



小鼠與大鼠健康監測指引

Guideline for Mice & Rats
Health Monitoring/Surveillance Program
(草稿，尚未撰寫完畢)

撰寫人：曾中柏 獸醫師

目錄

衛兵鼠的介紹

衛兵鼠的使用方式

衛兵鼠的選擇

健康監測用之麟墊料衛兵鼠

健康監測檢樣項目(尚在撰寫中)

小鼠與大鼠傳染性疾病對實驗之可能影響(尚在撰寫中)

動物入室檢疫(尚在撰寫中)

參考文獻

衛兵鼠的介紹

衛兵鼠是被用來監測動物中心內的動物族群是否有傳染性疾病的大鼠或小鼠，我們用直接(Direct Contact Sentinel)或間接(Dirty Bedding Sentinel)的方式讓衛兵鼠接觸受監測的動物族群，若受監測的動物族群有傳染性疾病，則衛兵鼠亦會受感染，屆時將衛兵鼠送去檢驗時即可得知其所監測的動物族群是否有傳染性疾病。

衛兵鼠這名詞是由原文 Sentinel (名詞，哨兵)翻譯而來，衛兵/哨兵動物(Sentinel Animals)的使用行之有年。哨兵動物最早的使用是由於特定動物物種對特定有害物質會比人類還敏感，因此一旦暴露於低濃度之特定有害物質就會比人類還早出現症狀，所以這些動物被用來偵測環境中是否有特定有害物質或傳染性疾病²¹。

在 1913 年，英國醫生 John Scott Haldane 就提出將金絲雀放在煤礦坑以偵測空氣中是否有一氧化碳，由於金絲雀對一氧化碳中毒很敏感，因此一旦金絲雀出現症狀，煤礦坑內的工人就可知道是否有危險，而得以及時逃出^{22, 23, 24}。

此外 1956 年在日本發生的水俣病，其實早在 1952 年當地就出現許多貓有 Dancing Cat Fever 的症狀，此疾病是由於貓食入被汞污染的魚而造成，但當時並未引起注意，直到 1956 年出現第一位人類病患才開始引起重視²⁵。

至今仍有許多使用哨兵動物的例子，像是使用哨兵雞偵測 West Nile Virus 或 Avian Influenza Virus 等。

衛兵鼠的使用方式

Direct Contact Sentinel

- 直接將衛兵鼠與受監測的動物飼養於同一籠，或者直接把族群內的動物送去檢測。此方式可偵測到由各種不同途徑傳播的病原，包括直接接觸傳播、空氣傳播、尿液或糞口傳播¹⁸。有些病原不容易藉由髒墊料傳播，如 Lymphocytic Choriomeningitis Virus、*Helicobacter* spp.^{4, 14}、Mouse Norovirus^{4, 14}、Sendai virus⁸、*Pasteurella pneumotropica*⁸和一些外寄生蟲^{4, 14}；有些病原亦不易藉由 exhaust air 傳播，如 *Helicobacter* spp.、Mouse Rotavirus、Mouse Parvovirus 等病原⁸。因此有些情況使用 Direct Contact Sentinel 就比較適合。建議衛兵鼠和受監測的動物至少要飼養在同一籠達 4 週¹⁸。
- 雖然此方式最準確，但缺點是需要較多的衛兵鼠。此外，若衛兵鼠本身被感染，則可能會將病原傳播給受監測的動物^{1, 8}。
- 由於此方式需使用較多衛兵鼠，若是用於例行性健康監測則較不可行，因此大多是用在動物入室檢疫。

Dirty Bedding Sentinel

- 是最常用且較經濟實惠的作法，此為間接監測的方法，是將受監測的動物族群的髒墊料、尿液、或糞便轉移到衛兵鼠鼠籠內，讓衛兵鼠接觸這些髒墊料；若受監測的大小鼠族群內有傳染性疾病，則可藉由這些髒墊料讓衛兵鼠被感染。此方式的優點是只需要少量的衛兵鼠即可偵測大量的動物族群¹⁸。此法對於糞口傳播的疾病有很好的偵測效果^{2, 18}，如 Rotavirus¹⁸、Mouse Hepatitis Virus¹⁸、Reovirus¹⁸、以及 *Helicobacter*¹⁸，但是對於接觸傳染或空氣傳播的疾病則偵測效果有限²，如 Sendai virus⁴、*Pasteurella pneumotropica*⁴ 及外寄生蟲^{2, 18}，可能較無法藉由髒墊料傳播感染。

Air-Exhaust Sentinel

- 此法亦是間接的方式，但是是針對 IVC 籠架所用的衛兵鼠。廠商需將 IVC 籠架安裝 BioScreen (BioZone, Inc.)，將 IVC 籠架內部分的廢氣導入衛兵鼠鼠籠內²，這樣衛兵鼠就可被存在於 IVC 鼠籠內的 airborne 病原感染¹⁸。
- 此外，亦有做法是使用 exhaust filters 過濾 IVC 籠架內的廢氣，再用 PCR 偵測是否有病原⁴。

衛兵鼠的選擇

衛兵鼠來源

- 衛兵鼠應購自合格且經認證的廠商的 SPF 動物，本中心衛兵鼠是向樂斯科購買的 SPF 小鼠或大鼠，原則上可排除衛兵鼠自身被感染的疑慮。

衛兵鼠物種與品系

- 衛兵鼠的物種和其所監測的動物物種必須一樣⁸。
- 一般而言都是選用免疫健全的動物來做衛兵鼠，這樣才有健全的免疫力、良好的抗體反應，做血清學檢測才有意義^{1, 2, 4, 5, 8, 15}，因此 outbred 比 inbred 還適合^{2, 4, 17}，且 outbred 價格也較便宜^{2, 3, 4}。有些 inbred strain 是免疫缺陷、或是對特定疾病較有抵抗力，因此較不適合作為衛兵鼠^{8, 14}。
- 在某些特殊的情況可能會需要用免疫缺陷的動物做健康監測¹⁹。由於免疫缺陷的動物不會產生良好的抗體反應^{3, 8}，因此不適合做血清學檢查，但適合進行 PCR 檢測³。此外，由於免疫缺陷動物一旦被感染就容易發展成持續性感染^{3, 8}，因此適合用來偵測 opportunistic pathogens，譬如 *Pneumocystis murina* (一種常感染免疫缺陷小鼠的黴菌)^{3, 4, 8}、*Pneumocystis carinii*¹⁹、*Corynebacterium bovis*^{4, 8}、*Staphylococcus aureus*¹⁹、及 *Pseudomonas aeruginosa*¹⁹，此類微生物容易被免疫健全動物的免疫力消滅^{3, 8}，但卻會對免疫不全或免疫缺陷的動物造成嚴重的影響。雖然本中心例行性健康監測不會使用免疫缺陷動物做衛兵鼠，但若有特殊情形、或研究人員有特殊需求，本中心才會使用免疫缺陷動物作衛兵鼠。
- 建議做為小鼠衛兵鼠的品系有 CD-1 (ICR)¹²⁻¹⁶、BALB/c^{3, 16}、Swiss Webster¹²⁻¹⁴、C3H¹⁶、以及 DBA³；
不適合作為小鼠衛兵鼠的品系有 C57BL/6¹⁶、SCID¹⁶、或基因轉殖小鼠¹⁶。
註：即使是 outbred 小鼠，不同品系對特定病原感染的反應也存在著差異性，譬如 C57BL/6 對於 Mouse Parvovirus 的感染是 low antibody responders，但其對 Minute Virus of Mice 感染的反應卻比 ICR 和 C3H 品系來得好⁴。
- 建議做為大鼠衛兵鼠的品系有 Sprague Dawley^{6, 12-15}、以及 Long-Evans^{12, 13}。
- 本中心例行性健康監測使用的小鼠衛兵鼠品系是 ICR 小鼠，大鼠則是選用 Sprague Dawley 品系。

衛兵鼠性別

- 母鼠比公鼠更適合作為衛兵鼠^{1, 2, 6, 12–14, 17}，因為較不會有打架的情形發生^{1, 2, 14}；此外，若是使用 Contact Sentinel，母衛兵鼠亦可避免對監測的動物造成 genetic contamination¹。

衛兵鼠週齡

- 衛兵鼠在進行採樣時免疫系統應已成熟¹，年輕的動物會比老年的動物更適合做為衛兵鼠，年紀大的動物對某些病原的感受度會下降¹，譬如說超過 9 月齡的小鼠通常會 develop 非特異性的抗體，而使得 ELISA 檢測不準確¹⁹、容易造成偽陽性⁵。因此建議使用 4–6 週齡^{6, 12, 13, 17}之大鼠與小鼠作為衛兵鼠。
- 本中心麟塾料衛兵鼠選用 5 週齡小鼠與大鼠。

健康監測用之髒墊料衛兵鼠

髒墊料衛兵鼠飼養管理

- 不要給衛兵鼠乾淨的墊料，因為可能會稀釋病原濃度^{1, 2, 6}，造成衛兵鼠不易被感染，若有必要可給予乾淨巢料^{1, 2}。
- 衛兵鼠的籠卡需標示清楚是「衛兵鼠」，亦須標示衛兵鼠編號(由[樓層-飼育室-籠架]組成)、IACUC 編號、計畫主持人、使用者、動物物種、動物品系、動物性別、動物隻數、動物來源、IACUC 核准期間、監測之年度與第幾季。此外，亦建議於籠卡標示衛兵鼠監測族群的 IACUC 編號、計畫主持人、使用者、並於備註欄註明該 IACUC 是本中心代養或使用者自行換籠。

髒墊料衛兵鼠數量與放置

- 一般而言，每一籠衛兵鼠籠內會飼養 2 隻衛兵鼠^{1, 2, 14}，若其中一隻死亡，至少還有一隻備用^{1, 14}，或者是有需要時可使用另一隻做複檢^{1, 14}。此外，群居飼養亦可提供環境豐富化¹⁴。
- 雖然用越多的衛兵鼠做監測，健康監測的效果越準確³、且更易找到感染源，但考量到實驗動物中心的營運成本，衛兵鼠的使用數量仍是有限制的。常見的策略是一個籠架由一組髒墊料衛兵鼠監測^{1, 15, 20}，但可視實際需求由獸醫師依現場狀況做調整分配^{1, 5, 14}。
- 一般而言會將衛兵鼠放在較底層的籠架^{5, 15, 19, 20}，一旦決定好放置的位子，就不應做更動¹⁴。

髒墊料衛兵鼠暴露時間

- 由於血清學檢測是偵測抗體，雖然抗體的產生一般而言至少需要兩週的時間^{2, 19}，但考量到有些病原感染所需的 seroconversion 會需要比較長的時間⁸，譬如 Mouse Norovirus 的 seroconversion 需要至少 8 週的時間²，其他病原如 *Mycoplasma pulmonis*^{4, 8}、*Pasteurella pneumotropica*^{4, 8}、*Streptobacillus moniliformis*⁴ 的 seroconversion 也需要比較久的時間。因此在檢驗前至少要暴露於髒墊料 6–8 週^{3, 4, 8, 14}，最理想的狀態是暴露後 10–12 週才進行檢驗^{1, 4, 8, 14}。
- 不過並非暴露越久越好，因為對於一些病原的 sensitivity，如 Mouse Parvovirus²，會隨著年紀的增加而減少^{1, 2}，因此衛兵鼠的暴露時間不應該超過 3–6 個月^{1, 2}。
- 本中心衛兵鼠固定每一季檢驗一次。

麟墊料衛兵鼠籠是否需加蓋

- 是否需加蓋取決於健康監測計畫要偵測到什麼程度。不同的教科書或不同實驗動物中心都有不同作法，有的認為要加蓋、有的認為不加蓋^{2, 5, 19}、有的則認為要依據動物房飼養方式而定^{4, 14}。若未加蓋則可偵測環境中與空氣傳播的病原¹⁹，但有可能受監測的動物族群並沒有動物受感染，或者是衛兵鼠有可能是被隔壁籠架散播而來的病原所感染⁵，此情形可能會造成衛兵鼠雖然檢驗陽性，但受監測的動物族群是否確實有被感染而有爭議⁵。
- 此外，若不加蓋，由於大小鼠的習性，可能都會把墊料潑到籠外，此時若墊料內有病原則可能造成病原向外擴散、引起不必要的風險。
- 綜合以上兩點，本中心衛兵鼠皆會加蓋。

麟墊料衛兵鼠執行程序

請參閱本中心「SOP407 衛兵鼠之使用–麟墊料法 Use of Sentinels – Dirty–Bedding Method」(可在本中心網站下載)。

參考文獻

1. Shek, W. R., Smith, A. L. & Pritchett-Corning, K. R. (2015). Chapter 11, Microbiological Quality Control for Laboratory Rodents and Lagomorphs. *Laboratory Animal Medicine*, 3rd Edition.
2. Colby, L. A., Nowland, M. H. & Kennedy, L. H. (2020). Chapter 15, Research Variables, Biosecurity, and Colony Health Surveillance. *Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction*, 5th Edition.
3. Danneman, P. J., Suckow, M. A. & Brayton, C. F. (2013). Chapter 5, Preventive Medicine. *The Laboratory Mouse*, 2nd Edition.
4. Mähler, M. & Nicklas, W. (2012). Chapter 4.4, Health Management and Monitoring. *The Laboratory Mouse*, 2nd Edition.
5. Otto, G. & Franklin, C. L. (2006). Chapter 16, Medical Management and Diagnostic Approaches. *The Laboratory Rat*, 2nd Edition.
6. Sharp, P. & Villano, J. (2012). Chapter 4, Veterinary Care. *The Laboratory Rat*, 2nd Edition.
7. Clifford, C.B., Henderson, K.S. & Chungu, C. (2014). *A Guide to Modern Strategies for Infection Surveillance of Rodent Populations: Beyond Sentinels*. Charles River Laboratories.
8. Mähler, M., Berard, M., Feinstein, R., Gallagher, A., Illgen-Wilcke, B., Pritchett-Corning, K. & Raspa, M. (2014). FELASA Recommendations for the Health Monitoring of Mouse, Rat, Hamster, Guinea Pig and Rabbit Colonies in Breeding and Experimental Units.
9. Compton, S.R., Homberger, F.R. & Clark, J.M. (2004). Microbiological Monitoring in Individually Ventilated Cage Systems.
10. Compton, S. R., Homberger, F. R., Paturzo, F. X. & Clark, J. M. (2004). Efficacy of Three Microbiological Monitoring Methods in a Ventilated Cage Rack.
11. Lipman, N. S. & Homberger, F. R. (2003). Rodent Quality Assurance Testing: Use of Sentinel Animal Systems.
12. McGill University. SOP #511 Sentinel Husbandry. Revised on 05/02/2013.
13. McGill University. SOP #602 Rodent Health Monitoring Program. Revised on

03/31/2019.

14. Washington State University. Policy #14 Rodent Colony Health Monitoring. Approval Date: 04/25/2018.
15. Purdue University. SOP–Rodent Health Monitoring. Approved on 02/20/2019.
16. UC Davis. (2008). Rodent Health Monitoring Programs. Retrieved from <https://research.ucdavis.edu/policiescompliance/animal-care-use/campus-veterinary-services/rodent-health-monitoring-programs/>.
17. Emory University. Emory Mouse Colony Health Surveillance and Maintenance Program. Retrieved from http://www.dar.emory.edu/vetcare/sentinel_mouse.php.
18. The Jackson Laboratory. (2005). Using Sentinels in Mouse Rooms. Retrieved from <https://www.jax.org/news-and-insights/2005/may/using-sentinels-in-mouse-rooms#>.
19. AALAS Learning Library. 2016 LATG Training Manual Series of Courses.
20. AALAS Learning Library. 2018 ALAT Training Manual Series of Courses.
21. National Research Council (US) Committee on Animals as Monitors of Environmental Hazards. (1991). Animals as Sentinels of Environmental Health Hazards.
22. Acott, C. (1999). JS Haldane, JBS Haldane, L Hill, and A Siebe: A Brief Resume of Their Lives.
23. Boycott, A. E., Damant, G. C. C. & Haldane, J. S. (1908). The Prevention of Compressed-air Illness.
24. Hallemans, A. & Bunch, B. (1988). The Timetables of Science: A Chronology of the Most Important People and Events in the History of Science.
25. Vail, D. M., Thamm, D. H. & Liptak, J. M. (2019) Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 6th Edition.