



郭连香, 苏州西山生物技术有限公司总经理, 从事实验动物微生物检测和质量控制工作17年, 多次赴美国病毒参考实验室(Virus Reference Laboratory, VRL)参与实验动物质量检测和检测相关培训。现任中国兽医协会实验动物分会副会长、灵长类实验动物协会理事、中国实验动物学会CRO(Clinical Research Organization)实验动物管理工作委员会委员等社会职务。参与修订了国家标准GB 14922—2022《实验动物微生物、寄生虫学等级及监测》, 参与起草了行业标准SN/T 4291—2015《猴免疫缺陷病毒斑点酶免疫法检测技术规范》、团体标准T/CLPBDA 0002—2022《猕猴疱疹病毒I型(B病毒)检测方法》和T/CLPBDA 0002—2022《猴感染结核分枝杆菌复合群的筛查方法》。参与了专业书籍《Perry小鼠实验标本采集》、《Perry小鼠实验实用解剖》、《实验动物疫病学》、《中国农业百科全书》部分章节的编撰工作。

实验动物微生物、寄生虫学等级及监测标准的变化及与国外标准的比较

郭连香

(苏州西山生物技术有限公司, 苏州 215021)

[摘要] 2023年7月1日, 新的国家标准GB 14922—2022《实验动物 微生物、寄生虫学等级及监测》正式实施。本文是基于第十六届华东地区实验动物学术交流会上的报告演讲稿整理而成, 内容主要是介绍和分析国家标准GB 14922—2022在修订前后的主要变化, 同时将新的国家标准与国际上其他机构的实验动物质量控制标准或指南进行比较, 并对我国实验动物设施运行主体在制定动物微生物质量监测方案时应该关注的重要问题做一简要讨论, 以供同行交流与参考。

[关键词] 国家标准; 微生物; 实验动物; 质量监测方案

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)04-0339-08



Revision of Standards for Microbiological and Parasitological Grades in Laboratory Animals and Its Comparison to Foreign Standards

GUO Lianxiang

(Suzhou Xishan Biotech Inc., Suzhou 215021, China)

Correspondence to: GUO Lianxiang (ORCID:0009-00009-9723-5001), E-mail: 15950006260@163.com

[ABSTRACT] The national standard, GB 14922-2022 on "Laboratory Animal Microbiological and Parasitological standards and monitoring" was implemented on July 1st, 2023. This article is compiled according to the speech of the 16th East China Laboratory Annual meeting, explores and critically analyzes the developments made to the revised standard and examines how this framework compares with quality control programs of other established international institutions. The key aspects of establishing quality monitoring programs for animal-associated microorganisms in laboratory animal facilities are briefly discussed.

[Key words] National standards; Microorganisms; Laboratory animals; Quality monitoring program

一直以来, 实验动物微生物控制标准化是实验动物质量标准化的重要内容之一。为了实现这种标准化,

业界一直在不断努力, 经过一个多世纪的不断探索, 摸索出了一套相对行之有效的实践经验。在此基础上,

[第一作者] 郭连香(1983—), 女, 学士, 研究方向: 实验动物质量检测、检测实验室建立和标准化。E-mail: 15950006260@163.com。ORCID: 0009-00009-9723-5001

欧洲实验动物联合会 (Federation of European Laboratory Animal Science Associations, FELASA)、美国杰克逊实验室 (Jackson Laboratory, JAX)、美国查士瑞华实验室 (Charles River Laboratory, CRL) 等机构和实验室都制定了实验动物微生物质量控制方案并定期或不定期更新^[1-3]。与此同时,我国实验动物产业虽起步较晚,但发展迅速。除了保证实验动物研究结果的准确性和可靠性外,为提高实验动物科技产业的高质量发展水平,同样需要就动物微生物质量控制的多个方面展开深入讨论,不断优化现有体系,降低生物安全风险,有效促进我国实验动物质量提升^[4]。

1994年,我国颁布了首个实验动物微生物质量控制国家标准,并于2001年和2010年分别进行了修订^[5-6];2022年12月,最新修订的国家标准《实验动物微生物、寄生虫学等级及监测》(GB 14922—2022)已经发布,并于2023年7月1日开始正式实施^[7]。本文基于新版国家标准GB 14922—2022的内容,介绍和分析了这一标准在修订前后的主要变化,以及与国际上其他机构发布的实验动物质量控制标准或指南的比较差异,并且就实验动物设施运行主体在制定微生物质量监测方案时应该关注的重要问题进行简要讨论,以供同行交流与参考。

1 国家标准的主要修订内容

本次标准修订主要做了以下几个方面的变动:将《实验动物 寄生虫学等级及监测》(GB 14922.1—2001)和《实验动物 微生物学等级及监测》(GB 14922.2—2011)的内容进行了合并;取消了清洁级动物的术语、定义和监测项目要求;对各种级别实验动物的监测项目清单中部分病原体进行了删除、修改、增加和调整;增加了“选取哨兵动物作为检测用动物”^[5-7]。

1.1 清洁级动物概念取消后的管理变更

“清洁级动物”是我国实验动物微生物标准化过程中曾作为普通级向无特定病原体 (specific pathogen-free, SPF) 级过渡的妥协产物。在过去较长的时间内,清洁级动物的等级划分为实验动物生产和使用单位提供了一个缓冲区,到现阶段它已经基本完成了其使命。本质上而言,清洁级动物是排除的病原体种类较少的SPF级动物。本次国家标准修订取消这一定义后,目前仍持有“清洁级”实验动物生产和使用许可证的单位应根据各自所在地区的主管部门的要求,将原证书取消或增加须排除的病原体检测后升级为“SPF级”

许可证。这个过程中可能涉及设施改造、重新检测设施环境、对动物进行微生物质量检测、修改现有动物管理制度和操作规程、动物净化或重新引种等多方面的工作,需要根据各地实际情况来调整相关管理办法。

1.2 监测项目清单变化及与国外标准的比较

在监测项目清单方面,修改后的国家标准与之前的标准相比,变化内容包括:删除了小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠(即地鼠)、兔的兔脑原虫、小肠结肠炎耶尔森菌、皮肤病原真菌、念珠状链杆菌,以及小鼠和大鼠的假结核耶尔森菌;把小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、兔的金黄色葡萄球菌修改为必要时检测项;把小鼠的鼠痘病毒、大鼠的冠状病毒/涎腺炎病毒、猴的猴痘病毒修改为必要时检测项;此外,针对免疫缺陷小鼠,增加了牛棒状杆菌和小鼠诺如病毒 (murine norovirus, MNV) 作为必要时检测项目^[5-7]。详见表1。

从以上变动可以看出,国家标准对监测项目清单“做减法”的同时,也在根据国内实际情况和国外实验动物设施管理经验进行了一定的更新。以小鼠病毒为例,与国外机构和组织的监测项目清单如FELASA的年度检测清单^[1]、JAX的监测病原体清单^[3]和CRL实验室的PRIA[®] (PCR Rodent Infectious Agents) 全项套餐相比^[2],目前我国的国家标准的检测项目数量还比较少(表2)。这就需要实验动物使用单位根据自己的实际需求调整清单;实验动物生产单位为了满足各种类型客户的多样化需求,需要制定一个包含更多病原体的监测清单,以便在市场竞争中获得优势。除了检测项目数量外,还有一些检测种类上的差异,例如国家标准要求小鼠检测“支原体 *Mycoplasma* spp.”,但欧美国家要求对小鼠检测“肺支原体 *Mycoplasma pulmonis*”;再比如,国家标准中要求小鼠检测的鞭毛虫没有具体到种,而CRL的PRIA[®]全项套餐中则指定要求检测贾第鞭毛虫、鼠六鞭毛虫、唇鞭毛虫和毛滴虫^[2,5-8]。

1.3 取消要求的项目说明

新版国家标准取消检测要求的几种病原体主要是基于多年来持续极低的检出率。例如,根据笔者所在的第三方检测机构苏州西山生物技术有限公司(下文简称西山生物)近五年的检测数据,小鼠的假结核耶尔森菌 ($n=951$)、小肠结肠炎耶尔森菌 ($n=967$)、皮肤病原真菌 ($n=959$)、兔脑原虫 ($n=3\ 351$) 均未检测到阳性样本,小鼠腺病毒阳性率为0.41% ($n=4\ 142$)。不过也有例外,例如兔脑原虫在实验兔中尚有较高的

表1 国家标准GB 14922—2022中实验动物微生物和寄生虫监测项目变化

Table 1 The changes of microbiological and parasitological monitoring lists in national standard GB 14922-2022

变化类别	监测项目(微生物和寄生虫)	动物种属
Change category	Monitoring items (microorganisms and parasites)	Animal species or genera
删除 Cancel	兔脑原虫 <i>Encephalitozoon cuniculi</i>	小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、兔
	小肠结肠炎耶尔森菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	
	皮肤病原真菌 <i>Pathogenic dermal fungi</i>	
	念珠状链杆菌 <i>Streptobacillus moniliformis</i>	
	假结核耶尔森菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	小鼠、大鼠
变更为“必要时检测” Changed to 'Test if necessary'	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、兔
	鼠痘病毒 <i>Ectromelia virus</i>	小鼠
	大鼠冠状病毒/涎腺腺炎病毒 <i>Rat coronavirus/sialodacryoadenitis virus</i>	大鼠
	猴痘病毒 <i>Monkeypox virus</i>	猴
增加 Addition	牛棒状杆菌 <i>Corynebacterium bovis</i>	免疫缺陷小鼠
	小鼠诺如病毒 <i>Mouse norovirus</i>	
名称变更 Name change	猴痘病毒的英文名称从 Simian pox virus 变为 Monkeypox virus	猴
	卡氏肺孢子虫 <i>Pneumocystis carinii</i> 变更为肺孢子菌属 <i>Pneumocystis</i> spp.	小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、兔
	大肠埃希菌 <i>O115 a,C,K(B)</i> 变更为啮齿柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter rodentium</i>	小鼠、大鼠

感染率(17.9%, $n=526$),但通常是隐性感染,发病率低。因此,本次标准修订将这个项目取消后,对于那些在研究中使用兔且需要排除这个病原体的实验设施,以及需要满足这类客户要求的生产单位而言,就需要制定个性化的监测项目清单。

1.4 改为必要时检测的项目说明

本次标准修订时将必须检测项目修改为必要时检测的有SPF级小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠和兔的金黄色葡萄球菌,SPF级小鼠的鼠痘病毒,SPF级大鼠的大鼠冠状病毒/涎腺腺炎病毒,SPF级猴的猴痘病毒。从西山生物2022年的检测数据看,大鼠中金黄色葡萄球菌有12.56% ($n=1\,154$)的检出率,但小鼠中检出率较低,仅有0.28% ($n=8\,228$)。此外,潘金春等^[9]报告2013—2015年广东省实验小鼠的金黄色葡萄球菌检出率为0.7% ($n=858$),实验大鼠的金黄色葡萄球菌检出率为2.9% ($n=104$)。由于健康人体表有25%左右的金黄色葡萄球菌带菌率^[10-12],因此对于采用开放式笼具饲养的大鼠而言,金黄色葡萄球菌的控制尤为困难。在免疫功能正常的动物中,金黄色葡萄球菌的定植通常都是无症状的,但如果皮肤发生破损,则容易发生继发感染^[13]。值得一提的是,金黄色葡萄球菌并非唯一可以定植并导致感染的葡萄球菌,木糖葡萄球菌、松鼠葡萄球菌等定植并导致动物出现皮肤病变在临床上也时有发生^[14-15]。

另一个由“必须检测”修改为“必要时检测”的重要病原体是鼠痘病毒。该病毒感染小鼠后往往会造成较高的发病率和病死率,发病动物出现眼睑炎、皮

肤破损,甚至四肢和尾部脱落等有特征性的病变^[16]。随着管理水平的提升,很多实验动物机构已经多年未见动物感染该病毒,每年仅能从个别设施送检的样本中检测到阳性结果,例如2022年西山生物对该病毒的检测阳性率只有0.1% ($n=7\,822$)。潘金春等^[9]报告,2013—2015年广东省该病毒检出率为0.3% ($n=875$)。

大鼠冠状病毒/涎腺腺炎病毒、猴痘病毒也由必须检测项目修改为必要时检测项目。不过这种修改并不意味着设施管理者可以忽视这些病原的监测,在怀疑有本病流行、引入进口动物等情况下,还是应该检测确认。

1.5 新增检测项目说明

本次国家标准的监测项目清单中,虽然大多数变动是删除罕见病原体或将一些病原体从必须检测项目修改为必要时检测项目,但同时也根据啮齿类动物微生物检出情况以及这些病原体对动物和实验的影响程度,选择性地增加了免疫缺陷小鼠需要排除MNV和牛棒状杆菌两种病原体。

MNV是实验小鼠中感染率最高的病原体之一。西山生物2018—2022年检测数据显示MNV阳性率为13.96% ($n=7\,741$)。刘芳妮等^[17]2023年对北京19家公司的5种品系共1396份实验小鼠粪便样本进行MNV检测,结果显示不同品系小鼠的阳性率为10%~40%。美国CRL实验室2009年公布欧洲3年、北美5年的MNV阳性率32.37%^[18]。免疫正常和大多数免疫缺陷小鼠感染MNV后不会表现临床症状,但干扰素 α 、 β 、 γ 受体和信号转导和转录激活因子1(signal transducers

表2 不同标准的小鼠病毒监测项目
Table 2 Mouse virus lists of different standards

病毒 Virus	国家标准 ^a		FELASA ^b	JAX ^c	CRL ^d
	National standards				
	2022	2011			
鼠痘病毒 Ect.	○	●	○	●	○
小鼠肝炎病毒 MHV	●	●	●	●	●
仙台病毒 SV	●	●	○	●	○
小鼠肺炎病毒 PVM	●	●	○	●	○
呼肠孤病毒Ⅲ型 Reo-3	●	●	○	●	●
小鼠微小病毒 MVM	●	●	●	●	●
汉坦病毒 HV	○	○	◎	●	○
淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 LCMV	○	○	○	●	●
小鼠脑脊髓炎病毒 TMEV(GDV II)	○	○	●	●	●
小鼠腺病毒 MDA	取消	○	○	●	●
多瘤病毒 POLY	○	○	◎	●	○
小鼠轮状病毒 RRV			●	●	●
小鼠细小病毒1&2 MPV 1 & 2			●	●	●
小鼠诺如病毒 MNV	◎		●	●	●
小鼠胸腺病毒 MTV				●	●
K病毒 K virus				●	
小鼠巨细胞病毒 MCMV			◎	●	○
小鼠肾细小病毒 MKPV				●	●
乳酸脱氢酶升高病毒 LDV			◎	●	●
星状病毒 Astrovirus					○

注：^a国家标准中，●必须检测项，○必要时检测项，◎免疫缺陷动物要求检测项；^b欧洲实验动物联合会（FELASA）的小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、家兔繁殖和实验单元的健康监测指导意见的年度检测清单中，●季度检测，○年度检测，◎额外检测的病原体；^c美国杰克逊实验室（JAX）的监测病原清单中，●要求排除的病原体；^d美国查士瑞华实验室（CRL）动物健康监测计划中，●PCR啮齿类动物传染源（PRIA）年度检测，○PRIA全项。

Note: ^aIn National standard, ● indicates mandatory items, ○ indicates optional detection items, ◎ indicates required items only for immunodeficient animals. ^bIn Federation of Laboratory Animal Science Associations (FELASA) recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, Guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units, ● indicates every three months, ○ indicates annually, ◎ indicates additional agents. ^cIn Jackson Laboratory (JAX) list of agents monitored, ● indicates agents required to be excluded. ^dIn Charles River Laboratory (CRL) animal health monitoring program, ● indicates annual PCR Rodent Infectious Agents (PRIA), ○ indicates comprehensive PRIA.

and activators of transcription 1, STAT1) 缺失的小鼠感染 MNV 后会出现全身性疾病, 死亡率高; MNV 患病小鼠会出现体重减轻、竖毛和弓背等症状, 129 和 C3H 小鼠实验感染 MNV-1 还可出现轻度腹泻。MNV 对巨噬细胞和树突状细胞的趋向性可能会改变免疫反应, 影响免疫相关研究; MNV 感染还可能会干扰肠道疾病的研究结果^[19]。

牛棒状杆菌感染裸小鼠后通常有 7~10 d 的潜伏期, 随后可能出现角化过度症, 并持续 2~3 周, 但症状消失后感染还会持续, 且可能持续终生。重度联合免疫缺陷小鼠感染牛棒状杆菌后则会出现脱毛、皮肤角化过度、结膜炎等症状, 甚至死亡^[20]。免疫健全小鼠通常不感染牛棒状杆菌, 或仅为一过性感染。但目

前我们也发现, 有些菌株感染裸小鼠后并不会引起角化过度症, 而是更隐蔽地感染动物并影响实验结果。牛棒状杆菌在我国许多设施都曾爆发流行, 2018—2021 年西山生物总体检出率为 3.07%~6.61%; 2022 年有数个单位发生污染, 阳性率上升到 22.84% ($n=1\ 690$)。2022 年, 美国 CRL 公布的数据显示, 该菌在小鼠中属于“常见”的病原体, 检出率为 1%~5%^[2]。

2 基于国家标准制定微生物质量监测方案时应关注的重要问题

2.1 监测项目清单中未修改但需要注意的病原体
在征求修改意见时有专家对有些病原体提出修改建议, 但本次标准修订时没有对其作修改。例如国家

标准中对小鼠和大鼠支原体的要求是排除支原体属 *Mycoplasma* spp.。但迄今为止,从动物体内分离并鉴定出的支原体种类繁多,已超过200种,而且大部分对人和动物不致病,仅少数(约30种)可引起不同程度的疾病。其中可在小鼠和大鼠中定植的包括肺炎支原体 (*M. pulmonis*)、关节炎支原体 (*M. arthritis*)、溶神经支原体 (*M. neurolyticum*) 等几种^[21-22]。在国际上其他同类标准中,被列入需排除病原体清单的仅有肺炎支原体 (*M. pulmonis*)^[1-3]。因此,在本版国家标准使用过程中,这种更大范围的支原体检测(特别是使用分子生物学方法时)也可能导致出现不必要的阳性报告。不过GB/T 14926.8—2001中明确指出,使用的抗原要求是肺炎支原体 (*M. pulmonis*)、关节炎支原体 (*M. arthritis*)、溶神经支原体 (*M. neurolyticum*)^[23],因此选择ELISA方法进行检测可以在一定程度上避免这种麻烦。笔者也建议,在后续的标准修订过程中增加分子生物学检测方法时,仅检测可以在啮齿类动物中定植并造成危害和影响实验的几种病原体即可,而不是检测整个支原体属。

2017年,嗜肺巴斯德杆菌和亲缘性相近的啮齿类巴斯德杆菌科细菌被重新归类为啮齿类杆菌属 (*Rodentibacter*),嗜肺巴斯德杆菌的 Heyl 和 Jawetz 生物型分别被定义为啮齿杆菌 H 型 (*Rodentibacter heylii*) 和嗜肺啮齿杆菌 (*Rodentibacter pneumotrophicus*)^[24]。但现在国家标准中还是使用了嗜肺巴斯德杆菌这一名称,也没有对不同生物型作出明确定义和要求,因此需要在检测中注意不同型的差异,避免漏检或误判。

2.2 监测项目清单中未要求但应关注的病原体

国家标准对有些病原体未做要求,但是部分从业和相关研究者应该关注。例如肾细小病毒,2018年才被发现,可以在重度免疫缺陷小鼠肾脏中检测到;据报告,在实验小鼠中该病毒阳性率为5.8%,野生成年动物中阳性率可达62%,宠物中阳性率为23%,细胞系、肿瘤等生物材料中阳性率为4%。肾细小病毒可引起重度免疫缺陷小鼠的慢性肾小管间质性肾病、肾纤维化等,最终导致动物死亡^[25-27]。由于该病毒感染可显著影响动物免疫功能和实验结果,特别是在那些和肾病研究相关的项目中尤其需要排除该病毒。国外CRL等供应商已经将该病毒列入自己的监测清单。尽管此次国家标准尚未要求检测肾细小病毒,但国内动物供应商和相关研究人员也应积极关注这类新发现病原,必要时进行及时监测和控制。

类似的还有螺杆菌,在国内外实验小鼠中检出率都非常高。2009年美国CRL报告,欧洲3年、北美5年的小鼠螺杆菌阳性率为16%^[18]。2022年西山生物检测小鼠螺杆菌阳性率为10.01% ($n=2\ 799$)。潘金春等^[9]报告,2013—2015年广东省实验小鼠中螺杆菌检出率为45.3% ($n=203$)。2020版中国药典三部“特定生物原材料/动物及辅料”中的“生物制品生产及检定实验动物质量检测”篇中,对生物制品生产和检定用的实验动物质量要求进行了更新,明确在检定用SPF级小鼠和生产用小鼠中必须排除螺杆菌。本次国家标准修订没有将其列入监测清单,这虽然给生产和使用单位留下了缓冲区,但相关人员应该根据自己的研究项目需要监测螺杆菌。

除了现有标准提及的各类病原体外,也有一些病原体已经被多篇文献报告对动物健康有危害。例如唐菖蒲伯克霍尔德菌,通常来自污染的水、肿瘤、细胞等材料,动物被其感染可出现中耳炎症状,甚至死亡,剖检可见肝脏表面有白色点状坏死^[28-29]。这提示在遇到动物出现异常死亡时,一定要及时检测确认是否为唐菖蒲伯克霍尔德菌感染所致,同时也应重视生物材料的微生物质量监测。

3 国家标准与CRL健康监测方案在其他方面的比较

在与国外标准比较时,病原体监测清单固然是最重要的关注点,但是此外还有很多值得深入讨论的关键点。本文以国际实验啮齿类动物最大供应商CRL的动物健康监测方案(以下简称CRL标准)作为比较对象,简述我国国家标准与其异同。需要说明,这种比较并不是为了说明哪种标准更好,只是就这些异同讨论动物质量监测方案制定的要点,以帮助读者更好地制定适合自己设施的完整监测方案。而且国家标准的设置目的并非为了指导设施具体的做法,而是提出最终要达到的要求,因此并不会对具体做法加以详述;相应地,企业标准却是为了指导具体的质量控制工作,会阐述具体方法。这也是两种类型的标准出现差异的主要原因之一。

3.1 风险评估

国家标准中没有提及如何针对自己的设施开展风险评估工作,但是这一步其实是至关重要的,只有充分评估自己的设施后才有可能制定出更合适的监测方案。CRL标准就如何针对笼具系统、动物种类和免疫

状况、要开展的科研实验进行风险评估均做了描述,在风险评估的基础上确定自己设施的监测项目清单、检测对象、选用的检测方法、检测频率等。

3.2 监测方案

国家标准中监测方案涉及了直接抽检和哨兵鼠两种方案。其中,用直接抽检法时还规定了不同规模的种群的抽样数量,不过在实际工作中,考虑到成本问题,往往很难达到国家标准要求的抽样数量。而国家标准中关于哨兵鼠方案,仅增加了“选取哨兵动物作为检测用动物”的描述,没有对哨兵鼠设置方法和该方案的适用情况做具体要求。CRL标准中则针对哨兵鼠选择、设置、采样、监测效果等方面做了详细描述和讨论,并针对广泛应用的脏垫料哨兵鼠方案会出现的滞后性,以及对难以通过粪口途径传播的病原体(例如仙台病毒、部分螺杆菌、嗜肺巴斯德杆菌等)易产生漏检的特点,介绍了通过检测环境样本和通风口粉尘样本(exhaust air dust, EAD)补充或替代的方案。此外, CRL标准还就如何对进场动物进行检疫,描述了基于哨兵鼠的检疫方案和基于无哨兵鼠的PCR检测检疫方案,具有很强的可操作性。

3.3 检测方法

国家标准用GB/T 14926来补充等级监测标准,目前主要推荐使用的是血清学方法、培养法、镜检法,个别项目涉及PCR方法。CRL标准中PCR方法得到更广泛的应用。截至目前,我国已经建立了多种病原微生物的核酸检测方法,并以团体标准的形式发布实施^[30],也越来越受到设施管理者的认可。在实际使用过程中,应该结合自己实验室的具体情况,决定是否开展PCR检测。由于PCR敏感性高,更容易发生气溶胶污染,因此如果自身的硬件或软件条件不满足PCR检测要求,则应该考虑委托专业实验室完成相关检测。国家标准和CRL标准都强调要对阳性结果进行确认,因为实验室报告的每一个阳性结果,都可能会给设施管理带来一连串的连锁反应,因此所有报告的阳性结果都必须慎重确认,并附加必要的结果解释和说明。

3.4 检测频率

就检测频率而言,不同的标准基本都是要求季度检测。CRL标准还建议对检出率高的项目可以调整更高的检测频率。FELASA对部分不常检出项目仅要求每年检测一次。尽管国家标准中没有相关描述,但在实际工作中,我国的许多设施管理者也会根据实际情况调整检测频率。

3.5 生物材料检测

对生物材料的微生物检测要求是防止动物设施发生污染的一个重要因素。2015年美国IDEXX公司在美国实验动物学会(American Association for Laboratory Science, AALAS)年会上公布的数据显示,人源生物制品中有较高携带率的病原体包括EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV) (3.1%)、人乳头瘤病毒16型(human papillomaviruses 16 subtype, HPV16) (3.4%)、牛棒状杆菌(4.1%)等。而美国CRL检测约5 000份生物材料(主要是啮齿类动物来源样本,也包含人源样本)后发现,最常见的病原微生物有支原体属、细小病毒、多瘤病毒、乳酸脱氢酶升高病毒等,总污染率为0.2%~1%。国内陈国元等^[31]也提出,该单位对进入屏障设施的生物材料进行检测后发现,2015—2019年细菌平均检出率为1.99%,支原体平均检出率为4.81%。因此,对进入设施的生物制品的质量控制也是防止设施内动物发生微生物感染的重要措施。

3.6 阳性动物处置

国家标准中没有提出对阳性动物处置要求。但CRL标准中介绍了动物感染范围的确认方法,并对必须保留且可以治疗的少数病原体感染动物的治疗方案做了简单介绍;针对大多数无法通过治疗清除的病原体,则要求通过胚胎移植、剖宫产等方法重新净化。

4 总结

本次国家标准修订以做“减法”为主,取消了“清洁级”动物的定义及相关要求,从监测项目中删除了部分检出率极低的病原体,也尝试把一些病原体从必须检测项调整为必要时检测项;同时根据微生物流行情况和对动物健康及研究的影响程度,适当在SPF级免疫缺陷小鼠必要时检测项中添加了牛棒状杆菌和MNV两种病原体。

尽管国家标准是全国范围内适用的基本要求,但是不同地区实验动物科技产业发展的不均衡性决定了同一套标准不可能适用于所有设施,对于那些实验动物产业相对发达的地区和管理要求更高的设施,应该根据自己地区和设施的实际情况,制定更适合自己的地方标准或企业标准,进一步规范实验动物设施管理,保障实验动物从业人员安全,完善实验动物健康监测体系,进而促进我国实验动物科技产业不断前进和发展。

致谢: 感谢中国医学科学院医学实验动物研究所魏强研究员、军事医学研究院实验动物中心范薇研究员、中国科学院分子细胞科学卓越创新中心吴宝金研究员、上海市公共卫生临床中心周晓辉研究员在本文撰写及修改过程中提供的建议和意见。同时感谢 GB 14922—2022 标准修订组其他成员如向志光、付瑞、张钰、李文龙、刘恩岐、吕龙宝、袁宝、韩雪、吴旭颖等的工作。

[利益声明 Declaration of Interest]

作者声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] FELASA WORKING GROUP ON REVISION OF GUIDELINES FOR HEALTH MONITORING OF RODENTS AND RABBITS, MÄHLER CONVENOR M, BERARD M, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units[J]. Lab Anim, 2014, 48(3): 178-192. DOI: 10.1177/0023677213516312.
- [2] A guide to modern strategies for infection surveillance of rodent populations [DB/OL]. (2022) [2023]. <https://www.criver.com/resources/info-pi-rm-guidebook-strategies-infection-surveillance>.
- [3] Lists the organisms that are excluded from all Jackson Laboratory animal rooms[DB/OL]. (2022) [2023]. <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/customer-support/customer-service/animal-health/list-of-agents-monitored>.
- [4] 罗银珠, 闵凡贵, 王静, 等. 病原微生物防控在实验动物设施管理与生物安全控制中的作用探讨[J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(5):443-449. DOI:10.12300/j.issn.1674-5817.2020.219. LUO Y Z, MIN F G, WANG J, et al. Prevention and control of pathogenic microorganisms for the management and biosafety control in laboratory animal facilities[J]. Lab Anim Comp Med, 2021, 41(5):443-449. DOI:10.12300/j.issn.1674-5817.2020.219.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 实验动物 寄生虫学等级及监测: GB 14922.1—2001[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Laboratory animal—Parasitology level and monitoring: GB 14922.1-2001 [S]. Beijing: China Standards Press, 2004.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 实验动物 微生物学等级及监测: GB 14922.2—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization administration. Laboratory animal—Microbiological standards and monitoring: GB 14922.2-2011 [S]. Beijing: China Standards Press, 2011.
- [7] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 实验动物微生物、寄生虫学等级及监测: GB 14922—2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022. State Administration for Market Regulation, National Standardization Administration. Laboratory animal—Microbiological and parasitological standards and monitoring: GB 14922—2022[S]. Beijing: China Standards Press, 2022.
- [8] 陶凌云, 周洁, 胡建华, 等. 国内外大鼠和小鼠微生物、寄生虫检测标准的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(2):166-172. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2020.02.014. TAO L Y, ZHOU J, HU J H, et al. Comparison of microbiological and parasitological monitoring of rats and mice[J]. Lab Anim Comp Med, 2020, 40(2):166-172. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.02.014.
- [9] 潘金春, 赵维波, 陈梅玲, 等. 2013年~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, 85. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.02.012. PAN J C, ZHAO W B, CHEN M L, et al. Microbiological and parasitological investigation in laboratory mice and rats in Guangdong Province from 2013 to 2015[J]. Chin J Comp Med, 2017, 27(2):64-69, 85. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.02.012.
- [10] 陈南菊, 陈群. 大学生鼻腔金黄色葡萄球菌带菌状况及药敏检测[J]. 中国校医, 2000, 14(3):167-168. DOI: CNKI:SUN:XIYI.0.2000-03-004. CHEN N J, CHEN Q. Nose *Staphylococcus aureus* carrier status and drug sensitivity testing among college students [J]. Chin J Sch Dr, 2000, 14(3):167-168. DOI: CNKI:SUN:XIYI.0.2000-03-004.
- [11] 马笑雪, 罗恩杰. 社区分离金黄色葡萄球菌在健康人群中的分布及其分子生物学特点[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(8): 804-807. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.08.016. MA X X, LUO E J. Distribution of *Staphylococcus aureus* strains colonized in healthy community population and molecular epidemiological characteristics for MRSA strains [J]. Chin J Epidemiol, 2011, 32(8): 804-807. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.08.016.
- [12] 陈百计, 姚泽宇, 王彤, 等. 广州社区人群金黄色葡萄球菌鼻腔携带调查和分子流行特征[J]. 热带医学杂志, 2017, 17(12):1583-1588. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2017.12.004. CHEN B J, YAO Z Y, WANG T, et al. Molecular and epidemiological characteristics of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among the general population in Guangzhou[J]. J Trop Med, 2017, 17(12): 1583-1588. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2017.12.004.
- [13] PERCY D H, BARTHOLD S W, GRIFFEY S M. Pathology of laboratory rodents and rabbits[M]. 4th ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons, Inc., 2016.
- [14] GOZALO A S, HOFFMANN V J, BRINSTER L R, et al. Spontaneous *Staphylococcus xylosus* infection in mice deficient in NADPH oxidase and comparison with other laboratory mouse strains[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2010, 49(4):480-486. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2010.00953.x.
- [15] KENGKOOM K, AMPAWONG S. *Staphylococcus sciuri* associated to subcutaneous abscess and dermatitis in ICR mouse[J]. Arq Bras Med Vet Zootec, 2017, 69(1):117-122. DOI: 10.1590/1678-4162-8563.
- [16] LABELLE P, HAHN N E, FRASER J K, et al. Mousepox detected in a research facility: case report and failure of

- mouse antibody production testing to identify Ectromelia virus in contaminated mouse serum[J]. Comp Med, 2009, 59(2):180-186. DOI: 10.1016/j.cbpc.2008.10.106.
- [17] 刘芳妮, 吕军苹, 柯跃华, 等. 北京地区实验小鼠诺如病毒流行情况[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(2):205-211. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.126.
- LIU F N, LU J P, KE Y H, et al. Prevalence of mouse Norovirus in experimental mice in Beijing[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43(2): 205-211. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.126.
- [18] PRITCHETT-CORNING K R, COSENTINO J, CLIFFORD C B. Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats[J]. Lab Anim, 2009, 43(2):165-173. DOI: 10.1258/la.2008.008009.
- [19] SEAMONS A, TREUTING P.M, MEEKER S, et al. Obstructive lymphangitis precedes colitis in murine *Norovirus-infected* Stat1-deficient mice[J]. Am J Pathol, 2018, 188(7): 1536-1554. DOI: 10.1016/j.ajpath.2018.03.019.
- [20] MANUEL C A, PEARSON E C, PUGAZHENTHI U, et al. A clinical scoring systems for the evaluation of *Corynebacterium bovis*-associated disease in NSG mice[J]. Comp Med, 2022, 72(6): 386-393. DOI: 10.30802/aalas-cm-22-000098.
- [21] CASSELL G H, DAVIS J K, LINDSEY J R. Control of *Mycoplasma pulmonis* infection in rats and mice: detection and elimination vs. vaccination[J]. Isr J Med Sci, 1981, 17(7): 674-677. DOI: 10.1080/09668136.2014.912853.
- [22] COLE B C, GOLIGHTLY-ROWLAND L, WARD J R. Arthritis of mice induced by *Mycoplasma arthritidis*. Humoral antibody and lymphocyte responses of CBA mice[J]. Ann Rheum Dis, 1976, 35(1):14-22. DOI: 10.1136/ard.35.1.14.
- [23] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 实验动物微生物学检测方法: GB/T 14926—2001 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Laboratory animal—Microbiological examination methods: GB 14922—2001[S]. Beijing: China Standards Press, 2001.
- [24] ADHIKARY S, NICKLAS W, BISGAARD M, et al. *Rodentibacter* Gen. nov. including *Rodentibacter pneumotropicus* comb. nov., *Rodentibacter heylii* sp. nov., *Rodentibacter myodis* sp. nov., *Rodentibacter ratti* sp. nov., *Rodentibacter heidelbergensis* sp. nov., *Rodentibacter trehalosifermentans* sp. nov., *Rodentibacter rarus* sp. nov., *Rodentibacter mrazii* and two genomospecies[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2017, 67(6):1793-1806. DOI: 10.1099/ijsem.0.001866.
- [25] ROEDIGER, B. LEE Q, TIKOO S, et al. An atypical parvovirus drives chronic tubulointerstitial nephropathy and kidney fibrosis[J]. Cell, 2018, 175(2): 530-543. e24. DOI: 10.1016/j.cell.2018.08.013.
- [26] WILLIAMS S H, CHE X Y, GARCIA J A, et al. Viral diversity of house mice in New York city[J]. mBio, 2018, 9(2): e01354-17. DOI: 10.1128/mbio.01354-17.
- [27] CRIM M, BESCH-WILLIFORD, HART M L, et al. Mouse kidney parvovirus: A newly characterized parvoviral pathogen of research mice[C]. Prague: FELASA Congress, IBA-US 84-2 MKPV Poster, 2019.
- [28] COLLYMORE C, GIULIANO F, BANKS E K. Head tilt in immunodeficient mice due to contamination of drinking water by *Burkholderia gladioli*[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2019, 58(2):246-250. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-18-000106.
- [29] 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. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.03.010.
- WANG J, YUAN W, MIN F G, et al. Establishment of a series of social organization standards on a PCR method for pathogen detection in laboratory animals[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(3): 60-66. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.03.010.
- [30] FOLEY P L, LIPUMA J J, FELDMAN S H. Outbreak of otitis media caused by *Burkholderia gladioli* infection in immunocompromised mice[J]. Comp Med, 2004, 54(1):93-99. DOI: 10.1053/S1096-2867(03)00084-7.
- [31] 陈国元, 康康, 李晓娴, 等. 实验材料检测在 SPF 级实验小鼠质量控制中的应用[J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(1): 61-65. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2020.092.
- CHEN G Y, KANG K, LI X X, et al. Application of experimental material inspection in quality control of SPF mice[J]. Lab Anim Comp Med, 2021, 41(1): 61-65. DOI:10.12300/j.issn.1674-5817.2020.092.
- (收稿日期: 2023-06-27 修回日期: 2023-08-08)
(本文编辑: 张俊彦, 富群华, 丁宇菁)

[引用本文]

郭连香. 实验动物微生物、寄生虫学等级及监测标准的变化及与国外标准的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(4): 339-346. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.088.

GUO L X. Revision of standards for microbiological and parasitological grades in laboratory animals and its comparison to foreign standards[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43(4): 339-346. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.088.