



我国商业化 SPF 级小鼠病原体污染分析

葛文平, 张旭, 高翔, 刘宁, 张海涛, 张晓娟

(中国医学科学院, 北京协和医学院, 医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室,
国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室, 北京 100021)

【摘要】 目的 按现行国标《实验动物微生物学检测方法》和《实验动物寄生虫学检测方法》对我国商品化的无特殊病原体 (specific pathogen free, SPF) 小鼠进行微生物状况检测, 为生产高质量的实验动物提供依据。**方法** 对五家主要实验动物生产单位生产的 ICR、KM、C57BL/6、BALB/c 及 BALB/c-nu 品系的 SPF 级小鼠进行随机抽检。检测抽检小鼠所携带的微生物和寄生虫情况。**结果** 在抽检的 SPF 级小鼠中, 病毒污染主要包括呼肠弧病毒 III 型 (Reo-3)、小鼠肺炎病毒 (PVM) 和多瘤病毒 (POLY); 主要细菌污染为肺炎克雷伯杆菌、金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌。这些微生物病原体中, 除条件性致病菌绿脓杆菌外, 其他病原体对小鼠本身和实验研究均具有一定的影响。

【关键词】 无特殊病原; 小鼠; 病原体检测

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)03-065-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.003.014

Analysis of Microbial Contamination on Mainly SPF Mice Strains in China

GE Wen-ping, ZHANG Xu, GAO Xiang, LIU Ning, ZHANG Hai-tao, ZHANG Xiao-juan

(Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine, Ministry of Health; Institute of Medical Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine; Peking Union Medicine College, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective To provide reference for producing a good laboratory animal production and management, we randomly analyzed microbes and parasites of Specific pathogen free (SPF) mice commonly used in China. **Methods** The current national standards《Laboratory animal—microbiological standards and monitoring》and《Laboratory animal—parasitic standards and monitoring》were used to tested the microbes and parasites in the samples of SPF mice strains commonly used in China, including ICR, KM, C57BL, BALB/c and BALB/c-nu. **Results** The results showed that the main virus carried by SPF mice were Reo-3, PVM and POLY, the bacteria contamination included *klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Peudomonas aeruginosa*. They all affect the mice and experiment in certain degree except for *Peudomonas aeruginosa*.

【Key words】 Specific pathogen free; Mice strains; Microbial monitoring

小鼠是现代医学研究和生命科学研究最常用的模式动物之一, 其微生物质量会直接影响实验结果的准确性, 而判断微生物质量的基础是对其携带

的微生物和寄生虫进行定期检测, 根据检测结果监督、改进、提高动物的饲养管理水平。ICR、KM、C57BL、BALB/c 和 BALB/c-nu 是我国目前需求量

最大的几种小鼠品系,本文对五家实验动物生产单位生产的 ICR、KM、C57BL/6、BALB/c 及 BALB/c-nu 等品系的无特殊病原体 (SPF) 小鼠进行随机抽检。按现行国标《实验动物微生物学检测方法》^[1] 和《实验动物寄生虫学检测方法》^[2] 进行检测,鉴定抽检小鼠所携带的微生物和寄生虫情况,进而为实验动物生产管理和质量评估提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

本实验所检测的实验小鼠均购自具有《实验动物生产许可证》的实验动物生产单位。单位名称以 A、B、C、D、E 为代码,购入动物的许可 [A: SCXK (京) 2009-0007; B: SCXK (京) 2006-0009; C: SCXK (京) 2007-0005; D: SCXK (京) 2008-0016; E: SCXK (京) 2008-0002]。其中, KM 小鼠购自 (C、D) 两家生产单位; ICR 小鼠品系购自 (B、C、E) 三家生产单位; C57BL/6 购自 (A、B、D、E) 四家生产单位;

BALB/c 购自 (A、B、D、E) 四家生产单位; BALB/c-nu 购自 (A、B、E) 三家生产单位。每个生产单位,每种小鼠品系抽检数量为 10 只。

1.2 检测方法

按照《实验动物微生物学检测方法》(GB/T 14926.1. 14926.64. 2001) 和《实验动物寄生虫学检测方法》(GB/T 18448.1 ~ 18448.10. 2001), 对所获得的样本进行微生物和寄生虫检测。按照《实验动物微生物学等级及监测》(GB 14922.2-2001) 和《实验动物寄生虫学等级及监测》(GB 14922.1-2001), 对检测结果进行综合判定。检测项目见表 1。

2 结果

2.1 细菌检测结果

按方法 1.2 对来自 5 个不同生产单位的 KM、ICR、C57BL/6、BALB/c、BALB/c-nu, 小鼠进行了细菌检测, 检测结果见表 2。以肺炎克雷伯杆菌感染的比例最高。金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌亦见感染。

表 1 微生物和寄生虫检测项目
Tab. 1 List of bacteria, virus and parasites

细菌 Bacteria	病毒 Virus	寄生虫 Parasite
沙门菌 salmonella sp	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 (LCMV) lymphocytic choriomeningitis virus	体外寄生虫 ectoparasites
单核细胞增生性李斯特杆菌 listeria monocytogenes	汗坦病毒 (HV) hantavirus	蠕虫 helminths
假结核耶尔森菌 yersinia sp.	鼠痘病毒 (Ect) ectromelia virus	弓形虫 toroplasma gondi
小肠结肠耶尔森菌 yersinia enterocolitica	仙台病毒 (SV) sendai virus	鞭毛虫 flagellates
皮肤病原真菌 pathogenic dermal fungi	小鼠肝炎病毒 (MHV) mouse hepatitis virus	纤毛虫 ciliates
念珠状链杆菌 streptobacillus moniliformis	小鼠肺炎病毒 (PVM) pneumonia virus of mice	卡式肺孢子虫 Pneumocystis carinii
支原体 mycoplasma sp	呼肠孤病毒 III 型 (Reo-3) reovirus type III	兔脑原虫 encephalitozoon cuniculi
鼠棒状杆菌 corynebacterium kutscheri	小鼠细小病毒 (MVM) minute virus of mice	
大肠埃希菌 0115a, C, K (B) escherichia coli 0115a, C, K (B)	小鼠脑脊髓膜炎病毒 (TMEV) theiler's mouse encephalomyelitis Virus	
嗜肺巴斯德杆菌 pasteurilla pneumotropica	小鼠腺病毒 (Mad) mouse adenovirus	
肺炎克雷伯杆菌 klebsiella pneumonia	多瘤病毒 (POLY) polyoma virus	
金黄色葡萄球菌 staphylococcus aureus		
肺炎链球菌 streptococcus pneumoniae		
乙型溶血性链球菌 beta hemolytic streptococcus		
绿脓杆菌 pseudomonas aeruginosa		
泰泽病原体抗体 tyzzer's organism		

表 2 细菌检测结果
Tab. 2 Results of bacteria detection

	样本 A Sample A	样本 B Sample B	样本 C Sample C	样本 D Sample D	样本 E Sample E
KM	—	—	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—
ICR	—	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—	所检项目全阴性
C57BL/6	所检项目全阴性	金黄色葡萄球菌 (1/10)	—	所检项目全阴性	肺炎克雷伯杆菌 (1/10)
BALB/c	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—	所检项目全阴性	肺炎克雷伯杆菌 (1/10)
BALB/c-nu	绿脓杆菌 (2/10) 肺炎克雷伯杆菌 (1/10)	所检项目全阴性	—	—	所检项目全阴性

注:—, 未检测。

Note:—, non-detected.

2.2 病毒检测结果

按方法 1.2 对来自 5 个不同生产单位的 KM、ICR、C57BL/6、BALB/c、BALB/c-nu, 小鼠进行了病毒检测, 检测结果见表 3。以 Reo-3、PVM、POLY 和 SV 感染率较高, MHV 和 MVM 亦见感染。

2.3 病毒检测结果

按方法 1.2 对来自 5 个不同生产单位的 KM、ICR、C57BL/6、BALB/c、BALB/c-nu 小鼠进行了寄生虫检测, 检测结果见表 4。

3 讨论

根据我国国家标准, 在抽检的 5 个生产单位的商品化 SPF 水平的 KM、ICR、C57BL/6、BALB/c、BALB/c-nu 小鼠中, 病毒方面主要是呼肠孤病毒 III 型 (Reo-3), 小鼠肺炎病毒 (PVM), 多瘤病毒 (POLY); 细菌方面主要是肺炎克雷伯杆菌金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌, 总阳性率见表 5。

表 3 病毒检测结果
Tab. 3 Results of virus detection

	样本 A Sample A	样本 B Sample B	样本 C Sample C	样本 D Sample D	样本 E Sample E
KM	—	—	所检项目全阴性	Reo-3(3/10)	—
ICR	—	MHV(1/10) Reo-3(5/10) MVM(1/10) POLY(2/10)	Reo-3(5/10)	—	SV(1/10) PVM(1/10) Reo-3(1/10)
C57BL/6	所检项目全阴性	POLY(2/10)	—	Reo-3(1/10)	所检项目全阴性
BALB/c	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—	所检项目全阴性	SV(1/10) PVM(4/10)
BALB/c-nu	所检项目全阴性	Reo-3(5/10)	—	—	所检项目全阴性

注:—, 未检测。

Note:—, non-detected.

表 4 寄生虫检测结果
Tab. 4 Results of parasite detection

	样本 A Sample A	样本 B Sample B	样本 C Sample C	样本 D Sample D	样本 E Sample E
KM	—	—	所检项目全阴性	体外寄生虫(3/10)	—
ICR	—	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—	所检项目全阴性
C57BL/6	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—	所检项目全阴性	所检项目全阴性
BALB/c	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—	所检项目全阴性	所检项目全阴性
BALB/c-nu	所检项目全阴性	所检项目全阴性	—	—	所检项目全阴性

注:—, 未检测。

Note:—, non-detected.

表 5 携带病原微生物的阳性率
Tab. 5 Positive ratios of pathogenic microorganisms

病原体名称 Pathogenic microorganisms	阳性率(%) Positive ratios
MHV 抗体 MHV antibody	0.625
MVM 抗体 MVM antibody	0.625
SV 抗体 SV antibody	1.25
POLY 抗体 POLY antibody	1.875
PVM 抗体 PVM antibody	3.125
Reo-3 抗体 Reo-3 antibody	9.375
绿脓杆菌 pseudomonas aeruginosa	1.25
金黄 金黄色葡萄球菌 staphylococcus aureus	1.875
肺炎克雷伯杆菌 klebsiella pneumonia	1.875
体外寄生虫 ectoparasites	1.875

一些国家的 SPF 级小鼠不排除绿脓杆菌, 一是绿脓杆菌不易排除, 二是绿脓杆菌为条件致病菌, 对实验研究危害相对较小^[3-5]。

在病毒性病原中, 呼肠孤病毒 III 型 (Reo-3) 感染的阳性率最高, 在许多脊椎动物体内可分离获得呼肠孤病毒, 包括马、牛、猪、绵羊、豚鼠、犬、猫、貂、禽类、蝙蝠以及人、黑猩猩和猴。除了感染啮齿动物和禽类之外, 一般不引起明显的疾病, 特别是对成年动物。呼肠孤病毒与动物和人类某些呼吸道及消化道疾病的发生有关^[6]。

PVM 属于副黏液病毒属 (paramyxoviridae) 的肺炎病毒 (pneumovirus), 其天然宿主是小鼠、大鼠和仓鼠。常见小鼠感染会引起慢性鼻炎和间质性肺炎,

通常不会产生明显的临床症状,而多呈潜伏性感染^[6]。

小鼠肝炎病毒 MHV(mouse hepatitis virus)可引起小鼠发生肝炎、脑炎和肠炎,一般呈亚临床感染或慢性感染,而机体抵抗力低时可引起急性发病死亡,导致实验失败。MHV 可改变各种免疫应答参数,影响酶的活性,从而对实验产生严重的干扰^[6]。克雷伯杆菌肺炎是由于一种常见的病原菌叫克雷伯菌引起的肺部炎症,存在于正常人的肠道和呼吸道,亦存在于水和谷物中。在免疫低下以及接受手术和侵袭性医源性操作的人群易患本属细菌感染,实验动物操作人员可能会将克雷伯杆菌传给小鼠,从而造成小鼠的感染,免疫缺陷动物尤其敏感^[7-10]。

小鼠体外寄生虫常见的有螨、蚤、虱等。小鼠饲养环境与外界施行隔离控制,使得需在宿主体外完成部分生活史的虱、蚤的感染机会大大减少,而螨成为最主要的体外寄生虫。患鼠因寄生虫种类的不同而症状不同,一般可出现被毛粗乱、烦躁不安、消瘦、发育迟缓、种鼠生产能力下降、仔鼠成活率低等状况,感染严重部位可脱毛、结痂、瘙痒、溃瘍或发生皮炎,影响实验结果。

通过检测,目前 SPF 级小鼠的微生物质量具有不稳定性,有一些国标中规定需要排除的病原体,这些病原体对药物评价、疫苗研制和免疫学研究的影响尤其严重。以上病原体均可通过移卵或剖腹产予以净化。

参考文献:

- [1] GB 14922. 2 2001,中华人民共和国国家标准——实验动物微生物学等级及监测[S]. 北京:中国标准出版社,2001.
- [2] GB 14922. 1 2001,中华人民共和国国家标准——实验动物寄生虫学等级及监测[S]. 北京:中国标准出版社,2001.
- [3] Taconic Health Standards. <http://www.taconic.com/wmspage.cfm?parm1=265>
- [4] List of agents monitored and policy for communication of changes in health status. The Jackson Laboratory. http://jaxmice.jax.org/health/agents_list.html
- [5] Routine Health Monitoring of Isolator-Reared VAF/Elite? Animals. <http://www.criver.com/en-US/TrainEducation/health/Pages/home.aspx>
- [6] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].北京:科学出版社,1985
- [7] Bleich A, Kirsch P, Sahly H, Fahey J, Smoczek A, Hedrich HJ, Sundberg JP, 2008. *Klebsiella oxytoca*: opportunistic infections in laboratory rodent[J]. *Lab Anim* 42: 369 - 375.
- [8] Fox JG, Anderson LC, Lowe FM, Quimby FW, editors. *Laboratory Animal Medicine*. 2nd ed[M]. San Diego: Academic PRESS; 2002. 1325 pp.
- [9] Fox J, Barthold S, Daviss M, Newcomer C, Quimby F, and Smith A editors. *The Mouse in Biomedical Research: Diseases*: 2nd ed[M]. New York: Academic Press; 2007. 756 pp
- [10] MacArthur CJ, Pillers DA, Pang J, Degagne JM, Kempton JB, Trune DR. 2008. Gram-negative pathogen *Klebsiella oxytoca* is associated with spontaneous chronic otitis media in Toll-like receptor 4-deficient C3H/HeJ mice [J]. *Acta-to-laryngologica* 128:132 - 138.
- [11] Percy DH, Barthold SW. *pathology of Laboratory Rodents and Rabbits*[J]. Ames: Iowa State University Press; 2007. 325 pp.

[修回日期]2011-08-05