

實驗動物照護及操作原則

弘光科技大學
動物保健系

劉獻岳 助理教授/獸醫師

lhy_vet@hk.edu.tw

日期：2023年10月19日

3 R

- **Replacement** (取代)
- **Refinement** (精緻)
- **Reduction** (減量)

Russell, W.M.S. et al. 1959. The Principles of Humane Experimental Technique, Methuen, London.

動物之科學應用之3R

第三章 動物之科學應用

第 15 條

使用動物進行科學應用，應儘量避免使用活體動物，有使用之必要時，應以最少數目為之，並以使動物產生最少痛苦及傷害之方式為之。

中央主管機關得依動物之種類，訂定實驗動物之來源、適用範圍及管理辦法。

Replacement：取代

Reduction：減量

Refinement：精緻化

3 Rs : 有品質的動物試驗



Russell and Burch (1959)

The Principles of Humane Experimental Technique

http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc

3 Rs + Responsibility = 4 Rs

- **R**eplacement (R_1 ; 取代)：儘量避免使用活體動物
- **R**eduction (R_2 ; 減量)：有使用之必要時，應以最少數目為之
- **R**efinement (R_3 ; 精緻)：以使動物產生最少痛苦及傷害之方式為之
- **R**esponsibility (R_4 ; 責任)：應用動物於科學目的之責任

R₁取代：儘量避免使用活體動物

● **取代全部或部份** (減量) 應用「具**敏感感受力**的動物 (sentient animals)」的策略

- * 數學/*in silico* 模式
- * 細胞/組織培養
- * 較「低等」動物如果蠅、線蟲、海膽等
- * 網路資源、教學影片等



R₂減量：必要時應以最少數目

- 減量的策略

- 以價制量！？

- 嚴謹的動物實驗前審查！？

- 「取代」！？如：以近親品系 (inbred strain) 或F1雜交 (F1 hybrid) 動物取代隨機族群 (random bred stock)

- **減少實驗「重複的」次數**，例如：

- 1) **精進**所需要的動物試驗技術

- 2) **運用非侵入性之測量儀器與方法**

- 3) **週嚴實驗設計**：例如藉先期試驗 (pilot study)...

→ 研究的精緻化：由建立尊重生命與珍惜資源的「**心態**」開始...



Ultrasound



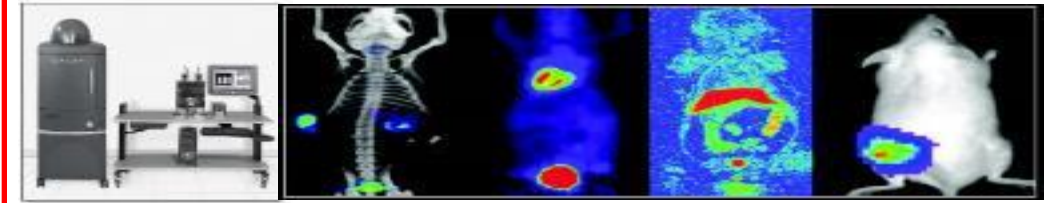
MicroCT



MicroPET



MicroMRI

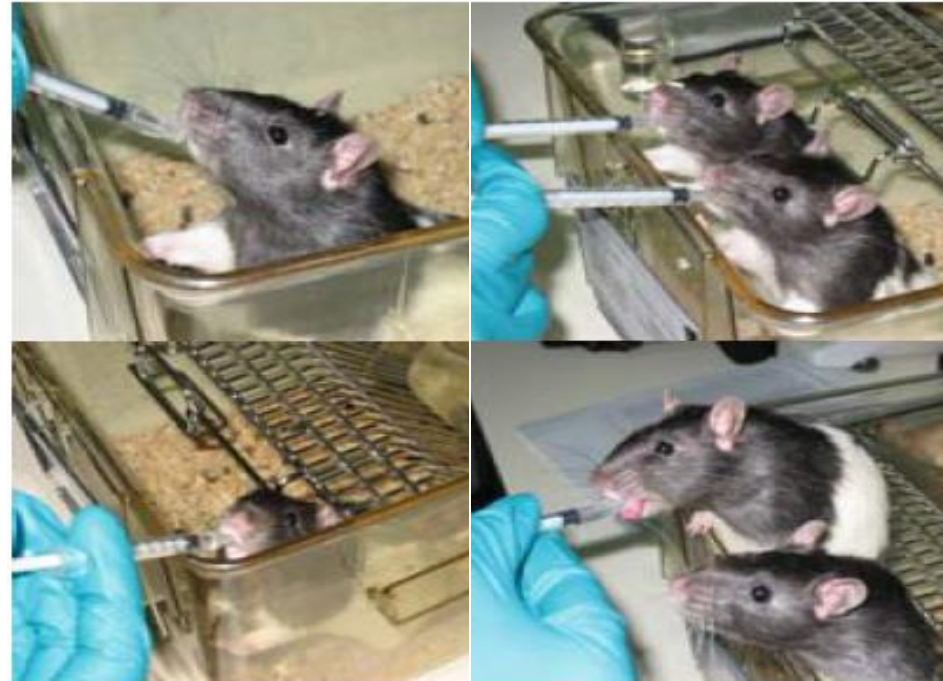
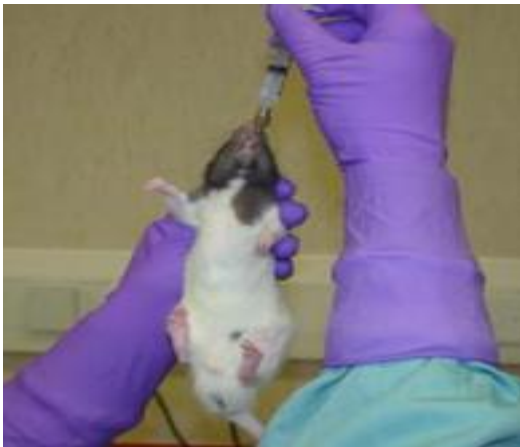


3D optical image system

R₃精緻：使動物產生最少痛苦及傷害

- 除減少動物在「試驗中」產生**苦痛**，應提供動物最佳的**照護**
- 精緻化的精神：不要假設既有的試驗及照護方法已經是最好
 - 需有「持續改善」的心態
 - 需改善的事務是**全面性**的，是合乎科學與邏輯的 (非民粹)，不一定是花錢、昂貴的改善，例如：

gavage

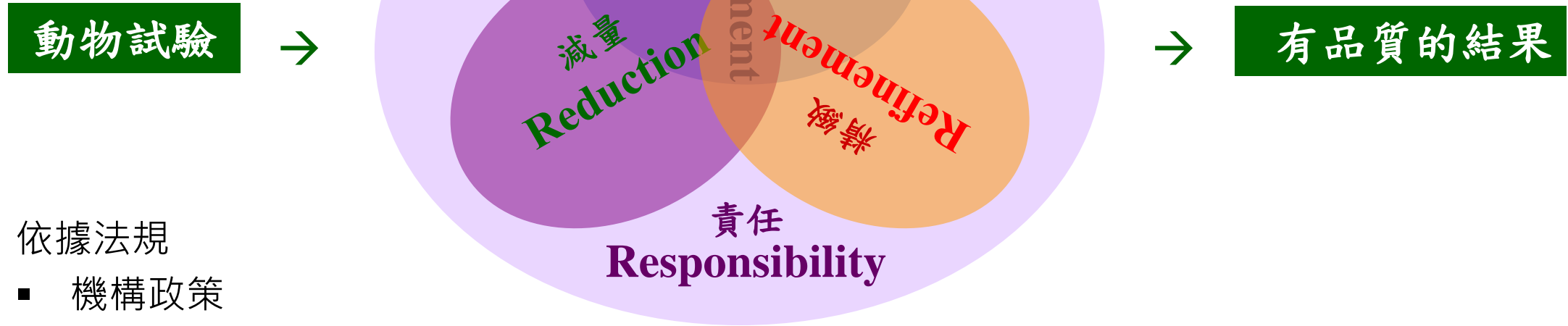


R₃精緻：使動物產生最少痛苦及傷害

- 精緻化的策略
 - (法定的) 實驗動物來源！？
 - (法定的) 動物實驗環境規格要求！？
 - 嚴謹的動物實驗前審查！？
 - 以使動物產生最少苦痛的試驗方法「取代」...，例如：
 - 1) **精進**所需要的動物試驗技術
 - 2) 運用非侵入性之測量儀器與方法
 - 3) **週嚴實驗設計**：藉先期試驗...

R₄責任：使用動物的責任

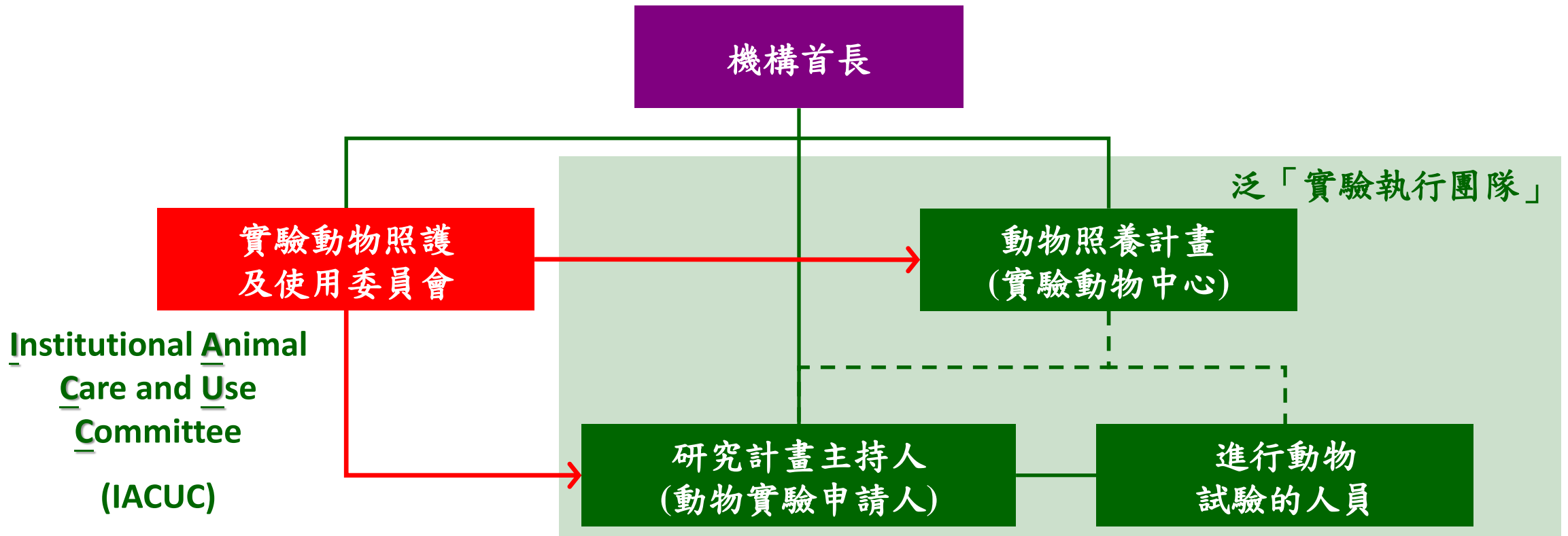
○社會大眾一般對「責任」的倫理認知



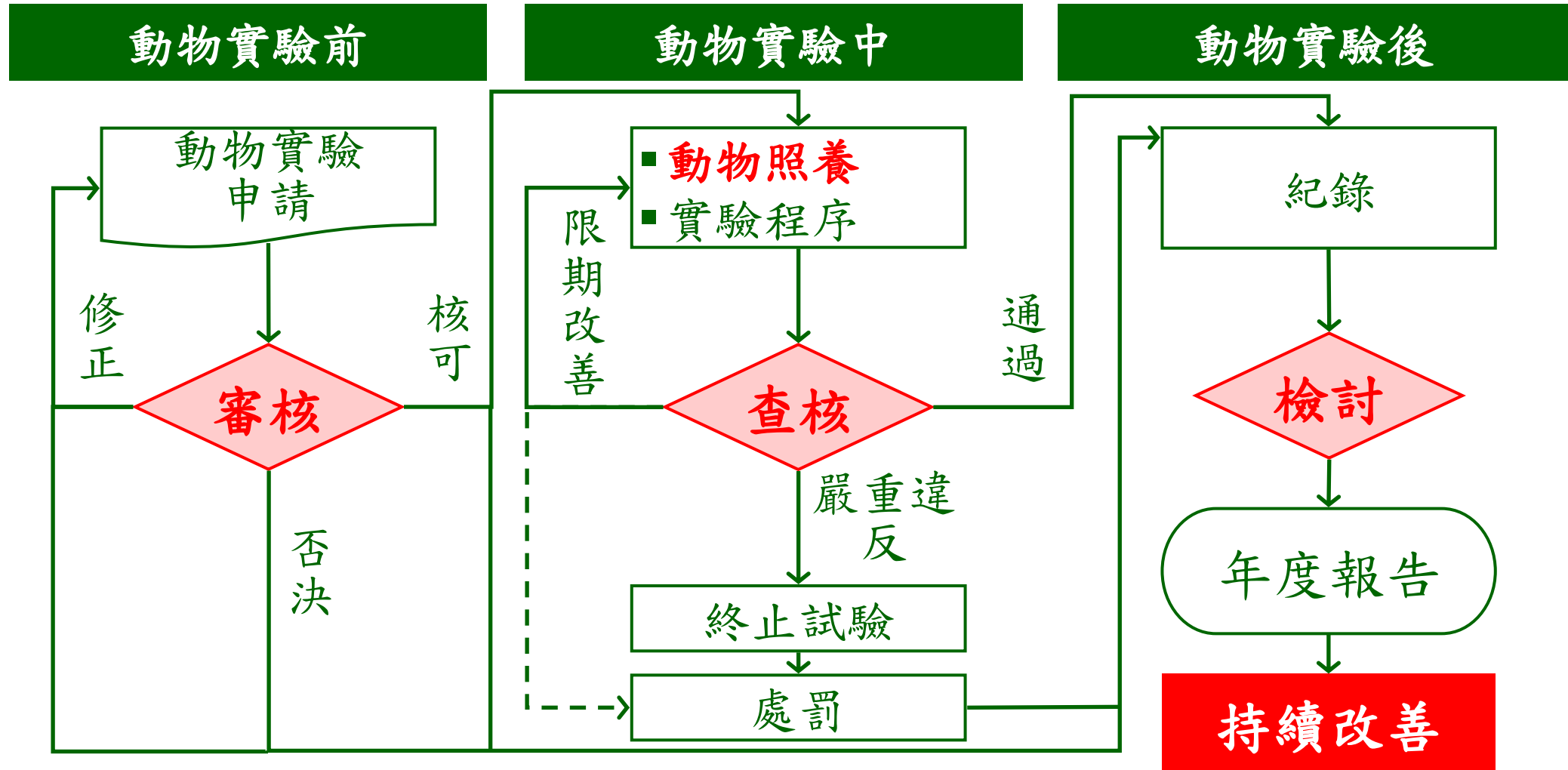
- 依據法規
 - 機構政策
 - 1) 足夠的**資源**
 - 2) **實驗動物照護及使用委員會**與**動物照養計畫**
 - **研究人員**：計畫主持人 (principal investigator) 與試驗執行者
 - **動物照護人員**：照養單位的主管、獸醫師與技術人員

實驗動物照護及使用委員會： 在機構的定位

- 動物保護法第十六條：進行動物科學應用之機構，應設置**實驗動物照護及使用委員會**或**小組**，以督導該機構進行實驗動物之科學應用。

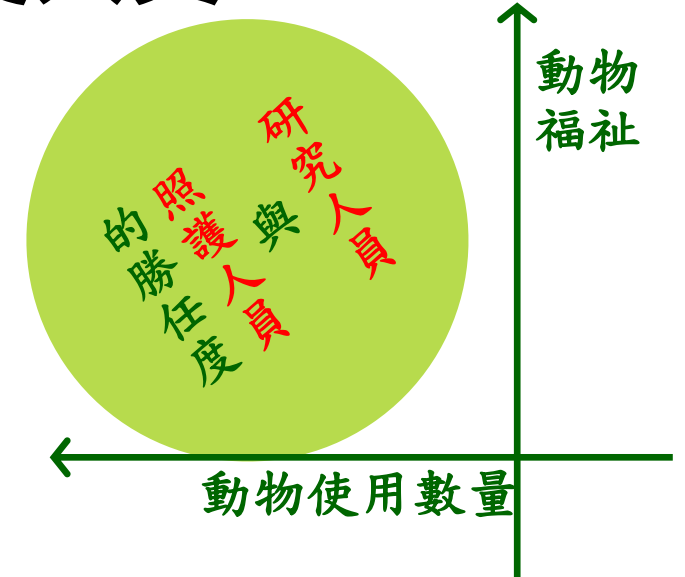


實驗動物照護及使用委員會： 法定責任



R₄責任：研究人員與照護人員

| | 研究人員 | 照護人員 |
|------------------------------|------|------|
| 與動物的互動「能力」 | | |
| 平常心與同理心 | + | + |
| 對擬(____)物種(species)生物學特徵的知悉度 | 使用 | 照護 |
| 對擬(____)品系(strain)的用途與特徵知悉度 | 使用 | 照護 |
| 個人衛生習慣與無菌操作技能 | + | + |
| 動物試驗技術能力 | 特定 | 基本 |
| 實驗設計與統計學素養 | + | ± |
| 自我技能的持續增進與改善 | + | + |
| 與人的互動能力 | | |
| 對機構 政策 的瞭解與熱心 | + | + |
| 對機構動物試驗 資源 的瞭解 | + | - |
| 機構研究所需的動物試驗 資源需求 | - | + |



動物福祉 5大自由 (5F)

- (1) . 免於飢渴
- (2) . 免於不適
- (3) . 免於疼痛、受傷與疾病
- (4) . 能自由表現自然行為
- (5) . 免於恐懼與緊迫

實驗動物照護及操作

3.1.1 常見的實驗動物

全球常見實驗動物物種，可概分為以下七大類：齧齒類，兔子，水生動物（含兩棲），犬，非人類靈長類，經濟動物與野生動物，不同的物種與品系會依據實驗所需的研究條件與需求而進行選擇。

3.1.1.1 啮齒類

啮齒類實驗動物常見品種包括大鼠、小鼠、倉鼠、沙鼠和天竺鼠，大鼠與小鼠雖然在外觀上類似，但從演化的角度來看，大鼠與小鼠的差異，有如人類與舊世紀猴之間的差異性，其在實驗中所代表的意義也大不相同。

(1) . 大鼠

大鼠自 19 世紀開始，褐鼠 (Brown rat)，學名為 *Rattus norvegicus*，俗稱挪威大鼠、大鼠、街鼠等，首先作為實驗動物使用，而現代廣為使用的實驗動物大鼠品系皆從白化症褐鼠中經過選育而成，首先育成的白色毛色的品系即為 Wistar，再從 Wistar 品系中接續培育或雜交出各式品系，如遠親系的 Sprague-Dawley、Long-Evans 與近親近親系的 SHR、WKY、Lewis 和 F344 等具有各自功能的白色毛色的大鼠品系。目前培育出數百個大鼠品系，常被使用於研究中的品系大約 20 種。

大鼠染色體為 22 對，外型與小鼠相似，與小鼠同科 (鼠科-Muridae) 但不同種，屬雜食性動物，性情較為溫順，平均壽命為 2~3 年，較特別的部分是大鼠缺乏膽囊，無嘔吐反應。

大鼠基礎生理資訊:80 日齡達性成熟，性週期約 4~6 日，懷孕期 21 日，產仔數:6~14 隻，出生體重約為 5 公克，哺乳期為 21 日，體溫為 38~39°C，血壓:60~90mmHg (舒張壓) /75~120mmHg (收縮壓)，心率:320~480 次/分，呼吸次數 85~110 次/分。

(2) . 小鼠

小鼠 (mouse)，學名為 *Mus musculus*，也稱為家鼠、鼯鼠，染色體 20 對，最早由 Clarence Cook Little、William E. Castle 與 Abbie E. C. Lathrop 共同育種出第一個近親系實驗動物鼠 DBA (Dilute, Brown and non-Agouti)，從此打開近親系的系統化育種大門，至今小鼠的品系已經超過 8000 個以上，並且因近年基因操作技術的快速進步，以遺傳操作方式建立特定性能的小鼠品系數量也快速上升，目前常見的品系有遠親系的 ICR (CD-1)、Nu/Nu，近親系的常見品系有：C57BL/6、BALB/c、C3H、CBA、DBA/1、DBA/2、FVB、129/Sv、SJL、BALB/c Nude 和 NOD-SCID。小鼠體型相對於大鼠明顯較小，體長約 100mm 左右，出生體種約 1.5g，成熟小鼠體種可達 30~40g，性情溫順，視力較差，強光噪音會造成小鼠不良反應。

繁殖:小鼠約在 7 至 8 周齡開始具有繁殖能力，母鼠在 20~40 日齡其動情期就開始，小鼠是屬多發情週期與自主性排卵類型，49~63 日齡開始性成熟，性週期約為 4~5 日，懷孕期為 21 日，產仔數為 4~12 隻 哺乳期約 21 日，體溫約為 36~37°C 血壓:102~110mmHg (舒張壓) /133~160mmHg (收縮壓)，心率:310~840 次/分 呼吸次數 84~230 次/分。血壓會因為使用的麻醉劑(anesthetic)不同導致不同的程度的血壓降低，因此在使用麻醉劑的條件下對於血壓的數據的解讀，需要額外的關注。

內容

CONTENTS



環境



操作與保定



標示



注射方式與採血

環境

空間需求

Table 1.0.1 Minimum Space Requirements for Housing Laboratory Animals in Cages^a

| Animal | Weight (g) | Floor area/animal | | Cage height ^b | |
|--------------|---------------|--------------------|--------------------|--------------------------|-------|
| | | (in ²) | (cm ²) | (in) | (cm) |
| Mouse | <10 | 6.0 | 38.71 | 5 | 12.70 |
| 小鼠 | 10-15 | 8.0 | 51.62 | 5 | 12.70 |
| | 15-25 | 12.0 | 77.42 | 5 | 12.70 |
| 最多 5-6隻/cage | >25 | 15.0 | 96.78 | 5 | 12.70 |
| Rat | <100 | 17.0 | 109.68 | 7 | 17.78 |
| | 100-200 | 23.0 | 148.40 | 7 | 17.78 |
| 大鼠 | 200-300 | 29.0 | 187.11 | 7 | 17.78 |
| | 300-400 | 40.0 | 258.08 | 7 | 17.78 |
| 最多 3 隻/cage | 400-500 | 60.0 | 387.12 | 7 | 17.78 |
| | >500 | 70.0 | 451.64 | 7 | 17.78 |

a Guidelines are derived from *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (ILAR, 1985)*. *b* From the resting floor to the cage top
From *Current Protocols in Immunology Online*

附件四 常見實驗動物的最小建議空間需求

在此輸入

| 表 4.1 常見的實驗用齧齒類動物在群飼狀態下的最小建議空間需求* | | | | |
|-----------------------------------|--|--|--|---|
| 動物類別 | 體重, 公克 | 底面積/隻, ^a 平方英吋. (平方公分) | 高度, ^b 英吋. (公分) | 附註說明 |
| 群飼小鼠 ^c | <10 至 15 至 25 >25 | 6 (38.7) 8 (51.6) 12 (77.4) ≥15 (≥96.7) | 5 (12.7) 5 (12.7) 5 (12.7) 5 (12.7) | 體型較大的動物可能需要更大的空間，以符合成效標準要求。 |
| 帶仔小鼠 | | 51 (330) (群飼狀態下的空間需求) | 5 (12.7) | 其他的飼養規格可能需要較大的空間，空間需求調整將依成鼠及仔鼠的隻數、及仔鼠的體型與年齡而定。 ^d |
| 群飼大鼠 ^c | <100 至 200 至 300 至 400 至 500 >500 | 17 (109.6) 23 (148.35) 29 (187.05) 40 (258.0) 60 (387.0) ≥70 (≥451.5) | 7 (17.8) 7 (17.8) 7 (17.8) 7 (17.8) 7 (17.8) 7 (17.8) | 體型較大的動物可能需要更大的空間，以符合成效標準要求。 |
| 帶仔大鼠 | | 124 (800) (群飼狀態下的空間需求) | 7 (17.8) | 其他的飼養規格可能需要較大的空間，空間需求調整將依成鼠及仔鼠的隻數、及仔鼠的體型與年齡而定。 ^d |

飼養環境 溫度 濕度

Table 1.0.2 Recommended Relative Humidity and Dry Bulb Temperature for Animals Housed in Cages^a

| Animal | Relative humidity (%) | Dry bulb temperature ^b | |
|---------|-----------------------|-----------------------------------|-----------|
| | | °C | °F |
| Mouse | 40-70 | 18-26 | 64.4-78.8 |
| Rat | 40-70 | 18-26 | 64.4-78.8 |
| Hamster | 40-70 | 18-26 | 64.4-78.8 |
| Rabbit | 40-60 | 16-21 | 60.8-69.8 |

^a Guidelines from ILAR, 1985.

^b ILAR, 1965, 1977.

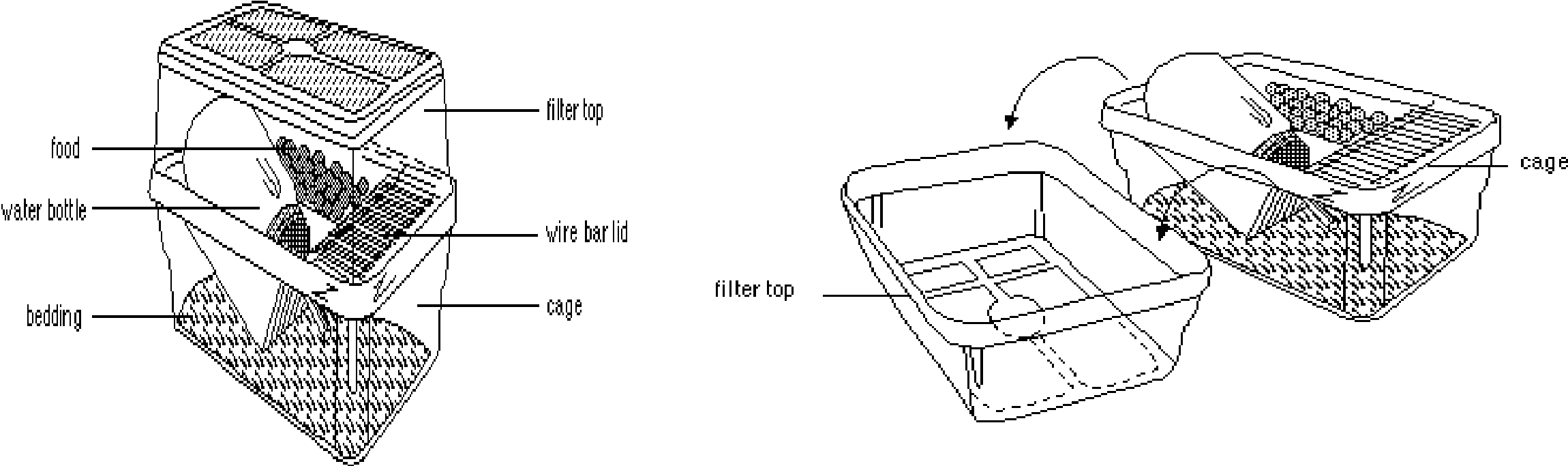
From Current Protocols in Immunology

附件三 常見實驗動物的大環境的環境乾球計溫度建議範圍

| 動物種類 | 乾球計溫度(°C) |
|------------------------------|-----------|
| 小鼠，大鼠，倉鼠，沙鼠，天竺鼠 ^a | 20-26 |
| 兔子 | 16-22 |
| 貓，狗，猿猴 | 18-29 |
| 家畜，家禽 | 16-27 |

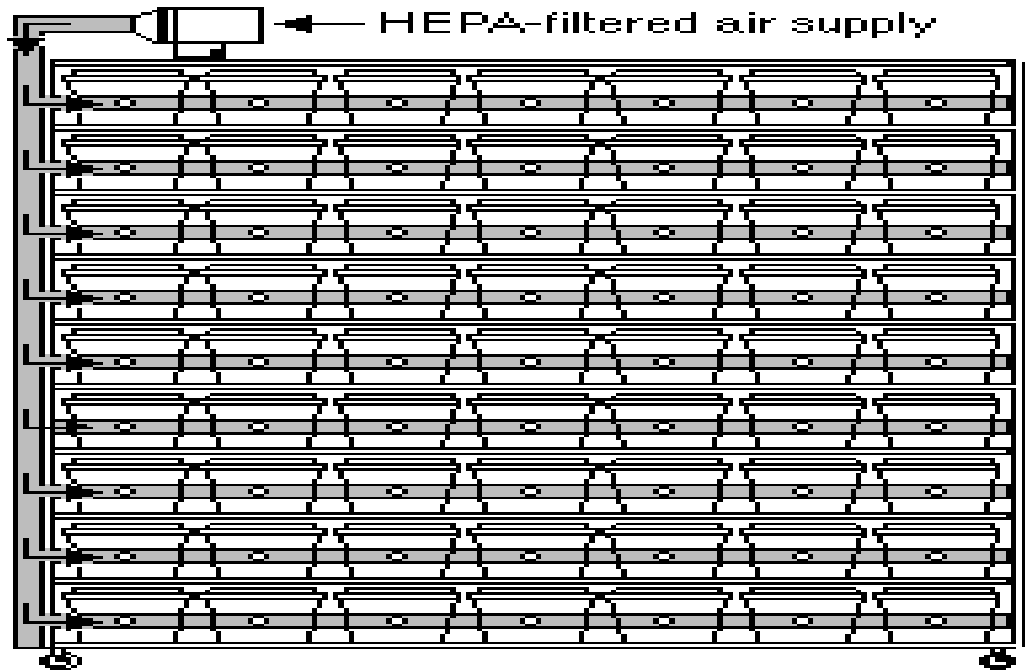
^a就齧齒類動物而言，為防止其出現熱緊迫現象，一般會設定室內的乾球計溫度低於動物個體臨界溫度的下限值（LCT），此範圍也應該反映出物種特異性的臨界溫度的下限值。應該提供動物充足的資源（築巢料，遮蔽場所），作為調節體溫之用，以避免出現冷緊迫症狀。

Prepare the microisolation housing unit



From Current Protocols in Immunology

Individually ventilated isolator housing



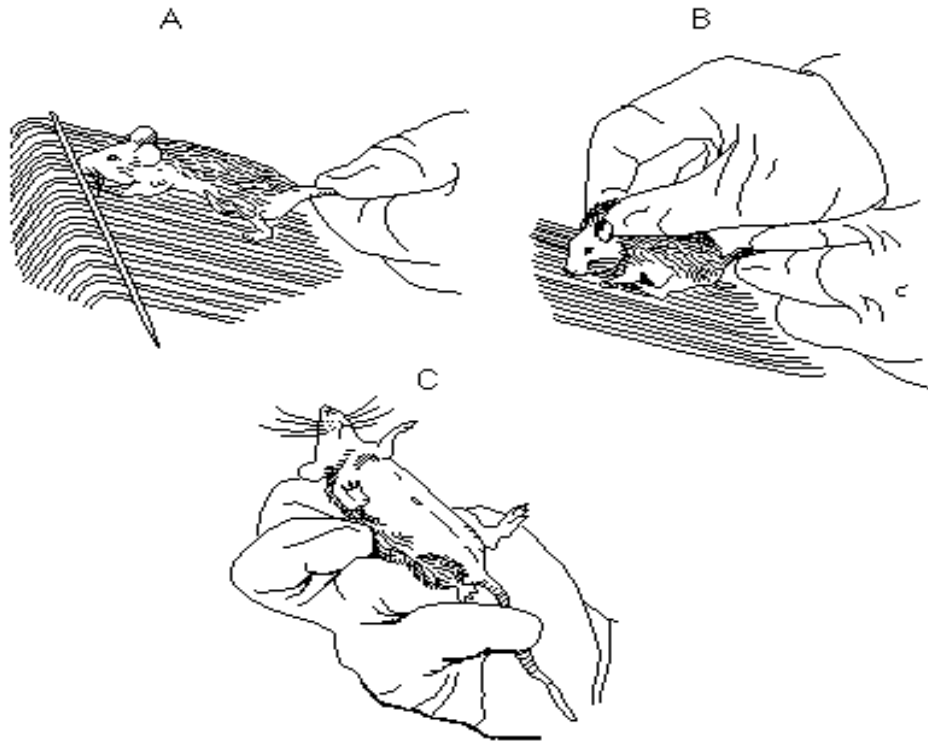
- positive air pressure delivered to each cage (refiltered)
- prevents buildup of ammonia and other gaseous pollutants

From Current Protocols in Immunology

操作與保定

Mouse Handling and Manual Restraint

小鼠抓取及基本保定方式



Mouse handling and manual restraint. Apply slight, rearward traction on the tail (A). Grasp skin behind ears with thumb and index finger (B). Transfer the tail from the preferred hand to beneath the little finger of the hand holding the scruff of the neck (C).

小鼠換籠抓取方式



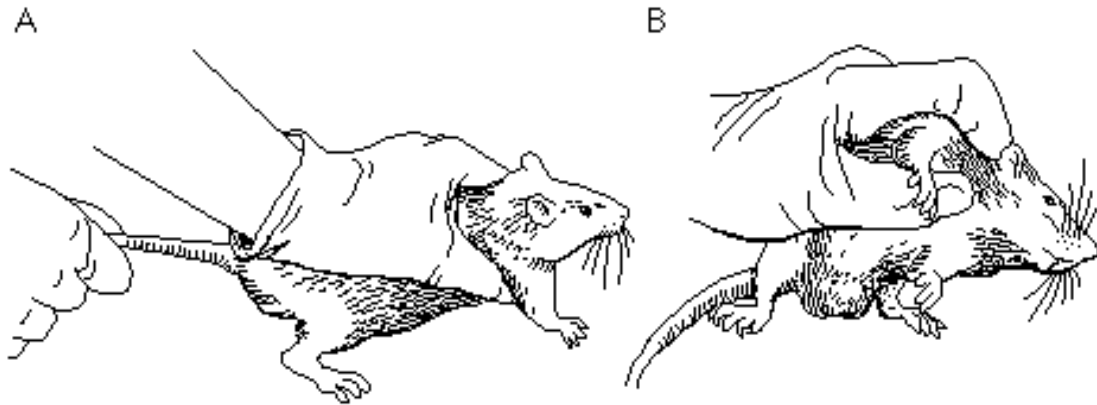
圖 7.5 抓小鼠的方法



圖 7.6 幼鼠的換籠搬運方法

Rat Handling and Manual Restraint

大鼠抓取及基本保定



Rat handling and manual restraint. Grasp around the thorax with the thumb and middle finger behind the front two legs (A). Grasp the loose skin on the back of the neck with thumb and index finger (still under animal's leg)(B).

From Current Protocols in Immunology

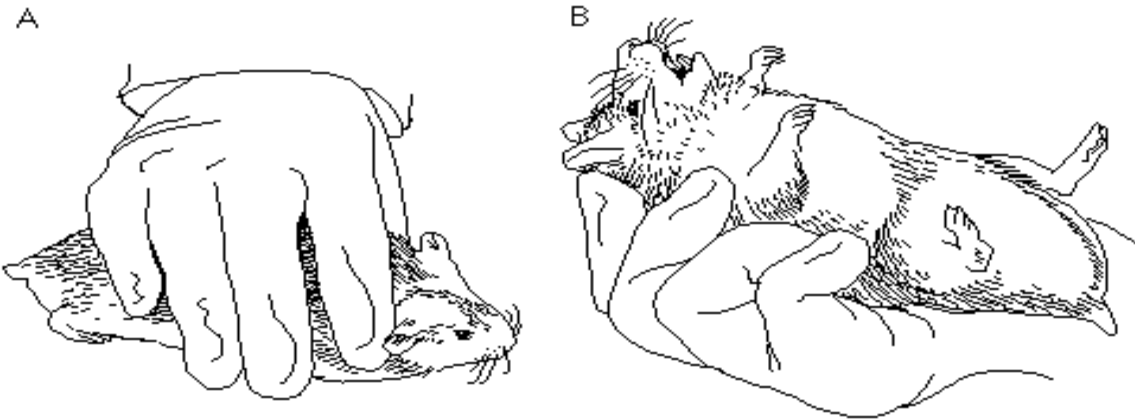
大鼠換籠及保定方式



圖 7.35 大鼠徒手保定

Hamster Handling and Manual Restraint

倉鼠保定



Hamster handling and manual restraint. Place hand palm down over hamster (A). Grasp the loose skin over the neck and back, pulling the skin taut over the thorax and abdomen (B). Avoid surprising the hamster.

From Current Protocols in Immunology

倉鼠換籠及保定方式



圖 7.45 換籠時移置倉鼠

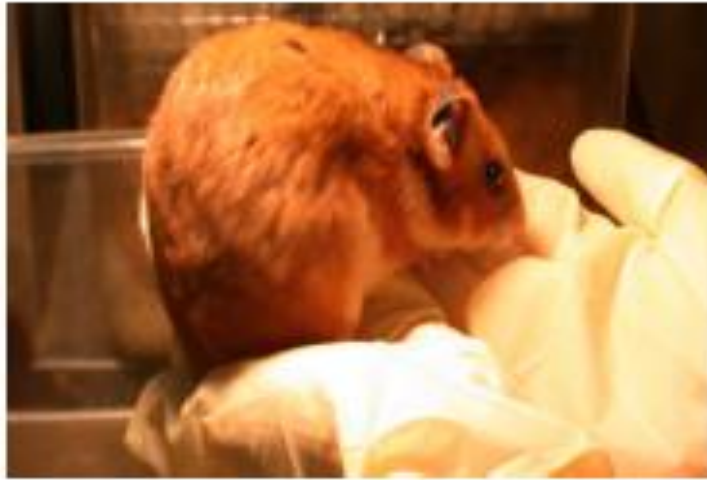


圖 7.46 用手輕捧著倉鼠

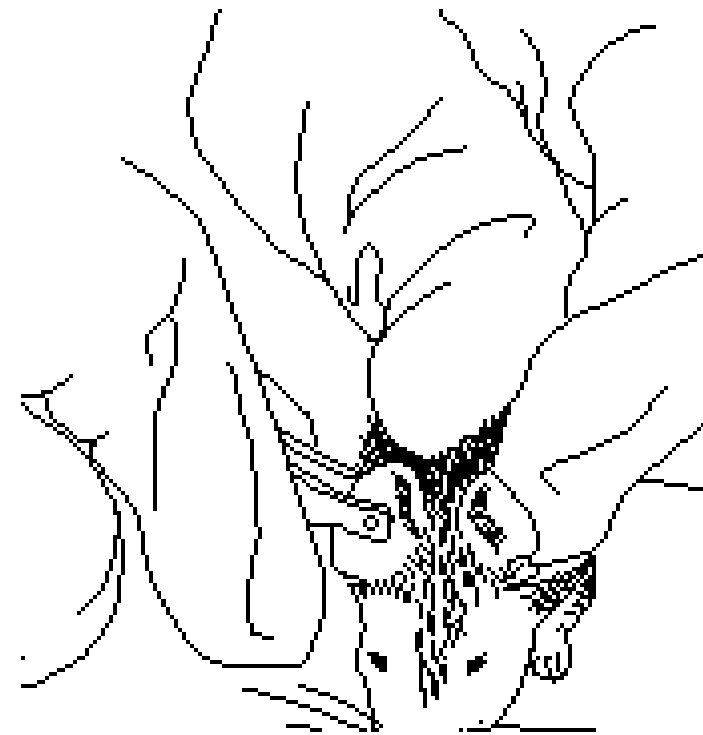
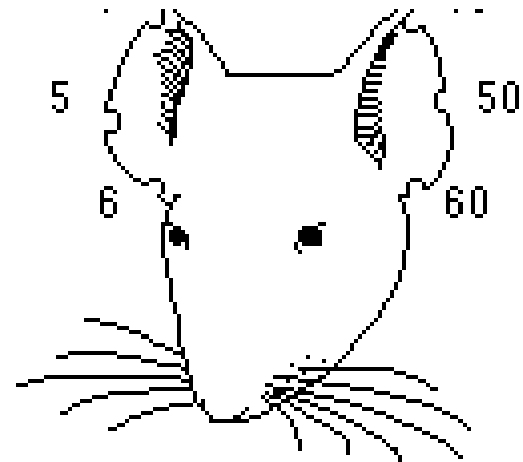
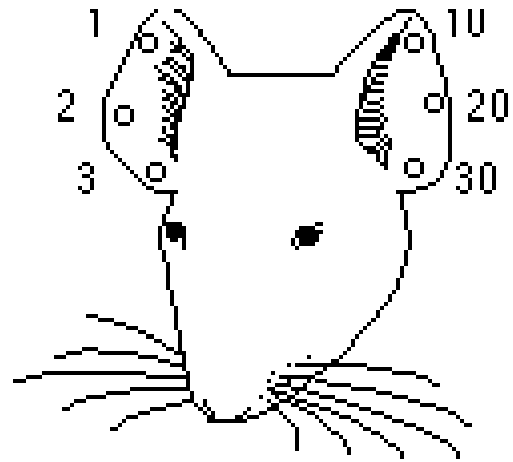


圖 7.47 倉鼠保定

標示

- **Cage cards** (籠外標示卡)
- **Ear tag or tattoo** (耳標或刺青)
- **Ear notch or punch** (耳洞)
- **Subcutaneous implantation of miniaturized transducers** (皮下植入追蹤器)

Ear Notch or Punch for Mouse, Rat and Hamster 打耳洞



From Current Protocols in Immunology



圖 3.4.3-2 耳洞、耳刻或耳號標示

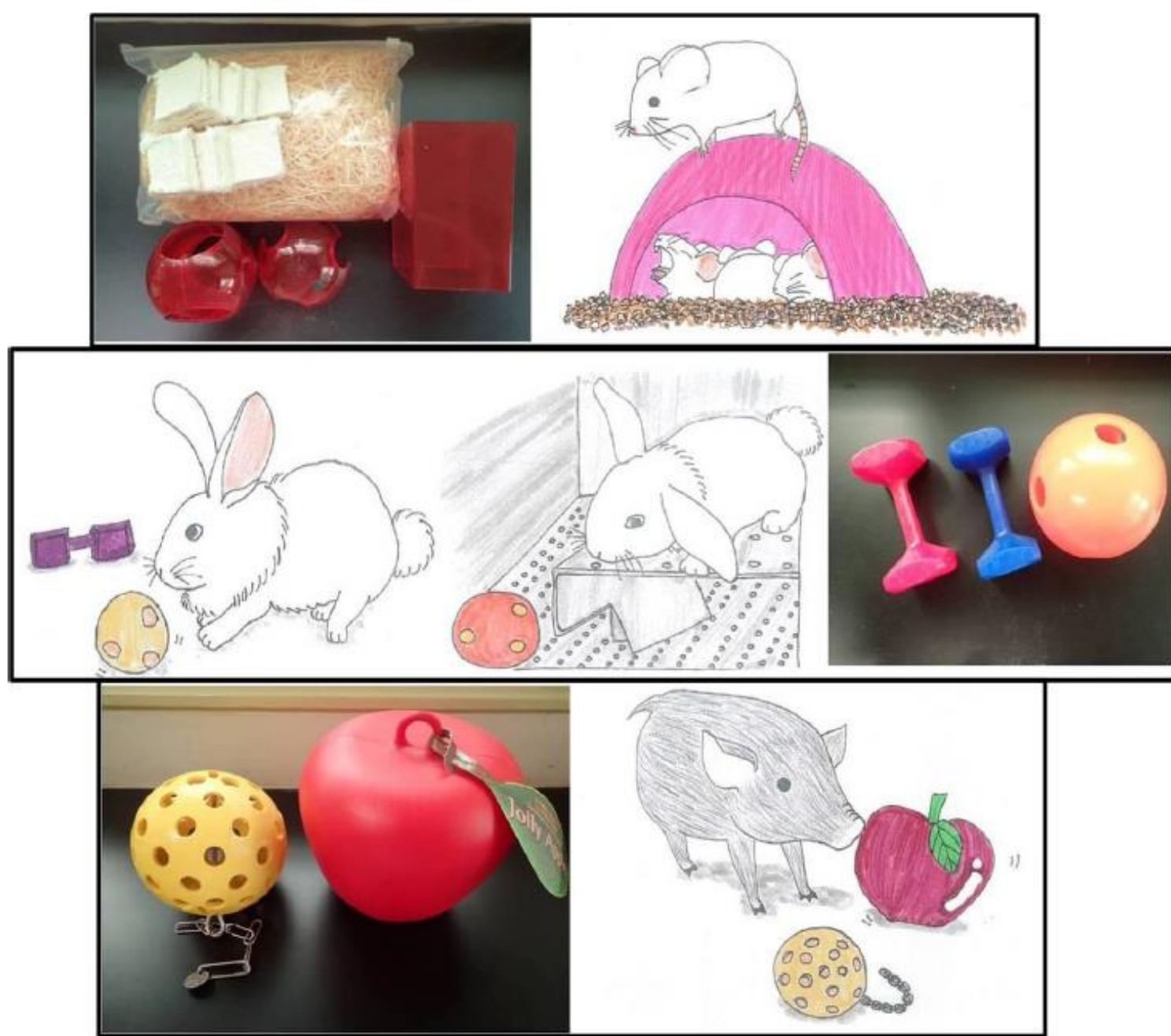


圖 3.4.3-1 豐富化物件照片

注射方式與採血

最大注射量

Table 1.6.1 Guidelines for Maximal Injection Volumes (in milliliters)^a

| Species | Subcutaneous 皮下注射 | Intramuscular 肌肉注射 | Intraperitoneal 腹腔注射 | Intravenous 靜脈注射 | Intradermal 皮內注射 |
|--------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| Mouse | 2-3 | 0.05 | 2-3 | 0.2 | 0.05 |
| Rat | 5-10 | 0.3 | 5-10 | 0.5 | 0.05 |
| Hamster | 3-4 | 0.1 | 3-4 | 0.3 | 0.05 |
| Rabbit | 30-50 | 0.5-1.0 | 50-100 | 1-5 | 0.1 ^b |

^a Adapted from Tuffery, 1987.

^b 0.05 ml, with adjuvant

From Current Protocols in Immunology

注射量

| 途徑 種類 | 靜脈 (IV) | 腹腔 (IP) | 肌肉 (IM) | 皮下 (SC) |
|----------|-----------------|------------------|--------------------|-----------------|
| Mice | < 25G 0.2 ml | < 21G 2-3 ml | < 23G 0.05 ml | < 20G 2-3 ml |
| Rat | < 23G 0.5 ml | < 21G 5-10 ml | < 21G 0.3 ml | <20G 5-10 ml |
| Rabbit | 21G 1-5 ml | 21G 50-100ml | 23, 24G 0.5-1ml | 20G 30-50ml |

SC

| 物種 (單位) | 犬 (ml/kg) | 小型豬 (ml/kg) | 兔 (ml/kg) | 大鼠 (ml/kg) | 小鼠 (ml/kg) |
|---------------|--------------|----------------|--------------|---------------|---------------|
| 皮下注射 建議投藥量 | 1-2 | 1-2 | 1-2 | 10 | 10-20 |

IM

| 物種 (單位) | 犬 (ml/kg) | 小型豬 (ml/kg) | 兔 (ml/kg) | 大鼠 (ml/site) | 小鼠 (ml/site) |
|---------------|--------------|----------------|--------------|-----------------|-----------------|
| 肌肉注射 建議投藥量 | 0.25-0.5 | 0.25-0.5 | 0.25-0.5 | 0.1-0.2 | 0.05-0.1 |

IV

| 物種 (單位) | 犬 (ml/kg) | 小型豬 (ml/kg) | 兔 (ml/kg) | 大鼠 (ml/kg) | 小鼠 (ml/kg) |
|-----------------|--------------|----------------|--------------|---------------|---------------|
| 單次快速靜脈 注射投藥量 | 2.5 | 2.5 | 2 | 5 | 5 |
| 慢速靜脈注射 最大投藥量 | 5 | 5 | 10 | 20 | 25 |

IP

| 物種 | 大鼠 | 小鼠 |
|-----------|-------------|-------------|
| 腹腔注射建議投藥量 | 10-20 ml/kg | 20-80 ml/kg |
| 適合的針頭大小 | 23-26 G | 25-27 G |



圖 3.2.2-1：小鼠腹腔注射保定姿勢



圖 3.2.2-2：大鼠腹腔注射保定姿勢



圖 3.2.2-3：腹腔注射入針處

採血量

Table 1.7.1 Critical Blood Collection Parameters for Mouse, Rat, Hamster, and Rabbit^a

| Species | Hemoglobin (g/dl) | Hematocrit PCV (%) | Average adult blood volume (ml) | Maximum single sample volume (ml) | Expected volume from exsanguination (ml) |
|--------------|-------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------|--|
| Mouse | 10.2-16.6 | 32-54 | 2.5 | 0.3 | 1.2 |
| Rat | 11.1-18.0 | 36-52 | 30 | 2.5 | 12.0 |
| Hamster | 10.0-20.2 | 36-59 | 9 | 0.5 | 3.0 |
| Rabbit | 9.9-19.3 | 30-53 | 250 | 50.0 | 150 |

^a Adapted from Tuffery, 1987.

From Current Protocols in Immunology

When the animal's survival is required following a blood collection procedure, no more than 10% of the blood volume should be removed at any one time. Multiple large collections of 5% to 10% of the blood volume should only be repeated every 2 to 3 weeks.

抽血量

- 每次抽血最大安全量 = 1% of body weight

Ex: 3kg rabbit x 1% = 30ml blood

- 最大總血量 = 6% of body weight

Ex: 3kg rabbit x 6% = 180ml blood (一般3-4%)

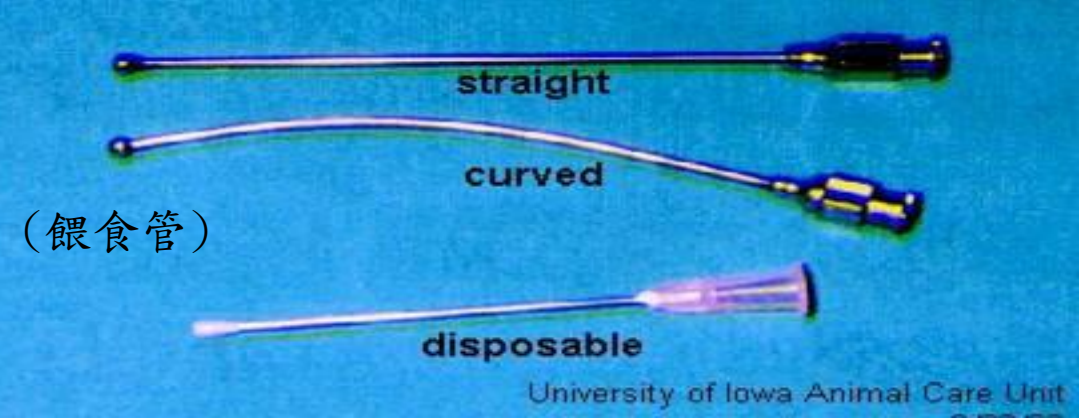
- 每日製造血量

0.75 ~ 1.0 ml/kg/day of blood

Ex: 3Kg x 1 ml/kg/day = 3 ml/day

→ 10天後, 製造 30ml blood

餵食量



| 動物種類 | Feed intake g/100g BW | Water intake ml/ 100g BW |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| Rabbit (兔子) | 4-6 | 10-12 |
| Rat (大鼠) (2-3 inch) | 5-6 | 10-12 |
| Mice (小鼠) (1-1&1/2 inch) | 12-18 | 15 |

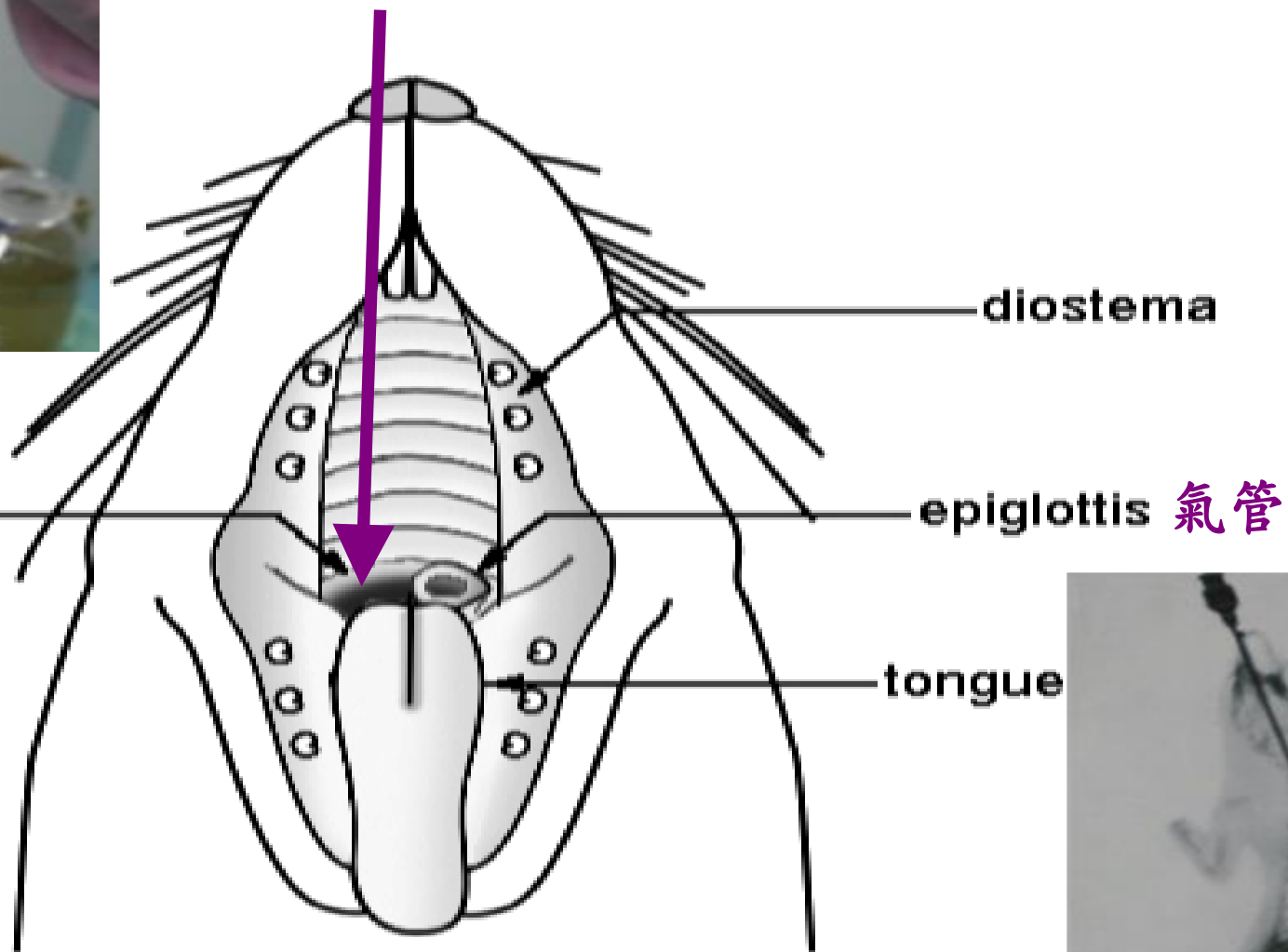
(1) .建議投藥量與餵食針大小

| 物種 | 大鼠 | 小鼠 |
|----------|----------|----------|
| 口服建議投藥量 | 10 ml/kg | 10 ml/kg |
| 適合的餵食針大小 | 16 G | 19-21 G |



面向自己,沿著門牙左邊滑入

esophagus
食道



Handling and bleeding (Mouse)

小鼠採血方式



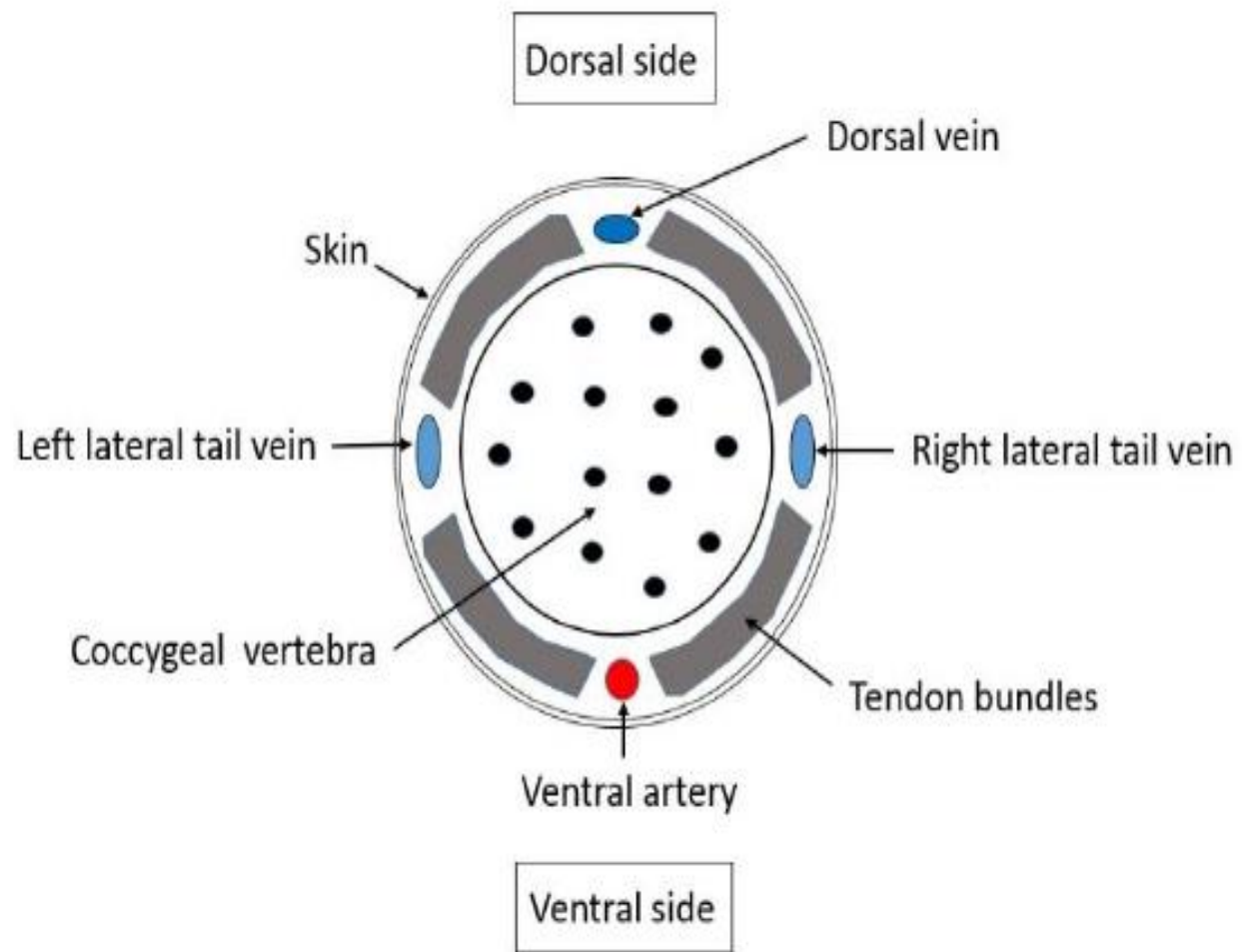


圖 3.2.4-1：大鼠尾巴截面圖

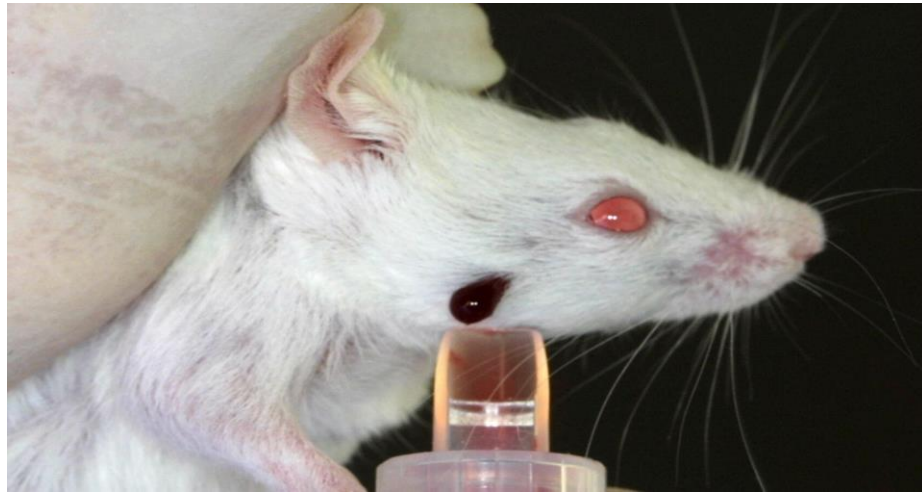
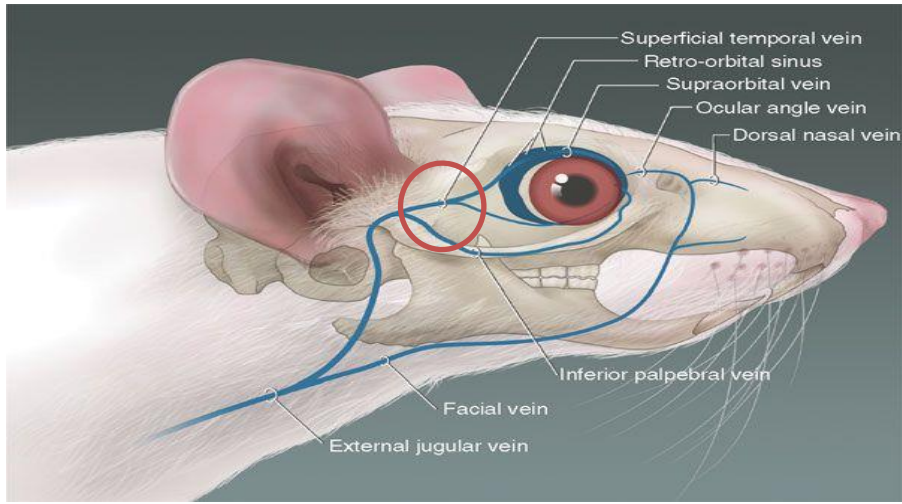


圖 3.2.5-1 小鼠眼角及嘴角連線相交處

Handling and administration (Mouse)

小鼠的處置與給藥模式

腹腔注射



肌肉注射



管餵



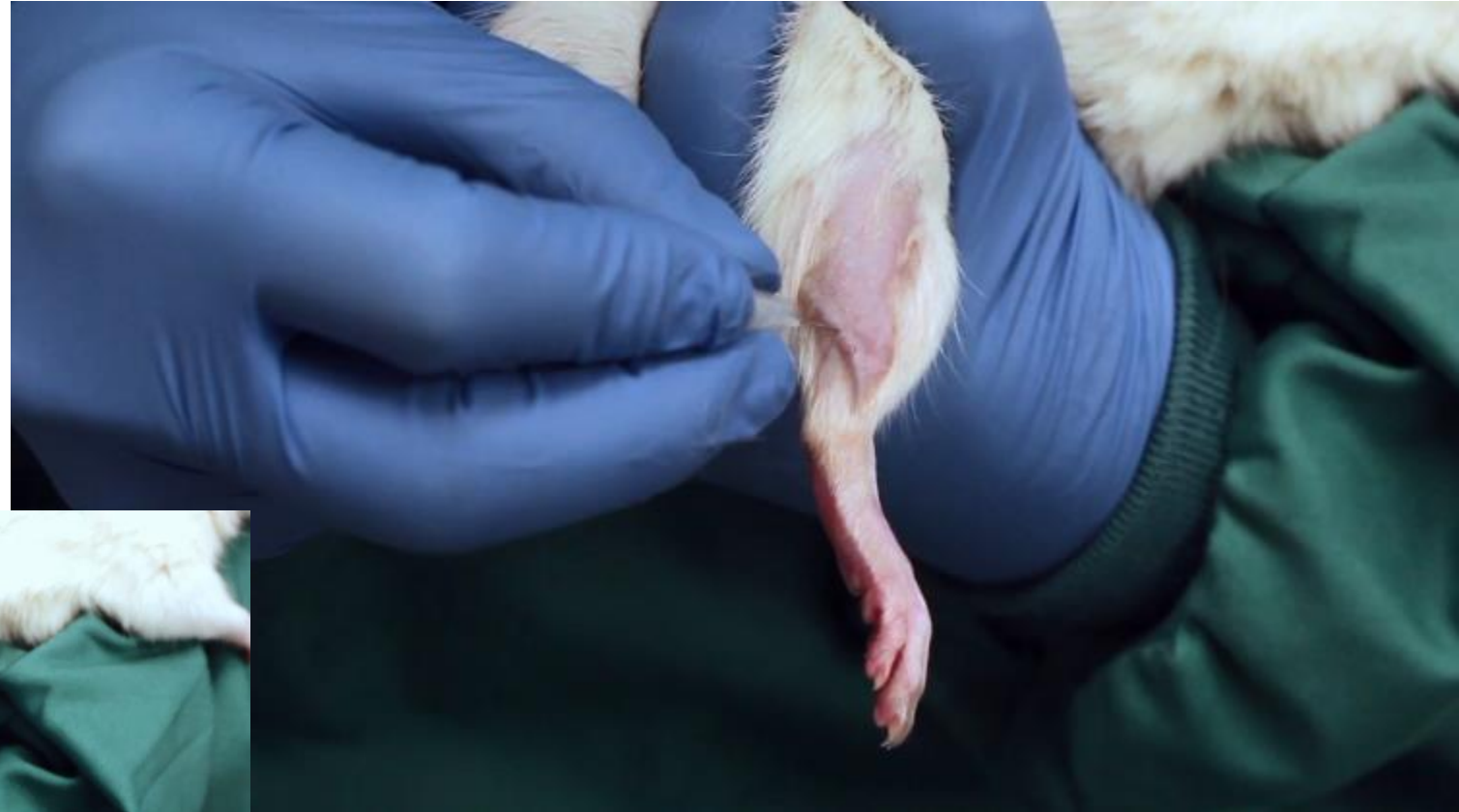
How to wrap up a rat

如何將大鼠用毛巾保定



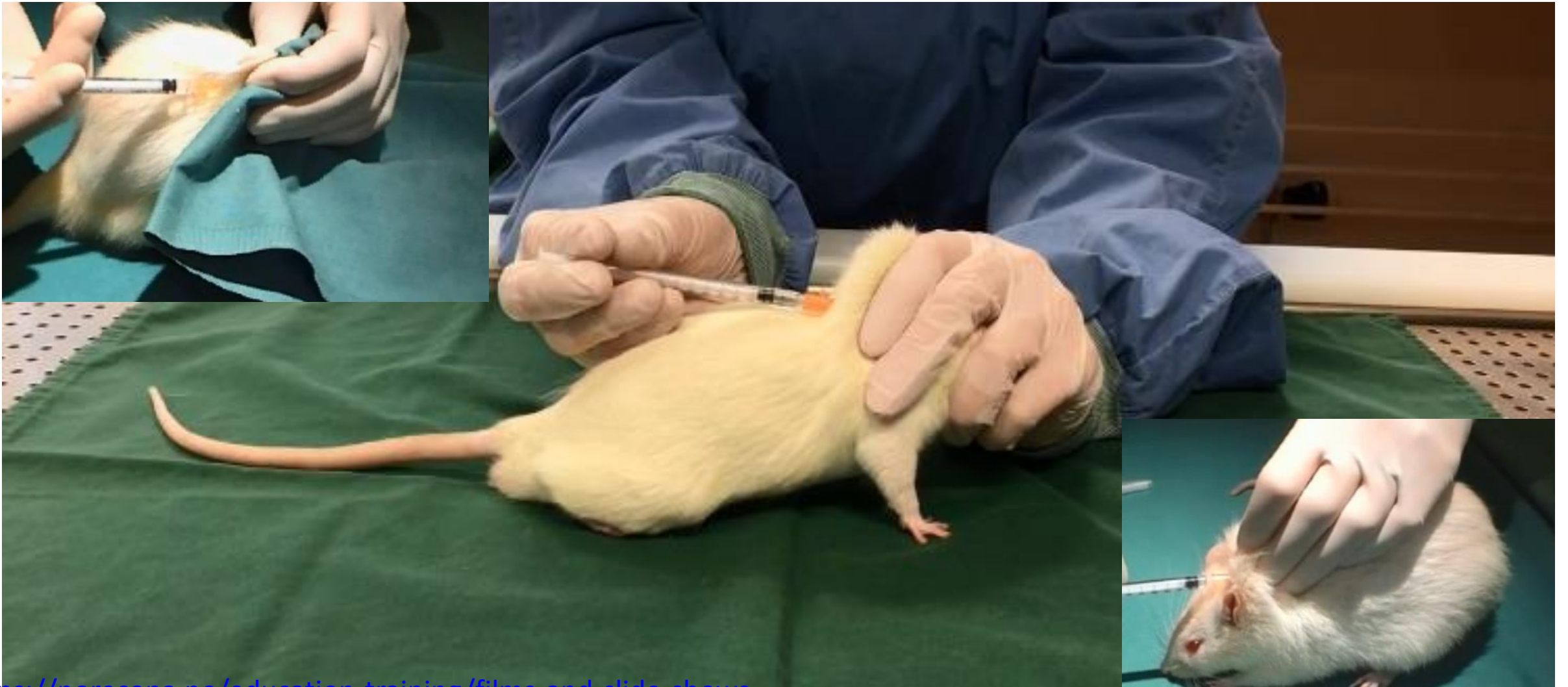
Bloodsampling from the saphenous vein (Rat)

大鼠隱靜脈採血法



Subcutaneous injection (Rat)

大鼠 皮下注射



Intraperitoneal injection (Rat)

大鼠腹腔注射



麻醉及安樂死須知

安樂死

- 科學應用後，應立即檢視實驗動物之狀況，如其已失去部分肢體器官或仍持續承受痛苦，而足以影響其生活品質者，應立即以產生最少痛苦之方式宰殺之 — **動物保護法第十七條**
- **使動物在無疼痛下死亡的手段稱為安樂死(euthanasia)**，但嚴格來說，安樂死除了不造成動物疼痛之外，亦應該快速而且不使動物在過程當中感到恐懼。
- 動物在面對有害的刺激時，會產生一些特定的行為或生理反應，例如悲鳴，掙扎，逃跑，攻擊，流口水，排尿排糞，噴出肛門腺，釋放費洛蒙(pheromones)，瞳孔放大，心跳加速，流汗，及肌肉僵硬或痙攣。由動物的這些表現，聲音或排放的味道，更會造成其他動物的不安，所以除了安樂死的品質非常重要之外，也不應該讓動物看到其他，特別是同種動物的死亡過程，**安樂死的操作區域亦應常保清潔、安靜。**
- 在評估安樂死的方式時，需考慮該方式無痛致死的能力、使動物失去知覺及死亡所需時間的長短、可靠性、對操作人員之安全性、是否能夠減少動物的心理緊迫、對術者及旁觀人員的情緒影響、經濟性、藥品取得的難易度及被濫用的可能性、需要保定的程度，以及動物之死狀是否平和等等。



2020 年

實驗動物科學（技術篇）



中華實驗動物學會 主編
行政院農業委員會 補助



2020 年

實驗動物科學（基礎篇）



中華實驗動物學會 主編
行政院農業委員會 補助

行政院農業委員會 實驗動物照護及使用指引

Council of Agriculture Executive Yuan
Guideline for the Care and Use of
Laboratory Animals

Thanks for your attention !!!

Q & A