

患腹泻症状食蟹猴寄生虫和致病菌鉴定与诊断

谢永平^{1,2}, 贺会利^{1,2}, 庞彬辉^{1,2}

(1.广西兽医研究所, 广西南宁 530001; 2.广西兽医生物技术重点实验室, 广西南宁 530001)

摘要 [目的]了解广西食蟹猴出现消瘦、腹泻、血便等症状的病因。[方法]采集20份食蟹猴粪便样本,进行寄生虫检测、分子生物学检测和细菌分离鉴定,并对分离菌进行动物致病性和药敏试验。[结果]20份粪便样本均检测出大肠杆菌,12份粪便样本检测出肺炎克雷伯氏菌,10份粪便样本检测出结肠小袋纤毛虫。10份粪便样本为三重感染,2份粪便样本为细菌二重感染。大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌均可导致小鼠死亡,且2种分离菌对阿米卡星、头孢他啶、头孢西丁、头孢喹咪均高敏。[结论]结肠小袋纤毛虫、大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌混合感染是引起食蟹猴消瘦、腹泻、血便的主要原因。

关键词 食蟹猴;结肠小袋纤毛虫;大肠杆菌;肺炎克雷伯氏菌;混合感染

中图分类号 S851 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2023)02-0104-04

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2023.02.026

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Identification and Diagnosis of Parasites and Pathogenic Bacteria in *Macaca fascicularis* with Diarrhea Symptoms

XIE Yong-ping^{1,2}, HE Hui-li^{1,2}, PANG Bin-hui^{1,2} (1.Guangxi Veterinary Research Institute, Nanning, Guangxi 530001; 2.Guangxi Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Nanning, Guangxi 530001)

Abstract [Objective] To investigate the etiology of *Macaca fascicularis* in Guangxi with the emaciation, diarrhea, bloody stools and other symptoms. [Method] Twenty stool samples of *M. fascicularis* were collected for the parasites and molecular biology detection, bacterial isolation and identification. And the animal pathogenicity and drug sensitivity tests were performed on the isolated bacteria. [Result] *Escherichia coli* was detected in 20 stool samples, *Klebsiella pneumoniae* was detected in 12 stool samples, *Balantidium coli* was detected in 10 stool samples. Ten stool samples were triple infected, two stool samples were double bacterial infection. Both *E. coli* and *K. pneumoniae* could cause the death of mice, and two kinds of isolated bacteria were highly sensitive to amikacin, ceftazidime, cefoxitin and ceftiofur sodium. [Conclusion] The main cause of emaciation, diarrhea and bloody stools of *M. fascicularis* was the mixed infection of *B. coli*, *E. coli* and *K. pneumoniae*.

Key words *Macaca fascicularis*; *Balantidium coli*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; Mixed infection

食蟹猴与人类的遗传同源性高达95%,同时具有繁殖周期短、体型小、性格温顺等优点,常用于遗传学、生理学、免疫学等方面的研究^[1],是国内外重要的实验动物研究模型^[2]。从目前监测结果来看,寄生虫和细菌引起的食蟹猴疾病问题尤为突出^[3-5]。寄生虫检测发现,结肠小袋纤毛虫的感染率高达24.29%,结肠小袋纤毛虫(*Balantidium coli*)属于纤毛虫门动基裂纲毛口目小袋虫科小袋虫属,发育过程中有滋养体和包囊2种形态^[6]。结肠小袋纤毛虫是寄生在动物肠道的原生动物寄生虫,会导致动物机体腹泻、结肠充血、出血、溃疡和穿孔等。结肠小袋纤毛虫病是一种水源性、呈世界性分布的人畜共患原虫病。大肠杆菌(*Escherichia coli*)是临床上主要引起动物腹泻的常见细菌。大肠杆菌是一种革兰氏阴性短杆菌,周生鞭毛,能运动,无芽孢。大肠杆菌是动物体内一种重要的肠道菌群,大多不致病,属于条件性致病菌。其中,某些血清型菌株的致病性强,会引起腹泻,统称致病性大肠杆菌。致病性大肠杆菌是一种重要的人兽共患病原菌,其血清型复杂,可引起动物腹泻、肺炎、泌尿道感染和败血症等^[7]。肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)是一种革兰氏阴性条件性致病菌,是肠杆菌科克雷伯氏菌属中最为重要的一类菌(俗称肺炎杆菌),肺炎克雷伯氏菌所致疾病占克雷伯氏菌属感染的95%以上。肺炎克雷伯氏菌在自然界广泛存

在,容易产生耐药性,大多存在于人体上呼吸道和肠道,当机体抵抗力降低时,经呼吸道进入肺部,从而引起大叶或小叶融合性实变,以上叶较为多见,此外也可导致脑膜炎、泌尿系统发炎、伤口感染甚至败血症等^[8]。笔者对20只腹泻食蟹猴进行临床检查、寄生虫学、分子生物学和细菌学检查,旨在为食蟹猴腹泻时的临床用药提供科学依据,为预防和治疗食蟹猴腹泻提供参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料样品采集。2021年采集广西某食蟹猴饲养场患有腹泻症状的成年食蟹猴新鲜粪便样品20份,装于干净的自封塑料袋中,送至实验室检测。阳性样品由广西兽医生物技术重点实验室保存。

1.1.2 试验动物。食蟹猴1.5~2.5岁,体重2kg左右,伴有下痢,排出黄色水样粪便;有时粪便混有血液、恶臭,食蟹猴精神及食欲明显减退,2d后其他食蟹猴也相继出现下痢症状。4~5周龄雄性昆明小鼠12只,体重18~20g,由广西医科大学实验动物中心提供。

1.1.3 主要器材与试剂。恒温培养箱购自上海浦东荣丰科学仪器有限公司;小型台式高速离心机购自德国Eppendorf公司;带测微尺的显微镜购自尼康映像仪器销售(中国)有限公司;离心管、烧杯、接种环、载玻片、盖玻片、60~100目铜筛,均购自南宁生化药品仪器有限公司;粪便基因组DNA提取试剂盒,2×ES Taq MasterMix、DL 2000 DNA Marker,均购自北京康为世纪生物科技有限公司。BIOWEST凝胶琼脂购自GENE公司;PCR仪购自天根生化科技(北京)有限公司;凝

基金项目 广西科学研究与技术开发项目(桂科AD20159087);广西自然科学基金项目(2020GXNSFB297141);基本科研业务费专项课题(桂科专项21-5)。

作者简介 谢永平(1967—),女,广西全州人,研究员,硕士,从事动物疫病防治技术及动物病理学研究。

收稿日期 2022-03-21

胶成像系统购自 Bio-Rad 公司。伊红美兰培养基购自北京陆桥技术有限责任公司;血琼脂平板培养基购自郑州安图生物工程股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 寄生虫检测。采用直接涂片法,首先在载玻片上滴加 1 滴灭菌的生理盐水,然后用竹签挑取少许被检猴新鲜粪便在生理盐水中涂抹均匀,最后加盖玻片后置于光学显微镜下观察。此方法可检查粪便中大多数虫卵。

1.2.2 PCR 检测。按照试剂盒说明书提取粪便样品中的 DNA,将提取的 DNA 置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存。以提取 DNA 为模板,参考文献[9]的方法进行 PCR 扩增,PCR 扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上进行电泳,利用凝胶成像系统观察并分析电泳结果。

1.2.3 细菌学检查。

1.2.3.1 细菌分离培养与 16S rRNA 测序鉴定。无菌条件下采集粪便样品,分别划线接种于血琼脂平板培养基和伊红美兰培养基上,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18~24 h 后观察。挑取 4 个特征典型的单个菌落纯化后进行革兰氏染色、镜检,对细菌进行形态学观察。将纯化的菌株通过 PCR 扩增 16S rRNA 序列后,送至苏州金唯智生物科技有限公司测序。

1.2.3.2 药敏试验。采用 NCCLS^[9] 推荐的 K-B 纸片法,在无菌条件下取 $100\text{ }\mu\text{L}$ 纯化后培养的菌液均匀涂于血琼脂平板培养基上,选取青霉素类、头孢菌素类、氟喹诺酮类、氨基糖苷类等 18 种常用抗菌药物贴在血琼脂平板培养基上,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18~24 h 后,使用游标卡尺测量抑菌圈直径(Φ),判定其耐药性。

1.2.3.3 小鼠致病性试验。选取健康昆明小鼠 12 只,随机分成试验组和对照组 2 组,每组 6 只。将分离菌混合培养后按 $0.2\text{ mL}/\text{只}$ (浓度为 $10^9\text{ CFU}/\text{mL}$) 接种于试验组小鼠腹腔内,对照组注射等量的生理盐水,观察并记录小鼠的临床症状及发病、致死情况。

2 结果与分析

2.1 寄生虫检测 经镜检发现,10 份粪便中有大量巨大椭圆形或梨形的结肠小袋纤毛虫滋养体(图 1),呈无色透明或略带绿色淡灰,大小为 $(30\sim 150)\text{ }\mu\text{m}\times(25\sim 120)\text{ }\mu\text{m}$,虫体前端略尖,腹面有一胞口,后端略钝,有一胞肛,体表有斜纵排列的纤毛,可迅速旋转前进。结肠小袋纤毛虫包裹呈近圆形,直径为 $40\sim 60\text{ }\mu\text{m}$,呈淡黄或淡绿色,外被 2 层囊膜,囊壁较厚(图 2)。镜检未发现阿米巴原虫、鞭虫、类圆线虫等寄生虫。

2.2 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳结果 将 PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,结果如图 3 所示。20 份腹泻食蟹猴粪便中有 10 份阳性样品。

2.3 形态学特征鉴定和 16S rRNA 测序 细菌培养结果发现,20 份粪便在伊红美兰培养基上发现紫黑色带金属光泽的细菌,初步判断为大肠杆菌。经 16S rRNA 测序后进行序列比对,伊红美兰培养基上的菌落与 NCBI 网站登录的大肠杆菌(登录号 MN208144.1) 同源性为 99.79%,证实为大肠杆菌(图 4)。12 份粪便样品在血琼脂平板培养基上培养出 4 个

典型菌落,菌落经纯化后进行革兰氏染色、镜检,其中 1 个菌落呈灰白色、中间隆起、脓状,边缘呈锯齿状,周围无溶血,经革兰氏染色后镜检可见革兰氏阴性、细小的点状菌。经 16S rRNA 测序后进行序列比对,与 NCBI 网站登录的肺炎克雷伯氏菌(登录号 CP052372.1) 同源性为 99.81%,证实为肺炎克雷伯氏菌(图 5)。另外 1 个菌落为革兰氏阴性杆状菌,经测序与伊红美兰培养基上的菌落为同一菌落(大肠杆菌)。其余 2 个菌落经 16S rRNA 测序后鉴定为环境菌。

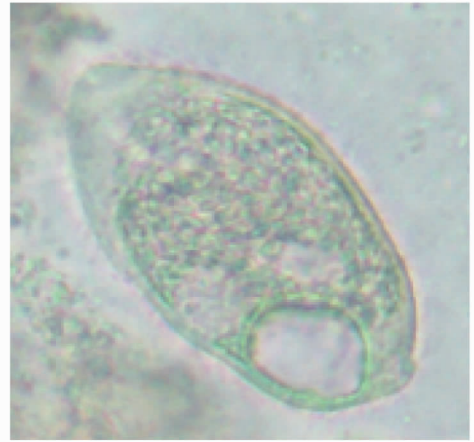


图 1 结肠小袋纤毛虫滋养体(400×)

Fig.1 The trophozoite of *B.coli* (400×)

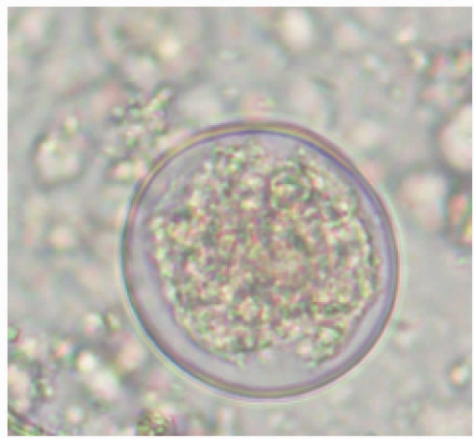
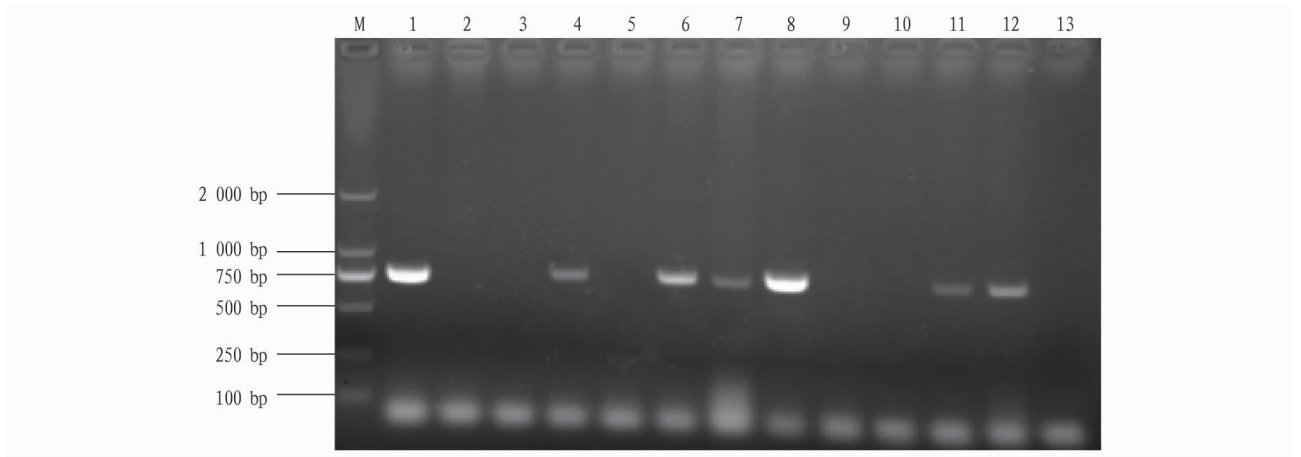


图 2 结肠小袋纤毛虫包裹(400×)

Fig.2 The cystica of *B.coli* (400×)

2.4 药敏试验结果 将分离的大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌混合后进行药敏试验,结果发现分离的大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌对阿米卡星、头孢他啶、头孢西丁、头孢噻唑钠高度敏感,对壮观霉素、卡那霉素、阿莫西林、恩诺沙星、氧氟沙星中度敏感,而对青霉素、链霉素、庆大霉素等耐药(表 1)。

2.5 小鼠致病性试验 试验组小鼠在接种混合菌 8 h 后精神状态变差、活动量减少,24 h 后陆续死亡,最终 3 只小鼠死亡,表明该菌有较强的致病性。通过解剖死亡小鼠发现小鼠肺部、肝部出现肿大,有出血点,胃黏膜出血,肠黏膜充血、变薄。通过对肠道内容物的鉴定确定为大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌混合感染。对照组小鼠精神状态良好,无死亡,剖检未见明显病理变化。



注:M.DNA Marker DL 2000;1.阳性对照;2~12.部分病料样品;13.阴性对照。

Note:M.DNA Marker DL 2000;1.Positive control;2-12.Partial samples of epidemic materials;13.Negative control.

图3 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶检测结果

Fig.3 The agarose gel electrophoresis results of PCR amplification products

表 1 药敏试验结果

Table 1 The drug sensitivity test results of the isolated bacteria

序号 No.	药物名称 Drug name	抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone//mm	敏感性 Drug sensitivity
1	青霉素	12	耐药
2	链霉素	8	耐药
3	庆大霉素	12	耐药
4	阿米卡星	23	高敏
5	壮观霉素	18	中敏
6	卡那霉素	19	中敏
7	阿莫西林	18	中敏
8	阿奇霉素	14	耐药
9	氨苄西林	14	耐药
10	恩诺沙星	16	中敏
11	氧氟沙星	15	中敏
12	环丙沙星	8	耐药
13	头孢他啶	20	高敏
14	头孢西丁	23	高敏
15	头孢噻唑钠	23	高敏
16	磷霉素	11	耐药
17	安普霉素	13	耐药
18	利福平	9	耐药

注: $\Phi \geq 20$ mm, 为高敏; $15 \text{ mm} \leq \Phi < 20$ mm, 为中敏; $\Phi < 15$ mm, 为耐药。

Note: If $\Phi \geq 20$ mm, it was highly sensitive; If $15 \text{ mm} \leq \Phi < 20$ mm, it was medium sensitive; If $\Phi < 15$ mm, it was drug-resistant.

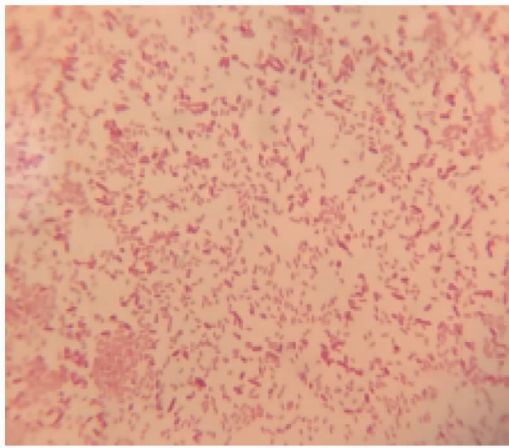


图 4 大肠杆菌

Fig.4 *Escherichia coli*

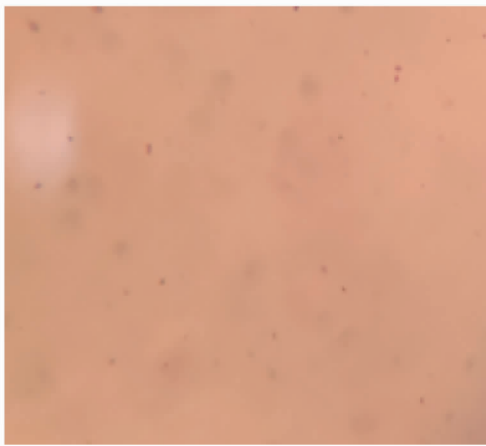


图 5 肺炎克雷伯氏菌

Fig.5 *Klebsiella pneumoniae*

3 讨论

腹泻是临床上常见症状之一,主要是由于饲养不当,细菌、病毒、寄生虫感染所致。笔者通过对 20 份腹泻食蟹猴粪便进行实验室检测发现,10 份粪便样本中检测到结肠小袋纤

毛虫滋养体,20 份粪便样本中检测到大肠杆菌,12 份粪便样本中检测出肺炎克雷伯氏菌。总体来看,10 份粪便样本为三重感染,2 份粪便样本为大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌混合感染,其余 8 份粪便样本为大肠杆菌感染。结肠小袋纤毛虫滋养体较大且具有运动性,通过寄生虫镜检很容易发现,同时经 PCR 方法检测确定为结肠小袋纤毛虫。结肠小袋纤毛虫感染机体后可借助纤毛侵害多种脏器,主要侵害结肠、盲肠、直肠等,造成肠道黏膜的破坏和脱落^[10]。通过替硝唑、伊维菌素、甲硝唑治疗发现甲硝唑的治疗效果较好,这与前期试验结果^[3]相一致。在治疗过程中应避免反复发作,应多次使用驱虫药,以达到彻底控制和消灭该寄生虫的目的。由于该寄生虫可导致人感染,在治疗和预防猴群发生结肠小袋纤毛虫时,应注意饲养人员、兽医工作者以及相关工作人员的个人

人卫生,做好消毒工作,定期对猴场工作人员进行体检,防止寄生虫感染。

临床上常见的引起动物腹泻的细菌有大肠杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌等^[11]。大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌均属于肠道杆菌,其生物学特性有许多相似之处,不容易区分,给诊断带来了一定困难^[12]。该试验使用 2 种培养基,最后进行 16S rRNA 基因测序,发现 2 种致病菌。药敏试验结果表明,这 2 种细菌对阿米卡星、头孢他啶、头孢西丁、头孢噻唑钠高度敏感,而对青霉素、链霉素、庆大霉素等 9 种药物耐药。为了避免耐药性的产生,应当科学合理选择药物,交替使用不同的抗生素或者联合用药。通过小鼠致病性试验发现,这 2 种细菌均可以引起小鼠感染并死亡,说明混合感染会加重病情甚至造成死亡率上升。致病性大肠杆菌引起的动物腹泻在临床上十分常见,是引起人类和动物疾病的重要病原菌,猪、鸡、牛、羊等动物均容易感染,不同动物感染后临床症状也不相同^[13-17]。机体感染致病性大肠杆菌后,轻者腹泻,重者出现各脏器炎症、败血症等,严重时可致死。在该病的防治方面,要加强饲养管理,及时发现,彻底治疗,减少传播风险,对场地、用具、车辆等彻底消毒,从根本上杜绝该病的大范围流行。近年来,肺炎克雷伯氏菌已经成为仅次于大肠杆菌的第二大条件性致病菌,是一种人畜共患传染病^[18],广泛存在于呼吸道和消化道,可引起肺炎、脑膜炎、泌尿感染、败血症等,禽畜、野生动物、水生动物等均容易感染^[19-21]。不合理用药也会导致该毒株的耐药性不断增强,对人类的健康造成很大的威胁。此次调查是首次在腹泻食蟹猴中分离到肺炎克雷伯氏菌,通过对此次病例分析,可为该病临床诊断提供参考依据。

目前全世界科研工作者对试验结果的准确性要求越来越高,对试验食蟹猴的品质要求也越来越严格。广西因其优越的地理位置及适宜的环境,成为全国人工养殖量最大的食蟹猴养殖基地,因此加强食蟹猴疾病的实时监测对于提升其品质具有十分重要的意义。此次调查中检测到的结肠小袋纤毛虫、大肠杆菌、肺炎克雷伯氏菌均可导致人畜共患病,会对公共卫生造成威胁,一旦发现患此病应立刻采取有效措

施,选择安全、高效的抗寄生虫药物和抗生素治疗,减少疫病传播,避免造成不必要的经济损失。

参考文献

- [1] 陈少锋,王河,赵湘培.食蟹猴在慢性病动物模型药理研究应用中的进展[J].药学研究,2020,39(9):536-539.
 - [2] 施新猷.现代医学实验动物学[M].北京:人民军医出版社,2000.
 - [3] 谢永平,贺会利,庞彬辉.一例食蟹猴结肠小袋纤毛虫感染情况调查[J].黑龙江畜牧兽医,2019(24):139-140.
 - [4] 庞彬辉,贺会利,蓝翊文,等.规模化养殖场食蟹猴志贺氏菌的分离和鉴定[J].今日畜牧兽医,2019,35(3):16-17.
 - [5] 周庆安,李军,黄维义,等.食蟹猴源尖形食道口线虫和双叉食道口线虫雄虫体表超微结构的观察[J].中国兽医科学,2016,46(3):348-351.
 - [6] 冯永其,陈新生.川金丝猴结肠小袋纤毛虫感染引起慢性腹泻的综合治疗[J].上海畜牧兽医通讯,2017(6):69-71.
 - [7] 高玉斌,赵格,邹明,等.不同地区动物源致病性大肠杆菌的分子特性与表型分析[J].中国动物检疫,2018,35(9):62-66.
 - [8] 张聪,肖亦辰,陈怀君,等.伴侣动物源肺炎克雷伯氏菌的分离鉴定及毒力和耐药性分析[J].中国畜牧兽医,2020,47(5):1583-1592.
 - [9] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals: Approved standard [M]. 2nd ed. Wayne, PA: NCCLS, 2009:47-55.
 - [10] 高正琴.中国实验动物中结肠小袋纤毛虫快速鉴定及感染调查[J].现代检验医学杂志,2018,33(5):19-23.
 - [11] 李俊保,侯超鹏,韩英.猕猴链球菌和溶血性大肠杆菌混合感染的处置[J].野生动物学报,2020,41(2):439-442.
 - [12] 王海燕,管远江,蔡丙严,等.1 例冠状病毒、大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌引起的犊牛腹泻[J].江苏农业科学,2020,48(16):201-205.
 - [13] 欧冠标,周雨晴,彭昊,等.猪源肺炎克雷伯氏菌耐药性及毒力基因分析[J].中国动物检疫,2021,38(6):102-111.
 - [14] 王瑶,张耀东,易正飞,等.禽致病性大肠杆菌血清型、进化分群及毒力基因的分子流行病学调查[J].中国兽医科学,2020,50(9):1159-1166.
 - [15] 刘源,李红丽,闫益波,等.山西省犊牛腹泻致病性大肠杆菌毒力因子筛查[J].中国兽医学报,2021,41(8):1552-1557.
 - [16] 顾晓晓,郭琴,陶乔孝慈,等.羊源大肠杆菌对氨基糖苷类药物耐药表型及耐药基因的检测[J].中国兽医学报,2020,40(8):1566-1570.
 - [17] 徐辉,王丽霞,李生龙,等.大肠杆菌的分离鉴定及药敏试验[J].安徽农业科学,2020,48(19):84-88.
 - [18] 谭耀荣,李迪,郑瑶瑶,等.一株猪源肺炎克雷伯氏菌的分离鉴定及耐药性、耐药基因的检测[J].黑龙江畜牧兽医,2020(6):57-62.
 - [19] 曹菲菲,刘康军,孙慧慧,等.规模化牧场奶牛乳腺炎病原菌感染流行病学调查及肺炎克雷伯菌耐药性分析[J].畜牧与兽医,2019,51(10):117-121.
 - [20] 王吴佐.林麝源肺炎克雷伯氏菌 GPKP 基因 *lp05372* 缺失株的构建及其生物学特性分析[D].雅安:四川农业大学,2019.
 - [21] 王秀华,武和英,杨冰,等.罗非鱼循环水养殖系统中一株肺炎克雷伯氏菌的分离鉴定及其脱氮性能研究[J].淡水渔业,2020,50(3):72-78.
- (上接第 103 页)
- 化所必不可少的动物模型^[15]。该研究为中老年食蟹猴动物疾病模型的挖掘和开发利用提供了较为基础的尿液指标背景资料。
- ## 参考文献
- [1] COLMAM R J. Non-human primates as a model for aging[J]. Biochimica et biophysica acta (BBA)-Molecular basis of disease, 2018, 1864 (9PtA): 2733-2741.
 - [2] NAKAMURA T, FUJIWARA K, SAITOU M, et al. Non-human primates as a model for human development [J]. Stem cell reports, 2021, 16 (5): 1093-1103.
 - [3] 花秀春,时彦胜,孙兆增,等.人工饲养恒河猴、食蟹猴的繁殖性能初报[J].中国实验动物学报,2009,17(3):219-221.
 - [4] TIAN C Y. China is facing serious experimental monkey shortage during the COVID-19 lockdown [J]. Journal of medical primatology, 2021, 50(4): 225-227.
 - [5] CHOI K, CHANG J, LEE M J, et al. Reference values of hematology, biochemistry, and blood type in cynomolgus monkeys from Cambodia origin [J]. Laboratory animal research, 2016, 32(1): 46-55.
 - [6] 曾素先,黎宗强,江明生,等.广西笼养食蟹猴血常规值及血液生化值的测定[J].安徽农业科学,2019,47(3):181-182.
 - [7] SCHURMAN H J, SMITH H T. Reference values for clinical chemistry and clinical hematology parameters in cynomolgus monkeys [J]. Xenotransplantation, 2005, 12(1): 72-75.
 - [8] 李冰.食蟹猴生长曲线[J].实验动物科学与管理,2006,23(3):61-62.
 - [9] 叶盛青.尿微量白蛋白的临床检验意义及诊断价值[J].心理医生,2018,24(7):62-63.
 - [10] 朱华,刘颖,黄澜,等.尿微量白蛋白、尿 β_2 -微球蛋白、转铁蛋白、糖化血红蛋白联合检测在糖尿病动物模型中的应用[J].中国实验动物学报,2012,20(6):26-30.
 - [11] GROSS J L, DE AZEVEDO M J, SILVEIRO S P, et al. Diabetic nephropathy: Diagnosis, prevention, and treatment [J]. Diabetes care, 2005, 28(1): 164-176.
 - [12] ROETT M A, LIEGL S, JABBARPOUR Y. Diabetic nephropathy: The family physician's role [J]. American family physician, 2012, 85(9): 883-889.
 - [13] AUSTAD S N. Comparative aging and life histories in mammals [J]. Experimental gerontology, 1997, 32(1/2): 23-38.
 - [14] 王结,李瑞生.衰老动物模型的研究进展[J].中国比较医学杂志,2013,23(3):67-70.
 - [15] 岑伟强,杨亚军,刘钰瑜.衰老动物模型的研究进展及其在骨代谢疾病中的应用[J].广东化工,2018,45(9):121-123.