

**【译者按】**实验大鼠、小鼠的微生物检测项目一直是业内争论的问题。特别是一些流行性广、感染性强，但对于免疫功能正常动物没有病原性的条件性致病菌。日本实验动物协会依据 ICLAS 检测中心的检测项目，于 2015 年修订了大鼠、小鼠的微生物检测项目。修改内容主要包括：①将大鼠和小鼠分为免疫功能正常动物和免疫缺陷动物，分别设定不同的检测项目，涉及免疫系统的基因修饰动物列入免疫缺陷动物范畴；②将一些对免疫功能正常动物没有致病性的条件性病原微生物从日常必检项中去除；③动物实验设施根据自身特点和微生物控制要求，同时考虑 3R，在必检项的基础上确定选检项。

## 日本实验动物微生物检测项目的修订

（2011 年制定，2015 年修订）

日本实验动物协会（日动协）的微生物监测项目，结合 ICLAS 监测中心的检测项目，基于各微生物致病性的分类，同时考虑到目前日本国内动物实验设施中微生物的污染率现状。并且，将可实施的自检项等作为基础考虑来设定。另外，重新评估是配合 ICLAS 的检查项目修订而实施的。

在 LABIO 21 No.42、10 月号中，ICLAS 设定了小鼠、大鼠用的新的核心检查项目，从 2011 年 4 月开始实施。受此影响，日动协监测技术专门委员会（现监测技术委员会）对小鼠、大鼠的日动协检查项目的修改进行了反复讨论。其结果作为今后的日动协检查项目，采用 ICLAS 新设定的常规动物用核心检查项目及免疫缺陷动物用核心检测项目，其他的检查项目根据各实验动物设施的微生物管理体系，修订为从选择项中确定检测的内容。

以下，对其背景和内容进行解说。

### 1. 微生物检查项目修订的背景

#### ① 重新审视微生物的病原性类别

首先，重新评估嗜肺性巴斯德杆菌（*Pasteurella pneumotoropica*）和柠檬酸杆菌（*Citrobacter rodentium*）的病原性。嗜肺性巴斯德杆菌的病原体分类从 C（低致病性微生物）变更为 D（病原性较弱微生物），柠檬酸杆菌从 B（强致病性微生物）变更为 C（低致病性微生物）。之所以将嗜肺性巴斯德杆菌从 C 类改为 D 类的原因是，该菌在我国小鼠动物实验设施中污染率较高，但文献上也没有单独感染引起肺炎的报道。而且，对于免疫功能正常的自然感染小鼠、大鼠，在解剖所见中确认没有病原性，因此认为在免疫功能正常的小鼠、大鼠中，应该从类别 C 中排除。另一方面，有报告称该菌对免疫缺陷小鼠、大鼠具有病原性，因此认为应将其定位为 D 类中的条件性病原体。其次，柠檬酸杆菌在哺乳小鼠感染中是致死的，但在断奶后的小鼠中是隐性感染，在过去 30 年间我国无感染报告，污染率低，因此将分类从 B 类改为 C 类。

#### ② 动物实验目的的变化

随着基因修饰技术的进步，许多动物实验设施的实验目的正在转到使用该技

术的疾病模型小鼠的制作、分析。其中，特别是产生了很多操作免疫系统的基因改变小鼠，认为对它们的条件性病原体的微生物控制很重要，因此，将其设定为免疫缺陷小鼠、大鼠用的核心检查项目。

### ③ 动物福利的对应

动物保护法被修改，动物实验也要求考虑 3R，在动物实验设施的微生物控制中也需要考虑。例如，在免疫功能正常的动物发生了没有病原性的条件性病原体感染的情况下，即使它们不影响实验本身，但会优先考虑设施整体的微生物控制，曾经实施过动物的淘汰。为了防止这种不幸的事态发生，应该将设施的微生物控制分为免疫正常动物和免疫缺陷动物（按实验目的）。

## 2. 日动协检测项目（分常规动物和免疫缺陷动物核心检测项目）

日动协检测项目修订的目的是将免疫功能正常的小鼠、大鼠（常规动物）和免疫缺陷小鼠、大鼠的微生物控制分开。因此，日动协检测项目设定为在各个动物的微生物控制中编入了最低限度必要的检查项目的组合，分别能够一并检查最低限度必要的检查项目。另一方面，各设施的微生物控制中，在核心检测项目外，根据实验目的不同从选择项中增加其他检测项目。

### ① 常规动物检查项目

在小鼠中，从当前的日动协项目中的培养法中除去嗜肺性巴斯德杆菌和柠檬酸杆菌，在大鼠中除去嗜肺性巴斯德杆菌和肺炎链球菌（*Streptococcus pneumoniae*）。排除嗜肺性巴斯德杆菌和柠檬酸杆菌的主要原因是类别的变更。在大鼠中排除肺炎链球菌的理由是，在 ICLAS 检测中心过去 20 年的检测中没有检测到，而且即使感染了也呈隐性感染，病原性低。

另外，血清反应及镜检中检查项目未变更，保持现状。

### ② 免疫缺陷动物核心组（表 1）

在小鼠中，在上述常规动物培养法核心检测项目的基础上加入柠檬酸杆菌和免疫功能不全小鼠的微生物控制所必需的条件性病原体嗜肺性巴斯德杆菌、金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）、铜绿假单胞菌（*Pseudomonas aeruginosa*）和肺囊虫属（*Pneumocystis spp.*）。另外，在免疫缺陷小鼠感染的情况下，有可能加重影响的肝型螺杆菌（*Helicobacter hepaticus*）和胆型螺杆菌（*Helicobacter bilis*）也作为必要检查项目添加。

在大鼠中，在常规动物培养法核心检测项目的基础上加入肺炎链球菌和作为条件性病原体的嗜肺性巴斯德杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及肺囊虫属。

另外，血清反应中检查项目没有变更，保持现状。

### ③ 选项项目（表 2）

在选择性检测的项目中，除了从以往日动协项目中排除的检查项目、以往的选项检查项目之外，还包括作为 ICLAS 实施的选项实施的项目，根据需要可以追加到核心检测项目中。

## 3. 对应于免疫缺陷动物核心组的采样

在对该核心检测项目的处理中，需要考虑的是常规动物和免疫缺陷动物的区分。对于市售的裸鼠和 scid 等现有免疫缺陷动物很容易判断，但如何判定通过基因改变技术操作了免疫系统的动物是令人迷惑的。但是，这些动物也基本上被认为是候补免疫缺陷动物，认为在微生物控制中应该应用本核心检测项目。

其次，对于适合本核心检测项目的检查对象动物，同样适合与免疫缺陷动物相同环境中饲养的动物（例如 nu/+等）。但是，由于免疫功能正常动物的肺囊虫属（*Pneumocystis* spp.）的检测灵敏度降低。为了防止这种情况，如果以提高本病原体检查精度为目标，则在核心组的培养、镜检、PCR 检查中组合免疫缺陷动物，在抗体检查中组合上述动物作为检查对象动物也是选择之一。

表 1. 日动协微生物检测项目（小鼠、大鼠）

【日常必检项】

| 微 生 物                                       | 检测法  | 小 鼠  |        | 大 鼠  |        |
|---------------------------------------------|------|------|--------|------|--------|
|                                             |      | 常规动物 | 免疫缺陷动物 | 常规动物 | 免疫缺陷动物 |
| <i>Corynebacterium kutscheri</i> 棒状杆菌       | 培养   | ○    | ○      | ○    | ○      |
| <i>Mycoplasma pulmonis</i> 肺支原体             |      | ○    | ○      | ○    | ○      |
| <i>Salmonella</i> spp. 沙门氏杆菌                |      | ○    | ○      | ○    | ○      |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> 支气管败血症波氏杆菌 |      |      |        | ○    | ○      |
| <i>Citrobacter rodentium</i> 柠檬酸杆菌          |      |      | ○      |      |        |
| <i>Pasteurella pneumotropica</i> 嗜肺性巴氏杆菌    |      |      | ○      |      | ○      |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 铜绿假单胞菌        |      |      | ○      |      | ○      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 金黄色葡萄球菌        |      |      | ○      |      | ○      |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> 肺炎链球菌       |      |      |        |      | ○      |
| <i>Clostridium piliforme</i> (Tyzzer 菌)     | 血清反应 | ○    | ○      | ○    | ○      |
| <i>Mycoplasma pulmonis</i> 肺支原体             |      | ○    | ○      | ○    | ○      |
| Sendai virus 仙台病毒                           |      | ○    | ○      | ○    | ○      |
| Ectromelia virus 鼠痘病毒                       |      | ○    | ○      |      |        |
| LCM virus 淋巴细胞脑膜炎脉络丛病毒                      |      | ○    | ○      |      |        |

|                                             |     |   |   |   |   |
|---------------------------------------------|-----|---|---|---|---|
| Mouse hepatitis virus 鼠肝炎病毒                 |     | ○ | ○ |   |   |
| Hantavirus 汉坦病毒                             |     |   |   | ○ | ○ |
| Sialodacryoadenitis virus 涎腺腺腺炎病毒 (SDAV)    |     |   |   | ○ | ○ |
| 消化道内原虫                                      | 镜检  | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 体外寄生虫                                       |     | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 蛲虫                                          |     | ○ | ○ | ○ | ○ |
| <i>Helicobacter bilis</i> 胆型螺旋杆菌            | PCR |   | ○ |   |   |
| <i>Helicobacter hepaticus</i> 肝型螺旋杆菌        |     |   | ○ |   |   |
| <i>Pneumocystis</i> spp. <sup>1)</sup> 肺孢子虫 |     |   | ○ |   | ○ |

表 2. 日动协检测项目（小鼠、大鼠）

【选择项】

| 检测法  | 微生物                                                    | 小鼠 | 大鼠 |
|------|--------------------------------------------------------|----|----|
| 培养法  | <i>Bordetella hinzii</i> （欣氏波特杆菌）                      | ○  |    |
|      | <i>Citrobacter rodentium</i> （柠檬酸杆菌）                   | ○  |    |
|      | Dermatophytes (皮肤丝状菌)                                  | ○  | ○  |
|      | <i>Pasteurella pneumotropica</i> （嗜肺性巴氏杆菌）             | ○  | ○  |
|      | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (铜绿假单胞菌)                 | ○  | ○  |
|      | <i>Staphylococcus aureus</i> （金黄色葡萄球菌）                 | ○  | ○  |
|      | <i>Streptococcus pneumoniae</i> （肺炎链球菌）                |    | ○  |
| 血清反应 | Cilia-associated respiratory (CAR) baillus （呼吸系统纤毛样杆菌） | ○  |    |
|      | EDIM (Rota) virus （轮状病毒）                               | ○  |    |
|      | H-1 virus （H-1病毒）                                      |    | ○  |
|      | Kilham rat virus （大鼠K病毒）                               |    | ○  |
|      | Mouse minute virus （小鼠细小病毒）                            | ○  | ○  |

|     |                                                         |   |   |
|-----|---------------------------------------------------------|---|---|
|     | Mouse adenovirus (小鼠腺病毒)                                | ○ | ○ |
|     | Mouse cytomegalovirus (小鼠巨细胞病毒)                         | ○ |   |
|     | Mouse encephalomyelitis virus (GDVII) (小鼠脑脊髓炎病毒)        | ○ | ○ |
|     | Mouse parvovirus (小鼠细小病毒)                               | ○ |   |
|     | Pneumonia virus of mice (小鼠肺炎病毒)                        | ○ | ○ |
|     | Polyomavirus (多瘤病毒)                                     | ○ |   |
|     | Reovirus type 3 (呼肠孤病毒3型)                               | ○ | ○ |
| PCR | <i>Pneumocystis</i> spp. (肺囊虫属)                         | ○ | ○ |
|     | Cilia-associated respiratory (CAR) bacillus (呼吸系统纤毛样杆菌) | ○ | ○ |
|     | <i>Clostridium piliforme</i> (梭状杆菌, Tyzzer 菌)           | ○ | ○ |
|     | <i>Helicobacter hepaticus</i> (肝螺旋杆菌)                   | ○ |   |
|     | <i>Helicobacter bilis</i> (胆型螺旋杆菌)                      | ○ |   |
|     | Lactate dehydrogenase-elevating virus (乳酸脱氢酶升高病毒)       | ○ |   |
|     | Mouse hepatitis virus (小鼠肝炎病毒)                          | ○ |   |
|     | Murine norovirus (小鼠诺如病毒)                               | ○ |   |

*Pneumocystis* spp.(小鼠 *murina*、大鼠 *carinii*。原检测法：镜鉴。2015 年变更)

(Peter HSU 摘译)