

實驗動物技術及動物福祉 (1)

洪昭竹 博士

AAALAC 國際評審委員

前國立台灣大學獸醫學系兼任教授

前亞洲實驗動物學會聯合會(AFLAS) 主席

- 
-
- 1. 齧齒類動物日常例行之觀察與照護重點
(含3R精神)



廣泛的實驗動物定義泛指人以外之所有動物，其活動被限制在固定的空間，作為觀察或試驗之用。可是科學性試驗需講求實驗結果的穩定性與再現性，因此實驗動物須具備以下三條件：

1. 一致性的遺傳性狀。
2. 明確健康狀況。
3. 使用者，須能將動物飼養於與其來源相同之環境，並能持續給予妥善照護以維持動物健康。

能維持動物健康，飼養管理乃成為使用實驗動物最重要的課題。

實驗動物傳染病源

1. 高傳染性，爆發疾病
2. 影響實驗
3. 引起人畜共同傳染病(zoonosis)

感染來源

- 人員
- 新進動物
- 受污染之空氣、飲水或食物

預防疾病散播

- 完備的隔離防護-物理與生物性隔離 (barrier system)
- 高標準之清潔管理
- 遵循嚴謹隔離系統操作程序

飼育環境管理

- 依研究目的、單位經費、空間及動物之種類、品系及個體之特徵而異
- 大環境：房舍清潔消毒、動物房之換氣、溫度、溼度、照明及噪音監控
- 小環境：動物籠舍結構、動物之空間需求、
- 動物籠清潔消毒管理
- 危險物質、感染原、蟲害防治及廢棄物處理

The 3 Rs

**William M.S.
Russell & Rex
Burch:
The Principles of
Humane
Experimental
Technique
1959**

http://altweb.jhsph.edu/publications/humane_exp/het-toc.htm

- **Reduction**
- **Refinement**
- **Replacement**



提升實驗動物福祉的基本原則

- 提升實驗動物福祉和研究品質的基本原則，就是Russell 及Burch 於1959 年提出的3R 原則：
- 取代(Replacement)、減量 (Reduction) 及精緻化(Refinement)。
- 3R 原則的制訂起源於科學實證證明動物經歷疼痛與痛苦的方式和人類相似，因此必須以此為前提，來評估任何與動物福祉相關決定是否可行。

The 3 Rs

- 取代(Replacement)：若一科學實驗有可行的替代方法能部分或完全取代活體動物的使用，研究人員應該優先考量替代方案。取代的實例包括：體外試驗和電腦模擬等。
- 減量(Reduction)：科學實驗的進行應使用合理最少量的動物隻數，但在確保科學及統計的有效性的同時，不得因減量之故，讓動物蒙受更多的疼痛與痛苦作為代價。
- 精緻化(Refinement)：實驗設計不只要完成研究目標，同時必須免除或儘可能降低動物的疼痛與痛苦。除此之外，研究人員也必須能夠勝任所提出的執行方法，以免因經驗不足造成動物的傷害。

設計動物實驗時應該考量

- 選擇之動物品種及其飼育環境、飼養管理、及環境適應；
- 選擇之實驗流程及技術；
- 適當的使用鎮定、止痛及麻醉藥物；
- 選擇評估疼痛與痛苦的適當方法；
- 建立影響動物福祉時的早期介入點和人道試驗終點；充分的動物觀察；有效的預試驗。

科學正當性(Scientific Justification)和責任(Responsibility)

- 除了3R 之外，另外二項重要原則也需同時考量；
- 科學正當性(**scientific Justification**)：所有的科學實驗皆需有足夠的科學正當性才能執行，研究人員應該評估研究計畫預期產出的科學或教育價值，及其對動物福祉所可能造成的影響，二者之間的權衡關係。任何可能對動物造成傷害的研究計畫，皆應有足夠的科學正當性。

科學正當性(Scientific Justification)和責任(Responsibility)

○ 責任(Responsibility);

進行動物實驗的研究人員，皆應對實驗動物福祉負全部責任。研究人員有義務尊重生命，在規劃或進行研究時，將動物福祉視為其中重要的一環。為擔負起這個責任，研究人員必須了解計畫裡所有可能影響動物福祉的因素、熟知造成動物疼痛及痛苦的原因及機制、了解評估動物疼痛及痛苦的方法，並有能力在動物受苦時進行適當的處置。



動物感覺疼痛和焦慮

大小鼠疼痛/焦慮評估

- 動物也會感覺疼痛和焦慮。所有使用動物的研究人員都需有道德和法律責任，在不影響計劃目的下，減少或消除在操作中對動物造成的痛苦和焦慮。

實驗造成之疼痛及焦慮

- 應監控動物的疼痛與焦慮來判定侵擾動物的狀況、程序及程度。相關人員需有能力區別正常與異常的動物行為，來評估動物是否處於疼痛或焦慮。在啮齒類實驗動物的行為細微變化非常重要，可真實反應出這些動物的疼痛與焦慮。常見的行為變化如下表：

1) Lethargy 不活潑	○reluctance to move 活動力降低
2) Abnormal posture 姿勢異常	○Hunched 弓背
3) Restlessness 躁動	○pacing, constant motion 踱步、持續運動
4) Self-mutilation 自殘	○licking, biting, scratching, rubbing 舔，咬，抓，摩擦
5) Vocalization 發出叫聲	○squeaking when handled 抓取動物時發出叫聲
6) Aggression 出現攻擊性	○biting when handled 抓取動物時咬人
7) Guarding 警覺狀	○attempting to move away or protect painful area ○試圖逃脫或保護疼痛的區域
8) Lack of Grooming 缺乏理毛	○ruffled or greasy fur coat 毛髮粗鋼或油膩
9) Red staining of face 顏面色染	○red discharge from eyes or nose (rats) ○眼鼻出現紅色分泌物(大鼠)
10) Poor appetite 食慾差	
11) Weight loss 體重降低	○loss of >10% of pre-operative body weight ○與術前相較，體重降低10%以上

USDA Pain Levels

實驗造成之疼痛及焦慮分級表

等級	等級B Category B	等級C Category C	等級D Category D	等級E Category E
說明	僅繁殖代養無 實驗進行	輕微疼痛 不需用藥緩解	明顯疼痛 有用藥緩解	明顯疼痛 無用藥緩解
實例		<ol style="list-style-type: none"> 1.保定、秤重 2.注射、採血 3.打耳號 4.人道安樂死 5.不會造成動物生理狀況明顯改變之動物試驗 	<ol style="list-style-type: none"> 1.穿刺採樣 2.存活與非存活性手術 3.眼窩採血 4.食慾喪失 5.皮膚創傷 6.結膜炎 7.角膜水腫 8.傳染病誘發 	<ol style="list-style-type: none"> 1.毒性試驗、微生物試驗或腫瘤試驗導致動物重病或瀕死 2.眼睛或皮膚的刺激性試驗導致嚴重臨床症狀 3.禁水、禁食時間過長 4.長時間或重複性電擊 5.燒傷或大規模皮膚創傷 6.不人道安樂死
規範	無	無	應遵守麻醉及鎮痛藥品使用規範，正確及時投藥	若必需進行此類實驗，應於動物實驗申請書說明原因及試驗終點之判斷



實驗動物照護及使用

實驗動物照護及使用

實驗動物照護及使用管理制度：

- 所有照顧、使用或生產動物以進行研究、測試或教學的人員，都應對動物福祉負責。
- 動物科學應用機構應建立、實施及維持動物照護及使用管理制度，並符合相關法規及動物科學應用機構實地查核的要求。
- 在此情況下，應指派專人負責每日動物照護使用與設施管理。
- 所有參與管理制度的人員都應接受必要訓練；訓練應有紀錄，並維持最新狀態。
- 機構應指派專人保存管理制度執行的相關紀錄。

-
- 機構負責人應設置實驗動物照護及使用委員會或小組，並得指派管理制度負責人及獸醫師協助管理，但仍應承擔管理制度的最終責任。
 - 實驗動物照護及使用委員會或小組、獸醫師及相關成員應將管理制度執行需求定期向機構負責人與(或)管理制度負責人報告。
 - 機構應賦予獸醫師權責及提供資源，以執行獸醫照護相關作業。若現場無法配置一位全職獸醫師，機構得有諮詢或兼職獸醫師，依據管理制度需求定期至機構巡檢。

實驗動物照護及使用

機構間合作計畫的管理權責：

- 參與動物科學應用合作計畫之機構應簽署正式書面文件，明確載明動物照護及使用之權責。
- 任一合作方的實驗動物照護及使用委員會或小組可以決定是否要就合作計畫相關的申請文件進行審核。

實驗動物照護及使用

獸醫照護管理(有效的管理下列事項)：

- ✓ 動物取得及運輸
- ✓ 預防醫學（包括檢疫、動物生物保全、及監測）
- ✓ 臨床疾病、傷殘、或相關健康議題
- ✓ 安樂死

- 
-
- ✓ 與研究計畫相關的疾病、傷殘、及其他後遺症
 - ✓ 手術及術間照護
 - ✓ 疼痛及痛苦
 - ✓ 麻醉及止痛

實驗動物照護及使用

人道安樂死指導原則：

- 選擇安樂死所使用的方法會依所涉及的動物物種、動物年齡、和實驗目的而定。除非有科學或醫學理由，安樂死措施應符合國內動物保護法規所列之安樂死指導原則。
- 獸醫師與實驗動物照護及使用委員會或小組應規劃及核可安樂死方法。

-
- 安樂死動物對有些動物照護者、獸醫師和研究人員會造成心理上的壓力，主管委派工作時應留意此議題。
 - 動物死亡的狀態應由受過足以辨識該種動物生命終止跡象訓練的人員進行判斷。輔助性的安樂死方法也可用以確保動物的死亡。

人道處理措施



-
- 當使用有害物質進行動物實驗時，操作人員須先完成機構所要求的職業健康和 safety 相關訓練及證照資格。
 - 為維護動物管理品質與人員的舒適及衛生，動物設施與員工休息活動區域應予以區隔。
 - 得將不同健康狀態或物種的動物進行隔離（以避免疾病傳播，並排除因不同物種間的衝突而引發之焦慮或造成動物生理及行為上的變異。
 - 以上所述原則亦適用於水生物種動物。

門禁管控及消毒



實驗動物照護及使用

~~空調、電力、照明系統，噪音、震動、環境監控~~
等指導原則：

環境監測：針對設施中的動物飼養區域及其他對環境條件較敏感的區域，得考慮實施環境條件的監控；環境監控系統的功能和準確度得定期確認。



實驗動物照護及使用

飼料指導原則：

- 應每日提供動物具適口性且無污染的食物，以滿足動物營養與行為需求。
- 在餵飼群居動物時，得有足夠的飼料槽空間和採食點，以減少爭食現象，並確保所有的動物都能同時進食，特別是當限食要求是實驗計畫或管理措施的一部分時。
- 機構得要求飼料供應商提供有關飼料主要成分的定期分析資料。在接收飼料時，得檢查飼料包裝是否完整且無污斑，藉以確信飼料未接觸到害蟲、未被液體浸入、或受到污染。得仔細掌握每批到貨的數量，並注意存貨的調整，以便先購進之飼料先使用。

飼料保存



實驗動物照護及使用

飲水指導原則：

- 動物應獲取適合飲用且無污染之飲水。
- 為確保水質是可被接受的，得經常針對水質之pH、硬度、微生物或化學物質之污染進行監測。
- 自動給水設備得定期實施沖洗及消毒。

實驗動物照護及使用

墊料和築巢料指導原則：

- 獸醫師或設施管理者應在諮詢研究人員的意見後，**選用最適宜的墊料和築巢料**。
- 應使用充足之墊料，以確保動物在墊料更換間隔內都能保持乾爽。
- 墊料儲放**應避免污染**，離開地面與牆面。
- 針對水生動物而言，應就水生系統設計和物種需求進行評估，以決定底材的數量、類型和呈現的外觀。

-
- 在購買墊料時應該考量到供應商採用的生產、檢測、和儲存的方法。在運輸和儲存時，得使用棧板、網架、或推車將墊料架高，以便保持墊料品質，防止污染。
 - 在高壓滅菌處理時，墊料會吸收水分以至於失去吸濕能力，並助長微生物生長。因此得採用適當的乾燥時間和儲存條件，或可以使用加瑪射線對墊料進行滅菌。

實驗動物照護及使用

廢棄物處理指導原則：

- 一般性、生物性或危害性的廢棄物應依國內法規處理。
- 得有廢棄物專屬的存放區域，該區得不受害蟲侵入。若需使用冷藏設備存放廢棄物，則得使用設有專門標示的專用冰箱、冰櫃、或冰庫，此一設備得可方便進行消毒作業。
- 足夠數量且妥善標示的廢棄物儲存桶得有規劃地放置在設施的各樓層中。廢棄物儲容器得為防漏且具有密合的蓋子。

-
- 對有危險性的廢棄物，得先經滅菌、隔離、或其他適當方式處理，在無安全顧慮時，方可運離機構。
 - 得將具有毒性、致癌、易燃、腐蝕性、易反應或不穩定之危險物存放在清楚標示之容器內，並依職業健康與安全專員的指示丟棄。
 - 感染性動物屍體應交與有執照之合約商處理。
 - 水生動物部份基於水的體積、水質和含化學組成物的不同，有些機構可能需要有廢水處理及丟棄的措施。機構應依當地政府的法規管制廢水的排放。



實驗動物照護及使用

蟲害防治指導原則：

- 應定期安排蟲害防治和監控作業，並紀錄所使用殺蟲劑的種類。
- 殺蟲劑使用前，得先與可能暴露於殺蟲劑的實驗動物之計畫負責人溝通，確認無害於動物實驗。
- 得盡可能採用無毒性的蟲害防治方法。
- 如果使用誘捕器，得採用人道的方法；若使用誘捕器捕獲活體害蟲，則要經常巡視觀察，並以人道方式處死捕獲的害蟲。
- 水生和半水生動物具有經皮吸收機制的特性，因此會對一般陸生動物使用的害蟲防治試劑較為敏感。在使用前，適當地檢視審閱化學藥品及施用方法是有必要的。

蟲害防治



實驗動物照護及使用

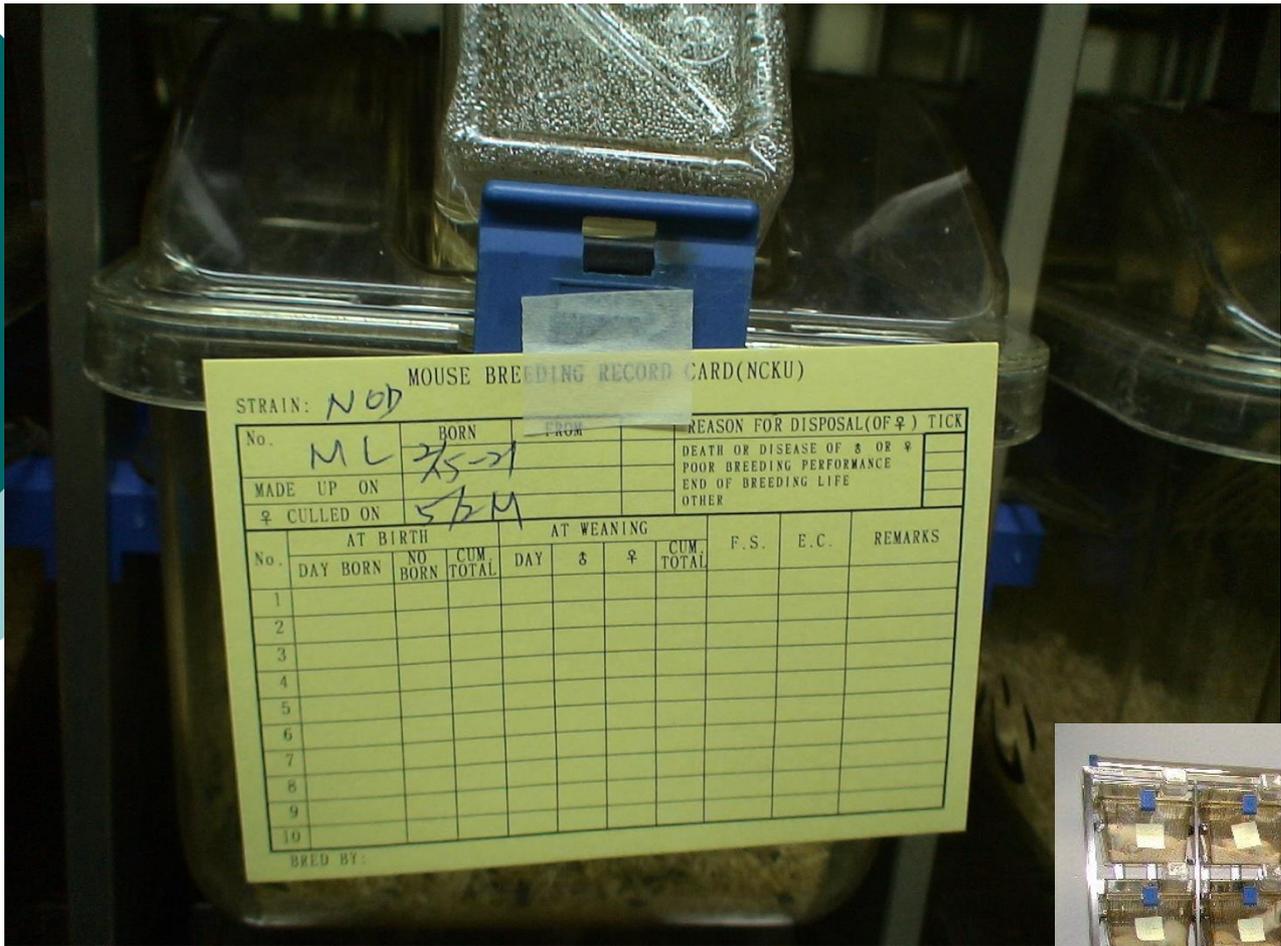
緊急、週末和假日的動物照護指導原則：

- 動物應**每天**都由人員進行照護管理，**包括週末和例假日**，以維持動物福祉，並滿足研究要求。
- 應確認在緊急事件狀態中，機構的保全人員、消防或警察人員都能聯繫到動物設施負責人。
- **緊急、週末和假日的照護管理應規劃緊急應變程序**，使動物獲得適當照護。
- **人員及動物之災害防治計畫得事先加以規劃**，並應納入機構的安全防護計畫中。
- 針對設施中的動物飼養區域及其他對環境條件較敏感的區域，得考慮實施環境條件的監控。環境監控系統的功能和準確度得定期確認。

實驗動物照護及使用

動物識別指導原則：

1. 動物識別卡上應記錄動物來源、品種或品系、相關日期資料(如接收日期、出生日期等)、負責研究人員姓名與聯絡資料及動物實驗申請表編號等資訊。
2. 水生動物飼育盒及水箱卡片資訊得包含物種、遺傳資訊(親代種原辨識資料、遺傳組成)、種原來源、系統中種原數量、飼養缸識別、維生系統資訊、繁殖、死亡、疾病、動物在設施內或設施間移動、受精/孵育資訊。
3. 得利用標準命名規則將各品系、支系或各動物之遺傳背景資料詳實紀錄。



實驗動物照護及使用

手術室指導原則：

- 手術設施與其他區域得有充足的空間區隔，以減少不必要的動線交錯狀況，並降低污染的風險。研究資料顯示，細菌感染程度及手術後傷口感染的發生率與手術參與人數及活動頻度相關。
- 在規劃手術設施時宜考量污染源控制和清理之便利性。
- 定時在各項操作程序間安排清理和消毒的工作。
- 手術區內部表面得使用一體成型且具不透水性之建材。
- 利用通風系統供應過濾處理過之空氣並維持正壓狀態，可減少術後感染之風險。有資料建議仔細規劃進風口和排氣管道設置的地點，及房間內適度之換氣率，可減低污染發生之可能。

-
- 其他手術室中宜考慮的要項包括：有足夠手術照明的燈具；足夠的電源插座以供支援設備使用；支援麻醉、手術作業流程、氣動設備所需的氣體；真空設備；及廢氣清除之能力。
 - 無菌操作技術需要每位進入手術區域者的參與及配合。不論何種動物種類，無菌操作技術內容包括病患的術前準備（例如毛髮或羽毛移除及手術部位的消毒）；手術操作者的準備（例如提供適當的手術袍、口罩及滅菌過的手術手套）；儀器、耗材備品及移植材料的滅菌處理；及如何運用手術操作技術以降低感染的可能性。
 - 尖銳物或玻璃得以適當程序處理，避免廢棄物處理人員受到傷害。



飼養空間需求及環境結構

- 中、小型實驗動物之籠舍垂直高度常因動物小而遭忽視，常用大鼠（rat）籠高度約7吋，（mouse）籠高度5~6吋，倉鼠（hamster）之籠舍高度為6英吋，而天竺鼠可以7吋大鼠籠飼養。
- 常有人以7吋之大鼠籠飼養倉鼠，造成倉鼠攝食困難；同樣大鼠、小鼠籠互換飼養，造成小鼠攝食困難與大鼠緊迫。此外動物籠使用前應注意飼料槽與籠底之高度是否夠高，可讓動物通行無阻，或者太高動物無法取得飼料與飲水，尤以剛離乳之嚙齒類飼養過程宜特別留意。

- 群飼動物時，應注意其空間之需求並不等於個體需求之總和，因為飼養時除了考量個體需求外，應一併考量如行為、動物相容性、數量及實驗目的。
- 動物籠飼養密度過高時容易發生打群架，尤其運輸時更常見，應予避免。
- 另有些飼養管理應注意的如成熟之雄性小鼠與配種過的小鼠常見互相攻擊，手術後之動物容易受同伴攻擊，皆宜單獨飼養。

飼養管理之例行檢視

-影響疾病因素

- 遺傳因素
- 發育因素
- 感染原
- 毒素
- 創傷
- 營養過剩或不足
- 壓力



飼育環境要求

恆定的飼育環境

- 動物房之飼育環境，宜設中央自動監控設備與失控警報系統以利管理。
- 然而飼養員仍需每日例行檢查並記錄各項數值，包括校對定時器時間、紀錄溫、溼度，甚至排程定期檢查硬體設備維護，如空調排風口或鼠籠更換操作台或**IVC**籠架之濾網，以確保環境品質。

溫度

- 一般建議溫度為**18- 28 °C**，然而飼養小動物需較狹窄之溫度範圍約**20- 24 °C**
- 體型是溫度調節之重要因素
- 特別溫度需求較高室溫：裸鼠、手術恢復中動物、新生動物
- 野生動物則需依其原棲息環境而調整
- 溫度高於**29.4 °C** 或低於 **4.4 °C**動物會出現臨床症狀或死亡。

溼度

- 影響動物活動力與進食
- 最適溼度：**40-70% (45-55%)**
- 溼度與溫度過高則細菌易滋生，導致動物籠內氨濃度增加
- 溼度過低(**30%**)將造成某些品系動物病變，如大小鼠之環狀尾症(**ring tail**)
- 例外：南美洲狨猴需較高之溫、溼度

空氣對流

- 提供新鮮空氣，移除動物、光源與機器產生之熱源
- 動物房標準換氣率：**10-15**次/小時
- 根據實驗，動物房換氣率由每小時**12**次增加到**18**次時，動物籠內之氨濃度僅下降**20%**

聲音 / 噪音

-動物、人與實驗操作

- 僅可能維持在**65db**以下，**85db**以上噪音會造成動物壓力
- 避免巨大、突然或動物不熟習的聲音
- 狗等會產生噪音之大動物應另區飼養
- 避免機械產生之噪音
- 不同品種動物聽到音頻不同
- 大小鼠能聽到超音頻，如**DBA/2**幼鼠會產生聽覺障礙

光照與光週期

- 小動物應避免有窗戶直攝陽光影響光週期.
- 光週期：除非特殊實驗或野生動物一般應有定時器，自動設定 **L12h / D12h**.
- 強度：**110 Lux**或更弱(**25-60**)，適合動物**325 Lux**適合工作與觀察動物(**retina atrophy**)繁殖中動物應藉輪調籠位，避免光照不均.
- 波長：嚙齒類動物對紅光不敏感，因此夜間進行動物實驗或觀察動物宜使用紅色光源

Thank you for your attention

