



湖南省 2006 ~ 2010 年实验动物微生物 质量监测结果分析

覃迪, 蔡亮, 湛志飞, 刘建高, 夏昕, 刘佳惠, 刘运芝, 张红

(湖南省疾病预防控制中心, 长沙 410005)

【摘要】 目的 了解湖南省实验动物微生物学质量, 为实验动物实行科学管理提供重要依据, 保证实验动物质量, 确保实验结果准确和实验动物科技事业工作者的职业健康与安全。方法 在相关单位生产繁殖群以单纯随机抽样原则采样, 按照 GB 14922. 2-2001、GB/T 14926-2001 和 GB/T 14926. 21-2008 进行实验动物微生物检测。结果 SPF 级大鼠批次合格率为 73. 68%, SPF 级小鼠批次合格率为 77. 78%, 普通级新西兰兔批次合格率为 60. 61%, 普通级豚鼠批次合格率为 100%。结论 我省 2006 ~ 2010 年实验动物微生物学质量前期呈现下降趋势, 后期得到较大改善。要继续采取措施加强实验动物管理, 消除实验动物种群微生物感染。

【关键词】 实验动物; 微生物学; 监测

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)03-0069-05

doi: 10. 3969/j. issn. 1671. 7856. 2012. 003. 015

Analysis on Microbiological Monitoring Results of Laboratory Animals from 2006 to 2010 in Hunan Province

QIN Di, CAI Liang, ZHAN Zhi-fei, LIU Jian-gao, XIA Xin, LIU Jia-hui, LIU Yun-zhi, ZHANG Hong

(Hunan Center for Disease Control and Prevention, Changsha 410005, China)

【Abstract】 Objective To know the laboratory animal's microbial quality in Hunan Province, and to provide the important basis for scientific management of experimental animals, to ensure the quality of laboratory animals, the experimental results and the occupational health and safety of animal science workers. **Methods** laboratory animals' microbiological test in accordance with GB 14922. 2-2001、GB/T 14926-2001 and GB/T 14926. 21-2008. Sample testing with the principle of simple random on the breeding colony in the relevant unit. **Results** SPF rat, SPF mice, Normal New Zealand rabbits, guinea pigs' batch qualified rate was 73. 68%, 77. 78%, 60. 61% and 100% respectively. **Conclusions**

It is showed that microbiological quality of laboratory animals from 2006 to 2010 in Hunan province had a downward trend on the earlier stage, and had been improved greatly. Measures should be taken to strengthen the management of laboratory animals and to eliminate microbial infections in experimental animals.

【Key words】 Laboratory animals; Microbiology; Surveillance

二十一世纪是生物学的世纪, 实验动物是生命科学的基础和支撑, 是医学教学和生物医学研究不可缺少的实验材料, 随着社会经济的发展 and 生

命科学研究的突飞猛进, 实验动物科技事业和职业健康与安全已越来越被人们所重视。实验动物的质量可直接影响实验的结果和研究课题的成败, 决

[作者简介] 覃迪(1972-), 女, 主管技师, 大专。主要从事微生物检验。

[通讯作者] 张红(1967-), 女, 主任技师, 硕士。主要从事微生物检验。

定课题的可行性、重复性和科学性。一些人兽共患性疾病,甚至直接威胁动物饲养人员和科研人员的健康与生命安全。实验动物质量检测是实验动物质量评估的主要手段,是对实验动物实行科学管理、按质论价的重要依据。定期对实验动物进行微生物学质量监测是对饲养动物环境设施及管理最终结果的检验,是保证实验动物质量的有效措施。依据我国《实验动物管理条例》,我们对 2006 ~ 2010 年间湖南省相关科研单位和各大药厂饲养、使用的实验动物进行现场抽样检测,为进一步加强实验动物的质量管理提供了科学依据,现将微生物学监测结果报告如下:

1 材料和方法

1.1 标本来源

所有检测标本单纯随机抽取于 2006 ~ 2010 年湖南省相关科研单位和各大药厂饲养和使用的实验动物(大鼠、小鼠、豚鼠及新西兰兔)。(大鼠、小鼠的生产厂家为中南大学动物学部(SCXK[湘]2006-0002);大鼠、小鼠、兔的生产厂家为南华大学动物学部(SCXK[湘]2004-0009 及 SCXK[湘]2010-004);小鼠、豚鼠、豚鼠及兔的生产厂家为湖南紫光南岳制药有限公司(SCXK[湘]2004-0005 及 SCXK[湘]2009-006);大鼠、小鼠、豚鼠、兔的生产厂家为长沙市开福区东创实验动物科技服务部(SCXK[湘]2006-001);大鼠、小鼠、豚鼠、兔的生产厂家为湖南斯莱克景达实验动物有限公司(SCXK[湘]2009-004)。

1.2 抽样方法及数量

按照 GB 14922.2-2001《实验动物微生物等级及监测》^[1]进行,在每一繁殖单元(群体 100 只以上)在不同方位进行多点采样,按相应级别包装、运输,包装箱上注明品种、级别、数量及检测项目。

1.3 标本采集与检测项目

及时无菌采集,避免交叉污染。检测项目包括病毒、细菌。

1.4 检测方法与结果判定

所有检测按照 GB/T 14926.1 ~ 64-2001《实验动物 微生物学 寄生虫学检测方法》^[2]和 GB/T 14926.21-2008^[3]进行检测,按照 GB 14922.2-2001《实验动物微生物等级及监测》进行结果判定。

2 结果

2.1 合格率

SPF 级大鼠、SPF 级小鼠、普通级新西兰兔和普通级豚鼠合格率分别为 85.09%、83.64%、69.70%、100%,批合格率分别为 73.68%、77.78%、60.61%、100%。

2.2 细菌和病毒的检出率

对 198 只 SPF 级大鼠样本进行呼吸道和肠道致病菌检测,致病菌总检出率为 0.96%;对 228 只 SPF 级小鼠样本进行 HV(汉坦病毒)抗体和 Sendai(仙台病毒)抗体检测,总阳性率为 5.26%。对 306 只 SPF 级小鼠样本进行呼吸道和肠道致病菌检测,致病菌总检出率为 1.32%;对 324 只 SPF 级小鼠样本进行 MHV(小鼠肝炎病毒)抗体、HV 抗体和 Ect(鼠痘病毒)抗体检测,总阳性率为 3.84%。对 198 只普通级新西兰兔样本进行肠道致病菌检测,检出率为 0;对 102 只普通级豚鼠样本进行肠道致病菌检测,检出率为 0。详见表 2、表 3。

2.3 感染病原体分析

按照规定项目检测,在 SPF 级大鼠中检出沙门菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌。SPF 级小鼠中检出沙门菌,未检测出其他致病菌。SPF 级大鼠中 HV 抗体和 Sendai 抗体检出阳性。SPF 级小鼠中 MHV 抗体、Sendai 抗体和 Ect 抗体检出阳性。在普通级新西兰兔和普通级豚鼠中均未检出沙门菌。见表 2、表 3。

表 1 湖南省 2006 ~ 2010 年实验动物微生物(病毒学、细菌学)检测结果

Tab.1 Microbiological (virology, bacteriology) test results of laboratory animals in Hunan province from 2006 to 2010

品种及名称 Species and name	检测数 Number of detected	合格数 Number of qualified	合格率/% Qualified rate/%	检测批次 Test batch	合格批次 Qualified batch	批合格率/% Batch qualified rate/%
SPF 级大鼠 SPF rats	228	194	85.09	38	28	73.68
SPS 级小鼠 SPF mice	324	271	83.64	54	42	77.78
普通级新西兰兔 Ordinary grade New Zealand rabbits	198	138	69.7	33	20	60.61
普通级豚鼠 Ordinary grade guinea pig	102	102	100	17	17	100

表 2 湖南省 2006 ~ 2010 年 SPF 级大鼠、SPF 级小鼠、普通级豚鼠细菌学检测结果

Tab. 2 Bacteriological test results of SPF rats, SPF mice and general level guinea pig in Hunan Province from 2006 to 2010

项目 Item	SPF 级大鼠 SPF rats			SPS 级小鼠 SPF mice			普通级豚鼠 Ordinary grade guinea pig		
	检测数 Number of detected	检出数 Number of detected	检出率/% Detection rate/%	检测数 Number of detected	检出数 Number of detected	检出率/% Detection rate/%	检测数 Number of detected	检出数 Number of detected	检出率/% Detection rate/%
沙门菌 Salmonella	198	2	1.01	306	18	5.88	102	0	0
支原体 Mycoplasma	6	0	0	18	0	0	0	0	0
绿脓杆菌 Pseudomonas aeruginosa	60	4	6.67	78	0	0	0	0	0
鼠棒状杆菌 Corynebacterium kutscher	198	0	0	306	0	0	0	0	0
泰泽病原体 Tyzzer organism	150	0	0	216	0	0	0	0	0
肺炎链球菌 Streptococcus pneumoniae	24	0	0	36	0	0	0	0	0
嗜肺巴斯德杆菌 Pasteurella pneumotropica	66	0	0	126	0	0	0	0	0
肺炎克雷伯杆菌 Klebsiella pneumonia	90	0	0	126	0	0	0	0	0
金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus	60	4	6.67	78	0	0	0	0	0
支气管鲍特杆菌 Bordetella bronchiseptica	138	0	0	0	0	0	0	0	0
乙型溶血性链球菌 β Hemolytic streptococcus	24	0	0	36	0	0	0	0	0
单核细胞增生性李斯特杆菌 Listeria monocytogenes	30	0	0	48	0	0	0	0	0
合计 Total	1044	10	0.96	1368	18	1.32	102	0	0

表 3 湖南省 2006 ~ 2010 年 SPF 级大鼠、小鼠病毒学检测结果

Tab. 3 Virological test results of SPF rats and SPF mice in Hunan Province from 2006 to 2010

项目 Item	SPF 级大鼠 SPF rats			SPS 级小鼠 SPF mice		
	检测数 Number of detected	阳性数 Positive number	阳性率/% Positive rate/%	检测数 Number of detected	阳性数 Positive number	阳性率/% Positive rate/%
MHV 抗体 MHV antibody	0	0	0	324	16	4.94
HV 抗体 HV antibody	228	6	2.63	0	0	0
Sendai 抗体 Sendai antibody	228	18	7.89	294	15	5.10
Ect 抗体 Ect antibody	0	0	0	294	4	1.36
合计 Total	456	24	5.26	912	35	3.84

注: MHV 为小鼠肝炎病毒, HV 为汉坦病毒, Sendai 为仙台病毒, Ect 为鼠痘病毒

Note: MHV for mouse hepatitis virus, HV for hantavirus, Sendai for Sendai virus, Ect for mouse pox virus

2.4 普通级兔

普通级兔进行兔出血症病毒 (RHDV) 抗体检测前对日龄 30 ~ 60 d 的兔进行兔出血症病毒疫苗的免疫接种, 15 d 后采样进行检测。参照 GB/T 14926. 21-2008, 应用血凝抑制试验 (HAI) 进行抗体检测, 免疫后兔出血症病毒 HAI 抗体滴度应大于 1: 10。2006 ~ 2010 年共检测普通级新西兰兔 33 批 198 只, 其中兔出血症病毒抗体滴度小于 1: 10 的有 13 批 60 只, 批次不合格率和只不合格率分别为

39.39% 和 30.30%。未检出沙门菌。

3 讨论

随着生命科学、生物技术、医学、药物研发和保健品等的快速发展, 实验动物科技事业和职业健康与安全已越来越被人们所重视。AAALAC (Association of Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International, 国际实验动物评估和认证协会) 认证主要评估 4 大部分, 实验动

物的管理与使用,职业健康与安全,兽医护理及设施。职业健康与安全的重要性是不言而喻的,与实验动物相关的常见人兽共患病最常见病毒则有 HV、痘病毒等,细菌则有革兰氏阴性肠道病原菌等。人兽共患病的传播主要有以下几个途径:与动物相关的传播(动物咬抓伤、人员自身的伤害等)、组织、分泌物、被分泌物污染的仪器设备笼具等、气溶胶、以及人与人之间的传播。本文结果表明我省 SPF 级大鼠 HV 抗体阳性率为 2.63%,Sendai 抗体阳性率为 7.89%,沙门菌检出率为 1.01%,绿脓杆菌检出率为 6.67%,金黄色葡萄球菌检出率为 6.67%;SPS 级小鼠 MHV 抗体阳性率为 4.94%,Sendai 抗体阳性率为 5.10%,Ect 抗体阳性率为 1.36%,沙门菌检出率为 1.32%。其检出率均高于我省 2004 ~ 2006 年的监测结果^[4]。

汉坦病毒为人兽共患病,实验大鼠感染 HV 后可健康带毒,可通过呼吸道、消化道和破损的皮肤黏膜感染接触者,成为实验室工作人员 HFRS 的主要传染源。鉴于湖南省为 HFRS 的高发省份之一,自然疫源地广泛存在,曾发生多起实验室感染事件,值得引起相关单位的高度重视,继续加强 HV 的预防意识。Sendai 引起的一种呼吸道传染病,临床表现与流感相似。MHV 和 Ect 是较难以控制的病毒性疾病,多数为隐形和慢性感染。沙门菌可致多种感染,轻者为自愈性胃肠炎,重者可引起致死性伤寒和副伤寒 A、B 沙门菌引起胃肠炎、菌血症和肠热症;猪霍乱沙门菌引起胃肠炎和败血症,儿童多见。亦有报道本病病原体可致脑膜炎、心脏疾病、骨髓炎和其他局部感染。金黄色葡萄球菌能引起人和动物机体局部、脏器的化脓性感染,重者可引起败血症、脓毒血症等全身感染,属于人畜共患病病原菌,也是国内外最常见的细菌性食物中毒病原之一。绿脓杆菌为条件致病菌,是医院感染的主要病原菌之一。湖南省目前所使用的实验兔都是普通级,兔出血症为必检项目,兔出血症能引起兔急性、高度致死性,病死率高达 100%^[5],但是检测结果不理想,只合格率为 69.70%,批合格率为 60.61%。

3 讨论

随着生命科学、生物技术、医学、药物研发和保健品等的快速发展,实验动物科技事业和职业健康与安全已越来越被人们所重视。为确保实验结果准确和实验动物科技事业工作者的职业健康与安

全,我省实验动物管理委员会每年都组织开展了实验动物质量监测,2006 ~ 2010 年实验动物微生物质量监测结果表明我省 SPF 级大鼠、小鼠中均存在不同程度的细菌、病毒的感染,其中 SPF 级大鼠的 HV 抗体阳性率为 2.63%,Sendai 抗体阳性率为 7.89%,沙门菌检出率为 1.01%,绿脓杆菌检出率为 6.67%,金黄色葡萄球菌检出率为 6.67%;SPF 级小鼠的 MHV 抗体阳性率为 4.94%,Sendai 抗体阳性率为 5.10%,Ect 抗体阳性率为 1.36%,沙门菌检出率为 1.32%。其检出率均高于我省 2004 ~ 2006 年的监测结果^[4]。不合格的动物批次主要集中在 2007 年,为此,省实验动物管理委员会加大了监管力度,通过调查分析其感染来源主要集中在 3 个方面:一是饲料、垫料的质量差,导致动物质量下降,如垫料保管不善受到污染等。二是部分单位设施构造上有缺陷导致野鼠侵入。三是饲养、实验人员的生物安全意识不强,消毒灭菌的操作不规范,废弃物的散布和物品的交叉混用也成为病毒和细菌传播的途径。针对这种情况,省实验动物管理委员会对检测不合格的实验动物所在区域的动物采取了全部扑杀深埋的严格措施,同时组织饲养、实验人员进行生物安全、消毒灭菌等专业知识的培训,要求饲养单位对饲养设施和环境进行了整改。通过这些措施,我省的实验动物微生物质量得到很大改善,阳性动物总数逐年减少,2010 年实验动物微生物质量监测全部合格。

2006 ~ 2010 年的监测结果显示 SPF 级大鼠的 HV 抗体阳性率为 2.63%,提示存在实验动物饲养和实验人员感染的风险,我省也曾发生过几起实验室感染流行性出血热(epidemic hemorrhagic fever, EHF)的事件,值得引起相关单位的高度重视。我省为流行性出血热的高发省份,自然疫源地广泛存在,因此饲养单位要提高防范意识,加强管理,防止野鼠的侵入,对相关工作人员进行免疫接种。兔出血症能引起兔急性、高度致死性,病死率高达 100%^[5],目前我省所使用的实验兔以普通级为主,兔出血症病毒为必检项目,检测结果显示只合格率为 69.70%,批合格率为 60.61%,提示饲养单位应加强兔出血症病毒疫苗的免疫,对疫苗低温冷藏保证疫苗质量,确保免疫接种效果,提高动物质量,防止动物疫情的发生。

实验动物的质量不仅影响实验结果的有效性和可靠性,而且关系到实验动物工作者的健康与安

全,是一项常抓不懈的工作,我们认为要消除实验动物种群微生物感染,应该做到以下几个方面:1) 饲养实验动物的相关单位应严格按《国家啮齿类动物种子中心引种、供种实施细则》进行,对动物进行必要的预防接种,提高动物抵抗疾病的能力。2) 要加强实验动物的饲养和管理,根据不同等级的实验动物分别制定科学的饲养管理和预防医学计划,确保动物的健康。内、外环境应进行定期消毒,大、小鼠应为屏障环境,防止野生动物和昆虫进入饲养室和实验室。3) 对饲养管理人员和实验动物使用者进行全面培训,要通过教育和培训,让其知晓人畜共患病及其危害,掌握这些疾病的基础知识如病原学、临床症状、传播机制等。要建立和逐步完善个人防护设备的穿戴规程并严格执行。如要按照危险性分析和评估,适当地穿戴乳胶手套、口罩/呼吸器、眼部的保护装置、连体服、和安全鞋/靴等。按照既定的工作准则和试验方案工作。要知

晓并严格遵循暴露后应采取的急救措施。4) 加大实验动物的质量监测力度,严格执行《实验动物管理条例》,对实验动物进行长期规律的质量监测。

参考文献:

- [1] GB 14922. 2-2001《实验动物微生物等级及监测》[S]. 北京:中国标准出版社出版. 2002.
- [2] GB/T 14926-2001《实验动物 微生物学 寄生虫学检测方法》[S]. 北京:中国标准出版社出版. 2002.
- [3] GB/T 14926. 21-2008《实验动物 兔出血症病毒检测方法》[S]. 北京:中国标准出版社出版. 2009.
- [4] 戴德芳,张红,刘运芝等. 湖南省 2004 ~ 2006 年实验动物病毒学质量监测结果分析[J]. 实验动物与比较医学,2007,27(1):57 - 59.
- [5] 张玉颖,龙清光,吴润. 兔出血症病毒分子生物学研究进展[J]. 动物医学进展,2006,27(3):9 - 13.

[修回日期] 2011-11-11