

實驗動物操作之相關技術介紹

國家實驗動物中心
李泔泓獸醫師

leekh@nlac.narl.org.tw

內容

- 保定技術
- 標示與識別技術
- 投藥技術（注射與管餵）
- 採血技術（存活性採血與犧牲後採血）
- 麻醉、止痛、術後照顧
- 實驗動物安樂死

保定技術 - 目的

NAR Labs

承諾·熱情·創新

- 為了順利執行投藥、採血..等技術
- 保護動物，避免動物不必要的傷害
- 保護自己，避免被咬



3

保定技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

小鼠單手保定



J. Vis. Exp. (67), e2771



- 僅使用一手執行保定
- 需留意動物的呼吸

4

保定技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

小鼠雙手保定



J. Vis. Exp. (67), e2771

- 一手抓尾根部、一手抓背部皮膚
- 需留意動物的呼吸



5

保定技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

大鼠雙手保定



J. Vis. Exp. (67), e2771



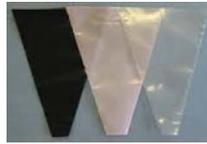
6

保定技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

保定袋/保定管保定



J. Vis. Exp. (67), e2771

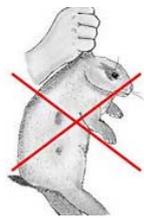
7

保定技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

兔子保定



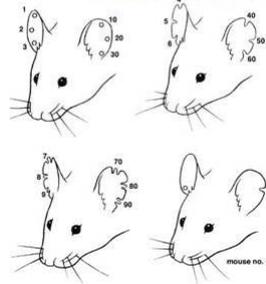
- 抓取兔子時，一隻手抓住兔子頸部皮膚，另外一隻手托住後肢抱起靠在操作者胸前
- 兔子過度掙扎容易導致脊椎受損，尤應避免只抓兔子前腳



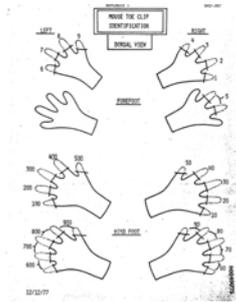
8

標示與辨別技術

- 暫時性 - 簽字筆標示、食用色素（如苦味酸）染毛、剃毛
- 永久性 - 耳洞、耳標、剪趾、刺青



標示與辨別技術



投藥技術

- 腹腔注射 (Intraperitoneal, IP)
- 肌肉注射 (Intramuscular, IM)
- 皮下注射 (Subcutaneous, SC)
- 靜脈注射 (Intravenous, IV)
- 餵食管餵食 (Oral gavage)

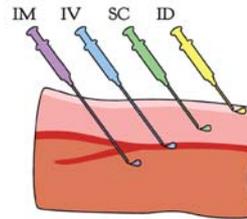


Figure 3. Different routes of skin administration of substances. Depicted are intramuscular (IM), intravenous (IV), subcutaneous (SC), and intradermal (ID) routes. Illustration courtesy of Gianni Chiappetta.

Suggested Dose Volumes (mL/kg) for Test Material Administration

Species	ROUTE									
	GAVAGE		IV		IP		SC		IM	
	Ideal	Limit	Ideal	Limit	Ideal	Limit	Ideal	Limit	Ideal	Limit
Mouse	10	20-50	5	15-25	5-10	30-50	1-5	10-20	0.1	0.5-1
Rat	10	20-50	1-5	10-20	5-10	10-20	1	10-20	0.1-1	1-10
Rabbit	10	10-20	1-3	5-10	—	—	1-2.5	5-10	0.1-0.5	1

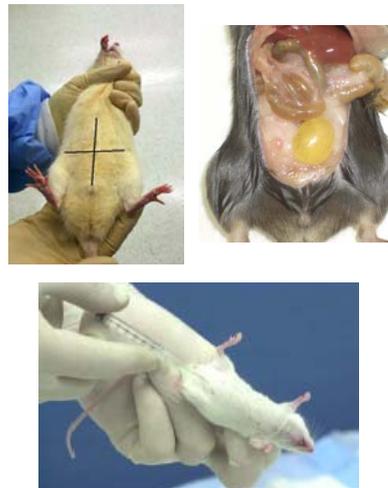
投藥技術

腹腔注射 (Intraperitoneal, IP)

- 注射位置：右下腹部，腹腔內
- 毛皮以酒精棉擦拭消毒
- 下針後回抽，確認下針位置無誤



J. Vis. Exp. (67), e2771



投藥技術

NAR Labs

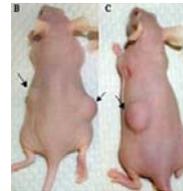
承諾·熱情·創新

皮下注射 (Subcutaneous, SC)

- 注射位置：背部皮膚皮下組織中
- 毛皮以酒精棉擦拭消毒
- 下針後回抽，確認下針位置無誤



J. Vis. Exp. (67), e2771



13

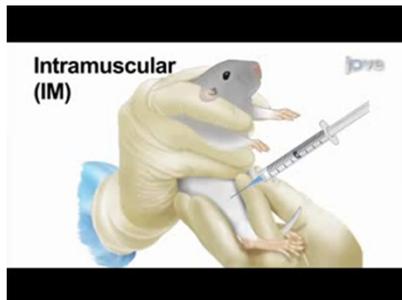
投藥技術

NAR Labs

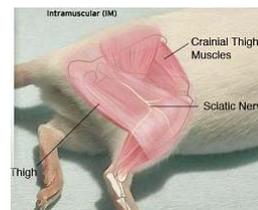
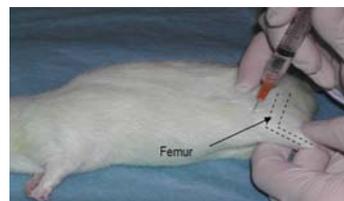
承諾·熱情·創新

肌肉注射 (Intramuscular, IM)

- 注射位置：後腿肌肉組織中
- 毛皮以酒精棉擦拭消毒
- 下針後回抽，確認下針位置無誤
- 留意坐骨神經位置，以免動物受到傷害
- 建議兩人操作



J. Vis. Exp. (67), e2771



14

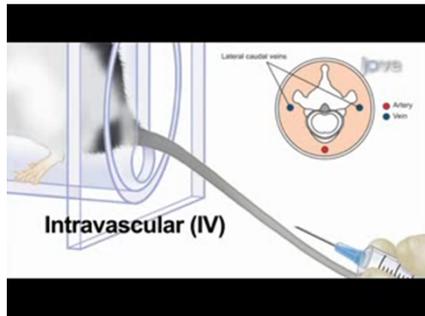
投藥技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

靜脈注射 (Intravenous, IV)

- 注射位置：大小鼠 - 尾靜脈
兔子 - 耳靜脈
- 加溫處理 - 加速循環、血管擴張
- 毛皮以酒精棉擦拭消毒
- 下針後回抽，回血後注射



J. Vis. Exp. (67), e2771

15

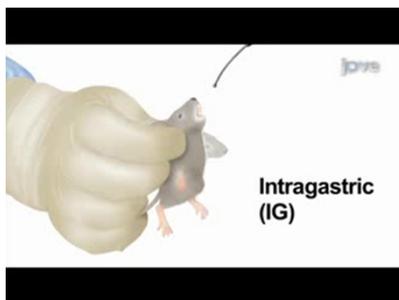
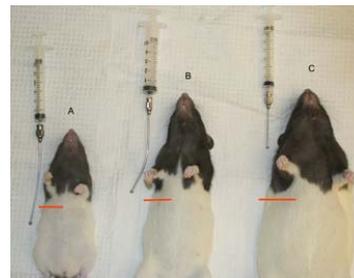
投藥技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

餵食管餵食 (Oral gavage)

- 選擇適當口徑及長度的針
- 以管餵針吸取待餵物質，之後
擦拭管餵針
- 管餵針需確實放入胃內



J. Vis. Exp. (67), e2771

Inadvertent esophageal rupture

16

採血技術

溶血對生化分析的影響



沒有溶血

程度不一的溶血

Concentration of Substances in Erythrocytes and Plasma			
Substance	Erythrocytes	Plasma	Erythrocyte/Plasma Ratio
LDH U/L	58,000	360	160
AST U/L	500	25	20
ALT U/L	150	30	5

*Largest observed differences. **After Caraway, W.T.: Am. J. Clin. Path. 37:445, 1962.

Animal ID.	Gender	B.W.(g)	hemolysis	AST	ALT	LDH
				U/L	U/L	U/L
10 溶血	M	18	2+	233	67.4	1117
352	M	20	—	69.5	25.5	371

採血技術

凝血對血球分析的影響

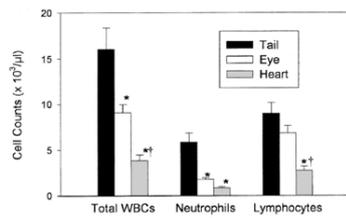
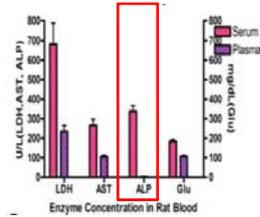
ID	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	PLT
	x10 ³ cells/μL	x10 ⁶ cells/μL	g/dL	%	fL	pg	g/dL	x10 ³ cells/μL
1	7.96	9.88	15.2	51.7	52.3	15.4	29.4	1488
2	4.26	10.38	16.4	57.2	55.1	15.8	28.7	1470
3	4.64	9.11	14.3	51.0	56.0	15.7	28.0	999
4	2.35	8.67	13.0	46.7	53.8	15.0	27.9	1385



採血技術

影響因素

- 動物的健康程度
- 採血位置(周邊 vs 心臟)
- 血清或是血漿 (抗凝管的種類)
- 麻醉與否、麻醉方法
- 禁食與否 (glucose, hemoconcentration, cortisol)
- 保定 (cortisol, stress leukocytosis, etc)
- 檢體處理 (evaporation, hemolysis, storage)



Inflamm. res. 50 (2001) 523 - 527

採血技術

從一隻老鼠身上可以採到多少血

- 動物體內的血液量，依據動物的大小體重而異
- 就不同動物別而言，體中的血液量約是 55 - 70 ml/kg BW 或體重的 5.5 - 7 %
- 就 20-40 g 小鼠而言，全身血液約有 1.1 to 2.8 ml



Species	Reference weight (g)	Blood volume (ml/kg)	Safe volume for single bleed (ml)*	Bleed out volume (ml)
Mouse	18 - 40	58.5	0.1 - 0.2	Male 0.8 - 1.4 Female 0.6 - 1.4
Rat	250 - 500	54 - 70	Male 2.9 - 3.3 Female 1.6 - 1.9	Male 13 - 15 Female 7.5 - 9

Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 3rd Edition

採血技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

連續採血的時間控制

If 15% TBV (總血量) / wait 4 weeks

If 10% TBV / wait 2 weeks

If 7.5% TBV / wait 1 week

物種 (體重)	總血量 (ml)	7.5% (ml)	10% (ml)	15% (ml)
Mouse (25g)	1.8	0.1	0.2	0.3
Rat (250g)	16	1.2	1.6	2.4
Rabbit (4kg)	224	17	22	34

常用於大小鼠、兔的採血技術

- 顏面採血 (Submandibular or facial vein)
- 隱靜脈採血 (Saphenous vein)
- 尾靜脈採血 (Tail vein)
- 眼窩採血 (Orbital sinus)
- 心臟採血 (Cardiac puncture)

21

採血技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

顏面採血 (Submandibular or facial vein)

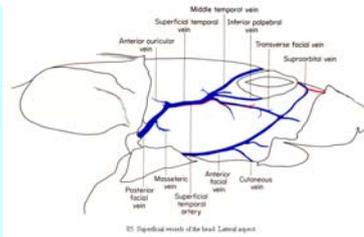


2 to 8 weeks old - 4mm point
2 to 6 months old - 5mm point
Over 6 months old - 5.5mm point

22

採血技術

- **Safe** - Won't hurt the animal
- **Easy to Use** - Works every time
- **Consistent** amounts of blood each test
- **Rapid Collection** - Blood flow stops in seconds
- **Quick Recovery** - The animal is not affected
- **Allows Multiple Tests** of the same animal
- **Fast** - Sterile ready for use
- **Disposable** - No cross contamination
- **Humane** - Similar lancets are used on humans
- **Inexpensive** - Reduce research costs



- 左右兩臉頰可以輪流採血
- 對小鼠的傷害很小
- 血液的品質佳
- 出血量約 0.2 ml
- 需留意動物呼吸狀態
- 僅適用於小鼠

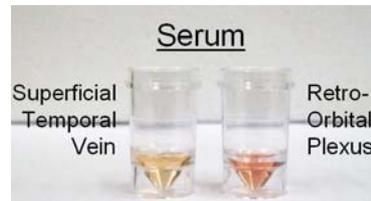
Superficial Temporal Vein Collection



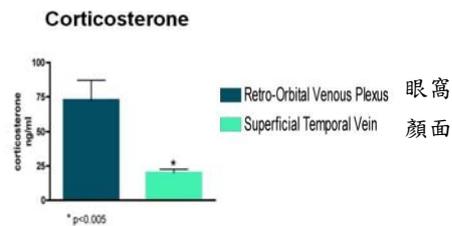
採血技術



溶血比較



緊迫比較

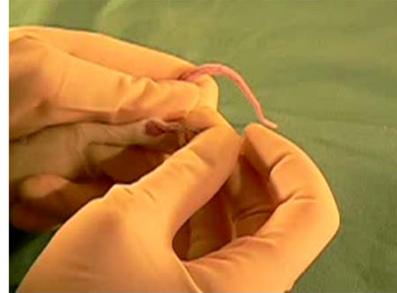


採血技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

隱靜脈採血 (Saphenous vein)



- 左右腳可以輪流採血
- 傷害很小
- 血液的品質佳
- 出血量約 0.15- 0.2 ml
- 適用於小鼠與大鼠

25

採血技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

尾靜脈採血 (Tail vein)

大鼠尾靜脈



- 剃毛、消毒
- 尾靜脈採血後需加壓止血

小鼠尾靜脈



Tail vessel microsampling



26

採血技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

兔子耳動脈採血 (Central ear artery)



- 剃毛、消毒
- 採血後需加壓止血

眼窩採血 (Orbital sinus)



- 動物應在麻醉下執行
- 一眼只能採血一次
- 對動物傷害很大，可能導致失明

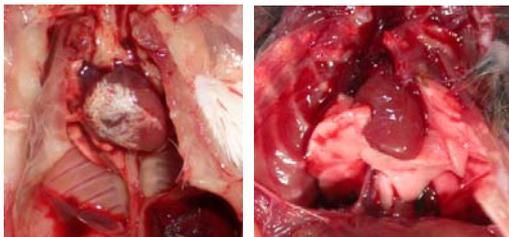
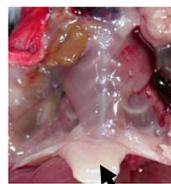
27

採血技術

NAR Labs

承諾·熱情·創新

心臟採血 (Cardiac puncture) - 犧牲後採血



1. 將動物進行麻醉或安樂死
2. 選用適當的針投與針筒
例如：小鼠 - 1ml/26G
大鼠 - 3ml/24G
3. 將動物攤平餘桌面
4. 以約10-30度角下針
5. 出現回血後緩慢將血液抽出

28

麻醉、止痛、術後照顧

NAR Labs

承諾·熱情·創新

實驗動物麻醉目的

- 減少或避免動物受到不必要的疼痛或緊迫。
- 對動物進行身體檢查
- 進行檢體採集
- 投與或植入試驗物質
- 進行手術



麻醉分類

- **注射性麻醉劑**，如 Pentobarbital、Ketamine
優點：誘導快，方便省時，無需複雜昂貴的設備。
缺點：不易控制麻醉深度，必須等到藥物在體內代謝排泄後才能緩解。
- **吸入性麻醉劑**，如 Isoflurane
優點：對麻醉深度與時間的掌控性佳，動物甦醒快。
缺點：設備昂貴，有些藥劑對動物及操作人員的呼吸道傷害性大。

29

麻醉、止痛、術後照顧

NAR Labs

承諾·熱情·創新

動物麻醉前的評估與準備

- 麻醉目的
- 物種、年紀、性別、體重
- 動物健康狀態
- 經費
- 動物禁食需求：齧齒動物及兔子則不需要；犬、貓、豬、靈長類動物在麻醉前需禁食 8-12 小時
- 設備是否可運作及相關藥品是否足夠獲在有效期限內
- 計算每隻動物劑量
- 準備麻醉過程中及術後的保溫設備
- 備妥保護動物眼睛用藥膏



30

麻醉、止痛、術後照顧

NAR Labs

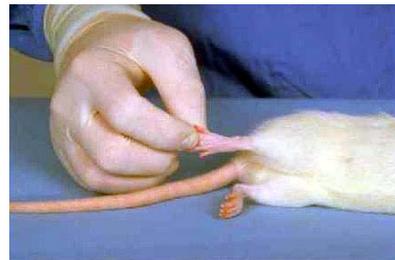
承諾·熱情·創新

麻醉過程大致可分為四期

- 第一期 無痛期：開始失去知覺。
- 第二期 興奮期：呼吸急促，對外界刺激異常反應。
- 第三期 手術麻醉期**：可分成四個層級，**適合進行手術**。
- 第四期 休克死亡期：呼吸、心跳幾乎停止，1-5分鐘內可能死亡。

麻醉深度評估

- 眼球運動
- 眼瞼反射
- 夾捏反射（腳趾、尾尖、肛門）
- 肌肉張力
- 呼吸速率及深度
- 角膜反射



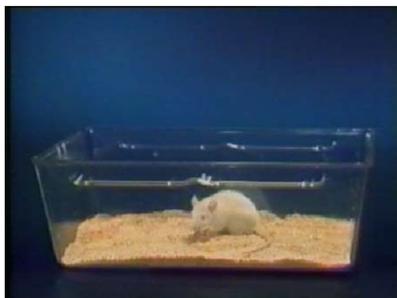
31

麻醉、止痛、術後照顧

NAR Labs

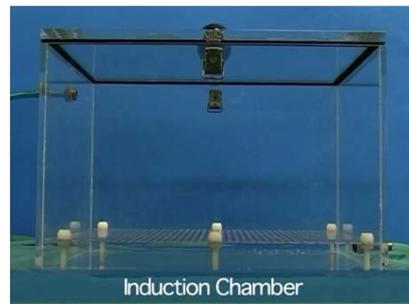
承諾·熱情·創新

注射性麻醉



- 一般常用 Ketamine/Xylazine
- 應先量測動物體重，計算劑量
- 其他選擇，Zoletil®/Telazol®、Tribromoethanol (Avertin)

吸入性麻醉



- 一般常用 Isoflurane
- 應留意麻醉廢氣的回收
- 廢氣回收罐定期秤重/更換



32

麻醉、止痛、術後照顧

NAR Labs

承諾·熱情·創新

術後照顧

- 儘可能**術前**給予止痛劑，術後 24-72 小時應密切觀察動物，必要時追加止痛劑。
- 應注意維持動物的體溫（燈泡、電毯、毛巾）。
- 準備安靜、保溫、乾淨的籠舍供動物靜臥，兔子及天竺鼠儘量放在硬紙盒內。齧齒類籠舍內勿放木屑，以免木屑沾或進入眼睛、鼻腔。
- 放置動物時頸部要伸直，側臥，使呼吸道暢通。
- 注意動物的呼吸，必要時以藥物（Doxapram）刺激呼吸或給予氧氣。
- 輸液支持：當動物無法進食或喝水，此時必須以人工方式經口餵食或靜脈/腹腔注射補充體液。
- 實驗動物的傷口，易受糞、尿、墊料污染，必要時給予抗生素預防感染。

33

實驗動物安樂死

NAR Labs

承諾·熱情·創新

執行安樂死的時機

- **實驗終結**
- 動物體重減輕、消瘦、成長期動物未增重
- 喪失食慾
- 虛弱(無法進食或飲水)
- 瀕死
- 無法有效控制的疼痛、自殘行為
- 感染、疾病
- 過度的腫瘤增長、四肢無法行走
- 明顯的器官功能損傷、預後不佳
- 動物可能十分痛苦



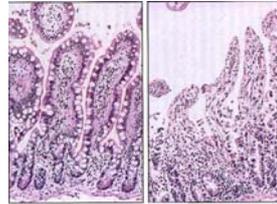
34

實驗動物安樂死

NAR Labs

承諾·熱情·創新

動物死後變化對實驗的影響



- 組織自溶，無法進行病理診斷
- 凝血，無法執行CBC檢測
- 溶血，影響生化分析

35

實驗動物安樂死

NAR Labs

承諾·熱情·創新

動物保護法第三章動物之科學應用(104.2.4)

- **第十五條** 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。
- **第十七條** 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，而足以影響其生存品質者，應**立即**以產生**最少痛苦之方式**宰殺之。
實驗動物經科學應用後，除有科學應用上之需要，應待其完全恢復生理功能後，始得再進行科學應用。

36

實驗動物安樂死

適用之安樂死方法（農委會）

安樂死法	小於 125 g 齧齒動物	125 g~ 1 kg 齧齒動物/兔	1 kg~ 5 kg 齧齒動物/兔
二氧化碳	○	○	○
Barbiturate 注射液，靜脈注射（麻醉劑量的3倍劑量）	○	○	○
Barbiturate 注射液，腹腔注射（麻醉劑量的3倍劑量）	○	○	○
先麻醉，之後採血(放血)致死	○	○	○
先麻醉，之後靜脈注射KCl (1-2 meq/kg)	○	○	○
先麻醉，之後斷頭	○	○	△
先麻醉，之後頸椎脫臼	○	○	×
動物清醒中直接斷頭	△	△	△
動物清醒中直接頸椎脫臼	△	×	×

○：建議使用的方法；×：不得使用的方法；△：一般情況不推薦使用，除非實驗需要（需說明於動物實驗申請表，由IACUC審核通過後使用）。

37

實驗動物安樂死

齧齒類常用安樂死之方法

- 二氧化碳窒息法
- 頸椎脫臼法
- 斷頸
- 麻醉後放血
- 過量麻醉劑



38

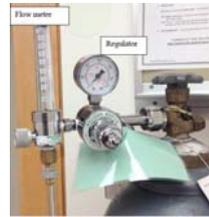
實驗動物安樂死

NAR Labs

承諾·熱情·創新

二氧化碳窒息法 (CO₂ Exposure)

- 二氧化碳長時間持續吸入時可導致動物死亡，是實驗動物常用的吸入性安樂死藥劑，。
- 容易使用、價格便宜、無易燃易爆性、無異味，在通風良好的場所使用。
- 緩慢持續加入二氧化碳（二氧化碳取代盒內空氣的速率約10-30%/min），動物停止呼吸後至少在箱內停留5-6分鐘，檢查動物確實死亡（是否有心跳），之後再移除動物。
- 每次操作時注意安樂死箱內勿過度擁擠，並且使用透視性佳的箱子，以便易於確認動物死亡。



39

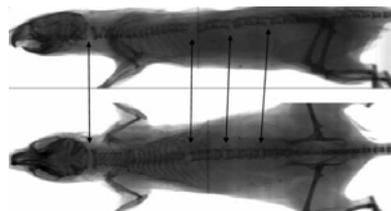
實驗動物安樂死

NAR Labs

承諾·熱情·創新

頸椎脫臼法 (cervical dislocation)

- 需有正確的訓練技巧。
- 除非有特殊實驗需求，執行頸椎脫臼前動物應先給予鎮定或吸入二氧化碳，以減低動物的窘迫。
- 對於小型齧齒類動物，利用桿子或拇指食指壓住頭頸部，用另一隻手抓住尾巴，迅速用力向後拉扯後驅，使頸椎脫離頭顱。
- 10-14天新生仔鼠不建議以此法進行安樂死。



40

參考資料

NAR Labs

承諾·熱情·創新

NC3R:

<http://www.nc3rs.org.uk/bloodsamplingmicrosite/page.asp?id=313>

JOVE:

Manual Restraint and Common Compound Administration Routes in Mice and Rats

<http://www.jove.com/video/2771/manual-restraint-common-compound-administration-routes-mice>

Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science and Alternatives:

<http://film.oslovet.norecopa.no/>

MEDipoint, Inc. :

http://www.medipoint.com/html/animal_lancets.html

41

動物保護資訊網
ANIMAL PROTECTION INFORMATION

最新消息 寵物照顧 寵物登記 動物認領與輔導 法令天地 經濟動物 實驗動物 動物保護資源 合法寵物業者

牠只是你的一部份，你卻是牠的全世界！
寵物是愛人的陪伴尤其是狗，
如果你長時間居家工作，
又沒有其他成員在陪伴，
狗狗會因乏人陪伴，
引發很多行為問題。

動物保護資訊網 > 實驗動物

實驗動物技術教育光碟【第一輯】- 大小鼠保定、灌食、注射、採血

類別：DVD光碟
名稱：實驗動物技術教育光碟第一輯—大小鼠保定、灌食、注射、採血
執行機關：中華實驗動物學會監製，國立成功大學醫學院動物中心、
鹿聽中心製作
導演：鍾裕香
劇本：俞欣瑜
攝影剪輯：鍾裕香
動畫：林寶琪
發行機關：行政院農業委員會
發行日期：93/12/30

【光碟內容簡介】
透過技術人員正確的動作示範，深入淺出地介紹小鼠及大鼠的基本實驗操作技術，著重對實驗動物的痛苦和傷害降到最低程度，藉著程度適合研究人員和技術人員，全片片長35分鐘。

【光碟內容下載】

1. 實驗動物使用3R原則 (2.10MB)
2. 保定 (3.50MB)
3. 灌食與灌食 (3.01MB)
4. 四種注射法(皮下、肌肉、腹腔、靜脈) (7.47MB)
5. 三種採血法(頰頰、心臟、尾巴、靜脈) (7.15MB)
6. 動畫：老鼠灌食 (2.15MB)

http://animal.coa.gov.tw/html/?main=13h&page=13_laboratory_e01

42