



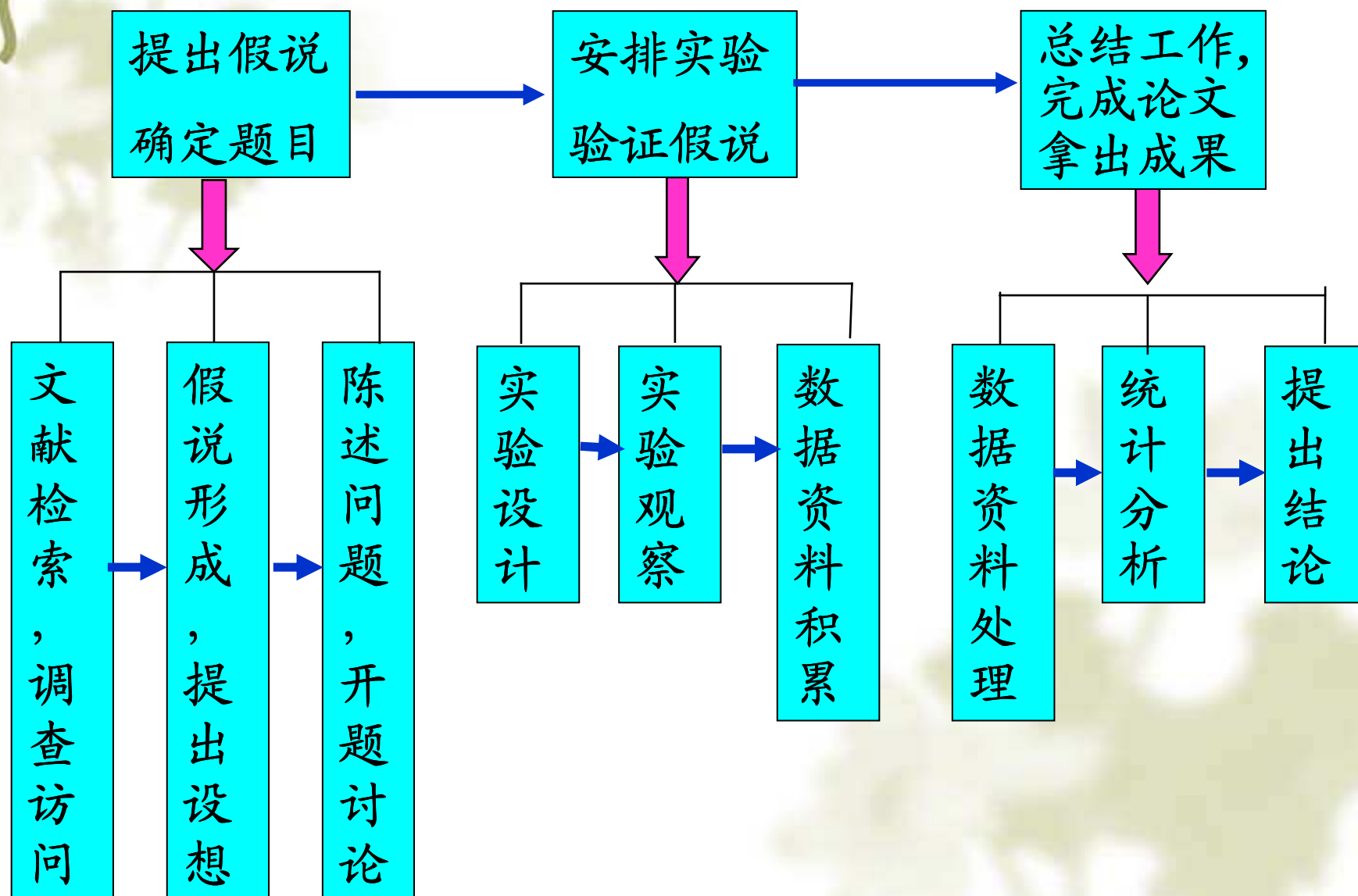
动物实验质量控制

华中农业大学动物科技学院 熊家军

科学研究工作基本程序

- ❖ 科学研究就方法来说是提出假说、验证假说的过程。其工作程序是紧紧围绕这条主线进行的。
- ❖ 科研工作基本程序如下：

科学研究工作基本程序



动物实验

动物实验是根据研究目的，恰当地选用标准的符合实验要求的**合格实验动物**，根据科学的合理的设计方案，在相应的环境设施中进行各种科学实验并观察、记录动物的反应过程或反应结果，以探讨或检验生命科学中未知因素的专门活动。

主要内容

- 一、动物实验质量控制的意义
- 二、动物实验设计中的质量控制
- 三、实验动物的选择
- 四、影响动物实验的个体因素
- 五、实验技术环节对动物实验效果的影响

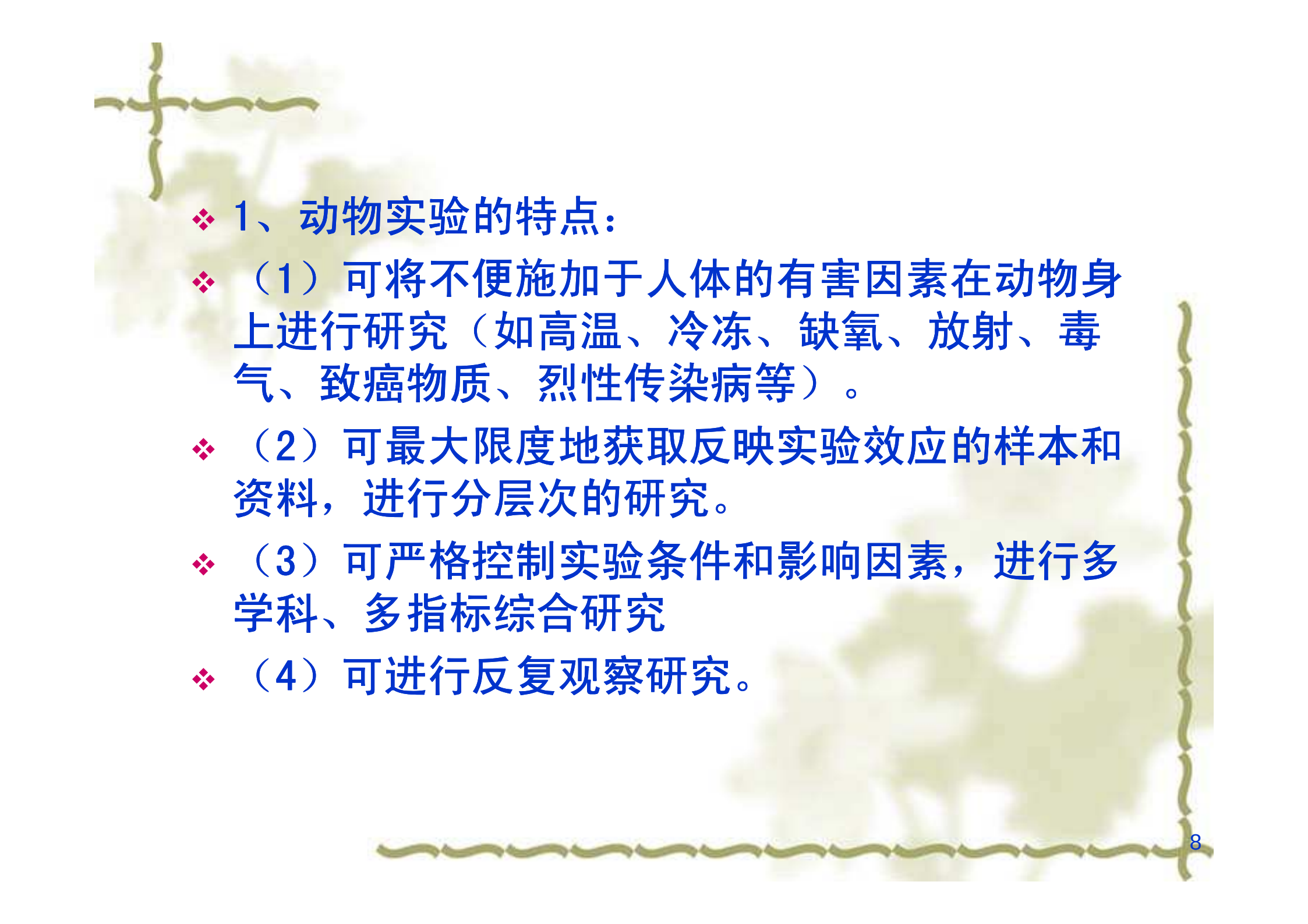
一、动物实验质量控制的意义

- ❖ 在现代生命科学研究中，进行实验研究的条件可概括为AEIR四个基本要素。
- ❖ A是Animal;
- ❖ E是Equipment;
- ❖ I是Information;
- ❖ R是Reagent



（一）现代动物实验的特点

- ❖ 现代动物实验：
- ❖ 是应用标准实验动物而进行的科学研究，培育实验动物的目的就是为动物实验提供标准的实验材料。

- 
- ❖ 1、动物实验的特点：
 - ❖ （1）可将不便施加于人体的有害因素在动物身上进行研究（如高温、冷冻、缺氧、放射、毒气、致癌物质、烈性传染病等）。
 - ❖ （2）可最大限度地获取反映实验效应的样本和资料，进行分层次的研究。
 - ❖ （3）可严格控制实验条件和影响因素，进行多学科、多指标综合研究
 - ❖ （4）可进行反复观察研究。

❖ 2、动物对实验处理的反应

❖ 可用如下公式来表示：

$$\text{❖ } R = (A+B+C) \times D + E$$

❖ R —— 动物实验的总反应

❖ $A+B+C$ —— 遗传因素（ A ：动物共同反应、
 B ：品种或品系特有反应、 C ：个体反应）

❖ D —— 环境因素

❖ $\times$ —— 正相关

(二) 动物实验设计中的质量控制

- 1、实验设计是科研计划的具体实施方案，是进行实验和统计分析的先决条件，是实验研究获得预期结果的重要保证
- 2、设计动物实验除了必需掌握学科专业知识，还要较好的掌握实验动物学的知识。
- 3、做好实验对象、处理因素和实验效应三个基本要素的设计

- ❖ 在实验对象上，应正确使用实验动物，重点在遗传因素的控制；
- ❖ 在处理因素方面，除了施加的实验因素和统计出例外，还包括实验环境、微生物和营养等实验条件的质量控制。
- ❖ 实验效应即预期的实验结果。
- ❖ 例如研究某种终止早孕药物的作用，实验对象选择早孕大鼠，处理因素则为该药物并进行实验条件质量控制，而实验效应则为早孕终止。

（三）实验动物标准化

- ❖ 标准化实验动物：
- ❖ 主要是指遗传背景明确，具有已知菌丛和模型性状显著且稳定的实验动物
- ❖ 实验动物的标准化是由实验动物生产条件的标准化、实验动物质量的标准化以及动物实验（应用）条件的标准化三部分组成
- ❖ 实验动物的标准化对动物实验研究结果的敏感性、准确性及可重复性具有重要影响
- ❖ 实验动物标准化与遗传、微生物和寄生虫、环境、营养等影响动物生长发育的因素关系密切

(四) 药品安全性研究规范和标准操作规程

- ❖ 药品的毒性检测和安全评价是新药研究开发所必须进行的基本程序。
- ❖ 药品的安全评价安排在**临床研究前**进行，主要采用实验动物作预测。由于影响结果的因素比较复杂，因而要保证实验数据和结果的可靠性、可重复性和科学性，就必须对**实验动物选择、模型建立、试验设计与实施、检测技术、供试品与对照品的选择与保存、实验工作与数据记录、结果与结论的评价方法**等作严格规范，对试验的全过程进行严格监督。对设施与仪器、人员配备与培训亦须严格要求。

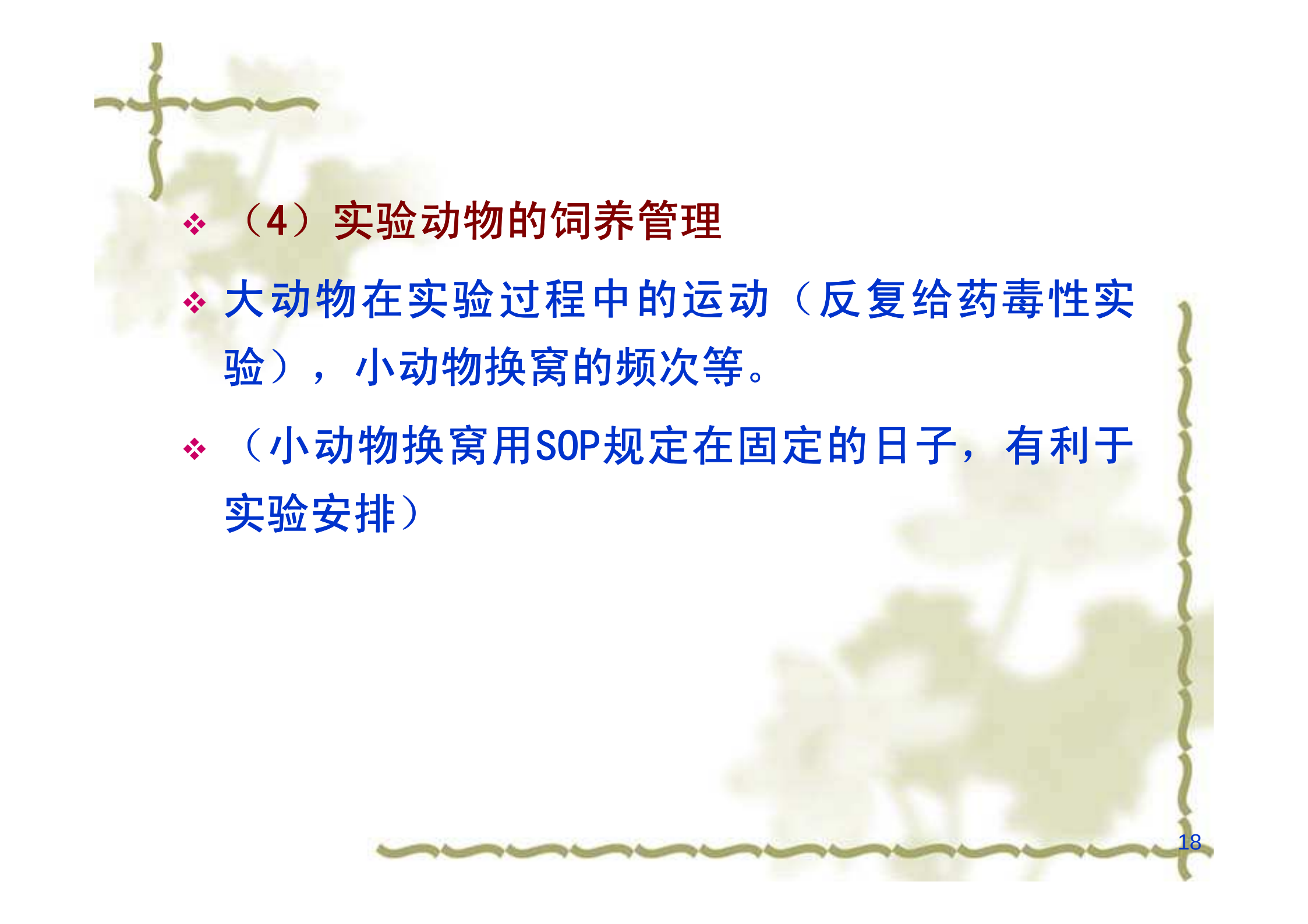
- ❖ 1、药物非临床研究质量管理规范
- ❖ 药物非临床研究质量管理规范称 GLP (*good laboratory practice*, GLP)
- ❖ GLP基本精神：是通过试验过程的标准化和规范化，控制和降低实验中的各种误差，提高实验数据的质量
- ❖ GLP宗旨：规范实验室工作，保证实验数据的质量

- ❖ 目前，各国制定的GLP规范都对实验动物的种类、饲养、检疫和实验环境等都作出了详尽而严格的规定
- ❖ GLP是药物非临床安全性研究的指导原则，是解决“做什么”的问题，而与之对应的标准操作规程（standard operating procedure, SOP）则是解决“怎么做”的问题，是保障GLP得以实现的具体方法和步骤
- ❖ GLP管理规范已成为世界药品安全性评价的通行标准。

2、GLP中如何控制实验动物的质量

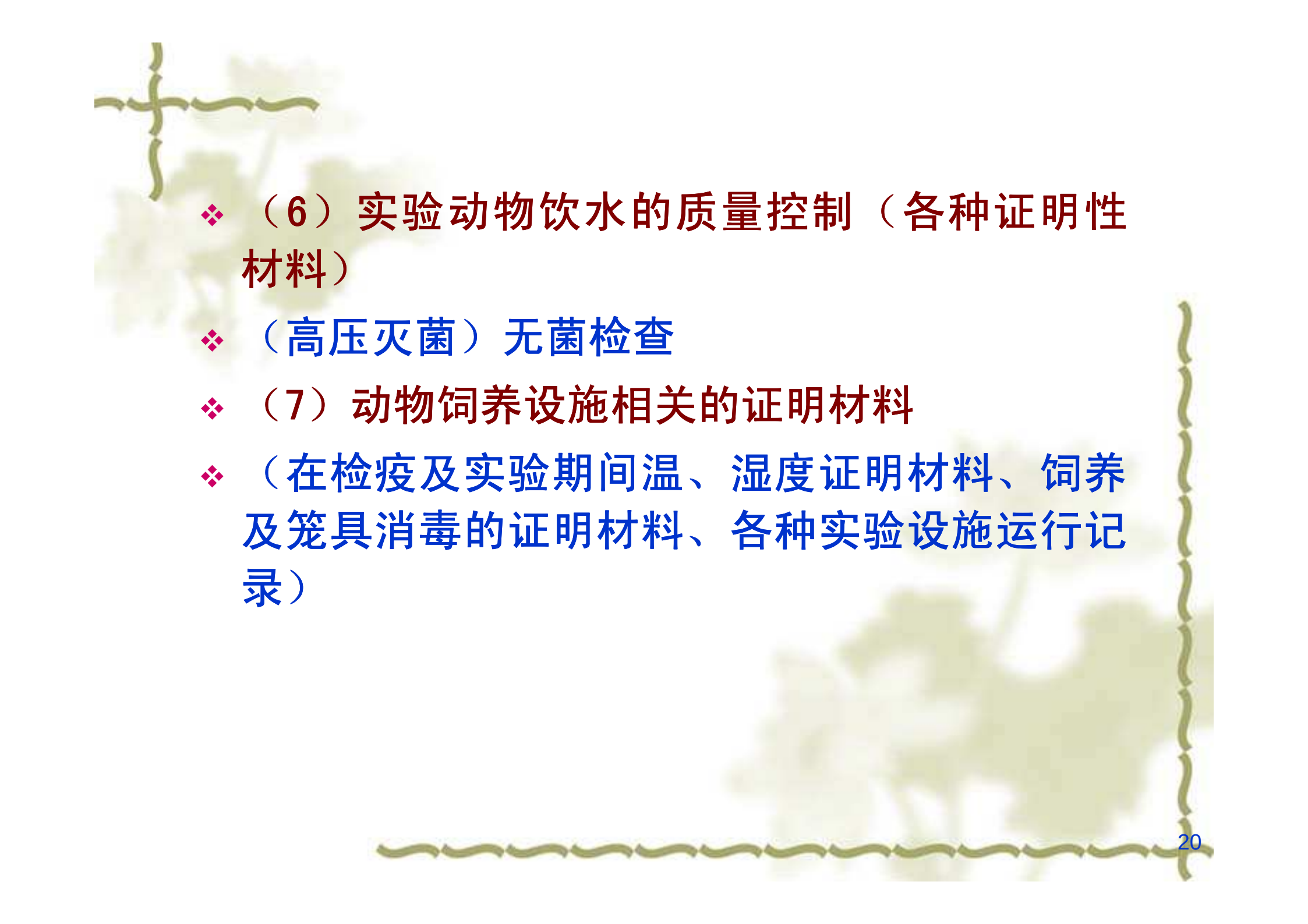
- ❖ GLP中实验动物质量的控制靠SOP来保证
- ❖ (1) 实验动物的购买（各种证明性材料）
- ❖ 有实验动物生产合格证、信誉好、能提供完整的实验动物的遗传背景资料 and 良好服务的生产厂家。

- ❖ (2) 实验动物的运输（各种证明性材料）
- ❖ 包装符合实验动物等级要求。运输用具内的清洁及温湿度的控制。
- ❖ (3) 实验动物的检疫
- ❖ 大动物的清洗、外观检查（有条件的对犬检查狂犬病血清效价）、小动物的称重等。
- ❖ 大动物检疫记录到每只动物, 每天观察记录。
- ❖ 小动物每天检疫一次。

- 
- ❖ (4) 实验动物的饲养管理
 - ❖ 大动物在实验过程中的运动（反复给药毒性实验），小动物换窝的频次等。
 - ❖ （小动物换窝用SOP规定在固定的日子，有利于实验安排）

❖ （5）饲料及垫料的质量控制（各种证明性材料）

- ❖ 我国对动物饲料、垫料中的污染物还无法做到完全的控制和美国、日本等发达国家还有很大差距。
- ❖ 国内实验动物饲料、垫料产业化程度低，质量无法保障，进口价格高。
- ❖ （饲料、饮用水及垫料的质量及标准还有待完善）

- 
- ❖ (6) 实验动物饮水的质量控制 (各种证明性材料)
 - ❖ (高压灭菌) 无菌检查
 - ❖ (7) 动物饲养设施相关的证明材料
 - ❖ (在检疫及实验期间温、湿度证明材料、饲养及笼具消毒的证明材料、各种实验设施运行记录)

二 动物实验设计与分组

- ❖ 动物实验设计（实验方案）是动物实验过程的依据和指导性文件，也是提高实验研究的重要保证
- ❖ 实验动物研究主要是通过对样本的研究而得出结论。
- ❖ 要将样本的结论外推到总体，必须尽量使样本能够真实的代表总体。而影响实验动物和动物实验的各种因素都可能使实验产生误差，影响样本结果的代表性，为避免这种现象的产生，动物实验设计遵循如下原则：

（一）动物实验设计应遵循的原则

- ❖ 1、3R原则
- ❖ 2、对照性原则
- ❖ 3、一致性原则
- ❖ 4、重复性原则
- ❖ 5、随机性原则
- ❖ 6、客观性原则

❖ 1. 3R原则

- ❖ 目前欧洲和美国实验动物法规要求科学家从事有关脊椎动物实验时，必须考虑替代方法，动物实验按照3R原则进行设计。
- ❖ 在满足科研需要的前提下，尽可能少用实验动物、使用低等动物、组织细胞培养物或数学模型；如果动物实验必须使用脊椎动物，要尽量减少动物的痛苦、降低动物的伤害、提高动物的居住舒适度和免除疾病困扰。
- ❖ 实验结束后使用安乐死方法结束动物生命。

❖ 2、对照性原则：

- ❖ 是要求在实验设计中设立可与实验组比较，用于消除各种无关因素影响的对照组。实验组和对照组具有同等重要的意义。
- ❖ 对照设立的两种方式：自体对照和组间对照
- ❖ 不做任何处理（阴性对照或空白对照）
- ❖ 施行正常值、标准值处理（阳性对照或标准对照）
- ❖ 对照组应在同一条件下才有意义
- ❖ 实验组与对照组例数相等时，统计效率最高。

❖ 3、一致性原则

- ❖ 是在实验中实验组和对照组除了处理因素不同外，非处理因素基本保证均衡一致。
- ❖ 实验对象、实验条件、实验环境、实验时间、药品、仪器、设备、操作人员等均应保持一致

❖ 4、重复性原则

- ❖ 是指同一处理要设置多个样本例数。重复的主要作用是估计试验误差、降低试验误差和增强代表性，提高试验结果的精确度
- ❖ 样本数过少，实验处理效应将不能充分显示；
- ❖ 样本数过多，会增加实际工作中的困难。
- ❖ 因此，在进行实验前必须确定最少的样本例数。既可按一般估测方法确定，也可通过统计学方法进行测算确定。

- ❖ (1) 一般估测的样本数
- ❖ 小动物(大鼠、小鼠、蛙、鱼): 每组10~30例, 计量资料每组不少于10例, 计数资料每组不少于30例;
- ❖ 中等动物(豚鼠、家兔): 每组8~20例, 计量资料每组不少于8例, 计数资料每组不少于20例
- ❖ 大动物(犬、猫、猪、羊等): 每组6~20例, 计量资料每组不少于6例, 计数资料每组不少于20例。

(2) 按统计学方法测算的样本数

- ❖ 现介绍一种动物实验的样本含量计算公式：

$$n=2 \sigma^2 (t_{\alpha} + t_{\beta})^2 / \delta^2$$

- ❖ 式中， n 为样本含量， σ 为标准差； t_{α} 取有显著性的 t 分布值， $t_{0.05}=1.96$ ； t_{β} 为无显著性的 t 分布值， $1-\beta$ 为实验检验能力，动物实验一般取 $1-\beta=0.80$ ， $t_{0.20}=0.842$ ； δ 为处理组与对照组均值间的差异，可从预实验或文献资料库中获得。由上述参数可计算出正式实验所需样本含量。

❖ 举例如下：

❖ 给某种动物饲喂一种新型饲料，预实验中每月体重增长比原饲料增加 30 ± 15 克（均值 $\pm$ 标准差）。

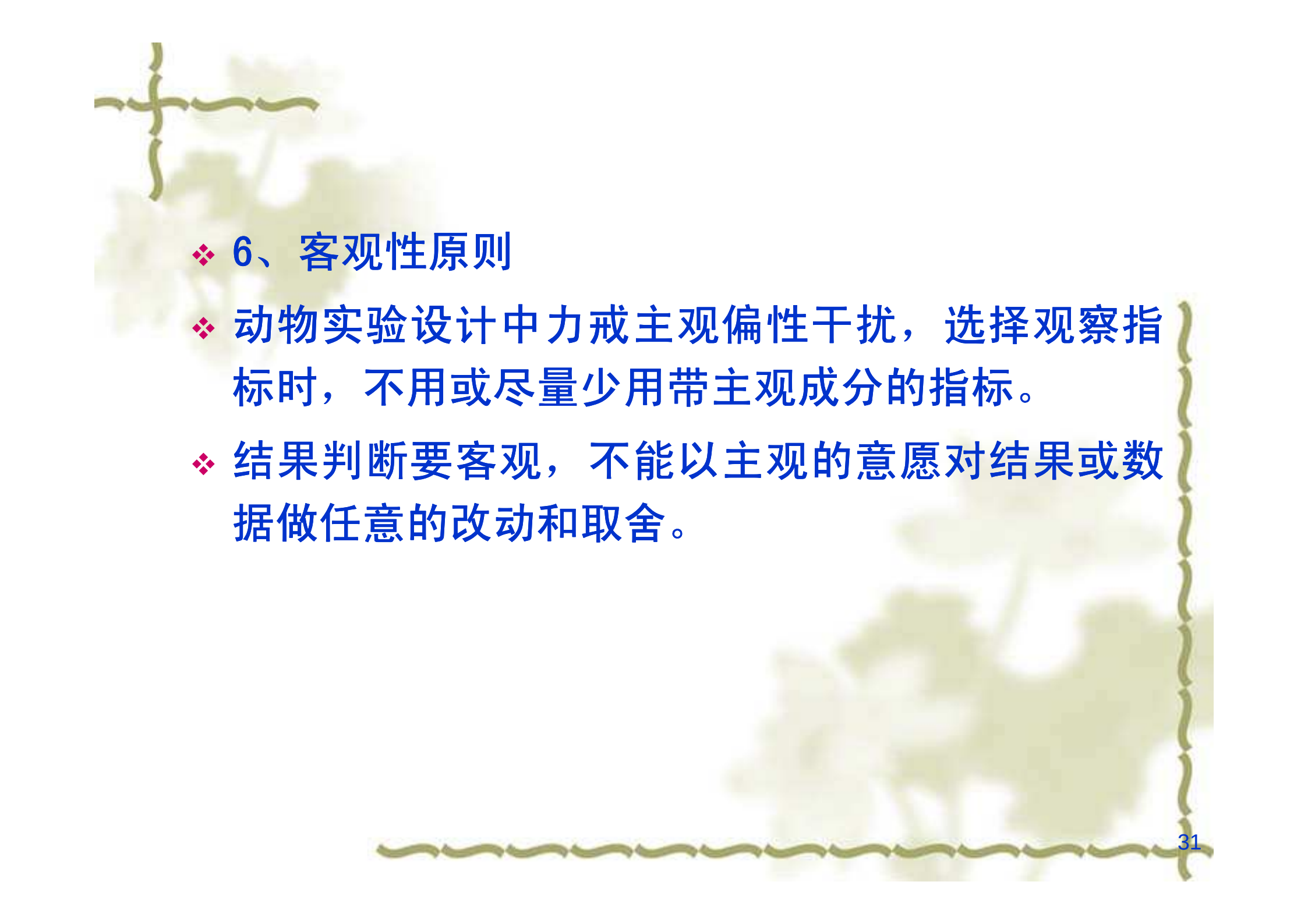
❖ 设显著水平为95%，检验能力为80%，则正式实验所需样本含量 n 为：

❖
$$n = 2 \times 15^2 \times (1.96 + 0.842)^2 / 30^2 = 3.93$$

❖ 即每组只需4只动物。

❖ 5、随机性原则：

- ❖ 是使每个实验对象在接受处理时，有同样的机会，随机而定。
- ❖ 随机可以减少客观因素的影响，减少或避免偏性误差，是实验设计的重要原则。
- ❖ 在动物实验中较常用的是分层随机、裂区随机，其原则是首先将易于控制且对实验影响较大的因素，人为地使实验组与对照组达到均衡一致，次要因素按随机原则处理。

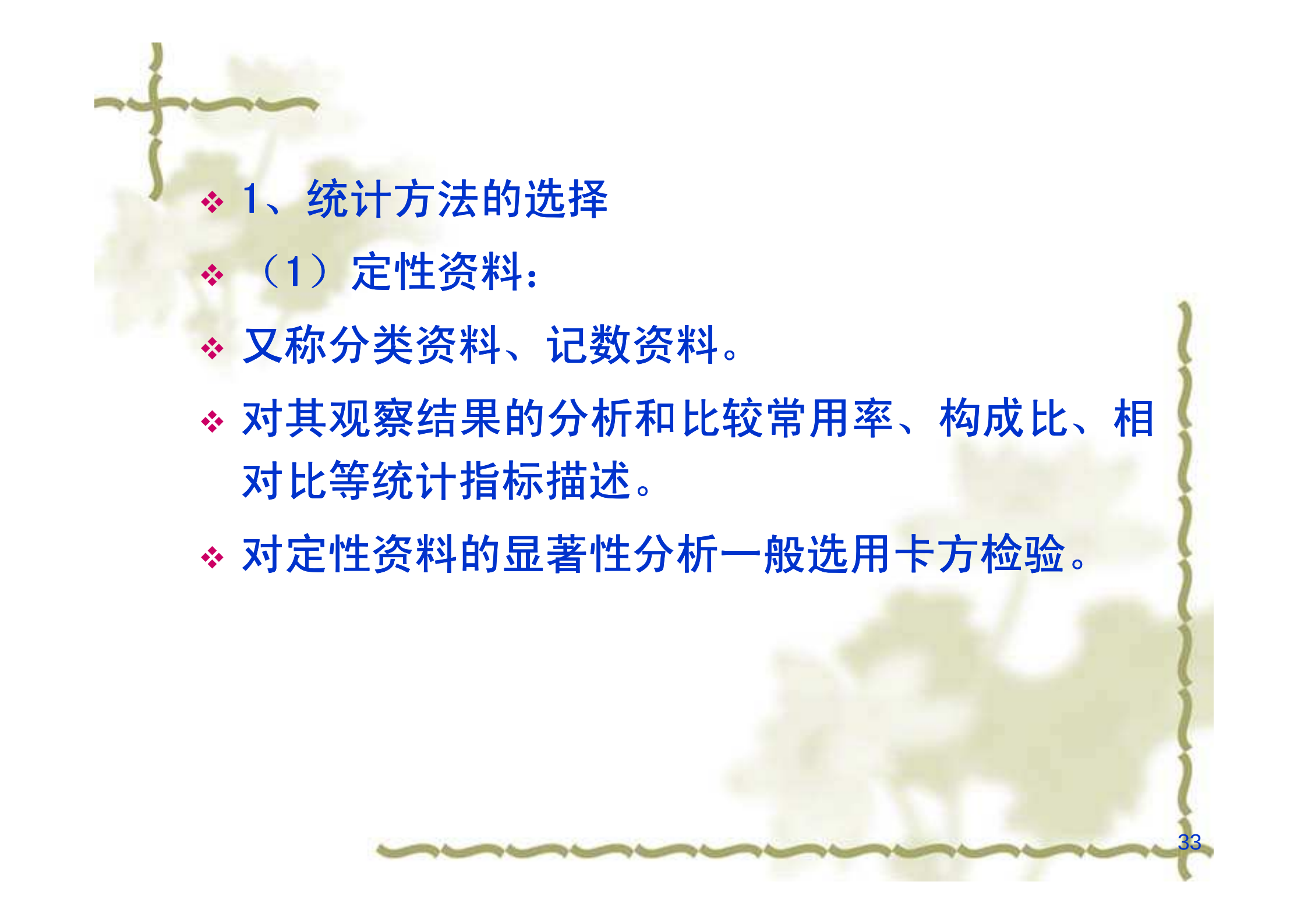


❖ 6、客观性原则

- ❖ 动物实验设计中力戒主观偏性干扰，选择观察指标时，不用或尽量少用带主观成分的指标。
- ❖ 结果判断要客观，不能以主观的意愿对结果或数据做任意的改动和取舍。

（二）实验数据的统计分析

- ❖ 数据资料主要分定性资料和定量资料两大类
- ❖ 不同类型的数据资料需采取不同的统计分析方法



❖ 1、统计方法的选择

❖ (1) 定性资料:

❖ 又称分类资料、记数资料。

❖ 对其观察结果的分析 and 比较常用率、构成比、相对比等统计指标描述。

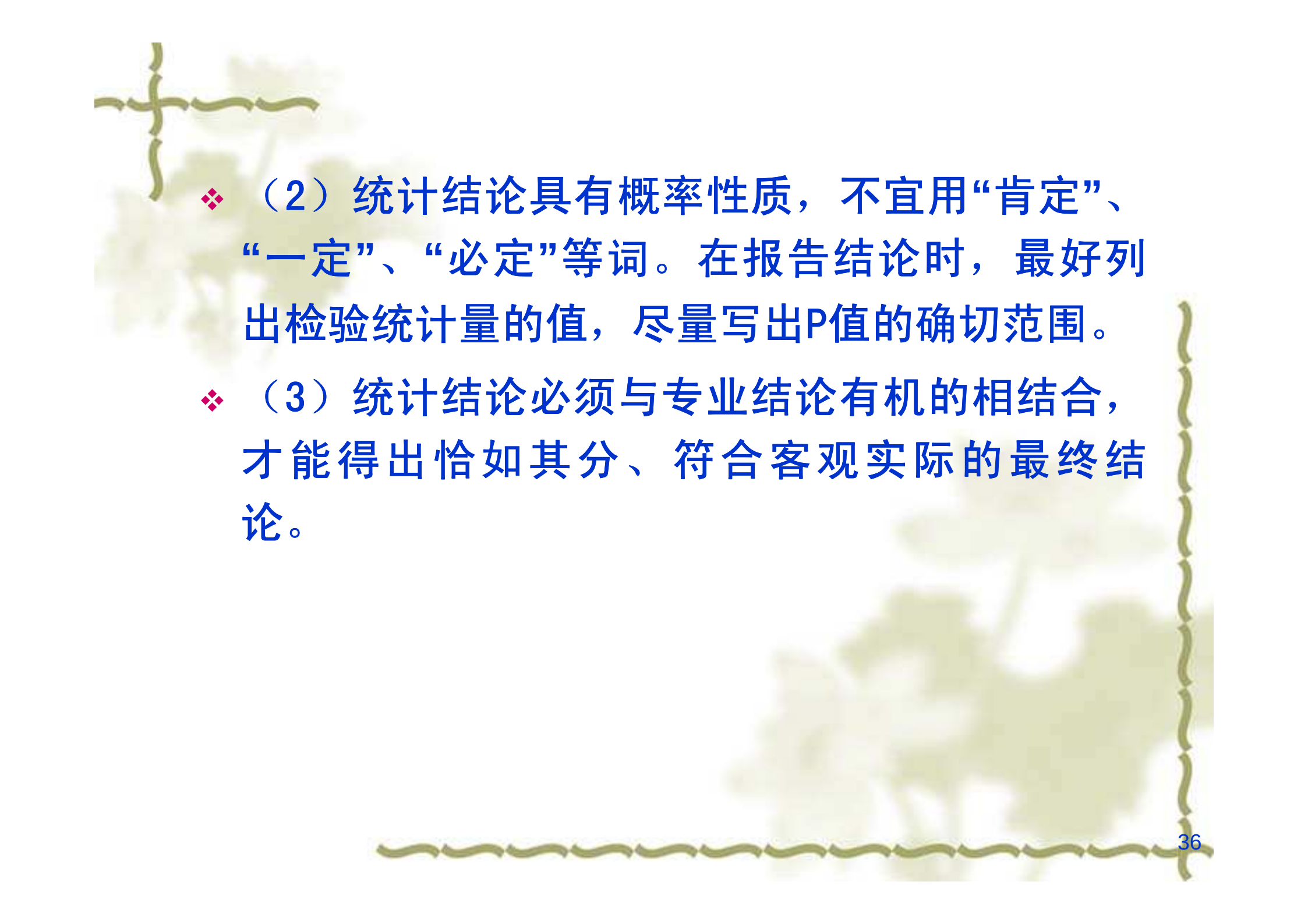
❖ 对定性资料的显著性分析一般选用卡方检验。

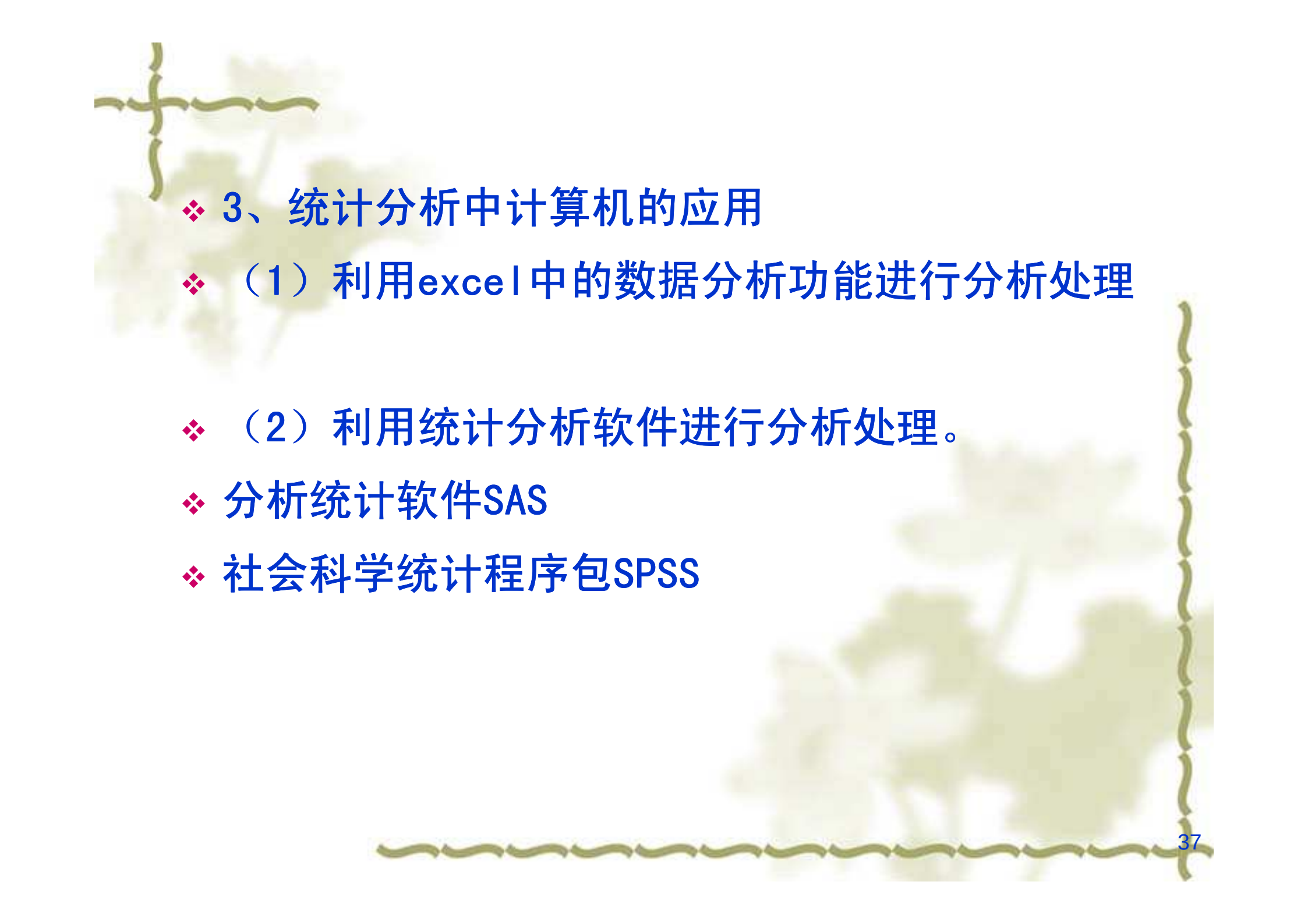
❖ (2) 定量资料

- ❖ 又称计量资料其变量值是定量的，表现为数值大小，一般有度量衡单位。
- ❖ 定量资料的统计分析方法可分两大类即参数检验和非参数检验
- ❖ 使用t检验或F检验（方差分析）
- ❖ 或使用Ridit分析或秩和检验

❖ 2、统计结论与专业结论

- ❖ (1) 统计学结论只说明资料来自同一总体的可能性。
- ❖ ($P \leq 0.05$ 或 $P \leq 0.01$)
- ❖ 统计学上差异非常显著时，在专业理论上未必就有显著意义。

- 
- ❖ (2) 统计结论具有概率性质，不宜用“肯定”、“一定”、“必定”等词。在报告结论时，最好列出检验统计量的值，尽量写出P值的确切范围。
 - ❖ (3) 统计结论必须与专业结论有机的相结合，才能得出恰如其分、符合客观实际的最终结论。

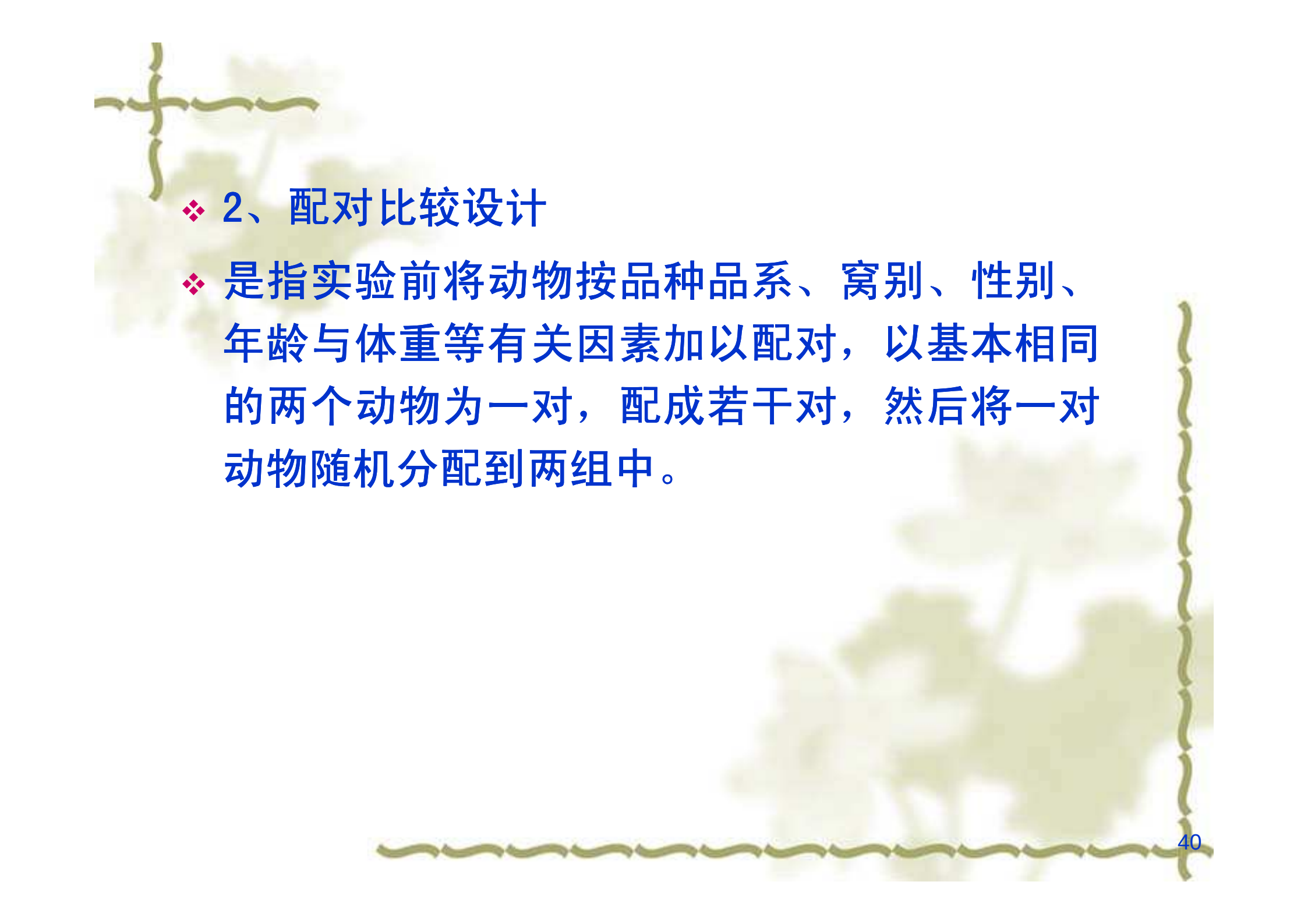
- 
- ❖ 3、统计分析中计算机的应用
 - ❖ （1）利用excel中的数据分析功能进行分析处理
 - ❖ （2）利用统计分析软件进行分析处理。
 - ❖ 分析统计软件SAS
 - ❖ 社会科学统计程序包SPSS

(三) 动物实验设计的基本类型

- ❖ 1、完全随机化设计
- ❖ 2、配对比较设计
- ❖ 3、随机区组设计
- ❖ 4、单组比较设计
- ❖ 5、拉丁方设计
- ❖ 6、正交设计

❖ 1、完全随机化设计

- ❖ 又称成组设计, 是将受试对象完全随机地分到各组进行组间比较的一种单因素设计方法。
- ❖ 分两组、三组或更多
- ❖ 先将动物按顺序编号, 再用随机化工具, 将动物分组。动物随机分组的方法很多, 如抽签、拈阄等形式, 但最好的方法是使用随机数字表或计算器。



❖ 2、配对比较设计

- ❖ 是指实验前将动物按品种品系、窝别、性别、年龄与体重等有关因素加以配对，以基本相同的两个动物为一对，配成若干对，然后将一对动物随机分配到两组中。

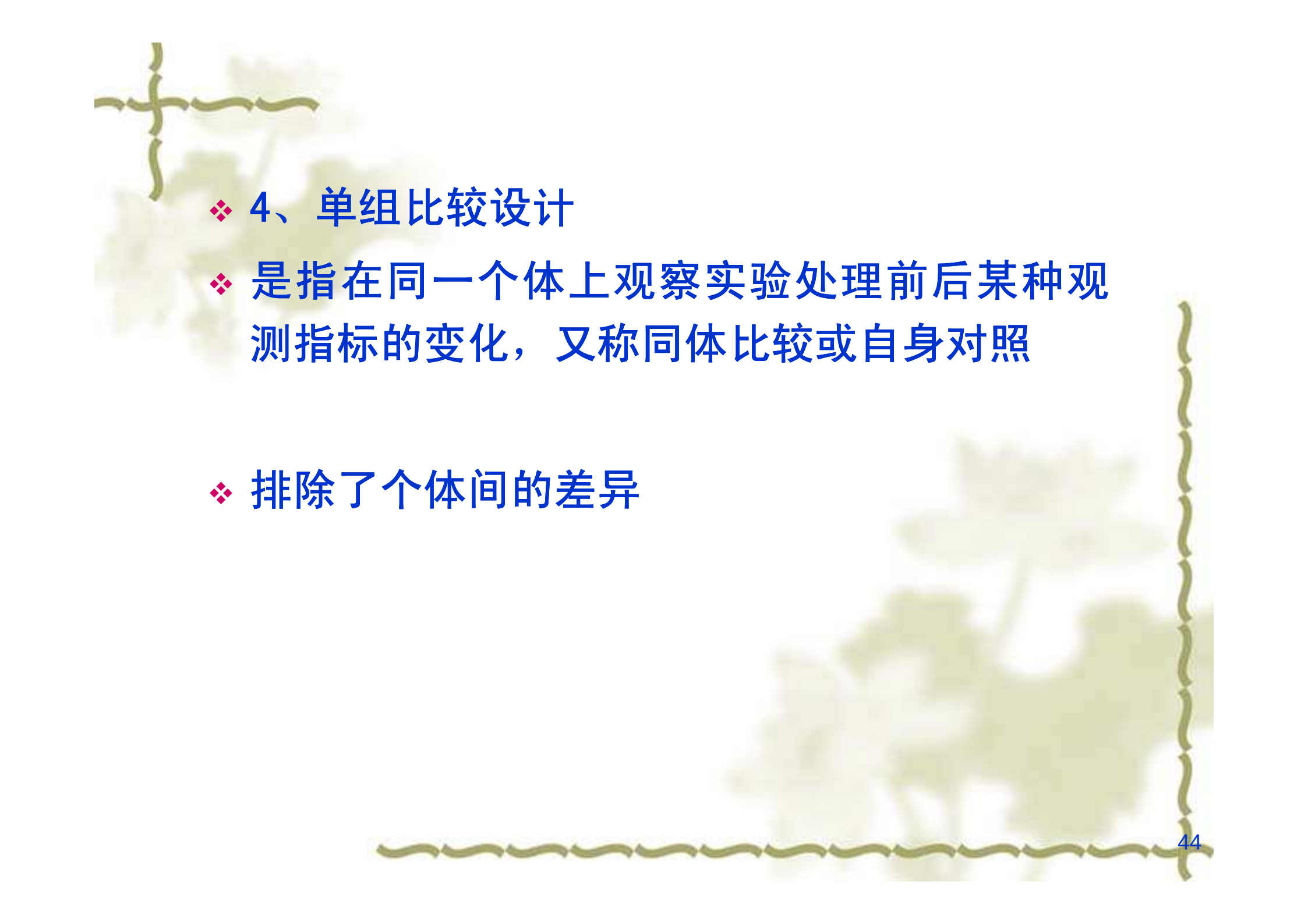
- ❖ 两组动物的种属、年龄、体重、性别等情况基本相同，取得均衡进行实验，以减少误差及动物间的个体差异，提高实验效率
- ❖ 配对设计所得资料如为定量资料，若符合参数统计条件用成对t检验，如不符合用配对秩和检验（Wilcoxon配对法）

❖ 3、随机区组设计

❖ 又称配伍组设计, 它是配对设计的扩展

❖ 在动物实验时, 可将一窝小鼠或大鼠划为一个区组, 确定数个区组后, 按区组随机化原则将各区组的动物随机分配到处理组和对照组。注意每个区组的动物数量须与处理组要求的动物数量相等。若一窝仔数少于处理组数则不可采用, 不能用别窝动物补充; 反之, 应将多余的动物舍弃, 不得放于其他区组。

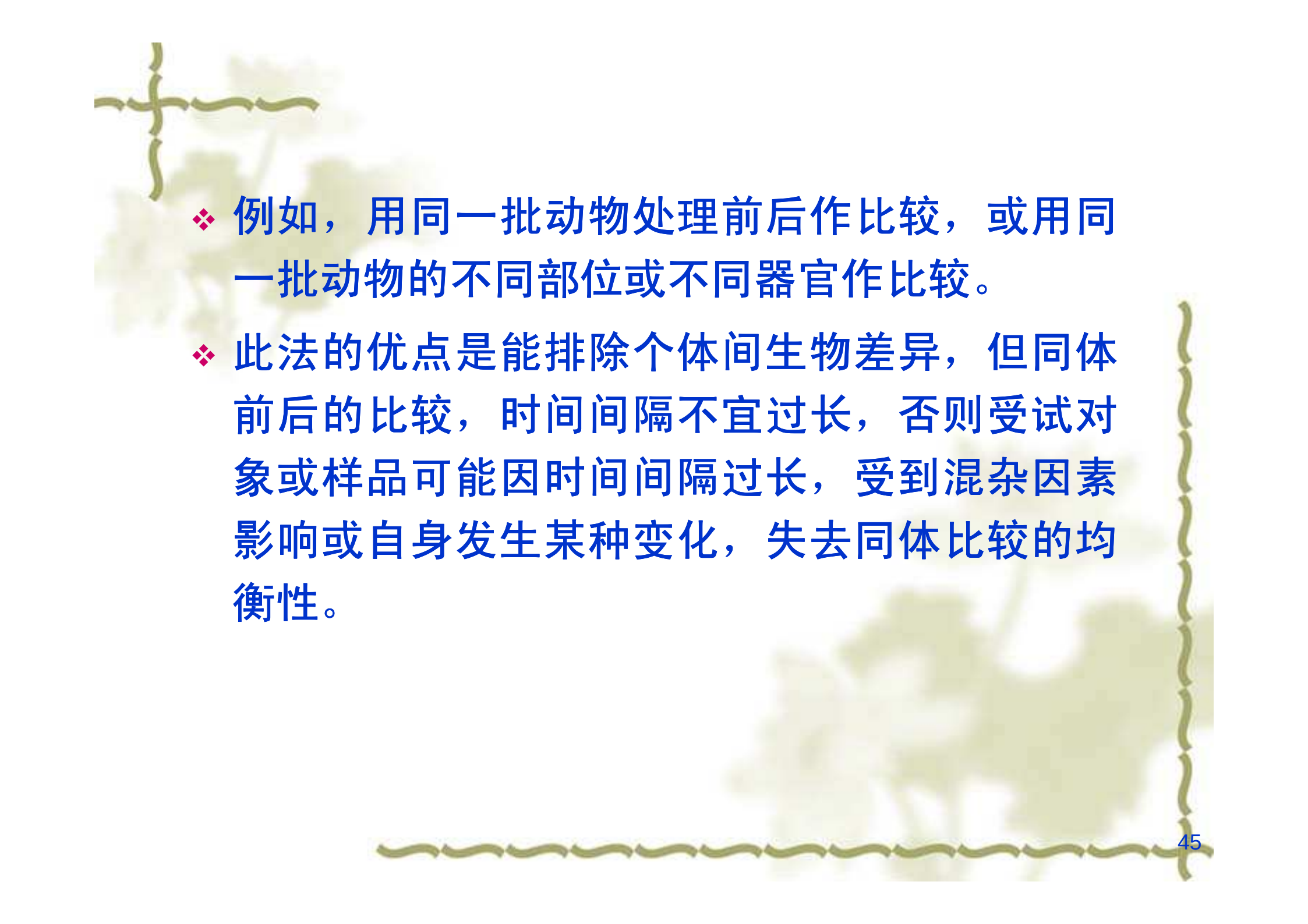
- ❖ 由于同窝动物在遗传、营养、微生物携带上的一致性都较高，而各区组内每只动物接受何种处理是随机的，因而随机区组设计的均衡性好，可减少误差，提高实验效率，统计分析也较简易。其缺点是抗数据缺失能力较低。若一个区组的某个动物发生意外，那么整个区组都得放弃，或不得已采取缺项估计。
- ❖ 均衡性好、误差小，可提高实验效率，统计分析简单。
- ❖ 抗数据丢失能力差，某个区组的一个动物发生意外，整个区组都得放弃或缺项估计。

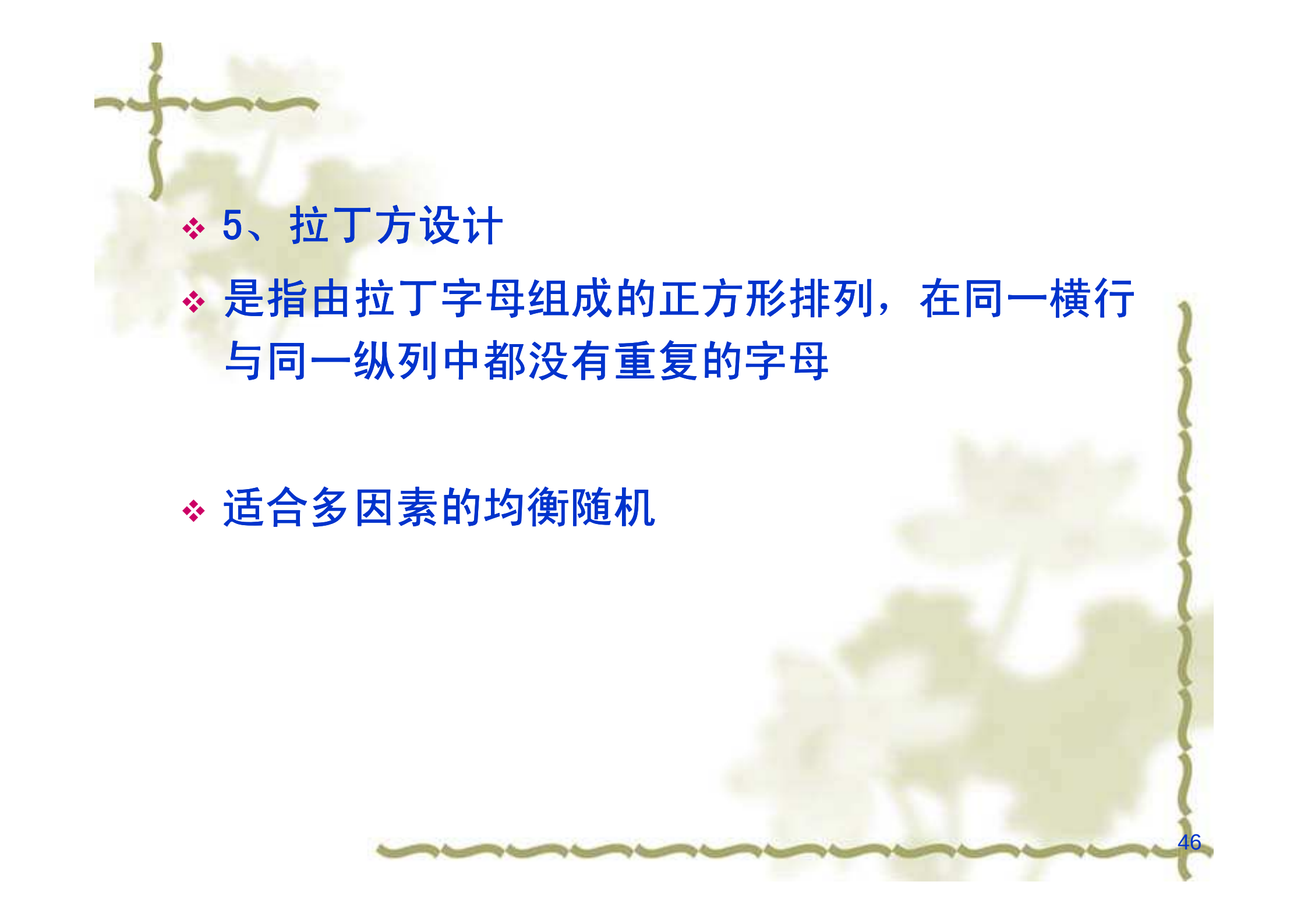


❖ 4、单组比较设计

❖ 是指在同一个体上观察实验处理前后某种观测指标的变化，又称同体比较或自身对照

❖ 排除了个体间的差异

- 
- ❖ 例如，用同一批动物处理前后作比较，或用同一批动物的不同部位或不同器官作比较。
 - ❖ 此法的优点是能排除个体间生物差异，但同体前后的比较，时间间隔不宜过长，否则受试对象或样品可能因时间间隔过长，受到混杂因素影响或自身发生某种变化，失去同体比较的均衡性。



❖ 5、拉丁方设计

❖ 是指由拉丁字母组成的正方形排列，在同一横行与同一纵列中都没有重复的字母

❖ 适合多因素的均衡随机

❖ 6、正交设计

- ❖ 是研究多因素试验的一种设计方法
- ❖ 利用一套规格化的表格——正交表，来安排试验。
- ❖ 适用于多因素、多水平、试验误差大、周期长等一类试验。

三、实验动物的选择

- ❖ 目前国际常年保有的实验动物品种、品系达数百种，我国常年保有的实验动物品种、品系也有50余种以上。各实验动物品种的生物学特性差异较大，而同品种不同品系间也各有其具备优势的生物学特性。

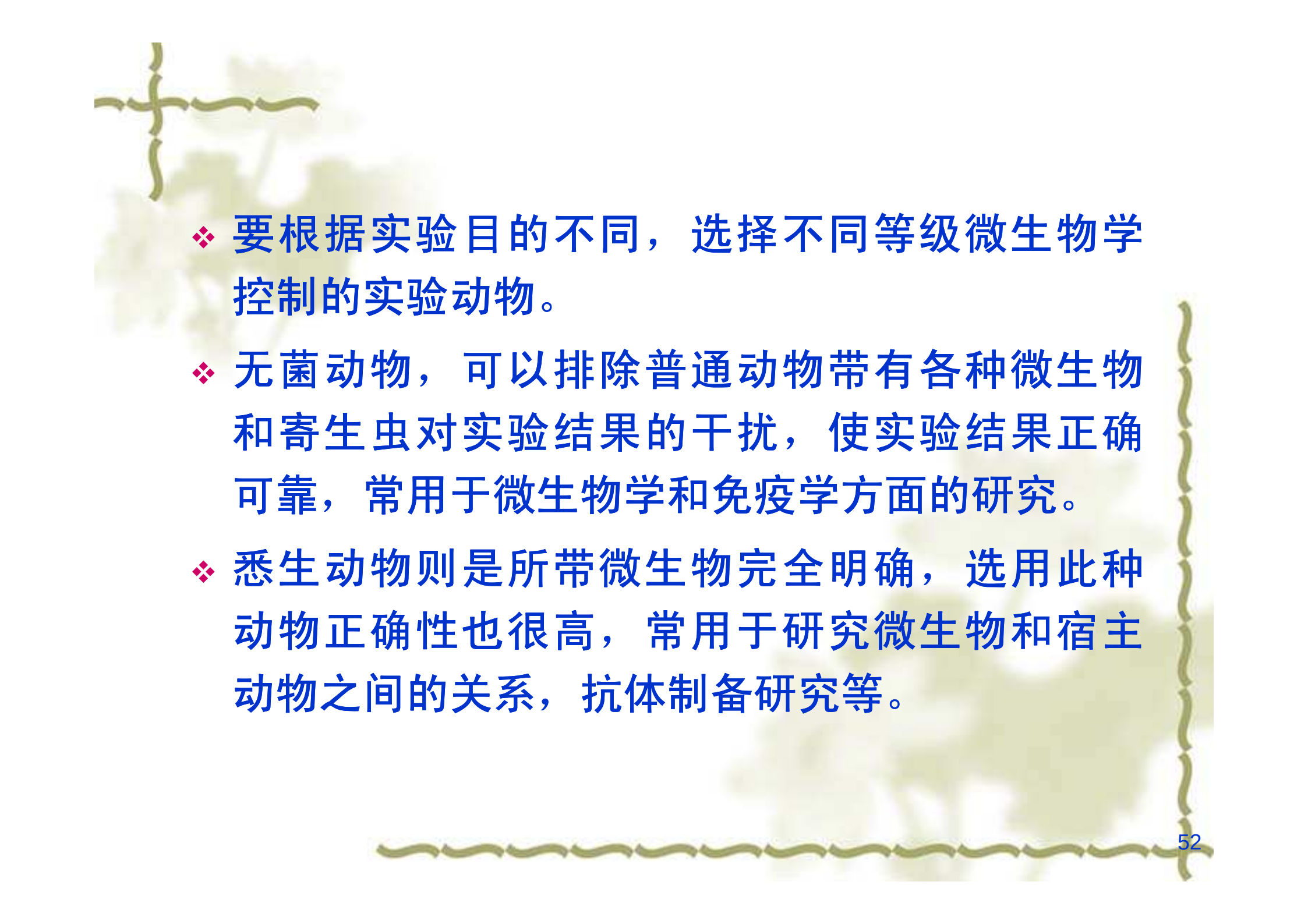
- ❖ 怎样从广博的实验动物资源中选择合适的实验动物进行科学实验研究，是科研工作者在实验研究中首先碰到的问题。
- ❖ 在实验研究中，必须根据实验动物的特点，结合实验研究的目的，选择最适合该项试验目的的实验动物。
- ❖ 实验动物品种、品系选择正确与否，直接关系到研究结果的可信性、可靠性、可比性。

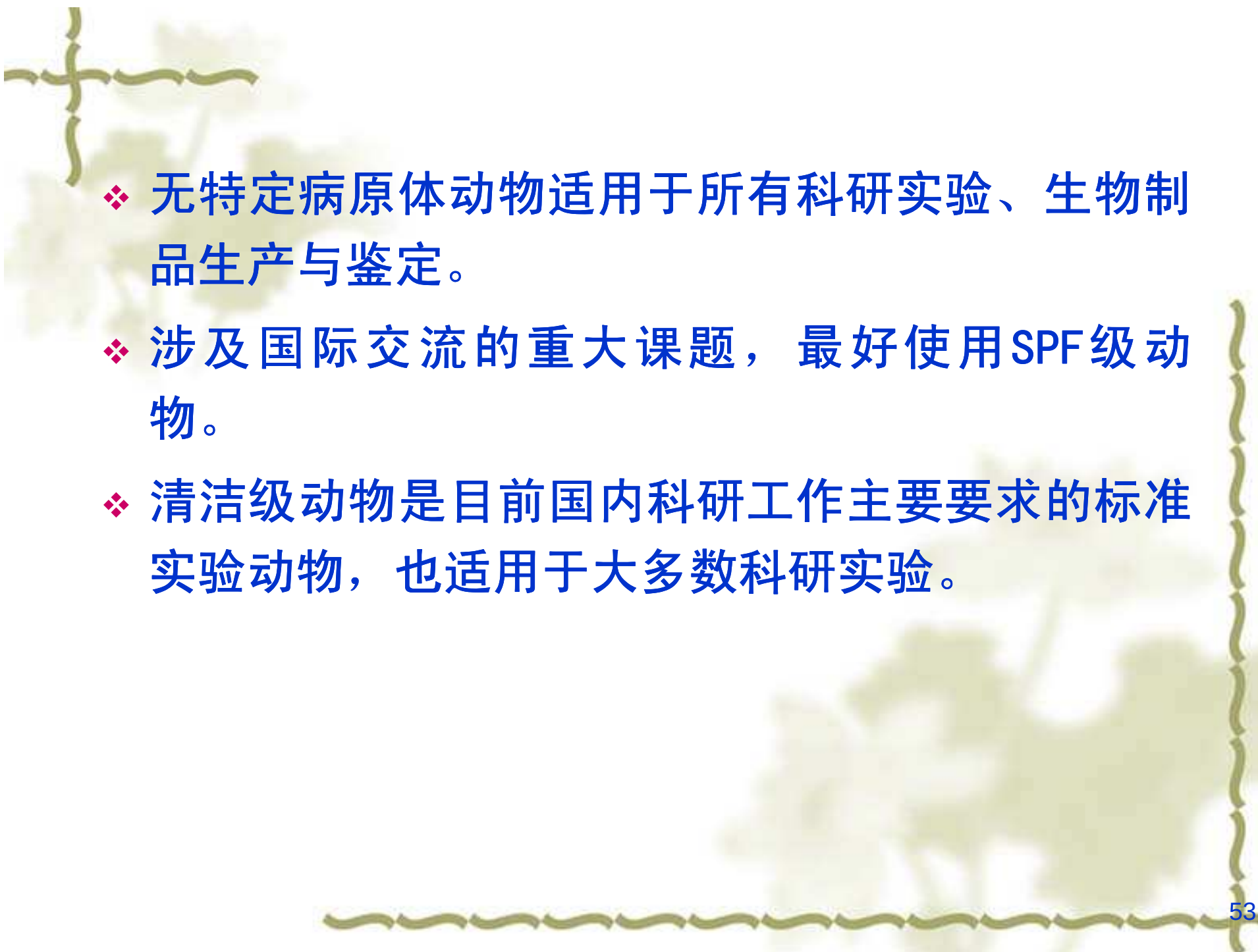
(一) 实验动物的选择原则

- ❖ 1、标准化原则
- ❖ 2、相似性原则
- ❖ 3、差异性原则
- ❖ 4、易化原则
- ❖ 5、相容或匹配性原则
- ❖ 6、易获性原则
- ❖ 7、重现性原则

❖ 1、标准化原则

- ❖ 指动物实验中选择和使用与研究内容相匹配的标准化的实验动物。
- ❖ 实验动物具有满足科学实验的四条基本要求：
- ❖ 即对实验处理表现出极高的敏感性；
- ❖ 对实验处理的个体反应表现出极强的均一性；
- ❖ 模型上的遗传稳定性；
- ❖ 动物来源易得性。

- 
- ❖ 要根据实验目的不同，选择不同等级微生物学控制的实验动物。
 - ❖ 无菌动物，可以排除普通动物带有各种微生物和寄生虫对实验结果的干扰，使实验结果正确可靠，常用于微生物学和免疫学方面的研究。
 - ❖ 悉生动物则是所带微生物完全明确，选用此种动物正确性也很高，常用于研究微生物和宿主动物之间的关系，抗体制备研究等。

- 
- ❖ 无特定病原体动物适用于所有科研实验、生物制品生产与鉴定。
 - ❖ 涉及国际交流的重大课题，最好使用SPF级动物。
 - ❖ 清洁级动物是目前国内科研工作主要要求的标准实验动物，也适用于大多数科研实验。

- ❖ 选择何种遗传群动物, 应该根据不同的课题内容而定。近交系动物由于遗传纯合度, 个体差异小, 特征稳定, 对实验反应一致性好, 实验结果精确可靠。
- ❖ 不同的品系具有各自的独特特性, 可以适合不同研究课题的需要。
- ❖ 许多突变品系动物具有与人类相似的疾病或缺陷, 如裸鼠、癫痫大鼠等具有实验模型性状显著且稳定的特征, 是研究人类相关疾病的重要实验模型。

❖ 2、相似性原则

- ❖ 是指利用动物与人类某些机能、代谢、结构及疾病特点的相似性选择实验动物。
- ❖ 动物所处的进化阶段越高，其功能、结构、反应越接近人类。
- ❖ （许多哺乳类实验动物在某些机能、结构、代谢、结构及疾病特点方面与人类相似）。

- ❖ (1) 结构与功能方面的相似性:
 - ❖ 如猪的皮肤组织结构、心血管分支等与人类很相似。做皮肤烧伤试验、心血管试验。
 - ❖ 豚鼠免疫功能与人相似，做全身过敏试验
- ❖ (2) 时象或年龄状态的相似：不同种属动物的寿命长短不一，但在各相应生命阶段或时象上可相互对应。
- ❖ 在研究老年性或胚胎发育、生殖、遗传等时选择生殖和生命周期短的动物可缩短实验周期。

犬与人的年龄对应

犬龄（年）	1	3	5	9	13	16
人龄（年）	15	28	36	52	68	80

常用实验动物的寿命

动物种类	猩猩	狒狒	猴	犬	猫	家兔	豚鼠	大鼠	小鼠	猪	山羊
平均寿命	20	15	20	15	12	8	6	3	2	16	9

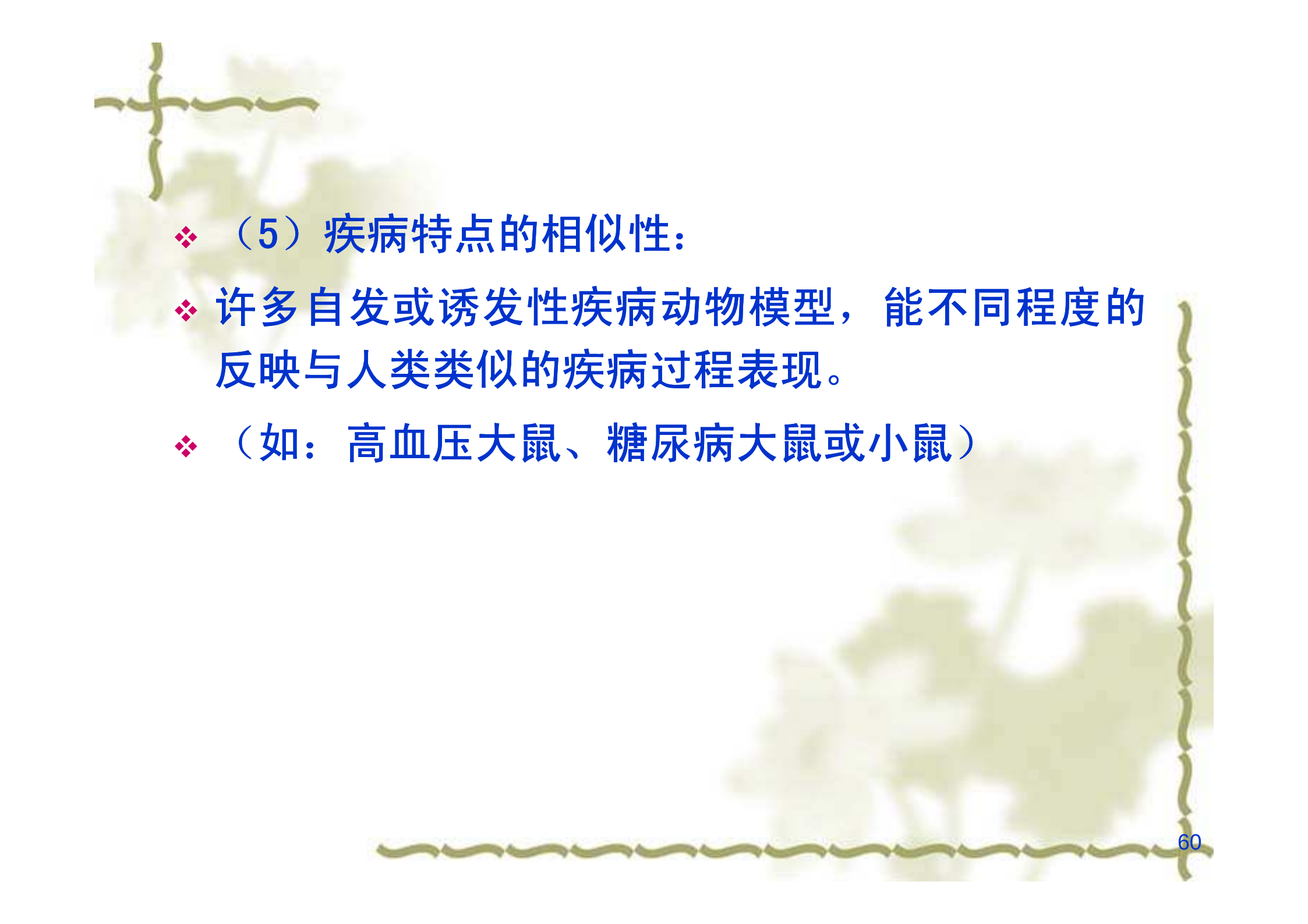
❖ (3) 群体分布的相似性:

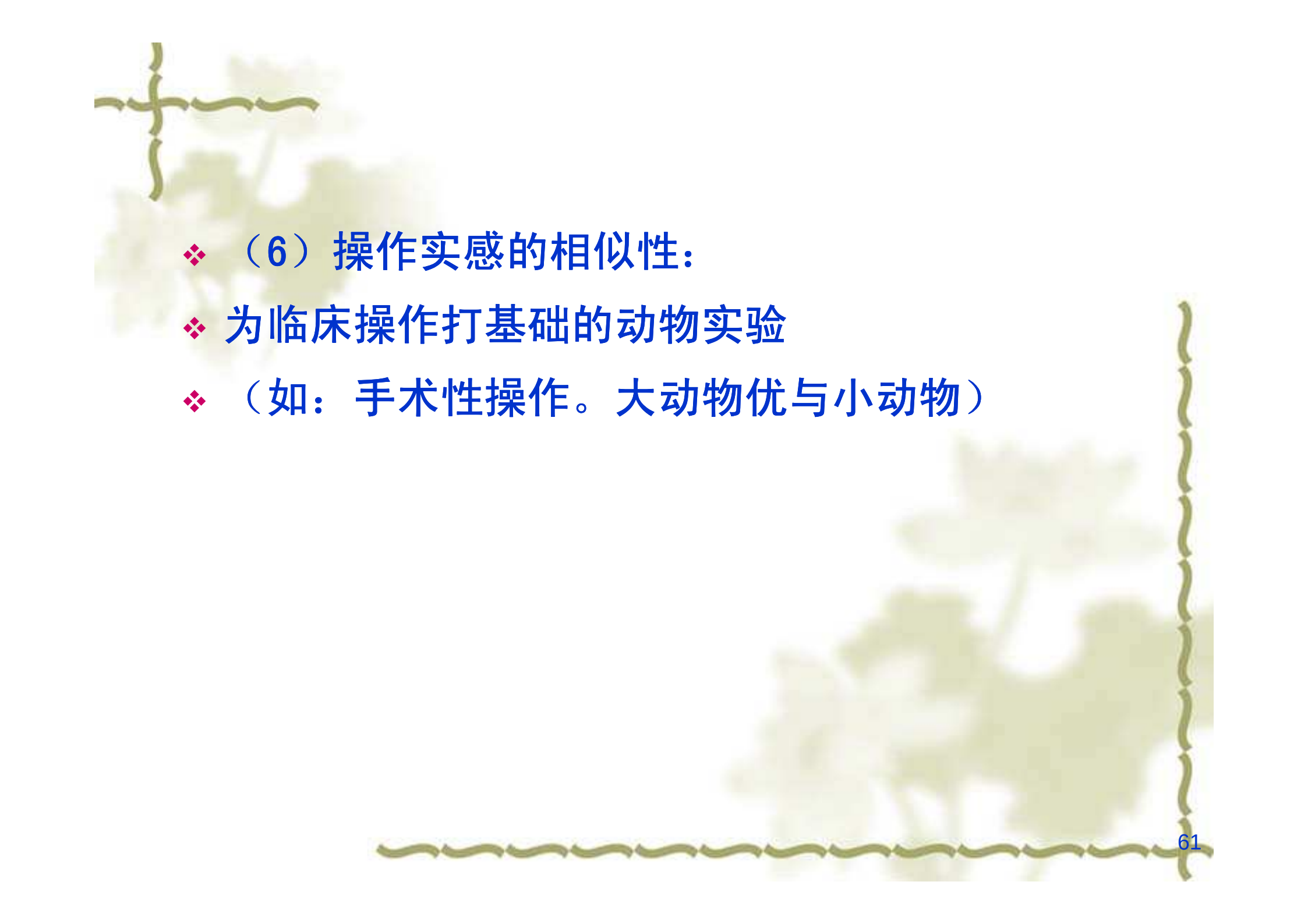
- ❖ 群体基因型、表现型分布与人类相似的实验动物。
- ❖ 拟似自然群体基因型的实验动物群有封闭群或远交群动物。

❖ (4) 生态或健康状态的近似性:

- ❖ 也就是找到与人类生态情况相似的动物。
- ❖ 实验动物的遗传背景、营养及环境背景标准化后, 不同级别的实验动物, 适用于不同的研究目的。

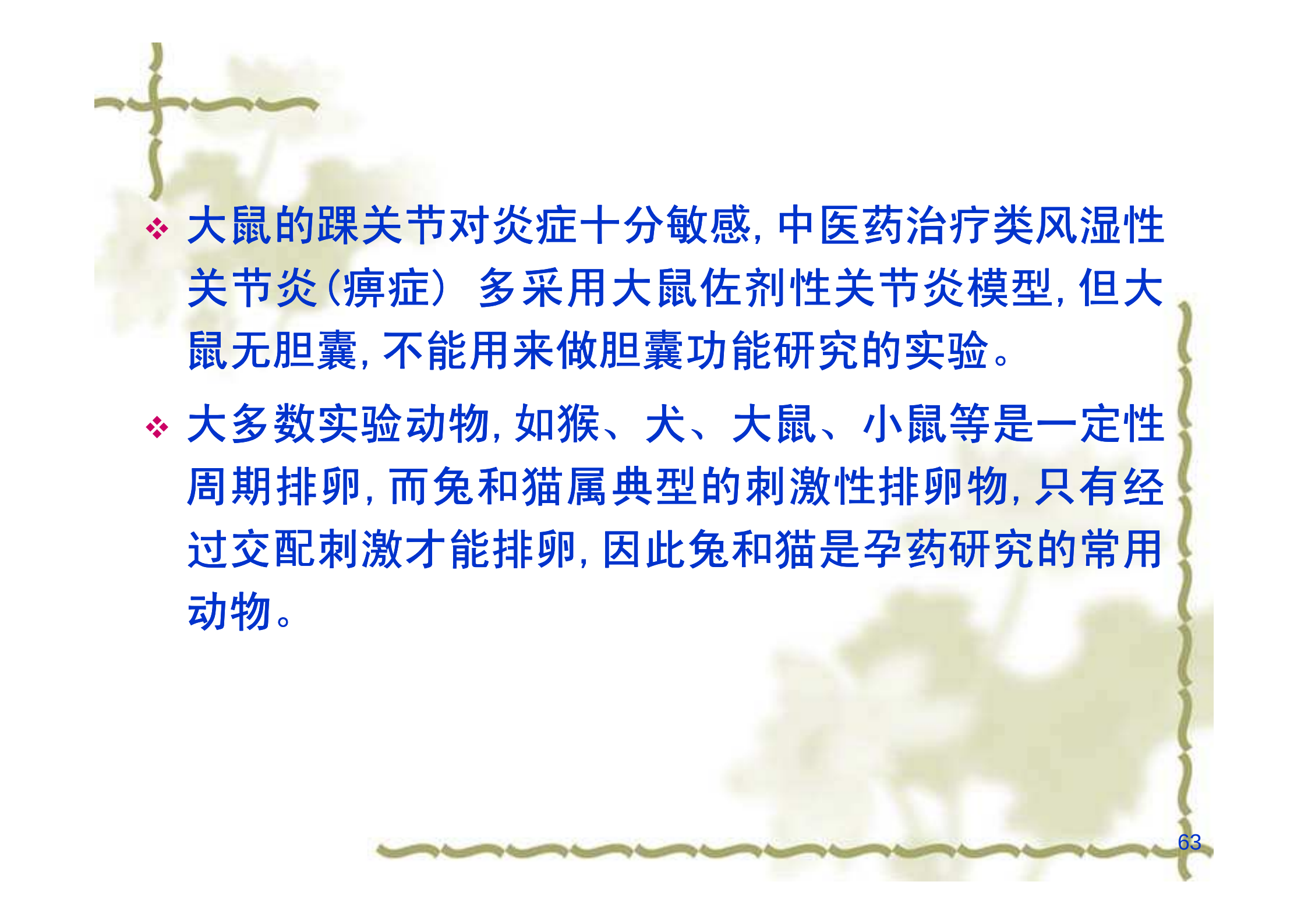
- ❖ SPF动物是正常的健康无病模型，采用该级别动物作实验，能排除疾病或病原体的背景性干扰。
- ❖ GF动物属超常生态模型，既能排除微生物的干扰，又减少了免疫功能的影响。
- ❖ CV及CL动物则应用最多，原因是价廉物美，而且对饲养设施要求简便，管理容易。

- 
- ❖ (5) 疾病特点的相似性:
 - ❖ 许多自发或诱发性疾病动物模型, 能不同程度的反映与人类类似的疾病过程表现。
 - ❖ (如: 高血压大鼠、糖尿病大鼠或小鼠)

- 
- ❖ （6）操作实感的相似性：
 - ❖ 为临床操作打基础的动物实验
 - ❖ （如：手术性操作。大动物优于小动物）

❖ 3、差异性原则

- ❖ 各种实验动物在基因型、表现型、组织型、代谢型、易感性方面具有明显的不同，在实验因素的作用下，其反应有非常接近人类的、比较接近人类的、有反应相反的。
- ❖ 利用不同种系实验动物机体存在的特殊构造或某些特殊反应选择解剖、生理特点符合实验目的和要求的动物。

- 
- ❖ 大鼠的踝关节对炎症十分敏感, 中医药治疗类风湿性关节炎(痹症) 多采用大鼠佐剂性关节炎模型, 但大鼠无胆囊, 不能用来做胆囊功能研究的实验。
 - ❖ 大多数实验动物, 如猴、犬、大鼠、小鼠等是一定性周期排卵, 而兔和猫属典型的刺激性排卵物, 只有经过交配刺激才能排卵, 因此兔和猫是孕药研究的常用动物。

❖ 4、易化原则

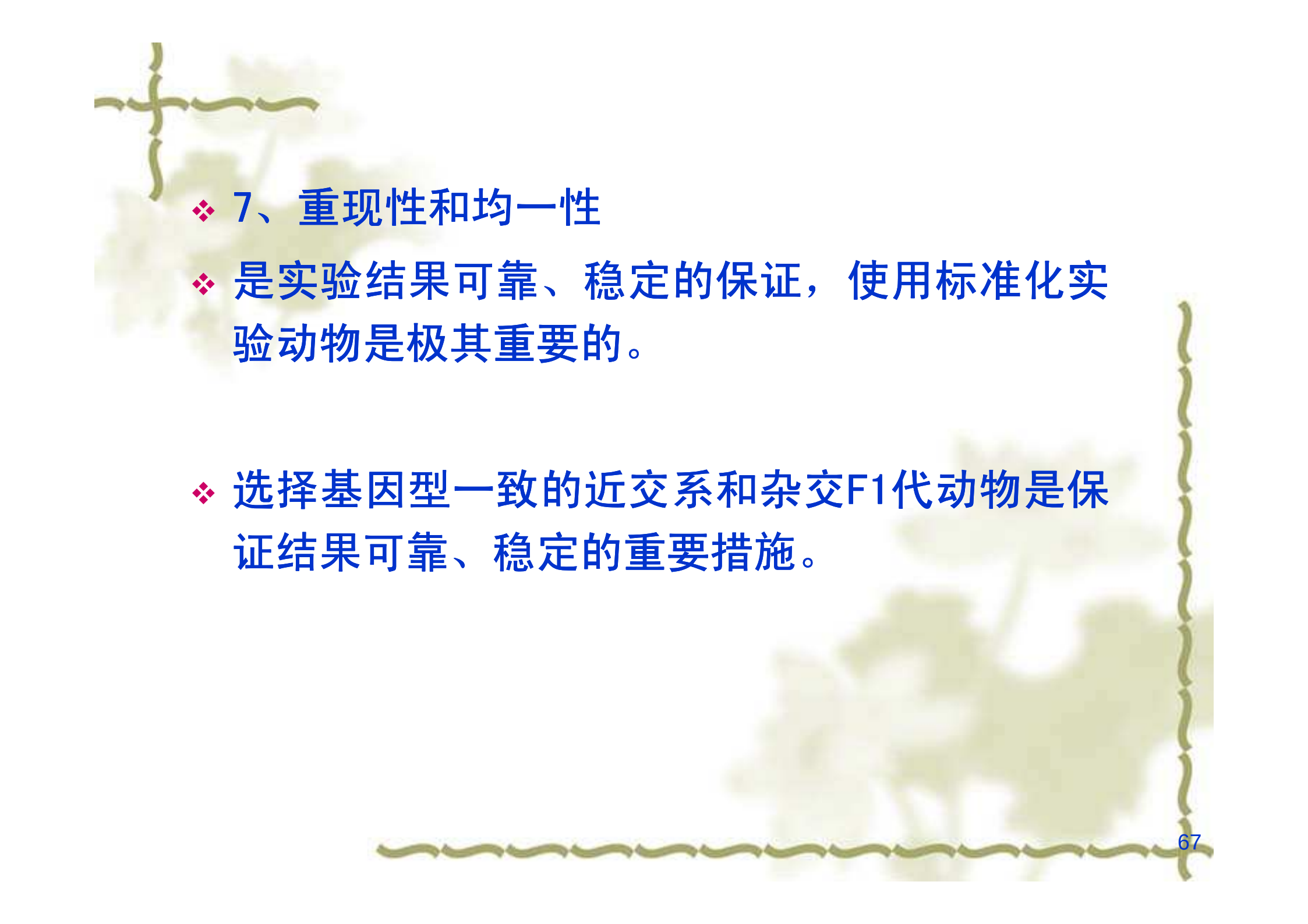
- ❖ 选择进化程度高或结构复杂的实验动物做模型，会使实验条件的控制和实验结果的获得变得很困难。
- ❖ 在确保研究目标的前提下，可选择结构、功能较简单的实验动物。
- ❖ 如选择两栖类进行神经反射弧实验；利用果蝇寿命短、染色体数目少等特点，成功地进行遗传学研究等。

❖ 5、相容或匹配性原则：

- ❖ 是指所用动物的标准化品质应与实验设计、技术条件、实验方法等相适应
- ❖ 避免应用高精仪器、先进的技术方法、高纯度的试剂与低质量、非标准化、反应性能低的动物相匹配。
- ❖ 避免利用低性能的测试手段, 非标准化的实验设施与高质量、高反应性能的动物相匹配。
- ❖ 例如花费大量资金购买的无菌动物或SPF动物饲养而在普通环境中进行实验

❖ 6、易获原则

- ❖ 在不影响实验质量的前提下，选择最易获得、最经济、最易饲养管理的实验动物。
- ❖ 不可能不顾及诸多因素的限制盲目追求高等级动物(如无菌动物)，或者猴、猿、狒狒、猩猩等非人灵长类动物。
- ❖ 如：在可使用大鼠和犬做反复给药毒性实验时，选择大鼠



❖ 7、重现性和均一性

❖ 是实验结果可靠、稳定的保证，使用标准化实验动物是极其重要的。

❖ 选择基因型一致的近交系和杂交F1代动物是保证结果可靠、稳定的重要措施。

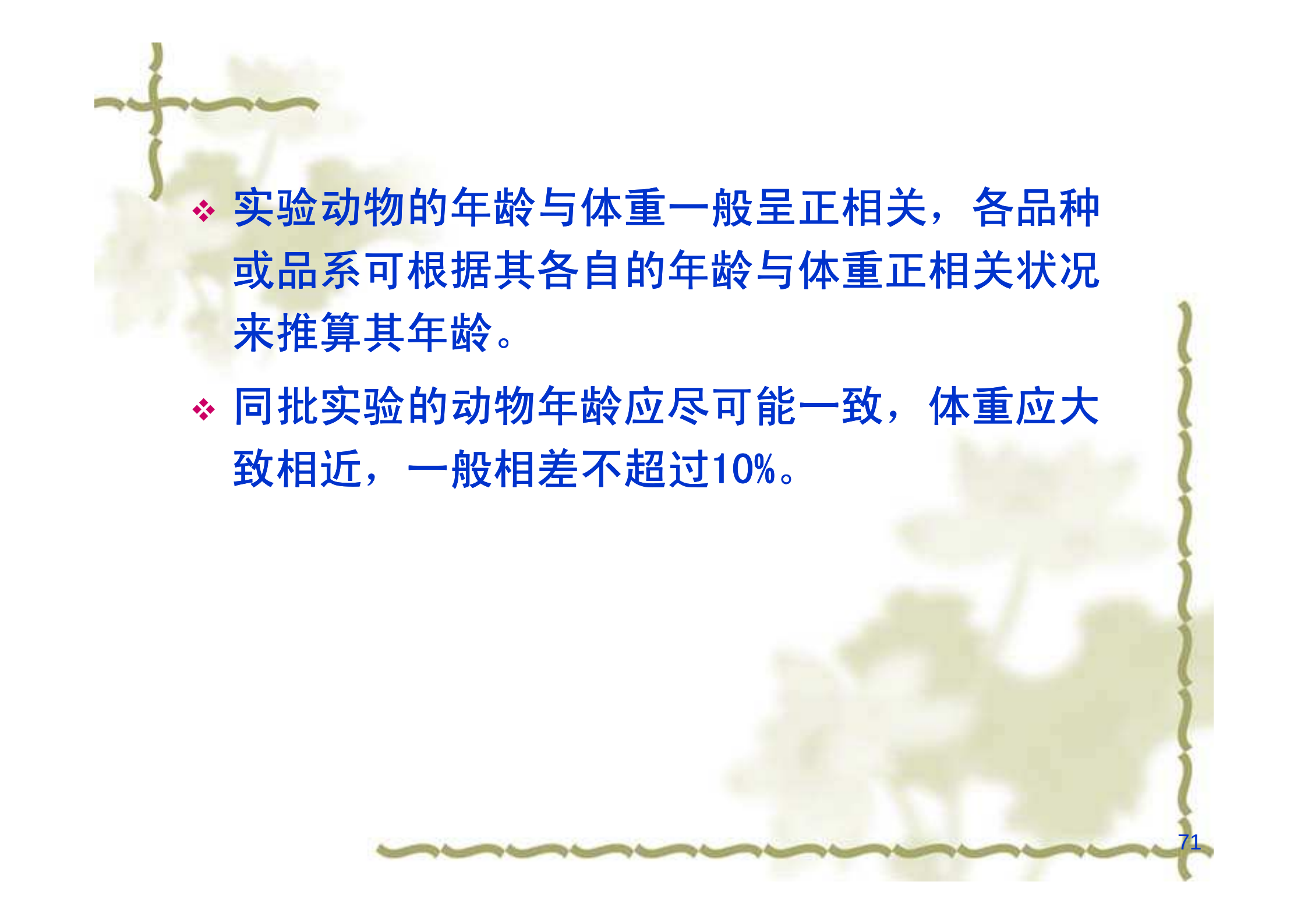
四、影响动物实验的个体因素

- ❖ 1、年龄与体重
- ❖ 2、性别
- ❖ 3、生理及功能状态
- ❖ 4、健康状况

❖ 1、年龄与体重

- ❖ 年龄是一个重要的生物量，实验动物的解剖特征和反应性随年龄而明显变化。
- ❖ 动物实验设计要根据实验目的选择适龄动物
- ❖ 注意各种实验动物之间、实验动物与人之间的年龄对应关系相当重要。
- ❖ 在研究目的人群中年龄分布和所选择的实验动物中年龄一定要相对应。

- ❖ 在实验动物年龄方面，毒理学研究要求一般选用未成年的较为合适。
- ❖ 因为在动物迅速生长期进行药物的毒性试验，可以发现药物对生长及各器官，包括性器官成熟的影响。
- ❖ 药物长期毒性实验选用大鼠120~150g（6~8周）；
- ❖ 农药慢性毒性实验选用大鼠60~70g（4~6周）；
- ❖ 避孕药物的毒性实验要求使用性成熟动物，如小鼠应是至少60日龄、体重在24 g以上，大鼠至少120日龄、体重在250g以上。

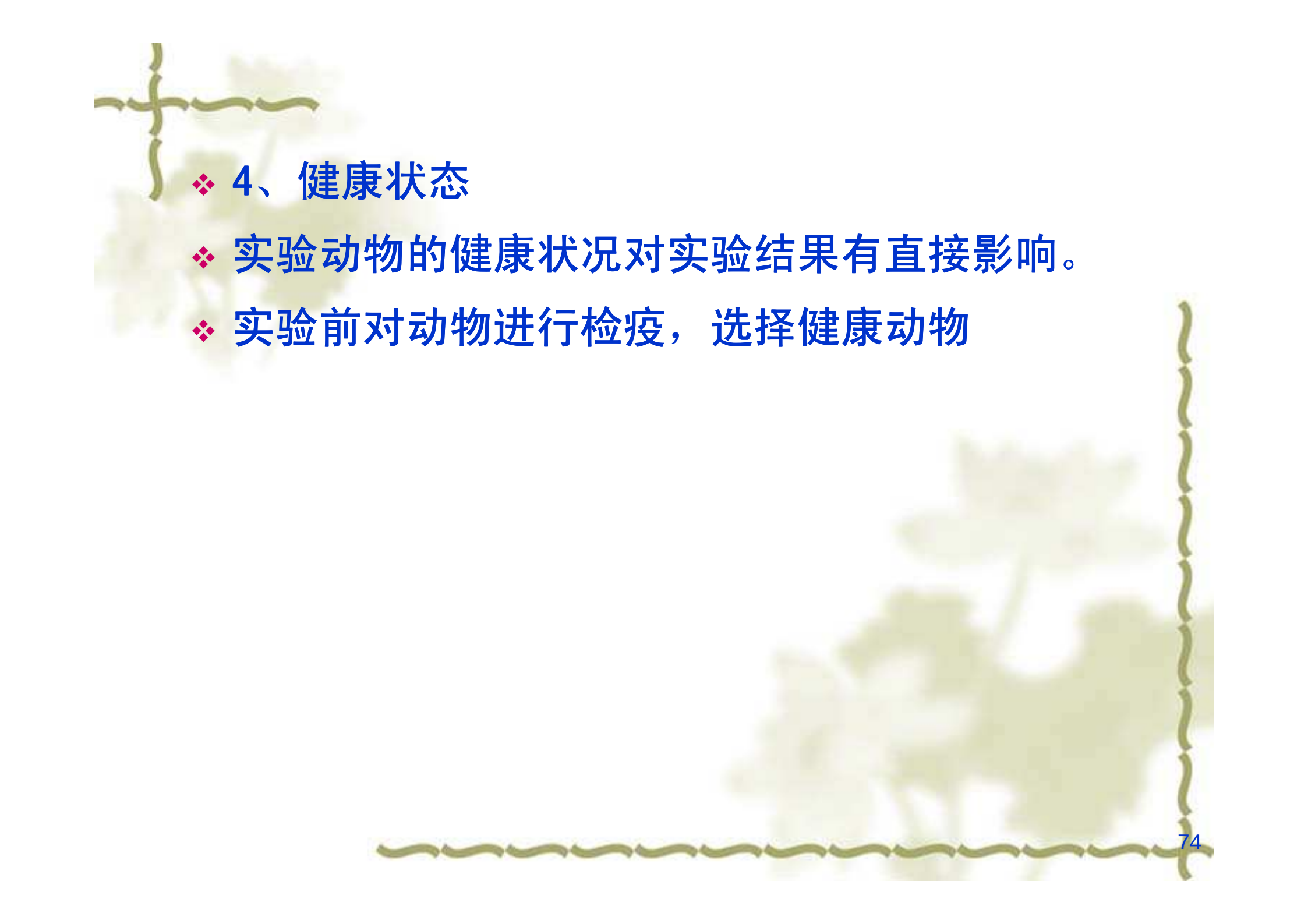
- 
- ❖ 实验动物的年龄与体重一般呈正相关，各品种或品系可根据其各自的年龄与体重正相关状况来推算其年龄。
 - ❖ 同批实验的动物年龄应尽可能一致，体重应大致相近，一般相差不超过10%。

❖ 2、性别

- ❖ 性别不同的实验动物对同一药物的感受有差异性，对各种刺激的反应也不尽相同。
- ❖ 比如：大鼠皮下注射150~300mg的乙醇溶液，雄性大鼠死亡84%左右，而雌性大鼠只死亡30%左右。
- ❖ 药物安全性评价研究中，通常选择动物是雌雄各半。

❖ 3、生理及功能状态

- ❖ 实验动物处于不同的生理状态，对药物的反应也常常受到影响。
- ❖ 如动物在体温升高的情况下对解热药比较敏感，而体温不高时则不敏感；血压高时对降压药比较敏感，而在血压正常时对降压药敏感性就差。



❖ 4、健康状况

- ❖ 实验动物的健康状况对实验结果有直接影响。
- ❖ 实验前对动物进行检疫，选择健康动物

五、实验技术环节对动物实验效果的影响

- ❖ 1、药物因素
- ❖ 2、实验季节
- ❖ 3、给药时间与试验周期
- ❖ 4、手术技巧
- ❖ 5、对照问题

❖ 1、药物因素：

❖ 抗生素、麻醉剂、赋形剂、实验给药

❖ (1) 抗生素

- ❖ 某些抗菌素对实验动物有毒性，普鲁卡因对豚鼠、兔和小鼠有毒性。
- ❖ 许多抗菌素对免疫系统有关细胞的功能具有不良影响。如四环素类可抑制小鼠的迟发型超敏反应和巨噬细胞的体内趋化性。
- ❖ 抗菌素还可对实验结果造成影响。如经常使用抗菌素可引起动物心血管功能变化。
- ❖ 抗菌素还影响代谢，并由此影响其他物质的毒性，或改变药物动力学。如氯霉素抑制肝脏微粒体酶，从而影响通过肝脏微粒体酶系统代谢的药物，如巴比妥类麻醉剂的药效。

❖ (2) 麻醉剂和镇静剂

❖ 保定动物使用

- ❖ 它们对动物的作用各不相同，并对研究结果有重要影响，须注意选择使用，以减少对实验结果的影响。
- ❖ 如麻醉剂对心血管功能的影响已有许多研究。如戊巴比妥和氟烷可通过依赖钙的生化过程，而直接影响心肌和血管平滑肌，并影响平滑肌对被试药物的敏感性及实验结果。

❖ (3) 赋形剂:

- ❖ 不同的溶剂或赋形剂出现的毒副作用也不同，有的来自本身的毒性，有的则来自他们对药物生物利用度的影响。
- ❖ (慎重选择，防止改变药物的理化性质和生物活性)

❖ (4) 实验给药:

- ❖ 给药途径、浓度、剂量、给药次数等都影响实验结果
- ❖ 按一般规律，吸收量大的毒性大，静脉吸收最快，产生的毒性作用最强。
- ❖ 一般不同给药途径的吸收度依次为：
- ❖ 静脉→呼吸道→腹腔注射→肌肉注射→皮下注射→皮内注射→经口→皮肤涂布

❖ 2、实验季节：

- ❖ 生物体的许多功能随着季节产生规律性
- ❖ 如：生殖周期、精子发生、季节性换毛等
- ❖ 在长期试验中必须注意

❖ 3、给药时间与试验周期

- ❖ 动物生命节律是生命的基本特征之一，动物的生命活动每天不同时间，每年不同季节都有一定的变化规律。
- ❖ 动物试验的给药时间应当一致。一是可比性强，二是避免错误，而影响其他药理试验甚至临床用药。
- ❖ 实验周期一般以急性毒性试验和长期毒性为例加以说明。

- ❖ 急性毒性实验给药后至少观察一周，有的要观察2周或更长。
- ❖ 长期毒性试验各国具体规定各不相同。

各主要国家和WTO关于长期毒性试验的给药期限规定

拟用药 时间	中国	美国	日本	英国	前苏联	WTO
1~3天	2周	2周	1月	2周	10天	2周
1周	4周	4周	1月	4周	1月	1月
2周	3月	3月	1月		1月	
3周	3月	3月		3月	3月	6月

- ❖ 4、手术技巧（操作技术）：
- ❖ 实验误差：系统误差、随机误差和过失误差
- ❖ （GLP对工作人员要经常进行培训）
- ❖ 手术熟练可以减少对动物的刺激，动物受的创伤、出血等就少，将会提高实验成功率和实验结果的正确性，减少实验误差。要达到动物手术操作熟练，必须要了解各种动物的特征，如组织、器官的位置，神经、血管的行走特点等，通过在动物身上反复实践，即可达到熟能生巧、操作自如。

