.07% and 1.77%, respectively, to undetected, intestinal flagellates from 11.50% to 0.83%, and enrichment of helminths from 3.79% to 7.50%. In terms of positive rates of mouse serum antibodies, in 2017, mouse hepatitis virus (4.71%), Sendai virus (1.39%), and minute virus of mice (2.22%) were positive. Additionally, in 2021, mouse hepatitis virus (0.30%) and Sendai virus (0.15%) were positive. These result indicated raised trends of both pneumonia virus of mice and reovirus type III. However, there was a reduction in Sendai virus from 7.07% to 0.83% and an increase of pneumonia virus from 0.88% to 10.00%. In rats, although parvovirus and coronavirus had predominant potentials, which were detected in the past 5 years, the number of infected organizations and the positive rate showed a downward trend annually. **Conclusions** The test result in the past 5 years showed that pathogenic microorganisms in rats and mice in Shaanxi province had improved yearly. However, many problems still existed. Therefore, strict biosafety prevention and control measures should be conducted continuously, and the animal experimentation process should be strengthened to ensure that animals are qualified within the experimental period.

【Keywords】 SPF rats and mice; quality monitoring; microbiology; parasitology; analysis and evaluation
 Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随着生命科学的发展,实验动物已成为其研究的基础与支撑,是医学教学和生物医学研究不可缺少的实验材料。实验动物的质量直接影响实验结果的准确和课题研究的成败,决定研究成果的可行性、重复性和科学性,特别是一些人兽共患性疾病,直接威胁动物饲养人员和研究人员健康与生命安全^[1-2]。因此,做好实验动物的质量检测与评估的相关工作,对实验动物的生产和应用具有重要作用^[3-4]。

本中心作为陕西省实验动物质量检测机构(陕西省实验动物质量监督检测中心),根据《实验动物质量管理办法》、《实验动物许可证管理办法》和《陕西省实验动物管理办法》等相关法律法规以及实验动物国家标准^[5-8],除了每年对各实验动物生产单

位进行质量抽测外,近年来,加大对省内实验动物使用单位的质量抽检,并及时反馈检测结果,对不合格的动物进行处置并做好后期的跟踪监测,确保本地区实验动物使用安全。本文对 2017~2021 年期间陕西省实验动物使用单位饲养的 SPF 级大、小鼠质量抽检结果进行了总结分析,探讨了影响动物质量的因素,以期对动物实验过程中的质量管理和监测提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

抽检的不同品系的 SPF 级大、小鼠均来自陕西省内实验动物使用单位,各年度抽检单位数量、动物品种及数量见表 1。

表 1 2017~2021 年陕西地区实验动物质量监测结果
Table 1 Monitoring results of laboratory animals in Shaanxi from 2017 to 2021

年份 Year	单位数量 Total number of organizations	动物数量(只) Number of animals							动物总数(只) Total number of animals
		C57BL/6J 小鼠 C57BL/6J mice	BALB/c 小鼠 BALB/c mice	KM 小鼠 KM mice	ICR 小鼠 ICR mice	基因编辑 小鼠 Gene editing mice	SD 大鼠 SD rats	Wistar 大鼠 Wistar rats	
2017	15	83	104	73	31	70	103	10	474
2018	17	145	78	66	15	202	68	11	585
2019	20	104	102	91	40	261	87	11	696
2020	25	68	44	37	2	263	64	29	507
2021	32	81	70	82	7	430	79	41	790
累计 Grand total	109	481	398	349	95	1226	401	102	3052

1.2 主要试剂与仪器

大、小鼠酶联免疫抗体检测试剂盒购买于苏州西山生物技术有限公司和中国食品药品检定研究院,其中苏州西山生物技术有限公司小鼠酶联免疫抗体检测试剂盒批号:鼠痘病毒(E22012201)、肝炎病毒(E22040801)、仙台病毒(E22012802)、肺炎病毒(E22031411)、呼肠孤病毒 III 型(E21102902)、细小病毒(E22012601)、弓形虫(E21112502)、支原体(E22012701)、泰泽病原体(E21120604);大鼠酶联免疫抗体检测试剂盒批号:仙台病毒(E22022503)、汉坦病毒(E22022502)、细小病毒 H-1 株(E21102201)、细小病毒 KRV 株(E21102202)、肺炎病毒(E21121501)、冠状病毒/涎腺炎病毒(20210702)、呼肠孤病毒 III 型(20210702)、支原体(E21102901)、弓形虫(E21122801)、泰泽病原体(E21101401);中国食品药品检定研究院小鼠酶联免疫抗体检测试剂盒批号:鼠痘病毒(20210604)、肝炎病毒(20211125)、仙台病毒(20211123)、肺炎病毒(20211003)、呼肠孤病毒 III 型(20211009)、细小病毒(20211017)、弓形虫(20211109)、支原体(20211104)、泰泽病原体(20210917),大鼠酶联免疫抗体检测试剂盒批号:仙台病毒(20211111)、汉坦病毒(20211025)、细小病毒 H-1 株(20211023)、细小病毒 KRV 株(20211113)、肺炎病毒(20210914)、冠状病毒/涎腺炎病毒(20210917)、呼肠孤病毒 III 型(20210917)、支原体(20211118)、弓形虫(20211008)、泰泽病原体(20211204);细菌培养平板(批号:0032213)、鉴别培养基(批号:20210314)和细菌生化微量管(批号:20210917)由杭州微生物试剂有限公司提供,其余相应检测试剂均参照国家标准配备。多功能酶标仪(Synergy LX)购于美国 Bio-Tek 公司;生物显微镜(BX3)购于日本奥林巴斯公司;全自动细菌鉴定及药敏分析系统(VITEK 2 Compact)购于法国梅里埃公司。

1.3 实验方法

1.3.1 抽样

抽样按照 GB 14922.2-2011《实验动物 微生物等级及监测》进行,在每一房间不同笼架多点采样,根据每个品系动物的种群数量随机采样 3~5 只,按 SPF 级动物进行包装、运输,包装箱上注明动物品种、级别、数量及检测项目。

1.3.2 检测

检测项目及方法依据《实验动物 微生物学检测

方法》(GB/T 14926.1-2001~GB/T 14926.64-2001)和《实验动物 寄生虫学检测方法》(GB 18448.1-2001~GB 18448.10-2001)执行^[7-8],涵盖国家标准中规定的必检项目(细菌、病毒和寄生虫)。为避免交叉污染,所有检测样本的采集均在生物安全柜中实施。采集动物粪便、体表毛发开展寄生虫检测;分离血清,酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中的病毒抗体;采取呼吸道分泌物和肠道内容物,分离培养细菌并进行生化鉴定,确定感染菌群类型^[9-11]。检测中发现的病毒和细菌阳性样品均进行二次复检。

1.4 统计学方法

按照相应国家标准对检测结果进行综合判定,符合该病原微生物检测结果者作出阳性报告(感染),不符合者作出阴性报告(未感染)。用 SPSS 23.0 统计软件对近 5 年抽检的大、小鼠微生物及寄生虫感染阳性率(或血清抗体阳性率)进行统计学分析,结果以每年检出的阳性动物数占抽检动物总数的百分比进行表示。用单因素方差分析法进行每年间感染情况的差异性分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性,最后用 GraphPad Prism 8 软件进行作图。

2 结果

2.1 2017~2021 年 SPF 级大、小鼠寄生虫检测结果

5 年间,累计抽检小鼠 2549 只,大鼠 503 只(表 2、图 1 和图 2)。检测范围包括皮毛上的蚤、虱和螨等体外寄生虫成虫及其虫卵;肠道内的鞭毛虫、纤毛虫、蠕虫及其虫卵;血清中的弓形虫抗体采用 ELISA 进行检测。

小鼠主要存在体外寄生虫(螨虫)和肠道鞭毛虫的感染(表 2、图 1),5 年中均有检出,但检出率呈逐年下降趋势。体外寄生虫(螨虫)的检出率由 2017 年的 5.26%(19/361)降为 2021 年的 0.15%(1/670),单位检出率由 20.00%(3/15)降为 3.12%(1/32);肠道鞭毛虫的检出率由 2017 年 10.53%(38/361)降低为 2021 年的 0.45%(3/670),单位检出率由 20.00%(3/15)降为 3.12%(1/32)。弓形虫抗体检出率也呈现逐年降低的趋势,由 2019 年的 0.84%(5/598)降至 2021 年的 0.15%(1/670),单位检出率由 10.00%(2/20)降为 3.12%(1/32)。但

表 2 2017~2021 年陕西地区 SPF 级大、小鼠寄生虫检测结果
Table 2 Parasite detection results of SPF mice and rats in Shaanxi from 2017 to 2021

年份 Year	动物品系 Animal strains	抽检单位 Total number of organizations	动物数量 Animal numbers	寄生虫感染率(%) Parasitic infection rate				
				体外寄生虫 Ectoparasites	鞭毛虫 Flagellates	纤毛虫 Ciliates	蠕虫 Helminths	弓形虫 <i>Toxoplasma gondii</i>
2017	小鼠 Mouse	15	361	5.26	10.53	0.00	0.00	0.00
	大鼠 Rat	5	113	7.07	11.50	0.00	0.00	0.00
2018	小鼠 Mouse	17	506	1.78	3.56	0.00	0.40	0.00
	大鼠 Rat	9	79	0.00	5.06	0.00	3.79	0.00
2019	小鼠 Mouse	20	598	1.51	1.33	0.00	1.17	0.84
	大鼠 Rat	9	98	0.00	2.04	0.00	2.04	0.00
2020	小鼠 Mouse	25	414	0.24	1.45	0.00	3.14	0.24
	大鼠 Rat	9	93	0.00	1.08	0.00	7.53	0.00
2021	小鼠 Mouse	32	670	0.15	0.45	0.00	2.39	0.15
	大鼠 Rat	13	120	0.00	0.83	0.00	7.50	0.00
累计 Grand total	小鼠 Mouse	109	2549	1.53	2.81	0.00	1.19	0.27
	大鼠 Rat	45	503	1.59	4.17	0.00	4.17	0.00

是,肠道蠕虫的检出率却由 2018 年的 0.40% (2/506)增加至 2021 年的 2.39% (16/670),单位检出率由 5.88% (1/17)增加至 9.38% (3/32)。

大鼠也存在体外寄生虫(蠕虫)、肠道鞭毛虫和蠕虫的感染(表 2、图 2)。检测结果显示,体外寄生虫(蠕虫)检出率由 2017 年的 7.07% (8/113)降至 2018 年后无检测出,单位检出率由 2017 年的 40.00% (2/5)降为 0.00%;肠道鞭毛虫的检出率由 2017 年的 11.50% (13/113)降低为 2021 年的 0.83% (1/120),单位检出率由 60.00% (3/5)降低为 7.69% (1/13)。蠕虫检出率由 2017 年的 3.79% (3/79)增长为 2021 年的 7.50% (9/120),单位检出率由 20.00% (1/5)增加至 2021 年的 15.38% (2/13)。

2.2 2017~2021 年 SPF 级大、小鼠病原微生物检测结果

5 年中 109 家单位的小鼠病原微生物检测结果(表 3、图 3)显示,小鼠主要存在沙门菌、肺炎克雷伯杆菌、肺炎链球菌、泰泽病原体 and 支原体的感染,但检出率呈下降趋势。其余必检项目 5 年内均未检出。其中,沙门菌 2017 年检出率为 2.78% (10/361)、2018 年为 1.18% (6/506)、2019 年 0.33% (2/598)到 2020 年以后均为 0.00%,单位检出率由 2017 年的 20.00% (3/15)降低为 2021 年的 0.00%;肺炎克雷伯杆菌仅 2018 年在 1 家单位 (5.88% 1/17)中检出 0.20% (1/506),其余 3 年均未检出;肺炎链球菌在 2017 年 1 家单位 (6.67% 1/15)检出

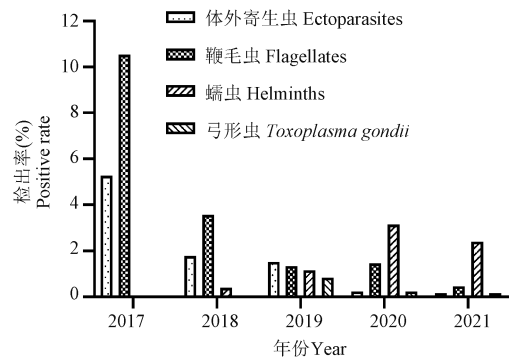


图 1 2017~2021 年陕西地区 SPF 级小鼠寄生虫检测结果

Figure 1 Parasite detection results of SPF mice in Shaanxi from 2017 to 2021

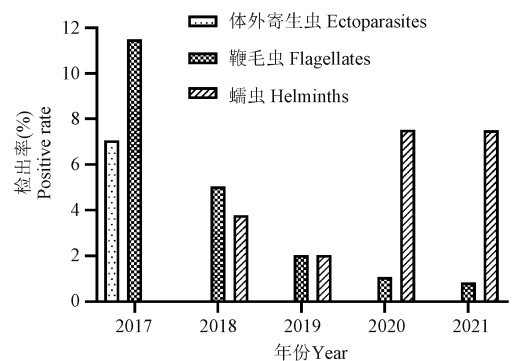


图 2 2017~2021 年陕西地区 SPF 级大鼠寄生虫检测结果

Figure 2 Parasite detection results of SPF rats in Shaanxi from 2017 to 2021

0.27% (1/361)后,连续 4 年均未检出;泰泽病原体血清抗体阳性检出率由 2017 年 2 家单位 (13.33%

2/15) 检出 1.38% (5/361) 降低至 2021 年的 32 家单位均未检出;支原体血清抗体阳性仅在 2017 年 1 家单位 (6.67% 1/15) 中检出 (0.27% 1/361), 此后连续 4 年均未检出。

45 家单位的大鼠细菌检测结果 (表 3、图 4) 显示,大鼠中主要存在金黄色葡萄球菌、沙门菌、绿脓杆菌、肺炎链球菌和泰泽病原体的感染,但检出率呈逐年下降趋势。其余必检项目 5 年内均未检出。其中,金黄色葡萄球菌 2017~2019 年连续 3 年均均有 1 家单位检出,检出率分别为 1.77% (2/113)、1.27% (1/79) 和 1.02% (1/98), 此后至 2021 年再未检出金黄色葡萄球菌;沙门菌仅在 2018 年 1 家单位 (11.11% 1/9) 中检出 (2.53% 2/79), 其余 4 年均未检出;绿脓杆菌在 2017 年 (1.77% 2/113) 和 2018 年 (2.53% 2/79) 均有 1 家单位检出, 2019 年至 2021 年连续 3 年均未检出;肺炎链球菌仅在 2018 年 1 家单位 (11.11% 1/9) 中检出 (1.27% 1/79), 其余 4 年均未检出;泰泽病原体血清抗体阳性仅在 2017 年有 2 家单位 (40.00% 2/5) 检出 (4.42% 5/113), 此后连续 4 年均未检出。

2.3 2017~2021 年 SPF 级大、小鼠病毒抗体检测结果

病毒检测主要采用 ELISA 方法检测血清中的病毒抗体,检测中发现的阳性血清样本再次采用不同厂家的 ELISA 检测试剂盒进行 2 次复检,两次结果均为阳性则判定为感染,检测结果如表 4 所示。

表 3 2017~2021 年陕西地区 SPF 级大、小鼠病原微生物检测结果

Table 3 Pathogenic microorganism test results of SPF mice and rats in Shaanxi from 2017 to 2021

年份 Year	动物品系 Animal strains	动物数量 Animal numbers	金黄色葡萄球菌 (%) <i>Staphylococcus aureus</i>	沙门菌 (%) <i>Salmonella</i> sp.	绿脓杆菌 % <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	肺炎克雷伯杆菌 (%) <i>Klebsiella pneumoniae</i>	肺炎链球菌 (%) <i>Streptococcus pneumoniae</i>	泰泽病原体 (%) Tyzzer's organism	支原体 (%) <i>Mycoplasma</i>
2017	小鼠 Mouse	361	0.00	2.78	0.00	0.00	0.27	1.38	0.27
	大鼠 Rat	113	1.77	0.00	1.77	0.00	0.00	4.42	0.00
2018	小鼠 Mouse	506	0.00	1.18	0.00	0.20	0.00	0.40	0.00
	大鼠 Rat	79	1.27	2.53	2.53	0.00	1.27	0.00	0.00
2019	小鼠 Mouse	598	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.84	0.00
	大鼠 Rat	98	1.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2020	小鼠 Mouse	414	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	大鼠 Rat	93	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2021	小鼠 Mouse	670	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	大鼠 Rat	120	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
累计	小鼠 Mouse	2549	0.00	0.71	0.00	0.04	0.04	0.31	0.04
Grand total	大鼠 Rat	503	0.80	0.40	0.80	0.00	0.20	1.00	0.00

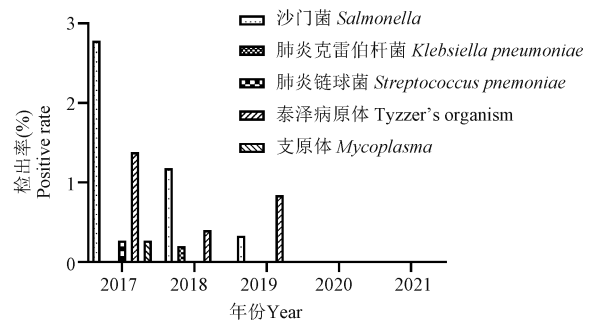


图 3 2017~2021 年陕西地区 SPF 级小鼠病原微生物检测结果

Figure 3 Pathogenic microorganism test results of SPF mice in Shaanxi from 2017 to 2021

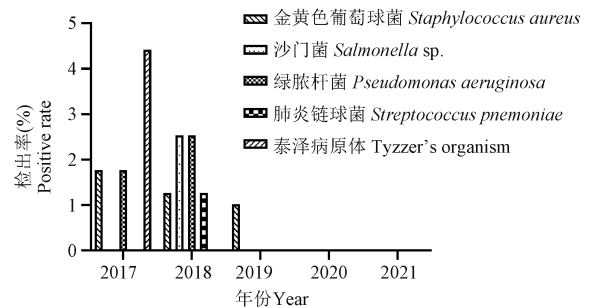


图 4 2017~2021 年陕西地区 SPF 级大鼠病原微生物检测结果

Figure 4 Pathogenic microorganism test results of SPF rats in Shaanxi from 2017 to 2021

表 4 2017~2021 年陕西地区 SPF 级大、小鼠病毒血清抗体检测结果
Table 4 Virological test results of SPF mice and rats in Shaanxi from 2017 to 2021

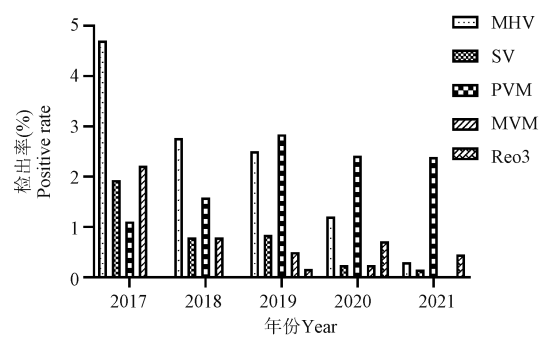
年份 Year	小鼠阳性率(%) Positive rate of mice						大鼠阳性率(%) Positive rate of rats						
	动物数量 Animal numbers	MHV	SV	PVM	MVM	Reo3	动物数量 Animal numbers	SV	H-1	KRV	PVM	RCV	Reo3
2017	361	4.71	1.39	1.11	2.22	0.00	113	7.07	9.73	0.88	0.88	5.31	0.00
2018	506	2.77	0.79	1.58	0.79	0.00	79	2.53	1.27	1.27	3.80	1.27	0.00
2019	598	2.51	0.84	2.84	0.50	0.17	98	2.04	0.00	0.00	9.18	0.00	0.00
2020	414	1.21	0.24	2.42	0.24	0.72	93	1.08	0.00	0.00	12.90	0.00	0.00
2021	670	0.30	0.15	2.39	0.00	0.45	120	0.83	0.00	0.00	10.00	0.00	0.00
累计 Grand total	2549	2.08	0.63	2.16	0.63	0.27	503	2.78	2.39	0.40	7.36	1.39	0.00

注:MHV:小鼠肝炎病毒;SV:仙台病毒;PVM:小鼠肺炎病毒;MVM:小鼠细小病毒;Reo3:小鼠呼肠孤病毒Ⅲ型;H-1:大鼠细小病毒株 H-1 株;KRV:大鼠细小病毒株 KRV 株;RCV:大鼠冠状病毒/涎腺炎病毒。

Note. MHV, Mouse hepatitis virus. SV, Sendai virus. PVM, Pneumonia virus of mice. MVM, Minute virus of mice. Reo3, Reovirus type III. H-1, Rat parvovirus H-1 strain. KRV, Rat parvovirus KRV strain. RCV, Rat corona virus/sialodacryoadenitis virus.

小鼠病毒血清抗体检测结果(表 4、图 5)显示,小鼠肝炎病毒、仙台病毒、小鼠肺炎病毒、小鼠细小病毒和小鼠呼肠孤病毒Ⅲ型在 2017~2021 年均有检出。其余必检项目 5 年内均未检出。2017 年有 3 家单位(20.00% 3/15)检出小鼠肝炎病毒(阳性率 4.71% 17/361),1 家单位(6.67% 1/15)检出仙台病毒(阳性率 1.39% 5/361),2 家单位(13.33% 2/15)检出小鼠细小病毒(阳性率 2.22% 8/361)。2018~2021 年每年均有不同病毒检出,但阳性单位数和病毒阳性率均呈逐年下降趋势。至 2021 年,仅有 1 家单位(3.13% 1/32)检出小鼠肝炎病毒且阳性率降为 0.30%(2/670),仙台病毒阳性率降为 0.15%(1/670),32 家单位均未检出小鼠细小病毒。此外还发现,对于小鼠肺炎病毒和小鼠呼肠孤病毒Ⅲ型,这 5 年来的血清抗体阳性检出率则呈现逐年上升的趋势:2017 年仅 1 家单位(6.67% 1/15)检出小鼠肺炎病毒(阳性率 1.11% 4/361),2019 年增长为 2 家单位(阳性率 2.84% 17/598),至 2021 年该 2 家单位(6.25% 2/32)小鼠肺炎病毒血清抗体阳性检出率为(2.39% 16/670);而 2019 年 1 家单位(5.00% 1/20)检出小鼠呼肠孤病毒Ⅲ型(阳性率 0.17% 1/598),至 2021 年,该单位(3.13% 1/32)依旧有检出(阳性率 0.45% 3/670)且比率较过去 2 年有所增加。

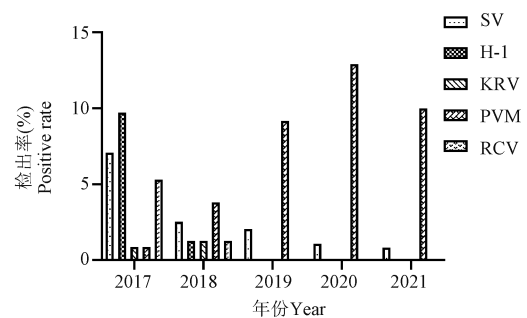
大鼠血清抗体阳性以仙台病毒、大鼠细小病毒、小鼠肺炎病毒和大鼠冠状病毒为主(表 4、图 6)。其余必检项目 5 年内均未检出。其中,仙台病毒每年均有检出,但阳性率从最初的 3 家单位(60.00% 3/5)的 7.07%(8/113)降低为 2021 年 1 家单位(7.69% 1/13)的 0.83%(1/120);大鼠细



注:MHV:小鼠肝炎病毒;SV:小鼠仙台病毒;PVM:小鼠肺炎病毒;MVM:小鼠细小病毒;Reo3:小鼠呼肠孤病毒Ⅲ型。

图 5 2017~2021 年陕西地区 SPF 级小鼠病毒抗体检测结果
Note. MHV, Mouse hepatitis virus. SV, Sendai virus. PVM, Pneumonia virus of mice. MVM, Minute virus of mice. Reo3, Reovirus type III.

Figure 5 Virological test results of SPF mice in Shaanxi from 2017 to 2021



注:SV:仙台病毒;H-1:大鼠细小病毒株 H-1 株;KRV:大鼠细小病毒株 KRV 株;PVM:小鼠肺炎病毒;RCV:大鼠冠状病毒/涎腺炎病毒。

图 6 2017~2021 年陕西地区 SPF 级大鼠病毒抗体检测结果
Note. SV, Sendai virus. H-1, Rat parvovirus H-1 strain. KRV, Rat parvovirus KRV strain. PVM, Pneumonia virus of mice. RCV, Rat corona virus/sialodacryoadenitis virus.

Figure 6 Virological test results of SPF rats in Shaanxi from 2017 to 2021

小病毒和大鼠冠状病毒抗体阳性仅 2017 年和 2018 年在个别单位有检出,此后 2019~2021 年连续 3 年各单位均未检出;值得注意的是,小鼠肺炎病毒血清抗体阳性率却由最初 1 家单位(20.00% 1/5)的 0.88%(1/113)增长为 3 家单位(23.08% 3/13)的(10.00% 12/120)。

3 讨论

随着生命科学的发展与实验动物许可证制度的不断完善,实验动物质量监测显得尤为重要^[12]。定期的质量监测,不仅能够为实验动物的生产和使用提供科学依据,同时也能及时发现实验动物饲养中存在的问题,消除实验动物携带的人畜共患病原体,减少实验动物在生产使用过程中对人群的感染^[13]。对于实验动物使用单位而言,动物质量监测的缺失会导致日常管理出现盲区,动物一旦感染烈性传染病如鼠痘等,可导致整个动物群全军覆没,造成巨大损失^[14]。

通过对 2017~2021 年陕西省实验动物使用单位饲养的 SPF 级大、小鼠质量抽检结果的分析,发现 5 年间,陕西地区抽检单位和动物的数量均有所增长,从侧面反映出本地区实验动物使用数量的稳步提升。但值得注意的是,各单位使用的动物质量还存在着一定的问题,总体趋势是病原微生物感染降幅明显,但个别微生物感染控制水平有待提升。具体表现在寄生虫方面,大、小鼠中主要存在体外寄生虫(螨虫)、肠道鞭毛虫和蠕虫的感染(表 2);细菌方面存在金黄色葡萄球菌、沙门菌、绿脓杆菌、肺炎克雷伯杆菌、肺炎链球菌、泰泽病原体 and 支原体的感染(表 3);病毒方面则以小鼠肝炎病毒、仙台病毒、小鼠肺炎病毒、小鼠细小病毒、小鼠呼肠孤病毒 III 型、大鼠细小病毒和大鼠冠状病毒血清抗体阳性为主(表 4)。在我国广东、四川等地区也有金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌检测阳性的报道^[15-16]。2014~2019 年北京地区实验动物质量抽检结果中,鼠群检出的病原微生物以细小病毒、泰泽病原体、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌等为主^[17-18]。可见,本地区与国内其它地区实验鼠群病原体污染的流行趋势基本一致。我国现行标准《实验动物 微生物学等级及监测》中明确规定金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、肺炎克雷伯杆菌是 SPF 级实验大、小鼠必须检测和排除的病原菌^[6],但上述病原菌均属于条件性致病菌,可正常存在于动物体内和环境中,只有当

动物免疫功能低下时方可感染动物。国外多数企业将其作为环境监测的参考指标,当认为该病原体可能会对正在进行的实验存在干扰时才进行监测^[19-21]。对病原微生物来源进行调查发现,实验动物感染病原微生物主要集中在 3 个方面:一是来自病原微生物控制不明确的实验动物,占病原微生物来源的 83.33%(20/24)。感染动物主要来自于各单位构建的基因编辑动物,其微生物质量状况不明确,造成动物间交叉感染。二是来自实验物品、生物试剂和实验人员的污染,占病原微生物来源的 12.50%(3/24)。动物实验区域人员流动频繁,个别实验人员生物安全意识不强,物品消毒灭菌不彻底,洁净与非洁净区域实验仪器、试剂及物品交叉混用,感染性实验废弃物的不规范处置均可造成动物感染。三是屏障设施管理存在漏洞,占病原微生物来源的 4.17%(1/24)。饲料、垫料和饮水灭菌消毒不彻底,或是存在污染死角,设施设计及布局的缺陷等均可导致病原微生物的入侵。

针对以上实验动物使用单位的大、小鼠感染现状,在陕西省实验动物管理委员会和专家的监督与指导下,对检测不合格动物所在区域实行了严格消杀处理;不符合 SPF 级标准要求的实验动物(C57BL/6J、BALB/c 小鼠和 SD 大鼠等),须立即停止实验、处死感染动物并封锁该区域。区域内所有动物分区域、分批次进行病原筛查,及时淘汰病原(血清抗体)阳性动物(或整个种群),对房间环境及 IVC 系统进行彻底消毒,检测合格后重新引进质量合格的动物开展实验。同时对同房间内其他小鼠进行严密监控,每隔两周进行复查,确保没有交叉感染。珍稀的基因编辑小鼠则可经过相应的生物净化后(剖腹产、胚胎移植或体外受精),采用两次检测法确定是否达到 SPF 级要求,即在目标小鼠离乳后检测代孕母鼠,分窝留种后检测淘汰的仔鼠,只有两次检测均符合 SPF 标准方可判定净化合格。合格的基因编辑鼠群转移至微生物最高级别控制区域进行饲养,加强区域管控和环境消毒,严防病原微生物侵入,动物一旦出现污染,立即转入低级别饲养区,待重新进行生物净化后返回。此外,还需加强饲养和实验人员生物安全、消毒灭菌等专业知识的培训,降低动物感染的风险^[22]。

上述整改措施的实施,极大改善了本地区各使用单位实验动物病原微生物的感染状况,阳性动物检出率总体呈逐年下降趋势。其中,肺炎克雷伯杆

菌、肺炎链球菌和绿脓杆菌等细菌感染动物已经连续 4 年未检出。然而,肠道蠕虫、小鼠肺炎病毒、小鼠呼肠孤病毒Ⅲ型连续 5 年均有检出且呈现缓慢增长的趋势,这是因为检出的动物都属于正在实验的动物或珍稀的基因编辑动物,无法淘汰处理,仅靠隔离与消毒,病原防治比较困难。带毒(虫)动物也容易造成周围动物的交叉感染,只有通过微生物净化才能彻底清除病原感染^[23]。

通过对陕西省 2017~2021 年实验动物使用单位屏障环境饲养的 SPF 级大小鼠病原微生物监测结果的分析,了解到本地区实验动物质量得到较大改善,但也暴露出很多问题。作为实验动物质量检测机构,要坚持不懈的进行日常病原微生物监测,加强生物安全宣传,促使相关单位明确实验动物质量对本行业及生物医药卫生事业的发展至关重要。同时,督促各使用单位持续采取严格的生物安全防护措施,不断提高实验动物饲养管理水平。只有检测机构与各单位相互配合,才能不断降低实验动物病原感染风险,提高实验动物质量,为生命科学的发展提供强有力的支撑。

参考文献:

- [1] 秦川. 实验动物学 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社; 2016.
- [2] 高虹. 实验动物疾病 [M]. 北京: 科学出版社; 2018.
- [3] 彭丽娜, 王朝霞. 高校实验动物屏障设施微生物监控管理 [J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(2): 154-159.
- [4] 王迪, 宋志琦, 赵德明, 等. 啮齿类实验动物的健康监测 [J]. 实验动物科学, 2017, 34(3): 71-75.
- [5] GB/T 14922. 1-2001《实验动物 寄生虫学等级及监测》[S]. 北京: 中国标准出版社出版, 2002.
- [6] GB/T 14922. 2-2011《实验动物 微生物学等级及监测》[S]. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2011.
- [7] GB/T 14926-2001《实验动物 微生物学检测方法》[S]. 北京: 中国标准出版社出版, 2002.
- [8] GB/T GB 18448-2001《实验动物 寄生虫学检测方法》[S]. 北京: 中国标准出版社出版, 2002.
- [9] 秦川. 中国实验动物学会团体标准汇编及实施指南(第一卷) [M]. 北京: 科学出版社; 2018.
- [10] 王莎莎, 付瑞, 王吉, 等. 鼠痘病毒 FQ-PCR 检测方法的建立及初步应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(1): 101-105.
- [11] 钟女奇, 赵勇, 宋莹, 等. 基于 3R 的实验动物病原微生物质量检测方案的考量 [J]. 药物生物技术, 2020, 27(3): 244-246.
- [12] 史光华. 实验动物机构认可制度助力实验动物质量保障体系的建设与完善 [J]. 实验动物科学, 2016, 33(1): 38-40.
- [13] 王锡乐, 巩薇, 贺争鸣, 等. 中国大陆地区实验动物生产现状分析 [J]. 实验动物科学, 2017, 34(4): 67-74.
- [14] 陶俊豪, 鄢慧琼, 谢珲, 等. 实验动物质量控制中泰泽病原体的研究进展 [J]. 实验动物与比较医学, 2022, 42(4): 358-363.
- [15] 潘金春, 赵维波, 陈梅玲, 等. 2013-2015 年广东地区实验小鼠和大鼠微生物学及寄生虫学调查 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(2): 64-69.
- [16] 刘丽达, 刘科亮, 何其励, 等. 2011-2015 年四川省实验动物质量抽检结果分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 102-105.
- [17] 魏杰, 黄健, 刘文菊, 等. 2017-2019 年北京地区实验动物质量抽检结果分析 [J]. 实验动物科学, 2021, 38(5): 19-27.
- [18] 魏杰, 刘文菊, 李根平, 等. 2014-2016 年北京地区实验动物质量抽检结果分析 [J]. 实验动物科学, 2018, 35(5): 60-66.
- [19] 李杰, 赵梦洋, 赖梦雨, 等. 2020 年北京市啮齿类实验动物组织病理学监测总结和分析 [J]. 实验动物科学, 2022, 39(2): 80-86.
- [20] 戴方伟, 杜江涛, 周莎桑, 等. 普通环境长爪沙鼠种群中病原体携带情况普查 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(11): 15-18.
- [21] 冯洁, 谢建云, 魏晓锋, 等. 实验大鼠和小鼠多种细菌 PCR 检测与分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(10): 89-93.
- [22] 王朝霞, 蒋兴浩. 高校实验动物的传染源防控措施研究与实践 [J]. 实验技术与管理, 2020, 37(3): 9-12.
- [23] 洪胜辉, 卫振, 刘平, 等. 高校外来基因工程小鼠质量控制技术分析探讨 [J]. 实验技术与管理, 2022, 39(7): 224-227.

[收稿日期] 2022-04-19