

2014—2018年江苏省及上海市部分机构 普通级实验犬质量检测情况

盛雅洁, 肖春兰, 赵丽娟, 周正宇

(苏州大学实验动物中心, 苏州大学卫生与环境技术研究所, 苏州 215123)

[摘要] 根据实验动物国家标准并结合实际检测中积累的相关数据, 介绍了 2014—2018 年江苏省及上海市部分机构普通级实验犬质量监督抽检及委托检测结果, 希望能为普通级实验犬的生产和使用单位提供有益的参考。

[关键词] 实验犬; 病原学; 质量控制; 检测

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 1674-5817(2020)06-0531-03

实验动物的质量直接影响实验数据的准确性, 甚至影响科研人员的健康^[1]。由于实验犬多采用群体饲养, 更加容易感染各种微生物及寄生虫。一旦被感染, 除影响犬的健康外, 还会威胁到相关工作人员的健康, 特别是狂犬病病毒、布鲁杆菌等感染引起的人兽共患病^[2-4]对人的危害性极大。

微生物学、寄生虫学质量控制是衡量实验动物质量的主要标准之一^[5]。按照普通级实验犬寄生虫学和微生物学控制标准^[6-7], 本文结合本检测机构 2014—2018 年接受江苏省及上海市部分机构委托检测和行政监督抽查的结果, 就普通级实验犬的检测方法和质量控制现状进行总结, 以期与普通级实验犬的生产及使用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年普通级实验犬, 主要品种为比格犬, 性

别不限, 来自江苏省及上海市具有普通级实验犬生产许可证的部分单位, 共计 21 批次, 每批次 6 只或 6 个样本。其中监督抽查 10 批次, 委托检测 11 批次。监督抽查样品均为活体动物, 委托检测样品部分批次为活体动物, 还有部分批次为血清、肛拭子或毛发等样品。

1.2 主要试剂与仪器

犬瘟热病毒、犬肝炎病毒和犬细小病毒抗体检测试剂盒均购自美国 XpressBio 公司; 狂犬病病毒抗体检测试剂盒购自法国 Synbiotics 公司; 犬布鲁杆菌检测试剂盒购自北京杰辉博高生物技术有限公司; ID 32E 肠杆菌科和其他非苛养革兰阴性杆菌鉴定试剂盒购自法国梅里埃生物公司; 弓形虫抗体检测试剂盒购自法国 ID-VET 公司; DHL 培养基、沙氏琼脂培养基购自青岛日水生物技术有限公司; 血琼脂培养基购自常德比克曼生物科技有限公司。

ATB 半自动微生物鉴定仪为法国梅里埃公司产品; 酶标仪 (型号 Multiskan MK3) 为美国赛默飞公司产品; 体视显微镜为日本尼康公司产品 (型号 SMZ745T)。

1.3 检测方法

1.3.1 样本采集 待检实验犬编号后进行外观检查, 然后对不同病原体分别进行取样, 包括皮肤、毛发、血液以及新鲜粪便或者肛拭子, 采

[收稿日期] 2020-03-04

[作者简介] 盛雅洁(1988—), 女, 硕士, 兽医师。

E-mail: yjsheng@suda.edu.cn

[通信作者] 周正宇(1973—), 男, 副教授, 主要从事动物模型和比较医学研究。

E-mail: zacharyzhou@suda.edu.cn

集方法按照实验动物国家标准进行。

1.3.2 检测指标及方法 检测指标: 病原菌检测包括沙门菌、皮肤病原真菌以及布鲁杆菌; 病毒检测包括狂犬病病毒、犬细小病毒、传染性犬肝炎病毒以及犬瘟热病毒; 寄生虫学检测包括体外寄生虫(节肢动物)以及弓形虫。

体外寄生虫检测: 首先进行外观检查, 尤其要注意耳根、颈后、眼周、腹股沟等易感部位, 然后直接拔毛进行取样, 显微镜观察结合肉眼观察是否有体外寄生虫。

沙门菌和病原真菌按常规检测。

布鲁杆菌、狂犬病病毒、犬细小病毒、传染性犬肝炎病毒、犬瘟热病毒及弓形虫检测: 采血后分离血清, 按 ELISA 试剂盒说明书检测。

2 结果

共检测 21 批次, 总体合格率 72.8%, 其中总体免疫合格率 77.3%。

2.1 监督抽查不合格情况

监督抽查的 10 个批次中, 共有 4 个批次检出不合格项目。除 1 个批次发现 1 例弓形虫抗体阳性外, 其他 3 个批次均为免疫不合格, 分别为: 1 批次狂犬病病毒抗体群体免疫合格率为 16.7%, 犬瘟热病毒抗体群体免疫合格率为 33.3%; 另 1 批次狂犬病病毒抗体免疫合格率仅为 16.7%, 犬瘟热病毒抗体免疫合格率为 66.7%; 还有 1 批次犬肝炎病毒抗体群体免疫合格率为 50.0%。此外, 有 1 个批次犬中有 1 例犬瘟热病毒抗体不合格, 但是其群体免疫合格率达到 70.0%, 因此群体免疫合格, 符合国家标准要求。

2.2 委托检测不合格情况

委托检测的 11 个批次中, 有 2 个批次检出不合格项目, 均为狂犬病病毒抗体免疫不合格, 其群体免疫合格率分别为 50.0% 和 66.7%。1 批次犬中有 1 例犬肝炎病毒抗体不合格, 但其群体免疫合格率达到 70%, 符合国家标准要求。

2.3 不合格情况处理

对检测的所有批次实验犬均出具了检测报告。对于检测不合格动物, 如果是委托检测, 根据检测结果建议生产单位重新进行疫苗接种或者驱虫等处理后再次进行委托检测。如果是监督抽

查, 将不合格结果直接上报给相关单位。

3 讨论

免疫接种是有效预防控制动物烈性传染病的可靠方法, 当易感动物免疫覆盖率达到 70% 以上时, 即可有效抑制疾病的传播^[8]。我国国家标准^[9-12]规定, 普通级实验犬均需进行狂犬病病毒、犬细小病毒、传染性犬肝炎病毒及犬瘟热病毒等免疫接种, 经检测各项病毒抗体阳性方为合格, 犬群体免疫抗体合格率达到 70% 以上则可判断为该犬群免疫合格。根据 2014—2018 年监督抽查与委托检测的结果, 江苏省及上海市部分机构实验犬的总体免疫合格率为 77.3%, 其中监督抽查的群体免疫合格率为 70.0%, 委托检测则为 81.8%。另外监督抽查的 1 个批次中发现 1 例犬瘟热病毒抗体水平不合格; 委托检测的 1 个批次中发现 1 例犬肝炎病毒抗体不合格, 但是这两个批次的群体免疫抗体合格率均超过 70%, 群体免疫合格。免疫接种的效果和疫苗质量以及免疫接种的方案有很大关系^[13]。本研究发现有 2 家单位的实验犬在第一次监督抽查中符合国家标准要求, 但是在第二次监督抽查时, 狂犬病病毒抗体与犬瘟热病毒抗体群体免疫合格率均未达到 70%。

寄生虫感染是影响实验动物质量的重要因素。普通环境与外界直接相通, 因此普通动物感染寄生虫的概率更高。根据我们的检测, 21 批次普通级实验犬寄生虫总体感染率为 4.76%, 其中监督抽查寄生虫检测的总体合格率为 90%; 委托检测为 100% 合格。监督抽查中仅 1 批次 1 只实验犬检出弓形虫阳性。细菌学质量是实验动物微生物学质量的重要组成部分。在所有 21 批次普通级犬样品中, 所有需要检测的细菌培养结果皆为阴性。

统计表明, 21 批次普通级实验犬的总体合格率为 72.8%, 其中监督抽查总体合格率为 60.0%, 委托检测为 81.8%。委托检测一般是生产单位的自主行为, 多会根据各自的免疫方案和动物种群选择性送样, 而监督抽查的采样时间和样品选择有很大的随机性。此外, 委托检测只对送检样品负责, 检测机构无法了解样品的真实来源。为保证实验犬的质量, 除生产单位的委托检测外, 还

需要政府加强监管,定期开展监督检查,从源头确保实验犬的质量。

现行国家标准规定的沙门菌检测的生化反应方法较为繁琐,目前很多检验检疫机构采用了全自动或半自动微生物鉴定仪,虽然前期仪器成本较为昂贵,但可以更为方便、快捷、准确地检测各种微生物。此外,PCR方法已广泛运用于沙门菌、皮肤病原真菌、布鲁杆菌、弓形虫等实验动物病原体的检测^[14-16]。国家标准规定的布鲁杆菌检测为血清学方法,虽然操作较为简单,但由于其特异性相对较差,抗原制备比较困难。中国实验动物学会发布了布鲁杆菌PCR检测方法的团体标准,可以更为准确地检测布鲁杆菌^[17]。狂犬病病毒、犬细小病毒、传染性犬肝炎病毒以及犬瘟热病毒的检测方法为血清学方法,所有普通级实验犬均需要免疫并通过检测血清中病毒抗体水平来衡量免疫效果。此外,检测方法和人员的能力差异等均可能会影响检测结果,因此,所有检测不合格项目均需要进行复检^[18]。

质量检测是保证实验犬质量的重要手段^[19-20],但加强饲养管理仍是提升实验犬质量的根本手段。实验犬的饲养管理应符合相关的操作规程,笼器具的清洗消毒应当彻底,要严格防止外来动物与实验犬相接触,饲养室门口应设置挡鼠板。新引进或者新购入的实验犬,应隔离饲养2~3周,经隔离检疫合格后方可与其他实验犬一起饲养^[21]。此外,还应当根据实际情况进行疫苗接种、驱虫等工作,防止外来病原体进入犬舍。

总体上看,江苏省及上海市实验犬生产单位的实验犬质量大多良好,但也应加强对免疫接种方案和疫苗来源的管理,以及对饲养场周边野生动物的防范,进一步提高实验犬质量。目前,市场上的实验犬均为普通级,还没有规模化的SPF级犬用于生产和使用,随着生物医学的发展,对实验犬质量的要求也会越来越高。对实验犬的质量进行科学化的控制是提高实验犬质量的重要途径,是保证相关动物实验准确性和可靠性的基础,更是相关实验操作人员健康的重要保障^[22]。

参考文献:

[1] 张璠. 实验动物的质量管理与控制[J]. 时代农机, 2018,

45 (8):37.

- [2] 张洪丽, 崔步云, 范伟兴, 等. 我国犬布鲁杆菌病流行现状及相关研究[J]. 中国地方病学杂志, 2008, 27(5):584-586.
- [3] 洪都孜·波拉提, 吴建勇, 古努尔·吐尔逊, 等. 动物狂犬病的研究进展[J]. 兽医导刊, 2019 (16):190-191,222.
- [4] 李春雨, 卢选成, 姜孟楠, 等. 动物实验设施内人畜共患传染病的应对[J]. 实验动物科学, 2012, 29(3):61-63.
- [5] 李宏, 付强, 黄清臻, 等. 实验动物的微生物学、寄生虫学及其质量控制[J]. 医学动物防制, 2008 (7):527-528.
- [6] GB 14922.2—2001. 实验动物 寄生虫学等级及监测[S]. 北京:中国标准出版社, 2001.
- [7] GB 14922.2—2011. 实验动物 微生物学等级及监测[S]. 北京:中国标准出版社, 2011.
- [8] 李印, 张美晶, 沈朝建, 等. 抗体监测抽样数量及结果判定的有关讨论与演算[J]. 中国动物检疫, 2016, 33 (12): 69-74.
- [9] GB/T 14926.56—2008. 实验动物 狂犬病病毒检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [10] GB/T 14926.58—2008. 实验动物 传染性犬肝炎病毒检测方法[S].
- [11] GB/T 14926.57—2008. 实验动物 犬细小病毒检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [12] GB/T 14926.59—2001. 实验动物 犬瘟热病毒检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [13] 郭华伟. 犬免疫失败的原因及对策[J]. 当代畜牧, 2016 (20):96.
- [14] 王静, 袁文, 闵凡贵, 等. 实验动物病原PCR检测方法系列团体标准的编制[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29 (3): 60-66.
- [15] 姚志军, 秦川, 刘世国. PCR技术在弓形虫检测上的应用[J]. 中国人兽共患学报, 2007, 23(8):819-822.
- [16] 俞向前, 王婷婷, 潘世友, 等. 犬皮肤病常见病原真菌多重PCR检测方法的建立[J]. 畜牧与兽医, 2018, 50 (9): 95-98.
- [17] 冯育芳, 邢进, 张雪青, 等. 实验动物布鲁杆菌PCR检测方法团体标准的编制[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29 (3):88-91.
- [18] 郑教雀. 浅析兽医实验室检测能力[J]. 中国畜牧业, 2019 (8):57-58.
- [19] 李根平. 实验动物质量监测及规范管理体系建设与完善[J]. 中国科技成果, 2016, 17 (5):15-16, 21.
- [20] 侯佩兴, 陈栋, 王长松. 对实验动物监督管理的探讨[J]. 中国动物检疫, 2019, 36(7):52-54.
- [21] 李松滨, 李宝龙. GLP试验用Beagle犬的饲养管理[J]. 实验动物科学, 2015, 32 (3):54-55.
- [22] 陈柏安, 王舒波, 姚紫彤, 等. 实验动物质量控制对医学院校教学和科研的保障作用[J]. 实验动物科学, 2016, 33 (6): 52-54.