

实验动物的 10 个“不愿意”

魏 强

(中国医学科学院医学实验动物研究所,北京 100021)

(接上期)

10 它们对未做好动物实验准备的人可以说不

动物实验的过程既是科学研究的过程,也是人和动物相互“碰撞”的过程。动物不理解人类拿它们在干什么,一定会对操作、伤害做出反抗、攻击,可能会伤害到人。动物实验可能带来的危害主要有:一是动物咬伤、抓伤等直接危害;二是动物携带人兽共患病病原,在操作过程中通过空气、分泌物、直接接触等途径感染人类;三是人类高致病性病原感染动物实验,从动物或环境再感染人。

实验动物、分泌物、排泄物、样品、器官、尸体等控制、操作不当会变成病原污染的扩大器,造成大范围传播,因此,了解实验动物特性,就知道了动物实验首先要做好思想准备,并通过不断实践,掌握动物操作的基本技术和处置、护理技能,防备于未然。

动物实验的基本操作技术包括很多方面,都应该熟练掌握,如:实验动物的抓取和固定方法、标记方法、被毛的去除方法、给药途径和方法、取血及采样方法、手术方法以及处死方法等。只有熟练掌握了这些方法,做好充分的实验准备,才能顺利完成动物实验。

曾经见过这样的动物实验:10 只小鼠被灌胃后,马上口鼻出血,翻滚挣扎很快死亡。原因是根本没有掌握动物实验技术,不练习、想当然,结果药物没灌入胃内,却灌入了肺中。

我们怎样做呢?面对实验动物的“不愿意”,面对实验动物、动物实验我们做好准备了吗?在动手之前,你认真思考了以下问题吗?

1. 你有关护、善待动物的意识吗?动物福利,大的方面讲就是让动物在康乐的状态下生存,其标准包括动物无任何疾病、无行为异常、无心理紧张压抑和痛苦等。基本原则包括:让动物享有不受饥渴的自由、生活舒适的自由、不受痛苦伤害的自由、



实验人员要求熟练操作动物实验。

生活无恐惧感和悲伤感的自由以及表达天性的自由。小的方面就是在实验的每个环节,贯彻对动物尽可能的照料。有了这种意识,就会在实验过程中同情、呵护实验动物,使动物实验具有人文性、文明性和科学性,在相对舒适的、感谢的氛围中完成科学实验,同时形成良好的文化操行。

国外和国内的许多单位,都设有实验动物感谢纪念碑。开学伊始,实验之后,大家手捧鲜花,鞠躬再三,感谢实验动物对人类的贡献。

2. 你真的了解实验动物吗?动物种类不同,生物学特性也不相同,对实验的要求也不同。在做动物实验之前,一定要弄清动物的特性。如啮齿类动物,课本上一般介绍,啮齿类动物是昼伏夜动的杂食动物,喜啃咬硬物,性情较温顺,雄鼠好斗,汗腺不发达,嗅觉灵敏,对噪音敏感,对于湿度要求严格,雄鼠具有分泌醋酸氨臭气的特性,是引起饲养环境产生特异臭气的重要原因。它们的垂体、肾上腺功能发达,应激反应敏感,行为表现多样,情绪敏感。对于空气中的灰尘、氨气、硫化氢极为敏感,如饲养间不卫生,可引起大鼠患肺炎或进行性肺组织坏死而死亡。噪音能使它们内分泌系统紊乱,性功能减退,食仔或死亡,所以饲养的环境必须安静。但在实际使用中,能充分理解么?

讲几个小故事,对这些动物特性的生物学意义,可能理解的更好。有人在做动物实验时,觉得小鼠、大鼠很可爱,因此,他在食堂吃什么,就给小

鼠、大鼠带回来一些。并且随时打开鼠盒,查看动物情况。这样做,严重干扰了啮齿类动物“喜啃咬硬物”和“昼伏夜动”等习性。

有人将 10 只成年 KM 小鼠放在一个鼠盒中,第一天发现它们打斗非常厉害,第二天面部、尾巴等部位出现外伤,等第三天找来新鼠盒,准备分开饲养时发现,动物不再打斗了,安定下来了。问为什么,答曰经过打斗,动物各自地位明确了,不再争斗了。其实不然,小鼠因是昼伏夜动物,打斗在夜间更凶残,甚至将其他动物的睾丸咬掉,这样打斗才会停止。如果不注意观察,不了解动物习性,如果做雄鼠相关实验,那么一定要注意,这些动物还是雄性的吗?

还有这样的事情发生,一个动物室在做雌性小鼠性周期相关实验,其他人带入雄性小鼠。如果了解动物习性,就会知道雄鼠会分泌醋酸氨,这也是鼠类特有的臭味。醋酸氨对人来讲非常难闻,但对雌性小鼠,是最强的诱导气味,就像雄鹿分泌的麝香,具有环境激素的作用,会严重干扰雌性相关实验。

3. 你具备动物实验的能力吗? 动物实验不同于体外实验,任何对动物带来的不良操作,都会影响实验结果。动物实验的结果应该是客观、公正、准确的,要求实验人员必须了解正确的操作和结果判断。北京地区在这方面做得非常好,要求所有从事实验动物和动物实验的人员,包括临时实验人员,必须经过一定时间的培训,考试合格,并取得上岗证后,才能进行动物实验。动物实验的能力,包括动物饲养能力、对动物认知能力、操作能力、信息采集能力、分析能力和管护能力。具备了这些能力,才能完成良好的动物实验。

以下是一些能力不足的表现:



动物实验根据病原危害程度可采取不同的实验环境,但必须通过风险评估确认。

山羊非病原性实验可在清洁的“场地”进行;啮齿类动物实验要求控制在良好的设施内。

实验室摆放食物和饮料、在实验环境中饮水、吃食、抽烟、化妆等一般不被许可。(中图由徐平提供)

看过一篇博士论文,讲的是用中药汤剂,治疗裸鼠移植性肿瘤。具体方法为,每次 3ml 灌胃,每天 3 次,10 天后肿瘤体积减少,得出结论为治疗有效。其实,结果不对。成年小鼠一般体重 40g,胃容量 0.8 ~ 1.5 mL,怎么灌进去 3ml? 即使灌进去了,一天的量为 9 mL,如果换算成 40 Kg 人的话,每天得喝 9 L 汤药,大致 20 瓶矿泉水,谁受得了? 人还能正常饮食么? 还能保证营养么? 小鼠肯定痛苦不堪,迅速消瘦。肿瘤细胞较正常组织对营养的依赖更大,变小是肯定的,但不是汤药的作用,是“饥饿疗法”的结果。肿瘤重量的变化测定应该考虑动物体重变化,测定脏器系数比较客观。

有人做流感的动物实验,临床表现是这样描述的:动物第一天开始发烧、流涕、乏力、头疼、恶心、呕吐、无食欲、关节疼.....。你怎么知道动物乏力、头疼、恶心、无食欲、关节疼这些主观体验呢? 动物实验的信息采集,一定要客观描述,如使用动物活动减少、摄食量减少、精神萎靡、被毛脏乱等术语。有些人类出现的主观体验,如乏力、恶心等对动物来讲是不得而知的,动物实验是为人类服务,不能反过来把人类的临床主诉,强加于动物。

动物采血是最常见的操作,如果不了解准确的部位,加之血管非常细小,如小鼠的尾静脉,不通过反复练习,临时或匆忙上阵,会造成动物反复损伤。在一项猴动物实验中,要求每次采血 10ml,一周 3 次,连续 3 月。这点血对人来说不算什么,对 4Kg 的猴是不可以的。4Kg 的猴血量大致 350ml,算一算就知道为什么不行了。其他动物也是这样,采血过多过频,是最易忽视的。

动物活体检测、外科手术、活体采样、解剖取材等技能更是要求人员能够熟练掌握。必须经过严格培训,才能实际应用。

4. 你具备生物安全防护能力吗? 提起实验室生物安全, 大家会想到发生过的许多“著名”事件和事故, 包括实验室人员感染结核、出血热、猴 B 病毒, 甚至 SARS 等。其实, 实验室生物安全事件造成的实验人员得病、死亡只是极端例子。而无时无刻发生在实验室涉及的化学品、药品、试剂、辐射、热、电、水、病原微生物、实验材料以及实验动物等造成的潜在或一般性事件, 很容易被忽略。

大家知道, 实验室操作主要分为体内和体外实验, 也就是说动物操作和试管操作。动物实验相关实验室既涵盖了一般实验室的生物安全要求, 同时也使得实验室生物安全变得更加复杂和多变, 人员要求更加严格, 生物安全事件也相对较多。

我们时常感到不适、乏力、精神差, 有时发烧、局部瘙痒、疼痛, 血清检测发现许多病原抗体阳性, 等等诸多情况发生时, 可能意味着受到了实验室不安全因素干扰, 使我们健康受到了伤害。特别是病原微生物的感染, 不仅威胁到个人, 可能还会造成不同程度的扩散, 导致环境、外部人员感染, 甚至成为疾病传染源。

实验室生物安全是每个实验室人员应该高度重视的问题, 实验的每个环节都会有潜在风险。大家往往想, 这些事件总是发生在别人身上, 不会在我身上发生。其实不然, 大家是在一个环境中工作, 从事类似的操作, 面临相似的问题, 加之我国教育体系中缺乏良好的实验室生物安全教育、培训课程。大家并没有严格、专业的实验室风险识别和风险控制意识和技能, 实验室环境也没能形成安全、清洁的文化氛围, 只要查一查, 每天都会有许许多多程度不同的生物安全隐患和风险。

动物存在哪些危害, 怎样防护? 对某种化学品的危害你了解多少? 溅到身上怎么处置? 生物安全柜怎样正确使用? 等等问题, 都需要我们认真思考, 至少先要有良好的安全意识, 然后形成实验室安全操作规范, 通常国际上称为 SOP, 大家在进行动物实验之前, 应该了解清楚, 才能及时应用。

在做动物实验操作时不戴手套、不戴口罩、不戴面具、野蛮操作、忽视防护等是非常不负责任的行为。

5. 你知道动物实验要经过审查批准么? 一般实验人员不太关注动物福利、伦理, 或不够专业。因此, 国际上提倡成立动物实验福利、伦理委员会, 负责审查动物实验, 对每个环节把关。

动物实验福利、伦理审查的基本原则是兼顾动物福利和人员利益, 在综合评估动物所受的伤害和使用动物的必要性基础上进行科学审查。涉及动物保护、动物福利、伦理、科学需要等各方面内容。遵循动物保护原则, 禁止无意义滥养、滥用、滥杀实验动物, 制止没有科学意义和社会价值或不必要的动物实验。

动物福利原则强调保证实验动物的权利。伦理原则, 既要考虑动物的利益, 善待动物, 又要保证实验动物项目的科学性, 还要保证实验人员的安全, 同时, 要求动物实验方法和目的应该符合人类的道德伦理标准和国际惯例。

动物实验方案审查的内容应该包括: 实验人员是否符合操作要求; 设施设备是否符合动物要求; 饲料、垫料、饮水是否符合动物要求; 动物运输是否符合要求; 实验方案是否符合动物福利要求; 动物处置是否符合伦理规范; 动物处死是否符合安乐死原则; 动物尸体处理是否符合环保要求等等方面。

动物实验福利伦理审查中应注意的问题非常多, 主要有以下一些:

人员培训情况: 动物实验人员必须经过操作培训, 包括: 动物基本知识、动物操作、麻醉方法、手术方法、给药方法、取材方法、解剖方法等各种操作, 最好持有专业培训证书。

兽医监护: 动物实验中必须配备兽医人员。兽医的基本职责之一就是代表动物利益, 维护动物权利。认为对动物伤害过大时, 可建议、劝告、终止实验。

是否正确选择动物: 应该选用合适品系和级别的动物用于实验, 提倡在得到足够结果时最大限度地减少动物数量的使用。尽量使用遗传背景一致性好的动物和微生物控制级别高的动物, 可以做到以质量代替数量。

动物实验的必要性: 提倡替代性生命系统、非生命系统、电脑模拟的应用。离体培养的器官、组织、细胞、微生物在许多研究中得到广泛应用, 能够利用替代性材料时不使用活体动物。如能进行电子模拟、体外方法进行替代实验的, 就不易进行动物实验。提倡使用低等动物, 代替高价的实验动物。

动物实验方案的合理性: 严谨合理的方案应使动物操作合理正确, 减少外伤, 减少疼痛。使用合适的统计学方法, 鼓励用少量动物获得较多结果。

动物运输: 运输过程中要避免碰撞和惊吓动

物,饲料饮水充足。运输笼盒空间要保证动物活动自如。长途运输要保证良好的通风。运输最易使动物产生疲惫、不安,甚至死亡,尽量提供良好、舒适的运输方法。

动物饲养:要正确饲养动物,饲养空间要足够大,保证饮水质量,食物要干净,室内、外环境要保持卫生清洁,最好增添色彩。尽量让动物感到自己是快乐的。

实验过程:应尽量在麻醉状态下进行动物实验。实验开始前,准备工作要充分,各种可能发生的意外事故和解决方案均要考虑周全。实验中,要密切关注动物表现和反应,动物麻醉苏醒后要有人看护,避免出现误食、磕碰、病情恶化等情况。

控制疼痛:应判断实验造成动物疼痛的等级。应考虑使用一切手段以减少动物在实验过程中所产生的疼痛,合理使用必要的麻醉剂、镇痛剂或镇静剂。使可能的疼痛降低到最低限度,是我们呵护动物最应该做的事情。

减少对动物侵扰:尽量不过多干扰动物,减少对动物的刺激,避免应激反应。正确而熟练地抓取动物、固定动物,使动物不会剧烈反抗。鼓励人性化动物保定技术,必要时对动物进行训练调教,使其在“我愿意”的情绪下配合实验,使实验结果更加可靠。

具体舒适措施:提倡提供必要的玩具,特别是犬、猴。有条件时可以给动物增加音乐和色彩环境,对于中大型实验动物实验会产生较好效果。尽量保证恒温恒湿、通风换气、噪音、光照度等的合理,同时,设置必要的活动场地,创造相对愉悦环境,对身心。

动物的处死:对实验结束后的动物要施行安乐死,注意不能在其它动物可视范围内进行动物解

剖、处死等操作。试想一下,动物受到死亡威胁或直接面对死亡会怎样想,我们永远不应该和动物结下“死结”。



实验人员要时刻尊重并善待实验动物,营造轻松、惬意的人文环境(由徐平提供)。

结束语

有人会问,实验动物就是被用来做实验的,如果说不愿意,从根本上来讲,它们最不愿意被用于实验。也有科学家质疑动物实验的结果,认为目前的实验结果大部分不能得出正确结论,应该叫停动物实验,特别是高等级动物实验。一般动物保护理念也认为应谨慎进行动物实验,更有甚者,极端反对动物实验,并付诸各种各样的行动。

我们如何看待这些问题呢?可能我们目前能做到的就是,充分认识到动物的“不愿意”,要有关护动物的爱心和意识,尽力提供动物舒适的实验环境,熟练掌握实验技术,从每个环节上将可能的痛苦减到最低,积极探索替代方法,减少或不用动物做意义不大的实验……。

总而言之,实验动物“不愿意”的程度,掌握在每个实验人员的手中。