

ICS 65.020.30

B 44



中国实验动物学会团体标准

T/CALAS 63—2018

实验动物 猕猴属动物质量管理规范

Laboratory animal - *Macaca* quality management specification

2018-06-30 发布

2018-07-01 实施

中国实验动物学会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则编写。

本标准中附录 A 为资料性附录。

本标准由中国实验动物学会归口。

本标准由全国实验动物标准化技术委员会（SAC/TC281）技术审查。

本标准由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会提出并组织起草。

本标准起草单位：中国科学院昆明动物研究所、四川横竖生物科技股份有限公司、中国实验动物产业技术创新战略联盟、中国实验动物学会动物模型鉴定与评价工作委员会。

本标准主要起草人：吕龙宝、王正武、刘新民、张晓迪、张飞燕、金洁、王芸、张玉林、胡正飞、赵玲、黄帆、王洪润、余春成。

实验动物 猕猴属动物质量管理规范

1 范围

本标准规定了猕猴属动物微生物与寄生虫学监测、遗传学控制、新引入动物质量监测、饲料与饮用水质量控制、环境控制与监测。

本标准适用于猕猴属动物生产过程中的质量管理。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 14922.1 《实验动物 寄生虫学等级及监测》
- GB 14922.2 《实验动物 微生物学等级及监测》
- GB 14924.1 《实验动物 配合饲料通用质量标准》
- GB 14924.2 《实验动物 配合饲料卫生标准》
- GB 14924.3 《实验动物 配合饲料营养成分》
- GB/T 14926 《实验动物 微生物学检测方法》
- GB 14925 《实验动物 环境及设施》
- GB/T 18448 《实验动物 寄生虫学检测方法》
- GB 5749 《生活饮用水卫生标准》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

猕猴属动物 *Macaca*

特指主管部门批准，人工繁殖饲养的、对携带的微生物和寄生虫实行控制的、来源清楚的、用于科学实验的猕猴属动物。常用于实验的猕猴属动物包括：恒河猴（*Macaca mulatta*）、食蟹猴（*Macaca fascicularis*）、豚尾猴（*Macaca nemestrina*）、藏酋猴（*Macaca thibetana*）等。

3.2

普通级动物 conventional (CV) animal

饲养于普通环境中，不携带标准规定的人畜共患病原体 and 危害种群健康的微生物和寄生虫的动物。

3.3

无特定病原体动物 specific pathogen free (SPF) animal

除普通级动物应排除的微生物和寄生虫外, 不携带所规定的主要潜在感染或条件致病病原的动物。

4 微生物与寄生虫学监测

4.1 微生物控制范围及分类

4.1.1 微生物检测指标应按 GB 14922.2 中相关规定执行, 必要时可增加使用机构要求检测病原项目、机构所在地易感病原项目。

4.1.2 微生物检测方法及频率

4.1.2.1 检测方法可参照 GB/T 14926 执行。

a) 病毒可采用液相蛋白芯片技术(multiplex fluorescent microsphere immunoassay, MFIA)、蛋白质免疫印迹 (Western Blot, WB) 和聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 方法检测。

b) 细菌检测都可用 PCR、培养法检测; 结核分枝杆菌常用结核菌素检测。

4.1.2.2 检测频率

a) 普通级动物: 结核分枝杆菌应每 6 个月至少检测一次, 其他检测项每 12 个月至少检测一次;

b) SPF 级动物: 应每 6 个月至少检测一次;

c) 动物群体有特定病原感染危险时, 应不定期进行相关项目检测。

4.1.3 微生物防控

4.1.3.1 微生物控制应以隔离防治为主、疫苗接种预防为辅。

4.1.3.2 对新引进动物应进行隔离检疫, 防止患病动物及携带病原的污染。

4.1.3.3 当动物种群发生传染病时, 应及时隔离, 确定感染途径, 并采取有效控制措施。

4.2 寄生虫控制范围及分类

4.2.1 寄生虫检测指标应按 GB 14922.1 中相关规定执行, 必要可增加使用机构要求检测病原项目、机构所在地易感病原项目。

4.2.2 寄生虫检测方法及频率

4.2.2.1 检测方法

检测方法可参照 GB/T18448 执行, 其中蠕虫、鞭毛虫也可用酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 进行检测, 溶组织内阿米巴、疟原虫也可用 PCR 进行检测。

4.2.2.2 检测频率

a) 普通级动物: 应每 12 个月至少检测一次;

b) SPF 级动物: 应每 6 个月至少检测一次;

c) 动物群体有特定病原感染危险时, 应不定期进行相关项目检测。

4.2.3 寄生虫防控

4.2.3.1 应确定驱虫时间, 预防性驱虫宜选择在每年 5~6 月、11~12 月。

4.2.3.2 加强日常监测管理

4.2.3.2.1 每日应观察动物精神状态、外观、粪便中是否带有寄生虫感染引起的临床症状等。

4.2.3.2.2 严格规范人流、物流和动物物流的管理。

4.2.3.2.3 动物设施内外应严格进行卫生清洁、消毒。

5 遗传学控制

5.1 遗传质量控制

5.1.1 繁殖种群的雌雄配种比例宜为（4~8）：1。

5.1.2 每代近交系数上升不应超过 1%，选择最佳避免近交法、循环交配法等非近亲交配的方式进行繁殖。

5.2 遗传质量检测方法

5.2.1 可建立以母系和父系为基础的谱系图谱。

5.2.2 血液生化标记

可采用血液蛋白标记和血液同工酶标记两种方法进行检测。

5.2.3 分子遗传标记

可采用微卫星 DNA 标记技术（microsatellite DNA）、限制酶片段长度多态性（restriction fragment length polymorp, RFLP）技术、随机扩增多态性 DNA（randomly amplified polymorphic DNA, RAPD）技术、DNA 指纹分析（DNA fingerprinting）、线粒体 DNA 分析法进行监测。

5.3 检测频率

一个世代应检测 1 次。

6 新引入动物质量监测

6.1 种源地检疫

6.1.1 外观检查

应根据外观状况，选择本品种特征明显、体质状况良好、毛色有光泽、发育健全的动物。

6.1.2 微生物、寄生虫检测

生产销售单位应进行结核菌素试验，微生物、寄生虫检测应根据用户需求确定项目进行检测。

6.2 入场检疫

6.2.1 入场健康检查

动物入场时应应对动物进行健康检查，包括精神状态、外观、外伤、腹泻、食欲、口腔疱疹等临床检查，发现异常者应及时隔离处理。

6.2.2 入场检疫

6.2.2.1 应对动物进行预防性驱虫。

6.2.2.2 应进行结核菌素试验，间隔 24 h、48 h、72 h 观察，确诊阳性动物直接淘汰，疑似阳性动物应立即隔离，并进一步检测确诊。

6.2.2.3 应采集血液、粪便按动物级别进行相应的微生物、寄生虫检测。

7 饲料与饮用水质量控制

7.1 饲料质量控制

7.1.1 应定期对饲料进行质量监测，检测频率宜为每年 2 次。质量应符合 GB14924.2、GB14924.3 的要求。

7.1.2 饲料应储存在环境干燥、通风、卫生的专用仓库内。饲料储存期限应符合 GB14924.1 的要求。

7.2 饮用水质量控制

7.1.1 应定期监测饮用水质量，检测频率宜为每年 2 次。质量应符合 GB5749 的要求。

7.2.2 应每日检查动物饮水设备，定期维护饮水系统。

8 环境控制与监测

8.1 环境监测

8.1.1 环境设施监测指标及检测方法应参考 GB 14925 执行。

8.1.2 应定期对饲养环境各项指标进行监测，检测频率宜为每年 2 次。

8.2 设施、物品消毒

饲养设施、笼具、玩具、食盒等应每日进行清洗，消毒频次宜为每隔两天消毒一次，消毒效果的验证按附录 A 执行。

附 录 A

(资料性附录)

化学消毒剂消毒效果验证

本附录具体规定了评价消毒剂消毒效力的生物学检测方法及其效果评价方法。

A.1 常用化学消毒剂

化学消毒剂是指能够消灭微生物繁殖体的化学物质。常用的化学消毒剂包括：75%乙醇、0.5%新洁尔灭溶液、5%来苏尔溶液、0.1%高锰酸钾、0.2%优氯净、0.5%过氧乙酸、0.1% 84 消毒液。

A.2 验证内容

通过测试消毒剂对不同种类典型菌的定性消毒和定量消毒效果，来评价不同消毒剂的消毒效力。

A.2.1 定性消毒试验：测定受消毒剂作用后的样本有无细菌生长的试验方法，用于对消毒剂灭菌效果的鉴定和消毒剂杀灭细菌效果的初步评价。

A.2.2 定量消毒试验：测定受消毒剂作用后，样本残存微生物数量的试验方法，以杀灭率表示结果。用于对消毒剂杀灭效果的评价。

A.2.3 微生物指示剂选择：分别选择细菌、真菌中的典型菌种测试消毒剂的消毒效力。

细菌繁殖体：金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌；细菌芽孢：枯草杆菌黑色变种芽孢。

A.3 定性消毒试验

A.3.1 培养基与试剂

A.3.1.1 培养基：营养肉汤培养基。

A.3.1.2 试剂：含 1%蛋白胨的氯化钠溶液(pH 7.2~7.4)；灭菌注射用水。

A.3.1.3 器材：灭菌刻度吸管(1.0 mL、5.0 mL、10.0 mL)；灭菌试管；灭菌三角烧瓶；酒精灯；电热恒温水浴锅；恒温培养箱。

A.3.2 试验方法

A.3.2.1 将菌液进行活菌计数，并用稀释液配制成含菌量为 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu/mL 的菌悬液。

A.3.2.2 将灭菌后的试管 10 支排列于试管架上，标记管号。

A.3.2.3 除第 1 管外，其他每个试管加灭菌注射用水 2.5 mL，放 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ 水浴中。

A.3.2.4 于第 1 管和第 2 管内分别加消毒液 2.5 mL，第 2 管混匀后取 2.5 mL 移入第 3 管，再次混匀，从第 3 管中取 2.5 mL 移入第 4 管，以此类推至第 9 管，混匀后弃去 2.5 mL，第 10 管中不加消毒液作对照。

A.3.2.5 加菌悬液 2.5 mL 于各管中，混匀并记录各管加菌时间。

A.3.2.6 各管在加入菌悬液 10 min 后，取出 0.5 mL，加入 4.5 mL 中和剂内，中和 10 min 后，取出 0.5 mL，加入 4.5 mL 营养肉汤中。

A.3.2.7 将接种细菌的肉汤管放 37°C 培养 48 h，观察初步结果，无菌生长管继续培养至第 7 天。

A.3.2.8 试验重复 5 次。

A.3.3 结果判定

A.3.3.1 若肉汤管浑浊，则表示有菌生长，记为阳性，以 (+) 表示。

A.3.3.2 若培养至第 7 天，肉汤管澄清，则表示无菌生长，记为阴性，以 (-) 表示。

A.3.3.3 对难以判定的肉汤管，取 0.1 mL 接种于培养琼脂平板，用灭菌 L 型棒涂匀，放 37℃ 培养 48 h，观察菌落形态；做涂片染色镜检，判断是否有指示菌生长。有指示菌生长记为阳性。

A.3.3.4 试验进行 5 次，均无指示菌生长的消毒液浓度范围为适用的浓度范围。

A.3.4 消毒剂定性试验记录

A.4 消毒剂定量试验

定量消毒试验是测定使用确定了浓度的消毒剂后，样本残存微生物数量的试验方法，以杀灭率表示结果，用于对消毒剂杀灭效果的评价。

A.4.1 培养基与试剂

A.4.1.1 营养琼脂培养基。

A.4.1.2 试剂：含 1% 蛋白胨的氯化钠溶液 (pH 7.2~7.4)；灭菌注射用水；1% 蛋白胨、0.1% 吐温 80 的氯化钠溶液。

A.4.1.3 器材：灭菌刻度吸管 (1.0 mL、5.0 mL、10.0 mL)；灭菌试管；灭菌三角烧瓶；灭菌平皿 (直径 9 cm)；电热恒温水浴锅；恒温培养箱；酒精灯；微量移液器。

A.4.2 试验方法

A.4.2.1 将菌液进行活菌计数，并用稀释液稀释成含菌量为 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu/mL 的菌悬液。

A.4.2.2 取 9 支灭菌后的试管，每 3 支为一组，编号，分别加入灭菌注射用水 0 mL、4.5 mL、9 mL，加入消毒剂 4.5 mL，混匀。混匀后分别弃去 0 mL、4.5 mL、9 mL，放 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ 水浴中。

A.4.2.3 待试管内液体温度与水浴温度平衡后，在三个试管中分别加入 0.5 mL 菌悬液，混匀并开始计时。

A.4.2.4 分别于 2 min、5 min、10 min 从每个试管中取 0.5 mL 菌液混合液，加入 4.5 mL 中和剂混匀，中和 10 min，适当稀释后涂营养琼脂培养基，37℃ 培养 24 h 进行活菌计数。

A.4.2.5 阳性对照以洗脱液代替消毒液，同时按 A.4.2.2~A.4.2.4 操作。

A.4.2.6 按不同稀释度推算出每个样本存活菌数 (cfu/mL)，按式 (C1) 计算杀灭率。

$$\text{杀灭率 (\%)} = \frac{\text{阳性对照回收菌数} - \text{试验组回收菌数}}{\text{阳性对照回收菌数}} \times 100 \quad (C1)$$

A.4.2.7 试验重复 5 次。

A.5 消毒效果评价标准

A.5.1 对细菌的 5 次试验的杀灭率均 $\geq 99.9\%$ 判为消毒合格。

A.5.2 对枯草杆菌黑色变种芽孢 5 次试验均全部杀灭判为消毒合格。