

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, 134.

Liu LD, Liu KL, He QL, et al. Results and analysis of sampling inspection for laboratory animal quality in Sichuan Province from 2011 - 2015[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(2): 102-105, 134.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019. 02. 017

2011~2015年四川省实验动物质量抽检结果分析

刘丽达,刘科亮*,何其励,王睿

(四川省疾病预防控制中心,成都 610041)

【摘要】 目的 通过对2011~2015年四川地区实验动物微生物、寄生虫抽检结果的回顾和总结,为提高四川实验动物质量提供参考。**方法** 按照现行国家实验动物检测的相关标准,对四川省内具备资质的实验动物生产单位进行抽样检测,并出具报告,对这几年四川省不同级别大小鼠、豚鼠、兔、犬、猴、小型猪等实验动物的质量进行分析。**结果** 4年中,每年抽检频率和抽检动物数基本稳定,SPF级大鼠2012年两家单位检出蠕虫,阳性率为22.5%;在不同单位连续四年检出金黄色葡萄球菌,阳性率分别为5.0%,5.0%,40.0%,11.4%;2015年有三家单位大鼠细小病毒RV株、H-1株病毒抗体成阳性,阳性率为34.3%,28.6%。SPF级小鼠2012、2013年分别在不同单位检出体外寄生虫,阳性率为7.1%,12.9%;蠕虫阳性率在2012年为10.0%,2013年为1.4%,2015年为7.5%;2011年一家单位检出肺炎克雷伯杆菌,阳性率为1.4%。豚鼠(包括清洁级)在这几年抽检中未检出阳性。兔在2013年一家单位检出弓形虫,阳性率为10%。犬在2012年分别从两家单位检出皮肤真菌菌和弓形虫,阳性率为5.0%和2.5%。猴2011年有两家单位检出皮肤真菌菌,阳性率为9.5%,2011、2012年同一家单位连续两年志贺菌阳性,阳性率为2.4%,2.5%,猕猴疱疹病毒I型2012年一家单位检出阳性,阳性率为2.5%。2015年第一次检测实验用小型猪,只做了布氏杆菌和弓形虫,结果均为阴性。**结论** 实验动物质量监督抽检是确保实验动物质量的重要手段,对提高四川省实验动物质量,减小与发达地区的差距,促进四川实验动物行业发展至关重要。

【关键词】 四川省;实验动物;质量监测;抽检

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 02-0102-04

Results and analysis of sampling inspection for laboratory animal quality in Sichuan Province from 2011 to 2015

LIU Lida, LIU Keliang*, HE Qili, WANG Rui

(Sichuan Center For Disease Control and prevention, Chengdou 610041, China)

【Abstract】 Objective To provide a reference for improving the quality of laboratory animals in Sichuan Province, we reviewed and summarized the results of microorganism and parasite sampling in laboratory animals in the Sichuan area from 2011 to 2015. **Methods** We sampled and tested the laboratory animal production units in Sichuan Province, and reported on these using current national laboratory animal guidelines. In addition, we analyzed the quality of laboratory animals of different microbiological grades in recent years within Sichuan Province, including mice, rats, guinea pigs, rabbits, dogs, monkeys, and piglets. **Results** the sample sizes and inspectial frequency annually of animal samples in these 4 years were basically stable. In 2012, helminths were detected in SPF rats in two units, with a positive rate of

【基金项目】 四川省科技厅省级科技计划项目(18PTDJ0027)。

【作者简介】 刘丽达(1985—),女,助理研究员,研究方向:卫生毒理。Email: 31928803@qq.com

【通信作者】 刘科亮(1974—),男,主任医师,研究方向:卫生毒理。Email: 1347320149@qq.com

22.5%. The positive rates of *Staphylococcus aureus* were 5.0%, 5.0%, 40.0%, and 11.4% in different units for 4 consecutive years. In 2015, parvovirus RV and H-1 in rats were positive in three units, with positive rates of 34.3% and 28.6%, respectively. In 2012 and 2013, ectoparasites were detected in different units of SPF mice, with positive rates of 7.1% and 12.9%, respectively. In the helminthes inspection, the positive rate of the samples was 10% in 2012, 1.4% in 2013 and 7.5% in 2015. In 2011, *Klebsiella pneumonia* was positive in one unit, with a positive rate of 1.4%. The guinea pigs samples met the standards totally in recent years. In 2013, *Toxoplasma gondii* was positive in rabbits in one unit, with a positive rate of 10%. In 2012, the positive rates of pathogenic dermal fungi and *Toxoplasma gondii* in dogs from two units were 5.0% and 2.5%, respectively. In 2011, the monkeys in two units tested positive for pathogenic dermal fungi, with a rate of 9.5%. In 2011 and 2012, the same single unit tested positive for *Shigella* spp. for two consecutive years, with rates of 2.4% and 2.5%, respectively. The cercopithecine herpesvirus type 1 was found in one unit in 2012, with a positive rate of 2.5%. In 2015, in the first examination of piglets, only *Brucella* and *Toxoplasma* were tested, with a negative result.

Conclusions Quality monitoring and sampling inspection of laboratory animals are important to guarantee the quality of laboratory animals. They also play a vital role in improving the quality of laboratory animals in Sichuan Province, reducing the differences between Sichuan and developed area, and promoting the development of the Sichuan laboratory animal industry.

[Keywords] Sichuan Province; laboratory animals; quality monitoring; sampling inspection

实验动物科学作为一门综合性的独立的新兴学科,是发展生命科学的重要的支撑条件,已经成为现代生命科学研究的奠基学科。实验动物被广泛地应用于医学、药学、生物制品、农药、食品、添加剂、化工产品、化妆品等方面;在人类的健康和福利研究中,实验动物总是起着人类替身的作用,实验最终结果要类推到人类,因此实验动物起着“活的天秤”和“活的化学试剂”的作用。随着生命科学的发展,实验动物已成为其研究的支撑条件之一。据统计,在生命科学领域里,动物实验的课题占 60%,包括传染病、药效、营养等研究都需要实验动物作为模型,因此实验动物的质量影响着整个实验的质量和水平,已成为制约性要素。

四川省有较多的高校、研究所及医药公司均开展了实验动物相关的研究,根据统计,四川省已成为实验动物用量大省,省内实验动物的产量、品种、质量还不能完全满足省内需求,仍需从外省购买大量实验动物。为了提高本省实验动物生产的质量,根据《中华人民共和国动物防疫法》、《实验动物质量管理办法》、《实验动物许可证管理办法》等相关

法律法规,对四川省具有实验动物生产许可证的企业单位进行一年一次的抽样检测并出具报告,及时发布质量抽检信息,对不合格的动物及时进行处理。本文对 2011 年至 2015 年四川省实验动物质量抽检结果进行分析,探讨影响动物质量的因素,为生产单位进行质量管理提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

被检实验动物均来自四川省具有实验动物生产许可证的生产单位,各年度抽检单位数量、动物品种、等级及数量见表 1。

1.2 主要试剂与仪器

Anthos2010 酶标仪、生物显微镜(奥林巴斯)、VITEK2COMPACT 全自动微生物分析系统;试剂盒由苏州西山生物技术有限公司代销的美国 Expression 品牌;平板培养基由法国科马嘉提供。

1.3 抽样与检测

由具备实验动物质量检测资质的检测机构-四川省疾病预防控制中心,依据国家标准进行抽样检测^[1-3]。

表 1 2011~2015 年四川地区实验动物质量抽检数目

Table 1 Number of laboratory animals subjected to random testing in Sichuan from 2011 to 2015									
年份 Year	抽检单位数量 Quantity of production units	小鼠/只 Mice	大鼠/只 Rat	豚鼠/只 Guinea pig	兔/只 Rabbit	犬/只 Dog	猴/只 Monkey	小型猪/只 Minipigs	动物总数/只 Animal numbers
2011	9	70	20	20	20	20	42		192
2012	9	75	40	20	20	20	40		215
2013	6	40	25	20	20		40		145
2015	13	40	35	20	30	20	30	20	195
累计 Total	/	225	120	80	90	60	152	20	747

1.4 结果判定

按照相应国家标准对检测结果进行综合判定,并出具报告。本文根据这几年的检验报告对不同级别,不同种类的动物感染情况进行分类统计。

2 结果

从表 2 可见 SPF 级大鼠检出了蠕虫、金黄色葡萄球菌、大鼠细小病毒 RV 株、H-1 株病毒抗体。其中金黄色葡萄球菌这 4 年都有检出,2011、2012 年分别有

一家单位检出,2013 年有 3 家单位,2015 年有 2 家单位检出。蠕虫 2012 年有 2 家单位检出,大鼠细小病毒 RV 株和 H-1 株在 2015 年 3 家单位同时检出;表 3 可见 SPF 级小鼠检出了体外寄生虫、蠕虫和肺炎克雷伯杆菌。其中肺炎克雷伯杆菌只在 2011 年一家单位小鼠中检出,体外寄生虫 2012、2013 年分别在不同单位检出;蠕虫在 2012~2015 年都有检出,12 年有 3 家单位检出阳性,其中一家单位在 2013 年仍有阳性检出,15 年有 2 家新单位检出蠕虫。

表 2 2011~2015 年 SPF 级大鼠检出阳性比例(%)
Table 2 Positive rates of SPF rats from 2011 to 2015

大鼠 Rats		检出阳性比例 Positive rate			
		2011	2012	2013	2015
寄生虫 Parasites	蠕虫 Helminths		22.5%(a.d)		
病原菌 Pathogenic bacteria	金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus	5.0%(b)	5.0%(c)	40.0%(b.c.d)	11.4%(d.f)
病毒 Virus	大鼠细小病毒 RV 株 Rat Parvovirus(KRV)				34.3%(f.g.l)
	大鼠细小病毒 H-1 株 Rat Parvovirus(H-1)				28.6%(f.g.l)

注:此表格括号内字母代表实验动物生产单位编号。下表同。
Note: The letters in brackets in this form represent the laboratory animal production units number. The same in the flowing tables.

表 3 2011~2015 年 SPF 级小鼠检出阳性比例(%)
Table 3 Positive rates of SPF mice from 2011 to 2015

小鼠 Mice		检出阳性比例 Positive rate			
		2011	2012	2013	2015
寄生虫 Parasite	体外寄生虫 Ectoparasites		7.1(b)	12.9%(d)	
	蠕虫 Helminths		10.0%(b.d.e)	1.4%(d)	7.5%(g.l)
病原菌 Pathogenic bacteria	肺炎克雷伯杆菌 Klebsiella pneumoniae	1.4%(b)			

表 4 2011~2015 年普通级动物检出阳性比例(%)
Table 4 Positive rates of conventional animals from 2011 to 2015

普通级动物 Conventional animals			检出阳性比例 Positive rate			
			2011	2012	2013	2015
兔 Rabbit	寄生虫 Parasite	弓形虫 Toxoplasma gondii			10%(k)	
犬 Dog	病原菌 Pathogenic bacteria	皮肤病原真菌 Pathogenic dermal fungi		5.0%(d)		
	寄生虫 Parasite	弓形虫 Toxoplasma gondii		2.5%(m)		
猴 Monkey	病原菌 Pathogenic bacteria	皮肤病原真菌 Pathogenic dermal fungi	9.5%(f.m)			
		志贺菌 Shigella spp	2.4%(j)	2.5%(j)		
	病毒 Virus	猕猴疱疹病毒 I 型 Cercopithecine herpesvirus type1		2.5%(m)		

表 5 2011~2015 年抽检动物合格率
Table 5 Qualified rates of laboratory animals samples in Sichuan (2011-2015)

动物品系 Animal strains	合格率 Qualified rates			
	2011	2012	2013	2015
大鼠 Rat	95.0%	72.5%	60.0%	60.0%
小鼠 Mouse	98.6%	90.0%	87.1%	92.5%
豚鼠 Guinea pig	100%	100%	100%	100%
兔 Rabbit	100%	100%	90%	100%
猴 Monkey	88.1%	95.0%	100%	100%

普通级动物包括兔、犬、豚鼠和猴,豚鼠(包括清洁级)在 2011~2015 年抽检中未检出阳性。兔在 2013 年一家单位检出弓形虫,检出阳性动物数占抽检动物总数 10%;犬在 2012 年分别从两家单位检出皮肤真原菌和弓形虫,阳性率为 5.0%和 2.5%;猴 2011 年有两家单位检出皮肤真原菌,阳性率为 9.5%,2011、2012 年同一家单位连续两年志贺菌阳性,阳性率为 2.4%,2.5%,猕猴疱疹病毒 I 型在 2012 年一家单位检出阳性,阳性率为 2.5% (见表 4)。另,2015 年第一次检测实验用小型猪,省内只有两家生产企业,分别抽检了 10 只,只做了布氏杆菌和弓形虫,结果均为阴性。

2011 年至 2015 年抽检的四年中,大鼠合格率在 2011 年最高,达到 95%,以后有下降趋势,13、15 年合格率只有 60%;小鼠合格率除 13 年 87.1%,其余 3 年都保持在 90%以上。兔 2013 年合格率为 90%,猴 2011 年合格率为 88.1%,2012 年为 95.0%,其余都为 100%合格。

3 讨论

实验动物质量监测是实验动物科学的重要内容,做好监测是确保实验动物质量的必要手段,实验动物质量是保证整个实验结果准确性、规律性和重复性的基础条件,同时也是实验工作人员健康和生命的保证。通过合理的质量检测,能及时发现实验动物中存在问题,排除人畜共患病原体携带,以减少实验动物在饲养使用过程中对人群的感染。对于生产单位,实验动物检测能促进其对质量的重视与控制,使企业良性发展。

回顾 2011~2015 年四川省实验动物质量抽检结果,发现四川这 4 年实验动物质量存在着一定的问题。大小鼠的质量存在波动的情况,其中金葡的感染率较高,由于金葡菌广泛存在于自然界,在人群中的带菌率也较高^[4-5],导致要完全隔离金葡对大鼠的感染比较困难,而且少量带菌是否影响实验动物的使用还需要进一步研究。抽检动物中,大鼠

存在问题比较突出,尤其在 2013 和 2015 年合格率仅 60%,这可能跟引种时间长,动物质量下降有关。从结果发现问题动物主要集中在其中几个生产单位,并且同时存在多种问题,应重点监督。其中有两个单位问题几乎一致,可能单位间生产动物有交叉感染的现象,提醒生产单位对引种和外来动物必须严格隔离观察。小鼠合格率除 2013 年外,都保持在 90%以上,主要问题是体外寄生虫和蠕虫,其中 2012 年发现蠕虫的单位除了一家在 2013 年有检出外,都已合格,说明通过抽检可帮助生产单位发现问题并改进。普通级动物兔、豚鼠合格率比较稳定,猴的合格率在 2013 和 2015 年也达到了 100%,为四川猕猴的出口奠定了质量基础。由于实验动物的生产和质量监控在四川起步较晚,抽检中还存在一些疏漏,从 2015 年开始对犬抗体水平进行了检测,因此本文没有对犬的合格率做统计,将在以后的工作中更加重视,弥补这一缺失。相对实验动物发达地区四川实验动物品种的发展也较慢,四年中只增加了小型猪,未能充分发挥四川物种多样性的优势。

实验动物的质量容易受到环境设施、饲养方式、理化因素、繁育运输等多种因素的影响,要提高实验动物的质量,需要多方面共同努力^[6-7]。首先生产单位应有足够的重视,对有质量问题的动物做出相应的处理,找到管理中的漏洞进行改进。个别单位由于使用人员复杂性,整改确实有难度,需要监管部门帮助协调进行整改。其次,监管部门和检测单位也要不断提高自身管理与检测能力。2015 年四川省有新增品种小型猪,但没有相应的国标对其检测项目做出明确规定,在检测中相关人员只参照其他省市地标进行检测,说明监管也存在滞后性,目前四川省小型猪的地标也在加紧制定当中。在检测方面四川省一直比较重视对微生物和寄生虫等级的监测,且相比发达地区的检测频次相对较少,也缺乏灵活性^[8-9],可以根据本地的感染谱、病

Drug Metab Dispos, 2013, 41(12): 2012-2017.

[43] Kamiichi A, Furihata T, Kishida S, et al. Establishment of a new conditionally immortalized cell line from human brain microvascular endothelial cells: A promising tool for human blood-brain barrier studies[J]. Brain Res, 2012, 1488(2): 113-122.

[44] Tang T, Guan Z, Wenfeng YU, et al. Primary Culture of Cerebral Cortical Astrocytes from SD Rats in vitro[J]. Journal of Guiyang Medical College, 2014,39(2):158-161.

[45] Gaillard PJ, Voorwinden LH, Vu D, et al. Astrocytes increase the functional expression of P-glycoprotein in an in vitro model of the blood-brain barrier[J]. Pharm Res, 2000, 17(10): 1198.

[46] 张靖华, 樊怡, 马健飞, 等. 小鼠腹膜透析模型的构建及腹膜转运关键蛋白的表达[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(4):18-20.

[47] Abbott NJ. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 41-53.

[48] 王超, 张会欣, 邢邯英, 等. 通心络胶囊抑制 p38 MAPK 磷酸化抑制糖尿病周围神经病变小鼠氧化应激[J]. 中国药理学通报, 2015, (5): 726-730.

[49] Tarbell JM. Shear stress and the endothelial transport barrier[J]. Cardiovas Res, 2010, 87(2): 320.

[50] Cucullo L, Couraud PO, Weksler B, et al. Immortalized human brain endothelial cells and flow-based vascular modeling: a marriage of convenience for rational neurovascular studies[J]. J Cerebr Blood F Met, 2008, 28(2): 312-328.

[51] Booth R, Kim H. Characterization of a microfluidic in vitro model of the blood-brain barrier (μBBB) [J]. Lab Chip, 2012, 12(10): 1784-1792.

[52] He Y, Yao Y, Tsirka SE, et al. Cell-culture models of the blood-brain barrier[J]. Stroke, 2014, 45(8): 2514-2526.

[53] 沙保勇, 刘洁, 景晓红, 等. 脑血屏障体外模型研发[J]. 生命科学, 2018, 30(3):310-318.

[收稿日期]2018-08-08

(上接第 105 页)

原特性和检测方法的敏感性,调整监测计划,有目的地增加检测频率,既保证动物质量,又可节省经费,使检测工作在确保实验动物质量方面起到应有的作用^[10]。目前,四川省在遗传的监测上几乎没有涉及,虽然暂时并没有近交系实验动物的生产,但是具备遗传质量评价的能力对于检测机构是必要的^[11]。实验动物的遗传背景决定了其反应特性,只有做好遗传质量检测,才能充分保障种群的特异性,所以也要增强生产单位对遗传质量控制意识,共同保障实验动物的质量^[12]。

参考文献:

[1] GB14922. 1-2001.实验动物 寄生虫学等级及监测[s].2001.

[2] GB14922. 2-2001.实验动物 微生物学等级及监测[s].2001.

[3] GB14922. 2-2011.实验动物 微生物学等级及监测[s].2011.

[4] 凌巍. 金黄色葡萄球菌的分布及其肠毒素基因的研究[D].河北农业大学,2007.

[5] 邓泽静,李毅,洪程基,等. 食品中金黄色葡萄球菌污染状况及其毒素检测[J].浙江预防医学,2011, 23(2):92-94.

[6] 宁磊.影响实验动物质量和动物试验结果的因素分析[J]. 微生物学免疫学进展,2011,39(1):48-52.

[7] 王莉,刘军须,王瑜,等. 清洁级小鼠科学饲养管理措施探讨[J]. 医学动物防制,2010,26(7):605-607.

[8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 14922. 2-2011 实验动物微生物学等级及监测[S].2011:1-6.

[9] 葛文平,张旭,高翔,等. 我国商业化 SPF 级小鼠病原体污染分析[J].中国比较医学杂志,2012,22(3):65-68.

[10] 张丽芳.实验动物细菌学监测工作中存在的问题及建议[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(8):74-78.

[11] 佟 巍.国内外实验动物病毒检测的比较[J].中国比较医学杂志,2012,22(11):10-15.

[12] 魏杰,林建伟,付瑞,等.2009-2013 年北京地区实验动物质量抽检结果分析[J].实验动物科学,2014, 31(02):1-6.

[收稿日期]2018-08-20