



南昌大学
NANCHANG UNIVERSITY

动物实验质量控制

南昌大学实验动物中心

讲课人： 何远桥

heyuanqiaotj@163.com



动物实验质量控制

本章主要内容

- ◆ 动物实验质量控制的意义
- ◆ 动物实验设计的质量控制
- ◆ 实验动物的选择
- ◆ 影响动物实验结果的因素
- ◆ GLP认证对动物实验管理的要求

第一节 动物实验质量控制的意义

动物实验（Animal experiment）是根据研究目的选用合适的实验动物，在相应环境设施中进行的各种科学实验。

动物实验的结果容易受到各种实验因素的影响，进行动物实验质量控制有利于获得高质量的研究成果、有利于统计结果的分析、有利于减少实验动物数量满足动物伦理学的要求，有利于降低实验费用。

第二节 动物实验设计的质量控制

一、动物实验设计的定义

动物实验设计是指研究者根据实验目的和要求，运用有关科学知识和原理，结合统计分析及伦理学的要求而指定的在动物身上进行试验的实施计划和方案，并用文字记录或者流程图表述的实验方案和技术路线。

动物实验的结果能否取得预期效果、达到研究目的很大程度上取决于研究者动物实验设计是否科学、严密。

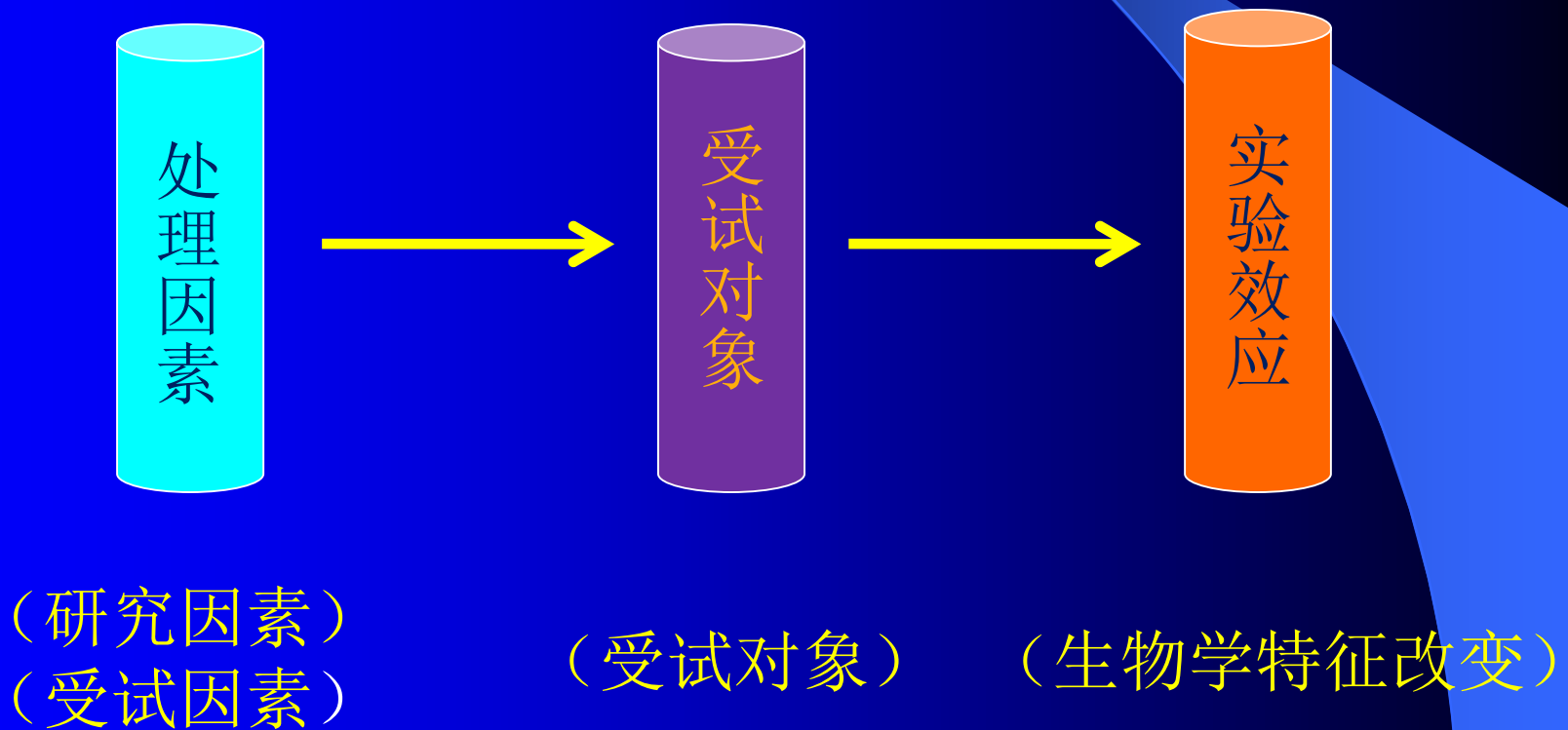
第二节 动物实验设计的质量控制

二、动物实验设计的基本要素

- 1. 处理因素：**处理因素是实验中需要重点考察的内容，处理因素不同，实验结果也不同。在整个实验中处理因素应该标准化，否则会影响实验结果的评价。
- 2. 受试对象：**在动物实验中，受试对象是实验动物。根据研究课题不同，选择合适的实验动物、确定分组情况、每组的样本数和受试对象总数。
- 3. 实验效应：**实验效应是指处理因素作用于受试对象后所起的作用，它通过观察指标来实现。观察指标分为主观指标和客观指标。为保证实验数据的可靠性和可比性，在选择指标时应尽可能选择客观指标，或尽可能讲主观指标转化成客观指标，并要求有一定的灵敏度和精确性。

第二节 动物实验设计的质量控制

动物实验的基本要素



第二节 动物实验设计的质量控制

三、动物实验设计应遵循的伦理

——“3R”原则

1. Reduction（减少）原则

尽可能减少实验动物的用量；

2. Replacement（替代）原则

指使用其他方法而不用动物所进行的试验或使用低等实验动物代替高等实验动物；

3. Refinement（优化）原则

指在符合科学原则的基础上，优化实验设计和操作减轻实验动物痛苦。



第二节 动物实验设计的质量控制

四、动物实验设计应遵循的原则

为避免或缩小误差，实验设计时必须注意误差控制，遵循如下原则：

1. 对照性原则
2. 一致性原则
3. 重复性原则
4. 随机性原则
5. 客观性原则

动物实验设计应遵循的原则

1、对照性原则

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。没有对照组的实验结果是难以令人信服的。

对照应有可比性，即在“同时、同地、同条件”下进行。对照有两组对照方式，即自体对照和组间对照。

动物实验设计应遵循的原则

自体对照

自体对照有3种形式，即同一个个体身上观察实验处理前后某种指标的变化；同一动物在对侧部位一侧施加处理，一侧不施加处理；对侧部位交叉施加处理。

自体对照可有效减少个体差异对实验处理反应的影响。凡可进行自身对照设计的实验应尽量加以采用。

动物实验设计应遵循的原则

组间对照

组间对照是指将若干动物以随机抽样的方式，将其分为若干平行组，随机挑选一组作为实验组，另外一组作为对照组进行比较。

组间对照适用于需要多次进行实验观察的实验，有利于随时观察实验条件的变化，判断试验反应强弱及显著性等。对照组和实验组例数相等时统计效率最高。

动物实验设计应遵循的科学原则

组间对照

- ① 阴性对照组：包括空白对照组、正常对照组和假手术组，需要根据实验的具体情况设置。
- ② 阳性对照组：是用已知能达到预期阳性实验结果的处理因素作用于动物，其余非处理因素与其他组一致。
- ③ 实验对照组（模型对照组）：是指在研究过程中，给对照组施加施加部分处理因素，但不是被研究的处理因素。

心提供 [合格证号 SCXK (京) 2007-0001]。动物分笼饲养在 23~25 °C 室内,光照 12 h,食水随意。每日换笼 1 次,换水 2 次。观察 1 周后,健康成年小鼠随机分 6 组,每组 10 只,正常对照组:灌胃生理盐水 0.5 mL/次;模型组:灌胃生理盐水 0.5 mL/次;倍美力组:灌胃倍美力 0.40 mg·kg⁻¹·d⁻¹;中药高、中、低剂量组 (成人用药量 20, 10, 5 倍):灌胃四物合剂 15.0, 7.50, 3.75 mL·kg⁻¹·d⁻¹;各组均连续灌胃 14 d,并于灌胃第 2 天起正常对照组腹腔注射生理盐水 0.2 mL/只,其他 5 组腹腔注射顺铂 (CDDP) 3.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 7 d。第 15 天各组动物称重后取血,处死后取卵巢和子宫进行指标测定。

动物实验设计应遵循的原则

2、一致性原则

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。均衡一致是处理因素具有可比性的基础。

实验对象、实验条件、实验环境、试验时间、药品、仪器、设备、操作人员等均应保持一致。

动物实验设计应遵循的原则

3、重复性原则

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实验误差、降低实验误差和增强代表性，提高实验结果的精确度。同时为体现结果的真实性，保证实验结果能在同一个体或不同个体中稳定的重复出来也需要足够的样本数。最少的样本例数可按一般估测方法确定，也可以通过统计学方法进行测算确定。先分别介绍如下：

动物实验设计应遵循的原则

3.1 一般估测的样本数

小动物（大小鼠、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；

动物实验设计应遵循的原则

3.2 按统计学方法测算的样本数

在线样本量计算工具

<http://blueballon.cn/Sample/index.html>

<http://www.biomath.info/power/index.htm>

动物实验设计应遵循的原则

4、随机性原则

随机性原则就是按照机遇均等的原则来进行分组，其目的是使一切干扰因素造成的实验误差尽量减少，而不受实验者主观因素或其他偏性误差的影响。

随机性的手段可以采用编号卡片抽签法、随机数字表或者采用计算器的随机数值键等。

动物实验设计应遵循的原则

5、客观性原则

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

第二节 动物实验设计的质量控制

五、动物实验设计的基本类型

1. 单组比较设计

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。此法的优点是能排除个体间生物差异，但不适用于对同一个体上多次进行实验和观察的情况。还应注意有时候生理盐水等阴性对照下前后两次测量时一些指标也出现一定差异（如体重、血压等）

动物实验设计的基本类型

2. 配对比较设计

配对比较设计是指实验前将动物按照性比、体重或其他有关因素加以配对，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。两组动物的数量、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。

动物实验设计的基本类型

3. 完全随机化设计

完全随机化设计将动物随机分配到处理组和对照组做实验观察。现将动物按顺序编号，再用随机化工具，如查随机数字表，将动物分组。

这种设计统计分析比较简单、抗数据缺失能力较强。其缺点是对非实验因素缺乏有效控制，精确度较低、误差往往偏高。该方法适用于实验对象同质性较好的实验设计。

动物实验设计的基本类型

4. 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，可将一窝小鼠或者大鼠划为一个区组，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。

动物实验设计的基本类型

4. 随机区组设计

由于同窝动物在遗传、营养、微生物携带上的一致性都比较高，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，统计分析也比较容易。其缺点是抗数据缺失能力较低。如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。

动物实验设计的基本类型

5. 拉丁方设计

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，可进行不同横行或者不同纵列之间的对调，适合多因素的均衡随机。

1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4			
1	A	B	C	D	1	C	D	A	B	1	C	B	A	D
2	B	C	D	A	2	B	C	D	A	2	B	A	D	C
3	C	D	A	B	3	A	B	C	D	3	A	D	C	B
4	D	A	B	C	4	D	A	B	C	4	D	C	B	A
					1, 3两行对调					2, 4两列对调				

动物实验设计的基本类型

6. 正交设计

正交设计是研究多因素实验的一种设计方法，其特点是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、周期长的一类试验的设计。

正交设计在实验设计过程中只要根据试验条件直接套用正交表即可，而不需要另外编制。正交表在统计学书上都可以查到。

动物实验设计的基本类型

正交表

列号	因素		水平								
试验号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2
3	1	1	2	2	2	1	1	1	2	2	2
4	1	2	1	2	2	1	2	2	1	1	2
5	1	2	2	1	2	2	1	2	1	2	1
6	1	2	2	2	1	2	2	1	2	1	1
7	2	1	2	2	1	1	2	2	1	2	1
8	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	2
9	2	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1
10	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2
11	2	2	1	2	1	2	1	1	1	2	2
12	2	2	1	1	2	1	2	1	2	2	1

第三节 实验动物的选择

实验动物品种、品系众多，而各实验动物品种的生物学特性差异性较大，同一品种不同品系间也各有其具备优势的生物学特性。如何选择合适的实验动物是科研工作者在动物实验研究中首先碰到的问题。

动物实验研究中，必须根据实验动物的特点结合研究目的选择最适合实验目的的实验动物。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靠可信性、可靠性和可比性。

第三节 实验动物的选择

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、均一性原则

实验动物的选择原则

1. 标准化原则

标准化实验动物是指有清楚的微生物学和遗传学背景的实验动物。标准化原则是指动物实验中选择和试用与研究内容相匹配的标准化的实验动物。

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。许多突变品系动物具有与人类相似的疾病或缺陷，是研究人类相关疾病的重要模型。

实验动物的选择原则



高血压模型
(SHR大鼠)



肥胖模型
(Zucker大鼠)



糖尿病模型
GK大鼠



肥胖并糖尿病
模型
(db/db小鼠)

实验动物的选择原则

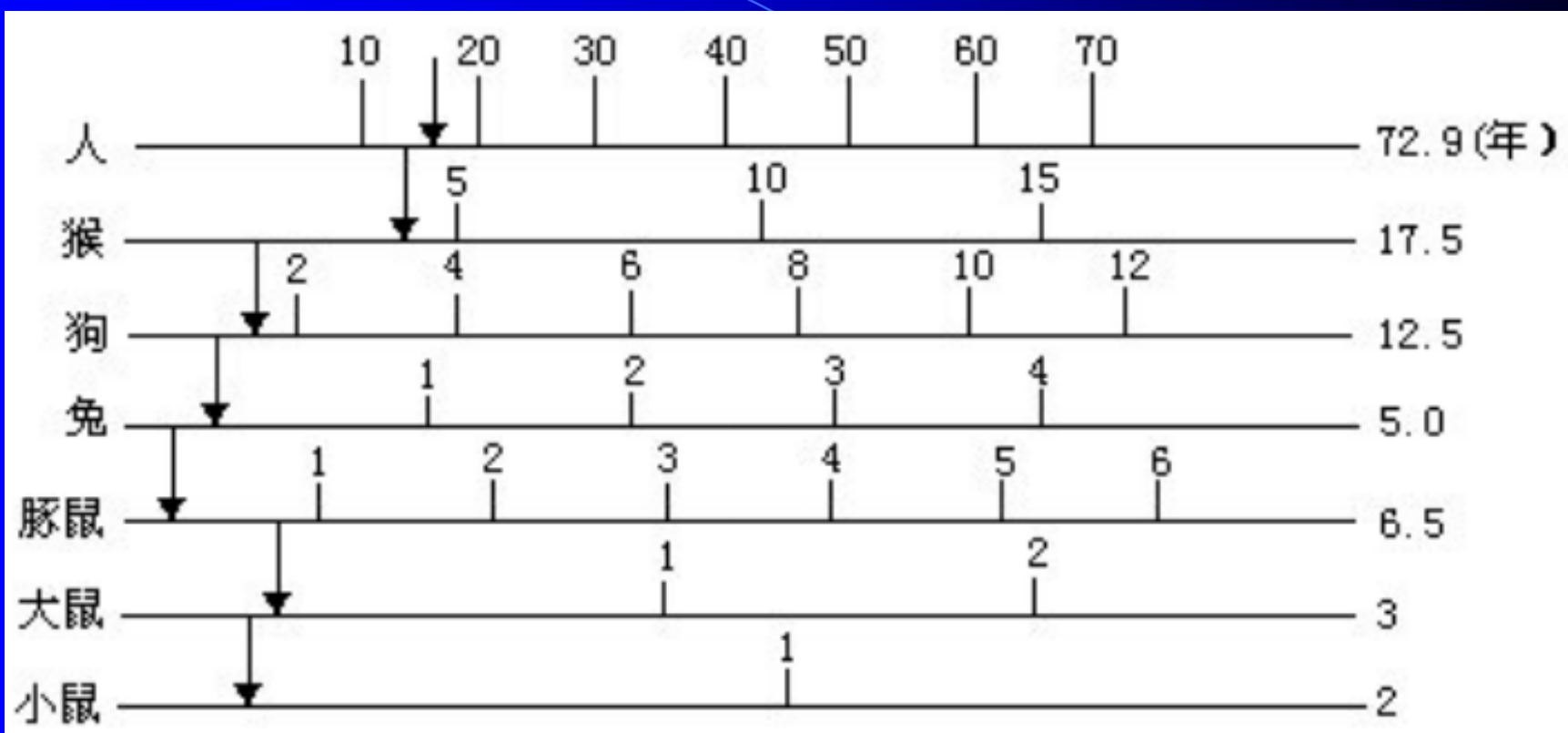
2. 相似性原则

相似性原则是指利用动物与人类生命现象（如机能、代谢、结构和疾病特点等）的相似性来选择实验动物。

例如：

烧伤研究模型动物----小型猪

因为小型猪的皮肤组织结构和人类相似，其上皮再生、皮下脂肪层、烧伤后内分泌及代谢等也类似人类。



人和各种实验动物的年龄对应图

实验动物的选择原则

3. 差异性原则

差异性原则是指利用不同种系实验动物机体存在特殊结构或者某些特殊反应选择解剖、生物特点符合实验目的和要求的实验动物。

例如：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。

实验动物的选择原则

4. 易化原则

选择进化程度高或者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。易化原则是指选择能够满足实验要求的最简单动物。

例如：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，成功地进行遗传性研究等。

实验动物的选择原则

5. 相容或匹配性原则

相容或匹配性原则是指所用动物的标准化品质与实验设计、技术条件、实验方法等相适应。

避免使用应用高精仪器、先进技术和昂贵试剂与低质量非标准化动物相匹配，反之亦然！

例如：购买SPF级动物饲养在普通环境中进行实验。

实验动物的选择原则

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。

例如：在可使用大鼠和犬做反复给药毒性实验时，选择大鼠。

实验动物的选择原则

7. 重现性、均一性原则

重现性和均一性是实验结果质量品质所在。若实验结果不能再现或不稳定，则结果的可靠性便成了问题。

选择基因型一致的近郊系和杂交F1代动物是保证结果可靠稳定的重要措施。

第三节 实验动物的选择

二、实验动物选择的基本意见

1. 呕吐-----选择犬、猫，不选择草食性动物和大鼠。
2. 过敏、变态反应-----豚鼠
3. 机体发热-----家兔
4. 药物致癌-----大鼠、小鼠
5. 药物对皮肤局部刺激-----兔、豚鼠、猪
6. 毒性物质对脏器损害-----小鼠
7. 动脉粥样硬化-----兔、大鼠

第四节 影响动物实验结果的因素

一、影响动物实验的个体因素与遗传因素

药物毒性研究表明，如以人体反应为衡量标准比较动物实验结果与临床试验结果，可出现真阳性、真阴性、假阳性、假阴性四种情况。前两种表示动物实验结果和人体实验结果基本一致，即动物毒性试验有实用价值。但这种相似属定性的，在定量上则肯定存在差异。后两者显示药物反应的种属差异，即实验动物未出现的毒性反应却在人体出现（假阴性），或实验动物出现的毒性反应在人体不出现（假阳性）。

反应停导致的“海豹肢畸形”



沙利度胺（反应停）在大鼠不引起畸胎，对人则有较强的致畸胎作用，其动物毒性实验为假阴性。

影响动物实验结果的个体因素与遗传因素

实验动物种属、品系及个体差异对动物实验结果的重复性和均一性有重要的影响。

实验动物对处理因素的反应具有明显的个性化差异，这与实验动物机体的健康状况、年龄、性别和营养状况有关。

第四节 影响动物实验结果的因素

二、实验技术环节对动物实验效果的影响

1. 药物因素：如实验中的一些抗生素、麻醉药对实验动物有毒性。给药途径、浓度、剂量、给药次数都会影响实验结果。

2. 实验季节：生物体的许多功能都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。

实验技术环节对动物实验效果的影响

3. 给药时间与试验周期：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。动物实验的给药时间应当一致。一是可比性强，二是避免错误，而影响其他药理实验甚至临床用药。

4. 手术技巧（操作技术）：操作熟练可以减少动物的刺激，提高实验成功率和实验结果的正确性，减少实验误差。

第四节 影响动物实验结果的因素

三、影响动物实验效果的环境因素

1. 环境温度：环境温度的改变可以引起不同程度的生理、生化系统和机体内环境稳定系统的改变，从而引起某些生理情况（通气、循环、体液、中间代谢、机体防御系统状态等）的改变，进而影响到实验结果。。

影响动物实验效果的环境因素

2. 环境湿度：湿度过高实验环境中微生物易于繁殖，动物易患疾病；湿度过低（如低于40%）则易尘土飞扬，对动物健康不利。

3. 空气流速及清洁度：空气污浊易造成呼吸道疾病的传播。空气中氮含量过多可刺激动物粘膜引起流泪、咳嗽等，甚至可以引起肺炎、肺水肿。

影响动物实验效果的环境因素

4. 光照与噪音：光照与动物的性周期有密切关系。噪音可引起动物紧张，并使动物收到刺激，引起动物在生理及行为学上的异常反应。

5. 动物饲养密度：过分拥挤的饲养环境会引起动物不安、烦躁、激怒、相互斗杀等异常行为。

5. 动物营养：保证动物足够量的营养供给是维持动物健康和提高动物实验结果可靠性的重要条件。

第五节 GLP认证对动物实验管理的要求

一、药物非临床研究质量管理规范

---GLP (Good laboratory practice of drug)

GLP基本精神： 是通过试验过程中的标准化和规范化，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。

GLP管理规范已成为世界药品安全性评价的通行标准。GLP规范对实验动物的种类、饲养、检疫和实验环境都做出了详尽而严格的规定。

第五节 GLP认证对动物实验管理的要求

二、标准操作规程

---SOP (Standard Operation Procedure)

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流程（SOP）则是解决“怎么做”的问题，是保障GLP得以实现的具体方法。

第五节 GLP认证对动物实验管理的要求

三、GLP认证对动物实验管理的要求

1. 对实验动物中心工作人员的要求；
2. 对动物实验设施的要求；
3. 相关SOP的指定和配备；
4. 原始资料的保存；
5. 对实验动物管理的要求。

GLP认证对动物实验管理的要求

1. 对实验动物中心工作人员的要求

实验动物中心工作人员要理解和掌握GLP法规中的有关实验动物管理方面的要求，严格按照SOP操作，所有工作人员必须取得实验动物行业从业人员上岗证，也要求实验动物中心工作人员专业齐全且分工明确。

GLP认证对动物实验管理的要求

2. GLP对动物设施的要求

我国《药物非临床研究质量管理规范》中要求药物安全评价机构应：“具备设计合理、配置适当的动物饲养设施，并能根据需要调控温度、湿度、空气洁净度、通风和照明等环境条件。实验动物设施条件应与所使用的实验动物级别相符。

GLP认证对动物实验管理的要求

3. 相关SOP的制订和配备

3.1 SOP的制订与实施

SOP制订的一般程序如下：由部门负责人或有经验的技术人员起草，经质量保证部门审核并签字确认、机构负责人书面批准；任何修改要再经过质量保证部门审核，机构负责人批准。制订的SOP有内部法规性，相关人员必须严格执行。

GLP认证对动物实验管理的要求

3.2 SOP的制订范围

按我国GLP规定，非临床研究机构中官员实验动物管理与使用的SOP应当包括：动物房和实验室的准备及环境因素的调控；实验设施和仪器设备的维护、保养、校正、使用和管理；实验动物的采购运输、检疫、编号及饲养管理，实验动物的观察记录及实验操作；濒死或已死亡动物的检查已经废弃物处理。

GLP认证对动物实验管理的要求

4. 原始资料的保存

实因为 GLP 的检查不承认没有可靠文字记录的任何实验和宣称执行 GLP 的非书面表述, 所以必须忠实的书面记录实验全过程、并保持原始性, 归档保存一切有用的记录。动物实验室的原始资料包括各种证明材料和记录材料。

GLP认证对动物实验管理的要求

5. 对动物实验管理的要求

实验动物的采购、运输、检疫、编号及饲养管理，实验动物的观察记录及实验操作，濒死或已死亡动物的检查已经废弃物处理这些方面GLP均有明确规定，须按照SOP严格执行。

Thank you !