

王芊芊,刘迪文,洪胜辉,等. 小鼠生物净化技术平台的设计、运行及维护 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(8): 122-126.
Wang QQ, Liu DW, Hong SH, et al. Design, operation, and maintenance of the technology platform of mouse rederivation [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(8): 122-126.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.08.016

小鼠生物净化技术平台的设计、运行及维护

王芊芊¹,刘迪文¹,洪胜辉¹,汪 浏^{1,2*}

(1.浙江大学实验动物中心,杭州 310058;2.浙江大学医学院,杭州 310058)

【摘要】 利用小鼠生物净化技术将实验小鼠的微生物级别由低级别提升至高级别已成为实验动物研究机构必不可少的一项业务,同时也是保障实验小鼠质量的重要技术手段。目前国际通用的小鼠生物净化方案以体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transplantation, IVF-ET)技术为主。小鼠生物净化技术平台是一个综合性的实验室,涵盖了待净化小鼠饲养室、小鼠胚胎操作室、代孕小鼠饲养室、净化后小鼠饲养室等不同的功能区域。以浙江大学实验动物中心小鼠生物净化技术平台为例,分析小鼠生物净化技术平台的设计要点和运行模式,从小鼠微生物质量控制、环境卫生控制和仪器设备维护方面讨论平台的维护,以期给同类型技术平台建设提供参考。

【关键词】 小鼠生物净化;体外受精;胚胎移植;屏障设施;隔离器

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856 (2023) 08-0122-05

Design, operation, and maintenance of the technology platform
of mouse rederivation

WANG Qianqian¹, LIU Diwen¹, HONG Shenghui¹, WANG Lie^{1,2*}

(1. Laboratory Animal Center of Zhejiang University, Hangzhou 310058, China.
2. School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058)

【Abstract】 Raising the microbial level of experimental mice by mouse rederivation has become essential in experimental animal research institutions, and it is an important technical method to guarantee the life quality of experimental mice. The current international mouse rederivation protocol is *in vitro* fertilization and embryo transplantation technology. The technology platform of mouse rederivation is comprehensive, covering various functional areas including a dirty mouse feeding room, mouse embryo operation room, surrogate mouse feeding room, and purified mouse feeding room. Considering the technology platform of mouse rederivation in the Animal Center of Zhejiang University as an example, the design strategies and operation mode were analyzed, and maintenance of the technology platform is discussed from the aspects of mouse microbial quality control, environmental sanitation control, and instrument and equipment maintenance to provide references for construction of the same type of technology platform.

【Keywords】 mouse rederivation; *in vitro* fertilization; embryo transplantation; barrier facility; isolater

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随着生命科学、医学和药学等学科的飞速发展,近十几年来实验小鼠的使用量一直呈递增趋势^[1]。同时各高校和研究机构的合作交流不断加深,学科间的交叉融合持续深入,各种基因修饰小鼠被从国外引入到国内,不同科研单位间的实验小鼠馈赠也日益频繁^[2]。而不同饲养环境和条件、路途运输等因素可能使实验小鼠携带有未知病原微生物^[3-6],不同微生物等级的小鼠若没有经过隔离

【基金项目】浙江大学实验室生物安全管理规范。

【作者简介】王芊芊(1983—),女,硕士,研究方向:实验小鼠生物净化、胚胎冷冻复苏、基因修饰小鼠的研制技术等。
E-mail:angelawang@zju.edu.cn

【通信作者】汪浏(1976—),男,博士,教授,研究方向:免疫学。E-mail:wanglie@zju.edu.cn

检疫或生物净化而引入屏障系统很容易感染其他 SPF 级实验小鼠,甚至导致屏障设施内大规模的污染从而引发严重的生物安全事件^[7]。因此,非生产单位来源的实验小鼠引入屏障设施前必须经过隔离检疫或生物净化。常规的隔离检疫场所占用的空间较大,每批次检疫动物需放置于不同隔离器中,周转时间长^[8]。隔离检疫不合格的实验动物需要退回、安乐死或重新进行生物净化以提高其微生物等级。因此,建立实验小鼠生物净化体系极有必要,对微生物级别不明的实验小鼠直接进行生物净化可加快其引入程序,同时也可以通过定期净化屏障设施内的实验小鼠实现该目标。

浙江大学实验动物中心(以下简称中心)自 2009 年开始就从事实验小鼠的生物净化工作,经过十几年的发展已建成一套完整的小鼠生物净化体系。设有不同功能区域的实验室,配备稳定的技术人才队伍,拥有成熟的生物净化技术。至今已成功净化几百种基因修饰小鼠品系^[9],为学校各院系科研的顺利进行提供了技术支持和保障。

1 小鼠生物净化技术平台的设计

虽然利用剖腹取胎法和体外受精-胚胎移植(IVF-ET)技术均能进行小鼠生物净化^[10-13],但由于很多感染啮齿动物的常见病毒(如小鼠肝炎病毒、淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒等)和病原体(如支原体)能通过胎盘屏障由母体垂直传染给胎鼠^[14-17],剖腹取胎法可能存在不能彻底清除鼠源病毒的风险。因此,除特殊情况外,推荐采用 IVF-ET 技术。为保证实验的成功,首先应根据小鼠的微生物级别设置不同功能区块的实验室,使待净化小鼠与净化后的小鼠形成绝对的物理隔离;其次,在人员设置上应保证相对独立,操作不同微生物级别小鼠的技术人员应完全分开;最后,在硬件设施和仪器设备上应按照病原微生物防控的要求来布置和采购。

1.1 不同功能区块实验室的设置

如果条件允许,可将待净化与净化后小鼠饲养室设置在不同建筑楼,但不宜相距太远,或将两者设置在同一设施不同楼层。以本平台为例,所有待净化和净化后小鼠均饲养于浙江大学实验动物中心独立 SPF 级屏障设施内[SYXK(浙)2018-0016],为保证尽可能不产生交叉污染,生物净化技术平台分为三个独立功能区块:待净化小鼠饲养室、体外受精(IVF)净化室和胚胎移植及净化后小

鼠饲养室。

1.1.1 待净化小鼠饲养室

待净化小鼠饲养室用于暂养微生物等级不明的待净化雄鼠和用于促排卵的同背景雌鼠。因待净化小鼠所携带微生物不明确,存在一定的生物安全风险,因此屏障系统应采用负压或在正压的屏障环境内用隔离器饲养。本平台待净化小鼠饲养室设置在正压 SPF 级屏障系统内,三走廊设计,采用三级(初、中、高效)空气过滤系统。待净化雄鼠饲养室置有中型隔离器 6 台,小型隔离器 4 台,可同时容纳多个不同品系的小鼠暂存饲养。促排卵雌鼠饲养室采用 IVC 饲养笼具。

1.1.2 体外受精(IVF)净化室

IVF 净化室在 SPF 级屏障系统外,安装有独立的空调和电气系统。内有 2 台生物安全柜(Thermo, 1285, 1287),1 台超净工作台(苏州市苏杭科技器材有限公司, JB-CJ-1500FX)、2 台 CO₂ 培养箱(Thermo, HERACELL 150)和体式显微镜(Olympus, SZ51, SZ61)等。净化室内又分为 4 个实验区,分别是污染区、半污染区、IVF 实验区和洁净区。(1)污染区:技术人员穿戴好无菌隔离服,佩戴口罩和手套后在生物安全柜中采集待净化雄鼠附睾尾和促排卵后雌鼠输卵管;(2)半污染区:为过渡区域,存放有实验所需的耗材、洁净的白大褂和实验鞋等;(3)IVF 实验区:另一名技术人员完成采集精子团和卵子团以及体外受精的实验;(4)洁净区:完成体外受精实验后的小鼠胚胎存放于洁净区内的 CO₂ 培养箱中,等待转移至胚胎移植净化区。

1.1.3 胚胎移植及净化小鼠饲养室

胚胎移植实验室和净化小鼠饲养室位于另一独立的 SPF 级屏障系统内,仅允许平台工作人员出入。胚胎移植实验室配有 CO₂ 培养箱(Thermo, 4111)、超净工作台(苏州市苏杭科技器材有限公司, JB-CJ-1500FX)、体式显微镜(Olympus, SZ51, SZ61)和恒温台(常州翔天实验仪器厂, DB)等仪器,可完成小鼠胚胎移植手术。净化小鼠饲养室分为两个等级,一级为最高等级,仅饲养用于制备假孕受体的雌鼠群和输精管结扎雄鼠群,为生物净化核心鼠群;二级饲养经胚胎移植手术后的雌鼠及净化后仔鼠。

1.2 技术人员的分工和流向

生物净化各个环节的技术人员应严格分工,避免交叉。以本平台为例,设有 1 名主管,负责统筹平

台整体运行、制定实验计划、与客户对接等工作。待净化小鼠饲养管理员 1 人, 专职从事接收和饲养待净化雄鼠、饲养同背景 SPF 级雌鼠和雌鼠促排卵的工作。IVF 实验技术员 2 人, 负责于实验当日采集待净化雄、雌鼠的附睾尾和输卵管, 完成 IVF 实验, 清洗胚胎后转移。胚胎移植技术员 2 人, 在净化屏障内接收待移植小鼠胚胎, 并将其移植。净化小鼠饲养管理员 2 人, 负责饲养生物净化 SPF 级核心鼠群和净化后的小鼠, 以及给新生净化仔鼠剪脚趾编号等工作。净化小鼠饲养管理人员流向遵循从一级向二级, 且不逆向流动的原则。

2 小鼠生物净化技术平台的运行

2.1 制定严格的管理制度和操作规程

平台参照国标和地方标准, 结合中心实际情况制定了“屏障设施动物实验室使用规章制度”“体外受精净化室使用规章制度”“实验动物从业人员培训制度”“实验动物屏障设施安全管理制度”“设施监控系统管理制度”和“屏障设施内实验动物健康与福利监控制度”等制度以及“屏障系统 SPF 级实验小鼠饲养管理操作规程”“屏障系统的日常卫生与消毒操作规程”“消毒剂的配制与使用方法”“实验人员进出屏障设施操作规程”“实验动物进出屏障设施操作规程”“实验小鼠生物净化操作规程”等具体操作规程和标准作业程序 (standard operating procedure, SOP), 同时制定了实验动物屏障设施突发事件应急预案, 以确保平台的正常运行。

2.2 小鼠生物净化流程及单品系净化周期

实验人员如有小鼠生物净化的需求, 在中心网站上预约并填写《浙江大学小鼠生物净化申请表》。双方根据待净化小鼠的具体情况 (可选用待净化雄鼠只数、年龄、单/多基因修饰等) 制定相应的实验方案和计划。以单品系生物净化为例, 实验人员在指定时间将待净化小鼠送达中心, 由专职工作人员接收并放入隔离器内适应性饲养 1 周。生物净化团队准备同背景雌鼠促排卵 (所需 1 周), 安排体外受精实验 (所需 1 周), 代孕小鼠孕期 3 周, 仔鼠出生 7~10 d 剪脚趾编号并进行基因型鉴定。净化仔鼠 3 周离乳后, 将代乳鼠或野生型 (WT) 仔鼠送往苏州西山生物技术有限公司进行 SPF 级微生物检测 (所需 3 周), 出具第三方检测报告。检测合格后交付净化子代鼠。整个净化周期预计共需 12 周, 如遇特殊品系或因待净化雄鼠精子质量差导致首轮实验

失败则需要更长时间。因此, 实验人员应根据此实验周期合理安排实验计划。

2.3 基于 IVF-ET 技术的小鼠生物净化方案

研究中涉及实验已通过浙江大学实验动物福利与伦理委员会审批 (ZJU20220403), 并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

(1) 准备受体鼠群: 6~8 周 SPF 级 ICR 雄鼠和 8~12 周 SPF 级 ICR 雌鼠购自江苏集萃药康生物科技有限公司 [SCXK (苏) 2018-0008]。雄鼠单笼饲养 1 周后在一级净化饲养间内完成结扎手术。雌鼠每笼 5 只。所有饲养小鼠自由取食及饮水, 饲养间内温度为 22~24℃, 12 h/12 h 明暗交替。

(2) 采集精子团、超数排卵和收集卵子团: IVF 实验当天 8:30 左右将待净化雄鼠麻醉或安乐死, 取一侧或双侧附睾尾, 采集精子团至提前预热 1 h 的精子获能微滴中, 放入 37℃, 5% CO₂ 培养箱中获能。实验前 1 周自江苏集萃药康生物科技有限公司购买 3~4 周 SPF 级同背景供卵雌鼠 5~6 只, 在屏障系统内饲养 1 周后, 于 IVF 实验前 3 d 17:00~18:00 注射 10 U 孕马血清促性腺激素 (PMSG), 48~50 h 后注射 10 U 人绒毛膜促性腺激素 (HCG)。IVF 实验当天 9:30 左右安乐死供卵雌鼠并采集输卵管, 在显微镜下划破输卵管壶腹部, 将卵子团引入 IVF 培养液滴中。吸取获能 1 h 后具有活力的精子液滴约 10 μL 加入卵子团液滴中, 尽快将 IVF 培养皿放入 37℃, 5% CO₂ 培养箱中^[18]。

(3) 2-细胞期胚胎清洗、移植: IVF 实验第二日 8:00 左右, 在镜下挑选出透明带完整、具有 2 个对称卵裂球的 2-细胞期胚胎, 在 10 个 M2 培养微滴 (50 μL/微滴) 中逐次清洗, 最后将清洗后的胚胎放入提前预热的 M2 培养液中, 传入屏障内进行移植。

(4) 胚胎移植: IVF 实验当天下午挑选自然发情的 ICR 雌鼠与结扎雄鼠合笼, 第二日验栓。在胚胎移植室的超净工作台内麻醉见栓雌鼠, 置于解剖镜下剪去体背一侧小面积的被毛, 用 75% 乙醇溶液消毒皮肤。在背部相当于最后一根肋骨的位置剪开一个纵向切口, 用镊子夹取脂肪小心牵引出卵巢、输卵管和子宫并固定。找到输卵管的伞口, 用维纳斯剪在卵巢囊膜上避开大血管剪开一个小口。用移植针吸取 25~28 枚胚胎, 将移植针前端插入伞口, 吹入胚胎。最后将卵巢和输卵管等放入小鼠腹腔中, 分别缝合肌肉层和皮肤^[19]。

2.4 小鼠生物净化项目管理

本平台小鼠生物净化技术服务采用项目管理

的形式,每一个待净化小鼠品系视为一个独立的技术服务项目,课题组负责人与中心签订技术服务协议,并支付费用,启动项目。所有收费项目的价格标准均经过浙江大学收费管理小组论证通过。项目进行过程中由平台负责人及时与客户沟通反馈实验进程。净化后合格的小鼠交付即视为项目结束。负责人将所有完成的生物净化项目资料整理并归档,以便日后查阅。

2.5 技术人员培训与考核

生物净化技术团队主要分为小鼠饲养管理技术员和 IVF-ET 实验技术员,两者在工作内容上有差距,因此培训内容有差别。前者着重于实验小鼠屏障系统饲养管理和繁育,后者培训主要以小鼠胚胎操作技术为主。平台会定期组织技术培训并不定期送技术人员外出培训。平台人员因岗位不同而设置不同的考核形式,平台每年组织小鼠饲养管理技术员进行“小鼠饲养管理与屏障系统维护”笔试考试和小鼠笼盒更换实践操作考试。IVF-ET 实验技术员参加“小鼠饲养管理与胚胎操作”笔试考试和小鼠胚胎操作实践操作考试。平台设置激励机制,对总成绩排名靠前的技术人员进行一定的奖励。

3 小鼠生物净化技术平台的维护

3.1 小鼠微生物质量控制

核心鼠群的质量控制:所有经过充分清洗的小鼠胚胎都将被移植入 SPF 级假孕雌鼠体内,并由其代乳直至仔鼠离乳。因此维持核心鼠群的微生物质量是净化实验成败的关键。核心鼠群每饲养架设置有同品系哨兵鼠 2 只,每周换笼均取同笼架上各个鼠笼中少量脏垫料加入哨兵鼠笼盒,使其与之充分接触。每 3 个月从哨兵鼠笼中随机挑选 1 只哨兵鼠送往第三方进行微生物质量检测,并出具检测报告。同笼另一只哨兵鼠留作复检。虽然输精管结扎雄鼠制备后能反复与发情雌鼠交配以准备同步发情受体鼠,每只结扎雄鼠在每周交配 1~2 次的频率下能使用半年甚至一年之久。但每次合笼操作都会增加一次污染风险。因此,结扎雄鼠一般使用 3 个月至半年即淘汰。

净化后小鼠的质量控制:同批次净化后小鼠送往第三方检测机构进行微生物质量检测并出具检测报告,质检合格的小鼠方可交付。

3.2 净化屏障区域环境卫生控制

SPF 级净化饲养间的环境卫生控制应等同或高

于一般 SPF 级小鼠饲养间的要求。每天应对换笼操作台、地面、实验室门把手等进行消毒,每周轮换用消毒水对饲养间所有墙面、顶面等擦拭、清洗和消毒。每周轮换采用 0.1% 新洁尔灭、0.2% 过氧乙酸和 0.17% 百毒杀进行 2 次空气喷雾消毒。定期清洗和更换 IVC 初、高效进出风过滤器和屏障设施的初、中、高效过滤器。

IVC 小鼠饲养笼架由多条送风和回风管道串联而成,使用一段时间后,回风口和回风管内易堆积饲料和垫料粉尘,而且管道内不易清理容易形成卫生死角,如果不定期对笼架进行彻底清洗和消毒,容易滋生细菌从而污染 SPF 级实验小鼠^[20]。工作人员应每天擦拭笼架外表面,每季度彻底清洗笼架外表面、内部管道和进出风口。

平台每季度对所有屏障内环境和 IVF 净化室进行 1 次落菌数检测,检测结果均符合 GB14925-2010《实验动物环境及设施》的要求。

3.3 平台仪器设备的维护

平台所有仪器设备均按照相应的国标、行业标准和操作规程定期进行维护、保养和更换^[21-24]。主要仪器设备维护和保养方案如下:

(1)CO₂ 培养箱:每季度清除箱体内全部去离子水,清洁箱体,消毒后重新注水。每半年运行 1 次高温灭菌程序并对箱体内温度和 CO₂ 浓度进行校准。每年更换 HEPA 过滤器。

(2)超净工作台:每日清洁超净工作台台面并整理台面物品。每年检测紫外灯管能量并依据监测结果确定是否更换紫外线灯管。定期更换送排风过滤膜。

(3)生物安全柜:每月检查所有配件、报警是否正常,所有操作阀门是否运行良好,预过滤积尘情况,紫外灯和操作显示屏是否能正常工作并清洁不锈钢表面的污渍或斑点。每半年对生物安全柜进行一次空气消毒,检测进风风速和工作区层流风速并校正。每年更换过滤器部件,检测紫外灯管能量并依据监测结果确定是否更换紫外线灯管。

(4)隔离器:每周换完笼盒后清洁隔离器内污物。每月用 75% 乙醇彻底清洁隔离器内壁并检查隔离器密闭性,特别是所有接缝处。每年更换隔离器的送排风过滤膜。

(5)脉动真空压力蒸汽灭菌器:每日由设施组人员检查灭菌器情况并记录。每半年由中心兽医团队用 3M 生物培养指示剂对实际灭菌效果进行检

测。每年由杭州市特种设备检测研究院检测灭菌器的压力表、安全阀、炉体和水质等并出具报告。

(6)屏障设施内的初、中、高效过滤器:每月清洗或更换初效过滤器,每季度更换中效过滤器,每年更换高效过滤器。

4 结语

小鼠生物净化是提高实验小鼠微生物级别的有效方法,是防止不明微生物等级的实验小鼠引入实验动物设施造成污染和危害的必要关卡,关系到实验动物设施的生物安全问题。生物净化实验室从设计之初就应充分考虑各功能区块的设置和技术人员的分工,以尽量避免交叉污染。利用 IVF-ET 技术净化实验小鼠的成功率非常高,甚至能够一次性净化被多种病原微生物感染的小鼠品系,对于提升实验小鼠的微生物级别实用且有效^[25],但要长期维持净化后小鼠的微生物级别达到 SPF 级往往非常困难,需要有一系列严格的制度、规范和监督措施加以保障。IVF-ET 对技术人员的专业性有较高的要求,对技术人员的培训和考核尤为重要,如何建成一支稳定、配合默契的技术队伍是值得负责人认真考虑的问题。小鼠生物净化技术平台在运行和维护中涉及到多部门联动,如接收外来小鼠时需要兽医审核,实验小鼠饲养也需要兽医团队的监管,净化后小鼠流向各饲养区或其他实验动物饲养设施要与接收方做好交接和转移,以防在运输中污染净化后的小鼠导致功亏一篑。

参考文献:

[1] Kinter LB, DeHaven R, Johnson DK, et al. A brief history of use of animals in biomedical research and perspective on non-animal alternatives [J]. ILAR J, 2021, 62(1-2): 7-16.

[2] Mook D, Taylor DK, Huerkamp MJ. The rodent quarantine quagmire [J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2009, 48(5): 472-474.

[3] 张亚平, 朱向阳. 太仓口岸首次进口美国 SPF 级实验小鼠 [J]. 中国检验检疫, 2017, 1: 25.

[4] 李灵恩, 张帆, 熊华萱, 等. 国内外实验小鼠 8 种病毒检出情况分析 [J]. 畜牧与兽医, 2018, 50(3): 97-99.

[5] Liang CT, Shih A, Chang YH, et al. Microbial contaminations of laboratory mice and rats in Taiwan from 2004 to 2007 [J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2009, 48(4): 381-386.

[6] 王艳, 周洁, 黄忠荣, 等. 进境 SPF 鼠传入疫病风险分析 [J]. 中国动物检疫, 2021, 38(4): 58-62, 94.

[7] Rehag JE, Toth LA. Rodent quarantine programs: purpose, principles, and practice [J]. Lab Anim Sci, 1998, 48(5): 438-447.

[8] Otto G, Tolwani RJ. Use of microisolator caging in a risk-based mouse import and quarantine program; a retrospective study [J]. Contemp Top Lab Anim Sci, 2002, 41(1): 20-27.

[9] 王芊芊, 丁贤明, 陈瑜, 等. 胚胎移植技术用于微生物感染小鼠的生物净化 [J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(1): 69-71.

[10] 刘丽均, 郁丽丽, 朱权凤, 等. 生物工程技术在实验小鼠生物净化上的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(11): 63-66.

[11] 朱莲, 孔彭成, 王美珊, 等. 剖宫产与体外授精技术在小鼠生物净化中的应用 [J]. 实验动物与比较医学, 2013, 33(3): 218-221.

[12] 李娜, 杨秋龙, 李思璧, 等. 模型动物生物净化方法的探讨 [J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2014, 32(5): 84-88, 94.

[13] 刘勇, 史嘉翔, 刘洁婷, 等. 生物工程技术在 SPF 级小鼠生物净化上的应用及其临床价值 [J]. 中国医学创新, 2018, 15(27): 26-29.

[14] Carthew P, Wood MJ, Kirby C. Pathogenicity of mouse hepatitis virus for preimplantation mouse embryos [J]. J Reprod Fertil, 1985, 73(1): 207-213.

[15] Barthold SW, Beck DS, Smith AL. Mouse hepatitis virus and host determinants of vertical transmission and maternally-derived passive immunity in mice [J]. Arch Virol, 1988, 100(3): 171-183.

[16] Mims CA. Immunofluorescence study of the carrier state and mechanism of vertical transmission in lymphocytic choriomeningitis virus infection in mice [J]. J Pathol Bacteriol, 1966, 91(2): 395-402.

[17] Hill AC, Stalley GP. Mycoplasma pulmonis infection with regard to embryo freezing and hysterectomy derivation [J]. Lab Anim Sci, 1991, 41(6): 563-566.

[18] Suzuki H, Yorozu K, Watanabe T, et al. Rederivation of mice by means of *in vitro* fertilization and embryo transfer [J]. Exp Anim, 1996, 45(1): 33-38.

[19] Larson MA. Embryo transfer surgery [J]. Methods Mol Biol, 2020, 2066: 101-106.

[20] 王朝霞, 蒋兴浩. 高校实验动物的传染源防控措施研究与实践 [J]. 实验技术与管理, 2020, 37(3): 9-12.

[21] 钱丹萍, 李东明, 马靖, 等. 独立通风笼具(IVC)的日常维护和清洁消毒 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 99-105.

[22] 邓伊, 王志强. 细胞室二氧化碳培养箱的消毒使用和维护 [J]. 中外健康文摘, 2014, (23): 58-59.

[23] 苏建程, 王会如. II 级生物安全柜使用与维护工作中存在的重点问题 [J]. 医疗装备, 2019, 31(11): 21-23.

[24] 陈国文. 超净工作台计量性能方法的研究 [J]. 计量与测试技术, 2018, 45(11): 117-118.

[25] Kim H, Bang J, Baek SH, et al. Eliminating murine norovirus, Helicobacter hepaticus, and intestinal protozoa by embryo transfer for an entire mouse barrier facility [J]. Exp Anim, 2022, 71(1): 28-35.