

行政院及所屬各機關出國報告
(出國類別：實習)

美國杜蘭大學靈長類動物中心研習
靈長類動物飼養管理及傳染病研究

服務機關：農業委員會家畜衛生試驗所
出 國 人 職 稱：副研究員、助理研究員、助理研究員
姓 名：黃金城、李璿、鄧明中
出國地區：美國路易斯安那州
出國期間：民國九十二年八月三十一日至九月二十一日
報告日期：民國九十三年四月一日

F0/c09301391

行政院及所屬各機關出國報告提要

頁數 19 含附件：否

報告名稱：

美國杜蘭大學靈長類動物中心研習靈長類動物飼養管理及傳染病研究

主辦機關：

行政院農委會家畜衛生試驗所

聯絡人/電話：

施進票/02-26212111 轉 110

出國人員姓名/服務機關/單位/職稱/電話

黃金城 行政院農業委員會家畜衛生試驗所 豬瘟研究組 副研究員

李璠 行政院農業委員會家畜衛生試驗所 豬瘟研究組 助理研究員

鄧明中 行政院農業委員會家畜衛生試驗所 豬瘟研究組 助理研究員

出國類別：實習

出國地區：美國

出國期間：民國九十二年八月三十一日至九月二十一日

報告日期：民國九十三年四月一日

分類號/目：FO/綜合（農業類） FO/綜合（農業類）

關鍵詞：靈長類、第三級生物安全、SARS

內容摘要：靈長類動物試驗與一般家畜的動物試驗有著極大的差異。靈長類動物由於智力較高，對飼養環境、管理人員訓練與個體互動關係的需求亦較一般動物高出許多。本次受訓地點位於美國路易斯安那州的杜蘭大學國家靈長類研究中心，研習項目包括：靈長類動物之飼養管理、一般性實驗操作以及相關之病理學檢查等，並參觀該中心的第三級生物安全動物舍之相關設施。其中一般性操作以及病理學檢查等方式對我國將來要進行SARS動物試驗有著相當大的助益。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網 (<http://report.gsn.gov.tw>)

目錄

前言.....	1
出國研習.....	1
研習地點簡介.....	1
研究機構介紹.....	2
動物倫理、動物福利與環境優質化.....	7
靈長類動物的病理學檢查.....	9
靈長類動物之實驗操作.....	11
靈長類動物之一般檢查與結核菌素測驗.....	13
第三級生物安全動物舍設施之參觀.....	16
後記.....	16

前言

自本(九十二)年三月十四日臺北市出現首件嚴重急性呼吸道症候群(Severe acute respiratory syndrome, SARS)疑似病例開始，其後的三個多月期間，我國經歷了近年來最嚴重的傳染病疫情，也讓衛生體系面臨了嚴峻的考驗。隨著疫情的逐漸降溫，七月五日世界衛生組織將我國自疫區除名，政府與學界除了重新審視國內的公共衛生政策，也同時著手對此一新興疾病的診斷與防治技術進行研究。

本年五月十四日，中央研究院李遠哲院長與臺大醫學院院長陳定信院士等學者，為協調 SARS 相關試驗研究事宜訪問本所，瞭解本所之現有設施及人力資源。諸位專家學者均同意在國家推展生物科技的政策目標下，成立專門的國家級靈長類研究中心，對國內的生物科技發展確有必要。然而，在國內缺乏靈長類動物研究的軟硬體背景，短期內亦不可能成立新單位支持眼前需求的現況下，本所具備負壓隔離式建物，主要研究人員多以獸醫為其專長，為目前國內最有能力承接 SARS 靈長類動物試驗的機構。為支援國內以靈長類動物對 SARS 疫苗與生物製劑進行效力評估的短期需要，本所乃於五月份研提「P3 負壓實驗室升級至 P4 級以供 SARS 疫苗研發之動物保護效力評估」專案計畫，著手進行本所硬體設施與人才素質的提昇。所需經費二千四百餘萬元，由行政院 SARS 專案研究經費支應。

出國研習

國內靈長類動物試驗的基礎極少。美軍駐臺期間，美國海軍第二醫學研究所曾以靈長類動物進行熱帶傳染病的研究，臺美斷交後，國內的相關研究幾乎中斷長達二十年以上，擁有靈長類動物傳染病研究經驗的人員亦幾近闕如。為建立靈長類動物研究與管理的基本能力，本所主動與美國數所靈長類研究機構接洽後，於本年八月底派遣三名學員前往美國杜蘭大學國家靈長類研究中心(Tulane National Primate Research Center)學習靈長類動物的飼養管理與傳染病實驗技術。

研習地點簡介

杜蘭大學(Tulane University)坐落於路易斯安納州紐奧良市(New Orleans)。

奧良位於密西西比河三角洲，市區北臨龐嘉屯湖(Lake Pontchartrain)、南倚密西西比河，人口約五十萬人，是美國南方的重要港埠與石化工業重鎮，也是路易斯安納州的第一大城。西班牙人早在十六世紀即至當地探險。1682 年法國人宣稱密西西比河流域為法國領地，並以法王路易十四(King Louis XIV)之名為「路易斯安納(Louisiana)」命名。1762 年法國為與西班牙結盟，將密西西比河西側領地與紐奧良贈與西班牙。1803 年此地再度易主，美國在傑佛遜總統任內以一千五百萬美元向西班牙購得路易斯安納，1812 年路易斯安納州正式成為美國的第十八個州，以貝騰羅格(Baton Rouge)為州政府所在地。也因為多種文化的薰陶，紐奧良充滿著濃濃的異國風情，並以美食與爵士音樂聞名。市中心的法國區(French Quarter; Vieux Carré)，更保留了法屬時期的大批原始建築，成為著名的觀光勝地。

杜蘭大學的前身為 1834 年成立的路易斯安納醫學院(Medical College of Louisiana)。1884 年改制為私立大學，並以主要捐款者保羅杜蘭(Paul Tulane)為該校命名。目前杜蘭大學擁有 11 個學院，學生總人數約 12,000 人。由於該校以醫學院起家，公共衛生學與熱帶醫學在全美享有盛名，目前也是全美唯一授與熱帶公共醫學碩士學位的學校。

研習機構介紹：

杜蘭大學國家靈長類研究中心為美國八所國家級靈長類研究中心之一，隸屬於杜蘭大學健康科學中心(Health Sciences Center)，位階與校內的學院相當。然而營運經費獨立於校方之外，全數由美國國家衛生院(National Institute of Health, NIH)資助。該中心以人類免疫不全病毒(HIV)、猴免疫不全病毒(Simian immunodeficiency virus, SIV)、猴反轉錄病毒(Simian retroviruses)、瘧疾、西尼羅病毒等傳染病為主要研究主題，近年來的研究主題更延伸至基因治療與輔助生殖技術(Assisted reproductive technologies, ART)等領域。中心內進行數種靈長類動物之繁殖與無特定病原動物培育工作，供應美國其他研究機構靈長類實驗動物的需求。在疾病研究模式的建立與靈長類飼育管理方面，該中心皆有非常豐富的經驗。

中心佔地 500 英畝，共分為相鄰的兩個區域。較小的區域包含了所有辦公區、實驗室與動物舍等九棟主要建築：A 棟為行政辦公室、圖書館及講堂；B 棟為微生物、病理、寄生蟲等實驗室及手術室、幼齡動物舍；C 棟為辦公室及實驗

室；D 棟為獸醫診療站；E 棟為第三級生物安全動物舍；F 棟為檢疫用動物舍；G 棟為鍋爐室；H 棟為動物舍；I 棟為血清庫。較大的區域為戶外畜養場(Vivarian)

在組織架構上，中心的最高主管(Director)為 2002 年 10 月 1 日到任的 Andrew Lackner 博士，其下分為三個部門：

(一)行政組(Administration and Operations)：有行政支援、設備支援、資訊技術、圖書館、安全辦公室、保全等單位。

(二)研究及科學組(Research and Science Divisions)：有細菌與寄生蟲學、合作研究、比較病理學、基因治療、微生物與免疫學等單位。

(三)獸醫組(Division of Veterinary Medicine; Veterinary Resources)：本部門為靈長類研究中心的最大部門，所佔人力(約 100 人)與經費(每年約 120 萬美元)亦最多。細分為五組：

(1)臨床研究科(Unit of Clinical and Research Medicine)

(2)研究資源科(Unit of Research Resources)

(3)繁殖生物學科(Unit of Reproductive Biology)

(4)環境優質化與行為研究科(Unit of Environmental Enrichment and Behavioral Research)

(5)動物資源科(Animal Resources)

獸醫組的主要職掌在提供所內動物所需的飼養、繁殖、醫療資源，並提供實驗計畫所需要的技術協助。詳述如下：

一、動物照顧與飼養：

(一)飼養場所：靈長類研究中心養之靈長類共有 *Cercocebus torquatus*、*Cercopithecus aethiops*、*Erythrocebus patas*、*Macaca fascicularis*、*Macaca mulatta*、*Macaca nemestrina*、*Papio spp.*、*Saimiri sciureus* 等八種，總數近五千頭。其中四分之三的動物飼養在戶外的畜養場。戶外的飼養環境主要在提供動物社會化的繁殖環境，預備進行試驗、試驗中及醫療照顧中的動物則飼養於室內動物舍。

(二)食物：主要食物為 Teklad 非人類靈長類動物飼料，每週另提供三次蘋果、柳橙、香蕉等水果。若因環境優質化需要，亦可依需要另行補充其他食物。

(三)飲水：所有籠舍皆配置自動飲水系統。動物飲用水的水源來自中心內

深達 1800 英尺的自流井，水質未經特殊處理，每季州政府衛生部會提供大腸菌污染監測服務。

- (四)清潔工作：不鏽鋼猴籠每兩週清洗一次。動物舍內的殘餘食物、污物與動物排遺皆以沖洗方式清除。沖洗過的籠舍移入自動清洗機內以華氏 180 度(約攝氏 80 度)的清潔劑與清水洗淨。每週皆對清洗過的猴籠隨機採樣進行微生物監測。不鏽鋼餵食器亦每兩週清洗、消毒一次。若使用水瓶提供飲水，水瓶及配件必須經過四級銨消毒劑浸泡、刷洗、浸泡漂白水、洗淨、風乾之程序，才能再度使用。運輸動物的車輛在每次使用之後，必須以四級銨消毒劑進行消毒。動物舍的消毒每天進行一次。先以水柱沖洗表面，刮去積水，地板再以四級銨消毒劑消毒。房間內的固定物品或水管至少每兩週擦拭一次。門每週至少清潔一次。走道每天以四級銨消毒劑拖一次，拖把以消毒劑浸泡消毒。清潔用品每間動物舍各自獨立，絕不流通使用。
- (五)廢棄物處理：污物與墊料收集在厚塑膠袋內，每週焚化兩次。動物屍體以厚塑膠袋密封，標註動物編號、日期、研究人員姓名、技術人員姓名後，送至解剖房冷藏庫，由比較病理科進行剖檢後焚化處理。感染性廢棄物應以標有生物危險標記(Biohazard label)的可高壓滅菌塑膠袋盛裝，移出感染趨前必須先經過高壓滅菌處理，再送至焚化爐焚毀。有毒及放射性廢料之處理必須裝在內襯雙層塑膠袋、桶身有放射性物質標示的容器內。容器滿時，有毒及放射性廢料依其種類及規定進行焚化、儲存或運輸等後續處理。
- (六)動物識別：中心內所有靈長類動物皆給予永久性的刺青作為標記。新進的動物在進入中心一個月內必須予以刺青。動物放養於戶外畜養場時，會併用有色頸圈、掛牌或顏料作為輔助辨識的標記，以減少捕捉動物判讀刺青的需要。狒狒(Baboon)與豬尾猴(Pigtailed macaque)均給予頸部掛牌作為輔助識別標誌。由於刺青會隨時間而逐漸褪色，目前正逐步改為以晶片植入作為身份辨識的依據。
- (七)動物記錄的保存：中心內有一資訊技術小組，提供改寫自 Blacksmith 資料庫的資料儲存系統，用以紀錄每頭動物的臨床照顧、飼養管理、病理與試驗研究記錄。資料庫每日更新，內容包括基本資料、飼養場

所、實驗參與記錄、結核菌素試驗記錄、體重、繁殖記錄、臨床實驗室資料、手術報告、臨床檢查紀錄、遺傳學試驗結果、病毒學試驗結果、病理報告。

- (八)緊急狀況與假日照顧：包含假日內每天皆有獸醫人員輪值，輪值獸醫師皆配給呼叫器與行動電話以提供全天候支援，高階主管與獸醫師亦輪值假日。需要支援時，輪值表與聯絡電話可向安全人員取得。假日的工作人員較少，工作時間為上午 6:30 至 10:30。除非有特別需要，通常不在上班時間以外進行試驗工作。安全與設施維護人員 24 小時執勤，每小時巡視中心內的安全、溫控、照明等狀況。鍋爐與冷凍庫皆有警鈴連結至監控室。
- (九)品質確保：中心的工作品質確保由品保專員負責，定期將記錄向動物資源科科長報告，並透過訓練維持品質的穩定。
- (十)工作排程：所有的實驗室工作皆必須事先排定。實驗申請必須每週四中午前提出，並於次日(週五)中午討論後決定。申請實驗支援的內容須包括工作時間、實驗內容、動物編號、操作程序序號、主要研究人員姓名、工作場所、參與試驗的技術人員及獸醫師。
- (十一)訓練：所有參與動物試驗工作的人員事前皆須觀看包含動物試驗簡介、中心人員政策、安全規範、靈長類試驗工作標準操作、職業安全、人畜共通疾病等內容的錄影帶。所有學校教職員與學生在參與動物試驗之前皆須經過適當的訓練。所內的生物安全官亦提供有關生物安全的訓練課程。

二、獸醫照護：

- (一)預防醫學：所有引進中心之靈長類動物皆合法自美國農業部註冊之進口商購得。新進動物皆在 F 棟動物舍進行 90 日的檢疫。檢疫期間每兩週進行一次結核菌素試驗，並定期進行血球計數、血液生化、糞便培養、血液抹片、病毒試驗、心絲蟲幼蟲試驗(Knotts test)等檢查。檢疫結束前必須拍攝胸腔 X 光片存檔。在檢疫舍內，動物與原先同群的動物同居，並不進行隔離飼養。檢疫結束後，動物移至畜養場成群飼養。C 棟建築的 110 動物室目前提供生病動物隔離照護的空間，來自無特定病原族群的生病動物則在 B 棟與 D 棟進行治療。此三個動物室

皆為負壓環境，新鮮空氣亦為全外氣方式提供。

- (二) 監測、診斷、治療與控制疾病：照顧動物的人員每日利用餵食及清潔的時機觀察動物的健康情形。經過資深人員與獸醫師的訓練，照顧人員可以就近觀察行為的異常變化，並立即向其主管報告。主管隨即通知獸醫師有關該動物的編號、位置與異常現象，以提供進一步的協助。中心內的比較病理學科提供病理學的服務，病毒學、寄生蟲學、細菌學等學科提供微生物學的服務。畜養於戶外的動物每天進行觀察，利用餵食的時間了解其受傷或生病的現象。每年至少兩次將群居的動物集中，進行結核菌素試驗、懷孕檢查、幼獸檢查、更新繁殖譜系資料、秤量體重、繁殖性能評估、採樣等處理，檢查結果將輸入資料庫進行分析。因死亡或淘汰而進行剖檢的病理學資料亦提供族群重要的背景資料。
- (三) 影像醫學：中心擁有 X 光機、暗房及自動沖片機，每年拍攝約七百張 X 光片。超音波掃描儀擁有三部，可進行臨床檢查。其中兩部掃描儀為彩色都普勒式。
- (四) 麻醉與鎮痛：目前靈長類研究中心例行使用的麻醉與鎮痛劑包括 ketamine HCl、tiletamine/zolazepam、xylazine、acepromazine、isoflurane、butorphanol、buprenorphine、ketofen、carprofen 等九種。所有可能產生輕微以上程度疼痛的實驗程序皆給予鎮痛劑，所有主要手術皆在術前給予鎮痛劑。技術人員或研究人員皆在獸醫師指示下正確的使用這類藥品。
- (五) 手術與術後照護：中心的兩間手術室位於 B 棟建築內。手術程序皆須符合 IACUC 的規定。新進研究人員必須在獸醫師的指導下進行手術，直到獸醫師認可其技術熟練能夠獨立作業為止。目前，中心內所有手術皆有獸醫師參與，並由有經驗的獸醫助理提供協助。動物在手術後須由獸醫師監控其身體狀況，並提供必要的醫療支持。術後照護記錄必須自動物進入恢復室時開始紀錄，直到動物出院為止。主要研究人員亦有了解動物現況的責任，並應隨時掌握動物的全盤狀況。
- (六) 安樂死：安樂死的程序係在 ketamine HCl 鎮靜後，以靜脈注射的方式給予過量的 sodium pentobarbital。此一程序必須由獸醫師執行之。

過去五年，獸醫組延續過去所扮演的角色，以提供研究支援與發展動物試驗模式為主要執掌。五年內共有 57 篇正式文獻與 31 篇摘要以該中心的研究人員為主要或共同作者(其中 33 篇列名第一作者)。主要進展有三個方向：

- 一、低侵入性手術技術(Minimally invasive surgical techniques)的建立：持續提升低侵入性手術的技術水平，以提供基因治療、傳染病、輔助生殖技術等研究計畫的技術支援。此一手術技術利用內視鏡設備經由細小的切口進入體腔，避免了傳統手術的大型開放性創口。手術時間較短，術後的併發症較少、罹病率也大幅降低。目前該中心已與許多學者合作進行了多種手術，包括腹腔鏡集卵手術、腹腔鏡卵巢摘除術、腹腔鏡肝腎組織採樣、胸腔鏡胸腺採樣、胸腔鏡肺組織採樣、腹腔鏡腸系膜淋巴結採樣、內視鏡腸組織採樣等。內視鏡技術對於愛滋病藉黏膜傳播的相關研究亦有助益。此一技術使研究人員能直接觀察陰道黏膜的變化並進行影像紀錄。內視鏡技術亦能再研究中對同意頭動物進行多次採樣，有助於減少動物的使用頭數，節約研究經費。
- 二、非人類靈長類動物行為研究：過去的研究認為透過兩品系的雜交實驗，發現中國品系的恆河猴(Rhesus)與印度品系的行為有些差異。這些行為的研究係以不同年齡層的恆河猴為研究對象。該中心的研究結果則顯示兩個品系的恆河猴在解決問題的能力方面並無顯著差異，過去的結論可能是因為品系雜交所造成的結果而非品系之間的遺傳學差異。
- 三、輔助生殖技術：此一技術在過去兩年有長足的進步。此一研究計畫由繁殖生物學科主導，著重於冷凍保存、胚移置、體外授精之技術研究。這些研究之所以有如此卓越的進步，主要在於目前的研究對於具有特定遺傳性狀的靈長類需求日增。這些研究亦能增進我們與不同研究機構之間的精卵交流，以維持動物族群的遺傳多樣性。

動物倫理、動物福利與環境優質化

本所派遣赴美研習的學員，經過出國研習並研讀相關學術資料後，深刻體認到靈長類動物試驗與一般家畜的動物試驗，在本質上有著極大的差異。靈長類動物由於智力甚高，對飼養環境與個體互動關係的需求亦較一般動物高出許多。譬

如飼養靈長類時必須維持個體間一定的互動與社交接觸，隔離實驗期間必須以食物或輔助器材提供充分的環境刺激，以悉心維持動物心理的健康，從而穩定動物的生理狀態，提供可資信賴的研究基礎，並避免異常行為的發生。因此環境優質化(Environmental enrichment)乃成為靈長類行為科學上的複雜而重要研究課題，也是以靈長類進行動物試驗時無可忽略的重要環節。

對於從事靈長類動物試驗中飼養環境的基本要求，國內目前尚無明確的規範。目前家畜衛生試驗所規劃中的硬體設施，皆參考美國國家衛生院所訂定之「實驗動物照顧與利用規範(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)」。杜蘭大學靈長類研究中心的環境優質化計畫，研擬的目的係在於提供此類動物繁殖與研究的良好環境。計畫主要可分為以下各項：

一、社會性優質化(Social enrichment)：該研究中心內的靈長類動物主要以維持該種別最適宜的群聚環境。若有某品種已知會以另一品種作為狩獵對象，兩品種不會飼養於目視距離之內。

(一)接觸性飼養：多雄性族群、多雌性族群、青年動物族群、亞成年動物族群、女眷族群(Harem groups)、配對動物可藉開放式畜欄(Corral)、穀倉式畜欄(Corn crib)、成對飼養籠或具有穿孔隔板的單獨飼養籠提供動物社會化接觸的機會。成對飼養或群聚飼養的方式係依據該動物種別的年齡、性別、專業判斷、實驗需求為依歸。

(二)非接觸性社會性優質化：大多數籠飼的動物皆可藉由聲音或視覺與其他同類動物溝通。如果室內配置不允許動物之間進行直接目視，壁上會裝置鏡子提供間接目視的機會，並會視狀況調整鏡子的角度與位置。

(三)與人類的接觸：工作人員在進行例行飼養工作與觀察時會與實驗動物進行互動。有訓練程序可以提升猿猴在接受採血、換籠、捕捉、醫療等處理時的配合度。

二、非社會性優質化：

(一)餵飼與覓食行為優質化：以地面活動為主的靈長類品種，可藉由在畜欄地面裝設成團的羊毛或草團提供動物搜尋食物的機會。該中心每週兩次將蔬果及乾果撒佈在草地上任由動物尋找採食。無雨的天氣，每日提供的塊狀飼料也以相同的方式餵與。柳橙每週至少供應一次，竹子和香蕉葉若能取得也會供應。籠飼的動物每週至少提供三次提供環

境優質化的設備，部分飼料也會刻意放在籠頂以延長採食的時間。

- (二)優質化設備及構造：戶外畜欄內會提供暗溝、A型框架、遊戲平台、棲木等，以增加環境的變化性。籠飼的動物會提供棲木與多樣化的玩具，並視動物年齡與品種提供攀爬設施。

三、特殊考量：

- (一)幼齡與年輕動物：條件許可時，這些動物應該與母獸或其族群共同飼養。即使剖腹接生或是母獸死亡的幼獸，也應該盡可能使其與母獸或代母共同生活。在嬰兒室成長的幼齡靈長類動物，應該在籠內提供豐富的優質化設施，並提供充分的機會與其他同齡個體互動。這些動物在充分的社會化後，方能融入獸群或與其他個體共處。
- (二)精神狀態受創的動物：動物出現異常行為時應給予適當的優質化設備，並由優質化計畫內的工作人員予以密切觀察。如果動物已出現自我傷害行為，優質化設備必須與不同的飼養環境配合使用。若動物異常行為的原因是由於與其他動物的目視接觸所引起的，應該將其移至不會看到其他動物的飼養環境。
- (三)因研究需求必須限制活動：目前該中心內飼養的靈長類動物，僅有需要利用繫鏈夾克(Jacket and tether)或約束椅(Chair restraint)的研究才會限制動物的活動。需要繫鏈夾克進行實驗的動物可以在籠內自由活動但無法離開猴籠。需要約束椅進行實驗的動物，每次進行實驗的時間約30分鐘，實驗過程中研究人員皆會嚴密監視動物的狀況。
- (四)單獨飼養、無法與同種類進行聲音與視覺溝通的動物：除了特殊試驗與臨床醫療的目的之外，中心內的動物絕少飼養在如此的環境之下。除了少數動物因與其他動物目視接觸引起其行為異常必須如此處理外，工作人員皆會以提供反射鏡、供應多樣化食物、覓食行為誘導、額外的優質化設施來改善它們的生活品質。

靈長類動物的病理學檢查

靈長類動物的身型與構造較為接近人類，與普通一般獸醫常接觸的動物不同，所以解剖方法與一般動物亦有所不同。然而動物試驗一定需要病理學之檢查，以

靈長類動物進行的試驗依然需要。本所這次派員至美國研習靈長類動物試驗等相關事宜當然包括解剖靈長類動物之檢查方式與步驟。茲記錄所有步驟作為日後進行動物病理學檢查之依據：

一、靈長類動物之安樂死

(一)先將 10% 中性福馬林 (Formalin) 組織罐、樣品夾等病理學用品準備好並置於解剖台上，再將以克他命 (ketamine) 鎮靜後之非人靈長類動物抬至解剖台上。

(二)先進行外觀之檢查，並進行血液、腦脊髓液等樣品採集工作，隨後以 2 ml 之苯巴比妥 (Pentobarbital) 經心臟注射的方式給予動物安樂死。

二、解剖步驟

(一)動物先採左側臥，抬起右臂後以鑷子及解剖刀等工具切開右腋窩下方之皮膚，將動物置於水槽邊以利放血，觀察並採集腋窩淋巴結。置於樣品夾中並標示再置於福馬林罐中。

(二)隨後沿著腹正中線切開至恥骨上方，將皮膚剝開，切開右鼠蹊部皮膚，沿著大腿中線切開至膝部。觀察並採集鼠蹊淋巴結。置於樣品夾中並標示再置於福馬林罐中。

(三)依照步驟 4 相同之方法切開左側皮膚，將皮膚往兩側剝開，此時動物採平躺姿勢。

(四)將動物翻轉採俯臥，將頭部靠近解剖者，自額頭作正中切開皮膚並往兩側剝去，使頭部整個裸露出來。

(五)以電鋸自眉毛上方沿頭部外型對頭骨作環狀切割，以工具撬開切割好之頭骨，此時整個腦部裸露，以解剖刀小心將腦部取下 (包含腦下垂體)。選取欲採樣之部位置於樣品夾中並標示再置於福馬林罐中。

(六)將動物翻轉成仰臥，以鑷子及解剖刀將腹肌切除至肋骨位置，以骨剪將兩側肋骨切斷後，拉起切除之腹肌將整個肋骨及胸骨肌肉組織剝除。

(七)將動物頭部之皮膚沿正中切開至下顎處，再小心切開頸部肌肉，自舌根處切斷並拿取氣管食道將整個呼吸系統自動物體剝離。採取所需之肺葉後自氣管分支處以針筒注入福馬林並將臟器置於福馬林罐。

(八)取下心臟，以剪刀沿冠狀動脈分支將右心房心室剪開。並沿左室中線剪開左心房心室。觀察並採集心臟樣本 (需包含房室瓣)。

- (九)依序將氣管、食道切開檢查並採樣，對胸線組織觀察並採樣。隨後檢查腹腔臟器，將肝臟取下後，採樣置於福馬林罐中。切開腎臟並橫切採樣置於福馬林罐中。取下脾臟觀察並採樣置於福馬林罐中。自直腸處切斷並將整段消化道至胃部取下置於解剖台上，以剪刀將腸道剪開，觀察內容物之理化性狀，再以清水緩緩沖洗去內容物，截取不同段之腸組織於福馬林中。
- (十)以骨剪剪開恥骨連合處，將生殖泌尿系統取下觀察並採樣，採集之樣品則立刻置於福馬林罐進行固定。
- (十一)將動物翻轉成俯臥，切除背部皮膚並清除背部肌肉，以骨剪剪開脊柱，以鑷子及解剖刀取下脊髓。截取採樣部位於樣品夾中，標示後置於福馬林罐。
- (十二)以剪刀沿眼球四周將六條眼肌剪斷，取出眼球後以針筒先行抽出眼房水，再注入福馬林並將眼球置於福馬林罐中。
- (十三)將解剖完成之動物屍體小心地包入於動物屍袋中，將其他採樣完成之臟器亦丟入屍袋中。

三、齧齒類動物（兔子）之解剖

本次研習另外還多觀察到另一種常用之齧齒類實驗動物的病理學檢查，這方面對我們而言則較為熟悉。在國內我們也曾多次使用兔子進行動物試驗，故就與國內剖檢方式就為不同處進行摘錄：

- (一)解剖用具不同：美國對兔子等試驗動物依然使用手術刀進行解剖，然國內卻使用解剖大型動物之解剖刀進行。
- (二)兔子等實驗動物之安樂死，美國依然使用麻醉藥品，而國內則使用電擊法或心臟採血等方式進行安樂死
- (三)其餘解剖及採樣方式與國內大致相同。

四、病理切片之研習

所有靈長類動物試驗之申請者、操作之獸醫師與病理醫師於每週三下午於病理室共同觀察並討論結果，由病理醫師針對病變部分與操作實驗之獸醫師進行討論。

靈長類動物之實驗操作

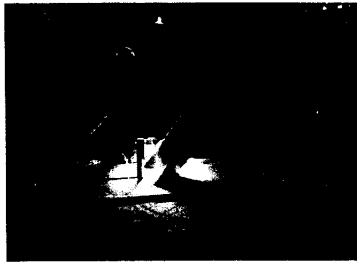
靈長類動物之試驗操作有許多種，例如：腸胃道內視鏡檢查、腸道截取術等等。

該中心對這類常用之試驗操作都具備有完整之標準操作流程供規範與參考。由於本次研習主要目的是為了進行嚴重急性性呼吸道症候群 (SARS) 之靈長類接種動物試驗，故就僅研習有關氣管內接種的實驗操作部分，下面便記錄有關之操作步驟與流程：

一、氣管內接種與採樣

由於必須觀察疾病病程或比較治療成效，所以必須進行氣管內接種與採樣來評估實驗結果。

- (一)靈長類動物先以克他命 (ketamine) 鎮靜後，連同檢查毯包裹後送至麻醉室。
- (二)將麻醉之動物置於特製的椅子上 (如照片一)



照片一

- (三)將局部麻醉劑如：2% 引塚卡因 (lidocaine) 噴入靈長動物之咽喉。
- (四)先以氣體麻醉劑經由面罩給予待麻醉之靈長類動物，給予吸氣幾分鐘後將動物麻醉。
- (五)將心跳、脈搏、呼吸速率等監視器感應裝置裝於動物的指間，實驗操作過程中應仔細間看每一個數值。視動物情況如有必要應給予溫生理食鹽水或其他靜脈注射液給予補充。
- (六)打開靈長類動物的嘴，並拉出舌頭並偏向一邊放置。
- (七)將咽喉鏡的前緣置於動物的會厭處，此時應儘量伸長動物的脖子，看到聲門後順著弧度將咽喉鏡置於會厭上。
- (八)將內視鏡沿著咽喉鏡順著杓狀軟骨進入氣管內。
- (九)監視器螢幕中應可出現氣管內黏膜之影像，若鏡頭不潔可利用溫生理食鹽水進行清洗，但清洗量應注意不可超過 35-50 ml。
- (十)此時再進行氣管內接種 (最多 0.1ml) 或以生檢(Biopsy)夾採樣。
- (十一)當實驗完成後返回籠內，小心將動物平躺於籠內側，並隨時觀察照顧直到動物完全清醒。

二、鼠蹊淋巴結之生檢(Biopsy)

生檢亦是靈長類動物實驗中重要的一項檢查。本次研習有幸觀察到兩次對實驗靈長動物進行鼠蹊淋巴結採樣。以下節錄重要之步驟供參考：

- (一)靈長類動物先以克他命 (ketamine) 鎮靜後，連同檢查毯包裹後送至麻醉室。
將 Puralube Vet Ointment 眼膏塗抹於鎮靜動物眼睛，防止動物眼睛過份乾燥。
- (二)將咽喉鏡的前緣置於動物的會厭處，此時應儘量伸長動物的脖子，看到聲門後順著弧度將咽喉鏡置於會厭上
- (三)選擇適合動物體型之氣管內插管，將插管沿著咽喉鏡進入動物的聲門
- (四)以針筒將空氣打入插管內固定之，並以線將插管綁在動物的上額。
- (五)於手術台下鋪設電毯，防止動物於手術過程失溫。電毯上再覆蓋兩層之檢查毯。
- (六)將欲施術之部位以消毒水與碘酒消毒後覆上拋棄式手術巾，其餘過程與一般手術過程無異。手術過程應注意監控動物之呼吸血壓及心跳等數值。

靈長類動物之一般檢查與結核菌素測驗

在 TNPRC 中的動物舍中常進行一般性的檢查，對於維持靈長類動物的健康非常重要。除可提早發現有問題的動物並進行隔離處理外，對於施術或進行試驗中的動物也進行檢查與評估。而檢疫中的動物必須進行許多的檢驗項目，其中有關結核菌素的檢驗我們這次研習也有幸能親身參與。以下便就此次研習觀察與操作項目做紀錄以供日後參考：

一、靈長類動物的一般性檢查

靈長類動物的照顧必須仔細而小心地，一般靈長類動物的照顧者須恪遵一些規範，最好的情況是維持相同的照顧者，而這些照顧者必須接受一些基本訓練例如：必須能觀察出動物行為是否與正常有所差異？外觀上是否出現某些病徵等等。

- (一)在進行一般生理性檢查前，動物必須先以麻醉藥品進行鎮靜麻醉方可進行後續檢查。待動物完全麻醉後，將動物自籠中取出於檢查車上稱量體重、量取肛溫等基本生理資料。
- (二)對於動物的外觀進行仔細審慎的評量，詳細檢查動物的眼睛、耳朵、嘴、鼻及其黏膜、四肢與軀幹等，觀察是否有異常出現。尤其注意其口腔，有些會

有異食癖動物，其口腔中常常有一些啃咬物的碎片，若不清理可能導致消化問題甚至因異物阻塞氣管引起窒息。

- (三)觸診：仔細觸摸動物頸部、腋窩及鼠膝等體表淋巴結，看看是否有腫大或是變硬的情形。體表淋巴結常常是初期診斷傳染性疾病如結核病、細菌性或霉菌性疾病之前哨。另外，觸診亦可檢查動物的肌肉骨骼系統是否出現異常。
- (四)傷口的清理與處治：若發現動物有一些小的外傷必須立即進行處理，如需縫合亦需當場進行，以防止傷口繼續擴大終至引發敗血等併發症。此次研習更見到該中心著名的酒精學研究，其方法乃利用繫鍊系統（tether system）進行藥物（如酒精）定時定量的給予。繫鍊系統最大的特徵為動物身穿特製夾克保護通入動物體內的導管管路，伸縮金屬管保護導管，而導管藉由旋轉環（swivel）通過籠舍壁防止因動物行動造成導管扭曲阻塞。而該系統經外科手術方式將導管連接胃，並將導管埋設於動物皮下直到背後穿出皮膚連接夾克，導管穿出皮膚處很容易造成感染化膿，這些都必須在日常一般檢查時子進觀察與處理。此外，若外傷部位已長出毛髮，則必須先以剃刀剔除乾淨後，在進行傷口的消毒處理。
- (五)每隻動物有其專有的病例表（有人類相似），每日或動物經獸醫師診治檢查後經詳細記錄病史、病立即處理方式，方便將來對動物進行實驗時評估其健康狀態之依據。

二、結核菌素皮膚試驗及一般性之血液樣品採集

結核菌（*Mycobacterium spp.*）乃引起人類或動物結核病的主因，結核菌多不具有強烈的宿主專一性（host specificity），故本病為重要的人畜共通傳染病（zoonosis）。所有進入到靈長類動物中心的人與動物都必須定期接受結核菌素試驗確保沒有本病的入侵。此次研習在前往美國之前，該中心亦對於本次送訓人員要求進行結核菌素皮膚試驗及胸部 X 光的檢查以確保不會將結核病帶入該中心。茲就該中心對靈長類動物進行結核菌素皮膚試驗之步驟進行摘錄如下：

- (一)所有受測動物必須先經過適當之麻醉。
- (二)靈長類動物接受結核菌素皮膚試驗的部位在上眼瞼，上眼瞼由於皮膚層較薄，且位於動物臉部的無毛區所以容易觀察，因此上眼瞼是進行皮膚試驗的最好位置。
- (三)由於該中心的靈長類動物其胸前都有刺青作為標記，在進行結核菌素試驗或

採樣前必須仔細核對身份並記錄該動物之生理狀況。

- (四)以 25 或 27 號胰島素針抽取 0.1 ml 結核菌素，將針尖的斜面朝上，緩緩的刺向上眼瞼皮膚，若針沒有完全進入皮下或刺穿皮膚，將可透過皮膚見到金屬針尖，在確定針以經完全進入皮膚內再進行藥物推入給予
- (五)緩慢推入結核菌素，此時可見到注射部位的上眼瞼皮膚因液體進入之緣故慢慢鼓起，好似長了一個小水泡 (bleb)，緩慢的抽出針頭，注意有無液體滲漏出來。將針連同針筒一起丟入標有生物危險標記的銳物收集盒，注意！千萬不能再將針筒蓋套回注射針上 (re-capped)。
- (六)若注射部位出現瘀血應於記錄中詳細記載。注射後 24、48 及 72 小時後應觀察記錄注射部位之反應。

三、一般性之血液樣品採集

血液之採集量與次數完全依賴實驗所需，一次採血最大量亦依賴動物的體重，一般而言最大採血量不能超過動物全身血量的 15% (全身總血量約為體重的 7%)。靈長類動物之一般採血部位為頸靜脈、隱靜脈、尾骨靜脈以及股靜脈等，其中股靜脈可採集較多的血量故一般採集多利用此一部位。下列記載股靜脈採集血液的步驟供參考：

- (一)動物必須先以麻醉藥品進行適當的鎮靜麻醉後，待動物完全鎮靜後動物以仰臥方式置於鋪有檢查毯的檢查台上。
- (二)欲採血之部位周圍的皮膚 (包括大腿內側、鼠蹊等部位) 先以 70% 酒精進行清潔與消毒。
- (三)先以手指觸摸欲採血的部位，股靜脈與股動脈相連並行，因此按壓採血部位將可感受到脈搏跳動。
- (四)該中心目前血液樣品採集多使用真空採集系統 (Vacutainer blood collection system, Becton-Dickson, BD, NJ)，依動物體型與欲採集的血管直徑大小選擇適合的針頭 (一般而言約為 21 至 23 號針)，將針與採血管頭結合後以 45° 到 60° 的角度穿刺進入皮膚，待針頭出現血液時將真空採血管插入採血頭中，此時由於採血管的負壓吸引作用可將血液自動自靜脈抽出至採血管，採集到所需體積之血液後則拆離採血管與採血頭，反轉數次以充分混合血液與抗凝劑。緩緩抽出針頭，以消毒紗布按壓採血部位五到十分鐘，針頭與採血頭直接丟入銳物收集筒中，同樣地，千萬不要將針頭蓋蓋回去。採集完成

之真空採血管上應仔細標明動物別及辨識號碼或記號等。

(五)將動物放回籠中並平躺於籠舍內側，動物照顧者觀察直至動物完全清醒為止。

第三級生物安全動物舍設施之參觀

該中心的E棟舍為符合第三級生物安全規範之實驗動物舍，網路上記載該設施成立於1964年，當時仍為美蘇兩大強權對峙的冷戰時期，為了研究有關生化武器及生物戰劑，於該中心成立此第三級生物安全的靈長類實驗動物舍，至今年代已相當久遠，但外觀上還維持得相當好。亦從網路上得知該中心於2003年9月又獲得國家衛生研究院的專案補助將建立新的三級實驗動物舍，希望將來能有機會能再度前往觀摩與實習。我們前去參觀的三級動物舍仍屬於1964年所興建的，內部的設施與擺設有些老舊與過時，但基本的動線與管理規劃仍與現在相去不遠。目前該動物舍主要進行有關結核病的相關試驗與研究。下面便摘要介紹其第三級生物安全動物舍：

- (一)進入動物舍應先更換防護衣(杜邦 Tyvek 材質)、頭套(附 3M 空氣過濾系統)、手套及腳套等。
- (二)動物舍內的插座、空調開關等電器皆以護套保護以免清洗時水份或消毒劑進入引發故障。地面與牆邊接縫、出水孔邊皆以塗料塗裝防止污穢物沾黏。
- (三)清潔系統主要以熱水為主，並備有穿牆式高壓滅菌斧消毒所有實驗物品及廢棄物。
- (四)動物籠與一般動物舍的並無差異。
- (五)動物舍內備有無菌操作台供動物解剖或其他採樣操作之用。
- (六)離開動物舍前必須先脫去防護衣具，並將空氣過濾系統充電，然後脫去所有衣物後進入淋浴室淋浴，之後再離開三級生物安全動物舍。其動線與我國目前之三級動物舍非常相似。

心得及後記

此次派員前往 TNPRC 接受靈長類動物相關的訓練，每位學員皆感到獲益良多。也更加明瞭獸醫領域的廣大自己所學的渺小。靈長類動物實驗是一條艱辛與

漫長的路，牽涉範圍之廣泛與經費開銷程度皆令人驚訝。從國外的經驗得知維持靈長類動物中心必須依賴獸醫師的專業技術，而動物的飼養與育種亦需專業參與。一旦當我們國家發生像 SARS 這類重大疾病而必須進行靈長類動物實驗時，是否需要進一步建立自己的靈長類中心還需集思廣益，謹慎而詳細地全面考量，畢竟靈長類動物中心並非一蹴可及。靈長類動物是最接近人的物種，利用靈長類動物進行試驗研究所得結果亦最相近於人類，這也是為何歐美先進國家建立靈長類動物中心的目的。進行靈長類動物實驗所費不貲但對於醫學於藥學之研究絕對有其必要性。希望將來台灣能夠進行自己的靈長類動物實驗，這也是我們此次受訓最大的宗旨。