

啮齿类实验动物健康监测用脏垫料哨兵动物法和排风粉尘PCR法比较

于灵芝¹, 魏晓锋¹, 黎明², 孔志豪¹

(1. 上海实验动物研究中心, 上海 201203; 2. 英威沃(上海)生物科技有限公司, 上海 201203)

[摘要] 实验动物微生物质量对科学研究数据的有效性和重复性以及人类健康和动物福利至关重要。目前, 独立通风笼具 (individual ventilation cage, IVC) 已成为主流的啮齿类实验动物饲养系统。针对这种饲养方式的病原体监测方法最常用的是脏垫料哨兵动物法 (soiled bedding sentinels, SBS), 该方法是以间接接触和延迟反馈的方式监测鼠群的微生物携带状况, 能有效监测通过粪-口途径传播的病原体如小鼠肝炎病毒、呼肠孤病毒等。但这种方法难以监测到主要通过气溶胶、直接接触等途径传播的病原体, 例如仙台病毒、嗜肺巴斯德杆菌等。排风粉尘 (exhaust air dust, EAD)-PCR监测方法分为在IVC笼架排风管道中拭子采样, 用以监测管道相对应的笼架; 主机初效过滤前拭子采样, 用以监测整个IVC笼架; EAD收集装置采样, 用以监测同一个主机连接的所有笼架。不同IVC厂商针对各自的IVC系统开发了相应的EAD收集装置, 使操作便捷, 容易实现标准化。目前, 与SBS方法相比, EAD-PCR方法的检出率和时效性都有显著提升, 最快暴露一周就可检出, 可作为SBS方法的补充或替代, 有利于维护实验动物福利。本文对上述两种病原体监测方法的应用进展进行综述, 同时结合本实验室和送检单位EAD-PCR监测的实施情况, 对该方法存在的局限性进行分析并提出解决方案。EAD-PCR方法有助于减少活体哨兵动物的使用量, 可以更好地维护实验动物福利的“3Rs”原则。

[关键词] 啮齿类实验动物; 健康监测; 脏垫料哨兵; 排风粉尘PCR监测

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)03-0321-07



Comparison of Methods between Soiled Bedding Sentinels and Exhaust Air Dust PCR for Health Monitoring of Rodent Laboratory Animals

YU Lingzhi¹, WEI Xiaofeng¹, LI Ming², KONG Zhihao¹

(1. Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201203, China; 2. INVIVO (Shanghai) Biotechnology Co., Ltd., Shanghai 201203, China)

Correspondence to: WEI Xiaofeng (ORCID: 0009-0009-5089-8342), E-mail: wei.xf@outlook.com

[ABSTRACT] The microbiological quality of laboratory animals is crucial for the validity and reproducibility of scientific research data, as well as human health and animal welfare. Currently, individual ventilation cages (IVC) have become the mainstream feeding system for rodent laboratory animals. The most commonly used pathogen monitoring method for this feeding system is soiled bedding sentinels (SBS). This method monitors the microbial carrying status of mouse colony through indirect contact and delayed feedback. It can effectively monitor pathogens transmitted via the fecal-oral route, such as mouse hepatitis virus and reovirus. However, this method has difficulty detecting pathogens mainly transmitted through aerosols or direct contact, such as Sendai virus and *Pasteurella pneumotropica*. The exhaust air dust (EAD)-PCR monitoring method involves swab sampling in the IVC exhaust ducts to monitor the corresponding racks of the ducts; swab sampling before the prefiltration of the host to monitor the entire IVC rack; and

[基金项目] 上海实验动物研究中心科技创新计划新星项目“木糖葡萄糖球菌快速分子检测方法的建立及应用”(2024NS05); 上海市科技计划项目资助“上海市水生实验动物专业技术服务平台”(22DZ2291200)

[第一作者] 于灵芝(1980—), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事病原体核酸检测方法研究。E-mail: yulingzhi@slarc.org.cn

[通信作者] 魏晓锋(1980—), 男, 硕士, 副研究员, 主要从事实验动物质量控制研究。E-mail: wei.xf@outlook.com。ORCID: 0009-0009-5089-8342

EAD collection device sampling to monitor all racks connected to the same host. Different IVC manufacturers have developed corresponding EAD collection devices for their respective IVC systems, making operations convenient and standardization easy. Compared with the SBS method, the EAD-PCR method significantly improves detection rate and timeliness, with the fastest detection possible after one week of exposure. It can serve as a supplement or replacement for the SBS method. Currently, increasing evidence supports that EAD-PCR testing is a more reliable, sensitive, and cost-effective monitoring method, and is more beneficial to animal welfare. This article reviews the application progress of these two methods for monitoring pathogens, analyzes the existing limitations of the EAD-PCR method, and proposes solutions based on its implementation in our laboratory and examination units. The EAD-PCR method helps reduce the number of live sentinel animals used in pathogen monitoring, in order to better maintain the "3Rs" principle of laboratory animal welfare.

[Key words] Rodent laboratory animals; Health monitoring; Soiled bedding sentinels; Exhaust air dust-PCR monitoring

准确了解实验动物的健康状况对于保障生物医学研究的科学性、人类健康和动物福利伦理至关重要。每个机构都必须根据动物种类和研究项目的科学目标,确定要排除的病原体,制定一个微生物监测程序,以满足该机构的具体需求。目前,独立通风笼具(individual ventilation cage, IVC)已成为啮齿类动物的主要饲养系统,可以防止笼间感染,以最大限度减少传染源在笼盒之间的空气传播^[1-2]。由于IVC笼架中的每个笼盒是一个相对独立的微生物单元,对用IVC饲养的动物进行全面的微生物监测已成为一项具有挑战性的任务,传统上使用脏垫料哨兵动物法(soiled bedding sentinels, SBS)来解决这一问题^[1,3]。该方法涉及将所监测的啮齿类动物笼盒中收集的脏垫料、饲料和饮水转移至哨兵动物笼盒中,通过哨兵动物来判断所监测的动物是否携带需排除的病原体。这种方法在世界各地的研究机构中被广泛接受^[4-5],在中国也被写入国家标准GB 14922—2022《实验动物 微生物、寄生虫学等级及监测》^[6]。

SBS方法的可靠性取决于哨兵鼠的选择、传染源脱落的途径、脱落的持续时间、排泄物的浓度、脱落后病原体的稳定性、转移的脏垫料的体积,以及脏垫料转移的频率^[4]。这些已知限制,使某些病原体难以被监测,需使用替代方法。目前,越来越多的证据表明,排风粉尘(exhaust air dust, EAD)-PCR方法是一种更有效且更灵敏的监测方法^[1,7-11]。本文就SBS和EAD-PCR两种方法用于病原体监测的研究进展进行综述,并结合本单位与合作单位使用EAD-PCR方法的实施情况,针对其存在问题进行分析,为其未来应用提出一系列解决方案。

1 SBS应用进展

1.1 SBS实施方式

在IVC饲养设施中,每面笼架底部设哨兵鼠,每次换笼时转移至少50%的脏垫料到哨兵鼠笼盒内。哨兵鼠饲养2~3个月后,将活体动物送检,进行血清学、PCR、细菌培养、剖检和组织病理学等诊断^[10]。

1.2 SBS应用优势

1.2.1 监测成本和效果相平衡

在IVC饲养系统中,通常用1~2笼哨兵鼠可监测50~80笼动物的病原体,大大降低了监测成本。研究表明,在IVC系统中,使用SBS很容易监测到粪-口传播的病原体,如小鼠肝炎病毒(mouse hepatitis virus, MHV)、小鼠细小病毒(mouse parvovirus, MPV)、诺如病毒(mouse norovirus, MNV)、小鼠脑脊髓炎病毒(Theiler's murine encephalomyelitis virus, TMEV)和蠕虫(helminths)等^[1,12-13],在监测成本和效果之间达成了良好的平衡。

1.2.2 监测流程和方案更规范

SBS方法在各实验动物机构中已被广泛接受,是目前IVC饲养系统健康监测的金标准^[14]。长期以来SBS方法在国内外的广泛采用,使其监测流程和制定方案与EAD-PCR方法相比更成熟和规范。尤其是细菌培养的方法,监测阳性结果的可信度更高。

1.3 SBS应用局限性

1.3.1 受病原体传播效率的影响

病原体的传播性依赖于病原体的特性,包括传播方式、传染性、脱落途径和环境稳定性^[12]。SBS的主要缺点是缺乏对非粪-口传播的传染源的有效监测,如

通过呼吸道传播的病原体仙台病毒 (Sendai virus)^[2,13]、嗜肺巴斯德杆菌 (*Pasteurella pneumotropica*)^[15-17]和呼吸道纤毛杆菌 (cilia-associated respiratory bacillus)^[18]等,以及仅依靠接触传播的病原体如鼠毛螨 (fur mites)等^[12,19]。对于非呼吸道传播的病毒,包括淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒^[20] (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)和乳酸脱氢酶升高病毒^[21] (lactate dehydrogenase elevating virus, LDV),由于其脱落不足或在环境中不稳定,病毒不能可靠地传播给哨兵动物,仅可在直接接触的哨兵动物中被检出^[22]。

宿主的易感性可能因小鼠年龄、品种品系和性别而异。在基因工程和免疫缺陷小鼠中,病毒浓度通常高于远交系小鼠。ICR小鼠在4或8周龄时比12周龄时更容易感染MPV,而12周龄的DBA/2、C3H/HeN和BALB/c小鼠比12周龄的C57BL/6小鼠更容易感染MPV。因此,哨兵鼠年龄和品系的选择可能会影响血清学检测结果^[12]。此外,使用近交系小鼠作为哨兵鼠可能会对血清学监测的敏感性产生不利影响^[12]。

MPV、MHV和MNV可在脏垫料中传播,但传播效果取决于转移脏垫料的频率和稀释度^[13]。因此,排泄物浓度、转移脏垫料的体积和频率不足,均可导致收集的脏垫料中病原体的浓度被稀释到哨兵鼠可感染的浓度以下,使病原微生物不能够通过脏垫料进行有效传播并被监测到。

1.3.2 受哨兵鼠免疫反应的影响

哨兵鼠需要经过至少6周的免疫反应产生抗体之后才可检出其携带病原体。某些病原体(如肺支原体等)感染和血清转化可能需要10~12周的暴露期,潜伏期和免疫应答导致的检出时间延迟,使SBS检测或监测有滞后性^[4,12]。哨兵动物的品系、免疫状态和年龄会影响部分病原体的检出,免疫功能正常的哨兵动物会自动清除某些微生物或寄生虫的感染^[23]。并且抗体水平未升高到可监测水平,也会使哨兵动物的血清学检出率低,极易出现病原体漏检。以上原因均导致IVC系统哨兵鼠监测的代表性不够,可出现假阴性结果。

1.3.3 影响动物福利伦理

SBS法需设置哨兵动物笼位,需要购买并处死足量的活体哨兵动物,抽检量大,取样工作繁琐,使动物成本和人力成本升高。如哨兵动物本身携带病原体,还会导致潜在的交叉污染风险^[7-8,24-25]。这些均会影响实验动物福利伦理。

2 EAD-PCR应用进展

2.1 EAD-PCR实施方式

根据笼具系统是否配备初效过滤器,将采集EAD的方式分成两种。对于没有初效过滤器的笼具系统,即排出空气不经初效过滤,可在IVC笼架的排风管道中进行粉尘拭子采样,用以监测管道相对应的笼架;对于安装了初效过滤器的笼具系统,可对初效过滤器的粉尘进行拭子采样,用以监测整个IVC笼架。此外,不同IVC厂商针对各自的IVC系统开发了相应的专门的EAD收集装置,操作便捷,容易实现标准化。通过EAD收集装置采集粉尘,可以监测整个笼架^[10]。EAD收集完毕后,将拭子或EAD收集装置用适量生理盐水洗脱,提取病原体核酸,根据病原体特异性的引物探针组合特异性扩增,完成荧光PCR检测。

2.2 EAD-PCR应用优势

2.2.1 阳性检出率高且快速

EAD-PCR方法可以经EAD采样后用高灵敏度的PCR直接检测病原体,阳性检出率高。通过呼吸道传播、接触传播或低流行率传播的病原体也可以被可靠地检出^[7,26],特别是不易通过SBS法传播的病原体也可被检出,包括LDV^[21]、星状病毒 (murine astrovirus)^[26]、螺杆菌属 (*Helicobacter* spp.)^[10]、嗜肺巴斯德菌^[16]、毛螨^[27]和牛棒状杆菌 (*Corynebacterium bovis*)^[5,28]等。

EAD-PCR可在动物产生抗体之前检测到阳性病原体。例如,仙台病毒最低暴露24 h后在笼周拭子采样即可检出^[2,13]。MHV和MNV用EAD-PCR和SBS方法虽然等效检出,但EAD-PCR方法最快6~7 d暴露即可检出^[5,10,27]。这些研究结果均表明EAD-PCR方法可快速、可靠地对啮齿类动物进行健康监测^[5,29-30]。

2.2.2 减少动物使用量,提高动物福利

Luchins等^[21]所在机构将动物病原体监测由SBS法转为EAD-PCR法后,活体哨兵动物的年使用量从1 676只降至0只。Pettan-Brewer等^[24]的研究机构应用EAD-PCR法后每年减少使用2 500多只哨兵鼠。此外,EAD-PCR方法不需要引入活体哨兵鼠,可避免生物安全柜中更换脏垫料可能导致的病原体水平传播,从而降低笼盒之间交叉污染的可能性,更加符合“3Rs”的动物福利原则^[31]。

2.2.3 节约成本

EAD-PCR方法操作简单,可节约人力成本,减少活体动物的使用,节省笼位。而且EAD-PCR的监测间隔不受笼盒更换频率的限制,可通过不同的采样方式,

监测不同范围的笼架。IVC 支架上的所有笼盒都可以同时监测, 甚至可以通过检测一个样本监测一台主机^[5]。Luchins 等^[32]所在机构实施 EAD-PCR 方法后, 兽医技术人员每年节省工作时间 150 h, 年度成本比 SBS 法低 26%, 更加节约人力成本。

2.3 EAD 应用局限性

2.3.1 消毒后残留核酸片段容易导致假阳性

Bauer 等^[9]研究表明, 在 EAD 样本中 MHV 可稳定存在 3 个月, 而螺杆菌属、嗜肺巴斯德杆菌、鼠内阿米巴、蛲虫、蠕虫和毛螨则可稳定存在 1 年。这些结果表明病毒、细菌和寄生虫核酸的稳定性较强。因此, IVC 笼架的通风管道经消毒后仍可能会存在残留病原体核酸片段, 而荧光定量 PCR 方法具有较高的灵敏度, 其核酸片段仍可被检出, 产生假阳性结果, 不能准确代表设施真实的感染情况。

2.3.2 被带入的病原体和核酸片段容易导致假阳性

实验人员带入或物料带入的病原体(如寄生虫^[33]等)如仅存在于环境中, 并未感染动物, 但由此产生的 EAD-PCR 检测病原体核酸阳性结果, 以及饲料、垫料和笼盒等经辐照、紫外线照射或高温高压灭菌后残余核酸片段导致的病原体核酸阳性结果^[20], 均为假阳性结果, 并不能代表设施的病原体感染情况。

2.3.3 转基因可能导致假阳性

Pettan-Brewer 等^[24]在 EAD-PCR 方法实施过程中发现, LCMV 阳性结果是其机构在研的 LCMV 糖蛋白转基因小鼠脱落的基因组 DNA 所造成, 因为该荧光 PCR 方法可扩增 LCMV 糖蛋白的保守区, 研究人员通过设置无逆转录酶对照, 判断出该阳性片段来源于转基因的 DNA, 而不是病毒 LCMV 的 RNA。这一案例提示, 某些转基因实验也容易导致 EAD-PCR 法监测病原体的假阳性情况发生。

2.3.4 病原体高度变异可能导致假阴性

RNA 病毒如 LCMV, 在基因组复制过程中使用低保真度 RNA 聚合酶, 导致基因组中的突变频率很高。这一方面可以使病毒能够适应宿主环境, 另一方面也难以确定 EAD-PCR 法检测所用引物组对尚未出现在公共数据库中的新出现高度变异的 LCMV 具有适用性, 容易出现假阴性结果。因此, 检测实验室对于检测多种病毒如 LCMV 的引物序列必须经常更新, 以便能够提高引物组的覆盖率^[22]。

2.3.5 样本收集方式容易导致结果差异

虽然有文献表明, 不同的样本收集方式, 包括

EAD 收集装置和拭子之间^[24], 以及 Allentown 和 Tecniplast 两种 IVC 系统的 EAD 收集装置之间, 差异均不显著^[17], 但这些结果仅针对几种目前研究的病原体, 其他的病原体还有待于进一步验证。

另有数据表明, 在笼架的不同排气位置, 会有不同的 EAD-PCR 检出阳性率, 且达到可检测水平的时间也不一样。此外, 不同的病原体 EAD 中达到可检测水平的时间也不一样^[26,34]。对于带有初效过滤器的笼盒, 不适合用该方法进行病原体监测^[14]。

3 针对 EAD-PCR 方法局限性的解决方案探讨

上海实验动物研究中心于 2021—2024 年已开展 EAD-PCR 检测工作, 送检单位包括上海市各医院、高校和企业等十余家实验动物使用单位。经调查核实, 近年来这些单位均没有暴发疫情或监测到被排除的病原体, 这表明 EAD-PCR 方法可作为一种可靠的实验动物病原体监测方法。现将该中心应用 EAD-PCR 法进行啮齿类动物病原体监测时发现的局限性给出一些解决方案, 建议如下。

3.1 应建立标准操作程序

应根据不同的笼架和笼盒设计, 确认适合的样本采集方式和位置, 并建立规范的笼架清洗消毒程序。同时, 应对操作人员进行 EAD 采样培训, 并建立标准的 EAD 采样操作程序, 确保规范化。

确定采用 EAD-PCR 方法监测动物质量后, 尤其是在疫情暴发后, 机构需要采用更彻底的 IVC 笼架排风管道清洗和消毒方式, 以减少由于病原微生物及核酸片段残留造成的假阳性^[9,24]。采用适当的清洁和消毒程序, 包括高压灭菌^[5]、过氧化氢消毒^[17]、隧道式清洗机冲洗(水温 $\geq 82.2\text{ }^{\circ}\text{C}$)^[35]、消毒液冲洗结合洗笼机清洗^[36]、内部流程清洗 2 次^[24]等, 足以有效消除可检测水平的核酸。

3.2 应建立标准验证程序

对管道和 EAD 收集装置、垫料及饲料中是否有残留核酸应建立系统性的验证程序, 以避免出现假阳性结果。例如, 在清洗笼架之后或转进新动物之前, 应对排风管道进行针对 EAD 的 PCR 监测, 对进入设施的垫料、饲料应进行荧光 PCR 检测, 确保没有残存的病原体及核酸片段。在此阴性结果的基础上, 新动物转进后 EAD-PCR 监测的阳性结果, 或经动物身上采集的样本如粪便进行培养法或荧光 PCR 验证获得阳性结果,

才可以确认病原体阳性^[9,24]。

3.3 应进行检测质量控制

检测实验室对引入荧光PCR方法的性能需要进行足够的确认和验证,以保证结果的准确性和可重复性,增加不同检测实验室之间检测结果的一致性。这些性能包括灵敏度、特异度、重复性以及临床样本的符合率(与金标准方法比对)等。另外,对采用EAD-PCR法的病原体检测应进行质量控制,以保障检测质量。外部质控应包括参加能力验证和实验室比对等。内部质控应包括实验室环境、人员资质及培训、仪器设备的计量溯源、试剂耗材的质检验收、样本的接受与保存、核酸提取和核酸扩增的阴阳性对照设置和标准操作规程(standard operating procedure, SOP)等。

3.4 应注意检测结果的合理解释

动物设施负责人要有必要的知识背景,能够对检测报告的结果进行合理判断。检测报告的结果仅对送检样本负责,并不能代表所监测的种群。并且不同检测实验室可能会有不同的检测结果,原因如下:(1)设计引物不一样,覆盖的核酸片段不一样,检测结果就可能会不同;(2)不同检测实验室建立PCR方法时,对灵敏度和特异度的追求不同,也会导致检测结果可能不同,因为灵敏度和特异度呈互为消长的关系,若要提高方法的灵敏度必然以降低特异度为代价,反之亦然;(3)当病原体浓度在检出阈值附近时,重复性较差,也会导致检测结果出现不同。

为了更好地解释阳性结果,设施负责人要考虑到其设施的感染史、当地流行病史、动物来源、设施是否在做所排除病原体的相关实验、笼架等消毒后病原体核酸是否验证为阴性、饲料或垫料中可能残留的病原体核酸片段、转基因小鼠转入基因的序列以及人员带入等因素。对假阴性结果的考虑应包括高度变异的病毒(如LCMV)和引物序列没有覆盖新变异株这两种情况。对此,采用EAD-PCR方法进行病原体监测的机构在实施根除计划之前,设施负责人要有合理的判断,需要时可选择第二家检测实验室或其他检测方法进行复核验证^[24]。

4 总结及展望

目前,国际上的一些机构在对其动物设施进行常规监测时,已经从SBS法转变为使用EAD-PCR方法,结果表明,单独使用EAD-PCR监测是一种可靠的监控方法^[24,28,34]。另外,国内外有些机构是使用混合方法,即将SBS法与EAD-PCR方法同时或交替使用,也

可以起到可靠的监控作用^[1,11,24,28]。还有一些国内外机构目前仍然在观望,等待该方法的进一步验证。

需要指出,现有研究主要集中在Tecniplast和Allentown等国外品牌的IVC系统,针对国内品牌IVC系统的EAD-PCR监测效果尚未见报道。期待更多采用EAD-PCR方法的机构及时公布监测效果,以便验证并改进EAD-PCR方法对病原体的监测流程,降低动物疫病爆发的风险,减少研究机构对使用活体哨兵动物进行病原体监测的依赖,更好地维护实验动物福利的“3Rs”原则。

[作者贡献 Author Contribution]

于灵芝负责文章提纲拟定、资料收集、初稿撰写;
魏晓锋负责确定文章方向和修订;
黎明负责文章修订;
孔志豪参与资料收集。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者声明无利益冲突、无署名争议。

[参考文献 References]

- [1] BRIELMEIER M, MAHABIR E, NEEDHAM J R, et al. Microbiological monitoring of laboratory mice and biocontainment in individually ventilated cages: a field study [J]. Lab Anim, 2006, 40(3): 247-260. DOI: 10.1258/002367706777611497.
- [2] DILLEHAY D L, LEHNER N D, HUERKAMP M J. The effectiveness of a microisolator cage system and sentinel mice for controlling and detecting MHV and Sendai virus infections[J]. Lab Anim Sci, 1990, 40(4):367-370.
- [3] LIPMAN N S, HOMBERGER F R. Rodent quality assurance testing: use of sentinel animal systems[J]. Lab Anim, 2003, 32(5):36-43. DOI: 10.1038/labani0503-36.
- [4] WORKING GROUP ON REVISION OF GUIDELINES FOR HEALTH MONITORING OF RODENTS AND RABBITS F E L A A A, CONVENOR M M, BERARD M, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units[J]. Lab Anim, 2014, 48(3): 178-192. DOI: 10.1177/0023677213516312.
- [5] MANUEL C A, PUGAZHENTHI U, LESZCZYNSKI J K. Surveillance of a ventilated rack system for *Corynebacterium bovis* by sampling exhaust-air manifolds[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2016, 55(1):58-65.
- [6] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 实验动物 微生物学、寄生虫学等级及监测: GB 14922—2022[S/OL]. (2022-12-19) [2023-11-22]. <https://openstd.samr.gov.cn/bzgk/gb/newGbInfo?hcno=FAB31176A14AF0E2DA71056C49A73965>. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, China National Standardization Commission. GB 14922-2022, Laboratory animals – Microbiological and parasitological standards and monitoring[S/

- OL]. (2022-12-19) [2023-11-22]. <https://openstd.samr.gov.cn/bzgk/gb/newGbInfo?hcno=FAB31176A14AF0E2DA71056C49A73965>.
- [7] MILLER M, BRIELMEIER M. Environmental samples make soiled bedding sentinels dispensable for hygienic monitoring of IVC-reared mouse colonies[J]. *Lab Anim*, 2018, 52(3): 233-239. DOI: 10.1177/0023677217739329.
 - [8] DE BRUIN W C C, VAN DE VEN E M E, HOOIJMANS C R. Efficacy of soiled bedding transfer for transmission of mouse and rat infections to sentinels: a systematic review[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0158410. DOI: 10.1371/journal.pone.0158410.
 - [9] BAUER B A, BESCH-WILLIFORD C, LIVINGSTON R S, et al. Influence of rack design and disease prevalence on detection of rodent pathogens in exhaust debris samples from individually ventilated caging systems[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2016, 55(6):782-788.
 - [10] MAILHIOT D, OSTDIEK A M, LUCHINS K R, et al. Comparing mouse health monitoring between soiled-bedding sentinel and exhaust air dust surveillance programs[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2020, 59(1): 58-66. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000061.
 - [11] COMPTON S R, HOMBERGER F R, PATURZO F X, et al. Efficacy of three microbiological monitoring methods in a ventilated cage rack[J]. *Comp Med*, 2004, 54(4):382-392.
 - [12] GROVE K A, SMITH P C, BOOTH C J, et al. Age-associated variability in susceptibility of Swiss Webster mice to MPV and other excluded murine pathogens[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2012, 51(6):789-796.
 - [13] ARTWOHL J E, CERA L M, WRIGHT M F, et al. The efficacy of a dirty bedding sentinel system for detecting Sendai virus infection in mice: a comparison of clinical signs and seroconversion[J]. *Lab Anim Sci*, 1994, 44(1):73-75.
 - [14] WINN C B, ROGERS R N, KEENAN R A, et al. Using filter media and soiled bedding in disposable individually ventilated cages as a refinement to specific pathogen-free mouse health monitoring programs[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2022, 61(4): 361-369. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-22-000013.
 - [15] SCHARMANN W, HELLER A. Survival and transmissibility of *Pasteurella pneumotropica*[J]. *Lab Anim*, 2001, 35(2):163-166. DOI: 10.1258/0023677011911543.
 - [16] MILLER M, RITTER B, ZORN J, et al. Exhaust air dust monitoring is superior to soiled bedding sentinels for the detection of *Pasteurella pneumotropica* in individually ventilated cage systems[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2016, 55(6):775-781.
 - [17] MAHABIR E, DURAND S, HENDERSON K S, et al. Comparison of two prevalent individually ventilated caging systems for detection of murine infectious agents via exhaust air particles[J]. *Lab Anim*, 2019, 53(1): 84-88. DOI: 10.1177/0023677218785929.
 - [18] CUNDIFF D D, RILEY L K, FRANKLIN C L, et al. Failure of a soiled bedding sentinel system to detect cilia-associated respiratory bacillus infection in rats[J]. *Lab Anim Sci*, 1995, 45(2):219-221.
 - [19] LINDSTROM K E, CARBONE L G, KELLAR D E, et al. Soiled bedding sentinels for the detection of fur mites in mice[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2011, 50(1):54-60.
 - [20] BUCHHEISTER S, BLEICH A. Health monitoring of laboratory rodent colonies-talking about (r)evolution[J]. *Animals*, 2021, 11(5):1410. DOI: 10.3390/ani11051410.
 - [21] LUCHINS K R, MAILHIOT D, THERIAULT B R, et al. Detection of lactate dehydrogenase elevating virus in a mouse vivarium using an exhaust air dust health monitoring program[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2020, 59(3): 328-333. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000107.
 - [22] IKE F, BOURGADE F, OHSAWA K, et al. Lymphocytic choriomeningitis infection undetected by dirty-bedding sentinel monitoring and revealed after embryo transfer of an inbred strain derived from wild mice[J]. *Comp Med*, 2007, 57(3):272-281.
 - [23] BESSELSSEN D G, BECKER M D, HENDERSON K S, et al. Temporal transmission studies of mouse parvovirus 1 in BALB/c and C.B-17/lcr-Prkdc(scid) mice[J]. *Comp Med*, 2007, 57(1):66-73.
 - [24] PETTAN-BREWER C, TROST R J, MAGGIO-PRICE L, et al. Adoption of exhaust air dust testing in SPF rodent facilities [J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2020, 59(2): 156-162. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000079.
 - [25] LIVINGSTON R S, RILEY L K. Diagnostic testing of mouse and rat colonies for infectious agents[J]. *Lab Anim*, 2003, 32(5):44-51. DOI: 10.1038/labani0503-44.
 - [26] KÖRNER C, MILLER M, BRIELMEIER M. Detection of Murine Astrovirus and *Myocoptes musculus* in individually ventilated caging systems: investigations to expose suitable detection methods for routine hygienic monitoring[J]. *PLoS One*, 2019, 14(8): e0221118. DOI: 10.1371/journal.pone.0221118.
 - [27] JENSEN E S, ALLEN K P, HENDERSON K S, et al. PCR testing of a ventilated caging system to detect murine fur mites[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2013, 52(1):28-33.
 - [28] MANUEL C A, PUGAZHENTHI U, SPIEGEL S P, et al. Detection and elimination of *Corynebacterium bovis* from barrier rooms by using an environmental sampling surveillance program[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2017, 56(2): 202-209.
 - [29] KAPOOR P, HAYES Y O, JARRELL L T, et al. Evaluation of anthelmintic resistance and exhaust air dust PCR as a diagnostic tool in mice enzootically infected with *Aspiculuris tetraptera*[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2017, 56(3):273-289.
 - [30] ZORN J, RITTER B, MILLER M, et al. Murine norovirus detection in the exhaust air of IVCs is more sensitive than serological analysis of soiled bedding sentinels[J]. *Lab Anim*, 2017, 51(3):301-310. DOI: 10.1177/0023677216661586.
 - [31] LEWIS D I. Animal experimentation: implementation and application of the 3Rs[J]. *Emerg Top Life Sci*, 2019, 3(6):675-679. DOI: 10.1042/ETLS20190061.
 - [32] LUCHINS K R, BOWERS C J, MAILHIOT D, et al. Cost comparison of rodent soiled bedding sentinel and exhaust air

dust health-monitoring programs[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2020, 59(5): 508-511. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-20-000003.

- [33] LEBLANC M, BERRY K, GRACIANO S, et al. False-positive results after environmental pinworm PCR testing due to Rhabditid nematodes in Corncob bedding[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2014, 53(6):717-724.
- [34] COMPTON S R, BOOTH C J, MACY J D. Murine astrovirus infection and transmission in neonatal CD1 mice[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2017, 56(4):402-411.
- [35] BURR H N, WOLF F R, LIPMAN N S. *Corynebacterium bovis*: epizootologic features and environmental contamination in an enzootically infected rodent room[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2012, 51(2):189-198.
- [36] AURORE D D, JUAN C C, CHERYL L P, et al. Comparison of

individual ventilated cage rack cleaning methods: tools for exhaust air dust testing[C/OL]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2016, 55: 632. (2016-11-03) [2023-11-22]. <http://documents.allentowninc.com/AALAS%20Poster%202016%20tables.pdf>.

(收稿日期:2023-11-22 修回日期:2024-01-30)

(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,洪怡)

[引用本文]

于灵芝,魏晓峰,黎明,等.啮齿类实验动物健康监测用脏垫料哨兵动物法和排风粉尘PCR法比较[J].实验动物与比较医学,2024,44(3):321-327. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.168.

YU L Z, WEI X F, LI M, et al. Comparison of methods between soiled bedding sentinels and exhaust air dust PCR for health monitoring of rodent laboratory animals[J]. Lab Anim Comp Med, 2024, 44(3): 321-327. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.168.

书讯：《动物实验和药效评价》

随着生命科学、医学和药学的快速发展，尤其是新药开发力度的不断加强，越来越多的动物模型被用于相关领域的基础研究和应用研究。长期以来，尽管我国科研人员在利用实验动物进行药效评价方面已有许多成果积累，但相关实践经验的公开分享较少，使得初涉研究的人员在实验中遇到问题时只能靠摸索解决，耗时耗力，阻碍了研究的高效开展。

北京大学药学院蒲小平教授在新药研发领域长期深耕，成果斐然，申请了多项中国专利，发表科研论文100多篇（其中SCI论文80多篇），主持完成国家各类基金支持的新药开发研究课题以及企业委托的多项中西药新药临床前药理及毒理研究10多项，在药效评价方面具有丰富的经验和深厚的造诣。2024年4月，蒲小平教授主编的《动物实验和药效评价》在科技部“十三五”重大创制新药项目（2018ZX09711-001-009-006）资助下正式出版面世。

本书主要从技术和方法学层面入手，通过具体的药效评价案例，在动物选择、手术实施、疾病动物模型制备、技术要点、药效学评价指标的确定、实验方案的设计以及分析方法（质谱成像与核磁共振成像等）方面进行了详细介绍。全书分为三篇：第一篇介绍中枢神经系统动物模型和药效评价，内容涉及脑胶质瘤原位移植瘤、血管性痴呆、大脑中动脉永久性缺血、大脑中动脉缺血再灌注、帕金森病、甲基苯丙胺成瘾、糖尿病认知功能障碍等；第二篇介绍心血管及内分泌系统动物模型和药效评价，内容涉及慢性心力衰竭、急性心力衰竭、糖尿病视网膜病变和生长激素缺乏症等；第三篇介绍其他动物

模型和药效评价，内容涉及原发免疫性血小板减少症、二甲基亚硝胺致肝纤维化、臭氧诱导气道高反应性、弱精症、勃起功能障碍、感染性休克及新型冠状病毒感染等。本书特点是专业术语简明，原理介绍清晰明了，图文并茂，为初入药物研发相关领域的技术人员在研究思路、方法和结果分析方面提供了很好的范例，搭建了可供参考的药效评价流程框架。期待读者能从本书

中获得启发，并能将相关方法在实践中得以灵活应用。本书适于医学、药学、生物技术及其相关学科的本

科生、硕士研究生、博士研究生、教师，以及制药企业药物研发的科研人员、技术人员阅读。

本书由北京大学出版社出版（ISBN 978-7-301-34789-8），16开本，彩色印刷，共54万字，378页，制作精美。对本书感兴趣的读者可直接在京东或当当等平台上购买，也可扫码进北京大学出版社微店（网址为<https://k.youshop10.com/g4B6DYuw>）购买。

（北京大学出版社黄炜供稿）

