

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 1113—2025

自发性动物模型 实验食蟹猴脂肪肝筛选 技术规范

Spontaneous animal model — Technical specification for screening fatty
liver disease in laboratory cynomolgus monkeys

2025 – 10 – 09 发布

2025 – 10 – 14 实施

广西标准化协会 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 缩略语 1

5 实验食蟹猴脂肪肝自发性疾病模型筛选程序 2

 5.1 模型筛选程序 2

 5.2 确定脂肪肝高危猴 2

 5.3 体况评价 2

 5.4 超声检查 2

 5.5 血液指标检测 2

 5.6 组织学评价 3

 5.7 确诊 3

6 确诊标准 3

附录 A（规范性） BCS 评分标准 4

附录 B（规范性） 采血及血液指标检查方法 6

附录 C（规范性） 组织学评价方法 7

前 言

本文件参照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西实验动物学会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西华仁济瀛生物科技有限公司、广西大学动物科学技术学院、南宁海关技术中心、广西桂科院华仁济瀛生物科技有限公司。

本文件主要起草人：韦祝梅、申果、张鹏飞、黄晓姣、石松平、盘宝进、陈樱、潘玺颖、肖艳宇、胡家豪、韦炎治、黄中理、张绪哲、曾勇、季风。

自发性动物模型 实验食蟹猴脂肪肝筛选技术规范

1 范围

本文件界定了实验食蟹猴、脂肪肝、自发性动物模型和脂肪肝高危猴术语和定义，确立了实验食蟹猴自发性脂肪肝模型筛选流程，描述了实验食蟹猴自发性脂肪肝模型评价方法。

本文件适用于实验食蟹猴自发性脂肪肝疾病模型的筛选和评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 实验动物 微生物、寄生虫学等级及监测

GB/T 39759 实验动物 术语

WS/T 661 静脉血液标本采集指南

DB53/T 293.3 实验动物病理学检测 第3部分：病理切片制备方法

3 术语和定义

GB/T 39759界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实验食蟹猴 laboratory cynomolgus monkeys

经人工培育，对其携带的微生物和寄生虫实行控制，遗传背景明确或者来源清楚，用于科学研究、教学、生产、检定以及其他科学实验的食蟹猴。

3.2

脂肪肝 fatty liver disease

一组以影像学弥漫性脂肪肝或病理学大泡或大泡为主的显著肝细胞脂肪变性为主要特征的异质性疾病。

3.3

自发性疾病模型 spontaneous disease model

未经任何有意识的人工处置而自然发生疾病的实验动物。

3.4

脂肪肝高危猴 high-risk monkey of fatty liver

实验食蟹猴年龄 ≥ 7 岁，且具有一个及以上脂肪肝高危因素的猴。

注：脂肪肝高危因素指：最近一次体检数据总胆固醇 $\geq 3 \text{ mmol/L}$ 或甘油三脂 $\geq 0.94 \text{ mmol/L}$ ；最近一次体检数据收缩压 $\geq 120 \text{ mmHg}$ 或舒张压 $\geq 90 \text{ mmHg}$ ；动脉粥样硬化指数 ≥ 2.5 ；BMI $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ 或体况评分值大于3.5；空腹血糖 $\geq 7 \text{ mmol/L}$ 。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

AC：腹围；

AI：动脉粥样硬化指数；

ALT：丙氨酸氨基转氨酶；

ALP：碱性磷酸酶；

AST：天门冬氨酸氨基转氨酶；

AST/ALT：天门冬氨酸氨基转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶；

BCS：体况评分；

BMI：体质指数($BMI=BW\div CRL^2$)；
BW：体质量；
CHE：胆碱酯酶；
CRL：冠臀长；
LDL-C：低密度脂蛋白胆固醇；
SFT：皮褶厚度；
TC：总胆固醇；
TG：甘油三脂；
 γ -GGT：谷氨酰基转移酶。

5 实验食蟹猴脂肪肝自发性疾病模型筛选程序

5.1 模型筛选程序

见图1。确定脂肪肝高危猴后，对脂肪肝高危猴进行体况评定、超声检查、血液指标检测，若高危猴此三项指标中至少有两项符合“6 确诊标准”中相应的确诊标准，则对其进行组织学评价，以组织学评价结果作为最终确诊依据。

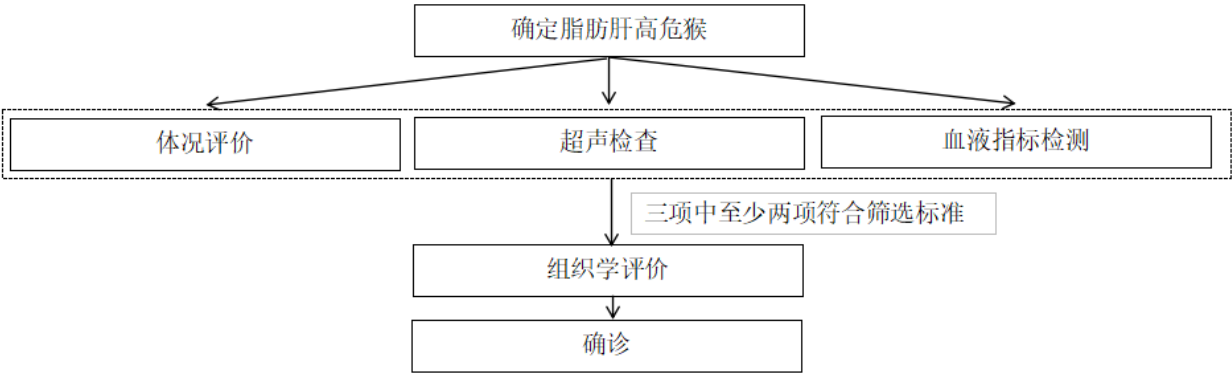


图1 筛选程序

5.2 确定脂肪肝高危猴

动物首先应满足实验动物的质量要求，即获得动物检疫检查报告与动物质量合格证，符合GB 14922要求，为了提高工作效率，减少对猴群的干扰，推荐根据猴档案确定年龄、体重、病史等脂肪肝高危因素符合3.4中列出的条件，确定脂肪肝高危猴，并在高危猴中开展筛选工作。

5.3 体况评价

体况评价可采用BMI或体况评分或两者结合的方式筛选动物。BMI需测量BW和CRL。将 $BMI\geq 35$ 或BCS ≥ 3.5 作为初步筛选条件并推荐测量AC和SFT作为辅助参考依据。BCS评分标准按附录A。

5.4 超声检查

超声检查推荐采用便携式B超进行检查：动物麻醉后仰卧，进行胸腹部剃毛，涂抹适当量耦合剂后用B超诊断仪对腹部肝区进行超声检查，根据肝脏回声及肝肾回声对比进行初步诊断。

5.5 血液指标检测

抽取静脉血并对能够反映脂肪肝和肝脏病变情况的血生化指标，如TC、LDL-C、TG、AI、AST、ALT、AST/ALT、ALP、CHE、 γ -GGT等进行检测，采血及血液指标检查方法按附录B。

5.6 组织学评价

实验食蟹猴实施麻醉状态下肝脏穿刺，并对穿刺组织进行组织学检查和评定。组织学评定方法按附录C。

5.7 确诊

实验食蟹猴脂肪肝自发性动物模型的确诊以组织学评价为金标准，组织学评价标准见表1。在组织学评价确诊的基础上，表1中其他指标之一符合筛选标准，可确诊。

6 确诊标准

具体确诊标准见表1。

表1 脂肪肝确诊标准

指标	脂肪肝实验食蟹猴
组织学评价	① 大于5%肝细胞形成边界清晰的大泡性脂肪变性； ② 按照光镜下出现脂肪变性的程度进行分型： 轻度：≥5%<1/3的肝细胞脂肪变性； 中度：≥1/3<2/3的肝细胞脂肪变性； 重度：≥2/3肝细胞都发生脂肪变性。
体况评价	BMI≥35 或 BCS≥3.5
超声检查	① 轻度脂肪肝：肝脏大小正常，回声稍增强，肝肾回声比稍增高，均匀分布，膈肌边界与肝内管道清晰可见，远场回声无衰减； ② 中度脂肪肝：肝脏稍增大，回声中度增强，肝肾回声比增高，均匀分布，膈肌边界与肝内管道尚可见，远场回声轻度衰减； ③ 重度脂肪肝：肝脏增大，回声增强，明显高于肾脏，膈肌边界与肝内管道显示模糊，远场回声显著衰减。
血液指标检测	离心分层后上层血清呈黄色，或出现乳白色浑浊 TC≥3 mmol/L； TG≥0.94 mmol/L； LDL-C≥1.1 mmol/L； AI≥1.66； CHE≥8 000 IU/L； ALT≥68 IU/L； AST≥57 IU/L； γ-GGT≥98 IU/L。 当实验食蟹猴某2个及以上指标符合以上范围，或某1个指标达到以上范围的1.5倍及以上，符合该项筛选标准。

附录 A
(规范性)
BCS 评分标准

见表A. 1。

表A. 1 BCS 评分标准

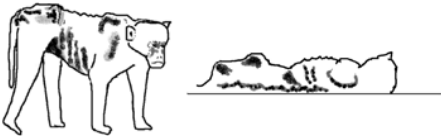
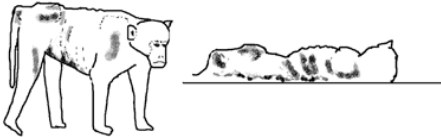
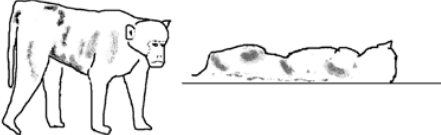
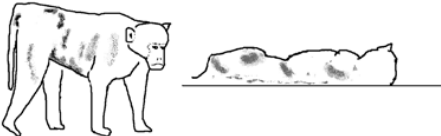
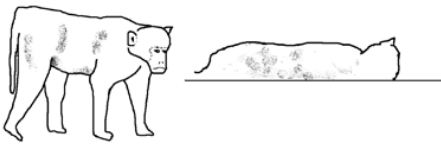
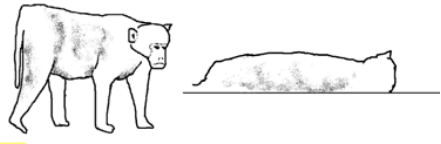
分数	评分描述	对应分数的动物右侧面站立外观和躺卧 (头向右) 背面外观
1	极度瘦弱：髌骨，面骨、棘突、肋骨明显突出（清晰可见、轻易触诊）；脊柱、坐骨等处可触诊到极少或无肌肉；肛门可凹陷隐于两臀胛间；身体非常消瘦，无皮下脂肪层，腹部平坦。	
1.5	瘦弱：髌骨、棘突、肋骨突出；面骨可能突出；臀部和背部有极少肌肉覆盖；肛门可凹陷隐于两臀胛间；身体消瘦，无皮下脂肪层，腹部平滑。	
2	瘦：有极少的脂肪存在；髌骨和棘突突出；臀部和腰部仅有少量肌肉覆盖以致可轻易触诊到髌骨、棘突、肋骨。	
2.5	偏瘦：臀部和脊柱有一定肌肉覆盖，看起来更结实；能轻易触诊到髌骨和棘突，但不突出；有较薄的皮下脂肪层。	
3	最佳体况：稍用力便可触诊到髌骨、肋骨、棘突，但一般不明显；发育良好的肌肉和皮下脂肪层使得脊柱和臀部平滑且结实；腹部、腋窝、腹股沟等处无脂肪垫。	

表 A.1 BCS 评分标准（续）

3.5	偏重：用力按压可触诊到髌骨、棘突，但不明显；骨质突起平滑；胸廓平滑，仅在用力按压时可触诊到肋骨；可有少量腹部脂肪垫存在。	
4	超重：骨质突起平滑，界线不明显；存在较多的皮下脂肪层以致较难触诊到髌骨、棘突、肋骨；腋窝、腹股沟、腹部等处开始堆积脂肪沉积体。	
4.5	肥胖：常有明显的脂肪垫堆积于腋窝、腹股沟和腹部等处；坐立或走动时腹部下垂；很难触诊到髌骨和棘突；骨质突起平滑且难以分界。	
5	极度肥胖：腋窝、腹股沟、腹部等处存在明显的、较大的脂肪沉积体；存在大量的肠系膜脂肪以致腹部触诊困难；显著的脂肪沉积体或使其坐姿、行动发生改变；髌骨、胸廓、棘突触诊须用深触诊法方能进行。	

附 录 B
(规范性)
采血及血液指标检查方法

B.1 主要试剂

皮肤消毒剂，麻醉剂。

B.2 主要仪器

剃毛器、灭菌棉签、一次性采血针、一次性真空促凝采血管、离心机、动物血细胞分析仪、血液生化仪。

B.3 检查方法

B.3.1 实验食蟹猴采血

B.3.1.1 动物禁食：动物在采血前进行禁食，禁食时间至少 8h，以 12h~14h 为宜，但不宜超过 16h，宜安排在早上 7:00~9:00 采血。禁食期间动物自由饮水。

B.3.1.2 保定和备皮：将实验食蟹猴进行猴椅保定或麻醉保定，对采血区域的皮肤进行被毛的剃除和消毒。

B.3.1.3 采集全血分离血清（用于血生化检测）：宜使用真空促凝管或真空血清分离管，从上部头静脉肘外侧段或其它四肢浅表静脉采血，采血具体操作要求见 WS/T 661。

B.3.1.4 血生化采血量一般不超过 5 mL，具体需根据检测项目需求进行计算。

B.3.1.5 采血后立即轻轻倒转采血试管 4~5 次混匀标本，放置 30min 等待标本充分凝固，离心半径 8cm，离心速度维持在 3 500 r/min~4 000 r/min 离心 10 min。血清与血凝块完全被分离胶分离，所得血清应澄清透明无溶血，溶血样本应重新采血制备血清。血清标本可直接上机检测或转移至仪器配套试杯中。

B.3.2 血液样本的检测

脂肪肝血生化检测涉及肝功和多种血液酶类检测，应在采血 2 h 内用血液生化仪进行血生化检测。

附录 C (规范性) 组织学评价方法

C.1 主要试剂

耦合剂、4%中性缓冲甲醛固定液、麻醉药物、止血药物、病理切片制备相关试剂。

C.2 主要仪器

B超仪、一次性18G自动活检穿刺针、活检穿刺枪、无菌纱布、无菌棉球、病理切片制备相关仪器、显微镜。

C.3 肝组织穿刺取材

C.3.1 动物准备

穿刺前对实验食蟹猴进行凝血功能检测，排除凝血功能障碍后方可进行肝脏穿刺。穿刺前动物须禁食8 h~12 h。术前对动物进行麻醉并对右上腹肋间到腰部肋缘下区域进行备皮。

C.3.2 肝组织穿刺

C.3.2.1 用B超仪，多断面连续扫查，探明肝脏及肝小叶、大的血管、胆囊及胆总管的位置，并实时监测穿刺针进入肝脏的位置和深度。使穿刺目标与穿刺针位置在引导线内，并避开大血管和胆囊及肝内胆管。

C.3.2.2 活检穿刺针装入活检穿刺枪，取材标本长度宜设定为1.5 cm。B超锁定目标切面后，穿刺针紧贴B超探头，垂直刺入皮肤，穿破肝包膜刺入肝实质约2 cm后，按下穿刺枪尾部的扳机按钮。

C.3.3 样本固定

样本采集完成后迅速拔出穿刺针，用4%中性缓冲甲醛固定液固定所取出的肝组织24 h。

C.3.4 动物护理

穿刺针拔出后，用无菌纱布或棉球按压穿刺孔10 min~15 min，待穿刺孔无出血、呼吸平稳、睫毛反射正常后可将动物放回笼舍，并在笼旁至少观察动物30 min，确保动物精神恢复正常并可稳定坐立。

C.4 组织染色切片制备及阅片诊断

按照DB53/T 293.3中切片制备的方法和常规苏木素-伊红染色的方法制备肝脏组织标本的石蜡切片并进行常规伊红-苏木精染色，并由有病理诊断经验和资质的病理学专业人员阅片诊断，判断脂肪变性的肝细胞比例。

中华人民共和国团体标准
自发性动物模型 实验食蟹猴脂肪肝筛选技术规范
T/GXAS 1113—2025
广西标准化协会统一印制
版权专有 侵权必究