

第九章 T/CALAS 60—2018《实验动物 长爪沙鼠病理学诊断指南》实施指南

随着近代生物医学研究的迅速发展，特别是在生命科学领域研究中，通过动物实验已获得了一个又一个伟大的成就，在其推动下实验动物学现在已经发展成为一门独立的、综合性的基础学科，是生命科学的一个分支，同时又是生命科学研究重要的基础支撑条件。实验动物被称为活的“精密仪器”，科学研究对受试动物本身不断提出更高的要求，人们更加重视受试动物的遗传学、营养学、微生物学、病理学和环境学等各个方面的质量控制，以提高动物实验结果的准确性和可重复性。

国家科委第2号令发布实施《实验动物管理条例》，从此我国实验动物工作逐步实行统一的法制化、标准化管理体制，对实验动物质量和动物实验质量的管理有较为完善的组织机构体系、法规标准体系和质量保障体系。

长爪沙鼠是源自我国的一种新开发的小型啮齿类实验用动物，是一种抗旱能力强，具有独特的生物学特性的“多功能”实验动物，研究应用领域正在不断开发和扩展中。长爪沙鼠的脑底动脉、前列腺、眼耳等具有独特的解剖结构，对一些寄生虫和病毒易感，目前主要应用于寄生虫病、细菌病、病毒病的研究，以及脑缺血、高脂血症、听觉和神经行为学、内分泌、代谢等研究。在这些研究领域，动物所患疾病的病理学变化已有比较充分的描述（谢欣昱和杜小燕，2012；肖丽等，2013；李长龙等，2014），但是各研究之间采用的技术规范不统一，病理变化判定标准有差别，给各研究结果之间的比较带来困惑。在对动物本身的形态学特征方面，只有关于肾脏解剖形态特点的报道（赵文杰等，2014）。

目前，关于长爪沙鼠自身形态学特点、健康状态的判定、自发疾病的形态学资料，以及可能对动物实验结果分析产生干扰的形态改变缺乏系统的研究和基础资料。也有很多学者将其用于一些人类疾病的研究，并取得了很大成果，但这些工作没有统一的结果判定标准，没有形成有效的质量控制标准。目前，针对长爪沙鼠尚无国家标准、行业标准或地方标准发布但又用于许多人类疾病的实验研究中，这种形势将会影响科学研究的进程，制约生命科学的发展，甚至会威胁到从业人员和科研人员的身心健康，因此我们建立长爪沙鼠质量控制标准，填补实验动物行业针对长爪沙鼠的标准化空白。

第一节 工作简况

一、任务来源

2017年5月,经过全国实验动物标准化技术委员会审查同意,由中国实验动物学会下达《实验动物 长爪沙鼠环境控制》团体标准编制任务。

二、起草单位、协作单位

本标准起草单位为中国人民解放军总医院。

本标准协作单位:由北京市实验动物行业协会主持课题统一协调,与首都医科大学密切合作,尽可能节约资源,尽量利用同一批动物完成本课题研究。课题承担单位接受北京市科学技术委员会和北京市实验动物管理办公室的监督检查,将借助北京市科委对科研项目的良好管理体系保障本项目的顺利实施。

三、主要起草人

贾云晓 中 级 中国人民解放军总医院

陈 华 研究员 中国人民解放军总医院

第二节 工作过程

标准《长爪沙鼠 病理学诊断指南》的立项、编制与论证经历了很长的时间,具体工作过程如下:

1. 立项

2016年12月,向北京市质量技术监督局申请标准立项。

2. 启动编写事宜

2017年3月,召开课题论证启动会,认真学习标准化工作导则及相关文件,就标准的内容、定位、体例格式进行充分讨论,确定标准修订编写事宜。

3. 制定研究方案

查阅大量文献资料,结合对长爪沙鼠病理学特点的调研情况,整理总结长爪沙鼠的病理学研究资料,提出研究方案。

4. 开展实验研究

本课题研究长爪沙鼠临床病理学、解剖病理学。完成长爪沙鼠的血常规及血液生物化学等临床病理学检查;解剖病理学及组织病理学观察。

5. 制定长爪沙鼠病理学诊断指标

分析研究结果,确定长爪沙鼠的病理学诊断指标及相应的判定标准。

6. 征求意见稿

2017年3~6月,完成病理地方标准编写,形成标准征求意见稿。

7. 专家论证会

2017年7月,组织专家论证会,经专家咨询论证后修订起草的病理地方标准。

8. 专家论证会

2017年9月,再次组织专家论证会征求专家意见,根据专家意见进一步修订病理地方标准。

9. 标准预审会

2018年1月,北京市实验动物标准化委员会召开地方标准预审会,收集专家意见,并进行修改完善。

10. 标准讨论会

2018年5月24日,召开标准讨论会,收集专家意见,根据专家意见进行修改,形成送审稿。

11. 标准审查会

2018年6月11日,召开标准审查会,根据专家意见修改,形成报批稿。

第三节 编写背景

长爪沙鼠是一种抗旱能力强,具有独特的生物学特性的“多功能”实验用动物资源,是我国新开发的实验用动物。目前各研究领域中动物所患疾病的病理学变化已有比较充分的描述,但是各研究之间采用的技术规范不统一,病理变化判定标准有差别,给各研究结果之间的比较带来困惑。

虽然长爪沙鼠已经应用于科学研究,但由于其应用历史较短,其形态学资料不完整,尤其与疾病相关的病理资料十分有限,在这些实验动物的实际应用过程中,健康状态和形态学的改变,对实验结果的判定会产生重要影响,在病理学方面缺乏统一的判定标准。因此,急需建立长爪沙鼠的病理学诊断标准,从而客观地判定动物的健康状态,科学地分析组织形态学改变与实验研究的关系,为长爪沙鼠的实验应用提供基础,为北京地区乃至全国实验动物行业的发展起到引领作用。目前,针对长爪沙鼠尚无国家标准、行业标准或地方标准发布,因此需尽快建立长爪沙鼠质量控制标准,填补实验动物行业针对长爪沙鼠的标准化空白。

第四节 编制原则

一、制定标准的原则和依据

(一) 病理学诊断依靠病理学专业人员

病理学是一门经验医学,长爪沙鼠可能出现的病理改变多种多样,给出一个统一的病变判定标准难以实现,病理标准的制定主要规范可能影响病变判定的技术方法,同时明确判定规则,对病变的诊断仍然依赖于病理学专业人员的经验和判断。

（二）注重标准执行的可行性

实验动物的健康状况受多种因素影响，判断动物健康与否的检测内容也多种多样，长爪沙鼠健康状况的检查充分考虑到标准执行的可行性，同时作为实验动物质量控制标准还应考虑到标准的执行成本。因此，本标准内容仅设定了外观检查、血液化验检查和解剖病理学检查，指标的设定充分考虑了对动物健康状况的代表性和经济性。

第五节 内 容 解 读

本标准适用于长爪沙鼠的病理学诊断，从病理学检查的检查规则、检查程序、临床病理学、解剖病理学、检查报告进行分析。

一、检查规则

长爪沙鼠血液比较黏稠，8 周龄以下的个体较小，获取的血液与血清不够用于检测，因此通过随机抽样的方式，选择 8 周龄以上的长爪沙鼠用于检测，每 6 个月至少检查一次。根据长爪沙鼠的群体大小，进行抽样检查，抽样数量见表 1。

表 1 长爪沙鼠抽样数量

（单位：只）

群体数量	抽样数量
少于 100	应不少于 5
100~500	应不少于 10
大于 500	应不少于 15

二、检查程序

考虑长爪沙鼠个体小、易获得且成本小，所以采取临床病理学和解剖病理学同步检查的方式，通过麻醉放血处死。检查程序见图 1。

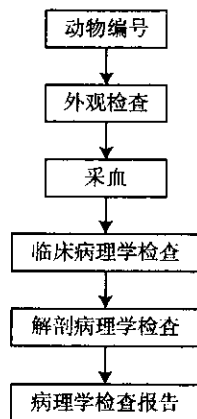


图 1 检查程序

三、临床病理学检查

（一）外观检查

考虑到监督检查工作的可行性，以及病理学检查最终需要安乐死动物可以进一步检查更多项目，则外观检查内容以尽可能简捷为原则，主要为眼观项目，包括精神状态、被毛情况、运动与行为。

（二）血液学与血清生物化学检查

本标准主要参考了药物安全性评价的国际规范，考虑到监督检查工作中标准的可行性和经济性，选择对健康状况最有代表性的血常规指标和血清生物化学指标进行检测。

生理指标正常值范围的设定需要大样本的检查结果并与临床情况相

结合。本课题所选择研究的动物数量有限,因此,血液化验指标正常值范围的设定主要依赖统计学的方法,将所获得的检测指标数据做正态分布统计,以95%可信范围作为正常值范围。由于研究样本数量不够大,即便经过统计学的处理,作为生理指标正常值范围的设定仍然难免存在偏差,因此,还大量参考了已发表文献中的数据,对以上95%可信范围进行了修正。目前还未有无菌级长爪沙鼠,其生理指标主要参考无菌小鼠。这样获得的血液化验指标正常值范围还需要实践的检验,并在不断丰富数据资料的基础上做进一步的修订。

我们规定了血液学检查和血清生物化学检查的样本采集与处理方式、检查项目及指标正常参考值,其正常参考范围分别参见附录A、附录B。

四、解剖病理学检查

(一) 大体解剖

遵循动物福利伦理对检测的长爪沙鼠进行安乐死,即放血致死,既可以减少动物的痛苦,又可以更好地达到病理组织取材的要求,减少病理组织内残留淤血而影响后续的病理制片效果。

按DB11/T 1462.1—2017中7.2.1的要求进行大体解剖。大体解剖检查内容尽可能全面,这样有利于全面了解动物的健康状态,包括体表、皮下、腹腔、胸腔、盆腔、头颈部等的各组织脏器。

(二) 组织病理学检查

考虑到检查成本和时间限制,依据长爪沙鼠病理学研究的实践经验,组织病理学检查项目选择最主要的脏器和大体解剖发现异常的器官和组织。按照附录C常规病理学组织病理标本取材规范的要求,取心、肺、肝、脾、肾、胃、肠及淋巴结、睾丸/卵巢等主要器官,以及大体解剖检查发现异常的器官和组织,应用常规的病理学制片进行组织病理学检查,当不能明确判断结果时,可进行特殊染色和免疫组织化学鉴定,并且由具有动物病理诊断经验和资质的病理学专业人员进行阅片与诊断。

本标准通过搜集、整理长爪沙鼠的病理学资料,以及通过本实验室对长爪沙鼠的病理学研究,归纳总结长爪沙鼠主要脏器组织的解剖学特点,具体参见附录D。

五、检查报告

本标准制定过程中的结果判断,主要参考临床出具的检查报告的形式,不再定义实验动物合格或者不合格,送检单位可根据实验需求,根据检测报告选择如何处理动物,若病理检测结果对实验无影响,则可以继续使用动物完成实验,这样可以减少实验动物淘汰率,节约实验成本。

1. 检查报告的书写要求

本标准规定了长爪沙鼠病理学检查报告的书写要求。

病理检查报告书应准时、规范、文字准确、字迹清楚;内容的表述和书写应准确和完整,用中文或国际通用的规范术语。

2. 检查报告内容

根据长爪沙鼠的病理学检查结果出示检查报告时,信息应全面,尽可能全面地向送检

单位提供检查结果,以便送检单位更加全面地了解动物状况,根据检查结果处理实验动物。检查报告应包括以下内容:

- (1) 动物编号、送检单位、品种/品系、性别、年龄、体重、标本取材部位等;
- (2) 附临床病理学检查结果、解剖病理学检查结果;
- (3) 临床病理学检查结果包括:检测指标、检测结果、正常值参考范围;
- (4) 解剖病理学检查结果包括:大体解剖的描述、镜下描述和诊断结果;
- (5) 具有动物病理诊断经验和资质的病理学专业人员签字、报告时间;
- (6) 解剖病理学检查结果与临床病理学检查结果不符合时,应有讨论和分析。

第六节 分 析 报 告

在病理诊断标准的执行过程中,病理学专业人员对诊断结果的判定至关重要,因此,本标准要求由具有病理学诊断经验和资质的病理学专业人员来签署报告,同时,增加了同行复核的要求。此外,随着实验动物病理诊断标准的不断建立和完善,需要加强有关病理学专业人员的交流与培训,逐步开展认证工作,不断提高实验动物的病理学诊断水平,增强诊断的准确性和可靠性。

第七节 其 他 说 明

一、国内外同类标准分析

长爪沙鼠是一种新开发的实验动物,目前还没有相关病理学诊断标准报道,无国际或国外先进标准参照。

二、与法律法规、标准的关系

1. 本标准的制定以符合《实验动物管理条例》(中华人民共和国国家科学技术委员会令 第2号,1988年)为前提,在编制体例上尽可能与现行实验动物国家标准(GB14922.2—2011、GB14922.1—2011)相一致。

2. 第五条第二款 省、自治区、直辖市科学技术委员会主管本地区的实验动物工作。

3. 《实验动物质量管理办法》(国科发财字[1997]593号)

4. 第二条 全国执行统一的实验动物质量国家标准。尚未制定国家标准,可依次执行行业或地方标准。

5. 《北京市实验动物管理条例》(1996年10月17日北京市第十届人民代表大会常务委员会第三十一次会议通过。2004年12月2日北京市第十二届人民代表大会常务委员会第十七次会议修订)

6. 第五条 市科学技术行政部门主管本市实验动物工作,负责制定实验动物发展规划,以科技项目经费支持实验动物科学研究。北京市实验动物管理办公室在市科学技术行政部门的领导下,负责实验动物的日常管理与监督工作。

7. 第六条 本市实行实验动物的质量监督和许可证制度。实验动物的质量监控，执行国家标准；国家尚未制定标准的，执行行业标准；国家、行业均未制定标准的，执行地方标准。

8. 《北京市地方标准管理办法》（京质监发[2014]60号）

9. 第九条第一款 对没有国家标准、行业标准但又需要在本市范围内统一的技术要求，可以制定地方标准（含标准样品的制作）。

10. 本标准的编写在格式上采用《GB/T 1.1—2009 标准化工作导则第一部分：标准的结构和编写规则》的规定。

三、重大分歧意见的处理经过和依据

在本标准的制定过程中，组织召开专家研讨会和咨询论证会，广泛征求专家意见，无重大意见分歧。

四、作为推荐性标准的建议

长爪沙鼠病理学诊断指南为首次制定，需要在实践过程中不断改进和完善，因此，建议作为推荐性标准。

五、标准实施要求和措施

本标准的制定，是对现有的实验用动物质量控制标准体系的一个重要的完善与补充。建议利用该标准，进一步规范长爪沙鼠繁育和使用行为。同时，北京市科委动管办每年会安排专项资金，对标准宣讲和贯彻，让实验动物生产单位和使用单位更加深入地了解该标准。

参考文献

- 李长龙, 杜小燕, 陈振文. 2014. 长爪沙鼠资源开发利用. 中国实验动物学报, 22 (6): 106-109.
- 肖丽, 戴方伟, 宋晓明, 等. 2013. 长爪沙鼠在病原感染研究中的应用. 中国比较医学杂志, 23 (7): 61-66.
- 谢欣昱, 杜小燕. 2012. 长爪沙鼠在幽门螺杆菌、听觉和焦虑症等研究领域的进展. 实验动物与比较医学, 32 (3): 254-258.
- 赵文杰, 宋志琦, 程广宇, 等. 2014. 长爪沙鼠正常泌尿器官的组织学观察. 中国比较医学杂志, 24 (12): 24-26.