

实验动物管理 与使用操作技术规程

徐平主编

Manipulative Technigue
for the Care and Use of
Laboratory Animals



上海科学技术出版社



www.ewen.cc

责任编辑：黄 庆

封面设计：卢 怡

Manipulative Technique for the Care and Use of Laboratory Animals



www.sstp.cn

上架建议：实验动物科学

ISBN 978-7-5323-8963-6



9 787532 389636 >

定价：68.00 元

实验动物管理 与使用操作技术规程

徐平主编

Manipulative Technique
for the Care and Use of
Laboratory Animals



上海科学技术出版社

图书在版编目 (C I P) 数据

实验动物管理与使用操作技术规程 / 徐平主编. — 上海:
上海科学技术出版社, 2007.8
ISBN 978 - 7 - 5323 - 8963 - 6

I. 实... II. 徐... III. ①实验动物 - 管理②实验动物 -
技术操作规程 IV. Q95 - 331

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 076914 号

上海世纪出版股份有限公司 出版、发行
上海科学技术出版社
(上海钦州南路 71 号 邮政编码 200235)
新华书店上海发行所经销
常熟市兴达印刷有限公司印刷
开本 787 × 1092 1/16 印张 25
字数: 560 千字
2007 年 8 月第 1 版 2007 年 8 月第 1 次印刷
印数: 1 - 3 500
定价: 68.00 元

本书如有缺页、错装或损坏等严重质量问题,
请向工厂联系调换

内容提要

本书共 10 章,第一章实验动物设施的消毒与灭菌操作技术,第二章实验动物生产管理操作技术,第三章实验动物隔离器的操作技术,第四章实验动物胚胎、精子和卵巢冷冻保存的操作技术,第五章动物实验基础操作技术,第六章各种实验动物的实验操作技术,第七章实验动物相关实验室管理操作技术,第八章实验动物相关设备的使用与维护操作技术,第九章实验动物饲料生产的操作技术,第十章实验动物突发事件应急处理的操作技术。本书是我国实验动物管理与使用方面的工具书,具有内容全面、操作性强、简便易懂等特点。可供从事实验动物和动物应用的专业人员参考。

本书编委会

- 主 编 徐 平 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 副 主 编 潘振业 (上海交通大学医学院)
- 杨 斐 (复旦大学医学院)
- 陈国强 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 编写人员 顾坚忠 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 王长江 (上海市实验动物质量监督检验站)
- 韩凌霞 (中国农业科学院哈尔滨兽医研究所)
- 施 恩 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 刘丽均 (上海斯莱克实验动物有限责任公司)
- 张瑞忠 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 毛佳贤 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 鲍世民 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 施美莲 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 谢 恩 (上海斯莱克实验动物有限责任公司)
- 赵国际 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 符 杰 (中国科学院上海生命科学研究院)
- 石光宇 (上海达侃制冷工程有限公司)
- 主 审 吴祖立 (《上海交通大学学报〈农业版〉》编辑部)

序

坊间众多有关实验动物科学的出版物中,《实验动物管理与使用操作技术规程》是一本贴近实验动物设施和实验室临床实际,颇为实用的专著。它把这个复杂的边缘学科梳理到可操作性的规程里,通过解释说理又把原理机制传播给读者,达到普及科学知识的目的,科研和管理工作无缝结合,功能是多方面的,同时也反映作者们皓首从经、认真思索、逐字推敲、谨慎下笔的文风,难能可贵。

正如徐平研究员所说,21世纪是“生命科学的世纪”,但也有人说是“信息科学的世纪”,争论了将近10年,近几年生命科学各个领域迅速的发展就说明了一些情况,逐渐平息了这场争论。

几百年来生命的起源的探讨已到了即将突破的临界。例如人造细胞的研究正在成功的边缘浮沉,这使我们想起了20世纪50年代初发生在苏联兽医界的闹剧。有一位动物医学专家名为波什阳者,硬说他发现生命物质可转化为没有生命的粒子,后者也会转化回来成为有生命的东西。我国也正由某权威单位系统作介绍,当时笔者所在单位有苏联专家组驻在,我向他们提出是否能为我们提供更多的材料供学习研究之用,4位专家无言相对、噤若寒蝉,细询之,则云彼等并不同意波氏学说,其实并无多少证据来证明所说,只不过列宁格勒农业和生物学会议后李森科学派得势,挥舞大棒,苟不同意其遗传学观点时则立刻被批成唯心主义反动派,学术界成为“万马齐喑究可哀”,谁敢发言?俱往矣,在后基因组时代的今天,应该再也不会有这等蠢事发生了,因为早就找到了基因,科学实验证明了遗传学种种定律的存在,解释了生命现象的某些机理,推动了科学、文化、生产的发展和人类的进步。大家都说科学技术是第一生产力,何止这些?它还是提高文化消除愚昧的动力,也是建设文明世界、和谐社会的要素。历史证明了这一点。

生命科学的发展离不开科学试验,而实验动物科学正是应运而生、发展起来的学科。今天,实验动物的用途早已拓宽:

1. 它是人类疾病的动物模型(天然的或是人工制备的),代替人类接受各种药物治疗试验和疫苗预防试验,为人类健康做出贡献;
2. 用为生物学测定工具,包括冒死接受毒物致残、致死试验,测定毒价;
3. 用为生物制品(包括诊断试剂)原料如孕马血清、犍牛血清等;
4. 用为制备转基因生物发生器,生产药用蛋白;
5. 用为异种器官移植供体,典型的是猪,英国的剑桥大学 and 美国的威斯康辛

大学在利用猪的脏器移植给人的研究方面都有惊人的进展;

6. 用为宇宙空间探测时的生物学标本;

7. 用为武器开发(包括常规和核武器、化学武器、生物武器)如杀伤力判断或保护方法的探讨。

科学实验所涉及的动物范围也从传统的啮齿动物扩大到多种哺乳动物、两栖类、鱼类、鸟类甚至更低级的蚊、蝇、蠓等昆虫或单细胞生物如果蝇、植物线虫、原虫、酵母等,它们在遗传学、流行病学、自然疫源地研究等方面都有过巨大贡献。在组织工程、细胞工程、胚胎工程和基因工程等方面也常常利用动物的个别器官、组织、体液等进行试验,应用范围就更加广泛。

我国的实验动物科学事业原本极为落后,改革开放后又异军突起,在 20 世纪 80 年代,用不到 10 年的时间走完西方几十年的发展道路,这是当年国际实验动物学会主席罗塞尔教授在一次国际会议上的赞美词。这实际上还是鞭策,在成为“生命科学的世纪”的今天,各学科发展都非常迅速,对我们的要求也越来越高,容不得我们有半点疏忽。我国第一代的老实验动物科学家们已为后人点燃了火种,打造了工作基础,拓展了发展空间,并肩起了沉重的历史闸门让后继者涌出,相信我国的实验动物科学事业会有更大的发展,事业毕竟是人创造的,有了一波又一波的新生力量加入到本学科行列,前景是非常乐观的。谨以为本书序。

上海国家动物医学研究中心研究员
《实验动物与比较医学》杂志主编

刘瑞三

2007 年 7 月 14 日

前 言

21 世纪是生物学的世纪。以揭示生命的奥秘,促进人类健康,开发生物资源和保护环境为宗旨的生命科学与生物技术研究无疑会取得重大进展。实验动物作为生命科学基础和前沿领域将比任何时候都显得重要,生命本质揭秘等一系列重大科学问题的研究,都离不开实验动物,实验动物科学在 21 世纪将成为生物学、医学和生物技术发展的重要基础支撑学科,也因此预示着其又一个春天的来临。

20 多年来,我与我的同仁亲历了我们国家实验动物的规范化、法制化和标准化的发展进程,也耳闻了几代实验动物工作者为此付出的心血、汗水和青春,更钦佩那些为了我国实验动物事业的腾飞,从医学、药学、生物学、农业科学等领域改行而来的、并为此甘愿做一辈子“绿叶”的老前辈、老专家。我从对实验动物几乎一无所知,到逐步熟悉和喜爱上这个专业,并立志为此事业奋斗一辈子,注定了我这一生都将与实验动物为友。20 多年的从业生涯,我做过多年的饲养员,饲养过小鼠至小型猪等几乎所有的实验动物,也做了多年的实验动物保种、育种工作,也有过从事实验动物销售、技术服务和动物实验等的经历。近些年,更多的时间是花在实验动物的相关研究和经营管理上。这期间,更有多次机会去国外学习实验动物的标准化管理、GLP 和实验动物新资源的开发和保存技术,从中感受到了实验动物饲养管理和动物实验标准化操作对实验动物质量控制、动物实验结果重复性、准确性的重要性。于是萌生了将自己 20 多年来从事实验动物工作的所学、所见、所闻,结合自己的实践经验和体会整理成一本《实验动物管理与使用操作技术规程》应用性书籍的想法,希望能对从事实验动物和动物应用的同仁们提供一些参考,尤其是对实验动物的新人和实验动物的技术工人培训能提供一本可操作性强、简便易懂的参考资料。

本书在撰写过程中得到了国家科技基础条件平台项目(实验动物资源保存和利用共享试点)和上海市科研计划项目(实验动物质量全程监控的研究)的部分经费支持,我所在单位的同仁和上海市实验动物界的专家参与了部分章节的编写和校对工作。

由于编写人员的知识、水平有限,难免有不足甚至错误,希望各位同仁和关心实验动物事业的读者提出宝贵意见。

徐 平

2007 年 5 月 8 日

目 录

第一章 实验动物设施的消毒与灭菌操作技术	1
第一节 饲养器具及饲养室内物品的消毒与灭菌	1
一、饲养架	1
二、饲养笼	2
三、垫料	4
四、饲料盒、饮水瓶	5
五、饲料	5
六、饮水	6
七、过滤器	7
八、实验器具	8
九、衣服类	8
十、污物	9
十一、动物尸体	10
十二、运输笼	11
十三、其他(工作车、拖鞋、笔记用品、门把手等)	12
第二节 各种区域的消毒与灭菌	13
一、验收、检疫区域	13
二、普通动物的饲养区域——干式结构	14
三、SPF 动物的饲养区域	14
四、无菌动物、悉生动物饲养区域	14
五、感染实验区域	15
第三节 各种动物室的消毒与灭菌	15
一、啮齿类动物室	15
二、兔饲养室	17
三、犬饲养室	18
四、灵长类饲养室	19
第四节 各种区域内的消毒与灭菌	20
一、从外部区域进入动物设施时	20
二、SPF 动物饲养区域内的操作	22
第五节 各种病原体的消毒与灭菌	24
一、细菌	24
二、支原体	30

三、真菌	31
四、病毒	34
第六节 微生物抵抗性试验法	40
一、细菌	40
二、真菌	42
三、病毒	42
第七节 消毒药的毒性及安全性	44
一、乙醇	44
二、异丙醇	46
三、福尔马林	47
四、碘伏	48
五、次氯酸钠	49
六、石炭酸	50
七、甲酚皂	51
八、氯化新洁尔灭	52
九、洗必泰	53
主要参考文献	54
第二章 实验动物生产管理操作技术	56
第一节 引进动物的操作程序	56
一、引进动物的隔离检疫	56
二、动物的引进	56
第二节 饲养与喂食的操作程序	58
一、动物一般状况的检查程序	58
二、动物饲料的种类与处理方式	58
三、动物饲养笼使用规格	59
四、每种动物喂食次数及量	60
五、饮水的添加	60
第三节 动物识别与记录的操作程序	61
一、动物个体的识别	61
二、性别判定	61
三、动物生产记录卡的填写	62
第四节 光照、温度、湿度和洁净度控制的操作程序	62
一、光照监控	62
二、动物房温、湿度等环境指标	62
三、动物房温、湿度记录	63
四、动物房内空气洁净度的控制	63
第五节 实验动物保种、生产的操作程序	63

一、实验动物的保种	63
二、实验动物的生产管理	66
三、停止繁殖	71
四、繁殖动物工作记录	71
五、繁育性状的计算	71
第六节 饲料管理操作程序	72
一、饲料采购	72
二、饲料进货与验收	72
三、饲料及垫料的贮存	72
第七节 生产管理中紧急事件处理的操作程序	73
一、节假日值班	73
二、紧急停电处理	73
三、空调故障处理	73
第八节 动物健康监测与饲养环境监测操作程序	74
一、健康监测采样	74
二、血清学病毒监测	74
三、细菌学监测	75
四、寄生虫学监测	75
五、组织采样	76
六、空气落菌数监测	76
七、屏障系统内饮用水水质监测	76
八、饲料微生物监测	76
九、垫料微生物监测	76
十、小鼠免疫球蛋白测定	77
十一、实验鸡的病原微生物监测	77
主要参考文献	79
第三章 实验动物隔离器的操作技术	80
第一节 隔离器操作人员守则	80
一、操作人员须具备的基本条件	80
二、操作人员工作前的准备	80
三、隔离器操作结束后工作	80
第二节 隔离器操作规程	81
一、隔离器的安装	81
二、隔离器的检漏	82
三、隔离器的消毒与灭菌	82
四、隔离器的使用	83
五、隔离器相关设备的使用	88

第三节 实验动物大、小鼠生物净化的操作规程	89
一、器材的准备	89
二、净化手术的准备	89
三、生物净化的操作	90
四、乳母哺育	90
五、无菌试验	90
第四节 隔离器内动物的保种与饲养管理	91
一、近交系的保种方法	91
二、远交群的保种方法	91
三、突变系的保种方法	92
四、核心保种群数据的记录与保存	92
五、隔离器内动物的饲养管理	93
主要参考文献	94
第四章 实验动物胚胎、精子和卵巢冷冻保存的操作技术	96
第一节 小鼠的体外受精与2-细胞胚胎的冷冻保存	96
一、小鼠超数排卵	96
二、小鼠精子的采集与体外授精	98
三、小鼠胚胎玻璃化冷冻保存	100
四、小鼠精子玻璃化冷冻保存	104
五、精子的解冻及体外授精	105
六、2-细胞胚胎输卵管内移植	108
第二节 小鼠卵巢的冷冻、复苏与移植操作程序	111
一、材料的准备	111
二、卵巢的冷冻	111
三、冷冻卵巢的融解	112
四、卵巢的移植	113
第三节 小鼠3日龄胚胎和大鼠5日龄胚胎缓慢冷冻的操作程序	115
一、胚胎的采集	115
二、胚胎的评价与选择	115
三、0.25 ml 塑料受精麦管(保存胚胎用)的准备	116
四、胚胎移入抗冷冻液	116
五、胚胎移入麦管	117
六、植冰与冷却	117
七、胚胎贮藏	117
第四节 小鼠3日龄、大鼠5日龄胚胎玻璃化冷冻保存的操作程序	117
一、胚胎的评价与选择	117
二、0.25 ml 塑料麦管准备	117

三、在玻璃化溶液中平均存放胚胎	118
四、玻璃化冷冻	119
五、胚胎贮藏	119
六、冷冻胚胎解冻	119
七、在麦管中稀释胚胎冷冻保护剂液	119
八、从麦管中回收胚胎	119
九、胚胎体外培养	120
十、甘油作为抗冷冻剂冷冻大鼠 8 - 细胞胚胎	120
十一、用甘油溶液缓慢冷冻的大鼠胚胎的复苏和移植	122
十二、大鼠胚胎收集或剖腹取胎的同步发情	123
第五节 实验兔胚胎的冷冻保存操作程序	124
一、超数排卵和胚胎的采集	124
二、精子的采集与人工授精	124
三、兔桑椹胚的冷冻与复苏	127
四、兔精子的冷冻与解冻	128
五、2 - 细胞胚胎输卵管内移植	129
六、桑椹胚的子宫内移植	129
七、胚胎和胚胎移植针的准备	130
第六节 各种培养基和抗冷冻剂配制的操作程序	130
一、1 000 ml PB1 溶液(基础保存液)的配制	130
二、甘油溶液的配制	131
三、蔗糖溶液的配制	131
四、M16 培养基的配制	132
五、M2 培养基的配制	133
六、用浓缩液配制 M2 培养基和 M16 培养基	134
七、小鼠体外授精培养液的配制	137
八、VS3a 玻璃化溶液的配制	137
附录 胚胎、精子冷冻常用配方和记录表	140
主要参考文献	151
第五章 动物实验基础操作技术	153
第一节 总则	153
一、宗旨	153
二、实验动物管理委员会的组成	153
三、实验动物管理委员会的任务	153
四、专业人员	154
五、研究人员	154
六、兽医师	154

七、危险物品使用人员的资格	154
八、实验动物管理人员的卫生与安全措施	154
九、使用高危险性物品的动物实验	155
十、其他注意事项	155
十一、实验动物管理及使用手册之修订	155
第二节 实验动物的抓取和保定操作程序	156
一、实验动物抓取与保定的原则	156
二、小鼠	156
三、大鼠和沙鼠	156
四、豚鼠	157
五、兔	157
六、犬	157
七、蟾蜍	157
第三节 实验动物分组和标记编号操作程序	158
一、分组	158
二、标记编号	158
第四节 实验动物性别判定的操作程序	159
一、小鼠、大鼠和沙鼠性别鉴定	159
二、豚鼠性别判定	160
三、兔子性别判定	160
第五节 实验动物采血的操作程序	160
一、大、小鼠采血	160
二、豚鼠采血	162
三、兔采血	163
四、犬采血	164
第六节 实验动物各种体液采集的操作程序	165
一、淋巴液采集	165
二、消化液采集	165
三、尿液采集	167
四、脑脊液采集	168
五、胸水采集	169
六、腹水采集	169
七、精液采集	169
八、阴道内液体采集	170
九、骨髓采集	170
第七节 实验动物麻醉的操作程序	171
一、常用啮齿类动物的麻醉方法	171

二、小鼠麻醉	172
三、大鼠麻醉	174
四、豚鼠麻醉	176
五、仓鼠麻醉	178
六、沙鼠麻醉	180
七、实验兔麻醉	181
八、实验猫麻醉	184
九、实验犬麻醉	186
十、实验猪麻醉	188
十一、山羊麻醉	190
十二、猴及其他灵长类麻醉	192
十三、雪貂麻醉	194
十四、鸟类与家禽类麻醉	195
十五、爬行类动物麻醉	196
十六、两栖类动物麻醉	197
十七、鱼类动物麻醉	197
十八、其他动物麻醉	198
十九、主要麻醉药的共同麻醉深度判定指标	198
第八节 实验动物术后照顾	199
一、术后恢复期的照顾	199
二、恢复期可能出现的危险	199
三、术后疼痛的处理	199
第九节 实验动物被毛去除方法	200
一、拔毛法	200
二、剪毛法	200
三、剃毛法	200
四、脱毛法	200
第十节 实验动物给药的操作程序	201
一、人与动物及各类动物间药物剂量的换算方法	201
二、实验动物的给药	204
第十一节 药品安全性试验操作程序	206
一、单次给药毒性试验	206
二、反复给药毒性试验	207
三、生殖、发育毒性试验	209
四、致突变试验	211
五、致癌试验	213
主要参考文献	215

第六章 各种实验动物的实验操作技术	216
第一节 大鼠	216
一、抓取和保定	216
二、性别鉴定	216
三、日龄判断	217
四、标记	217
五、被毛去除	218
六、给药	219
七、麻醉	223
八、处死	225
九、体液采集	226
十、尸检及主要脏器采取	231
第二节 小鼠	233
一、抓取和保定	233
二、性别鉴定	233
三、日龄判断	234
四、标记	234
五、被毛去除	235
六、给药	236
七、麻醉	241
八、处死	242
九、体液采集	243
十、尸检及主要脏器采取	248
第三节 豚鼠	250
一、抓取和保定	250
二、性别鉴定	251
三、日龄判断	251
四、标记	251
五、被毛去除	252
六、给药	252
七、麻醉	256
八、处死	257
九、体液采集	258
十、尸检及主要脏器采取	261
第四节 兔	262
一、抓取和保定	262
二、性别鉴定	262