

我國導入歐盟替代方法之 能量及時程評估研究報告

主辦單位：中華實驗動物學會

補助單位：行政院農業委員會

中 華 民 國 1 0 9 年 1 2 月

目錄

第一章 前言	2
第二章 歐盟替代方法確效中心簡介	8
一、歐盟動物試驗法規	15
二、替代方法驗證程序	20
三、歐盟替代方法確效中心已驗證的替代方案	26
第三章 2019 年度歐盟替代方法確效中心之開發、驗證和監管接受的狀態 ...	38
一、替代方法研究與開發活動	41
二、測試方法提交與驗證	54
三、促進監管接受和國際採用替代方法	64
四、替代方法工具與教育訓練	79
第四章 我國產品上市前試驗中可能被替代或減量之動物數量盤點	91
一、產品上市前測試法規說明	91
二、可能被替代或減量之動物數量盤點	118
第五章 我國動物替代技術能量盤點	122
一、實驗室技術量能盤點	122
二、我國實驗室量能與動物試驗替代方案導入之調合	138
第六章 我國動物實驗替代研發推廣共識平台之建置	146
一、替代技術研究及驗證專家小組	151
二、實驗動物替代科學審查專家小組	154
三、法規調合及國際合作	156
第七章 結論與建議	158
參考文獻	167
附件	170

第一章 前言

動物實驗目的是在動物身上模擬人類的生理與疾病狀況，以進行後續與醫藥治療等相關的研究。許多國家都制訂了相關的法規，使動物實驗內容透明化、人道化、並能達到動物福祉3Rs--替代（Replacement）、減量（Reduction）、及精緻化（Refinement）的要求。然而，隨著科技的進步及動物保護觀念的提升，歐美各國相繼投入動物試驗替代方法之具體技術化，尤其近年來強調精準醫療的同時，亦反思各項動物試驗的必要性。

動物與人體在生理與病理方面已知有其機理上的不同，使得從動物研究結果推斷到人類背景有很高的困難度，單以動物實驗並不能幫助我們全面了解疾病模式或毒化合物的毒藥理特性。動物試驗往往需要很長時間（某些情況下有幾年）才能完成，並且花費很昂貴。體外方法經常使用人類細胞或組織，可能比動物更能代表人類對毒化合物的反應，一旦能被開發與驗證，大部分試驗在使用上有其標準且具實用性。

歐盟自2004年起禁止化粧品成品的動物測試，並且自2009年3月11日起禁止化粧品成分原料的動物測試，這適用於一系列測試以證明化粧品的安全性，如皮膚和眼睛的腐蝕/刺激、急性光毒性、皮膚滲透、基因毒性和急性全身毒性，銷售禁令於2013年3月11日生效。我國立法院於2016年10月21日三讀通過《化粧品衛生管理條例》修正案，法案在2019年正式上路，此後，台灣化粧品業者將不得再對成品、成分原料進行動物試驗。

認證一項替代測試的概念與複雜程度，都與臨床試驗相仿。臨床試驗是「以證據為基礎」，必須嚴謹證明藥物的效用；同樣的，認證測試也必須證明，某個替代測試可以達成它所要達到的目的。歐盟參考實驗室替代方法確效中心〔European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing，以下簡稱歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）〕的驗證過程包含4個主要步驟，而利益相關方、國際合作夥伴以及測試方法提交者都將參與到關鍵步驟階段。驗

證的方法根據其可靠性和相關性進行評估，一種方法必須首先在一個實驗室內保持穩定和可重複性，然後在至少兩個其他尚未執行此方法的實驗室中顯示可轉移和重現，其技術和管理的複雜性有一定的難度。此外，“預驗證”試驗往往需要優化和完善測試，驗證研究完成後，結果亦須進行獨立的科學同儕評審。除了上述化粧品外，歐美各國亦要求其相關部會積極發展動物測試替代方案，荷蘭亦提出2025年不用動物試驗（除非特殊原因），加拿大則是2040年，日本厚生省、韓國衛生福利部及中國大陸亦設立動物替代研究中心，積極朝此目標邁進，宣誓其價值觀之實踐。我國亦須積極跟隨此國際動物保護潮流，強化我國動物替代產業發展的能量。

對各部會監管機關而言，合理的監管決策並保持公眾信任的關鍵包括（1）高質量的數據；（2）徹底、公正、透明的科學審查程序；（3）對用於證明安全性和評估風險的工具充滿信心。監管機關必須能夠評估該系列測試（性能標準）的適用性、限制、相關性、可靠性、可重複性和靈敏度，以確認該系列測試已經過適當的驗證與合格。為快速接軌國際，最好的方法就是與歐盟參考實驗室替代方法確效中心的技術與方法連結，應用其符合經濟合作暨發展組織（Organization for Economic Cooperation and Development, OECD）發布的測試規範為主要依據，並結合國際上各國研發、整合的新途徑方法（New Approach Methodologies, NAMs）等，作為進行後續研發之基礎。

我國動物實驗管理系統乃基於「動物保護法」以強制動物科學應用機構成立實驗動物照護及使用委員會（Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC）進行動物實驗的人道管理，並以「動物科學應用機構監督及管理執行要點」運用具公信力的獨立單位進行動物設施的審核評估，建立實驗動物科學應用機構內部自主管理之制度，並強化外部機關之查核，以使動物實驗內容透明化、人道化、並能達到高品質的動物福祉要求。冀望確保實驗動物得到良好的飼育及照護管理，並達到同時兼顧多元化之科學研究需求。因此，各機構之

實驗動物照護及使用委員會 (IACUC) 實質成為落實與提升實驗動物福祉之關鍵因素腳色。

2018年4月24日農委會公告修訂「實驗動物照護及使用委員會或小組設置及管理辦法」第二、三、四條 (請參閱附件1-1), 提供實驗動物照護及使用委員會或小組 (IACUC) 成員人數上更大彈性, 並要求應包括獸醫師及非隸屬於該機構之人士 (以下簡稱外部委員) 各一人以上。希望機構 IACUC 委員至少有一名來自外部的非科學背景成員, 以表達社會大眾對於適當管理和使用動物的關注。

機構IACUC在審查動物使用申請書時須考量3Rs (替代、減量、精緻化) 原則, 例如考量使用較不具侵害性的操作程序、其他物種的動物、離體器官、細胞或組織培養、或電腦模擬系統等替代方法的可行性或適當性等, 這些議題雖然在實驗動物產學研界皆有某些程度上的概念, 但對於如何有效落實這些替代技術仍有一段落差。因此, 也代表須要針對國內機構的IACUC導入更多、更專業的教育訓練來強化其本職學能。

目前毒理學依循的標準動物實驗方式早在幾十年前就已開發出來, 因此不是基於現代毒理學或最新的生物醫學技術。儘管在使用動物測試來保護人類健康和環境方面有相當多的經驗, 但動物測試存在許多缺點; 首先, 動物和人體生理學在某些方面可能會有很大的不同, 這使得從動物研究結果推斷到人類背景困難。而且, 大多數動物試驗僅基於觀察由物質引起的疾病 (例如損傷或腫瘤) 影響, 而不全是臨床觀察的潛在原因。因此, 以傳統方式進行動物實驗並不能幫助我們全面了解對人的毒藥理作用、絕對有療效或毒性的可能性預測。動物試驗需要較長時間才能完成 (例如在某些情況下有幾年), 體外方法經常使用人類細胞或組織, 比動物更能代表人類對毒物或藥物素的反應; 一旦開發出經驗證的替代模式與方法, 實際應用面廣且時效快速。

過去, 對動物進行測試一直是許多產業部門進行風險評估的最佳選擇和最

可靠的來源。儘管動物測試方法沒有經過與其他替代方法相同的驗證，但因已獲得長期的使用經驗，並且已納入歐洲測試方法法規。因此，在很多情況下，它們是法律規定的。動物試驗當然有其局限性，因此非動物方法的開發和驗證不僅從道德的角度來看很重要，而且最終為保護人類健康和環境提供更好的安全評估框架也很重要。

動物實驗的3Rs原則：替代、減量和精緻化，其意涵為另一種方法可以完全取代動物試驗，減少測試中所需動物的數量，或改進動物測試程序以減輕疼痛和痛苦。

減少或替代動物實驗的替代測試方法通常基於體外系統或基於電腦運算的模型。體外測試（In vitro）方法使用重建的組織、全細胞或部分細胞，基於細胞研究的最新進展包括開發模擬人體內細胞和組織的二維和三維培養物。“體學（Omics）”技術（例如基因體學、蛋白質體學和代謝體學）與體外測試系統的結合使用，可以在分子層次綜合分析化學物質的影響，並可以指示可能導致不利健康影響的潛在毒性途徑。

基於電腦運算的方法（In silico，通常稱為電腦運算或非檢測方法）越來越強大，可以有效地用於預測化學物質的基本性質的毒性。電腦運算模型也是高效整合從體外和電腦晶片方法中獲得的毒理學資訊的重要工具。例如，在工業化學品安全評估中經常使用的非檢測方法被稱為“read-across”技術，其中預測一種化學品的毒理學效應使用來自另一種化學品的相同毒理學效應的數據，其被認為是在化學結構、物理化學性質或生物活性方面類似。

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）在皮膚刺激、皮膚腐蝕、皮膚吸收/滲透以及光毒性等毒理學領域驗證了完全替代方法。歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）還驗證了在眼睛刺激、眼睛腐蝕、皮膚過敏、基因毒性、致癌性、生殖毒性（胚胎毒性和內分泌干擾）和急性口服毒性等方面部分替代和減少動物試驗的方法。除了用於研究之外，有許多經過驗證的方法已被納入歐

盟法律和其他形式的國際認可的測試方法，如經濟合作暨發展組織（OECD）和歐洲藥典的測試指南（Testing Guidelines，TG）。另外，2017年12月美國食品和藥物管理局（Food and Drug Administration，FDA）發表預測毒理學路徑圖（FDA'S Predictive Toxicology Roadmap）、2018年6月美國環境保護署（Environmental Protection Agency，EPA）公布促進有毒物質控制法（Toxic Substances Control Act，TSCA）計畫內替代測試方法的開發和實施的策略計畫（Strategic Plan to Promote the Development and Implementation of Alternative Test Methods Within the TSCA Program），顯示相關主管部門積極研發新的方法和技術並提升毒理學預測能力，並儘可能地減少動物試驗的使用的戰略及落實方法。美國環境保護署（EPA）認識到該戰略計畫必須描述一個多年期的過程，其中採用漸進式步驟來整合和應用新途徑方法（NAMs），這些步驟整合且適合於制定有毒物質控制法（TSCA）決策，例如（1）計算毒理學和生物信息學；（2）高通量篩選方法；（3）測試化學物質的種類；（4）階層式測試方法；（5）體外研究；（6）系統生物學；（7）由美國替代方法驗證機構間協調委員會（The Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods，ICCVAM）或歐洲經濟合作暨發展組織（OECD）等驗證機構確定的新方法或修訂方法；或是（8）產業界聯盟根據該標題開發提交的信息。

甚至，位於亞洲區的南韓亦在2009年11月成立替代方法驗證中心〔（Korean Center for the Validation of Alternative Methods，KoCVAM），隸屬於國家級的食品藥品安全綜合研究所（National Institute of Food and Drug Safety Evaluation，NIFDS）〕。KoCVAM通過各種活動來建立與國內外機構的合作關係來尋求替代方法，並審查和驗證提出的替代方案。

因此，本研究冀望研析國際上實驗動物替代技術之驗證管理，建立我國實驗動物替代方法專家團隊，盤點產品上市前試驗計畫中可能被替代或減量之動物數量，以及我國導入歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）毒理學領域驗

證的完全替代或部份替代方法所需之實驗室能力與缺口，並藉由專家輔導平台及教育訓練，強化動物試驗計畫審查之替代意識（含動物減量、精緻化作法）及機構設施之品質提升，促進我國實驗動物替代技術發展。

第二章 歐盟替代方法確效中心簡介

歐盟參考實驗室（European Union Reference Laboratory，EURL）歐洲替代方法確效中心（European Centre for the Validation of Alternative Methods，ECVAM）最初於1991年成立，並於2011年更名為The European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing（EURL-ECVAM）。

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）是歐盟委員會聯合研究中心（European Commission Joint Research Centre，JRC）的一部分。聯合研究中心（JRC）為歐洲委員會的科學和知識服務機構，以獨立的科學證據為歐盟政策提供支持。在歐盟框架計畫7的期間（EU Framework Programme 7，FP7），總計約有2億歐元專用於無動物毒理學項目，主要由“健康”主題提供支持。作為這項工作的一部分，歐洲化粧品協會與歐洲製藥工業和協會聯合會在公私合作夥伴關係的背景下共資助了六個大型項目，總金額達1.4億歐元。Horizon 2020是新的研究與創新框架計畫，是同類計畫中規模最大的，涵蓋從2014年到2020年的7年。Horizon2020將基於FP7的成功經驗，並將提供進一步的資金機會，以推進“3Rs”計畫的實施，提升動物和人類安全的利益，以及科學的進步。

歐盟委員會正在盡其所能指導和支持非動物方法的開發、驗證和推廣，以用於法規安全評估和作為生物醫學研究的工具。像安全評估最終取代動物試驗（Safety Evaluation Ultimately Replacing Animal Testing，SEURAT-1）和歐洲替代動物實驗方法夥伴關係（European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing，EPAA）這樣的公私合作夥伴關係在整合產業界、學術界、政府和非政府組織的努力中起著非常重要的作用，因此每個人都朝著同一個方向前進。聯合研究中心（JRC）及其歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）將繼續尋求創新方法，將科研成果轉化為有用的有效工具，可顯著減少社會對動物實驗的依賴，同時確保對人類健康的最高水平的保護，保持歐盟的環境和保

持產業和經濟競爭力。

歐洲替代方法確效中心（ECVAM）依據歐洲委員會聯合研究中心（JRC）政策方向，改善並推廣有關動物研究與測試替代方案的資訊宣傳，如歐盟指令 2010/63/EU 針對保護用於科學目的之動物。其主要任務是：

1. 促進監管測試領域替代品的開發和使用，並促進生物醫學研究。
2. 在歐洲層面協調替代方法的驗證工作，也涉及新成立的位於成員國的替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（European Union Network of Laboratories for the Validation of Alternative Methods，EU-NETVAL），並參與其評估和驗證測試方法。
3. 通過數據庫（DB-ALM）和其他媒體傳播有關替代測試方法的資訊。
4. 作為發展、使用和接受方法的資訊交流中心，並促進該領域所有相關參與者之間的對話。

為此，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）通過其諮詢機構促進與歐盟成員國主管當局和歐盟機構（例如 European Chemicals Agency，ECHA；European Food Safety Authority，EFSA；European Medicines Agency，EMA）就所提議的方法（所謂的法規相關初步評估諮詢機構，EURL-ECVAM's Network for Preliminary Assessment of Regulatory Relevance，PARERE）的監管相關性進行對話，並與其利益相關者通過歐洲行業協會，非政府組織（如動物福祉組織）和學術研究協會聚集在一起的歐洲替代方法確效中心利益相關者論壇（EURL ECVAM Stakeholder Forum，ESTAF）。

除了協調歐盟的替代方法驗證之外，委託給歐洲委員會聯合研究中心（JRC）和歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的任務還包括歐盟委員會對經合組織試驗指導方案的貢獻、體外和電腦運算方法的研究和開發、體外優良實驗室操作規範（Good Laboratory Practice，GLP）的操作測試設施、傳播和推廣方法、替代方法培訓、向其他委員會服務和機構提供直接支持、組織專家

研討會、為歐洲替代動物實驗方法夥伴關係（EPAA）項目提供捐助，以及參與國際替代試驗方法合作組織（International Cooperation on Alternative Test Methods，ICATM）。

（1）國際替代試驗方法合作組織（ICATM）

ICATM 包括來自以下方面的政府組織：

- 歐盟 - 歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）
- 美國 - 替代方法驗證跨機構協調委員會（Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods，ICCVAM）
- 日本 - 日本替代方法驗證中心（Japanese Centre for the Validation of Alternative Methods，JaCVAM）
- 加拿大 - 加拿大衛生部（Health Canada）
- 南韓 - 韓國替代方法驗證中心（Korean Centre for the Validation of Alternative Methods，KoCVAM）
- 巴西 - 巴西替代方法驗證中心（Brazilian Centre for the Validation of Alternative Methods，BraCVAM）
- 中國 - 中國食品藥品監督管理局（Chinese Food and Drug Administration，CFDA），以及廣東省疾病預防控制中心（Guangdong Center for Disease Control and Prevention）。

國際替代試驗方法合作組織（ICATM）合作夥伴正在共同努力，促進在替代方法的科學發展，驗證和監管使用方面加強國際合作與協調。這些組織之間已經存在了許多年的合作關係，但在合作備忘錄（Memorandum of Cooperation，MoC）簽署之前，所有互動很大程度上都是臨時性的。2009 年上述中的前四個機構簽署了合作備忘錄（MoC），正式確定了它們之間在與動物試驗替代方法有關的三個關鍵領域的合作基礎：驗證研究，對測試方法驗證和開發的獨立同行評審，關於替代測試方法的正式建議。2011 年南韓加入，2015 年

巴西與中國也加入 Memorandum of Cooperation 國際替代試驗方法合作組織 (ICATM)，以確保替代方法/策略在全球範圍內更容易被接受。

歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 也對與驗證替代測試方法有關的國際標準作出了重大貢獻，現已載入全球適用的經合組織關於驗證和國際認可測試方法的第 34 號指導文件。歐洲委員會聯合研究中心 (JRC) 和歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 還參與了歐盟化學品登錄、評價、許可及限制規則 (EC Regulation No.1907/2006, concerning Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals, REACH, 以下簡稱 REACH 法規) 的實施，參與制定用戶指南以描述測試方法和策略，通常涉及可用於生成資訊的非動物測試為 REACH 法規檔案。最後，為歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 工作的科學家參與並仍然參與歐盟關鍵的研究項目，旨在制定安全評估方法和替代方法。

其提出一項基本概念，基於法律、道德與科學理由，任何研究員規劃或使用動物進行實驗或其他科學目的使用，必須清楚地被告知研究領域最新技術發展狀況。尤其是為了迎合法律與道德規範，動物應該只能在所有可能之替代物不充足的情況下用於研究與測試之用。

(2) 替代方法驗證的歐盟實驗室網絡 (EU-NETVAL)

替代方法驗證的歐盟實驗室網絡 (EU-NETVAL) 是位於歐盟成員國的歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 專業實驗室網絡。主要的任務是為歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 驗證研究提供支持，以評估可能替代、減少或改善科學用途的動物替代方法的可靠性和相關性。

歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 協調替代方法驗證的歐盟實驗室網絡 (EU-NETVAL)，並與委員會環境總局緊密合作，以促進與國家聯絡點的互動，以實施關於保護用於科學目的的動物的 2010/63 / EU 指令。

目前，替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL）共有 35 個成員，它們是根據預先定義的資格標準選擇的，並得到了國家聯絡點的認可。替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL）的職權範圍詳細說明了立法基礎，網絡的建立及其成員的維護，網絡成員和歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的任務，以支持驗證研究，將任務分配給成員以及資助網絡活動。當前的網絡擁有廣泛的專業知識和能力，包括在先進的體外程序、測試系統和測量技術方面經驗豐富的實驗室，這些實驗室被認為對於實現歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的策略中確定的特定目的和目標具有重要意義，以在不同監管領域實現 3Rs 安全測試。

替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL）的活動：

A. 轉錄激活測定法在體外檢測化學物質雄激素活性中的驗證（AR-CALUX®）：

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）已對該方法進行了實驗評估，進行了 GLP 研究，以完善體外方法 AR-CALUX®並建立轉移標準，並為 Ispra JRC 實驗室的三個參與設施提供了培訓。確認研究的三個階段（轉移階段，實驗室可重複性評估之內和之間以及相關性評估）已完成。在科學諮詢委員會（Scientific Advisory Committee，ESAC）對審閱報告進行同行評審之後，將提供經濟合作暨發展組織經合組織（OECD）TG，其中包括 AR-CALUX®方法和另外兩個 ARTA（由日本和韓國開發）。

B. 良好體外方法規範（Good in vitro Methods Practices，GIVIMP）指導文件：

為了確保監管機構的認可和體外方法的行業使用，從開發到體外方法實施的整個過程都應使用良好的科學，技術和質量規範。

在歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的協調下，經濟合作暨發展組織（經濟合作暨發展組織經合組織（OECD））制定了關於良好體外方

法規範（GIVIMP）的指導文件。它以參與過程的所有關鍵參與者為目標，涵蓋了體外方法開發、標準化、驗證、協調和國際認可。該指導文件旨在支持在所有 36 個經濟合作暨發展組織（經濟合作暨發展組織經合組織（OECD））成員國及其他國家的學術、行業或政府實驗室工作的方法開發人員和最終用戶。替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL）參與了良好體外方法規範（GIVIMP）文件的起草和審查，並且在將開發人員的體外方法引入最終用戶時，在應用良好體外方法規範（GIVIMP）中起著關鍵作用。

C. 甲狀腺激素破壞方法（THD）的驗證

對環境化學物質擾亂激素系統的潛力的關注導致制定和實施了一系列經合組織測試準則，以篩選和測試破壞內分泌的化學物質。儘管已經開發出許多方法來檢測生殖類固醇，但是由於甲狀腺系統的複雜性，用於評估甲狀腺激素信號傳導途徑破壞者的測試系統的納入受到了限制。歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）根據經濟合作暨發展組織經合組織（OECD）範圍界定文件以及 THD 會議和研討會的意見，已經彙編了許多具有驗證潛力的體外甲狀腺激素破壞（THD）方法。這套大型方法已用作驗證所選體外 THD 方法的起點，以用於鑑定甲狀腺激素信號傳導的調節劑。驗證是與替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL）合作進行的，以響應指令 2010/63 / EU 的某些規定，以產生成可靠的體外方法信息，並基於當前的最佳質量和科學實踐，提供熟悉良好體外方法規範（GIVIMP）常規實施知識的實驗室網絡，以用於人類安全評估中的法規使用。

其他對 THD 體外方法表現出興趣或有深入了解的實驗室和專家也參與其中。

D. EU-NETVAL 關於小型 Ames 測試的調查

經濟合作暨發展組織（OECD）成立了一個小型化的 Ames 測試專家工作組（EWG），其中包括來自不同成員國/國家的專家。在 2017 年 2 月的啟動會議上，專家工作小組決定進行一項調查，以便更了解以下方面：

- (i) 可用於不同小型細菌基因突變測試的數據量，以及
- (ii) 這些數據最終可以共享的程度。

最初的替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL）調查收集的信息有助於支持 EWG 關於評估微型測試所需的進一步行動的決定，這項初步調查之後，還要求替代方法驗證的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL）測試設施共享實際數據。

一、歐盟動物試驗法規

早在 1980 年代，歐盟承諾繼續努力取代用於實驗的動物，並改善那些仍在動物實驗使用中的動物福祉。這導致 1986 年通過了關於保護用於實驗和其他科學目的的動物的指令（86/609 / EEC）。除了與使用實驗動物相關的措施，如設施環境和健康照護，對人員和機構授權的要求，以及減輕疼痛和痛苦。該指令還要求在使用替代（非動物）方法時合理和切實可行的，以及在需要使用動物的情況下，需要使用最少數量的方法，並對動物造成最小的疼痛和持久傷害。歐盟還呼籲鼓勵研究開發和驗證替代方法。但是，案文並未明確提及 3Rs 的原則。

2008 年，歐盟委員會通過了修訂指令 86/609 / EEC 的提案。在此之後，2010 年 11 月通過了一項更為詳細和全面的指令（2010/63 / EU），從 2013 年 1 月 1 日起取代了之前的指令。

新指令提出成立一個包括歐洲替代方法確效中心（ECVAM）在內隸屬於歐盟委員會聯合研究中心（JRC）的聯合參考實驗室。第 47 條明確提出，“為了滿足新方法開發和提交驗證快速增長的需要，歐盟成立參考實驗室從事替代方法的驗證”；“當設置驗證研究的優先事項時，委員會應當與成員國進行必要合作，成員國應協助委員會確定和提名合適的實驗室進行驗證研究”，條款還對參與驗證實驗室的公平競爭做出了規定。第 48 條和附件七專門介紹了聯合參考實驗室，其職責和任務不僅限於“參與替代方法驗證”，還包括：

- （1）. 協調和促進替代方法的開發和應用，既包括基礎和應用研究領域，還包括檢驗監管中的應用；
- （2）. 在歐盟水平協調替代方法的驗證；
- （3）. 發揮作為替代方法信息交流中心的作用；
- （4）. 建立、維護和管理替代方法公共數據庫和信息系統；
- （5）. 促進立法者、監管機構以及所有利益相關者的意見交換，特別是工

業、生物醫學科學家、消費者組織和動物福祉團體，其目的在於推進替代方法開發、驗證、監管機構認可、國際認可和應用。

修訂後的指令闡明了 3Rs 的原則，符合使用替代方法的法律要求，並要求委員會和成員國為替代方法的制定和驗證做出貢獻。它還規定了歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的法律依據，並提出了進一步的措施以促進接受和推廣替代方法。

此外，.歐盟 REACH 法規構成了保護實驗動物的一個步驟。該法規的目標之一是規定為監管目的對脊椎動物進行測試只能作為最後手段進行，並且測試的重複應該是有限的。此外，該法規旨在促進制定評估物質危害的替代方法。其他相關立法包括化粧品指令及其修正案、關於植物保護產品的指令 91/414 / EEC、植物保護法規 1107/2009、生物殺滅指令 98/8 / EC、未來殺菌劑法規和指令 2004/10 / EC 關於良好實驗室規範的原則。

(1) 什麼是替代方法的“驗證”和“監管接受”？為什麼有時需要這些正式程序？

使用方法（籠統的術語，涵蓋諸如測定、測試、技術、工具、策略、方法等的描述）若未經證實適合特定目的，可能會產生不可靠且無關緊要的結果，這將導致浪費時間、金錢和資源，包括動物生命，並且可能創建誤導性或不正確的數據。此外，這可能會減慢發現速度，並可能對保護消費者和工人的安全產生嚴重後果（例如，如果該分析方法用於評估化學品的安全性）。

因此，對於研究人員來說，最重要的是要確保所使用的方法適合該目的。

科學研究和用於研究的方法需要不斷發展和完善。在基礎研究中開發和使用的方法通常用於獲得對獨特或新穎問題的答案。因此，這些方法是為特定的科學目的“量身定制”的，可一次性使用。但是，需要以一種或另一種方式確認他們是否適合解決當前的問題。

對其有效性的評估可以採取多種形式，其中包括該方法的一般知識、該方

法所基於的科學原理、使用該方法的歷史數據以及在著手之前對數量較少的動物使用所謂的試點研究（使用體內（動物）方法時）全面研究。

當結果在科學期刊上發表時，將在科學同儕評審中進一步審查所使用方法的有效性。

由於基礎研究等領域的問題的獨特性，在大多數情況下，“正式驗證過程”不切實際，並且可能會導致不必要的動物使用，因為這樣的驗證結果不一定適用於下一個新穎的問題。但是，在法規測試領域，通常需要正式驗證。

(2) 監管驗收

科學驗證不應與法規接受過程相混淆。在監管機構可以接受監管環境中特定方法的使用之前，例如在化學品安全評估領域，該方法必須是：

通過正式的（科學的）驗證過程確認科學上的有效性，並且被評估為能夠提供相應法規要求的答案，即獲得法規接受。

一個簡單的例子可以證明科學驗證和監管接受過程之間的區別：

方法X經過科學驗證，能夠可靠地區分腐蝕性和非腐蝕性化學品。

A國的法規要求對腐蝕性化學品進行標籤化。監管驗收過程的結果將證實，該方法可用於該國的監管目的，以區分和標記腐蝕性和非腐蝕性。

B國的法規要求將化學品標記為非腐蝕性、輕度腐蝕性或強腐蝕性。監管驗收過程的結果將證實該方法只能用於識別非腐蝕性化學品，但仍需要另一種方法來區分輕度腐蝕性和強度腐蝕性化學品。

簡而言之：在大多數情況下，科學驗證是監管接受的必要先決條件，但成功的驗證本身不足以保證監管接受。

簡而言之，在大多數情況下，科學驗證是監管接受的必要先決條件，但成功的驗證本身不足以保證監管接受。

歐盟和國際上的許多監管機構都在其各自領域（例如化學品、藥品以及食品和飼料安全性）中出於監管目的評估方法。在歐盟，指令2010/63 / EU甚至在

正式驗證開始之前就將監管機構納入開發新替代方法的初期，要求每個成員國指定一個單一的聯繫點，以規範動物的使用，以通過PARERE網絡的工作來加快監管的理解、接受和採用新方法。

(3) 使用替代方法

選擇的方法必須符合目的並為決策提供足夠可靠的數據。如今，大多數決策都是基於方法和工具的結合而做出的。

除了經過驗證的方法外，還使用有效（但未經正式驗證）的方法來支持監管決策（例如藥品）或作為其他決策工具（例如化學品）。

同樣，當方法符合目的時，可以在法規範圍之外使用經過正式驗證的方法。

在監管環境中使用的大多數動物方法過去都沒有通過正式的程進行驗證。但是，幾十年來的測試數據與使用這些產品/物質的數據相結合的積累，已在風險評估中的實用性和可靠性提供了足夠的統計信心。現今，對於預計使用於監管用途的動物和非動物方法，在驗證方面都需要嚴格的規定-在需要正式驗證的監管領域。

儘管在某些例子中替代品已成功替代了對動物的使用需求，例如刺激皮膚的試驗，但事實證明，替代品是整個動物模型的可靠替代品，但不幸的是，在其他領域，科學進展卻不那麼成功。事實證明，在整個動物的不同系統之間相互作用和對物質的反應的複雜性很難完全理解和/或難以以替代策略成功複製。在這種情況下，在完全放棄使用動物之前，完全更換動物可能需要一系列替代測試，並結合其他來源的信息。

例如，要研究某種物質對全身系統的影響，包括對生殖或胚胎/胎兒發育的影響，需要提出一個簡單的細胞培養無法解決的問題組合：物質如何進入身體？抵達哪個器官？會在那裡堆積或是會排出體外？會在標靶器官中停留多長時間？會穿過胎盤嗎？將如何影響子宮中的嬰兒？嬰兒的哪些器官會受到影響

及會受到什麼影響？效果是可逆的嗎？在嬰兒發育的不同階段，效果會有所不同嗎？這些是至關重要的問題，例如，在決定是否可以為孕婦安全地使用該種藥物時。

如果不清楚物質毒性的確切機制，則使用動物可以觀察到物質對全身功能的影響，包括生殖系統。在這些更複雜的領域中採用替代動物研究是一項極高的挑戰，需要做大量的研究來理解物質潛在的機制，以便通過使用各種不同的工具將難題的各個部分放在一起。必須仔細考慮對此類系統和/或其部件的驗證，以確保結果可靠。

我們仍然缺乏對化學品如何導致毒理學效應的基本科學認識。評估化學物質對抗複雜系統性健康影響的常見挑戰，是簡單地預測化學物質在體內的停留位置以及停留的時間。此外，化學物質通常會在體內轉化並分解，有時轉化產物（代謝物）實際上是毒性的來源。

了解化學物質在體內的過程，即如何吸收、分佈、代謝（轉化）和排泄，對其所謂的毒理學“行動模式”至關重要。在毒性途徑中確定關鍵事件將有助於有針對性地開發專門的測試方法，以產生確定化學物質是否會引發不利結果所需的資訊，以及希望的是，這種效应在生物體中的強度。

在這種情況下，將不會僅有一種替代方法替代一種動物測試方法。需要綜合性的使用測試和電腦運算模型的組合來預測全身的毒性效應。

二、替代方法驗證程序

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的任務和活動（如關於保護動物用於科學目的指令2010/63 / EC所述）涵蓋了替代方法的整個過程，即從驗證發展到監管接受，國際認可和正確的科學應用。這些活動的核心是歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）驗證過程。驗證是在測試方法開發/優化和監管驗收/國際認可之間的窗口，並確保對測試方法和方法（如綜合測試策略，ITS）進行科學和認真評估，獨立於特定興趣，建立其整體表現和適合某一特定目的，即其科學有效性。

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）驗證過程允許執行所有歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）驗證研究並包含四個關鍵步驟，如圖2-2-1。

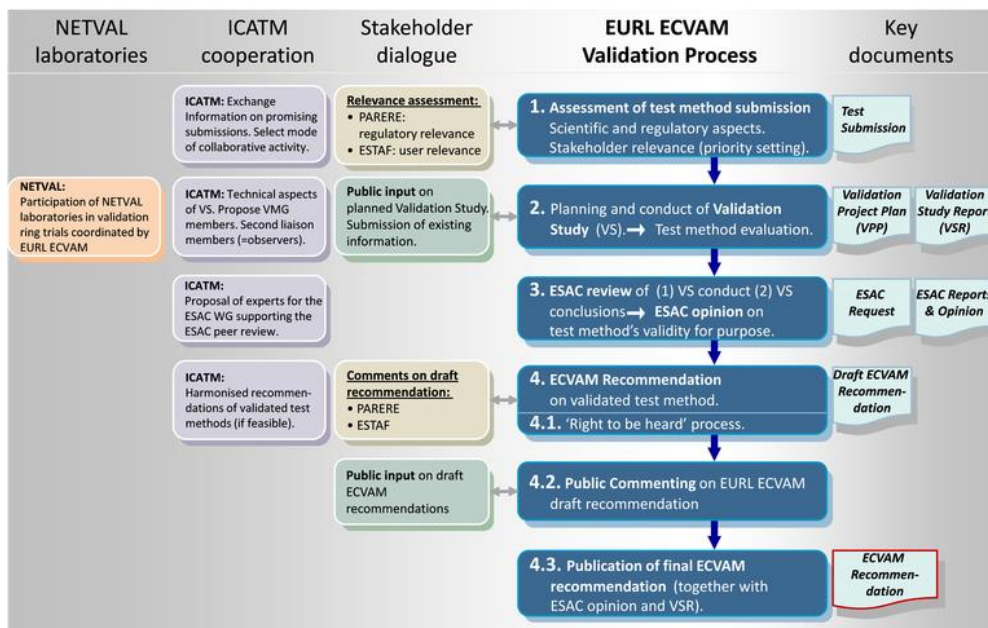


圖2-2-1 歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）驗證過程

資料來源：EURL-ECVAM（2018）

在此過程中，利益相關方、國際合作夥伴以及測試方法提交者都將參與到關鍵階段，以盡可能地考慮他們的觀點以及他們的技術和科學投入。

第1步驟 - 評估提交的測試方法和優先等級設置

1.對提交給歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的測試方法提案進行

科學評估。

- 2.徵求歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）磋商機構PAREERE和利益相關者論壇（ESTAF）對於提交的測試方法的監管和利益相關者相關性的意見。
- 3.如果需要，請向歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）科學諮詢委員會（ESAC）提供具體的測試方法建議，例如以確定提出的相似測試方法（也稱為“模仿型（me-too methods）”）確認與已驗證的方法足夠相似，以便可以通過基於性能標準的驗證來驗證它們。
- 4.與其他國家/地區的驗證機構在國際替代試驗方法合作組織（ICATM）中的互動。其目的是協調驗證工作並就各種法規要求交換意見和訊息。
- 5.個別測試方法或綜合方法的優先次序，特別考慮到歐盟監管要求和緊急情況。
- 6.優先測試方法可能包含在由歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）協調的驗證研究中（步驟2）。

第2步驟 - 規劃和執行驗證研究

- 1.公眾對計畫的驗證研究提供的意見（例如通過調用數據和協議），以確保在驗證設計和執行之前考慮所有相關的現有資訊。
- 2.驗證研究的設計和建立，包括研究目標的事前定義和測試方法的目的（例如，在ITS或監管環境中的特定用途）
3. 國際替代試驗方法合作組織（ICATM）合作夥伴就計畫驗證研究提供科學、技術和監管意見。
- 4.與歐洲替代方法確效中心（ECVAM）驗證原則和歐洲經合組織第34號指導文件中關於驗證替代方法的概述一致，設立國際驗證管理小組。
- 5.驗證研究（即多實驗室試驗）的協調，在可能的情況下，由歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）運行的驗證實驗室網絡（NETVAL）的實

驗室。

第3步驟 - 協調由EURL-ECVAM協調或評估的驗證研究的科學同儕評審

1. 歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）科學諮詢委員會（ESAC）完成的驗證研究經過獨立科學同儕評審。
2. 科學諮詢委員會（ESAC）的專業工作組（pecialised Working Groups，WGs）設立專門工作組以準備科學諮詢委員會（ESAC）同行評議並在“科學諮詢委員會（ESAC）工作組報告”中紀錄他們的發現。工作組通常由科學諮詢委員會（ESAC）成員和外部科學家組成（由ESAC，EURL-ECVAM和ICATM合作夥伴提名）。
3. 歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）負責協調科學諮詢委員會（ESAC工作組和同行評審流程，確保所有評審工作採取一致的方法。
4. 科學諮詢委員會（ESAC）的成果在於“科學諮詢委員會意見”，其中總結了給予歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的科學建議。

第4步驟 - 制定EURL-ECVAM關於測試方法有效性狀態的建議

1. 起草歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）建議書，考量ESAC意見、歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）自己的評估和其他相關資訊，總結測試方法的有效性狀態、其機制相關性、性能、限制和適用性。
2. 對利益相關者（PARERE，ESTAF）和國際替代試驗方法合作組織（ICATM）合作夥伴提出的建議草案提供意見（“限制性評論（restricted commenting）”）。
3. 來自測試方法提交者（“待判決（right to be heard）”程序）對建議書草案的意見。
4. 徵求公眾對建議書草案的評論意見（建議書草案現階段在歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的網站上發布）。建議書的完成以公正的方

式平衡了歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）自己的立場和所有其他收到的意見（ESAC、利益相關者、測試方法提交者、公眾、國際合作夥伴）

5.在IHL主持歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）之後，發布最終的歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）建議書。

這個過程（圖2-21藍色部份）包含四個關鍵步驟，與利益相關者（PARERE和ESTAF）、國際替代試驗方法合作組織（ICATM）和替代方法驗證的實驗室網絡（NETVAL）的互動表示在流程的左側；主要輸出文件在右側。處理步驟是：

- 1.考慮利益相關者和ICATM投入的測試方法提交的評估；
- 2.可能與替代方法驗證的實驗室網絡（NETVAL）合作進行驗證研究的規劃和實施；
3. 歐盟替代方法確效中心（ EURL-ECVAM）科學諮詢委員會（ESAC）對獨立科學同行評議的協調；
- 4.制定歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）關於考慮利益相關者和國際替代試驗方法合作組織（ICATM）投入的測試方法的有效性狀態的建議。進一步細分：
 - 4.1測試方法提交者可以在發布ECVAM建議草案之前對其進行評論（“待判決過程（Right-to-be-heard process）”）；
 - 4.2徵求公眾意見；
 - 4.3考慮收到的意見，最終確定ECVAM建議書。最後，在歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）網站上發布ECVAM建議書。

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的驗證過程包含4個主要步驟，每個步驟都涉及與利益相關者和國際合作夥伴的廣泛互動：

通常情況下，該過程始於歐洲替代方法確效中心（ECVAM）科學家提交的測試方法及其科學和技術評估。如有必要，歐洲替代方法確效中心

（ECVAM）科學家可以要求ECVAM科學諮詢委員會（ESAC）就科學/技術問題提出建議，並與其監管機構和利益相關方機構（PARERE和ESTAF）就所提交的方法在特定情況下的適用性進行交流（例如用於化粧品、植物保護產品或工業化學品等不同監管部門的安全評估）。

此外，歐洲替代方法確效中心（ECVAM）涉及其他國際驗證組織“國際替代試驗方法合作組織（ICATM）”的總括合作協議下進行合作。與國際替代試驗方法合作組織（ICATM）合作夥伴磋商是衡量歐盟驗證測試方法的潛在全球可用性的關鍵要素，也就是判斷測試方法一旦經過驗證後，歐盟公司是否可以使用這些測試方法來生成關於其物質的數據，例如美國或日本的法律。

一旦測試方法已經完全定義，下一步就是設計和執行一個驗證研究，包括一個環形試驗，以解決定義的測定目的。在這一步，歐洲替代方法確效中心（ECVAM）將決定實驗室在歐盟成員國（例如EU-NETVAL實驗室）或其他地方的參與。

一旦研究完成後，由ESAC進行同行評審，ESAC向歐洲替代方法確效中心（ECVAM）提供關於研究質量和該方法潛在用途的獨立科學意見；考慮到科學諮詢委員會（ESAC）的意見，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）制定了其建議書，總結了驗證研究的結果，包括對方法的總體性能，適用性，局限性和在不同情況下的潛在用途的描述。在公佈這一建議之前，歐洲替代方法確效中心（ECVAM）與其監管機構和利益相關方機構國際替代試驗方法合作組織（ICATM）進行磋商，並邀請測試方法開發人員（“有權發表意見”）和公眾聽取意見。（詳細請參閱本章二、歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）驗證過程。）

雖然驗證是科學過程的內在組成部分，但也是監管接受程度的基本先決條

件。驗證必須嚴格和公正，以便說服監管機構和最終用戶，與傳統方法相比，替代方法可以提供與人類健康和環境相同或更高水平的保護。

通常驗證的方法通常根據其可靠性和相關性進行評估。就可靠性而言，一種方法必須首先在一個實驗室內保持穩定性和可重複性，然後在至少兩個其他尚未執行此方法的實驗室中顯示可轉移和重現。由於技術和管理的複雜性，這樣的“循環試驗”可能難以建立和執行。測試化學品的選擇、採購和分銷以及實驗室人員的培訓通常會帶來相當大的挑戰。此外，試驗“預驗證”試驗往往需要優化和完善測試協議。驗證研究完成後，結果將進行獨立的科學同行評審。

儘管如此，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）仍在不斷尋求機會，以簡化其驗證流程，以最大限度地提高效率，同時保持高水平的質量和嚴謹度。

三、歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）已驗證的替代方案

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）為驗證以下列出的測試方法做出了貢獻，其他測試方法的驗證已由國際替代試驗方法合作組織（ICATM）的合作夥伴進行。

- 急性毒性：急性全身毒性測試包括通過特定途徑（口服、經皮、吸入）在24小時內評估單劑量或多劑量化學品或產品的一般毒性作用，該評估在給藥後的21天發生期持續觀察。
- 急性經口毒性：3T3纖維母細胞中性紅攝入（neutral red uptake, NRU）細胞毒性測定。
- 水生毒性：通常，水生毒性是指化學物質對生活在水中的生物的影響，並由代表三種營養水平的生物確定：藻類或植物、無脊椎動物，以及脊椎動物。
- 急性水生毒性：斑馬魚胚胎急性毒性試驗（ZFET）
- 水生生物濃度/生物濃度：水生生物濃度描述了生物對水性化學品在體內的累積，而生物濃度涵蓋了從所有環境來源（例如：水、食物和沈積物）。
- 生物製品：生物製品是指來自生物來源的產品，包括免疫製品（例如疫苗和血清）、激素、抗體和血液製品。
- 致癌性：如果物質在吸入、食入、皮膚應用或注射後誘導（惡性）腫瘤，增加其發生率、惡性程度或縮短腫瘤發生時間，則被定義為致癌物質。
- Bhas 42細胞轉化實驗：三種細胞轉化測定。
- 眼睛刺激/嚴重眼損傷：眼睛刺激是指將受測物質塗於眼睛的前表面後，眼睛產生的變化，這些變化在塗抹後21天內完全可逆。
- 細胞傳感器微生理儀（CM）毒性測試
- 螢光素洩漏（the fluorescein leakage test, FL）測試

- 牛角膜不透明度和滲透性（BCOP）測試
- 離體雞眼（ICE）測試
- EpiOcular™眼睛刺激測試（EIT）
- SkinEthic™HCE眼睛刺激測試（EIT）
- 眼刺激測定
- 低容量眼圖測試（LVET）
- 用於現有數據的體內兔眼測試模板
- 遺傳毒性
- 體細胞和生殖細胞的遺傳改變與嚴重的健康影響相關，原則上即使在低暴露水平下也可能發生。
- 光毒性（光刺激）定義為毒性反應，是在皮膚最初暴露於某些化學物質後再暴露於光之後引起的，或者是在全身性給予（口服或靜脈內）化學物質後由皮膚照射引起的毒性反應。
- 3T3中性紅攝入（NRU）光毒性測試
- 重複劑量毒性包括在指定時間內重複每天暴露於某種物質直至測試物種的預期壽命所產生的有害一般毒理作用。
- 皮膚腐蝕的定義是對皮膚產生不可逆轉的傷害。即，在施加測試物質達四個小時後，可見的壞死通過表皮進入真皮。
- 大鼠經皮電阻（TER）測試
- EpiSkin™皮膚腐蝕測試（SCT）
- EpiDerm™皮膚腐蝕測試（SCT）
- Corrositex®測定
- SkinEthic™RHE皮膚腐蝕測試（SCT）
- epiCS®皮膚腐蝕測試（SCT）
- 刺激性物質會導致由受影響組織的先天性（非特異性）免疫系統引起的皮

膚可逆的局部炎症反應。

- EpiSkin™皮膚刺激性測試 (SIT)
- EpiDerm™皮膚刺激性測試 (SIT)
- SkinEthic™RHE皮膚刺激性測試 (SIT)
- epiCS®皮膚刺激性測試 (SIT)
- 皮膚致敏化，旨在鑑定能夠在敏感族群中引起過敏反應的化學物質。
- 人類細胞系激活測試 (h-CLAT)
- KeratinoSens™檢測
- 直接肽反應性測定 (DPRA)
- U937細胞系激活測試 (U-SENS™)
- LuSens分析
- 毒物動力學根據ADME (吸收、分佈、代謝和排泄) 的概念，描述了人體如何處理化學物質，為劑量和時間的函數。

有關每種方法的更多信息，包括歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 建議，可以在以下網站找到：

(1) .最新的歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 狀態報告。

<https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/eur-scientific-and-technical-research-reports/eurl-ecvam-status-report-development-validation-and-regulatory-acceptance-alternative-4>

(2) .歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 追蹤系統，用於接受監管的其他方法 (TSAR) 。

<https://tsar.jrc.ec.europa.eu/>

(3) .有關動物實驗替代方法的歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 數據庫服務 (DB-ALM) 。

<https://data.jrc.ec.europa.eu/dataset/b7597ada-148d-4560-9079-ab0a5539cad3>

減少動物試驗的主要挑戰是充分推進毒理學和生物醫學科學的許多領域，

以提供完整有效的非動物解決方案，以檢測化學物質可能對生物體造成的所有可能的不利影響。

例如，人類繁殖系統涉及多個器官、組織和細胞以及作用於整個身體層次的荷爾蒙系統。因此，對繁殖系統具有潛在毒性的化學品可能通過許多不同的機制以各種方式發揮作用。這種複雜程度很可能不能僅在一個體外測試中模擬，但需要通過使用多個良好的非動物測試和電腦運算模型來重述。

2015年7月底發布了一系列新的和更新的OECD測試指南，以測試化學物質並識別危害，例如內分泌干擾、嚴重的眼部損傷、遺傳毒性、皮膚刺激性或腐蝕性。一些體內測試指南經過改進以擴大其範圍和實用性，或者新的體內測試指南可以生成有關內分泌干擾物的化學物質的綜合數據；其他尚有體外測試指南，該指南補充了解決特定危害的一系列替代方法。經合組織有關皮膚刺激性和皮膚腐蝕的測試指南已完全更新，以引用關於皮膚刺激性和腐蝕的測試和評估的新指南。

經合組織關於遺傳毒性測試的《測試指南》的修訂和現代化工作也已完成。更新的測試指南已於2015年7月28日通過，可從OECD i-library獲得，表2-3-1 彙整國際上已驗證的替代方案參考。另外，每年2月發布的歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM） Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches，在附錄一 Summary status of the adoption of Test Guidelines based on in vitro methods in the OECD TG programme 亦提供最新年度的更新或補充。

表2-3-1 國際上已驗證的替代方案參考表

(2019.10.5更新)

毒性終點	測試方法	建議和標準方法		
		OECD	其他權威機構	
嚴重眼損傷和刺激性	針對嚴重眼損傷和刺激檢測和評估的綜合方法 Integrated approach on testing and assessment (IATA) for serious eye damage and irritation	OECD 2017 年指導文件 (GD) 263		
	化學毒性評估策略 Chemical toxicity assessment strategy		歐洲化學物管理局 2017 年指導章節 R.7a., R.7.2.8–R.7.2.11	
	使用細胞傳感器微生理計、BCOP 和 EpiOcular™模型的測試框架來歸類農藥產品 Use of a testing framework employing cytosensor microphysiometer (CM), BCOP, and the EpiOcular™ model for classification of pesticide products		美國環保局 2015 年政策	
	重建人類角膜上皮細胞試驗 Reconstructed human cornea-like epithelium (RhCE) test method	EpiOcular™ (美國 MatTek)	OECD 2019 年修訂測試指南 (TG) 492	ESAC 2014 年聲明； JaCVAM 2017 和 2018 年聲明； KoCVAM 2016 年指南
		SkinEthic™ (法國 L'Oréal)		
		LabCyte (日本 J-TEC)		
		MCTT HCE™ (南韓 BiosolutionCo, Ltd)		
		螢光素滲漏試驗 Fluorescein leakage (FL) test method	OECD 2017 年修訂 TG 460	ESAC 2009 年聲明； JaCVAM 2013 年聲明
		短時間暴露體外試驗 Short time exposure (STE) <i>in vitro</i> test method	OECD 2018 年修訂 TG 491	ICCVAM 2013 年報告； JaCVAM 2016 年聲明； KoCVAM 2017 年指南
		Vitrigel 膠原膜眼刺激試驗 Vitrigel-eye irritancy test (EIT) method	OECD 2019 年 TG 494	
牛角膜混濁和通透性試驗 Bovine corneal opacity and permeability (BCOP) test method	OECD 2017 年修訂 TG 437	ICCVAM 2006 年報告； ESAC 2007 年聲明； JaCVAM 2009 和 2013 年聲明；		

				KoCVAM 2011 年指南
		離體雞眼試驗 Isolated chicken eye (ICE) test method	OECD 2018 年修訂 TG 438	ICCVAM 2006 年報告； ESAC 2007 年聲明； JaCVAM 2009 年聲明
		細胞傳感器微生理紀錄儀試驗 Cytosensor microphysiometer (CM) assay		ESAC 2009 年聲明； ICCVAM 2010 年報告
皮膚腐蝕和刺激性	針對皮膚腐蝕和刺激的檢測和評估的綜合方法 Integrated approach on testing and assessment (IATA) for skin corrosion and irritation		OECD 2014 年 GD 203	
	針對皮膚腐蝕和刺激的化學毒性評估策略 Chemical toxicity assessment strategy for skin corrosion and irritation			歐洲化學物管理局 2017 年指導章 節 R.7a., R.7.2
	針對皮膚腐蝕的 Corrositex 體外膜阻隔試驗法 <i>In vitro</i> membrane barrier test Corrositex for skin corrosion		OECD 2015 年修訂 TG 435	ICCVAM 1999 年報告； ESAC 2000 年聲明； JaCVAM 2017 年聲明
	人體表皮模型腐蝕試驗 <i>In vitro</i> skin corrosion: Reconstructed human epidermis (RhE) test	EpiSkin™ (法國 L'Oréal)	OECD 2019 年修訂 TG 431	ICCVAM 2002 年報告； ESAC 1998 年聲明； JaCVAM 2017 年聲明
		EpiDerm™ (美國 MatTek)		ICCVAM 2002 年報告； ESAC 2000 年聲明； JaCVAM 2017 年聲明
		SkinEthic™ (法國 L'Oréal)		ESAC 2006 年聲明； JaCVAM 2017 年聲明
		epiCS® (德國 CellSystems)		ESAC 2009 年聲明； JaCVAM 2017 年聲明
		LabCyte EPI- MODEL24 SCT (日本 J-TEC)		
		Vitrolife-Skin™		JaCVAM 2008 年聲明
	人體表皮模型刺激試驗 <i>In vitro</i> skin irritation: Reconstructed human epidermis (RhE) test	EpiSkin™ (法國 L'Oréal)	OECD 2019 年修訂 TG 439	ESAC 2007 年聲明； JaCVAM 2010 年聲明； KoCVAM 2014 年指南
EpiDerm™ (美國 MatTek)			ESAC 2008 年聲明；	

				JaCVAM 2013 年聲明； KoCVAM 2017 年指南
		SkinEthic™ (法國 L'Oréal)		ESAC 2008 年聲明； JaCVAM 2013 年聲明； KoCVAM 2017 年指南
		LabCyte EPI- MODEL24 SIT (日本 J-TEC)		JaCVAM 2013 年聲明； KoCVAM 2017 年指南
		Skin+® (法國 Sterlab)		
		epiCS® (德國 CellSystems)		
皮膚致敏性	皮膚致敏的有害結局路徑 Adverse outcome pathway (AOP) for skin sensitisation		OECD 2012 年 GD 168 (Part 1, Part 2)	
	針對用於 IATA 限定方法和個別資訊來源報告的指導 Guidance on reporting of defined approaches and individual information sources to be used within integrated approaches to testing and assessment (IATA)		OECD 2016 年 GD 256 (Annex I, Annex II)	
	針對皮膚致敏使用替代方法代替動物測試 Use of alternative approaches for skin sensitisation as a replacement for animal testing			美國環保局 2018 年政策
	化學毒性評估策略 Chemical toxicity assessment strategy			歐洲化學物管理局 2017 年指導章節 R.7a., R.7.3.4-R.7.3.7 (2017)
	OECD QSAR 工具箱 OECD QSAR Toolbox	針對皮膚致敏執行 AOP 流程 Implementing AOP workflow for skin sensitisation	OECD 2017 年訓練手冊	
		預測混合物皮膚致敏的例子 Example for predicting skin sensitisation of a mixture		
		如何利用基於類似物的交互比對預測化學物皮膚致敏潛力的例子 Example of how to predict the skin sensitisation potential of a chemical by read-across based on an analogue approach		
針對蛋白質共價結合 AOP 關鍵事件的化學測試 <i>In chemico</i> assays addressing the adverse	直接胜肽反應試驗 Direct peptide reactivity assay (DPRA)	OECD 2019 年修訂 TG 442C	EURL-ECVAM 2013 年建議； JaCVAM 2014 年聲明； KoCVAM 2016 年指南	

	outcome pathway (AOP) key event on covalent binding to proteins	氨基酸衍生物反應試驗 Amino acid derivative reactivity assay (ADRA)		
	ARE-Nrf2 螢光酶試驗 ARE-Nrf2 luciferase test method	KeratinoSens™ LuSens	OECD 2018 年修訂 TG 442D	EURL-ECVAM 2014 年建議； JaCVAM 2015 年聲明； KoCVAM 2017 年指南
	針對樹突細胞激活 AOP 關鍵事件的體外測試 <i>In vitro</i> assays addressing the adverse outcome pathway (AOP) key event on activation of dendritic cells	人體細胞株活化試驗 Human cell line activation test (h-CLAT) IL-8 螢光酶試驗 IL-8 Luc assay U937 皮膚致敏試驗 U937 skin sensitization test (U-SENS™)	OECD 2018 年修訂 TG 442E	EURL-ECVAM 2015 年建議； JaCVAM 2017 年聲明； KoCVAM 2017 年指南
光毒性	3T3 中性紅吸收光毒性試驗 3T3 neutral red uptake (NRU) phototoxicity test		OECD 2019 年修訂 TG 432	ESAC 1997 年聲明； ICH S10； KoCVAM 2007 年指南
	活性氧試驗 Reactive oxygen species (ROS) assay		OECD 2019 年 TG 495	JaCVAM 2015 年聲明； ICH S10
	人體皮膚模型試驗 Reconstructed human skin model assays			ICH S10
皮膚吸收穿透性	體外擴散法 <i>In vitro</i> diffusion method		OECD 2004 年 TG 428	JaCVAM 2014 年聲明； KoCVAM 2009 年指南
系統急毒性	針對農藥試劑豁免測的指導 Guidance for waiving tests for pesticide formulations			加拿大害蟲防治管理局 2013 年指導； 美國環保局 2016 年對皮膚急毒性的指導
	對於替代減量和優化動物用於檢測哺乳類系統急毒性的策略 Strategy to replace, reduce, and refine the use of animals in the assessment of acute mammalian systemic toxicity			EURL-ECVAM 2014 年指導
	協同急毒性模擬套件 Collaborative Acute Toxicity Modeling Suite (CATMoS)			NTP 替代毒理方法跨部門評估中心 (NICEATM) (2019)

	用 3T3 中性紅細胞毒性試驗識別不需要分類的物質 3T3 neutral red uptake (NRU) cytotoxicity test to identify substances not requiring classification		EURL-ECVAM 2013 年建議
基因毒性/致突變性	OECD QSAR 工具箱:利用交互比對預測安姆氏突變的例子 OECD QSAR Toolbox: Example for predicting Ames mutagenicity using read-across	OECD 2017 年訓練手冊	
	體外哺乳動物微核試驗 In vitro micronucleus test	OECD 2016 年修訂 TG 487	ESAC 2006 年聲明；ICH S2 (R1)
	細菌回復突變試驗 Bacterial reverse mutation test	OECD 1997 年修訂 TG 471	ICH S2 (R1)
	體外哺乳動物染色體變異試驗 In vitro mammalian chromosome aberration test	OECD 2016 年修訂 TG 473	ICH S2 (R1)
	體外哺乳動物細胞基因突變試驗 In vitro mammalian cell gene mutation test	OECD 2016 年修訂 TG 476	
	體外哺乳類細胞基因突變試驗:胸苷激酶基因 In vitro mammalian cell gene mutation tests using the thymidine kinase gene	OECD 2016 年修訂 TG 490	ICH S2 (R1)
致癌性	體外細胞轉化試驗 In vitro cell transformation assays (CTA)	OECD 2015 年 GD 214；OECD 2016 年 GD 231	EURL-ECVAM 2012 及 2013 年建議；JaCVAM 2018 年聲明
致熱性	單核球活化試驗 In vitro monocyte activation tests (MAT)		ICCVAM 2008 年報告；ESAC 2006 年聲明；歐洲藥典章節 2.6.30；美國食藥署 2012 年指導
血液毒性	CFU-GM 試驗 CFU-GM assay		ESAC 2006 年聲明
生殖毒性	胚胎幹細胞試驗 Embryonic stem cell test (EST)		ESAC 2001 年聲明
	微團胚胎毒性試驗 Micromass embryotoxicity assay (註:涉及動物胚胎因此僅當為替代使用較成熟動物個體的法定試驗時才應使用)		
	大鼠胚胎毒性試驗 Whole rat embryotoxicity assay (註:涉及動物胚胎因此僅當為替代使用較成熟動物個體的法定試驗時才應使用)		
內分泌干擾物篩選	檢測雌激素受體激動劑和拮抗劑的穩定轉染反式激活體外試驗	OECD 2016 年修訂	JaCVAM 2016 年聲明

	Stably transfected transactivation in vitro assays to detect oestrogen receptor agonists and antagonists	TG 455	
	H295R 類固醇合成試驗 H295R steroidogenesis assay	OECD 2011 年 TG 456	
	BG1 螢光酶雌激素受體試驗 BG1Luc oestrogen receptor method	OECD 2012 年 TG 457	JaCVAM 2014 年聲明
	穩定轉染人類雄激素受體轉錄激活試驗 Stably transfected human androgen receptor transcriptional activation assay	OECD 2016 年 TG 458	
	檢測有結合親合力化學物的人類重組雌激素受體體外試驗 Human recombinant oestrogen receptor (hrER) <i>in vitro</i> assays to detect chemicals with ER binding affinity	OECD 2015 年 TG 493	
	爪蟾游走期胚胎甲狀腺試驗 Xenopus eleutheroembryonic thyroid assay (XETA) (註:涉及動物胚胎因此僅當為替代使用較成熟動物個體的法定試驗時才應使用)	OECD 2019 年 TG 248	
水生生物毒性	OECD QSAR 工具箱:預測已知成分化合物對魚產生的急性水生生物毒性的例子 OECD QSAR Toolbox: Example for predicting acute aquatic toxicity to fish of mixture with known components	OECD 2017 年訓練手冊	
	用 EnviroTox 數據庫計算閾值 EnviroTox database to calculate threshold values		健康和環境科學研究所 (2018)
	淡水藻類和藍藻生長抑制試驗 Freshwater alga and cyanobacteria growth inhibition test	OECD 2011 年 TG 201	
	水蚤急性固定化試驗 <i>Daphnia</i> sp acute immobilisation test	OECD 2004 年 TG 202	
	使用 RTgill-W1 鱒魚細胞株的魚急毒性體外試驗 In vitro fish acute toxicity test using the permanent rainbow trout cell line RTgill-W1		ISO 21115 2019 年標準
	使用凍存鱒魚肝細胞的固有清除體外試驗 <i>In vitro</i> intrinsic clearance test using cryopreserved rainbow trout hepatocytes (註:涉及動物原代細胞因此僅當為替代使用活體動物的法定試驗時才應使用)	OECD 2018 年 TG 319A; OECD 2018 年 GD 280	
	使用鱒魚肝 S9 亞細胞組分的固有清除體外試驗 <i>In vitro</i> intrinsic clearance test using rainbow trout liver S9 sub-cellular fraction (註:涉及動物原代細胞因此僅當為替代使用活體動物的法定試驗時才應使用)	OECD 2018 年 TG 319B; OECD 2018 年 GD 280	
	魚胚胎急毒性試驗 Fish embryo acute toxicity test (FET) (註:涉及動物胚胎因此僅當為替代使用較成熟動物個體的法定試驗時才應使用)	OECD 2013 年 TG 236	EURL-ECVAM 2014 年建議
全終止點	考慮免測或接橋哺乳類急毒性試驗的指引	OECD 2016 年 GD	

Guidance on considerations for waiving or bridging of mammalian acute toxicity tests 免測或接橋農藥急性毒性試驗的指引	237	加拿大衛生局 2013 年指導
Guidance for waiving or bridging of acute toxicity tests for pesticides 用於綜合測試評估方法的定義方法匯報的指引	OECD 2016 年 GD 255	
Guidance on the reporting of defined approaches to be used within integrated approaches to testing and assessment (Q) SAR 模型驗證指引	OECD 2007 年 GD 69	
Guidance on the validation of (Q) SAR models OECD QSAR 工具箱：指導文件和訓練資料	OECD 2018 年修訂	
OECD QSAR Toolbox : Guidance documents and training materials QSAR 模型數據庫		由歐盟委員會聯合研究中心維持
QSAR Model Database 數個模型程序		如 Lhasa Limited, Leadscope, ScitoVation 和 Simulations Plus 的程序
Various modelling programs 化學物分類的指引	OECD 2014 年 GD 194	—
Guidance on the grouping of chemicals 交互比對評估框架		歐洲化學物管理局 2017 年指導
Read-across assessment framework 體外試驗實踐指引	OECD 2018 年 GD 286	
Guidance on good <i>in vitro</i> method practices 描述非指南體外試驗的指引	OECD 2014 年 GD 211	
Guidance for describing non-guideline <i>in vitro</i> test methods 根據成分毒性分類化合物		聯合國 2015 年“全球化學品統一分類和標籤制度”指導；美國環保局試點計畫
Classification of mixtures based on the toxicity of ingredients		

終點	替代方法或計策	監管承認
生物製劑測試	體外鈎端螺旋體疫苗效力試驗 <i>In vitro</i> leptospirosis vaccine potency assay	USDA 補充測定方法 (SAM) 624, 625, 626, 和 627
	體外丹毒疫苗效力試驗	USDA SAM 612 和 613

<i>In vitro</i> erysipelas vaccine potency assay 體外梭菌疫苗效力試驗	USDA SAM 220 草稿
<i>In vitro</i> clostridial vaccine potency assay 體外破傷風類毒素效力試驗	USDA SAM 217
<i>In vitro</i> tetanus toxoid potency assay 體外重組抗體製造法	See PISCLtd.org.uk/antibodies
<i>In vitro</i> recombinant antibody production methods 獸醫目標動物批次安全試驗	證明合規後可免；USDA CVB 備忘錄 800.116
Veterinary target animal batch safety test (TABST) 撤銷一般安全試驗/異常毒性試驗 Revocation of general safety tests (GST) /abnormal toxicity tests (ATT)	FDA 2015 年修改生物製劑法規撤銷了 GST； 所有歐洲藥典專刊 2017 年修改撤銷了 ATT
<p>對於全終止點，必須隨時使用內部研發的體外測試方法。 研究人員應盡一切努力使用可用的非動物試驗方法。 如果這些方法不被監管機構接受，關於減量和優化的方法請參考以下網站：</p> <ul style="list-style-type: none"> • NICEATM 接受的替代方法 • EURL-ECVAM 對於監管承認的替代方法的追蹤系統 	

更多關於替代和減量的方法可參考以下數據庫：

- EURL-ECVAM Database Service on Alternative Methods to Animal Experimentation
- EURL-ECVAM Tracking System for Alternative Methods Towards Regulatory Acceptance

關於本文提到的指導文件和試驗方法的詳細資訊可在以下網站上找到：

- OECD Guidelines for the Testing of Chemicals
- OECD Adopted Guidance and Review Documents, Series on Testing and Assessment
- EURL-ECVAM Validated Test Methods
- NICEATM Accepted Alternative Methods
- ICCVAM Test Method Evaluations
- USDA Listing of Supplemental Assay Methods

第三章 2019年度歐盟替代方法確效中心之開發、驗證和監管接受的 狀態

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）狀態報告是對2008年至2013年在化粧品法規第1223/2009號法規框架內發布的ECVAM進度報告的後續行動，該法規明確禁止在動物身上測試並在歐盟銷售的化粧品，並需要監控歐盟的狀態替代方法。狀態報告的主要目的是向其利益相關者和所有有關方面通報在替代方法的開發、驗證和監管接受以及使用方面的總體進展，尤其是歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）在該領域的活動。

這份2019年度歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）狀態報告是第六份提供了有關替代動物方法和方法的開發、驗證和監管接受以及其傳播方面的最新進展的信息，主要的內容包括替代方法研究與開發活動、測試方法提交與驗證、促進監管接受和國際採用替代方法、替代方法工具與教育訓練等活動執行狀況。

2019年狀態報告摘要如下：

由“2020年歐盟研究與創新框架計畫（EU Framework Programme for Research and Innovation, Horizon 2020）資助的研究計畫正在促進基於機械化（mechanistic-based）（用電腦計算）的毒性測試，以支持化學品的風險評估，其主要重點是重複劑量、發育和生殖毒性。取得的進展包括開發“讀取（read-across）”方法，該方法利用（化學）結構特徵和體外生物活性數據來識別相似的化學物質以填補數據空白，並避免不必要的動物測試。此外，也關注“從頭開始（ab initio）”的策略，目的是僅使用體外和計算機方法進行安全性評估，而無需採用複讀法。

其他由歐盟資助的研究項目也在研究新的測試方法，以識別破壞內分泌的化學物質並評估化學混合物。在創新藥物倡議資助下的“疫苗批次與批次間比較的一致性測試（Vaccine batch to vaccine batch comparison by consistency testing，

VAC2VAC) ”項目中，在提供人用和獸醫用疫苗標準的、科學有效的非動物性方法用於安全性和效力測試方面已經取得了重大進展。

歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 正在探索化學暴露與公眾健康和環境健康之間的更廣泛關係，並特別關注致癌性領域。當前的重點是研究如何更適當地評估化學物質的致癌特性，同時考慮到癌症在我們社會上實際發生的困擾，並更善加利用人類相關數據和評估工具。另外，亦正在評估數據轉化和人工智能對化學品領域決策的潛在影響。對於環境影響，與魚類毒性和生物蓄積 (bioaccumulation) 有關的研發項目繼續由“Cefic遠程研究 (Cefic Long-range Research Initiative) ”資助，這是歐洲化學工業的一項重大自願計畫，旨在支持其行業和歐洲社會的長期可持續性。其他項目的重點是廢水和用於環境風險評估的毒理學關注生態閾值 (ecological Threshold of Toxicological Concern, eco-TTC) 概念的開發。

體外方法的驗證活動在內分泌干擾 (甲狀腺)、皮膚致敏 (基於轉錄組學的體外方法) 和遺傳毒性 (3D皮膚模型上的微核和彗星測定) 方面取得了進展。歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 的科學諮詢委員會 (ESAC) 對雄激素受體反式激活分析 (已包含在最新的OECD TG458中) 和生物洗脫測試方法進行了同儕評審。當與模擬生物介質接觸時，後者測量無機金屬化合物和含金屬材料中金屬的相對生物可及性。

為了取代使用動物來生產用於科學目的的抗體，ESAC還審查了非動物來源的抗體和非抗體親和試劑在研究、診斷和監管測試應用中的科學有效性。

歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 繼續與歐盟機構 (ECHA、EFSA、EMA)、其監管網絡 (PARERE)、利益相關者論壇 (ESTAF)、用於替代方法驗證的實驗室網絡 (EU-NETVAL)、歐洲動物方法替代方案夥伴關係 (EPAA) 和國際協調機構 (OECD、WHO、ICH、VICH、EDQM、UN) 的大量項目合作，目的是促進化學和產品監管測試中非動物方法 (體外測試、計

算模型和綜合評估策略) 在國際上的廣泛接受和應用。

根據歐盟關於在科學程序中使用動物的統計數據，大多數動物仍被使用在基礎研究、應用研究和轉譯研究中。為了鼓勵在這些領域中替代藥物的開發和使用，對目前用於研究呼吸道疾病、神經退行性疾病、心血管疾病、乳腺癌、先進療法藥物的免疫原性測試、自體免疫性疾病和免疫腫瘤學模型的非動物模型和方法的主要評估於2019年進行，並將於2020年發布。其他活動包括在各種情況下監測採用替代方法的水平，並嘗試調合這些替代方法與生命科學學科之間存在的差距。

最後但重要的是，只有通過適當地教育下一代，才有可能完全擺脫將動物用於科學目的的模式。因此，在歐洲議會的支持下，歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 在2019年投入了巨大的精力，為教育組織的決策者制定指導方針，針對中學、大學生和早期職業科學家提供一系列教學的資源，在課程中介紹引入“3Rs”的方法，該指導和教材將於2020年初免費提供。

一、替代方法研究與開發活動

1、EU-ToxRisk

EU-ToxRisk是由“2020年歐盟研究與創新框架計畫”資助的合作項目，旨在推進基於機械化（用電腦計算）的毒性測試和化學品風險評估。EU-ToxRisk項目的前三年中，一項顯著的活動是開發一種新穎的方法來“讀取（read-across）”相似化學物質之間的毒理學特性，以填補數據空白並避免不必要的動物測試。來自體外和計算方法的數據與化學結構信息相結合，以表徵化學物質之間的相似程度，從而減少科學不確定性並增加對“讀取”的信心。

“讀取（read-across）”相關案例研究在“新方法（New Approach Method，NAM）支持的跨學科：從案例研究到安全評估的監管指南”研討會上，被提交給國家主管部門和歐盟機構的監管者。相關案例研究也已提交給經合組織

（OECD）的綜合測試與評估方法（IATA）案例研究項目，以供國際監管專家進行正式審查。目的是利用所獲得的經驗和收到的回饋，產生有關如何最佳使用NAM來支持“讀取（read-across）”以填補數據空白和滿足法規信息要求的指導文件。這些研究中的許多案例將涉及“從頭開始（ab initio）”的情況，其中的挑戰是僅使用體外和計算機方法進行安全性評估，而不能求助於“讀取（read-across）”。

2019年4月，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）與EU-ToxRisk和Cosmetics Europe一起在JRC上組織了一個研討會，以幫助闡述“從頭開始（ab initio）”的安全評估方法的概念基礎。展望未來，歐盟替代方法確效中心

（EURL-ECVAM）將繼續向所有參與的實驗室傳播化學品研究案例，並將為採用“從頭開始（ab initio）”方法的某些案例研究積極貢獻專業知識和實驗數據。

此外，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）一直在支持相關測試方法的協議。在初步指導後，已經提交了15種方法，並將其納入在有關動物實驗替代方法的歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）數據庫中（DB-ALM）。作

為後續措施，EU-ToxRisk提出了協議應用模板-ToxTemp以利擴展及應用，該模板最近在ALTEX上發布。

2、歐洲化學混合物研究項目

EDC-MixRisk研究了產前暴露於疑似內分泌破壞性化學物質（endocrine disruptive chemicals，EDC）混合物對兒童發育和健康的影響。這項工作強調了EDC混合物在胎兒發育過程中的潛在影響，並為混合物風險評估提供了新的工具和方法。EuroMix旨在為化學混合物建立新穎的測試和評估策略，開發適當的混合物風險評估方法，並在易於訪問的互操作數據和模型平台中實施該方法。幾個利益相關者團體接受了案例研究中EuroMix平台的培訓和測試，並進行了包括大量化學物質在內的膳食暴露評估。這些項目的更多結果可以在其網頁上找到。

歐洲人類生物監測計畫（European Human Biomonitoring Initiative，HBM4EU）是歐洲協調和推進人類生物監測以作為制定化學政策提供依據的倡議。HBM4EU中的工作包之一專門用於化學混合物，進行了聯合暴露評估現有數據的案例研究，並將進行新的聯合調查，以探討熱點地區和控制區域中多種農藥的暴露情況。

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）進一步研究了化學混合物的風險評估和風險管理的當前挑戰和未來觀點。混合物的危害、暴露和風險評估方面的科學挑戰不僅有待解決，而且另一個重大挑戰是制定適當的風險管理措施。如果某種特定的混合物引起關注，則可能需要對單獨沒有危險的化學品進行限制。

3、歐洲內分泌干擾物研究項目

（1）. EURION：

在2019年1月，由歐洲委員會（EC）研究與創新總局（Directorate-General Research and Innovation，RTD）資助的8個項目被稱為“識別內分泌干擾物的新

測試和篩選方法（New testing and screening methods to identify endocrine disrupting chemicals）”，這些項目將持續五年，重點是研究較少的內分泌紊亂領域；即甲狀腺破壞（3個項目）、代謝紊亂（3個項目）、發育性神經毒性（1個項目）和女性生殖（1個項目）。

這些項目被分組為一個名為“改善內分泌干擾物識別的歐洲集群（European Cluster to Improve Identification of Endocrine Disruptors，EURION）”的團體，以優化它們之間的協同作用。這些項目的成果應有助於在經合組織開展關於內分泌干擾物的國際活動，並且促進監管的採用，在提案中納入驗證步驟被認為是必不可少的。JRC / 歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）將為將研究結果轉化為法規應用的項目提供支持，並在驗證和不良結果途徑（adverse outcome pathway，AOP）開發等方面提供具體支持。

（2）.哺乳動物系統中的甲狀腺干擾物測試：

2017年底，歐盟環境總局（EC Directorate-General for Environment）發起招標，要求制定一項哺乳動物系統中甲狀腺破壞劑測試的研究方案，以通過加強現有的OECD測試來改善對甲狀腺系統的干擾物質的識別準則和/或制定新的測試準則。這個為期18個月的項目於2019年6月完成。該項目側重於研究哺乳動物有機體中破壞甲狀腺的化學物質的神經發育作用，研究擴大一代生殖毒性研究的潛在終點（OECD TG 443）。

這項研究的結果表明，在測試的各種物質中，所測參數之間的影響模式存在差異。某些被測物質僅部分與其已知的作用方式一致，即可誘發某種效應。

（3）.非哺乳類脊椎動物的甲狀腺破壞試驗

2018年6月，環境總局還招標進行監管試驗研究方案的開發，以鑑定非哺乳類脊椎動物或無脊椎動物中的內分泌干擾物，即用於環境危害評估的監管相關終點，增強現有的測試準則和/或制定新的測試準則。

選定的項目將持續24個月，並有兩個目標：

A.合併兩個已經存在的魚類測試指南TG 229（成年魚的短期繁殖試驗）和TG 234（魚類的性發育測試，從卵到幼魚），以便獲得涵蓋魚類所有相關生命階段的測試指南，以識別內分泌干擾物。這些測試指南包括旨在確定魚類中雌激素和雄激素作用的終點，但沒有甲狀腺相關終點。

B.評估在此合併方案中添加與甲狀腺相關的終點（例如眼部發育、游泳膀胱膨脹和甲狀腺組織病理學）的可行性。

4、健康與環境化學品暴露之間的關係

接觸化學物質是影響疾病或生態系統的幾種風險因素之一。為了使化學品風險評估更加相關和有效，包括調查流行病、化學品暴露與健康影響之間建立的聯繫以及對多種化學物質的聯合暴露的考慮等，在研究化學品對疾病引發過程的貢獻很重要。歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）最近在化學環境變化和疾病負擔挑戰的背景下，對當前可用的致癌性測試規範的相關性和可能存在的差距進行了分析。

實際上，世界衛生組織（WHO）調查確定的癌症發病率和患病率的上升令人嚴重關切。此外，由於包括新化合物在內的全球化學品生產趨勢的增長，預計化學品的暴露方式將發生變化，對化學品安全評估的要求也將不斷提高，並存在潛在的保護差距。

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）認為，致癌性的安全性評估需要不斷發展，以適應化學環境和癌症流行病學的變化。許多工具可以使用或正在開發中，以更準確地評估致癌性終點。這項研究的結果為開展一系列內部探索活動奠定了基礎，這些活動與更了解化學物質對疾病（包括癌症和/或其他非傳染性疾病）的貢獻有關。機會不僅在於可利用的健康指標的分析和新指標的定義，也在於人類和環境風險評估方法與風險因素敏感性分析之間的比較分析。

5、跨毒性端點的數據集成以探索致癌性測試的新方法

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）已開始研究利用現有數據對在不

同物種和使用不同模型中測得的幾種毒理作用進行比較分析的方法，這樣做是為了避免進行多餘的體內研究，並儘量減少對極端終點試驗的依賴。

總體目標是探索通過結合不同系統毒性終點的信息（而不是單獨考慮它們），並將其與體外/計算機數據集成的方式來開發評估危害的策略的可能性。這種綜合的“比較毒理學”方法原則上可以應用於任何毒性終點，並有望為放棄多餘的毒性研究（主要是長期的，包括致癌性）提供一系列選擇，最終目的是設計可持續的測試策略。

通過設計和開發一種監管工具，該綜合方法已被用於致癌性評估，以指導對致癌危險性評估所必需的信息進行推展和整合。在這方面，該工具可將當前測試指南和非標準方法規程中儲存的信息鏈接到致癌物的關鍵特徵，有望幫助充分利用儲存的信息並避免重複研究。

6、重複劑量毒性研究的機制分析

與旨在探索通過結合不同全身毒性終點信息（上述第5點中所述）來開發評估危險策略的可能性的活動一致，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）正在著手一項針對重複劑量毒性的相關性研究。具體來說，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）建議進行一項分析，旨在收集、組織和分析與動物模型反覆接觸測試化學品後對目標器官的毒理學影響有關機制的知識。

該分析的結果將描述引起重複劑量全身毒性的化學藥品的一系列特性，並通過改進和增強標準體內研究以改善毒性的鑑定來鑑定新穎的體內方法。預期該研究結果將為系統毒性替代方法的設計提供參考，這些方法的基礎是更了解當前體內（動物）測試機制的基礎及其與人類的相關性。

7、人工智能與化學風險評估

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）舉行“用於化學風險評估的人工智能（Artificial Intelligence for Chemical Risk Assessment, AI4CRA）”的研討會，參與者來自人工智能（AI）和化學風險評估（CRA）的科學家，一起探索

如何應用AI方法以及在何種程度上支持定量方法（大量未充分評估的化學品以及現有信息源的管理範圍不足）和定性方法（速度、透明度、可再現性、可靠性、客觀性、信譽等）。

作為AI4CRA研討會的後續活動，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）在2019年“計算毒理學（Computational Toxicology）”上發表了一篇論文，指出了AI可以支持或增強的可能的化學風險評估主題，這些問題可以由AI識別並確定問題的優先排序，增強證據基礎（例如，系統審查）、知識發現、優化專家識別、增強專家協作、過程仿真和建立認知模型。

8、器官晶片開發

器官晶片開發（Organ-on-chip in Development，ORCHID）是一項由歐盟資助的項目。ORCHID的主要目標是為器官晶片（Organ-on-chip，OoC）技術創建路線圖，並建立一個由在此快速發展的領域工作的所有相關利益相關者組成的網絡。ORCHID於2017年10月開始，共有七家歐洲頂尖的研究機構參與其中，並於2018年組織一個獨立的非營利機構-歐洲器官晶片協會（European Organ-on-Chip Society，EUROoCS）。歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）已與ORCHID合作，研究晶片技術在不同領域的影響，特別是在化學毒性領域。

儘管ORCHID項目已於2019年10月結束，但歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）打算繼續與晶片器官領域的專家合作，即來自MarieSkłodowska-Curie資助的創新培訓網絡（Innovative Training Network，ITN）以及歐洲器官晶片協會（EUROoCS）。這兩個組織均來自ORCHID項目的活動。

9、用於生物醫學研究的非動物方法的綜述

根據最新的歐盟科學用途動物使用統計報告，該報告涵蓋了2015年至2017年歐盟成員國的統計數據，研究用途佔動物使用的68%，而法規使用則佔23%。

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）研究已經完成審查在基礎和應用研究中涉及呼吸道疾病和神經退行性疾病兩個領域中的非動物模型和方法，並將於2020年以歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）研究的數據集形式提供。選擇領域的標準是人類疾病的發生率/流行率、使用的動物數量高以及化學暴露與疾病發展之間的潛在因果關係。

在呼吸系統疾病領域，模型最多的是肺癌，基於2D或3D培養物的已鑑定並用於研究以蛋白質和基因表達為生物學終點的疾病機制。

對於神經退行性疾病，最多的模型集中於阿茲海默病（Alzheimer，AD）和帕金森氏病（Parkinson's，PD），主要是基於人/患者離體組織或體液。在阿茲海默病領域幾乎所有模型/方法中的三分之二都集中在對疾病機制的深入了解上。大約三分之一主要用於改進診斷，少數模型涉及疾病治療開發或實驗模型開發。對於帕金森氏病，也看到了類似的趨勢，其中所有模型/方法中的三分之二側重於對疾病機制的深入了解，而三分之一則主要針對改進診斷。

在心血管疾病、乳腺癌、先進療法藥物的免疫原性測試、自體免疫性疾病和免疫腫瘤學模型領域也陸續進行研究。

10、VAC2VAC 項目

疫苗批次與批次間比較的一致性測試（VAC2VAC）項目中匯集了22個公共和私人合作夥伴，其中包括以歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）代表的JRC。這個為期五年的項目（2016年至2021年）由創新藥物倡議2（Innovative Medicines Initiative，IMI 2）資助，該倡議由歐盟Horizon 2020研究與創新計畫和歐洲製藥工業和協會聯合會（European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations，EFPIA）共同承擔。

總體目標是證明已建立疫苗的批量釋放測試的一致性方法的概念證明。為此，基於非動物的方法，針對人醫用（例如白喉、破傷風、無細胞百日咳、傳腦炎等）和獸醫用（例如破傷風、狂犬病、梭菌、鉤端螺旋體、感染性支氣管

炎等)疫苗的安全性和效力測試、開發、標準化和驗證。

由JRC領導的驗證工作包為VAC2VAC方法開發人員制定了有關如何在國際協調國際合作背景下進行測定驗證的指南(獸用)藥品註冊技術要求(ICH/VICH)指南,目前正在討論質量控制策略的驗證。

評估傳播性腦炎疫苗的兩種質量控制方法的可轉移性和可重複性的研究計畫亦與公共和私人合作夥伴進行協作。

11、歐盟替代方法確效中心(EURL-ECVAM)實驗室研究

(1) 高通量轉錄組學:

歐盟替代方法確效中心(EURL-ECVAM)實驗室開始探索基於體外轉錄組學測試方法對其監管應用的技術可靠性和生物學相關性。在過去的十年中,轉錄組學技術對化學作用方式、生物標誌物、疾病病因學的發現產生了巨大影響,儘管如此,全基因組分析在決策過程中的使用仍很緩慢。

迄今為止,在歐盟替代方法確效中心(EURL-ECVAM)上進行了兩項高通量轉錄組學研究。第一項研究是一項試點性體外研究,使用了以20種化學藥品處理過的肝細胞系HepaRG,濃度為7種濃度;該研究以定量高通量篩選

(quantitative High Throughput Screening, qHTS)格式進行,證明了在自動化毒理學測試中使用最新的靶向測序技術的可行性。此外,與高內涵成像數據集成的劑量反應模型為有毒化學物質的作用機理提供了有趣的見解,並證明了這種方法在毒理學研究中的生物學相關性,這對轉化應用至關重要。

此外,歐盟替代方法確效中心(EURL-ECVAM)當前正在探索這些數據是否最終可以用於各種目的。例如,以“讀取(read-across)”方式計算出發點或制定行動模式,並研究這些分子變化是否可以提供有益的信息,例如:毒性作用的嚴重程度和/或其可能的累積損害。最後,還考慮了將“體學(omics)”納入逐步風險評估工作流程的最終可能性。

(2) 肝臟代謝清除:

在許多情況下，人肝代謝清除率代表了動力學的主要驅動過程，以確定動力學在生物系統中的濃度-時間曲線，並且是支持化學危險性評估的必不可少的信息來源。 歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）目前正在使用肝細胞進行肝代謝清除的實驗室研究，上述肝細胞包含完整細胞內維持的全部代謝酶，因此可提供足夠的體外模型來預測體內代謝清除。

本質上，通過在培養基中使肝細胞暴露於測試化學品，準備重複的樣品以使相互作用能夠在適當的時間間隔後終止，例如從零時至兩小時（例如0、15、30、60、90、120分鐘）。

隨時間測定上清液化學濃度可以計算出由於代謝而發生的任何消耗速率，然後可以通過化學物質的相對固有清除率對其進行排名。此外，證據結果有助於評估的權重，包括重讀和類似結構的化學物質（類似物）之間數據外推的概念，作為估計生物學行為的基礎。

（3）發育性神經毒性：

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）進行了研究，其中使用了應用於誘導多能幹細胞（human induced pluripotent stem cells, hiPSC）的神經元和神經膠質培養物的體外測定，評估了十種發育神經毒性（neurotoxicity, DNT）化學品混合物的作用。這些培養物暴露於由人類樣品（例如母乳或兒童血液）中發現的濃度的不同種類化學物質組成的混合物中，從而模擬了現實生活中的暴露情況。

所應用的體外測定法與不良結果路徑（AOP）中確定的常見關鍵事件相關，其中將兒童學習和記憶障礙定義為不良結局。這些化學品已根據其作用方式分為“相似”和“不同”。單一化學物質在非細胞毒性濃度下以相似的作用方式起作用，在混合物中誘導DNT效應，在一定程度上可重現自閉症兒童大腦中觀察到的自閉症樣細胞變化。

獲得的結果表明，將hiPSC衍生的混合神經元/神經膠質細胞培養物應用於

一系列AOP網絡常見關鍵事件的測定方法，是一種鑑定可能導致孩子們學習和記憶障礙的化學物質混合物的有價值的方法。

使用相同的方法評估暴露於持久性有機污染物（persistent organic pollutants, POPs）混合物引起的DNT效應。經歷分化的HiPSC衍生神經幹細胞暴露於POPs的濃度與人類血液中發現的濃度相似或更低。獲得的數據表明，這些濃度的POPs混合物改變了腦源性神經營養因子（brain derived neurotrophic factor, BDNF）水平，神經突向外生長，突觸形成和神經元細胞數量，表明對神經發育障礙的潛在貢獻。

（4）增加生物複雜性的細胞模型：

體外測定的相關性歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）正在使用諸如球體之類的複雜細胞模型進行初步研究。在傳統的二維（two-dimensional, 2D）單層培養中，細胞生長在基質的頂部，這導致了非生理狀況。相反，球狀體和其他三維（three-dimensional, 3D）細胞模型可以概括天然組織中更好的3D結構。結果，細胞的組織和極化更好，因此它們的細胞分化，細胞間通訊和代謝水平比2D細胞模型明顯提高。由於這些特性，複雜的細胞模型被廣泛用於藥物發現研究中，而且，複雜細胞模型可用於個性化醫學中，例如，通過培養患者的組織樣品並測試哪種藥物對治療最有效。更好的生物學相關性也有利於化學物質的毒性測試，因此歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）正在探索利用高通量篩選（HTS）來測試複雜細胞模型上化學物質安全性的可能性。迄今為止，努力集中在從人誘導的多能幹細胞（hiPSC）和肝細胞（HepaRG細胞系）獲得的神經元細胞中產生球體。初步研究表明，hiPSC神經元球體的電活動遠高於傳統的2D hiPSC神經元，這將使其成為測試發育神經毒性（DNT）的良好候選者。肝細胞可有效形成球體，並且可以在384孔板中輕鬆生長，使它們可以在HTS中使用，以有效地測試大型化學庫。

（5）無動物測試系統：

人們通常認為基於人體細胞和組織的系統等同於無動物實驗室工作，但實際上，動物衍生產品仍在使用，並且在細胞培養技術的發展中很重要。在實驗室研究和開發活動中廣泛使用了三類主要的動物來源成分：A.血清。B.抗體。C.其他生物提取物。

胎牛血清是胎牛的凝結血液的液體部分，幾十年來一直是細胞培養的組成部分，但是由於其不確定的性質，近年來一直不鼓勵使用它。歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）建議提供無動物的體外方法，並且可以可靠地用於支持監管決策。許多體外方法仍然使用一種或多種基於動物的試劑，例如胎牛血清或抗體。

建議使用無血清，化學成分確定的培養基，以避免潛在的不確定性來源，並出於生物安全和道德原因。化學定義/控制的培養基的特點是定性和定量（批次間）變異性低，合成產物和代謝產物的簡化分離以及避免使用動物源材料。

常規動物來源的抗體廣泛用於生物醫學實驗室研究，例如，在分子層次上監測疾病進展、細胞成分的定位或定量、單一蛋白質分離或研究蛋白質與蛋白質的相互作用。為克服批次間的變異性和缺乏標靶特異性，可以使用體外重組抗體。

還有其他動物衍生成分，例如基質膠、胰蛋白酶、膠原蛋白，應避免完全不含動物。當前和將來的高科技研究的前進方向是朝著具有已知成分的完全定義的系統而努力。這將需要了解體外方法及其所有組成部分，並將包括跨學科的工作以確保在3Rs研究和開發領域中產生可再現和可信賴的科學數據。

12、Cefic 遠程研究計畫項目的貢獻

本章節介紹了Cefic遠程研究計畫（LRI）中與魚類毒性，水生和陸地生物蓄積以及開放式PBPK建模平台相關的新項目和正在進行的項目，這些特定項目特別受歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的關注。

（1）將魚胚胎測試與權衡策略相結合，進行急性魚毒性測試：

Cefic LRI發起了一個新項目（ECO51），旨在開發一種系統的證據權重方法，該方法結合了魚胚測試以預測潛在的急性魚毒性，尤其是解決了危害評估和分類與標籤的監管目的。

（2）基於體外方法的魚類生物蓄積性測試分層測試策略的開發：

由Cefic LRI資助的項目（ECO34）的目的是開發一種評估化學品生物蓄積潛力的分層方法。為此，將來自不同組織的魚細胞系用於估計化學吸收和生物轉化的各種體外方法與毒物動力學和定量構效關係模型結合在一起。最近的結果表明，生物轉化不僅發生在肝臟中，而且還發生在腸和G細胞系中，這應該被解釋為更準確地估計化學物質積累和生物濃縮因子（bioconcentration factors，BCF）。

（3）整合哺乳動物的生物累積評估工具：

這個由Cefic LRI資助的項目（ECO44）於2018年啟動，旨在開發一種毒性動力學模型框架，用於哺乳動物的生物蓄積性評估，結合體外和體內基於生理學的毒物代謝動力學（physiologically- based toxicokinetic，PBTK）數據，現場收集的生物蓄積性數據以及定量結構活動關係（quantitative structure-activity relationship，QSAR）模型。總共已經為13,000多種有機化學品收集了約35,000個體內和體外毒物代謝動力學參數，並且已經開發了數據質量評分方法來評估體外和體內數據的總體可靠性。審查了現有的QSAR模型，用於預測齧齒動物和人類的肝臟清除率、人體的整體清除和生物轉化半衰期以及飲食吸收效率。目前正在開發和測試用於空氣呼吸生物的生物蓄積性評估的單室和多室毒物代謝動力學（PBTK）模型。

（4）改進預測魚類生物濃度的體外方法：

Cefic LRI項目（ECO47）“尋找精確的體外方法來預測魚類生物濃度”（Searching for refined in vitro Approaches to Predict bioconcentration in FISH，SNAPFISH）於2019年開始。實驗工作著重於提高當前方法的可靠性，例如，

OECD測試指南319A和319B用於使用肝細胞或魚測定肝清除率。實驗得出的信息用於完善體外到體內外推法（in vitro to in vivo extrapolation，IVIVE）和魚類生物蓄積的預測模型。

（5）開放式PBPK建模平台：

Cefic LRI項目（AIMT 7）的目標是進一步開發R-Vis，這是一種用於分析基於生理的藥代動力學（physiologically based biokinetic，PBK）的結構和性能的原型應用程序，並且採用免費的開源語法R、C++或其他編寫的模式。總體目標是擴展、改進並提供更多功能，並使它們更強大。該項目於2019年底完成，該工具現在具有對PBK模型的任何物種（人類、齧齒動物、農場動物）進行視覺全局敏感性分析的可能性。參數估計功能用於執行“反向劑量測定（reverse dosimetry）”，以重建與人體生物監測數據一致的人體劑量或暴露濃度。R-Vis可從LRI工具箱下載。

二、測試方法提交與驗證

1、測試方法提交

歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）有關測試方法提交、評估、同行評審和法規接受的所有最新信息，可以在歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的“法規接受的替代方法追蹤系統（Tracking System for Alternative methods towards Regulatory acceptance, TSAR）”中定期查閱，網址為：<https://tsar.jrc.ec.europa.eu>。TSAR概述了已提議用於化學或生物製劑（如疫苗）的法規安全性或功效測試的替代（非動物）方法。它以透明的方式追蹤從提議、另一種驗證方法、到最終通過將其納入監管框架〔例如，歐盟法規、經濟合作暨發展組織（OECD）指南或指南文件、歐洲藥典、國際人/獸用藥品註冊技術要求協調會議（International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human/veterinarian use, ICH）、國際標準化組織（International Organization for Standardization, ISO）等〕。提供有關該方法驗證狀態的信息，並指出該方法在被認可為可在各個部門中使用的公認測試方法的階段以及方法摘要說明。TSAR在可能的情況下還包括與方法相關聯的各項紀錄和文件，以及該追蹤系統中代表的國際標準。

TSAR是由歐盟委員會聯合研究中心（JCR）的歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）開發的，旨在傳播有關替代試驗方法國際合作組織（ICATM）的成員和觀察員組織正在考慮的替代方法的信息，讓大家知悉被認可為公認的用於各種行業的測試方法。

TSAR主頁提供不同顏色表示測試方法的狀況，並在主工具欄上提供了“測試方法跟踪”頁面的鏈接，在該頁面中，可以使用各種搜索條件來搜索TSAR可用的所有方法。每個測試方法的方框均顯示一些基本信息，水平條形圖提供了從批准、確認、同行評審和建議發佈到監管接受的整個流程，包括審批過程：綠色標籤表示已完成的步驟，藍色標籤表示正在進行的步驟，灰色標籤表示相

應的步驟尚未開始或不適用於該方法，黑色標籤表示該方法沒有進一步進行。通過選擇方法名稱，可以瀏覽各個方法頁面並詳細跟踪其進度。TSAR目前的版本包含了2008年之後提交給EURL-ECVAM的大多數方法。對於過去五年未採取進一步措施和/或與提交者失去聯繫的方法，將顯示以下信息：保留中的進一步信息。該系統允許用戶提供方法進展自動更新的“通知我”選項將在不久的將來提供。TSAR主頁，如圖3-1所示。

European Commission
JOINT RESEARCH CENTRE
Tracking System for Alternative methods towards Regulatory acceptance (TSAR)

European Commission > EU Science Hub > EURL ECVAM > TSAR

Advanced Search

TRACKING SYSTEM FOR ALTERNATIVE METHODS TOWARDS REGULATORY ACCEPTANCE
TSAR tracks the progress of alternative, non-animal methods, for testing chemicals or biological agents such as vaccines towards acceptance as a recognised test method for use in various sectors

Results: 1 - 10 of 106

1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | L >

Rat skin transcutaneous electrical resistance test

Test Method Number:	TM1995-01 (EU)	Topic(s):	Skin Corrosion
Short Name of TM:	TER	Protocol(s)/SOP(s):	115
Responsible Organisation:	EURL ECVAM - European Union	General Comments:	

Progress: n/a SUBMISSION, Finalised VALIDATION, Finalised PEER-REVIEW, Finalised RECOMMENDATION, Finalised REGULATORY ACCEPTANCE/STANDARDS

Reconstructed Human Epidermis Model Test

Test Method Number:	TM2005-04 (EU)	Topic(s):	Skin Irritation
Short Name of TM:	EpiSkin™ - RHE	Protocol(s)/SOP(s):	131
Responsible Organisation:	EURL ECVAM - European Union	General Comments:	

Progress: n/a SUBMISSION, Step not reached VALIDATION, Finalised PEER-REVIEW, n/a RECOMMENDATION, Step not reached REGULATORY ACCEPTANCE/STANDARDS

圖3-1 EURL-ECVAM法規接受的替代方法追蹤系統 (TSAR)

資料來源：EURL-ECVAM (2020)

EURL-ECVAM執行的狀況每年2月都會發布EURL-ECVAM Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches，2020年2月發布2019年的各項執行狀況。2019年在替代方法研究與開發活動方面，包括：

(1) ALIsens :

EURL-ECVAM已預先提交了用於預測可吸入物質呼吸致敏作用 (ALIsens) 的體外模型。ALIsens旨在直接替代呼吸LLNA測定法，該方法在任何情況下都是針對皮膚LLNA的一種適應方法，尚未經過吸入毒理學驗證。EURL-ECVAM對提交的內容進行了評估，並撰寫了一份評估報告，在此基礎上，它將決定在呼吸致敏領域開發的最佳測試方法。

(2) Bio elution :

EURL-ECVAM已完成對生物溶析法 (Bio elution) 測試方法提交中收到的所有信息的評估，並考慮將方法進行ESAC的同儕評審。

2019年5月，EURL-ECVAM委託ESAC審查現有證據並就生物溶析法的科學有效性發表意見，以評估使用模擬胃液的無機金屬化合物和含金屬材料中金屬的相對生物可及性。來自生物溶析法的數據旨在支持兩種模擬的法規應用，即合金的分組和讀取以及分類。

這種生物溶析法會產生：

- A.通過比較從相同金屬的不同化合物或包含該金屬的不同材料中釋放的給定金屬的生物可及性結果，獲得相對生物可及性數據。
- B.通過比較合金中的金屬釋放量與純金屬成分中的金屬釋放量，計算合金中金屬的相對生物可利用濃度。

如何在監管範圍內評估這些體外相對生物利用數據的方法並非ESAC的職責範圍，不過，ESAC還是建立了工作組來進行詳細審查，並於5月及9月在義大利舉行JCR會議，以推進詳細審查並起草工作組報告和ESAC意見。最後，ESAC在12月的ESAC全體會議上討論並批准了該意見。

(3) SENS-IS :

EURL-ECVAM評估了2018年SENS-IS的重新提交。解決了EURL-ECVAM對2016年收到的原始完整提交文件提出的一些擔憂（例如，報告的數據不一

致、提交的數據存在空白、需要對協議進行澄清等)。儘管如此,重新提交的EURL-ECVAM評估表明,在方法進入同行評審之前,測試提交者仍需要解決一些缺陷。例如,2016年提交的某些實驗沒有提供正當的理由,若無提交修訂內容則不會進行新的評估。

(4) GARD:

SenzaGen公司領導2018年1月提交給EURL-ECVAM的致敏性危險評估的GARD試驗的驗證尚未啟動,因為目前無法知道是否有更多的工作展開以獲得有關GARD效力的信息。此外,EURL-ECVAM決定暫停對GARD提交的評估,直到明確指出經合組織正在進行的討論結果變得可用。EURL-ECVAM於2018年7月收到有關GARD potency驗證的提交。2018年12月,EURL-ECVAM收到測試提交者的通知,指出在GARD potency提交中發現許多不正確之處,需要進行修訂。2019年8月收到了修改後的提交書,目前正在評估中。

2、測試方法驗證

(1) 內分泌干擾-AR-CALUX測試方法:

EURL-ECVAM協調了雄激素受體反式激活方法的驗證,以確定化學藥品的內分泌活性,AR-CALUX方法由荷蘭公司BioDetection Systems提交。

驗證由測試提交者BDS和EURL-ECVAM專業實驗室網絡EU-NETVAL的三個參與實驗室進行:RISE、Covance和Charles River Labs。

AR-CALUX驗證研究的實驗工作已於2018年11月完成,驗證報告已於2019年4月完成,包括驗證管理小組的審核和批准。ESAC同儕評審將於不久之後進行。

(2) 甲狀腺激素紊亂測試方法:

EURL-ECVAM正在協調一系列機械信息性替代方法的大規模驗證研究,以檢測破壞正常甲狀腺激素功能的化學物質。驗證研究將由EU-NETVAL和各自的替代方法開發人員進行。經合組織詳細審查文件,考慮到經合組織範圍界定

文件中有關鑑定甲狀腺激素信號傳導調節劑的體外和離體方法的信息，已確定總共17種方法為候選方法，以及在OECD專家組會議上收到的回饋意見。

對於驗證研究的第1部分，已經投入了很多努力來確保測試系統（例如細胞和組織）的質量和長期可用性，相關參考和對照項目的選擇以及17種方法的完整性（其關鍵要素的描述和決策細節），並確保根據“體外方法規範”

（GIVIMP； OECD，2018b）進行驗證研究。甲狀腺驗證研究包括19個測試系統。EURL-ECVAM將所有測試系統提供給EU-NETVAL測試設施，包括測試系統的購買、運輸和質量控制，以及在需要時提供有關測試系統處理和GMO通知的信息和文檔。

收到測試系統後，EU-NETVAL設施將創建主控單元庫和工作單元庫，準備用於維護和處理測試系統的標準操作程序（SOP），並生成歷史數據集。EURL-ECVAM、EU-NETVAL、方法開發人員和測試系統供應商都為確保執行和記錄完整的測試系統特性做出了貢獻。迄今為止，已經為其中的10種方法鑑定了65種化學藥品（主要是參考品和對照品）。

對於驗證研究的第2部分，EURL-ECVAM進行了化學選擇，並於2019年11月舉行了一次專家會議。根據特定的選擇標準，精煉了171種潛在化學物質的清單。對於第2部分，最終選擇的化學品（測試項目）將作為編碼化學品分發給EU-NETVAL。概述程序將作成Word文檔提供給EU-NETVAL測試設施。這些概述過程包含逐步編寫的可用信息的彙編，可用於創建SOP。針對（i）方法的完整性和（ii）接受標準的存在進行的初步評估顯示出很大的差異。對每種方法的接受標準（如果有）進行了評估，並將與方法開發人員和EU-NETVAL實驗室合作完成（必要時）。

在基於公平、合理和非歧視性條件的測試方法中，方法開發人員在提交新的TG時需要簽名。為此，正在研究和記錄與17種體外方法相關的受知識產權（IPR）保護的元素。經合組織新的標準項目提交表格還包括有關方法保護要素

的信息。事實證明，為甲狀腺驗證方法檢索和記錄有關受保護元素的信息非常具有挑戰性。該過程將在2019/2020年繼續進行。

(3) 疫苗質量控制-EDQM生物標準化計畫

歐洲藥品和保健質量局（EDQM，歐洲理事會）的生物標準化計畫（BSP）是歐洲委員會和歐盟的一項聯合計畫，部分由歐洲委員會資助。它著重於建立用於生物製劑質量控制的參考製劑和分析方法的驗證。

如EDQM年度報告2018所概述，歐洲藥典有9個項目考慮開發新的方法，其中6個致力於將3Rs原理應用於食品質量控制領域。例如用於全細胞百日咳疫苗效力測試的血清學方法、用於破傷風疫苗體外毒性檢測的BINACLE分析，以及與歐洲動物試驗替代方法合作夥伴（EPAA）合作的BSP130期III檢驗敗血梭狀芽胞桿菌疫苗的體外方法的驗證和狂犬病體外效價測定的BSP148驗證。此外，有2個項目致力於促紅細胞生成素的質量控制，旨在去除當前的體內生物活性測定。

最近驗證的中國倉鼠卵巢（CHO）細胞簇測定法需要為百日咳毒素建立新的參考標準，該測定法取代了基於動物的組胺敏化測定法，現已納入歐洲藥典。BSP的目的還在於建立一種新的非內毒素熱原參考標準，用於單核細胞活化測試，以代替兔熱原測試。

(4) 遺傳毒性測試-重建的皮膚模型中的微核測試和彗星分析

由Cosmetics Europe協調的3D皮膚彗星和重建皮膚微核（RSMN）分析的驗證工作已經完成，預計相關內容將在3D皮膚遺傳毒性分析誘變的專刊上發表。

經德國和法國領導的使用3D皮膚模型（即RSMN和3D皮膚彗星）進行的皮膚暴露的體外遺傳毒性測試的新OECD測試指南提案已於2019年4月納入OECD工作計畫。

在2018年11月由歐洲化粧品協會舉辦的研討會上，進一步討論瞭如何加快這些檢測在監管決策中的實施。該研討會旨在與來自行業和公共部門的毒理學

家和風險評估師進行討論。消費者安全科學委員會（SCCS）的幾名成員，以促進法規使用和替代方法的接受。其中一場會議由EURL-ECVAM主持，旨在真正“動手”，與會人員是解決三個案例研究的真正參與者。參與者以編碼方式接收了不同案例研究的數據，並被要求得出結論，認為該物質是否被認為是有害的。有趣的是，使用常規遺傳毒性研究數據、力學數據和3D重建皮膚模型數據，形成的所有亞組均得出正確且相同的結論。考慮到沒有動物的安全評估，這可以被認為是有希望的。

EURL-ECVAM一直積極參與驗證研究的化學選擇。關於3D組織模型的基因毒性測試國際研討會，認為3D皮膚彗星和RSMN分析現已得到充分驗證，2020年可以進行同儕評審和制定單獨的OECD測試指南。

（5）遺傳毒性測試-雞卵微核誘導測試（HET-MN）

母雞卵微核誘導試驗（HETMN）可以很好地補充3D皮膚模型中的遺傳毒性測定，因為它使用了溫育的母卵的複雜模型來模擬全身暴露（Reisinger等，2019）。德國在三個實驗室中進行了一項驗證研究，對30多種化學物質進行了測試，相關內容的發表正在準備中。

（6）EURL-ECVAM科學諮詢委員會同儕評審

A. 替代動物源抗體

抗體是用於研究、治療和診斷以及許多監管應用的重要工具，儘管可獲得不需使用動物的用於其產生和生產的技術，但單株和多株抗體以及其他親和試劑的產生仍涉及動物。因此，EURL-ECVAM於2018年4月請其科學諮詢委員會（ESAC）審查用於研究、診斷和監管應用的非動物源性抗體和非抗體親和試劑的科學有效性為此而成立。ESAC工作小組於2018年11月8日至9日在義大利Ispra的JRC舉行了會議，以推進詳細審查並起草工作小組報告和ESAC意見，以供2018年12月、2019年6月5日在ESAC全體會議上進行討論。

綜述集中於通過噬菌體展示技術產生的非動物來源的抗體，因為這是最成

熟的技術並且已經被廣泛使用。根據科學文獻，應用實例和專家們自己的豐富經驗，ESAC得出以下結論：

- 非動物來源的抗體是通過成熟技術產生的成熟試劑。
- 非動物來源的抗體具有重大的科學益處。建立其多肽序列是生成過程的一部分，因此提供了唯一的標識符，隨後提供了無限且可持續的供應。因此，使用非動物來源的抗體將最終提高實驗的可重複性。
- 應該推廣非動物源性抗體，因為對於這些試劑仍存在許多科學誤解。

EURL-ECVAM當前正在根據ESAC審查的結果來準備其建議書，並有望在2020年初與ESAC意見和工作組報告一起發布。

B.內分泌干擾-AR-CALUX測試方法

ESAC工作小組於2019年5月對AR-CALUX驗證研究進行了同儕評審，結論是成功的驗證研究，表明該方法的性能值都類似已公開的的測試方法，例如使用EcoScreen電池的ER-CALUX方法和ARTA，並建議將該方法作為OECD的測試指南。ESAC工作小組的意見已在2019年6月的ESAC全體會議上得到認可。

C.生物溶析法

2019年5月，EURL-ECVAM委託ESAC審查現有證據並就生物溶析法的科學有效性發表意見，以評估使用模擬胃液的無機金屬化合物和含金屬材料中金屬的相對生物可及性。來自生物溶析法的數據旨在支持兩種擬議的法規應用，即合金的分組和讀取以及分類。

(7) 歐洲替代方法驗證實驗室網絡 (EU-NETVAL) 會議

歐盟替代方法驗證實驗室網絡 (EU-NETVAL) 是由歐洲37個高素質實驗室組成的網絡，由EURL-ECVAM協調以支持體外方法驗證過程。它代表了廣泛的專業知識和能力，包括在先進的體外程序、生物測試系統和測量技術方面經驗豐富的實驗室。

2019年5月，EURL-ECVAM主持了EU-NETVAL的第五次會議，國際專家

分享了他們在推進體外方法以改善安全性評估和避免動物測試方面的知識。來自OECD、EFSA和ECHA的受邀專家與EU-NETVAL成員聚會，分享他們在特定體外方法中的經驗和知識，以檢測目前正在使用EU-NETVAL實驗室驗證的雄激素和甲狀腺激素破壞化學物質。

EU-NETVAL成員討論了設計和開發用於監管用途的方法的主要考慮因素，並報告了在使用體外方法評估化學品對三種潛在健康影響方面所取得的重大進展：

- 皮膚過敏：皮膚與物質接觸後的過敏反應；
- 遺傳毒性：化學物質的性質，可以引起細胞遺傳改變，從而導致癌症；
- 發育性神經毒性：由化學物質引起的影響發育中的神經系統的任何不利影響。

EU-NETVAL測試設施和邀請的專家就關鍵問題和建議達成了共識，以幫助將更複雜的方法轉換為監管領域，並特別著重於處理更複雜的測試系統（例如三維組織模型或人類誘導的多能幹細胞）、複雜的測試項目（例如化學混合物、生物醫學設備、奈米材料）和複雜的測量技術（例如自動成像和組學），還強調了推進和實施良好體外方法規範的重要性。

此會議提供了關於環境總局與EURL-ECVAM之間的一項聯合倡議的最新信息，通過開發一套教育和培訓資源來促進替代方法並支持實施2010/63號指令，以保護用於科學目的的動物。

（8）監管相關性初步評估（PARERE）網絡和ECVAM利益相關方論壇（ESTAF）會議

EURL-ECVAM的監管相關性初步評估（PARERE）網絡於2018年11月在義大利Ispra的JRC舉行了會議。在PARERE會議之後，PARERE和ECVAM利益相關者論壇（ESTAF）召開聯合會議。PARERE網絡由來自歐盟成員國相關委員會以及歐盟機構（EFSA、ECHA和EMA）的監管機構組成。該網絡向EURL-

ECVAM提供有關監管相關性和建議用於驗證或同儕評審的替代方法的適用性的建議，並促進EURL-ECVAM與監管機構之間有關方法和測試策略的開發和驗證的信息交流。該網絡還支持識別需要特別注意的區域，同時PARERE和ESTAF網絡都將EURL-ECVAM策略和建議作為驗證過程的一部分。

分組討論了以下需求：

- 監管機構與測試方法開發人員之間更好的對話與協調。例如，這可以通過顧問小組來實現，該小組包括科學家和監管者，提供適當的培訓課程，或在方法開發的早期就讓監管者參與；
- 確保不同部門之間歐盟法規的更大協調。確定可用的替代方法可能是第一步，然後可以通過集體努力評估其在現行法規下的適用性；
- 將機械知識轉化為監管領域，利用所有可用信息，例如，交叉閱讀，毒物動力學，毒理學閾值（TTC）和人類數據。此外，案例研究是建立對替代方法的信心並證明其在測試策略中的適用性的相關工具；
- 募集資金和開放訪問。事實證明，發起針對特定三個R或監管需求的公開徵集對於在特定領域推進非動物方法非常有用。此類公共資助研究的結果應可公開獲取，並提供原始數據。

2019年舉行的PARERE會議包括EURL-ECVAM和PARERE網絡有關相關活動的更新，JRC / EURL-ECVAM對AARE框架研究的更新，以及關於“非-根據關於物質和混合物的分類，標籤和包裝的歐盟法規（EC）1272/2008（CLP法規）和全球化學品統一分類和標籤制度（GHS）的動物方法”。另外，在11月PARERE和ESTAF網絡都應邀參加了在義大利的JRC舉行的ICATM研討會，主題為“監管測試替代方法的未來及其對公共衛生的貢獻”。

三、促進監管接受和國際採用替代方法

1、促進監管接受的相關活動

(1) 歐盟2030年化學政策高層會議

在過去的幾年中，歐盟委員會一直在對歐盟化學品政策進行重大評估。該委員會與丹麥環境與食品部合作，於2019年在比利時舉行了一次高層會議，以使不同利益攸關方團體參與討論歐盟化學品政策的最新和未來發展。JRC通過EURL-ECVAM為會議的組織做出了貢獻，該會議的重點是通過創新、替代技術和工藝以及正確的技能，促進綠色和可持續化學發展的六個主要主題領域：

- 化學品與循環經濟：產品和廢物中化學品的安全管理以及對資源效率的貢獻。
- 完善危險化學品風險評估和風險管理的監管框架。
- 對新出現的風險進行知識建設、監測和預警。
- 更智能的溝通、更好的保護和更低的成本，以滿足公民的關注。
- 完善歐盟單一市場並確保公平競爭。
- 歐盟化學品政策和全球挑戰：可持續性，創新，競爭力。

EURL-ECVAM負責起草一項戰略，並採取具體行動來改善設計和實施到2030年的歐盟化學政策。該戰略將是實現最近宣布的綠色協議（包括實現零污染、氣候中和和循環經濟轉變）的關鍵里程碑。該戰略成功的關鍵在於增強協同作用的能力以及化學政策與歐盟其他政策優先事項（包括健康、氣候和生物多樣性）之間的協調性。

(2) 歐洲食品安全局科學委員會和專家組

EFSA科學委員會於2011年發布了《關於食品和飼料安全性評估適用的遺傳毒性測試策略的科學意見》。但是，在最近的EFSA物質評估中，確定了一些與影響細胞分裂有關的局限性，這些局限性是通過與除DNA以外的細胞標靶相互作用（如在有絲分裂或減數分裂中參與染色體分離的蛋白質）而引起數值染色

體畸變的。

考慮到這些局限性，歐洲食品安全局科學委員會目前正在制定指南，以指導最合適的體內後續措施是體外產生影響細胞分裂物質，以及如何評估該物質對人體健康的危害，相關公眾諮詢將於2020年3月啟動。

EFSA於2018年在義大利舉行的關於監管農藥風險評估中的體外比較代謝研究的研討會，討論了使用體外方法鑑定人體代謝產物的方法。這些研究也將用於支持化學介導的甲狀腺功能衰竭對人類相關性的評估。討論集中在應提供的最少信息量上，以滿足解釋研究結果時應考慮的數據要求要素，以及代謝數據如何在證據權重方法中用於內分泌介導的機制的研究。

研討會的結果建議將一些關鍵事件作為WoE方法的一部分進行測量，可以作為制定此類指導的基礎。歐盟農藥法規規定應進行體外比較代謝研究，並需要對此進行指導。目前，尚無用於比較代謝研究的OECD測試指南。

為了提供足夠的科學背景並促進編寫有關體外DNT測定法的應用和解釋的OECD指導文件，EFSA成立了一個DNT工作組，旨在發展綜合危害識別和表徵的測試和評估方法（IATA）案例研究。現有的體外數據和正在進行的體外評估研究的結果將用作可用證據的一部分。已開發的國際航空運輸協會案例研究將用作使用替代方法進行DNT測試的GD發展的基礎，包括數據解釋指南。

（3）經合組織測試準則計畫活動

EURL-ECVAM參加了許多OECD專家組和驗證管理組，並對由OECD成員國領銜的幾個TG和GD草案發表了評論。JRC代表歐洲委員會和歐盟擔任OECD測試準則計畫的國家協調員。2019年4月在巴黎OECD總部舉行的OECD測試指南國家協調工作組計畫（Working Group of National Coordinators of the OECD Test Guidelines Programme，WNT）第31次會議上，批准了以下新的和更新的測試指南和新的指導文件：

- 在非洲爪蟾Eleutheroembryo甲狀腺測定中使用新的TG 248。

- 更新了關於魚類急性毒性測試的TG 203。
- 在化學皮膚致敏化分析中更新了TG 442C，以解決與蛋白質共價結合的AOP關鍵事件（包括氨基酸衍生反應性分析，並且TG成為基於關鍵事件的TG）。
- 新的TG 494：玻璃體-眼睛刺激性測試方法，用於識別不需要刺激性或嚴重眼損傷的分類和標籤的化學品。
- 更新了關於重建的人類角膜樣上皮（RhE）測試方法的TG 492，以識別不需要分類和標記眼刺激或嚴重眼損傷的化學物質。
- 更新了關於體外皮膚刺激性的TG 439：重構的人類表皮測試方法（包括epiCS®和Skin +®測試方法）。
- 更新了關於體外皮膚腐蝕的TG 431：重組人表皮測試方法（包括LabCyte EPIMODEL-24測試方法）。
- 更新了3T3 NRU上的TG 432以進行光毒性測試。
- 關於光反應性活性氧物種的新TG 495。
- 關於OECD TG中受保護元素的良好許可規範指導原則的新GD 298。

例如，對照魚在毒性研究中的使用和分析：該項目是由經合組織計畫國際動物保護理事會（International Council on Animal Protection in OECD Programmes, ICAPO）發起的，並由EC（通過JRC / EURL-ECVAM）和ICAPO共同領導。總體目標是減少魚類毒性研究中的對照魚類數量。目前，當使用溶劑時，OECD測試指南要求使用水和溶劑對照組。

第一步修訂了關於難以測試化學物質的水相水生毒性測試的GD 23，其中包括處理在水生暴露中難以測試的化學物質的經驗以及開發測試這些化學物質的方法所取得的進展。為了消除對溶劑的控制，從而減少了在水生毒性試驗中使用的動物數量，特別注意不使用溶劑的暴露方法的更新。對於項目的第二部分，已收集了根據OECD測試指南在溶劑存在下生成的數據。數據分析應確定

僅使用一種對照是否會對研究結果產生影響。之後將起草一份詳細的審查文件，總結結果、結論和建議。

(4) 分子篩檢和毒物基因組學擴展諮詢小組的活動

分子篩檢和毒物基因組學擴展諮詢小組（Extended Advisory Group on Molecular Screening and Toxicogenomics, EAGMST）致力於探索、討論和促進新技術和方法在化學風險評估中的應用。JRC與美國EPA為代表的美國一起擔任EAGMST的歐盟聯席主席。該小組最初成立於2005年，專注於毒理基因組學研究，但後來其工作範圍於2009年擴大到分子（體外高通量）篩選，並於2012年擴大到不良結果途徑（AOP）計畫的管理。

不良結果途徑（AOP）是一種分析性結構，描述了在生物組織的不同水平上導致不良健康或生態毒理作用的因果關係事件的順序鏈。AOP是正在構建的毒理學知識框架的核心元素，以支持基於機械推理的化學風險評估。經合組織於2012年啟動了制定AOP的計畫，並在發起整個AOP倡議的同時，啟動了AOP知識基礎（Knowledge Base, KB）項目。在該項目中，JRC / EURL-ECVAM為ICT設計和分析知識做出了貢獻，並與美國EPA共同管理該項目。AOP-KB Wiki的當前版本具有完整功能，預計將在2020年至2021年對AOP-KB進行完整的審查，並可能重新設計2.0版。為了彌合當前版本與未來版本2.0之間的差距，EURL-ECVAM於2018年決定發布和管理當前AOP Wiki的不斷發展的維護合同：漏洞修復，適應日新月異的系統環境以及快速改進引入新功能，將確保AOP Wiki用戶體驗不會惡化。

目前，AOP計畫是EAGMST的主要活動，由四個不同的小組負責：AOP開發方法和實踐；科學同行評審；AOP知識庫；以及教育、培訓和推廣。

EAGMST工作計畫正在進行的項目，涉及報告用於監管風險評估目的的組學數據的最佳實踐，以及有關針對監管應用的生理基礎生物動力學（PBK）模型的表徵、驗證和報告的指導文件。近年來，EAGMST加強了與OECD危害評

估工作組和OECD測試指南計畫的合作。

(5) VICH疫苗指南：獸用疫苗的實驗動物批次安全性測試的豁免標準

多年來，EURL-ECVAM代表EMA與國際獸藥產品註冊技術要求協調合作（Veterinary International Conference on Harmonization, VICH）的專家合作，共同制定VICH準則，利用統一標準以免除目標動物/實驗動物獸用疫苗的批次安全性測試。

VICH GL59草案《關於統一用於獸用疫苗的實驗動物批次安全性測試的豁免標準》已在2019年接受公眾諮詢，並計畫於2020年發布最終指南。

根據針對滅活目標動物批次安全性測試（VICH GL50）和活疫苗（VICH GL55）的兩項VICH指南，製造商在證明其安全性和一致性後可以申請豁免生產已經建立。

不過，要補充說明的是，雖然在歐洲不再需要用於批量釋放人和獸用疫苗的一般安全性測試〔幾年前（異常毒性測試； Schwanig等人，1997）或最近（目標動物批次）已從《歐洲藥典》專著中刪除。安全測試； EDQM，2012年〕。由於可能仍需要在歐洲以外進行這些測試，因此歐洲製造商在出口到第三國時可能需要進行這些測試。

(6) 在EMA框架內促進3Rs方法的監管接受

EMA在2019年制定了一項到2025年的監管戰略，涵蓋了人類和獸藥。該戰略草案旨在建立一種更具適應性的監管體系，該體系將鼓勵人類和獸藥創新，並與科學技術進步保持同步，同時確保對突破性的更複雜療法的合理評估。分別在2019年11月和2019年12月舉行的兩個針對人類和獸藥的多方利益相關者研討會上，討論了來自公眾諮詢分析的關鍵信息。獸醫醫學研討會專門討論“加強和進一步嵌入3Rs原則的應用”，這是利益相關者優先考慮的核心建議之一。

(7) EPAA促進替代方法監管接受的活動

歐洲動物試驗替代方法夥伴關係（EPAA）是歐洲委員會、歐洲貿易協會和

來自七個商業領域的公司之間的公私合作。合作夥伴致力於匯集知識和資源，以加快法規測試中動物使用替代方法的開發、驗證和接受。總體目標是通過更好、更具預測性的科學來替代、減量和精緻化動物用途，以滿足法規要求。由EURL-ECVAM代表的JRC是委員會成員之一。

近年來，EPAA主要集中於促進法規問題和用戶接受度。在這種情況下，EPAA開展了許多項目，該夥伴關係還參與培訓和傳播活動：

- 皮膚過敏的優化評估：以探索基於3D皮膚模型的三種方法〔重組人表皮（RhE）IL-18、SensCeeTox和SENS-IS測試方法〕，通過測試一組12種物質來預測皮膚致敏性危害和功效分類。
- 減少兩年的致癌性生物測定法：EPAA正在資助一個項目，以提供證據證明可以將三個月重複劑量毒性研究的數據與作用模式（MoA）信息結合使用，以增強對農用化學品致癌潛力的預測。研討會參與者有信心，可以使用計算機、體外和短期體內模型工具箱來確定與致癌作用有關的最常見MsA，其結果可代替兩年的生物測定法。
- 急性毒性：EPAA急性毒性項目進行了數據挖掘工作，旨在確定可預測較高劑量水平下的死亡率的臨床體徵。該項目於2015年啟動，與英國國家動物3Rs研究中心（NC3Rs）和英國化學品管理局（CRD）密切合作完成。為了增加符合可接受標準的研究數量，研究小組繼續審視英國CRD的數據。已經對新研究進行了編碼和分析。正在考慮是否需要擴展數據集，包括探索其他數據源（即來自EPAA成員公司的數據）的選項。
- 梭菌疫苗項目：該項目評估了基於Vero細胞的檢測方法，以替代對敗血梭狀芽胞桿菌疫苗進行過程控制所需的體內最小致死劑量（Minimum Lethal Dose，MLD）和總結合力（Total Combining Power，TCP）檢測方法。現在可以使用三種體外測定來代替在過程中進行的三種體內測試，用於抗原定量和殘留毒性測試，以及用於量化類毒素抗原性的總結合力。

力（TCP）。負責獸用疫苗的歐洲藥典專家目前正在修訂基於細胞毒性梭菌抗原的疫苗專著，以介紹基於Vero細胞系的方法。

- 人類狂犬病疫苗項目：該項目旨在用體外抗原定量測試[例如定量狂犬病疫苗中糖蛋白-G含量的酶聯免疫吸附測定（ELISA）]來代替用於人狂犬病疫苗批量效力測試的體內測試。BSP148項目“狂犬病體外效價測定的驗證”於2017年啟動，並在2018年引起了全球關注。歐盟、中國、印度、印尼、非洲、日本和美國共有28位研究參與者，ELISA和這項研究在NTP毒物學替代方法評估機構中心（NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods，NICEATM）和國際生物標準化聯盟-北美（International Alliance for Biological Standardization，IABS）研討會上進行了介紹，主題為“在實現人類和獸醫狂犬病疫苗檢測的非動物方法方面取得科學和法規上的成功”。
- 生物協調項目：該項目旨在在全球範圍內統一疫苗和其他生物產品的批量測試要求。例如，異常毒性測試（abnormal toxicity test，ATT）已從49篇歐洲藥典專著中刪除。經修訂的專著自2019年起生效。有關建立免除目標動物批次安全性測試（the target animal batch safety test，TABST）的標準的VICH GL50和55的參考文獻已納入《2018年陸生動物診斷測試和疫苗手冊》。項目小組成員曾幾次提出從世衛組織建議中刪除無罪/異常毒性試驗的問題。最終，在世衛組織生物標準化專家委員會（ECBS）第六十九次會議上，世衛組織專家建議“立即停止將無毒檢測納入未來所有世衛組織關於生物的建議、指南和手冊中”。目前，該小組正在努力推廣免熱原性測試的替代方法，例如細菌內毒素測試或單核細胞激活測試，以及可能的使用障礙。
- 基於生理的動力學：EURL-ECVAM提出了一個名為“支持基於生理學的動力學（PBK）建模在安全評估中應用的工具”的新項目，並得到了

EPAA的認可。主要項目目標是：A.對大鼠和大鼠現有的PBK模型進行並發布完整的系統綜述。B.描述現有PBK模型的化學空間覆蓋範圍，並將其與食品添加劑、藥品、化粧品、農藥和工業化學品的化學空間進行比較，這將有助於確定PBK模型的當前知識和可用性中存在的差距。C.研究一系列相似性評估指標（例如化學指紋），以確定哪種個體或共識方法導致最適當地選擇原料化學品，以預測目標化學品的行為/特性並支持PBK模型開發。D.開發可免費獲得的軟體工具，以幫助通過自動工作流程識別適當的化學品以用作模板。

- 體外定量到體內推論：該項目的目的是測試一種將體外濃度-反應數據轉換為體內劑量-反應數據（Quantitative In Vitro to In Vivo extrapolation，QIVIVE）的計算法的有效性，並將廣泛應用於來自不同監管領域的一系列化學品。該項目將體外濃度-反應關係轉化為體內劑量反應，從轉譯後的數據中確定體內基準劑量（benchmark dose，BMD）值，並將預測的體內BMD值與監管機構化學安全性評估中使用的現有實驗BMD值進行比較。該項目建立在早期的EPAA和Cefic LRI支持項目的基礎上，該項目開發了數學建模軟體應用程序（R-Vis），用於根據生物監測數據進行回顧性暴露預測。
- EPAA關於系統毒性新概念的研討會：EPAA於2019年10月在比利時舉辦了“系統毒性新概念”的研討會。該研討會召集了來自歐洲和北美的31名專家，代表跨行業和監管機構、歐洲委員會和學術界。總體目標是制定戰略研究要素，以得出建議採取的行動清單，從而確定重複劑量全身毒性反應的新思路。主要重點是如何在監管環境中應用特定的科學領域和新方法。該研討會討論了過去十年中發展起來的許多新方法，它們可以提供對化學物質的系統作用的見解，其中包括：計算化學和生物化學方法（能夠處理潛在配體的3D結構）；高通量和內容技術；來自組學的大

數據，包括“深度蛋白質組學”；微生理系統（包括晶片器官）；以及計算機模擬的生理模型和虛擬器官。

(8) 聯合國危險貨物運輸（TDG）和全球化學品統一分類和標籤制度（GHS）小組委員會

基於經修訂的OECD TG No 431（使用重建的人類表皮），引入了非動物方法對不同包裝組中的腐蝕性化學品和混合物進行分類以安全地運輸到世界各地。首先，如果測試結果表明一種物質或混合物具有腐蝕性，則建議使用包裝類別1中最嚴厲的一種，但該測試方法不允許區分包裝類別，並且沒有其他測試結果表明使用程度較輕包裝組應適用。一旦物質或混合物顯示出腐蝕性，此修訂版將不允許進行任何進一步的測試，不考慮所採用的方法。其次，有人提出，體外刺激性試驗的陰性結果應為無腐蝕性的結論。聯合國危險貨物運輸（Transport of Dangerous Goods, TDG）小組委員會成員同意了這兩項建議，這些修訂將被納入《聯合國TDG規章範本》的第22版。

全球化學品統一分類和標籤制度（Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals, GHS）小組對關於皮膚腐蝕/刺激的章節進行了修訂，以包括在對物質和混合物進行分類時如何應用非動物方法的標準。並持續對嚴重的眼部損傷/眼睛刺激的章節進行修訂。

(9) 化粧品成分安全性評估的綜合策略

歐盟已完全禁止對化粧品成分和產品進行安全評估的動物測試，因此，需要通過新的方法和策略來確保化粧品的安全性。這與毒理學的總體轉變相吻合，從將整個有機體作為“黑匣子”進行測試，到了解不良作用背後的機制，從而可以對化學品進行更明智和更有針對性的評估。

監管機構聯合行業工作小組（Joint Regulators-Industry Working Group, JWG）“化粧品成分安全性評估的綜合策略”，在最近的出版物中描述了構成新方法（new approach methodologies, NAMs）和數據安全性評估數據整合基礎的

總體原則。化粧品成分以及以及針對“下一代”風險評估中可能使用的NAM類型向安全評估人員提供的其他指南。

(10) 晶片醫學

EURL-ECVAM繼續探索在計算機醫學領域推廣非動物方法的機會，這尤其涉及與Avicenna聯盟的持續合作；該聯盟是對計算機醫學的發展具有商業或研究興趣的行業，學術界和醫療保健組織的協會。該協會成立於2015年，起源於模擬生理人類計畫，該計畫是歐洲委員會認可的計算機建模和仿真研究領域。該協會受歐洲委員會的委託，制定了“計算機醫學路線圖”，目前正尋求將該路線圖納入政策並確保規範的計算機市場的發展。

2、替代測試方法的國際合作

(1) 替代測試方法國際合作 (ICATM)

EURL-ECVAM於2019年10月義大利Ispra的JRC舉辦了ICATM研討會，主題為“法規測試替代方法的未來及其對公共衛生的貢獻”。該研討會涉及國際法規的適用性和對化學品皮膚致敏性評估的替代方法的接受，並分別針對國際認可的監管標準對替代方法進行了驗證。會議的結果在OECD WNT會議上共享和介紹，並導致了OECD關於皮膚致敏確定方法指南的項目。

在2019年ICATM研討會上，除ICATM合作夥伴外，與會者還包括EURL-ECVAM網絡PARERE和ESTAF。與會者分享了他們在全球範圍內使用和接受替代方法的知識和經驗，並確定了在全球範圍內推動替代領域發展的挑戰和機遇。研討會還慶祝了ICATM成立10週年，並討論了ICATM如何為加強成功要素和應對未來監管測試替代方法的挑戰做出貢獻。

ICATM合作夥伴建議從公共衛生的角度優先考慮有問題的健康和環境影響，繼續在更高層次上進行標準化和協調工作，為驗證提供指導資源，並積極開展案例研究，從而促使非標準方法的進展；還商定了一些具體的後續行動，例如就標準重新審視OECD TG 439，設計對新的複雜方法的同儕評審，並構想

新的方法來進行化學篩選以解決複雜的毒理學終點。

(2) 全球計算機毒理學協議聯盟：關於致癌性協議的更新

由美國Leadscope®Inc.領導的全球計算機毒理學協議聯盟是一項由美國環境衛生科學研究所（National Institute of Environmental Health Sciences，NIEHS）贈款發起的國際計畫，旨在為主要毒理學終點建立計算機毒理學協議，類似於體外應用中常規使用的測試指南或體內方法，以提高此類評估的效率、質量和接受度。為了達成廣泛共識，它包括60多個國際組織（監管機構或政府機構、學者、業者、模型開發人員和不同部門和地區的顧問）。EURL-ECVAM也是該聯盟的一部分。

第一份出版物描述了計算機毒理學規程的總體框架，以及它們如何指導國際公認的實驗數據和實驗數據，以支持對化學品的不良健康影響評估。不同的工作組正在支持針對各種毒理學終點的方案開發。最近已經完成了一種計算機遺傳學毒理學規程，目前正在起草有關皮膚致敏、急性毒性、神經毒性、內分泌活性和環境毒性的許多其他規程。

關於致癌性協議的工作已於2019年春季開始，並使用In Silico Toxicity Consortium Wiki進行，總體目標是收集有關致癌性不同方面的可用信息。遺傳毒性方案已成為用於制定致癌性框架方法的模型模板，已經建立了包括EURL-ECVAM在內的子團隊來研究致癌性的各個方面。此外，還介紹了應用於與人類有關的致癌性評估策略的現有技術和平台（體內、體外和計算機模擬），以及採用何種組合。這項工作正在進行中，預計將於2020年底完成。

(3) 滿足急性系統毒性的法規要求

為了通過作用機制促進急性全身毒性替代方法的發展，2019年10月在美國貝塞斯達（Bethesda）的美國國立衛生研究院（NIH）舉行了與化學品接觸後經口、經皮膚和吸入引起的毒性反應，其最終目的是確定各項活動的優先順序，以滿足對急性全身毒性反應的監管需求的研討會。研討會由PCRM（負責任醫

師醫學委員會)、NICEATM(國家毒理學計畫替代毒理學方法評估機構間中心)、PETA(善待動物組織)、EPA(美國環境保護署)、JRC和陶氏化學聯合組織。預計這些討論將有助於(a)定義如何計算化學混合物/配方的LD50;(b)找出需要模型(或分析)開發或優化的空白;(c)了解模型(或化驗)輸出的監管需求;(d)查明將有用的機械信息的類型;(e)建立在模型開發中使用人工智能的可行性。

(4) 與美國跨機構協調委員會就替代方法工作組的驗證進行合作

美國替代方法驗證跨機構協調委員會(ICCVAM)已成立特設工作組,以執行ICCVAM認為對開發或驗證新方法以及實施“在美國建立評估化學品和醫療產品安全性的新方法”的戰略路線圖(Strategic Roadmap for Establishing New Approaches to Evaluate the Safety of Chemicals and Medical Products in the United States)非常重要的特定任務。工作組由使用或需要感興趣主題數據的機構代表擔任主席。邀請ICCVAM成員機構和ICATM合作夥伴(EURL-ECVAM、日本替代方法評估中心、韓國替代方法評估中心和加拿大衛生部)參加工作組。

- 眼睛和皮膚刺激工作組:主要活動是評估和促進替代測試方法在監管眼睛和皮膚刺激性危害評估中的使用。使用牛角膜不透明度和滲透性方法(有組織病理學和無組織病理學的BCOP-TG 437)、孤立雞眼法(有組織學病理學和無組織病理學的ICE-TG 438)、中性紅細胞釋放(NRR),EpiOcular™進行了前瞻性測試分析(TG 492眼刺激試驗(EIT)和ET50毒性時間方案)和豬角膜眼可逆性分析(PorCORA)對16種配方(7 EPA Cat.I, 1 EPA Cat.II, 1 EPA Cat.III和7 EPA Cat.IV)來填補數據空白,並完成由五家公司提供的現有數據的數據集。相對於其體內分類,沒有一種單一的測試方法可以為所有16種農藥配方指定正確的分類,但是結果表明,將多種測試的結果以一種綜合的方式結合起來可能對這些配方的分類有用。目前正在討論該項目的下一步。

- 皮膚致敏工作組：工作組有來自七個ICCVAM機構的成員和ICATM的代表，協助皮膚致敏性測試路線圖目標的實施。還支持OECD制定有關皮膚致敏方法的指南。美國環境保護署（EPA）公佈了一項科學政策草案，旨在通過確定潛在皮膚致敏劑的明確方法減少動物的使用，將接受單一化學物質的提交，這些化學物質可以使用結合兩種特定方法的非動物方法進行測試。此外，美國國家毒理學計畫目前正在測試ICCVAM機構感興趣的約200種化學物質，以進一步支持評估定義的方法。所有測試已於2019年完成，數據將公開提供。
- 急性毒性工作組：該小組一直在使用多種現有資料來鑑定、收集和治療高質量的大鼠口腔急性毒性LD50數據，正在準備一份總結這項工作的手稿，並進行分析以評估數據的可變性。這項大型的齧齒動物研究數據集被用於旨在開發急性口腔系統毒性計算機模擬模型的國際合作項目中。
- 發育和生殖毒理學工作組：目的是開發和評估使用體外和/或計算機方法將化學物質分類為生殖和發育毒性危害的替代方法。該小組的最初重點是發育毒性（生殖作用將在進一步的步驟中解決）。該小組的首要任務是確定發育毒性測試的國際法規要求，繪製機構之間的共性和差異。
- 生態毒理學工作組：該小組正在確定美國機構對生態毒性評估，對生態毒性和環境安全的新興技術及其在監管測試中的實用性的需求。然後，此摘要將用於推進已定義方法的開發和評估，以用於相關終點的篩選、測試和評估。這些評估和支持文件將向公眾提供，也可以提交給經合組織，以促進國際協調和全球實施生態毒性測試替代方法的工作。
- 體外到體內外推工作組：該工作組是為了收集有關“體外到體內外推（IVIVE）”一詞的觀點。EURL-ECVAM是這項國際努力的一部分，目的是就IVIVE定義達成共識，以統一相關術語並確定IVIVE用於監管需求的應用。

- 跨工作組：跨工作組的最初工作著眼於了解美國機構要求，常規應用或熟悉的跨方法，以及哪些常規工具正在使用或正在開發中。

(5) 對健康與環境科學研究所項目的貢獻

健康與環境科學研究所（Health and Environmental Sciences Institute，HESI）是一個非營利組織，其任務是通過學術界、政府、行業、非政府組織和其他合作夥伴的國際科學家的參與，共同確定並幫助解決全球健康和環境挑戰。其遺傳毒理學技術委員會致力於將遺傳毒理學納入風險評估，其重點是改善新的和現有的測試指南、策略、結果解釋以及檢查包括傳統技術在內的非傳統方法。生理的藥代動力學（PBPK）工作組匯集了PBK建模的國際專家，目的是促進在各種風險評估應用程序中使用PBK建模方法。目前正在進行兩個主要工作：（a）建立統一的模板以報告信息，並向模型審查者提供建議，以促進在監管風險評估中採用PBK模型；以及（b）建立基於PBK應用程序的框架和決策樹不同程度的數據可用性。EURL-ECVAM特別致力於評估現有水生行動模式分類框架，它們的重疊性和前進的可能性；在數據庫中實施共識行動模式，以幫助用戶快速區分麻醉藥品和非麻醉藥品以及可能使用的環境閾值濃度而無需擔心數據缺口的填充混合物風險評估的背景。另外，建立確定體外魚類內在肝清除率的新測試指南。去年發布了兩個OECD TG 319A和319B以及多實驗室環試驗的結果。

(6) GIVIMP實施的國際合作

由EURL-ECVAM協調，最近批准的OECD指導文件《良好的體外方法規範》（Good In Vitro Method Practices，GIVIMP）提供了技術和質量規範框架，以幫助確保體外方法的整體開發和實施具有最高水平可能的質量，從而有助於科學誠信。該指南面向所有經合組織成員國，涵蓋了包括方法開發人員、驗證機構和最終用戶在內的廣泛大眾，但其最大的影響可能是在體外方法剛剛開始紮根的地區。

中國和巴西將繼續採用和實施非動物測試方法來評估化妝品和成分的安全性。產業界與美國體外科學研究所（Institute for In Vitro Sciences, IIVS）合作努力集中於將幾種OECD測試指南方法轉移到中國政府實驗室，並支持在浙江研究所內建立體外毒理學測試實驗室食品和藥物管制局（中國杭州）。最近，德國巴斯夫股份公司（BASF SE）和IIVS合作，採用GIVIMP原理將基於細胞的體外皮膚致敏試驗LuSens方法引入中國。相關案例研究例證了GIVIMP指南可以協助有關方面開發、轉移和建立體外方法的實用方法。

自2016年以來，EURL-ECVAM和巴西替代方法驗證中心（BraCVAM）同意就動物替代方法的合作採取聯合行動。解決的具體領域包括：（a）加強巴西實驗室網絡之間的合作，以支持替代方法的驗證和部署。由科學、技術、創新和通信部（Ministry of Science, Technology, Innovation and Communication，MCTIC）支持的InMetro和歐盟的同類組織 EU-NETVAL，尤其著重於GIVIMP；（b）跨轄區和部門共享與動物試驗3Rs相關的知識；（c）促進使用替代方法來監管安全評定。

四、替代方法工具與教育訓練

1、EURL-ECVAM 數據庫和工具

易於獲取的替代方法信息在不同領域和環境（例如，知識共享、法規應用、教育訓練等）中對3Rs原則的採用起著重要作用。EURL-ECVAM的任務包括通過提供有關替代方法的公共數據庫和訊息系統來傳播相關內容。圖3-4-1和圖3-4-2概述了當前可用的EURL-ECVAM數據集、數據庫和工具。以下說明亦會介紹最近更新的內容。



圖3-4-1 JRC數據目錄中的EURL-ECVAM數據庫和工具

<h3>EURL ECVAM Rodent In Vivo Biotransformation Database</h3> <p>The Rodent In Vivo Biotransformation database includes rodent (mouse, rat) in vivo biotransformation data (clearance or elimination or half-life, and in most entries additional TK parameters relating to the reported clearance value).</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2442 entries for approximately 568 unique chemicals <p>europe.eu/!Tc98yT</p>	<h3>HTS Database of Nanomaterials on HepaRGs</h3> <p>The dataset contains 14 different read outs including viable cell count, cell membrane permeability, apoptotic cell death, mitochondrial membrane potential and steatosis of the human hepatoma HepaRG cell line treated with a large set of nanomaterials, coatings and supernatants at different concentrations.</p> <ul style="list-style-type: none"> • The database can be utilised for the development of in silico hazard assessment and prediction tools or can be combined with toxicity effect on other in vitro test systems <p>europe.eu/!mK49yD</p>
<h3>Inventory of the 3Rs Knowledge Sources</h3> <p>A detailed inventory of 800 knowledge sources relevant to the Three Rs.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 800 knowledge sources identified • The inventory covers different types of knowledge sources both explicit (e.g. websites, publications, databases, etc.) and more tacit (e.g. organisations, events, expert groups, etc.) <p>europe.eu/!kN83xc</p>	<h3>Three Rs Education and Training Courses and Resources</h3> <p>This catalogue provides a snapshot overview of education and training courses and resources on the Three Rs principles offered at secondary school, university and professional levels worldwide.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 569 courses and resources • Data collected between June and September 2018 <p>europe.eu/!Mc76wP</p>

圖3-4-1續 JRC數據目錄中的EURL-ECVAM數據庫

<h3>ChemAgora</h3> <p>ChemAgora is a portal to retrieve chemical, physical and toxicological information on chemical substances from existing publicly available databases.</p> <p>Main features</p> <ul style="list-style-type: none"> • Search by identifier (name, CAS, InChIKey, etc.) or by structure • Data from 13 third-party collections • FP7 funded project <p>The search result page visualises the molecular formula, the InChI, and an image of the chemical structure, a list of synonyms and provides clickable links leading to the page with information about the chemical.</p> <p>chemagora.jrc.ec.europa.eu</p>	<h3>CheLIST*</h3> <p>The Chemical Lists Information System (CheLIST) helps determine if a chemical has been used in a research or validation project, and if it is regulated and listed under a specific regulatory inventory.</p> <p>Main features</p> <ul style="list-style-type: none"> • Search by identifier (name, CAS, InChIKey, etc.) or by structure • Comparison of various datasets and inventories • Download of lists and associated references <p>Lists can be downloaded and the references provided for each list allow traceability back to source. * CheLIST is currently being updated and a new version will be released during the first half of 2020.</p> <p>che-list.jrc.ec.europa.eu</p>
<h3>CRAFT and METIS</h3> <p>The Chemical Reactivity and Fate Tool (CRAFT) allows modelling and evaluation of the chemical reactivity, persistence and biodegradation of chemicals in the environment. The Metabolic information Input System Editor (METIS) can be used for input and storage of information about metabolism and degradation reactions.</p> <p>Main features</p> <ul style="list-style-type: none"> • Open source software tools • Visual representation of biochemical reactions • METIS accessible from CRAFT <p>Case study available: "In silico modelling of microbial and human metabolism: a case study with the fungicide carbendazim".</p> <p>europe.eu/!PmZ61f</p>	<h3>DART</h3> <p>The Decision Analysis by Ranking Techniques (DART) is designed for the ranking of chemicals according to their environmental and toxicological concern based on the most recent ranking theories.</p> <p>Main features</p> <ul style="list-style-type: none"> • Different kinds of order ranking methods, e.g. total and partial-order ranking (Hasse diagram) • The ranking methods can be used to order chemicals based on more than one variable <p>Case studies available: "A Set of Case Studies to Illustrate the Applicability of DART (Decision Analysis by Ranking Techniques) in the Ranking of Chemicals".</p> <p>europe.eu/!M697PK</p>

圖3-4-2 EURL-ECVAM數據庫和工具



圖3-4-2續 EURL-ECVAM數據庫和工具

資料來源：EURL-ECVAM (2018)

(1) DB-ALM —關於動物實驗替代方法的EURL-ECVAM數據庫

DB-ALM成立於2000年代初期，目的是滿足對這一時期可用的替代方法的訊息日益增長的需求，並履行委員會向理事會和歐洲議會提交的關於該組織來文中定義的ECVAM職責之一歐洲替代方法驗證中心，即建立、維護和管理替代程序數據庫。在接下來的幾年中，DB-ALM在內容、功能和用戶社群方面不斷增長。

在接下來的十幾年中，在替代領域進行了大量投資，這導致為生物醫學研究和法規測試等科學目的而開發和應用的替代方法的數量大大增加。此外，在此期間，出現了許多新的傳播管道，包括致力於體外和計算機方法的科學期刊。為了保持其相關性和附加價值，DB-ALM的策略從“全面”方法轉變為主要側重於提交給EURL-ECVAM進行驗證的方法以及那些在文獻和最終用戶的臨時審查中確定的方法在特定的應用領域。

近年來，不僅替代方法的發展迅速，而且由於社會的數位化轉型，知識傳播的方式也發生了巨大變化。以大型的“一站式”數據庫為最主要和最有效的傳播管道，不再是首選。因此，EURL-ECVAM提出了一個流程，以使其策略再次適應，從而可以促進跨社群共享有關非動物模型和方法的知識。

現代化的第一步是最近發布的輕量級DB-ALM版本，該版本可在JRC數據目錄中找到，並提供原始系統附帶的所有訊息、方法及其說明，但提供了更直觀的用戶體驗和經過優化的搜索工具，可以更快地訪問相關訊息。此外，可以下載整個數據庫，以便在電腦離線時亦可更輕鬆地閱讀和進一步分析。任何人都可以免費使用此新的DB-ALM，並且不需要用戶ID或密碼。

外觀煥然一新的DB-ALM只是EURL-ECVAM計畫中的第一步，該計畫旨在改革其模型和方法的傳播策略，並從單向出版範例轉變為雙向，更具交互性和社交性的方法。在未來的幾個月和幾年中，將在起草和實施這種新的方法知識共享策略時諮詢利益相關者。

(2) . IPCHEM-化學監測資訊平台

化學監測資訊平台 (Information Platform for Chemical Monitoring, IPCHEM) 是歐洲委員會的參考平台，用於由歐洲委員會機構、成員國、國際和國家組織以及研究團體通過各種媒體收集化學監測數據。監測數據可通過四個主題模組獲得：環境監測、食品和飼料監測、人類生物監測以及消費品和室內空氣監測。

該平台旨在支持一種協調一致的方法來收集、存儲、訪問和比較與人類和環境有關的化學物質，其代謝產物和化學混合物的發生相關的數據。該平台側重於數據質量和可用性，以及暴露的風險評估和管理實踐以支持歐盟政策的基礎。

IPCHEM的主要目標集中在：A.協助政策制定者和科學家發現和獲取涵蓋一系列基質和介質的化學監測數據；B.為當前不易訪問的數據提供安全可靠的數據存儲；C.將質量控制規則和程序集合到平台中來促進數據的協調和比較；D.促進暴露和風險評估實踐以支持歐盟政策。

(3) .JRC數據目錄

圖3-4-1概述了JRC數據目錄的EURL-ECVAM中可用的數據集和工具。

•DB-ALM-EURL-ECVAM的動物實驗替代方法數據庫

DB-ALM是可供選擇的方法摘要和協議的公開訪問集合。它主要側重於提交給EURL-ECVAM進行驗證的方法，以及在2000年至2019年之間特定應用領域的文獻和最終用戶的臨時評審中確定的方法。可以在Web界面中搜索所有方法摘要和協議，然後分別進行檢索，也可以將其下載在個人電腦上離線閱讀。搜索條件包括主題區域、生物學終點、實驗系統等。

•EURL-ECVAM魚體外本徵清除數據庫

魚類體外本徵清除率數據庫是Excel™工作簿，其中包括使用魚類S9餵分、肝細胞或微粒體通過體外方法得出的魚類體外固有清除率，涵蓋232種

獨特化學品的大約960個條目。該數據庫已由加拿大ARC Arnot研究諮詢公司針對EURL-ECVAM採用電子表格中概述的質量標準進行編譯。EURL-ECVAM魚體外本徵清除數據庫支持使用低溫保存的肝細胞（OECD TG 319A）或虹鱒魚的S9餾分（OECD TG 319B）來確定體外本徵清除的兩個OECD測試指南。

•EURL-ECVAM魚體內生物轉化數據庫

魚體內生物轉化數據庫是Excel™工作簿，其中包括魚體內生物轉化數據（全身、生物轉化速率常數（kB）估計值），涵蓋702種有機化學品共有1535個條目。該數據庫亦已由ARC Arnot研究諮詢公司針對EURL-ECVAM採用電子表格中概述的質量標準進行編譯。數據支持化學評估和非動物方法的發展。

•EURL-ECVAM齧齒動物體外本質清除數據庫

EURL-ECVAM齧齒動物體外本徵清除數據庫提供有關使用齧齒動物S9餾分、肝細胞或微粒體的體外方法獲得的齧齒動物（小鼠、大鼠）的代謝清除的信息。它支持化學評估和非動物方法的發展。對於大約6100種獨特的化學品，共有8648個條目。

•EURL-ECVAM齧齒動物體內生物轉化數據庫

EURL-ECVAM齧齒動物體內生物轉化數據庫提供了齧齒動物（小鼠、大鼠）的生物轉化信息（清除、消除、半衰期以及在大多數條目中與報告的清除值有關的其他毒代動力學參數）。它支持化學評估和非動物方法的發展。對於大約568種獨特的化學品，有2442個條目。

•關於HepaRGs的奈米材料的HTS數據庫

該數據庫包含FP7 Project NanoMILE內大量納米材料對人肝癌HepaRG細胞系影響的體外測量。包含14種不同的讀數，例如活細胞計數、細胞膜通透性、凋亡細胞死亡、粒線體膜電位、脂肪變性和中性脂質

的細胞內積累。一組 89 種奈米材料，它們的大小和在三個獨立的生物學複製品中，以十種不同的濃度對塗層進行了測試。

2、EURL-ECVAM 知識共享活動

(1) BeAMS-跨越生物科學方法計畫

EURL-ECVAM通過“跨越生物科學方法（Bridging Across Methods in the Biosciences, BeAMS）”項目，發起了一項跨領域的工作，以應對缺乏跨學科性的生物科學主要挑戰。

生物科學具有豐富的創新能力，並且基於新技術的複雜方法不斷湧現，例如基因編輯、晶片上的器官和超分辨率成像。如果科學要正確地為政策提供訊息並滿足社會需求，那麼跨學科研究至關重要。然而，生物科學中的專科性限制了新方法從一個領域轉化為另一個領域的潛力，這也阻礙了科學界進行互動和合作來解決諸如癌症等嚴重的健康問題。所有科學方法都有其相關的專業知識和實踐，需要研究人員進行高度專業化。一方面，這種高度的方法相關專業知識使科學家能夠更深入地探索新知識；但是，另一方面，這種專業化也造成新型科學框架的出現。跨學科性最常被引用的挑戰仍然是缺乏通用語言，因此，證明很難以等效的方式適當地描述方法並比較它們產生的不同類型的科學證據。如果科學界想設計出橋接知識和實踐的方法，則需要更多的認識和理解。

BeAMS是一項為期一年的工作，來自許多不同學科的利益相關者都在聽取他們的意見，目的是達成一種克服框架難題的聯合方法。在2019年，EURL-ECVAM發布了第一份BeAMS報告，其中提出了四個關鍵建議：

- 通過對歷史和當前範例案例的分析，更了解科學方法在跨學科和跨領域成功過渡的案例，並從中汲取教訓；
- 創造新的機會來促進和嘗試跨方法的方法；

- 分析有關開放獲取、開放科學和其他方面的現有政策和倡議，並查看數據和方法互補性之間存在哪些差距；
- 在籌資電話會議以及研究和創新項目的評估中包括更明確的跨學科研究標準和跨方法的可橋接性。

隨著“Horizon Europe”為下一個歐盟框架計畫中以任務為導向的研究政策鋪平道路，考慮這些建議以促進有意義的跨學科性以確保成功至關重要。

(2) 替代動物實驗方法或方法的指標

監測框架可以幫助確定進展，影響趨勢和未來發展水平以及採用替代方法或動物試驗方法的機會。近年來，已經開發了許多指標來使用定量和定性數據以衡量科學和創新。然而，僅專門進行了一些嘗試來監測替代方法或方法的吸收水平。2018年，URLL ECVAM促進了在外包商的支持下進行的可行性研究。這項研究旨在研究一種合適的方法學方法，以及與基礎和應用生物醫學研究以及監管和教育背景下的非動物實驗有關的指標實例。可行性研究確定了原型指標，例如文獻計量指標，與專利或資助策略有關的指標，這些指標可以收集有關知識傳播、科學技術進步以及替代動物試驗的經濟影響的訊息。

它還表明需要對可用數據源進行深入分析並開發可靠的數據收集策略。可行性研究的結果可以支持建立一個實踐社群，不同的利益相關者可以共同為建立可持續的指標做出貢獻，以監測替代動物測試領域的趨勢。

根據可行性研究的結果，EURL-ECVAM在2019年發起了一項新計畫，以調查指標，這些指標可能適用於衡量針對非傳染性疾病的生物醫學研究的投資回報，而在歐洲國家，非傳染性疾病正變得越來越普遍。特別是，儘管進行了顯著的研究和經濟上的努力，藥物開發中的臨床失敗率仍然很高，第一階段獲得批准的總體可能性約為9.6%。另一方面，非動物方法的擴展工具箱，包括來自患者的誘導性多能幹細胞，下一代測序、組學和集成計算機建模，可用於研究以人為基礎的環境中的人類疾病，正如最近所倡導的那樣，確定新的潛在可藥

物治療標靶並評估治療效果。

儘管在歐洲範圍內廣泛支持基於使用動物和/或非動物方法來應對非傳染性疾病（例如阿茲海默症、乳腺癌和前列腺癌）的研究工作，但後續仍須加強系統化地評估研究投資的回報率，應採用適當的指標來實施資金策略，例如以回顧性評估公共衛生趨勢，並在需要時重新考慮資金策略。

3、EURL-ECVAM 教育訓練活動

教育和培訓對於推動替代方法和方法的發展與採用至關重要，EURL-ECVAM最近參與了一些教育和培訓活動，目的是提高對“3Rs原則”和替代方法的認識。

(1) 3Rs教育培訓資源盤點

對與3Rs相關的現有教育和培訓（education and training，E&T）課程和資源進行盤點，目的是在彙整歐盟內部和外部以及跨三個學習層次（專業、大學和中學）現有提供的E&T訊息。該清單可在JRC數據目錄中免費獲得。這項研究還包括對當前趨勢以及優勢和需求領域的分析，做為在E&T背景下加快“3Rs”的發展和採用提供進一步的訊息。

通過線上調查在2018年6月至9月之間進行了對E&T課程和資源的識別，其中隱含或明確提及了3Rs，然後將結果與PubMed和Google結合關鍵字進行的網絡搜索相結合，所產生的條目使用幾個描述來表徵3Rs相關性，例如課程名稱、語言、格式、教育水平、課程認證和訪問類型（免費或收費）。在全球52個國家中，共確定了569個與“3Rs”相關的電子技術課程和資源，大多數位於歐洲（72%）和北美（14%）。一些電子教學課程和資源結合了課堂和遠程學習形式。以講座和動手培訓的形式進行的面對面教育被認為是最普遍的授課形式（64%）。另一方面，通過網絡研討會或線上互動資源進行的遠程學習約佔課程和資源總數的三分之一（30%）。

E&T課程和資源中有70%是針對大學生以上的層級（大學、研究生和博士後），26%的課程針對專業人士，只有3%的重點針對高中生。大約50%的E&T課程和資源完全以收費方式提供。大約有三分之一的課程和資源側重於替代原則，而第二個最受關注的原則是精緻化（20%），另一些課程則涉及減量（8%），18%的課程和資源解決了所有“3Rs”原則。

當前的研究表明，在六大洲都有大量的3Rs E&T課程和資源，並且可以通過不同的方式（例如遠距離和/或課堂學習）進行。但是，某些方法和教育水平占主導地位，英語在全球範圍內分佈也不均勻。大量的公開線上課程和暑期學校作為教學形式的代表性不足。

（2）促進動物試驗替代的歐洲議會試點項目

2018年歐洲議會向環境總局提供了100萬歐元，以通過訊息共享和教育活動在歐盟推廣使用動物試驗替代方法。該試點項目應在實施指令2010/63 / EU中發揮關鍵作用。它旨在積極推廣現有替代方案，促進新替代方案的開發和驗證，促進信息、知識和最佳做法的交流，並提供教育和培訓工具，以促進3Rs原則的應用。

為了實現這些目標，正在執行以下三個操作：

- A.開發六個開放獲取電子學習模組：“尋找和確定現有的替代性非動物方法”、“為監管使用開發可靠和相關的替代性非動物方法”、“程序和項目的設計（第一級）”、“程序和項目的設計（第二級）”、“項目評估員”、“在使用活體動物的項目中實施嚴重程度評估框架”。
- B.支持實驗動物科學教育培訓平台（ETPLAS）。
- C.制定指導方針，以促進將3Rs納入教育課程和生產教學資源。

這六個模組將在2020年準備就緒，將免費提供給任何個人或課程提供者，以用作獨立的培訓工具或課程的一部分。例如，“為科學目的和監管用途開發可靠且相關的體外方法和方法”這個電子學習模組，將使學生了解經合組織關於良

好體外方法規範的指導文件（從開發、體外方法的評估到監管認可的途徑）以及開發可靠和相關的體外方法的背景和需求，以及如何提高針對特定目的的測試方法的可靠性和完整性。GIVIMP的目的是通過從方法開發到方法實施的良好科學、技術和質量實踐以規範使用為目的，以減少基於細胞和組織的體外方法衍生預測的不確定性。

（3）各項研討會活動

•與不良結果途徑相關的培訓活動

2018年10月在中國廣州舉行的第四屆毒性測試替代品和轉化毒性國際會議以及第二屆亞洲替代品大會的會前繼續教育計畫中，EURL-ECVAM就AOP-Wiki作了介紹，讓參與者瞭解如何在Wiki中使用AOP，並討論對Wiki和AOP框架的看法。顯而易見的是，儘管EURL-ECVAM甚至OECD的第一手培訓和教育干預措施在像中國這樣具有戰略意義的國家中至關重要，但它們永遠無法擴展真正產生持久的影響。招募和培訓當地人員，以傳播AOP知識，是未來進行AOP框架的工作重點的一環。

•羅倫茲計算建模研討會

在過去的十年中，數字資源獲得了巨大的增長，以捕獲與化學物質的毒理學效應有關的數據並支持預測性化學物質風險評估。因此，數字資源可以通過AOP和AOP網絡的開發和量化來幫助徹底改變毒理學。量化對於更可靠地預測化學作用（包括效力）是必要的，這是風險評估的前提。

由EURL-ECVAM，荷蘭國家公共衛生與環境研究所（RIVM，NL）和利物浦約翰·摩爾斯大學合辦的研討會於2019年10月舉辦了名為“電子資源將徹底改變毒理學：將數據與決策聯繫起來”的研討會，目的是探索通過使用數字資源來增強AOP和AOP網絡定量模型的開發和採用的方法。

在分組討論之後，參與者針對三個終點（皮膚致敏性、神經毒性和致癌性）開發了一系列qAOP案例研究。這些案例研究收集了使用當前可用的

數字資源量化AOP的經驗教訓，並確定了進一步研究和開發的需求。

- JRC暑期非動物科學方法學校

JRC暑期學校專為研究生和早期職業科學家量身定制，他們專注於非動物方法和技術，以及與它們在各種領域（例如毒理學和生物醫學研究）中的應用相關的機遇和挑戰。該計畫結合了該領域專家的演講和大量互動會議，以鼓勵人們交換意見並促進參與者之間的交流。

每個參與者都展示了一張海報，描述了他/她自己的學習以及與JRC暑期學校主題相關的興趣或工作領域。2019年5月在伊斯普拉的JRC據點舉辦了一次JRC暑期班，2020年6月則在美國巴爾的摩約翰霍普金斯大學舉行科學創新方法暑期學校。

第四章 我國產品上市前試驗中可能被替代或減量之動物數量盤點

一、產品上市前測試法規說明

1、藥品

我國藥品（含中草藥）的主管機關為衛生福利部食品藥物管理署（TFDA），依據2018年生技產業白皮書，我國製藥產業概分為西藥製劑、原料藥、中草藥及生物製劑等領域。

藥品在臨床前試驗部份是依據優良實驗室操作規範（Good Laboratory Practice, GLP）/人體細胞組織優良操作規範（Good Tissue Practice, GTP），以衛生福利部食品藥物管理署出版之中華藥典第八版（2015年）之要求進行審核。

藥品非臨床試驗安全性規範第五版（2014年）在前言中闡示實驗動物之品質宣言，強化了農業委員會的動物保護法及3R觀念。食品藥物管理署藥品組表示其『主要負責新藥、生物藥品及學名藥之查驗登記。以「增進人類福祉」為主要目標，也逐步盡力確保動物福利作為實驗動物為人類健康付出時，人類社會應盡之義務。經由鼓勵新藥及生物藥品的創新研發，以幫助病患能取得安全及有效的治療或預防之藥品。或經由學名藥的上市，在與原廠品質相同的規格下，推動已過專利保護之藥品使用，幫助更多病患能取得價格合宜的藥品。由於新藥的開發，仍須經由動物實驗來保障臨床試驗受試者的安全保障。未來食藥署仍將密切觀察國際醫藥法規協合會議（International Harmonization Conference: ICH），經由美國、歐洲及日本等全球目前主要研發國家之製藥產業的努力，逐步建立全世界共同認可的動物實驗替代方案，也可提升我國製藥產業實驗動物保護的品質及科學技術與倫理觀念的進步。』

目前，在藥物開發這部份對於動物試驗替代的接受度較為有限，但在減量、合併實驗及動物再應用方式較有可發揮的空間，國際上亦以動物使用的精

緻化和減量為藥物開發的趨勢。目前主管機關在觀念上應用OECD減量方法的接受度很高，依上述中華藥典，其中有一些重覆給藥的部份，以及癌症藥物直接應用在病人臨床研究，在實務上，低於法規用量的動物測試申請案也都可以通過。

在減量或合併實驗部份，衛生福利部透過國際合作平台參與全球藥物研發，精進其審查流程與機制-加速試驗用新藥（Investigational new drug，IND）審查，鼓勵多國多中心IND在台執行。藉由台灣醫學中心級醫院的參與執行，與十大醫藥先進國之一（美國、加拿大、日本、德國、英國、法國、瑞士、比利時、瑞典、澳洲）進行相同計畫編號之IND，將標準審查時間由30天加速為15天。

衛生福利部2018年9月公告「特定醫療技術檢查檢驗醫療儀器施行或使用管理辦法」（簡稱特管辦法）草案，開放已有初步療效的自體免疫細胞治療、自體間質幹細胞移植、自體周邊血幹細胞移植、自體免疫細胞移植、自體脂肪幹細胞移植、自體纖維母細胞移植、自體骨髓間質幹細胞移植及自體軟骨細胞移植共6項治療。適應症方面，此六項細胞治療開放的病症則涵蓋癌症、腦中風、下肢缺血、困難傷口與大面積燒傷、皮膚缺損、脊椎損傷等。其中，在自體免疫細胞治療部分，新制將開放至1至3期經標準治療無效的實體癌症患者，以及血液惡性腫瘤經標準治療無效的患者。所謂細胞治療，即是抽取人體血液或組織，分析出所要取用的細胞，如T細胞、NK細胞或幹細胞等，並由專業人員在GTP實驗室中按程序複製出一定的量後，回輸人體，以達到治療的目的。

另外，因應細胞治療即將上路，現已完成研擬「再生醫療製劑管理條例草案」（原為細胞及基因治療管理法草案），且已進入行政院審議階段，將建立捐贈者合適性評估、有條件期限許可制度及加強上市後安全監控等規範，確保再生醫療製劑品質、安全性及有效性，以維護病人權益，促進發展再生醫療製劑。

資料來源：經濟部工業局（2018）

表 4-1-1 藥品（含中草藥）相關法規

測試項目	國內法規名稱 及動物測試項目
	<p>藥品非臨床試驗安全性規範第五版（FDA 藥字第 1031405812 號） 新藥非臨床試驗：</p> <ol style="list-style-type: none"> 所有新藥進入人體臨床試驗之前，必須提供其安全性評估資料，包括：（1）非臨床動物試驗數據，可以推行至此藥物實際產生的作用；（2）臨床試驗數據或在其他國家的藥物使用情況證明。非臨床試驗包括藥理與毒性試驗，藥品非臨床安全性試驗之執行，應符合非臨床試驗優良操作規範（GLP）[非臨床安全性試驗是指（包括）安全性藥理試驗和毒理試驗]。 雖然所有的新藥都經由上述的上市申請程序，但是每個藥品通過上市申請的過程及試驗的內容，包括非臨床試驗與臨床試驗之試驗型態與數量都不甚相同，須視每個新藥的性質、劑型、用途、及給藥方式等情況而作調整，並且促進與國際 ICH 法規的標準一致。 長期毒性試驗及臨床試驗非常費時，為加速臨床試驗進程，依據 3R（減少/精簡/取代）原則，減少動物使用及製藥研發所需資源，非臨床與臨床試驗的時程可相互並行。 依序臨床試驗時程及產品特性進行：藥理試驗（藥效學、藥動學、安全性藥理學試驗）、毒理試驗（單一劑量毒性試驗、重覆劑量毒性試驗、基因毒性試驗、生殖與發育毒性試驗、致瘤性試驗、皮膚過敏性試驗、皮膚感光過敏性試驗、皮膚刺激性試驗、眼睛刺激性試驗、毒理動力學試驗、免疫毒性試驗）
藥效學-- 安全性藥理試驗	<ol style="list-style-type: none"> 隨著科技的發展，廠商應選擇最新穎的方法與技術進行安全性藥理試驗。 測試系統可分成下列 4 種：（1）活體動物；（2）離體的器官與組織；（3）血液與其組成份；（4）細胞與其組成份。 選擇適於進行試驗的動物，例如，大鼠、鼯鼠、天竺鼠、兔子、貓、狗等動物，此外動物的品種、性別、年齡等也須列入考量。 一般試驗須包含陰性（溶劑）對照組及/或陽性（參考藥物或衍生藥物）對照組。
藥動學	<ol style="list-style-type: none"> 以支援藥理試驗、毒理試驗及預期人體臨床試驗所需之劑量為原則，選擇適當的動物品種。 吸收與排除的試驗，每組應至少有 4 隻動物。除非在特定情況下，一般不限制性別。若有性別差異時，則每種性別皆須包含四隻動物。若選用非啮齒類動物，可減少動物數量。
毒理試驗規範	
1. 單一劑量毒性 試驗	<ol style="list-style-type: none"> 使用至少 2 種的哺乳類動物，當試驗許可時，應包含 1 種非啮齒類動物[說明 1]。動物須包含雄、雌兩性。 啮齒類動物每個劑量組使用 10 隻（5 雄、5 雌）或以上動物；非啮齒類每個劑量組使用 6 隻（3 雄、3 雌）或以上動物。 劑量範圍須包含不會產生不良反應及足以顯示毒性症狀（造成死亡）之劑量。此外，還要包括載體對照組、及/或空白對照組。若試驗物質毒性很低，則以試驗物質許可之最高極限量進行 [說明 3]。 <p>說明 1：若具有初步單一劑量毒性試驗或短期重覆劑量毒性試驗的試驗結果，且其劑量範圍及臨床觀察已被確定，則可刪除非啮齒類動物的單一劑量毒性試驗。</p> <p>說明 3：依動物保護原則，試驗設計應以最少的動物數量來獲得大量的資訊，不建議使用龐大的動物量來計算致死率的參數（例如，LD50）。</p>
2. 重覆劑量毒性	<ol style="list-style-type: none"> 使用至少兩種的哺乳類動物，一種為啮齒類，另一種為非啮齒類動物，最常使用的動物為大鼠和狗。雄、雌兩性動物的數量須相同。

試驗	<p>2.對齧齒類動物，依個別毒性試驗長短之有不同的要求：6個月以下的毒性試驗，齧齒類動物每個劑量組使用雄、雌各 10-20 隻或以上動物；6個月或以上，每個劑量組使用雄、雌各 20 隻以上動物。非齧齒類，原則上每個劑量組使用雄、雌各 3-5 隻或以上動物。若須進行試驗中期解剖或復原測試，動物數量須視解剖的次數適量增加，而每次試驗中期解剖，每組齧齒類動物雄、雌各 10 隻或以上。</p> <p>3.試驗中至少要有 3 個劑量組：（1）高劑量為該劑量足以使試驗動物產生毒性症狀，但不造成死亡；（2）低劑量為不會引起毒性的劑量；（3）中間劑量為足以引起最低毒性作用（例如，血中酵素值改變或體重成長速度下降）。此外，還要包括載體對照組，若此載體無足夠的毒性顯示其不會影響試驗結果，則必須增加空白對照組。</p>
3.基因毒性試驗	<p>1.一般試驗物質須進行 3 種以上的基因毒性測試，以評估其基因毒性，基因毒性試驗包括：</p> <p>（1）細菌基因突變分析（A test for gene mutation in bacteria）；</p> <p>（2）體外哺乳類細胞的染色體損傷分析法或體外鰐鼠淋巴瘤 tk 分析法；</p> <p>（3）齧齒類動物造血細胞的動物體內染色體損傷分析法；</p> <p>（4）其他體內基因毒性分析：最常被發表並建議的方法為 DNA 鏈斷裂分析，一般常用為哺乳動物肝細胞非程序 DNA 合成分析。</p> <p>2.齧齒類動物體內造血細胞的染色體損傷分析法：使用動物，大鼠、鰐鼠皆可用，但若分析周邊紅血球細胞時，建議使用鰐鼠。一般而言，使用單一性別即可。一般使用雄性鰐鼠[說明 10]。測試至少三個劑量組，每劑量組至少 5 隻動物。</p> <p>3.DNA 斷鏈分析法：動物通常採用大鼠，也可使用其他哺乳動物。通常至少設 2 個劑量組，高劑量應足以產生明顯毒性，低劑量一般為高劑量的 50%~25%。每劑量組至少 3 隻動物，同時進行的陰性和陽性對照組需用 1 隻或 2 隻動物。</p> <p>說明 10：若雄性與雌性動物在代謝或毒性上有明顯的差異時，則須同時使用雄、雌動物進行試驗。若試驗物質為特別針對某種性別時，則應使用該性別進行試驗。周邊血液微核試驗只在雄性齧齒動物內經過確效。</p>
4.生殖與發育毒性試驗	<p>一般生殖與發育毒性試驗將懷孕至離乳時期共分為 3 個試驗階段進行，有關試驗動物的一般建議：</p> <p>1.動物的種類與品系之選擇，須考慮其健康情形及生殖之相關資訊，包含生育力、生殖力、先天性畸形自然發生率及胚胎死亡率。</p> <p>2.通常採用和其他毒性試驗相同的哺乳類動物種類及品種，並選擇先天性畸形自然發生率低的種類與品種，最常使用大鼠做為主要齧齒類試驗動物的理由是因為其實用性、可與此動物種類其他實驗發現結果進行比較，並且有大量累積的背景資料庫。</p> <p>3.生殖與發育毒性試驗第一、二及三期均使用相同種類與品系之動物。</p> <p>4.在同一試驗內及不同試驗間所使用的動物，在試驗開始時應該有可以互相比擬的年齡、體重及生產次數；最簡單方法就是使用年輕成熟的動物，並且和未交配過的雌性動物進行交配。</p> <p>5.傳統上，在胚胎毒性的試驗中需要使用另一種哺乳類動物，兔子是“非齧齒類動物”的最佳選擇。在不適合使用兔子的狀況下，可以選擇另一種非齧齒類或第二種齧齒類動物，並應依照案件的原則個別考慮。</p> <p>測試方法，可進行單一試驗設計（齧齒類動物）、雙試驗設計（齧齒類動物）：</p> <p>1.第一期試驗：懷孕前與懷孕初期之生育力與胚胎發育試驗。若以大鼠、鰐鼠（mouse）進行試驗，每劑量組使用雌雄各 16-20 隻動物[說明 1]。</p> <p>2.第二期試驗：器官形成時期之胚胎發育試驗。使用至少 1 種雌性齧齒類及非齧齒類動物，一般最常使用鼠和兔子。每劑量組需要 16-20 隻動物[說明 1]。</p> <p>3.第三期試驗：週產期前後之幼胎發育試驗。若以大鼠、鰐鼠進行試驗，每劑量組使用雌雄各 16-20 隻動物[說明 1]。</p>

	<p>說明 1：(1) 此處的動物數目在第一期試驗中是指用來交配的動物，而在第二、三期是指懷孕成功的雌性動物。</p> <p>(2) 若試驗採用大鼠、鼯鼠、兔子以外的動物，則動物使用數量要能以評估試驗結果。</p>
5.致癌性試驗	<p>基本的致癌性測試組合包含一個齧齒類長期致癌性試驗加上另外一個試驗，此一試驗應能提供長期致癌性試驗以外的資訊。</p> <p>(一) 初步致癌性試驗：本試驗的目的是決定長期致癌性試驗的劑量範圍，若已有充足的有效數據時，則以下試驗可部分或全部刪除：1. 單一劑量毒性試驗；2. 重覆劑量毒性試驗。</p> <p>(二) 長期致癌性試驗：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.使用 1 至 2 種的齧齒類動物，雄、雌兩性並用。 2.每組使用雄、雌動物各 50 隻或以上。若須進行試驗中期解剖，動物數量須視解剖的次數適量增加，而每次試驗中期解剖，每組雄、雌各 10 隻或以上。動物的分組應以動物體重分類，再以適當的隨機取樣方法分配。 3.每個性別進行至少 3 個劑量組及對照組。
6.皮膚過敏性試驗	<ol style="list-style-type: none"> 1.使用皮膚敏感性高的動物，一般以天竺鼠作為試驗動物。 2.一般包含測試組、陽性對照組與陰性對照組。 3.每組至少 5 隻動物。
7.皮膚感光過敏性試驗	<ol style="list-style-type: none"> 1.使用皮膚敏感性高的動物，一般以天竺鼠作為試驗動物。 2.一般包含測試組、陽性對照組與陰性對照組。 3.每組至少 5 隻動物。
8.皮膚刺激性試驗	<ol style="list-style-type: none"> 1.一般使用大白兔進行試驗。 2.每組至少 3 隻動物以上，可使用雄性與/或雌性動物。 3.在同一隻動物另選擇相同大小的皮表，給予溶劑作為溶劑對照組，及/或不給予任何試驗物質作為空白對照組。
9.眼睛刺激性試驗	<p>若試驗物質經過評估後可能需執行動物眼睛刺激性試驗，亦應先執行體外或體內皮膚刺激性試驗，再決定是否需執行動物眼睛刺激性試驗。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.一般使用大白兔進行試驗。 2.每組至少 3 隻動物以上，可使用雄性與/或雌性動物。 3.測試組及空白對照組。
10.毒理動力學試驗	<ol style="list-style-type: none"> 1.一般而言，較大動物的毒理試驗數據是由主要試驗而得，而較小動物（齧齒類動物）的數據可由衛星試驗組而得。 2.需要的動物數目以能得到適當的毒理動力數據為原則。一般皆需要有雄性與雌性動物來預測曝露量，除非有某些特殊理由方可只選用 1 種性別動物。
11.免疫毒性試驗	<ol style="list-style-type: none"> 1.基本上所有的人用新藥都應該評估其造成免疫毒性的可能，採用方法包括標準毒性試驗組及額外的免疫毒性試驗。 2.標準毒性試驗可初步篩選潛在的免疫毒性，可從短期到較長期的齧齒類和非齧齒類重覆劑量試驗設計中，增加下列觀察項目。
<p>生物藥品之非臨床試驗規範</p> <p>1.基於生物藥品的多樣性，而生物活性亦隨結構的變化而改變，因此當傳統的毒性測試方法不適用於此類產品時，則可考慮採用較彈性的方式，依試驗物質特性而進行評估。</p>	

- 2.由於生物藥品不同於一般藥品，其藥效活性具有品種或組織的特異性，因此標準毒性試驗使用的動物品種（例如，鼠與狗）在此並不一定適用，雖然一般藥品的安全性評估須使用至少 2 種哺乳類動物，某些情況下，可以考慮只進行 1 種動物試驗，但須提出說明。此外，雖然短期毒性試驗可能要求要在兩種相關的動物品種執行，若這兩種動物所得到的毒理結果相似，則長期試驗可考慮只使用其中最合適的 1 種動物。
- 3.若生物藥品的結構及藥理作用，特別是藥動特性與市售品相似，則可減少毒性測試的項目。主要包括藥理試驗（藥效學、藥動學、安全性藥理學試驗）、毒理試驗（單一劑量毒性試驗、重覆劑量毒性試驗、免疫毒性試驗、生殖與發育毒性試驗、基因毒性試驗、致癌性試驗、局部耐受性試驗）。

抗癌新藥非臨床試驗規範

- 1.抗癌新藥的毒性易發生於代謝旺盛的組織，通常毒性作用大，安全係數小，具有蓄積性和延遲性，因此與其他小分子藥物相比，其安全性試驗具有一定的靈活性和特殊性。本章提出的各項非臨床安全性試驗考量，絕大部份是基於目前癌症病人缺少有效的臨床治療手段，預期生存期較短，但事實上不同類型癌症的臨床治療現況並不完全一致。因此在對特定的藥物進行安全性試驗時，應考慮到臨床預期適應症和給藥人群的特性，不能簡單套用之。
- 2.由於動物癌細胞轉殖模型與臨床療效之間的相關性不強，僅可用於候選新藥的初步篩選。一般狀況下，建議以人類癌細胞異體轉殖模型試驗結果來評估抗癌新藥的有效性。
- 3.試驗設計一般包括高、中、低 3 個給藥劑量組、陽性對照組和陰性對照組。
- 4.對維持生命重要器官的功能評估（包括心血管、呼吸和中樞神經系統）與體外 hERG 分析結果，應該在臨床試驗開始前提供；這些參數評估可納入在一般毒理試驗中進行，在支持癌症末期或有疾病轉移惡化病患的臨床試驗，試驗藥物可不需要進行單獨的動物安全性藥理試驗。惟在對安全性藥理試驗有疑慮的情況下，應將 ICH S7A 描述的核心系列及/或後續補充性試驗納入考慮。
- 5.為支持第一期臨床試驗，至少一項非臨床試驗應該在試驗給藥試驗結束後加上恢復期，以評估毒性的可恢復性或在停止藥物處理後毒性繼續惡化的潛力。適當的情況下，應該進行毒理動力學評估試驗。包括：單一劑量毒性試驗、重覆劑量毒性試驗、基因毒性試驗、致癌性試驗、生殖毒性試驗、局部耐受性試驗、免疫毒性試驗、藥動學/毒理動力學試驗。

資料來源：衛生福利部食品藥物管理署（2015）

2、健康食品

自民國88年因實施「健康食品管理法」後，健康食品之定義即為「具有保健功效，並標示或廣告其具該功效，且須具有實質科學證據，非屬治療、矯正人類疾病之醫療效能為目的之食品」，產品需向主管機關衛生福利部申請查驗登記許可後才可以宣稱保健功效（產品包裝上可見小綠人標章）。目前由衛生福利部食品藥物管理署所公告的健康食品保健功效共有13項，分別為護肝保健功效、延緩衰老保健功效、不易形成體脂肪保健功效、骨質保健功效、調節血脂功效、調節血糖功效、輔助調整過敏體質功效、血壓功能評估、促進鐵吸收功效、抗疲勞功效、胃腸功能改善、免疫調節功效、牙齒保健功效等。

主管機關衛生福利部食品藥物管理署為加強健康食品之管理與監督，維護國民健康，並保障消費者權益，公布實施「健康食品管理法」對於未辦理查驗登記之食品，不得稱為健康食品。同時，亦公布健康食品的功效性能評估，做為廠商申請健康食品審查依據。

健康食品依其食用目的、方式、製造加工方法、流程、最終產品形式及攝食量等因素，將安全評估分為四類，各類之安全評估項目如下：

(1) 第一類：屬下列二種情形之一者，得免再進行毒性測試。

- 產品之原料為傳統食用且以通常加工食品形式供食者。
- 產品具有完整之毒理學安全性學術文獻報告及曾供食用之紀錄，且其原料、組成成分及製造過程與所提具之學術文獻報告完全相符者。

(2) 第二類：產品之原料為傳統食用而非以通常加工食品形式供食者，應檢具下列項目之毒性測試資料。

- 基因毒性試驗。
- 28天餵食毒性試驗。

(3) 第三類：產品之原料非屬傳統食用者，應檢具下列項目之毒性測試資料。

- 基因毒性試驗。
- 90天餵食毒性試驗。
- 致畸試驗。[OECD對致畸試驗teratogenicity study (test) 已在2010年前改為出生前發育毒性Prenatal developmental toxicity study (test)]

(4) 第四類：產品之原料非屬傳統食用且含有致癌物之類似物者，應檢具

下列項目之毒性測試資料。但目前市場上無第四類健康食品。

- 基因毒性試驗。
- 90天餵食毒性試驗。
- 致畸試驗（出生前發育毒性）。
- 致癌性試驗。
- 繁殖試驗。

資料來源：健康食品安全性評估方法，880802 衛署食字第 88037803 號公告

實驗動物操作及動物的使用之3R精神「取代（Replace）」、「減量（Reduce）」及「精緻化（Refine）」已成為動物實驗研究之基本原則，進行動物實驗時必需尊重生命，並以同理心對待所有實驗動物。當動物試驗必要去進行時，各試驗單位應依據「動物保護法」規定設置「實驗動物照護及使用委員會（IACUC）」確實審查、監督實驗室所進行之動物實驗狀況及動物飼養情形。健康食品查驗登記時須依照規範須提出該產品之安全性及功效性試驗數據以佐證產品之功效與食用安全無疑慮。

健康食品安全性評估方法中，試驗須使用動物的項目及修訂建議彙整於下列表4-1-2-1，包含口服急毒性試驗、28天餵食毒性試驗、90天餵食毒性試驗、嚙齒類微核測試、致畸試驗（出生前發育毒性）、致癌試驗及繁殖試驗。毒性試驗部分由於生物動力學（biokinetics）、代謝（metabolism）和標靶器官毒性（肝臟、腎臟、中樞神經系統、內分泌系統等）且體外系統無法獲得「無可見作用劑量NOAEL（No Observed Effect Level）」等因素，目前國際上尚無規範提出可行之替代方案。

基因毒性方面，測試方法有：

（1）以基因突變為參考指標的測試方法：

- Gene mutation test with bacteria。
- Gene mutation test with mammalian cells in culture。
- Test with *Drosophila melanogaster*。
- Spot test with mice。
- Specific locus test with mice。

（2）以染色體變異做為參考指標的測試方法：

- Chromosomal aberration test with mammalian cells in culture。

- Chromosomal aberration test with bone marrow cells of rodents。
- Micronucleus test with rodents。
- Chromosomal aberration test with genocytes of rodents。
- Dominant lethal test with rodents。
- Reciprocal translocation test with mice。

(3) 以基因受損為參考指數的測試：

- Phage induction test with bacteria。
- DNA repair test with bacteria。
- Unscheduled DNA synthesis test (UDS) with mammalian cells。
- Sister chromatid exchange (SCE) test with mammalian cells。

(4) 其他測試：

- Mitotic recombination and gene conversion test with yeast。
- Sperm abnormality test。

但依據規範「試驗物質須進行三種以上的基因毒性測試，包括：微生物基因突變分析，體外哺乳類細胞基因毒性分析，及動物體內基因毒性分析。」建議將動物體內基因毒性分析視為非必要項目，唯體外基因毒性試驗出現不確定或陽性結果時才需進行。

在健康食品功效性評估方面的盤點，請參閱表4-1-2-2，由於其主要檢驗產品經生物體內吸收及利用後產生具特定的功效，且健康食品為複合性配方物質，非水溶性物質成分多，因此活體外試驗暫時無法取代功效性試驗。其中不易形成體脂肪保健功效、促進鐵吸收功能、抗疲勞功能、調節血壓功能、骨質保健功效、調節血脂功效、調節血糖功效、輔助調整過敏體質功效、延緩衰老保健功效、胃腸功能改善功效、牙齒保健功效及免疫調節功效等可進行人體試驗或動物實驗（基本為二擇一）。但廠商因價格因素，多數健康食品仍以動物試驗為主，是否鼓勵功能性試驗以人體進行，以人體實驗的結果來證實該產品對人體有效？

表 4-1-2-1 健康食品健康食品相關法規-安全性評估方法（動物實驗部分）

測試項目	國內法規名稱 及動物測試項目
1.口服急毒性試驗	健康食品安全性評估方法（880802 衛署食字第 88037803 號公告）。 動物數量：組別至少包含劑量組與對照組，每組至少 10 隻（5 雄、5 雌），劑量範圍需包含不會產生不良作用及足以顯示毒性症狀（造成死亡）之劑量，至少需 20 隻動物。測試項目包含臨床毒性症狀觀察、死亡率。
2.28 天餵食毒性試驗	健康食品安全性評估方法（880802 衛署食字第 88037803 號公告）。 動物數量：每組劑量組至少 20 隻（10 雄、10 雌），至少測試三個劑量，劑量範圍需包含高劑量足以產生毒性症狀，但不造成死亡、中劑量足以引起最低毒性作用、低劑量則不會引起毒性症狀，至少需 80 隻動物。測試項目包含臨床觀察、體重與食物消耗量、剖檢（肉眼觀察）、測量主要臟器重量、臨床病理檢驗（血液檢驗、血清生化檢驗、尿液檢驗、眼睛檢查）、組織病理檢驗等。
3.90 天餵食毒性試驗	健康食品安全性評估方法（880802 衛署食字第 88037803 號公告）。 動物數量：每組劑量組至少 20 隻（10 雄、10 雌），至少測試三個劑量（低、中、高劑量），若須進行試驗中期解剖或復原測試，動物數量須視解剖的次數適量增加。試驗終結需有足夠數量存活之動物以進行適當之毒性評估，至少需 80 隻動物。測試項目包含臨床觀察、體重與食物消耗量、剖檢（肉眼觀察）、測量主要臟器重量、臨床病理檢驗（血液檢驗、2. 血清生化檢驗、尿液檢驗、眼睛檢查）、組織病理檢驗等。
4.齶齒類微核測試	健康食品安全性評估方法（880802 衛署食字第 88037803 號公告）。 一般使用雄性鼯鼠，每組至少五隻動物，測試三個以上劑量組，組別須包含負對照組及正對照組，至少需 25 隻動物。測試項目包含動物體重變化、臨床症狀觀察及計數紅血球中網狀紅血球數目與網狀紅血球中微核數目。
5.致畸試驗 （出生前發育毒性）	健康食品安全性評估方法（880802 衛署食字第 88037803 號公告）。 動物數量：每個劑量組使用 40 隻（20 雄、20 雌）動物以上。進行三個以上劑量組（最高劑量要能造成毒性症狀，若試驗物質沒有顯示出毒性時，則以技術上可給予的最高劑量作為最高劑量。最低劑量則以對雌性動物或胚胎不產生不良影響之劑量，而中間劑量則取最高劑量與最低劑量之幾何平均值及陰性對照組。至少需 160 隻動物。測試項目包含臨床觀察、體重與食物消耗量、全部雌性動物進行剖檢（肉眼觀察）、檢測其懷孕成功率、胎兒的死亡率、黃體數目等。存活的胎兒則進行體重測量並檢驗其外觀、每胎中 1/2 的新生兒進行內臟組織檢查、每胎中 1/2 的新生兒進行骨骼檢查等。
6.致癌試驗	健康食品安全性評估方法（880802 衛署食字第 88037803 號公告）。 動物數量：每個劑量組使用雄、雌動物各 10 隻或以上。個性別進行 3 個以上劑量組及對照組（至少 80 隻動物）。測試項目包含臨床觀察、體重與食物消耗量、剖檢（肉眼觀察）、測量主要臟器重量、臨床病理檢驗（血液檢驗、血清生化檢驗、尿液檢驗、眼睛檢查）、組織病理檢驗等。
7.繁殖試驗	健康食品安全性評估方法（880802 衛署食字第 88037803 號公告）。 動物數量：每個劑量組使用 40 隻（20 雄、20 雌）動物以上。進行三個以上劑量組（最高劑量要能造成毒性症狀，若試驗物質沒有顯示出毒性時，則以技術上可給予的最高劑量作為最高劑量。最低劑量則以對雌性動物或胚胎不產生不良影響之劑量，而中間劑量則取最高劑量與最低劑量之幾何平均值及陰性對照組，至少需 160 隻動物。測試項目包含臨床觀察、體重與食物消耗量、剖檢（肉眼觀察）、檢查黃體數目、胚胎的著床與被吸收數目、胚胎死亡率等，若發現任何組織變化，保存其器官及對照組的相對器官，若試驗需要可進行組織病理檢驗、保存生殖系統臟器（睪丸、副睪、卵巢及子宮，若試驗需要可進行組織病理檢驗）、計算交配指數與生育力指數等。

資料來源：健康食品安全性評估方法，880802 衛署食字第 88037803 號公告

表 4-1-2-2 健康食品健康食品相關法規-功效性評估

測試項目	國內法規名稱 及動物測試項目
1.護肝保健功效 評估	<p>健康食品之護肝保健功效評估方法（衛署食字第 1031304063 號公告修正）</p> <p>(A) 化學性肝損傷模式 動物數量：40 檢測項目：AST、ALT、TG、TC、Albumin 及肝臟中各氧化酵素活性（SOD、GSH、GPx、GRd、CAT）及肝臟中脂肪（TG、TC）及肝臟組織病理切片觀察。</p> <p>(B) 酒精性脂肪肝模式 動物數量：50 檢測項目：AST、ALT、TG、TC 及肝臟中各氧化酵素活性（SOD、GSH、GPx、GRd、CAT）及肝臟中脂肪（TG、TC），肝臟組織病理切片觀察。</p> <p>(C) 高脂飼料誘導非酒精性脂肪肝模式 動物數量：小鼠每組至少 10 隻，組別包含正常對照組、負對照組及 2 個劑量組，共 4 組，需至少 40 隻動物。 檢測項目：體重，肝臟重，死亡率，血清（AST、ALT、TG、TC、Glucose）及肝臟（TG、TC）肝損傷相關指標，肝臟組織病理切片觀察。</p>
2.延緩衰老保健 功效評估	<p>健康食品之延緩衰老功能評估方法（衛署食字第 1041302343 號公告修正）</p> <p>(A) 老化動物模式 動物數量：雌、雄性每組 10 隻，組別包含對照組及 3 個劑量組，共需 40 隻動物。 檢測項目：腦部組織老化之生物活性指標、動物記憶學習能力試驗、抗氧化生化指標測定。</p> <p>(B) 存活期試驗-大、小鼠模式及低等動物模式（果蠅、線蟲） 動物數量：小鼠雌、雄性每組至少 20 隻，組別包含對照組及 3 個劑量組，共需 160 隻動物。若使用大鼠模式則雌、雄性每組至少 15 隻，組別包含對照組及 3 個劑量組，共需 120 隻動物。 檢測項目：從 6 個月開始投予，直到死亡。</p>
3.不易形成 體脂肪保 健功效評估	<p>健康食品之不易形成體脂肪保健功效評估方法（衛署食字第 1021301338 號公告修正）</p> <p>動物數量：雄性 SD（較佳）或 Wistar 大白鼠，每組實驗動物至少 12 隻，組別包含正常組、HE 組（高熱量飼料）、HE1X 組（高熱量飼料+1 倍劑量之受試樣品）、HE2~5X 組（高熱量飼料+2~5 倍劑量之受試樣品）及 HE < 1X 或 > 1X 組（高熱量飼料+低於或高於 1 倍劑量之受試樣品），共需至少 60 隻動物。 檢測項目：攝食量與食物利用率、體重、體脂肪率、血脂質、肝臟脂質、血糖、肝功能（血中 GOT、GPT 活性）、腎功能（血中尿酸、肌酸酐濃度）、血中酮體濃度、電解質平衡狀態等指標。</p>
4.骨質保健功效 評估	<p>健康食品之骨質保健功效評估方法（衛署食字第 1011304250 號修正發布）</p> <p>動物數量：雌性大鼠每組 8 隻（若使用小鼠則每組 12 隻），組別包含對照組及 3 個劑量組，共需 32 隻大鼠（48 隻小鼠）。 檢測項目：骨密度、骨小樑測定、生物力學分析、OB、OC 代謝生化指標</p>
5.調節血脂功能 評估	<p>健康食品之調節血脂功能評估方法（衛署食字第 0960403114 號公告修正）</p> <p>動物數量：50 檢測項目：血清中 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C，肝臟中 TC 及 TG</p>
6.調節血糖功能 評估	<p>健康食品之調節血糖功能評估方法（衛署食字第 0960403114 號公告修正）</p> <p>動物數量：40 檢測項目：空腹血糖值測定、葡萄糖耐量測定，選測尿糖值、餐後血糖值、空腹及餐後血漿胰島素....</p>

7.輔助調整過敏體質功能評估	健康食品之輔助調整過敏體質功能評估方法（衛署食字第衛署食字第 0960403113 號公告號公告） 動物數量：小鼠每組至少 10 隻，組別包含正常組、負對照組及 3 個劑量組，共 5 組，需至少 50 隻動物。 檢測項目：血液抗體濃度、過敏原誘發的特異性抗體產生、脾臟細胞或是淋巴結細胞的細胞增生反應、細胞激素分泌、呼吸道肺沖洗液之分析、肺功能測定或其他過敏相關有效之指標測定、自然殺手細胞活性、吞噬細胞活性等。
8.調節血壓功能評估	健康食品之輔助調節血壓功能評估方法（衛署食字第 0950405557 號公告） 動物數量：對照組動物為 WKY；試驗組大鼠為 SHR，每組至少 8 隻動物，組別包含對照組及 3 個劑量組，共需 32 隻大鼠。 檢測項目：收縮壓及舒張壓測定。
9.促進鐵吸收功能評估	健康食品之促進鐵吸收功能評估方法（衛署食字第 0950405557 號公告）。 動物數量：（大鼠血紅素再生實驗）Wistar 雄性大鼠（4 週齡）每組 6~7 隻，組別包含基礎飼料組 1 組、標準對照組 4 組、試驗組 4 組，共需 54~63 隻動物。 檢測項目：血紅素增加量、血紅素總鐵量及血紅素鐵增加量等鐵可用率指標。
10.抗疲勞功能評估	健康食品之抗疲勞功能評估方法（衛署食字第 0920401629 號公告） 動物數量：小鼠每組至少 8 隻，組別包含對照組及 3 個劑量組，共 4 組，需至少 32 隻動物。 檢測項目：運動能力測定（游泳或跑步機）、血尿素氮測定、肝臟肝醣測定、血乳酸濃度變化。
11.胃腸功能改善評估	健康食品之胃腸功能改善評估方法（衛署食字第 0920401629 號公告修正） 動物數量：可分為促進消化吸收試驗、改善腸內細菌菌相、幫助（改善）胃腸道運動試驗及有助於胃黏膜保護作用。大鼠每組至少 8 隻，小鼠每組至少 10 隻。依產品特性選用適合的功效性評估。
12.免疫調節功能評估	健康食品之免疫調節功能評估方法（衛署食字第 88037803 號公告） （A）非特異性免疫 動物數量：每組至少 10 隻，負對照組及 3 個劑量組，共 4 組，需至少 40 隻動物。 分析項目：脾臟或是淋巴結細胞增殖反應、抗體分泌實驗、細胞激素分泌實驗、分離脾臟細胞及表面標記分析、自然殺手細胞活性及吞噬細胞活性等。 （B）特異性免疫 動物數量：每組至少 10 隻，正常組、負對照組及 3 個劑量組，共 5 組，需至少 50 隻動物。 分析項目：OVA 誘發的特異性抗體產生、OVA-特異性的 T 細胞增殖反應、OVA-特異性的細胞激素製造等。
13.牙齒保健功能評估	健康食品之牙齒保健功能評估方法（衛署食字第 88037803 號公告） 動物數量：在動物引發齲齒之細菌和蔗糖來引發齲齒，每組 40 隻大鼠（齲齒誘發成功），負對照組及 3 個劑量組，共 4 組，需 120 隻動物。 檢測項目：Keyes caries score 之紀錄、觀察白齒之頰側、舌側、咬合面、鄰接面及牙溝之齲齒變化、觀察牙溝、齲齒之嚴重程度判定。

資料來源：健康食品安全性評估方法，880802 衛署食字第 88037803 號公告

3、化學品

行政院環保署「毒性化學物質管理法」，於2013年12月11日公布修正條文，內容共計44條。「毒性化學物質管理法」第7-1條明訂關於新化學物質與既有化學物質資料登錄之規定，附屬法規為「新化學物質與既有化學物質資料登錄辦法」。根據「新化學物質與既有化學物質資料登錄工具說明」所提，進行化學品標準登錄時須提供毒理與生態毒理資訊內容，請參閱表4-1-3。

我國已經開始要求製造輸入出化學物質需進行登錄，需要登錄毒理資料，且外銷至歐洲也需要登錄資料，環境保護署毒物及化學物質局已積極進行國際接軌及法規盤點，且接受部分替代方法毒理試驗結果之登錄。歐洲對於化學品亦採尊重當地國的態度接受其法規要求。

目前國內法規已與國際接軌，完全接受經濟合作暨發展組織（OECD）的3R替代測試方法，包括接受吞食及吸入急性毒性、致癌性及生殖毒性的減量體內試驗，接受皮膚刺激、腐蝕及過敏、眼睛刺激體外及離體替代試驗，基因毒性體外試驗，化學品少量登錄也接受QSAR，定量結構關係（Quantitative structure-activity relationship, QSAR）分析為電腦模擬預測，在國衛院國家環境毒物研究中心網站已可參考應用，當中可能有些偽陽性較高的部份及生態毒理在各國接受度的其他限制。

表4-1-3 化學品相關法規

<p>行政院環保署「毒性化學物質管理法」，於 2013 年 12 月 11 日公布修正條文，內容共計 44 條。 「毒性化學物質管理法」第 7-1 條明訂關於新化學物質與既有化學物質資料登錄之規定，附屬法規為「新化學物質與既有化學物質資料登錄辦法」。 根據「新化學物質與既有化學物質資料登錄工具說明」所提，進行化學品標準登錄時須提供毒理與生態毒理資訊，其詳細內容之測試評估終點與建議利用之 OECD 測試規範（Testing Guidelines, TG）如下：</p>	
毒理資訊項目	動物（體內）測試方法
急毒性-吞食	<p>OECD TG 401 急性吞食毒性（2002.12.20 刪除） Acute Oral Toxicity</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.至少使用兩種動物：一般實驗動物使用小白鼠（mouse）、大白鼠（rat）、天竺鼠（guinea pig）、兔子或狗等。 2.動物數目>10，實驗動物雌雄兩性都要使用。
急毒性-吸入	<p>OECD TG 403 急性吸入毒性 Acute Inhalation Toxicity</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.得以一種哺乳類動物進行試驗，以大鼠為佳。 2. Sighting study：每種濃度不應超過 3 隻雄性和 3 隻雌性（可能需要 3 隻動物/性別來確定性別差異）。 3. Limit test：一組三隻雄性和三隻雌性以極限濃度暴露於測試物品。 4. Main study：通常每個濃度使用 5 隻雄性和 5 隻雌性（或 5 隻易感受性動物，如果已知的話）進行，具有至少 3 種濃度。
皮膚刺激性/腐蝕性	<p>OECD TG 404 急性皮膚刺激/腐蝕 Acute Dermal Irritation/Corrosion</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.得以一種動物進行試驗，以白兔為佳。 2.最初試驗 1 隻動物。 3.確認試驗 2 隻動物，或再追加第 3 隻。
眼睛刺激性	<p>OECD TG 405 急性眼睛刺激/腐蝕 Acute Eye Irritation/Corrosion</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.得以一種動物進行試驗，以白兔為佳。 2.最初試驗 1 隻動物；在進行第二隻動物的確證試驗之前，觀察應該允許確定嚴重性和可逆性。 3.確認試驗最多不超過 2 隻。
皮膚過敏性	<p>OECD TG 406 皮膚過敏 Skin Sensitisation</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.得以一種動物進行試驗，以天竺鼠或小鼠為佳。。 2.治療組至少使用 10 隻動物，對照組至少使用 5 隻動物。 3.當使用少於 20 隻試驗和 10 隻對照天竺鼠，且無法斷定試驗物質是敏化劑時，強烈建議在另外的物種動物進行試驗，總共至少 20 隻試驗動物和 10 隻對照動物。
基因毒性	<p>OECD TG 474 哺乳動物紅血球微核試驗 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.優選的齧齒動物物種是大鼠，但也可以使用其他齧齒動物物種。 2.每個劑量水平應使用至少 10 隻動物（5 隻雌性和 5 隻雄性）。如果計畫進行臨時安樂死，則應該在研究完成之前計畫安樂死的動物數量增加數量。 3.應考慮在對照組和最高劑量組中增加 10 隻動物（每性別 5 隻）的附加衛星組，以觀察治療後至少 14 天的可逆性、持續性或延遲發生的毒性作用。

	<p>OECD TG 475 哺乳動物骨髓染色體異常試驗 Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.通常使用大鼠，儘管小鼠也可能是合適的。如果報告中提供了科學依據，可以使用任何其他適當的哺乳動物物種。 2.建立研究開始時的群體規模，每組提供至少 5 種可分析的一種性別動物，或每組二種性別。如果人體暴露於化學物質可能會因不同性別而有差異，例如某些藥物，則應進行適當的性別測試。 3.作為最大典型動物要求的指南，兩個採樣時間的骨髓研究，三個劑量組和一個陰性對照組，加上一個陽性對照組（每組由五個單一性別的動物組成），將需要 45 隻動物。 <p>OECD TG 486 哺乳動物體內肝細胞非程序 DNA 合成試驗（UDS） Unscheduled DNA Synthesis（UDS）Test with Mammalian Liver Cells In vivo</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.可以使用任何合適的哺乳動物物種，但通常使用大鼠。 2.應使用足夠數量的動物，以考慮測試反應中的自然生物變化。動物數量應為每組至少 3 隻可分析動物。 3.在積累了重要的歷史數據庫的情況下，併發的陰性和陽性對照組僅需要 1 或 2 隻動物。 <p>OECD TG 488 轉殖啮齒類動物體細胞與生殖細胞基因突變試驗 Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.目前可獲得多種轉基因小鼠基因突變檢測模型，並且這些系統比轉基因大鼠模型更廣泛地使用。如果大鼠顯然是比小鼠更合適的模型（例如，當研究僅在大鼠中看到的腫瘤的癌發生機制時，與大鼠毒性研究相關，或者如果已知大鼠代謝更能代表人類新陳代謝）應考慮使用轉基因大鼠模型。 2.每組至少包括五隻動物；但是，如果統計效率不足，則應根據需要增加動物數量。 3.通常應該使用雄性動物。但可能存在單獨測試雌性的情況，例如，在測試人類女性特異性藥物，或在調查女性特定的新陳代謝時。如果兩性在毒性或代謝方面存在顯著差異，則需要雄性和雌性。
生殖毒性	OECD TG 415 一代生殖毒性研究（2017.12.12 刪除） One-Generation Reproduction Toxicity Study
生態毒理 資訊項目	水生生物測試方法
魚類之短期 毒性	OECD TG 203 魚類急性毒性試驗 Fish Acute Toxicity Test
	<ol style="list-style-type: none"> 1.每個試驗組至少 7 隻魚。 2.至少 5 種濃度的測試物質組和 1 種未處理的對照組，或再增加 1 次重複。
生物蓄積： 水生生物/底 泥	OECD TG 305 生物蓄積-流水式魚類試驗 Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure
	<ol style="list-style-type: none"> 1.生物濃縮魚測試包括兩個階段：暴露（攝取）和暴露後（淨化）。 2.在攝取階段，一種魚的一組魚以一種或多種選擇的濃度暴露於測試物質（取決於測試物質的性質），以及對照組。最小化是更少的魚類取樣。
<p>[註 1]： 定量結構關係（Quantitative structure-activity relationship, QSAR）分析為電腦模擬預測（<i>in silico</i>）方法之一，亦為替代方法。相較於台灣目前只在毒理資訊項目中的眼睛刺激與皮膚刺激/腐蝕項目可以接受 QSAR 分析報告；歐盟、美國接受以 QSAR 預測生態毒理的分析報告並無限制特定項目，但預測結果須經過美國環保署專家評估過後才可以接受；而日本僅接受生物累積性的預測項目；中國則未開放 QSAR 之預測，除非在動物實驗無法評估時，或其他特殊狀況才得以使用 QSAR 預測；目前韓國接受 QSAR 分析報告的項目較多，包含毒理資訊項目的急毒性（吞食與皮膚）、皮膚刺激性/腐蝕性、皮膚過敏性與基因毒性等項目，以及生態資訊項目的水中生物降解性、魚類與水蚤短期毒性試驗項目。</p> <p>[註 2]： OECD 於 2018 年發佈 OECD TG 438、TG 492、442B、442D 與 442E 等測試規範之更新。TG 438 為改善試驗之預測效力；TG 492、442B 與 442D 則是分別納入相似或改良的 Me-too 試驗；而 442D 與 442E 因</p>	

為納入 Me-too 試驗而將測試規範名稱改以 AOP 為主題，在台灣「新化學物質與既有化學物質資料登錄工具說明」內尚未更名。

[註 3]：

PETA 國際科學聯合會 (PISC) 表示，LLNA 試驗建議只在管理機構要求時才使用，盡可能使用現有的非動物測試方法。

[註 4]：

OECD TG 319A 與 319B 為 OECD 於 2018 年發佈屬於體外試驗的新測試規範，用以改善待測化學物質於魚類中生物積蓄之電腦模擬預測效果，目前尚未內入台灣化學品登錄的建議測試規範。

[參考資料]：

1. OECD 化學物質測試規範，
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>，經濟合作暨發展組織 (OECD)，2018 年 6 月 25 日最後更新。
2. 國際上已驗證的替代方案，<https://www.piscltd.org.uk/alternatives/>，PETA 國際科學聯合會 (PISC)，截至 2017 年。
3. 美國管理機構已接受的替代方法，<https://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/evalatm/accept-methods/index.html>，美國國家毒理學計畫 (NTP)，2018 年 7 月 9 日最後更新。
4. 已驗證與接受的替代方法，<http://alttox.org/mapp/table-of-validated-and-accepted-alternative-methods/>，毒理學測試中使用非動物方法 (AltTox)，2016 年 11 月 20 日最後更新。
5. 「106 年化學物質登錄之毒理及生態毒理資訊項目測試方法評估計畫」期末報告。行政院環保署，2017 年 12 月。
6. 「新化學物質及既有化學物質資料登錄工具說明」(第一版)，
<https://chemicalwatch.com/downloads/GuidanceforNewandExisting.pdf>。行政院環境保護署-化學物質登錄中心，2015 年 8 月。

資料來源：環境保護署 (2016)

4、化粧品

依據主管機關衛生福利部食品藥物管理署 107 年 5 月 2 日修訂的「化粧品衛生安全管理法」第三條第一項：「指施於人體外部、牙齒或口腔黏膜，用以潤澤髮膚、刺激嗅覺、改善體味、修飾容貌或清潔身體之製劑。但依其他法令認屬藥物者，不在此限。」

「化粧品衛生安全管理法」第六條第四項：「化粧品業者於國內進行化粧品或化粧品成分之安全性評估，除有下列情形之一，並經中央主管機關許可者外，不得以動物作為檢測對象：一、該成分被廣泛使用，且其功能無法以其他成分替代。二、具評估資料顯示有損害人體健康之虞，須進行動物試驗者。」第五項：「違反前項規定之化粧品，不得販賣。」第六項：「第四項以動物作為檢測對象之申請程序及其他應遵行事項之辦法，由中央主管機關定之。」

歐洲是化粧品產業和主要化粧品出口國的全球領導者。化粧品產業具有高度創新性，在歐洲提供了大量就業機會。歐盟的參與主要涉及市場准入，國際貿易關係和監管趨同的監管框架。這些都旨在確保最高水平的消費者安全，同時促進該部門的創新和競爭力。歐盟委員會還與歐盟和國際層面的化粧品利益

相關者保持聯繫，這種合作有助於信息交流，並確保在該部門更順利地實施歐盟要求。

歐盟在化粧品產品安全和立法的要求是無論製造工廠或銷售通路為何，歐盟市場上的化粧品必須是安全的。製造商對其產品的安全性負責，並且必須確保在銷售之前進行專業的科學安全評估。在一個特殊的數據庫「CosIng」，包含化粧品和成分信息，可以輕鬆查看這些物質的數據，包括法律要求和限制。

歐盟層面的化粧品立法還包括：

- 要求所有在歐盟上市的產品必須在進入市場之前在化粧品網站（CPNP）中註冊。
- 要求一些化粧品受到監管機構的特別關注，因為它們具有科學的複雜性或對消費者健康的潛在風險較高。
- 確保禁止動物測試用於美容目的。
- 使歐盟國家對國家層面的市場監督負責。

歐盟法規1223/2009關於化粧品動物實驗監管，進口化粧品原料動物測試禁止歐盟消費者市場的禁令，或要求進行以替代方法進行試驗。在2013年歐盟執行進口化粧品原料禁止動物測試的禁令後，我國接軌歐盟規範，但因國際市場部份國家如中國仍要求要有動物測試資料，故採正向表列的方式，若有含藥原料才進行動物測試，不過中國已開始建立其替代實驗室，未來皮膚替代試驗亦指日可待。目前化粧品產品幾乎沒什麼需要進行動物測試的案件。

表 4-4-1 化粧品相關法規盤點及修訂建議

<p>1. 歐盟（EU）從 2009 年開始通過後幾乎完全禁止銷售經過化粧品動物實驗，和禁止化粧品相關動物測試。</p> <p>2. 在 2013 年，歐盟法規 1223/2009 關於化粧品動物實驗監管，進口化粧品原料動物測試禁止歐盟消費者市場的禁令，但仍然可以賣給歐盟以外的國家。</p> <p>3. 挪威同時與歐盟禁止化粧品動物實驗。</p> <p>4. 台灣衛福部也公布自 108 年 11 月 9 日起施行修正化粧品衛生管理條例部分條文，依同條例第 23 條之 2 第 3 項規定，化粧品製造、輸入或販賣業者於國內進行化粧品或化粧品成分之安全性評估，均不得以動物作為檢測對象。除該成分被廣泛使用，且其功能無法以其他成分替代，或具評估資料顯示有損害人體健康之虞，須進行動物試驗者，其申請程序及其他應遵行事項之辦法，由中央主管機關定之。</p>
<p>國內法規名稱 及動物測試項目</p>
<p>急性毒性試驗（Acute systemic toxicity） OECD TG 401 急性吞食毒性（2002.12.20 刪除）</p> <p>1. 至少使用兩種動物：一般實驗動物使用小白鼠（mouse）、大白鼠（rat）、天竺鼠（guinea pig）、兔子或狗等。</p> <p>2. 動物數目>10，實驗動物雌雄兩性都要使用。</p>

<p>OECD TG 403 急性吸入毒性</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 得以一種哺乳類動物進行試驗，以大鼠為佳。 2. Sighting study：每種濃度不應超過3隻雄性和3隻雌性（可能需要3隻動物/性別來確定性別差異）。 3. Limit test：一組三隻雄性和三隻雌性以極限濃度暴露於測試物品。 4. Main study：通常每個濃度使用5隻雄性和5隻雌性（或5隻易感受性動物，如果已知的話）進行，具有至少3種濃度。
<p>皮膚刺激試驗（Skin irritation） OECD TG 404</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 得以一種動物進行試驗，以白兔為佳。 2. 最初試驗1隻動物。 3. 確認試驗2隻動物，或再追加第3隻。
<p>眼睛刺激試驗（Eye irritation） OECD TG 405</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 得以一種動物進行試驗，以白兔為佳。 2. 最初試驗1隻動物；在進行第二隻動物的確證試驗之前，觀察應該允許確定嚴重性和可逆性。 3. 確認試驗最多不超過2隻。
<p>皮膚敏感試驗（Skin sensitization） OECD TG 406</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 得以一種動物進行試驗，以天竺鼠或小鼠為佳。 2. 治療組至少使用10隻動物，對照組至少使用5隻動物。 3. 當使用少於20隻試驗和10隻對照天竺鼠，且無法斷定試驗物質是敏化劑時，強烈建議在另外的物種動物進行試驗，總共至少20隻試驗動物和10隻對照動物。

資料來源：衛生福利部食品藥物管理署（2018）

5、醫療器材

依據藥事法第13條：「本法所稱之醫療器材：係用於診斷、治療、減輕、直接預防人類疾病、調節生育，或足以影響人類身體結構及機能，且非以藥理、免疫或代謝方法作用於人體，以達成其主要功能之儀器、器械、用具、物質、軟體、體外試劑及其相關物品。」由於醫療器材的安全及效能攸關人類生命，產品受到嚴謹的法規管理，依其對人體的可能危害程度的風險分成三種等級，並進行不同規格的審查與認證程序，產品在上市前，除了必須藉由各種實驗室、動物或人體試驗等測試，來確保器材的安全性、可靠性及有效性之外，更需通過衛生主管機關核准後才能販售，產品獲准上市後，仍有一系列的上市監督規範，像歐美地區，產品上市後若發生意外，則必須立即回報並統計。

美國是全球最大醫療器材市場，完整的法規制度以及擁有開放的環境匯集許多創新科技與人才能量，皆使得許多醫材創新技術與產品源自於美國，成為醫材研發的技術領先國，分析我國醫材申請美國食品藥物管理局（FDA）之通過現況，自2011年至2017年11月底止，臺灣醫療器材共計取得美國食品藥物管理局（FDA）許可證達408張。依據獲證產品之類別可以發現，臺灣醫療器材以體外診斷類醫材、骨科醫材、牙科醫材、醫用耗材及輔助器材為前五大獲證數量最多的類別。

另外，歐洲國家將實行新版的醫療器材法規，未來醫療器材將依據新法規進行審查，即使已通過現行法規審核的醫材亦需再次審核，該法規將分別於2020年及2022年正式實行。未來，醫療器材的國際標準規範（ISO）將朝更為嚴謹的規範進行，並提高產品的精準度要求。此外，中國大陸也於2017年提出「醫療器械網路安全註冊技術審查安全指導原則」，只要第二類或第三類醫材產品有牽涉到網路連接功能者，該醫療器材的註冊人皆需提交相關網路安全報告，以保護數據的安全性及機密性。該法規已於2018年正式實行，此規範將使得未來具有連接網路功能的醫療器材廠商在向中國大陸提出上市申請時會受到較嚴格的監督，廠商應重視取證時程與成本壓力的相關影響。

主管機關衛生福利部食品藥物管理署參照廣為國際衛生主管機關、學界和業界所使用的 ISO 10993 系列為規範標準，而醫療器材管理辦法主要參考美國食品藥物管理局（FDA），將醫療器材依據風險程度，分成三種等級，「第一等級：低風險性；第二等級：中風險性；第三等級：高風險性。」只有第三等級和部分的第二等級產品上市前需執行臨床試驗，而這類醫療器材在申請臨床試驗時，也需要提供相關資料暨文獻，例如由符合優良實驗室操作規範（GLP）的實驗室提供臨床前試驗結果報告及非臨床安全性評估（生物相容性）以證明產品之安全性及品質。

依據ISO 10993-1，「醫療器材生物學評估：第一部分：風險管理流程中的評估和測試」是評估醫療器材和材料生物相容性的最廣泛使用的標準，並為規劃生物評估及確定適當生物相容系步驟提供了一個框架。具體測試取決於醫療器材或者材料的類型及其設計使用目的，同時取決於醫療器材和身體之間接觸的性質和持續時間。依據該標準，關於醫療器材或者材料和人體的接觸，其生物反應的評估可能包括細胞毒性、過敏、刺激或皮內反應、全身毒性、亞慢性毒性、基因毒性、植入、血液相容性等。

國外規範主要以ISO10993生物相容性規範為主，並採用經濟合作暨發展組織（OECD）的3R替代方法。在進行侵入性試驗時才會用到動物。

表 4-1-5 醫療器材相關法規盤點及修訂建議

國內法規名稱 及動物測試項目	國外規範之參考 及替代方法
刺激性試驗： 動物皮膚刺激試驗	<p>3R替代方法： Reconstructed human epidermis (RhE) test (OECD TG 439, revised in 2015)</p> <p>國外規範： 1.ISO 10993-10 Tests for irritation and skin sensitization 2.OECD #404 Acute dermal irritation/corrosion</p>
刺激性試驗： 動物眼刺激試驗	<p>3R替代方法： 1.Reconstructed human cornea-like epithelium (RhCE) test method (e.g. EpiOcular™) (OECD TG 492, published in 2015) 2.Short time exposure (STE) <i>in vitro</i> method. (OECD TG 491, published in 2015) 3.Bovine corneal opacity and permeability (BCOP) test method (OECD TG 437, revised in 2013) 4.Isolated chicken eye (ICE) test method (OECD TG 438, revised in 2013) 5.Fluorescein leakage test method (OECD TG 460)</p> <p>國外規範： 1.ISO 10993-10 Tests for irritation and skin sensitization 2.OECD #405 Acute eye irritation/corrosion</p>
皮內刺激性試驗： 動物皮內下刺激試驗	<p>國外規範： 1.ISO 10993-10 Tests for irritation and skin sensitization 2.OECD #404 Acute dermal irritation/corrosion</p>
過敏反應試驗： 天竺鼠極大化試驗 (GPMT) 局部淋巴結分析測試 (LLNA)	<p>3R替代方法： 1.ARE-Nrf2 luciferase test method (e.g. keratinoSens™ assay) (OECD TG 442D, published in 2015) 2.Direct peptide reactivity assay (DPRA) (OECD TG 442C, published in 2015) 3.Human cell line activation test (h-CLAT) (OECD TG 442E, revised in 2017) 4.IL-8 Luc assay (OECD TG 442E, published in 2017) 5.U937 Skin Sensitization Test (U-SENSTM) (OECD TG 442E, published in 2017)</p> <p>國外規範： 1.ISO 10993-10 Tests for irritation and skin sensitization 2.OECD #406 Skin sensitization 3.OECD #429 Skin sensitisation</p>
血液相容性試驗： 4 小時犬科動物靜脈 無肝素模型 4-hour canine non- anticoagulated venous implant (NAVI) model	<p>國外規範： 1.ISO 10993-4 Selection of tests for interactions with blood</p>
系統性毒性試驗： 急性系統性毒性試驗	<p>3R替代方法： “Organ-on-a-chip” systems – microchips seeded with human cells – offer one approach to replace acute systemic toxicity testing on animals (The US NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM) is sponsoring a multi-year program to identify and validate <i>in vitro</i> replacements for <i>in vivo</i> acute systemic toxicity tests. The US medical device industry is participating in this process)</p>

	國外規範： ISO10993-11 Tests for systemic toxicity
重覆劑量亞急性/亞慢性試驗： 亞急/亞慢性試驗	國外規範： ISO10993-11 Tests for systemic toxicity
慢性毒性試驗： 慢性毒性試驗	國外規範： 1.ISO10993-11 Tests for systemic toxicity 2.OECD #452 Chronic Toxicity Studies
熱原性試驗： 兔子熱原性試驗	3R替代方法： 1.Human monocyte activation tests (MAT) (European Pharmacopoeia (EP) Chapter 2.6 .30)) 2.Limulus amoebocyte lysate (LAL) test 國外規範： USP 151 Pyrogen Test
植入試驗： 皮下、肌肉、骨組織 植入試驗	國外規範： ISO 10993-6 Tests for local effects after implantation
基因毒性試驗： 啮齒類骨髓細胞染色 體異常測試法 啮齒類骨髓細胞之微 核測試法 啮齒類周邊血液之微 核測試法	3R替代方法： 1. <i>In vitro</i> micronucleus test (OECD TG 487, revised in 2016) 2.Bacterial reverse mutation test (OECD TG 471, revised in 1997) 3. <i>In vitro</i> mammalian chromosome aberration test (OECD TG 473, revised in 2016) 4. <i>In vitro</i> mammalian cell gene mutation test (OECD TG 476, revised in 2016) 5. <i>In vitro</i> mammalian cell gene mutation tests using the thymidine kinase gene (OECD TG 490, published in 2016) 國外規範： 1.OECD #475 Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test 2.OECD #474 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test
生殖與發育毒性試驗： 產前發育毒性試驗	國外規範： OECD #414 Prenatal Developmental Toxicity Study
生殖與發育毒性試驗： 單代生殖毒性試驗	國外規範： OECD #415 One-Generation Reproduction Toxicity Study
生殖與發育毒性試驗： 兩代生殖毒性試驗	國外規範： OECD #416 Two-Generation Reproduction Toxicity Study
致癌性試驗： 啮齒類長期致癌性生 物分析	3R替代方法： <i>In vitro</i> cell transformation assays (CTA) (OECD GD 214, published in 2015; OECD GD 231, published in 2016) 國外規範： 1.OECD #451 Carcinogenicity Studies 2.OECD #453 Combined Chronic Toxicity\Carcinogenicity Studies

資料來源：美國食品藥物管理局 (2013)

6、動物用 (藥品及疫苗)

依主管機關農業委員會動植物防疫檢疫局105年11月09日修訂之「動物用藥品管理法」第三條「本法所稱動物用藥品，指下列各款之一之原料藥、製劑及成藥：一、依微生物學、免疫學或分子生物學學理製造，專供預防、治療動物

疾病之生物藥品。二、專供預防、治療動物疾病之抗生素。三、經中央主管機關公告指定專供診斷動物疾病之診斷劑。四、前三款以外，專供預防、治療動物疾病，促進或調節其生理機能之藥品。」

動物用疫苗係專供預防特定病原之動物用生物藥品，其種類包括：傳統死毒（菌）疫苗或活毒（菌）苗、類毒素疫苗、寄生蟲疫苗、次單位疫苗及其他基因工程技術產製之疫苗。

資料來源：農業委員會動植物防疫檢疫局（2019）

依動物用藥品管理法第18條第一項「動物用生物藥品，於製成或輸入報關完稅後，製造業者或輸入業者應逐批向直轄市或縣（市）主管機關申請抽樣檢驗，經該管主管機關派員抽取樣品，查驗合格並封緘後，始得出售。」。統計我國立年動物用藥品檢驗批次約在1,000批左右，而合格率皆達97%以上，若能取消”逐批”檢驗之規定，將可大量降低動物用量。

在動物用藥品試驗法規部份，我國主要依據動物用藥品檢驗標準及新藥試驗辦法進行試驗。在動物用藥品檢驗標準部分，查詢該法規修訂歷程及立法總說明，107年僅增訂1節檢驗標準，108年則增訂3節、修訂9節檢驗標準，109年亦修訂1節檢驗標準，修訂內容包括刪減動物試驗隻數、使用替代動物試驗方法及增列抗原相對效價試驗取代攻毒試驗等，顯示我國正參考國際規範，逐步修(制)訂現行檢驗標準，期與國際接軌。

資料來源：全國法規資料庫、農業委員會動植物防疫檢疫局（2020）

表 4-1-6 動物用藥品及疫苗相關法規

產品項目	國內法規名稱及動物測試項目
動物用生物藥品	動物用藥品管理法第18條 「動物用生物藥品，於製成或輸入報關完稅後，製造業者或輸入業者應 逐批 向直轄市或縣（市）主管機關申請 抽樣檢驗 ，經該管主管機關派員抽取樣品，查驗合格並封緘後，始得出售。」
	動物用藥品檢驗標準 依據動物用藥品檢驗標準各章節內容，檢驗項目中須以動物試驗進行包含有安全試驗、效力試驗、力價試驗、認定試驗、發痘試驗等。
	動物用藥品新藥試驗辦法-動物用生物藥品新藥試驗規範 1. 試驗項目包含：特性試驗、無菌試驗、防腐劑含有量試驗、真空度試驗、微生物含有量試驗、力價試驗、純潔試驗、毒力回歸試驗、安全試驗及效能試驗。 2. 其中與動物試驗有關項目為安全試驗、毒力回歸試驗、效能試驗及及防檢局技審會委員要求試驗項目。
	動物用藥品新藥試驗辦法-基因改造動物用生物藥品新藥試驗規範

	<p>包含前款動物用生物藥品新藥試驗內容及具隔離試驗措施與管制生物體毒力有關安全性與風險評估試驗。其中與動物試驗有關項目為安全試驗、效力試驗、力價試驗、回歸試驗及防檢局技審會委員要求試驗項目。</p>
<p>動物用 一般藥品</p>	<p>一、動物用藥品新藥試驗辦法-動物用一般藥品新藥試驗規範</p> <p>A. 動物測試項目：藥物殘留試驗</p> <p>B. 動物數目：至少應有足以分成4個不同時間之16隻試驗動物進行取樣，或足以評估藥物原形及其代謝物殘留消退趨勢之取樣動物數目進行試驗；其各類動物應取樣隻數如下：</p> <p>a. 組織殘留試驗：牛、豬及羊之屠宰，每間隔時間點至少4隻；家禽之屠宰時間，至少應有6個樣本組織。</p> <p>b. 乳汁殘留試驗：至少應從所有泌乳階段之畜群，隨機挑選8隻為樣本。</p> <p>c. 蛋類殘留試驗：每間隔時間點，隨機收集6個至10個雞蛋。</p> <p>d. 魚類殘留試驗：每個採樣時間，至少應從6隻至20隻中，隨機採集5個至6個樣本。</p> <p>二、動物用藥品新藥審議資料-一般藥品新藥試驗基準（2004.8.31 劉朝鑫博士校正）</p> <p>1. 安全性試驗基準</p> <p>(1) 實驗動物毒性試驗</p> <p>A. 急性毒性試驗：所需實驗動物總數，小白鼠及大白鼠至少各需40隻，共需80隻。</p> <p>B. 短期毒性試驗：所需實驗動物總數至少需40隻。</p> <p>C. 慢性毒性試驗：所需實驗動物總數至少需80隻。</p> <p>D. 致癌性試驗：所需實驗動物總數至少為400隻。</p> <p>E. 致畸胎性試驗（出生前發育毒性）：所需實驗動物總數，大白鼠或小白鼠至少需80隻，或者兔子至少需32隻。</p> <p>F. 一世代生殖毒性試驗：所需實驗動物總數，大白鼠或小白鼠至少需160隻。</p> <p>(2) 對象動物毒性試驗</p> <p>A. 毒性試驗：所需實驗動物總數，哺乳動物至少需12頭，禽類至少需40隻，水產養殖動物至少需80尾。</p> <p>B. 忍受性試驗：所需實驗動物總數，哺乳動物至少需4-8頭，禽類至少需4-8隻，水產養殖動物至少需4-8尾。</p> <p>2. 殘留試驗基準</p> <p>(1) 實驗動物代謝試驗：所需實驗動物總數，具統計學上意義至少需6隻以上。</p> <p>(2) 對象動物殘留試驗：所需實驗動物總數，牛、豬及羊至少各需16頭、家禽至少24隻，養殖水產動物至少24-80尾。</p> <p>3. 效果試驗基準</p> <p>(1) 抗菌劑效果試驗</p> <p>A. 有效劑量選定試驗：所需實驗動物總數至少需48隻。</p> <p>B. 有效劑量確認試驗：所需實驗動物總數，哺乳動物至少需10-200頭、禽類至少需40-200隻。</p> <p>C. 畜牧場效果試驗：所需實驗動物總數，哺乳動物至少需20-400頭、禽類至少需80-400隻。</p> <p>(2) 抗蠕蟲劑效果試驗</p> <p>A. 有效劑量選定試驗：所需實驗動物總數至少需48隻。</p> <p>B. 有效劑量確認試驗：所需實驗動物總數，哺乳動物至少需20頭，禽類至少40隻。</p> <p>C. 畜牧場效果試驗：所需實驗動物總數，哺乳動物至少需40頭，禽類至少80隻。</p> <p>三、動物用藥品檢驗標準-第六節注射劑安全試驗：</p> <p>1. 試驗動物：體重15至20公克健康小白鼠。</p> <p>2. 動物數目：小白鼠5隻。</p> <p>3. 一次試驗所需實驗動物總數，小白鼠需5隻；如有一隻以上死亡者，須另取體重20至25公克健康小白鼠5隻重行試驗，故共需10隻。</p>

	四、動物用藥品生體可用率及生體相等性試驗基準（草案）第八條第六款： 交叉試驗：動物總數需等於或大於 12 隻。 平行試驗：動物總數需等於或大於 24 隻。
--	---

資料來源：行政院農業委員會動植物防疫檢疫局（2017）

7、農藥、飼料添加物（含藥、一般）

根據美國國家農藥資訊中心（National Pesticide Information Center，NPIC）定義，農藥乃指任何能夠預防、摧毀、驅逐或減輕有害生物之混合物。我國農藥管理法的定義，則指用於防除農林作物或其產物之有害生物者，或用於調節農林作物生長或影響其生理作用者，或用於調節有益昆蟲生長者。依農藥之防治對象，國外分類為殺菌劑、殺蟲劑、除草劑、殺蟎劑、殺鼠劑、殺線蟲劑、植物生長調節劑、除螺劑、除藻劑等。

農藥及飼料添加物部份，農藥管理法近年來不斷進行涉及動物毒理試驗的修正，藥毒所也從 2009 年開始陸續規劃與國際接軌的毒理測試趨勢，後續將依盤點出之 3R 建議進行修訂及落實。

農藥管理法第十條對農藥生產業或販賣業者，於申請核准登記農藥前，該農藥應先經中央主管機關所定農藥標準規格檢驗合格，並經理化性與毒理試驗及田間試驗資料審查通過，其中涉及動物試驗者明訂於理化性及毒理試驗準則（簡稱本準則）第三條附件二，本準則於 93 年 9 月 30 日訂定發布，歷經 97 年 7 月 23 日、102 年 11 月 8 日及 106 年 3 月 17 日共三次修正。

為加速農藥登記時效，避免重複試驗並兼顧農藥安全之目的，針對不同農藥類型區分繳交不同項目的毒理資料、新增等同性評估原則符合者得減免毒理試驗項目及接軌與接受國際毒理測試方法，均可減少實驗動物的使用量。歐洲議會更在 2010 年通過新的指令（Directive 2010/63/EU）規定，歐盟各國主管機關必須在同意採用動物實驗時，應評估其他研究方式的可能性進行倫理評估，如需採用動物實驗時，應盡量減少動物的痛苦，以加強動物的福祉。藥毒所也從 2009 年開始陸續規劃與國際接軌的毒理測試趨勢，分別建立基因毒性試驗-體外哺乳動物細胞微核測試（OECD 487）、動物減量技術口服急毒性-定比劑量致死推定法（OECD 425 及 USEPA 870.1100）及皮膚過敏性-小鼠局部淋巴結細胞增殖分析（OECD 442B）等三種試驗。防檢局與藥毒所為符合動物保護法之規定及實驗動物指導原則，2018 年修正本準則條文第三條附件二附

表一，增列以狗為試驗動物進行亞慢性 90 日餵食毒性之試驗資料得取代狗之長期餵食毒性試驗之規定，都是持續朝 3R 理念進行。

國際上對農藥動物需求毒理試驗資料涉及 3R 的做法：

(1) 農藥原體：在常要求的 6 項急毒性（口服、皮膚、呼吸、皮膚與眼刺激及過敏）試驗上，目前國際上朝向免除皮膚急毒性試驗需求，此乃因少有皮膚急毒性在急毒性分類等級低於口服急毒性等級，再者歐盟已在過敏性試驗採取小鼠動物減量試驗規範不再接受使用天竺鼠的規範的試驗報告及在刺激與過敏性試驗朝體外試驗替代方案。在亞慢性試驗改採多試驗組合策略，將一個試驗同時以得到多個評估指標為目標，將神經、免疫、致變異性及亞慢性餵食試驗朝合併一起進行規畫。在長期試驗上出生前發育毒性（致畸試驗）改採試驗物混拌於飼料中餵食，減少以胃管灌注的緊迫、已繳交 90 天狗餵食試驗者可免除狗 1 年餵食試驗及朝免除小鼠致腫瘤性試驗

(2) 成品農藥：在常要求的 6 項急毒性（口服、皮膚、呼吸、皮膚與眼刺激及過敏）試驗上，目前國際上朝採用由原體資料推估方式擬不再進行成品農藥口服、呼吸及皮膚急毒性試驗，成品農藥同樣的皮膚過敏性試驗上歐盟已採用小鼠動物減量試驗規範不再接受使用天竺鼠規範的試驗報告及在刺激與過敏性試驗朝體外試驗替代方案規劃。

我國與飼料添加物管理相關的法規主要分飼料管理法、動物用藥品管理法和動物保護法。依照適用對象來分，用於經濟動物之家畜、家禽、水產動物的飼料添加物，有可能會進入食物鏈中者由飼料管理法管理；而含藥物飼料添加物則歸屬於動物用藥品管理法管理；適用於犬貓等伴侶動物者屬於寵物食品，歸動物保護法管理。

根據飼料管理法定義之飼料添加物，係經中央主管機關公告，為提高飼料效用，保持飼料品質，促進家畜、家禽、水產動物發育，保持其健康或其他用途，添加於飼料且不含藥品之非營養性物質。目前經中央主管機關公告可用之飼料添加物區分為詳細品目和正面表列物質；屬於正面表列物質而不屬於詳細品目者，毋須辦理製造或輸入登記證，只要辦理販賣登記證；屬於詳細品目者須辦理輸入或製造許可登記證。

其中宣稱飼料或飼料添加物具特殊效果者，應檢附動物飼養效果之試驗報告 2 份；飼料添加物含有胜肽、蛋白質、核酸等使用基因工程或分子生物技術

產製之物質者，應檢附基因改造飼料添加物特性基本資料、安全性說明書、相關研究報告及其一覽表，因此在宣稱功效上與基因改造飼料添加物安全上等部分才有涉及到動物科學的應用與使用。

綜上目前飼料添加物或動物保健產品，尚無詳細公告相關涉及動物使用的試驗準則，且動物保健一詞並無任何可對應的法規，因此暫無針對此部分做產品上市前動物測試法規盤點。

表 4-1-7 農藥相關法規盤點及修訂建議

產品項目	國內法規名稱及動物測試項目	國外規範之參考及替代方法
1.有機化學製劑農藥	口服急毒性	OECD 2001 TG 420 (Fixed Dose Procedure) /2001 TG 423 (Acute Toxic Class Method) /2008 TG 425 (Up and Down Procedure) 減量規範(單一性別)；OECD acute toxicity waiver guidance 237 (2016)
	皮膚急毒性	OECD 2017 TG 402 (Fixed Dose Procedure) 減量規範(單一性別)；OECD acute toxicity waiver guidance 237 (2016)；Rarely dermal classification lower than that for oral (Creton <i>et al</i> 2010, Moore <i>et al</i> 2013)
	呼吸急毒性	OECD 2009 TG 403/ OECD 2018 TG 433；OECD acute toxicity waiver guidance 237 (2016)
	眼刺激性	OECD 2017 TG 405 精緻化規範，增加麻醉劑使用(2012)；OECD 2018 TG 438 取代，使用雞隻屠體後分離其眼睛使用
	皮膚刺激性	OECD 2016 TG 431/OECD 2016 TG 439 取代規範，體外皮膚腐蝕性(OECD 431)與刺激性(OECD 439)試驗為使用重組人類表皮(reconstructed human epidermis, RHE)之測試方法
	皮膚過敏性	OECD TG 2010 429/OECD 2010 TG 442A/OECD 2018 TG 442B 減量規範，以小鼠取代天竺鼠，歐盟不再接受使用天竺鼠的規範的試驗報告 OECD 2018 TG 442C (In Chemico Skin Sensitisation: Direct Peptide Reactivity Assay, DPRA) 利用直接胜肽反應性之測試方法/OECD 2018 TG 442D (in vitro skin sensitisation assays addressing the aop key event on keratinocyte activation) 利用皮膚角質細胞之測試方法，取代規範
	90日餵食毒性	OECD 2018 TG 408 減量與精緻化規範，在結果量測分析上增加內分泌干擾相關的評估指標：甲狀腺素相關的指數為必要量測數據，其他性腺相關的指數則鼓勵量測以達到動物利用最大化。
	90日呼吸毒性	OECD 2018 TG 413 規範無特別精進方法
	哺乳動物細胞遺傳學體內試驗	OECD 2016 TG 474 規範無特別精進方法
	長期餵食毒性	OECD 2018 TG 452/453, Kobel <i>et al</i> (2010, 2014) 減量與精緻化規範，已繳90日餵食毒性試驗者可取代狗之1年餵食毒性；啮齒類(大小鼠)試驗期間可縮短為12月。
	致腫瘤性	OECD 2018 TG 451/453, Billington <i>et al</i> (2010) 減量規範，免除小鼠致腫瘤性試驗
	生殖毒性	OECD 2018 TG 443 規範無特別精進方法
	出生前發育毒性	OECD 2015 TG 414/ Hannas <i>et al</i> (2016) 精緻化規範，飼料餵飼取代胃管強迫灌食。 OECD 2018 TG 414 減量與精緻化規範，在結果量測分析上增加內分泌干擾相關的評估指標：增加量測母鼠的甲狀腺素相關指數和胎兒的泌尿生殖道距離等。上述增測部分目前只針對大鼠體系，不適用於兔子。
	水生生物毒性-魚類急毒性	OECD 1992 TG 203；替代方法 OECD 2013 TG 236 魚胚胎急毒性 (Fish Embryo Acute Toxicity Test)
	水生生物毒性-水蚤急毒性	OECD 2004 TG 202；OECD 2011 TG 235 搖蚊急性活動抑制試驗 (<i>Chironormus sp.</i> , Acute Immobilisation Test) 規範無特別精進方法
	蚯蚓急毒性	OECD 1984 TG 207 規範無特別精進方法
蜜蜂口服急毒性	OECD 1998 TG 213 規範無特別精進方法	
蜜蜂接觸急毒性	OECD 1998 TG 214 規範無特別精進方法	

資料來源：行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 (2017)

二、可能被替代或減量之動物數量盤點

本研究替代技術專家小組彙整109年各動物科學應用機構呈報之監督報告，分析108年度之動物實驗計畫書，進行產品上市前測試（12項）及教育訓練項目可能導入減量與替代方案之動物試驗計畫，共完成1951件、使用118,982隻動物之盤點。主要將可能導入減量、替代的方案分為四個階段：

（1）階段1：國內有其他減量替代方案，但費用稍高或流程（技術、法規、市場）較為複雜。

（2）階段2：國外有相關減量替代方案，但費用較高（5倍以內），5年內導入機率較高。

（3）階段3：國外有相關減量替代方案，但法規面、技術面門檻及費用太高（5倍以上），5年內導入機率低。

（4）階段4：不適用（可能填報的內容不適合替代）；國外無相關替代方案（或僅研發中）。

因為盤點內容可能涉及各動物科學應用機構之研究計畫，因此本研究僅以醫療器材項目部份內容表達專家盤點過程，如表4-2-1。本研究替代技術專家小組於109年盤點彙整狀況，則請參閱表4-2-2 108年度之動物實驗計畫中可能導入減量替代方案之案件統計表。

表 4-2-1 醫療器材項目可能導入減量替代方案之動物實驗示意

實際執行之計畫/課程/試驗名稱	動物種別	動物品系	使用數量	死亡數量	階段 1 國內有其他減量替代方案，但費用稍高或流程（技術、法規、市場）較為複雜。	階段 2 國外有相關減量替代方案，但費用較高（5 倍以內），5 年內導入機率較高。	階段 3 國外有相關減量替代方案，但法規面、技術面門檻及費用太高（5 倍以上），5 年內導入機率低。	階段 4 不適用； 國外無相關替代方案（或僅研發中）。	備註及說明 如 TG404...等減量替代方案，或建議方案描述
強效免疫激活奈米粒子於病毒疫苗及癌症免疫療法之應用	小鼠	BALB/c	100	100				100	
生體內哺乳類動物細胞微核試驗 In Vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test	Mouse	Mouse/ICR	60	60	60				OECD 473
Pyrogen Test	Rabbit	Rabbit/NZW	4	3	4				USP 85
Implantation Study in Rabbits-Bone-26 weeks	Rabbit	Rabbit/NZW	8	5				8	ISO 10993-6
Acute Systemic Toxicity Study in Mice	Mouse	Mouse/ICR	48	40				48	ISO 10993-11
Skin Sensitization Study - GPMT Test Method 皮膚敏感試驗 - GPMT Test Method	Guinea Pig	Guinea Pig/Hartley	35	35	35				OECD 429
Ocular Irritation Study in Rabbits	Rabbit	Rabbit/NZW	7	6		7			OECD 438
醫療器材 盤點共 934 項									

資料來源：本研究整理（2020）

表 4-2-2 108 年度動物實驗計畫中可能導入減量替代方案之案件統計-109 年專家盤點彙整

項目	使用動物種類	案件數	使用數量	死亡數量	階段 1 國內有其他減量替代方案，但費用稍高或流程(技術、法規、市場)較為複雜。	階段 2 國外有相關減量替代方案，但費用較高(5倍以內)，5年內導入機率較高。	階段 3 國外有相關減量替代方案，但法規面、技術面門檻及費用太高(5倍以上)，5年內導入機率低。	階段 4 不適用；國外無相關替代方案(或僅研發中)。	備註及說明 如 TG404...等減量替代方案，或建議方案描述
1.醫學研究	小鼠、大鼠、天竺鼠、倉鼠、兔、豬	26	1582	1522	0	0	0	1582	監督報告填報時勾選為產品上市前測試，但主要仍為產品開發之功能測試。
2.農業研究 8.農藥	小鼠、大鼠、天竺鼠、兔、豬、雞、斑馬魚、斯考頓鮪	72	2090	1333	227	367	0	1496	1.國內已有 TG 442B 局部淋巴結試驗減量替代方案；國內有 TG 439 體外皮膚刺激減量替代方案。 2.國外有 TG 438 離體雞眼試驗減量替代方案；可使用 TG 236 魚胚胎急毒性 (FET) 試驗替代方案
3.藥物 (含中草藥)	小鼠、大鼠、天竺鼠、倉鼠、兔、豬、狗、貓、雞胚、斑馬魚、	332	58484	56510	115	184	0	58185	1.熱原試驗有 in vitro pyrogen test ; 2.OECD Test Guideline 439: In Vitro Skin Irritation Test ;
4.健康食品。 5.食品	小鼠、大鼠、倉鼠	59	2981	2827	275	0	250	2456	1. 健康食品安全性評估方法； 2. OECD 473； 3. PXB cell
6.毒、化學品	大鼠、天竺鼠、斑馬魚	24	426	350	0	137	0	289	OECD Test Guideline 439: In Vitro Skin Irritation Test
7.醫療器材	小鼠、大鼠、天竺鼠、兔、豬	934	15938	12936	8593	221	723	6401	1.OECD 473；USP 85；OECD 429 2.OECD 438 3.OECD 439

9.動物用藥及疫苗	小鼠、大鼠、天竺鼠、兔、豬、牛、雞、雞胚、鴨	101	17339	17283	0	860	130	16349	1.未來若修改現行法規，可望符合國際潮流依照藥典執行內毒素試驗並捨棄小鼠安全試驗；可研擬取消疫苗非對象動物安全試驗 2.基因選殖的方式，還有表現系統可應用，但都有專利問題，門檻比較高
10.動物保健品、飼料添加物	大鼠	3	218	218	0	0	0	218	無
11. (含藥)化粧品。	兔、倉鼠	2	7	7	0	0	0	7	無
12.其他(請說明)	小鼠、大鼠、天竺鼠、兔	31	665	550	39	150	0	476	1. LAL 2. MAT ; TG 420 ; TG423 ; TG 429 ; TG 437 ; TG438 ; TG 439 ; TG442B ; TG491 ; TG492
教育訓練	小鼠、大鼠、天竺鼠、兔、豬、牛、羊、犬、猿猴、雞、鴨、雞胚、家鴿、鸚鵡、蛙、斑馬魚、小草魚、鯉魚	367	19252	10523	3	151	0	19098	1. LAL 2. MAT ; TG 126 ; TG 201 ; TG 202 ; TG 236 ; TG 420 ; TG423 ; TG 437 ; TG438 ; TG 439 ; 另可酌量減少，使用電腦模擬練習
小計		1951	118982	104059	9252	2070	1103	106557	

資料來源：本研究整理（2020）

第五章 我國動物替代技術能量盤點

一、實驗室技術量能盤點

本研究盤點國內進行動物毒理試驗相關之委外服務機構（Contract Research Organization, CRO）或實驗室，彙整其實驗室能力，提供國內動物科學應用機構做為未來動物替代技術諮詢、合作之參考。主要以TAF- OECD GLP符合性登錄名錄、衛福部實驗室認證、AAALAC國際認證機構為主，並加上研究機構中發展替代技術之實驗室。包括台美檢驗科技有限公司、進階生物科技股份有限公司、昌達生化科技股份有限公司毒理與臨床前測試中心、麥德凱生科股份有限公司、亮宇生物科技股份有限公司、財團法人農業科技研究院、啓弘生物科技股份有限公司生技藥品檢驗中心、三華生物科技股份有限公司臨床前試驗中心、財團法人國家實驗研究院國家實驗動物中心、歐美生技股份有限公司、財團法人工業技術研究院、台灣檢驗科技股份有限公司超微量工業安全實驗室、財團法人塑膠工業技術發展中心、瑞德生物科技股份有限公司、交通大學生醫工程研究所—陳冠宇博士「智慧型生醫系統設計實驗室」、國家衛生研究院生醫工程與奈米醫學研究所—許佳賢副研究員實驗室及董國忠副研究員實驗室、臺北醫學大學大數據科技及管理研究所—童俊維教授實驗室。上述實驗室能力、發展方向及動物毒理試驗項目，請參閱表5-1-1 我國動物試驗替代實驗室能力與方案盤點表。

我國動物替代技術能量在現階段處於初期發展階段，上述實驗室對於動物試驗替代方案的發展方向可能略有不同，後續隨著我國替代技術的推動與發展進程，國內相關實驗室亦會調整及充實其技術能量。下列僅先列舉部份實驗室，說明其動物試驗替代、減量的現階段的技術方向：

- (1) 台美檢驗科技有限公司、進階生物科技股份有限公司、麥德凱生科股份有限公司、台灣檢驗科技股份有限公司等實驗室，依循國際認證方法，導入多項替代性試驗平台，未來將積極擴展建立其他替代性試驗，期望與全球一同為動物福祉努力，並協助企業以替代性試驗評估產品的安全性及功效性。
- (2) 昌達生化科技股份有限公司，雖然目前沒有導入上述替代技術，但利用動物減量的方法，在研究設計中將動物數量減至最少，並配合電腦

模擬預測的方法對化學品進行安全性評估。

- (3) 工業技術研究院、國家衛生研究院、農業科技研究院、交通大學、臺北醫學大學等實驗室，研發各項替代技術產品、器官模擬晶片、電腦預測系統等，推動我國替代技術產業發展。

表5-1-1 我國動物試驗替代實驗室能力與方案盤點

單位	實驗室能力及發展方向	動物毒理試驗項目
台美檢驗科技有限公司	<p>台美檢驗 (SuperLab) 是全國唯一橫跨醫學、化學及生物相關領域的第三方公正檢驗機構，嚴謹的品質規範，表現屢屢榮獲國內外認可，為國內各主管機關公告之認證實驗室，亦是全台灣唯一同時符合 ISO/IEC 17025 及 ISO/IEC 15189 國際標準認證的實驗室，其檢驗報告可與亞太認證合作組織 (APAC) 相互認可，與國際實驗室認證聯盟 (ILAC) 接軌。</p>	<p>毒理研究是決定健康食品、化學品、農藥及醫療器材等產品進入市場的重要關鍵，台美檢驗 (SuperLab) 於各項毒理試驗著手研究數十年，具有豐富經驗及專業人才，配合各類國際法規 (FDA、ICH、EPA、USEPA、ISO、OECD、REACH) 對各類產品之毒理試驗，提供專業諮詢服務及完整的試驗規劃。</p>
	<p>財團法人全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室，NO. GLP015 • ISO/IEC 17025 測試實驗室，NO. 0879 • ISO/IEC 15189 醫學實驗室，NO. 1636 • ISO/IEC 17043 能力試驗執行機構，NO. P006 	<p>提供全套安全毒理試驗，包含微生物、細胞基因到嚙齒類動物試驗，試驗皆依照 GLP 規範進行。</p> <p>動物毒理試驗項目</p>
	<p>衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA)</p> <ul style="list-style-type: none"> • GLP 認可實驗室，NO. GLP1020004 • 食品檢驗機構，NO. F005 • 化粧品檢驗機構，NO. C002 • 藥物檢驗機構，NO. D002 	<p>急毒性：吞食、吸入、皮膚 皮膚刺激性 / 腐蝕性 眼睛刺激性 皮膚過敏性 基因毒性</p>
	<p>行政院環境保護署 (EPA)</p> <ul style="list-style-type: none"> • 環境檢驗測定機構，NO. 0118 	<p>基礎毒物動力學評估 重複劑量毒性：吞食、吸入、皮膚</p>
	<p>台灣保健食品學會</p> <ul style="list-style-type: none"> • 健康食品評估機構，NO. 105001 	<p>生殖 / 發育毒性 致癌性 https://www.superlab.com.tw/cro/general-toxicology/</p>

進階生物科技股份有限公司	提供符合國際規範之各項毒理試驗及客製化服務，包括醫藥品及中草藥安全性評估、醫療器材及生醫材料生物相容性評估、化粧品安全性評估、健康食品安全性評估等服務。	體內測試 眼刺激性試驗 - OECD 405 皮膚刺激/腐蝕性試驗 - OECD 404 過敏性試驗-天竺鼠極大化試驗 (GPMT) - OECD 406 過敏性試驗-貼布試驗 (Buchler Test) - OECD 406 基因毒理 體外測試 細菌逆突變試驗 (Ames Test) - OECD 471 染色體變異試驗 (CA Test) - OECD 473
	<ul style="list-style-type: none"> • AAALACi 認證 財團法人全國認證基金會 (TAF) <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室，NO. GLP002 • ISO/IEC 17025 測試實驗室，NO. 1663 	

	<p>衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA)</p> <ul style="list-style-type: none"> GLP 認可實驗室, NO. GLP0990003 	<p>小鼠淋巴瘤試驗 (MLA/TK Test) - OECD 490</p> <p>體內測試</p> <p>微核試驗 (MN Test) - OECD 474</p> <p>一般毒理</p> <p>急性毒性試驗</p> <p>急毒性試驗 (皮膚) - OECD 402</p> <p>急毒性試驗 (口服) - OECD 420、OECD 423、OECD 425</p> <p>重覆劑量毒性試驗</p> <p>28 天毒理試驗 (口服) - OECD 407</p> <p>21 天/28 天毒理試驗 (皮膚) - OECD 410</p> <p>90 天毒理試驗 (口服) - OECD 408</p> <p>90 天毒理試驗 (皮膚) - OECD 411</p> <p>52 週毒理試驗 (口服) - OECD 452</p> <p>生殖毒理</p> <p>生殖/發育毒性篩選試驗 - OECD 421</p> <p>產前發育 (致畸) 試驗 - OECD 414</p> <p>一代生殖 (繁殖) 毒性試驗 - OECD 415</p> <p>擴大的一代生殖 (繁殖) 毒性試驗 - OECD 443</p> <p>兩代生殖 (繁殖) 毒性試驗 - OECD 416</p> <p>https://www.level.com.tw/service_tw_1.php</p>
<p>昌達生化科技股份有限公司</p>	<p>QPS 提供一整套標準毒理學實驗方案, 可用於支援向國際監管機構提交相關數據。通過多種可用的測試物種, 由經驗豐富的試驗負責人統籌進行試驗, 以確保可以提供優質數據,</p>	<p>急性毒性試驗</p> <p>OECD Guideline for the Testing of Chemicals #423</p>

<p>毒理與臨床前測試中心</p>	<p>並正確解讀、審核和報告毒理學研究的各方面細節。</p> <ul style="list-style-type: none"> • AAALACi 認證 <hr/> <p>財團法人全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室, NO. GLP011 • ISO/IEC 17025 測試實驗室, No. 2429 <hr/> <p>衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA)</p> <ul style="list-style-type: none"> • GLP 認可實驗室, NO. GLP0990004 	<p>基因變異性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals #471 OECD Guideline for the Testing of Chemicals #490</p> <p>染色體變異性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals #473 生體內細胞小核試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals #474</p> <p>皮膚過敏性試驗 (GPMT) OECD Guideline for the Testing of Chemicals #406</p> <p>眼刺激試驗 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals #405</p> <p>皮膚刺激性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals #404 https://www.qps.com/service/toxicology/</p>
<p>麥德凱生科股份有限公司</p>	<p>國內致力推動國際化學品管制法規接軌，以避免不安全化學品使用所能帶來的危害，同時更清楚化學品在市場上的流向，以保障人民與環境之安全。為提供更好生活環境品質，國內致力發展環境用藥與植物保護劑，朝向低毒化、高效化、低量化、環境中易降解及相容性高，對人畜及作物安全以及對非標的生物無影響方向發展，使環境用藥與植物保護劑的安全性評估更受重視，複雜的成分配方是否容易引起皮膚過敏、發炎或長期使用所造成的毒性現象等，也必須透過專業精準的臨床前動物實驗了解並評估其安全性。麥德凱生</p>	<p>動物毒理試驗項目</p> <p>單一劑量毒性試驗 OECD # 423 沙門氏菌回復突變試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 471 體外哺乳類細胞染色體結構異常試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 474 急性毒性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 423</p>

	<p>科擁有 TAF OECD-GLP 認證合格實驗室，秉持精確、專業的態度與實驗技術，提供各類化學品毒理試驗服務，能夠依產品需求量身規畫試驗流程，為產品提供最佳的科學佐證。</p>	<p>OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 402</p> <p>體外哺乳類細胞染色體結構異常試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 473</p> <p>嚙齒類週邊血液微核試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 474</p> <p>皮膚刺激性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 404</p> <p>眼刺激性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 405</p> <p>急性毒性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 402</p> <p>OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 423</p> <p>皮膚敏感性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 406</p> <p>重複劑量毒性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 407</p> <p>OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 408</p> <p>致畸性試驗 OECD Guideline for the Testing of Chemicals # 414</p> <p>http://www.medgaea.com.tw/index.php?p=service_title</p>
	<p>財團法人全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室，NO. GLP010 • ISO/IEC 17025:2017 測試實驗室 NO. 2094 <p>衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA)</p> <ul style="list-style-type: none"> • GLP 認可實驗室，NO. GLP0990006 	
<p>亮宇生物科技股份有限公司</p>	<p>亮宇生技擁有專業的 GLP 和 ISO/IEC 17025 認證實驗室，具備多項的認證測試項目，可針對醫療器材生物相容性測試、各國醫療器材查驗登記、健康食品認證、毒理試驗、OECD 新化學品測試以及客製化 (功效) 試驗等，提供完整的測試</p>	<p>認證項目：</p> <p>小鼠急性系統毒性試驗；</p> <p>小鼠重複劑量系統毒性試驗；</p> <p>ISO 10993-11</p>

	<p>與顧問服務。</p> <p>財團法人全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室, NO. GLP018 • ISO/IEC 17025:2005 測試實驗室 NO. 2538 	<p>哺乳動物紅血球微核試驗 ; ISO 10993-3, OECD TG474</p> <p>天竺鼠敏感試驗 (Closed-patch 法) ; 天竺鼠敏感試驗 (極大化法) ; ISO 10993-10</p> <p>紐西蘭白兔熱原試驗 ; USP 151</p> <p>紐西蘭白兔皮內刺激試驗 ; 紐西蘭白兔皮膚刺激試驗 ; 紐西蘭白兔眼刺激試驗 ; ISO 10993-10</p> <p>肌肉或皮下植入試驗 ; 骨植入試驗 ISO 10993-6</p> <hr/> <p>網頁提供：基因毒性試驗 OECD 471-沙門氏菌回復突變試驗 OECD 473-哺乳類細胞染色體異常試驗 OECD 490-體外鱧鼠淋巴瘤 TK 分析試驗 OECD 474-齧齒類動物周邊血液微核試驗 毒理試驗 急性/半致死率 LD50 毒理試驗 亞急性毒性重複劑量毒理試驗 (Oral, Dermal, IV, IP)</p>
--	--	--

		<p>亞慢毒性重複劑量毒理試驗 (Oral, Dermal, IV, IP)</p> <p>OECD 471-沙門氏菌回復突變試驗</p> <p>OECD 473-哺乳類細胞染色體異常試驗 (與 OECD490 擇一)</p> <p>OECD 490-體外鱗鼠淋巴瘤 TK 分析試驗 (與 OECD473 擇一)</p> <p>OECD 474-齧齒類動物周邊血液微核試驗</p> <p>OECD 407-28 天餵食毒性試驗</p> <p>OECD 408-90 天餵食毒性試驗</p> <p>OECD 414-致畸試驗</p> <p>http://www.leon-bio.com.tw/services/biology/</p>
財團法人農業科技研究院	<p>財團法人農業科技研究院於行政院農業委員會支持下，建立許多符合產業所需且認證之「檢測服務」、「動物功效」與「安全評估平台」及「動植物生產管理技術」。該平台整合產業、學術界與醫研單位的需求，提供產業上、中、下游全方位的服務，並且具備完整的試驗標準程序，通過認證系統有 TAF、ISO 及 GLP，另外亦取得實驗動物 AAALAC 認證，提供國內高品質的服務保證。</p>	<p>口服毒理 (大小鼠、迷你豬)</p> <p>單劑量口服餵食急性毒性試驗</p> <p>28 天重複劑量亞急性毒性試驗</p> <p>90 天重複劑量亞慢性毒性試驗</p> <p>口服急毒性/致病性</p> <p>以胃管投藥方式檢測對大鼠口服急毒性與致病性安全評估。</p>
	<p>• AAALACi 認證</p>	<p>肺急毒性/致病性 (GLP)</p> <p>以肺部投藥方式檢測對大鼠肺急毒性與致病性安全評估。</p>
	<p>全國認證基金會 (TAF)</p> <p>• OECD GLP 認可實驗室，NO. GLP025</p> <p>衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA)</p> <p>• GLP 認可實驗室，NO. GLP0990002</p>	<p>https://cro.atrri.org.tw/index.php/about/index</p>
啓弘生物科技股份有限	<p>啓弘動物試驗中心為台灣第一家專注細胞治療/基因治療產品之動物房試驗委託實驗室，從產品到研發之藥理篩選，</p>	<p>GLP 臨床前毒理試驗</p> <p>毒理預試驗 (MTD/DRF)</p>

<p>公司生技藥品檢驗中心</p>	<p>GLP 毒理與安全性測試，以及產品安全性放行試驗，均提供高品質的全方位動物試驗服務，協助達成產品開發、新藥申請及產品上市。</p> <p>全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室，NO. GLP027 <p>衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA)</p> <ul style="list-style-type: none"> • GLP 認可實驗室，NO. GLP1060001 	<p>單劑量/急性毒性試驗 重複劑量毒性試驗 局部容忍性試驗 細胞分布試驗 兔子熱原試驗 小鼠致腫瘤性試驗</p> <p>http://www.tfbsbio.com/tw/service/detail/148473618013976</p>
<p>三華生物科技股份有限公司臨床前試驗中心</p>	<p>新藥與中草藥的開發，在進入人體試驗前，根據法規皆需進行臨床前安全性評估試驗，藉以證明其安全性與有效性。臨床試驗中心依循 OECD GLP 規範，參照 OECD、ISO-10993 等標準執行試驗，進行物質臨床前安全性評估試驗。在可信賴的實驗室管理系統下，提供專業且符合國際標準的安全性評估平台。</p> <p>全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室，NO. GLP031 • ISO/IEC 17025:2005 測試實驗室 NO. 3033 	<p>一般毒理試驗 單一劑量急毒性測試</p> <p>基因毒理試驗 沙門菌逆突變測試 體外染色體變異試驗 小鼠周邊血微核試驗</p> <p>安全藥理試驗 呼吸系統安全藥理測試 心血管系統安全藥理測試</p> <p>http://www.trineo.com.tw/xmdoc/cont?xsmsid=0J270529157872297444</p>
<p>財團法人國家實驗研究院國家實驗動物中心</p>	<p>國研院動物中心生物相容性測試實驗室於 2019 年通過「OECD 優良實驗室操作 (Good Laboratory Practice, GLP) 符合性登錄資格」，所執行醫療器材植入皮下、肌肉、骨頭與腦部之安全性驗證，具備「高品質、嚴謹管理與可重複性」，出具之報告可為各國所接受，減少重複檢測，達成</p>	<p>GLP 臨床前生物相容性試驗</p> <p>www.nlac.org.tw</p>

	<p>「一次測試，適用於各地評估」的成效，協助跨國佈局的醫材產業，加速產品驗證之進程。</p>	
	<ul style="list-style-type: none"> • AAALACi 認證 	
	<p>全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室，NO. GLP032 • ISO/IEC 17025:2005 測試實驗室 NO. 1449 	
<p>歐美生技股份有限公司</p>	<p>為財團法人全國認證基金會 ISO17025 認證的實驗室。擁有多項生物相容性的測試認證，並有設備完善的檢測實驗室與空調、水質嚴格控管，被評為優良等級的動物房。</p>	<p>生物相容性試驗： 細胞毒性試驗 (ISO 10993-5) 皮膚刺激性試驗 (ISO 10993-10) 皮內刺激性試驗 (ISO 10993-10) 過敏性試驗【極大化過敏性試驗】(ISO 10993-10) 過敏性試驗【密封式貼片試驗】(ISO 10993-10) 系統注射試驗/ (急性系統毒性試驗) (ASTM F750, ISO10993-11) 兔子熱原試驗 (USP, ISO10993-11) 溶血試驗 (ASTM F756, ISO 10993-4) 眼刺激試驗-二種萃取液 (ISO 10993-10) 植入試驗 (ISO 10993-6) 基因毒性試驗-細菌逆突變 (OECD Guidelines 471, ISO10993-3) 基因毒性試驗-染色體變異 (OECD Guidelines 473, ISO10993-3) 基因毒性試驗-老鼠淋巴瘤細胞突變試驗 (OECD Guidelines 476, ISO10993-3) 基毒性試驗-小鼠週邊血液微核試驗 (OECD</p>
	<p>全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • ISO/IEC 17025:2017、CNS 17025:2018 測試實驗室 NO. 1828 	

		Guidelines 474 ,ISO10993-3) 亞急性/亞慢性毒性試驗 (OECD, ISO10993-11) 慢性毒性試驗 (OECD, ISO10993-11) http://www.euroamerica.com.tw/test_items.php
財團法人工業技術研究院	<ul style="list-style-type: none"> • AAALACi 認證 	生醫研發動物實驗站 毒性試驗- 亞急性毒性試驗 毒性試驗- 急性毒性試驗 實驗動物血液學檢驗
	<p>全國認證基金會 (TAF) 生醫研發動物實驗站</p> <ul style="list-style-type: none"> • ISO/IEC 17025:2005 NO. 1873 化粧品微生物檢測與功能評估實驗室 • ISO/IEC 17025:2017/ CNS 17025:2018 NO. 1738 工研院開發之仿生皮膚組織產品 EPiTRI, 應用於體外皮膚腐蝕性與刺激性測試, 品名 EPiTRI-SCT, 依循 OECD431, OECD439 Guideline 與 Performance standards 開發皮膚腐蝕性與刺激性測試皮膚組織與測試方法, 並通過跨國國際驗證 Validation study, 已測試過化粧品、化學品、藥品; 此外也有試驗平台, 進行 OECD 認證之市售品的皮膚腐蝕性測試, 測試化粧品、化學品)。 • 建立體外光毒性 In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity 試驗平台 (測試過化粧品、化學品) 	化粧品微生物檢測與功能評估實驗室 化粧品微生物檢測與功能評估: 人之活體皮膚 C 999 皮膚黑色素測試 C 999 表皮含水量測試 C 999 經皮水份散失測試 C 999 皮膚彈性測試 安全性評估: 以符合 OECD TG439 或 TG492 規範之仿生組織進行表皮或眼部刺激。 仿生皮膚組織 EPiTRI, 應用於體外皮膚腐蝕性 OECD TG431 與刺激性測試 OECD TG439. 體外光毒性 In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity (測試過化粧品、化學品) 試驗平台 https://www.itri.org.tw/
台灣檢驗科技股份有限公司	台灣檢驗科技股份有限公司 (SGS) 供相關替代動物試驗, 協助化粧品保養品產業轉型與國際法規接軌	B 300 紅血球毒性檢測 (ISO10993-4, ISO 10993-12) B 300 細胞毒性測試 (ISO 10993-5-MTT, ISO 10993-

<p>公司超微量 工業安全實 驗室</p>	<p>全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室, NO. GLP021 • ISO/IEC 17025:2005 NO. 1270 	<p>12)</p> <p>B 300 體外哺乳動物細胞染色體異常試驗 (OECD 473, ISO 10993-12, ISO 10993-3)</p> <p>B 310 體外哺乳動物細胞基因突變試驗 (OECD 490, ISO 10993-12, ISO 10993-3)</p> <p>B 310 基因變異性試驗 (OECD471, ISO 10993-12, ISO 10993-3)</p> <p>替代動物試驗：</p> <p>皮膚刺激性試驗 OECD439 方法</p> <p>皮膚腐蝕性試驗 OECD431 方法</p> <p>皮膚致敏性試驗 OECD442 C/D/E 方法</p> <p>光毒性試驗 OECD432 方法</p> <p>皮膚吸收穿透性 OECD428 方法</p> <p>體外眼損傷試驗 OECD492 方法</p> <p>美白試驗透過一連串細胞 / 酪胺酸酶活性 / 黑色素含量 / 抗氧化能力試驗, 推論美白效能</p> <p>https://msn.sgs.com/CPCH_Cosmetic.aspx</p>
<p>財團法人塑 膠工業技術 發展中心</p>	<p>醫材實驗室取得 TAF 醫療器材實驗室及動物檢驗領域之認可, 通過 OECD GLP 符合性登錄資格, 提供生物相容性/藥典化學性/微生物測試/滅菌確效/產品客製化功能性測試/包裝結構完整性測試/產品耐用性測試等服務, 以協助廠商完成安全性評估與相關試驗。</p> <p>全國認證基金會 (TAF)</p> <ul style="list-style-type: none"> • OECD GLP 認可實驗室, NO. GLP028 	<p>細胞毒性試驗 Cytotoxicity test (ISO 10993-5)</p> <p>刺激性試驗 Irritation test (ISO 10993-10)</p> <p>過敏性試驗 Sensitization test (ISO 10993-10)</p> <p>毒性試驗 (ISO10993-11)</p> <p>A.急性系統毒性試驗 Acute systemic toxicity test</p> <p>B.亞急/亞慢性毒性試驗</p> <p>C.慢性毒性試驗</p>

	衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA) • GLP 認可實驗室, NO. GLP1090003	血液相容性試驗+溶血試驗 (ISO10993-4) 植入試驗 (10993-6) 基因毒性試驗+致癌性與生殖毒性試驗 (ISO10993-3) 熱源試驗-USP-151
瑞德生物 科技有限 公司	瑞德生物科技提供客戶醫療器材生物相容性與功效性試驗服務, 符合 ISO17025、ISO10993、FDA、USP 等相關國際規範, 為醫材生物相容性、毒理及功效性試驗專業實驗室。 瑞德生技之品質系統皆符合 GLP、ISO17025 之相關規範。	B 351、B354 過敏試驗 (敏感試驗)、刺激試驗 ISO 10993-10 B 352 熱原試驗-UPS151 B 353 急性系統性注射試驗 ISO 10993-11 B 355 肌肉/骨植入 ISO 10993-6
	全國認證基金會 (TAF) • ISO/IEC 17025:2005 NO. 2634	
	衛生福利部食品藥物管理署 (TFDA) • GLP 認可實驗室, NO. GLP1040001	
交通大學 生醫工程研 究所—陳冠 宇博士 「智慧型生 醫系統設計 實驗室」	開發出人體動態肺晶片, 後續持續開發更多元的器官晶片系統, 進行細懸浮微粒的健康評估, 以完成整個空污健康評估模型的平台開發。預期可針對心肺的健康風險評估提出相對應的污染物毒理、曝露評估及劑量反應曲線的資料庫, 更把目標鎖定於完全取代動物實驗, 並成功闡明這些生理反應背後的機制與真相。	lung-on-a-chip bio-subretinal chip liquid biopsy https://www.peopo.org/news/396965 https://www.gychen.website/
國家衛生研 究院 生醫工 程與奈米醫 學研究所— 許佳賢副研	微流體晶片裝置「微流體懸吊液珠三維細胞球體培養裝置」: 利用三維細胞培養方式提供所培養細胞一個更接近體內的細胞生長環境, 以達到更好的實驗效果, 比起傳統的二維細胞培養 (2D cell culture) 方式, 能更準確預測藥物在體內的效	http://iben.nhri.org.tw/article.php?aid=368

<p>究員實驗室</p>	<p>果，降低藥物開發的成本。此微流體晶片裝置所使用的特殊流道設計，可以讓使用者透過簡易的手動操作步驟，產生大量的懸吊液珠來進行三維細胞球體培養，因而大幅度地減少細胞操作的時間為5~10分鐘，並透過減少試劑和培養液的用量，以及置換培養液容易的優點，降低實驗成本，在市場上將更具有競爭力。利用體外培養的細胞測試藥物效能與毒性，是發展抗癌藥物不可缺少的步驟。於技術運用上，使用細胞球體方式於體外培養癌細胞，可生成三維癌細胞球體，以模仿動物體內腫瘤的細胞異質性與藥物傳輸特性，此裝置可提升三維細胞球體生成效率並且降低實驗成本。</p> <p>三維細胞球體也廣泛被應用於培養幹細胞，以進行基礎與再生醫學研究。幹細胞培養實驗所需的試劑費用高昂，因此能夠節省試劑使用的產品對於使用者會有很大的吸引力。與目前市面上的穿透式孔盤與培養皿技術相比，此技術可以減少約10倍的試劑用量，並且大幅度降低實驗者的操作時間，因此形成與相關產品比較之競爭優勢。</p>	
<p>國家衛生研究院 生醫工程與奈米醫學研究所一董國忠副研究員「蛋白質與組織工程實驗室」</p>	<p>主要發展「疾病仿體」，於生物反應器內培養疾病細胞，藉由三維生長支架與人為刺激獲得具有疾病表徵的類組織(neo-tissue)，此有別於二維培養的疾病單層細胞與活體誘發的混合組織。目前，陸續完成骨轉移之癌組織、內含乳腺癌之乳房、肌肉硬化組織、抗紫外光之角質組織及類澱粉蛋白聚集之腦血管等5種疾病模型。目前，正積極推動該技術於基礎研究、藥物開發及醫療器材等動物試驗前的評估，以減少動物使用數量，以及人體試驗前獲得人因化的參考數據。</p>	
<p>臺北醫學大</p>	<p>臺北醫學大學大數據科技及管理研究所與國家衛生研究院國</p>	

<p>學 大數據科技及管理研究所— 童俊維教授實驗室</p>	<p>家環境醫學研究所共同開發可評估化學物質發育與生殖毒性（developmental and reproductive toxicity, DART）的優先關注排序（prioritizing chemicals of toxic concern）之證據權衡模式（weight-of-evidence model, WoE），在食品接觸物質（food contact materials, FCMs）得到很好的預測結果，有益於食品安全的研究。預計未來可應用至不同的領域或化學物質，以及評估其他不同的毒性。</p>	<p>http://nehrc.nhri.org.tw/taat/news.php?cat=research&id=30</p>
--------------------------------	--	--

資料來源：本研究彙整（2020）

二、我國實驗室量能與動物試驗替代方案導入之調合

本研究邀請相關專家學者於 1 月 10 日、9 月 2 日、10 月 14 日召開三次專家會議，主要議題包括：(1) .我國動物實驗替代研發推廣共識平台之建置-團隊架構及任務方向；(2) .我國 108 年度可能導入減量替代方案之動物實驗統計。(3) .我國導入歐盟毒理學替代方法之能量及時程評估。

本研究替代技術專家小組彙整 109 年各動物科學應用機構呈報之監督報告，分析 108 年度之實驗動物計畫書，進行產品上市前測試（12 項）及教育訓練項目可能導入減量與替代方案之動物試驗計畫，共完成 1951 件、使用 118,982 隻動物之試驗計畫盤點。主要將可能導入減量、替代的方案分為四個階段：

- (1) 階段 1：國內有其他減量替代方案，但費用稍高或流程（技術、法規、市場）較為複雜。
- (2) 階段 2：國外有相關減量替代方案，但費用較高（5 倍以內），5 年內導入機率較高。
- (3) 階段 3：國外有相關減量替代方案，但法規面、技術面門檻及費用太高（5 倍以上），5 年內導入機率低。
- (4) 階段 4：不適用（可能填報的內容不適合替代）；國外無相關替代方案（或僅研發中）。

將上述盤點產品上市前測試（12 項）、教育訓練項目可能導入減量與替代方案與我國現階段之法規以及實驗室量能做連結及分析：

（一）、盤點狀況分析及討論：

1.項目 1 醫學研究、項目 12 其他研究、教育訓練：

- (1) 由於醫學研究由於多為創新研究或基礎研究，如作用路徑之研究，目前並沒有替代模型可用。
- (2) 其他研究部分，大部分是監督報告勾選人員不知如何勾選，所以分類到其他，依其題目來看，有部分為敏感試驗或刺激性試驗，這部分有替代方案，其他則無。
- (3) 教育訓練部分，由於教育訓練關係到減量及精緻化的教育推廣，所以有其必要。然而目前有部分有模型、假體或電腦模擬可用，所以的確可以減少部分動物的使用，但實際可減少數很難評估，或許可以每

年 3%-5% 的減量目標努力，並加強教育訓練替代模式的推廣。

2. 項目 2 農業研究、項目 8 農藥及項目 10 動物保健品及飼料添加物等：

- (1) 農藥研究案共計 68 案使用動物中有約 71% 落於階段 4，主要包括口服等 3 項大鼠急毒性試驗、大鼠出生前發育毒性試驗及大鼠肺急毒/致病性試驗；18% 落於階段 2，主要包括斑馬魚急毒性及兔眼刺激性試驗；11% 落於階段 1，主要包括天竺鼠皮膚過敏及兔皮膚刺激性試驗。
- (2) 其他包括農業研究及動物保健品及飼料添加物等 7 案使用動物之可替代方案皆落於階段 4。

3. 項目 3 藥品、項目 6 毒化物：

- (1) 項目 3 藥品超過 99% 的計畫為藥效測試試驗，現階段國內外無相關替代方案。僅約 1% 可使用 *in vitro* 熱原試驗或遵循 OECD Test Guideline 439 執行 *In Vitro* Skin Irritation Test。
- (2) 在項目 6 毒化物測試約有 60% 計畫可遵循 OECD Test Guideline 439 執行 *In Vitro* Skin Irritation Test。

4. 項目 4 健康食品、項目 5 食品、項目 7 醫療器材 11. (含藥) 化粧品：

- (1) 健康食品部分：由於功效性試驗目前尚無法以活體外方式證實待測物質是否具有特定的實質功效且衛福部已推廣且鼓勵進行人體試驗，因此多數動物實驗均處於階段 4。毒理試驗方面，目前重複劑量毒性試驗及致畸胎試驗國際上仍無適用的活體外方法，因此動物實驗亦處於階段 4。在基因毒性試驗方面，目前已有 *in vitro* TK mutation test, *in vitro* chromosome aberration test, Ames test 等 *in vitro* study。少數幾項勾選為食品項目其實亦是功效性或安全試驗，狀況如上所述。
- (2) 醫療器材部分：生物相容性試驗是基於檢測材料或醫材是否對於生物體引起不良反應，現階段而言醫材類植入試驗、一般毒理試驗及針對 material mediated pyrogenicity (大白兔熱原試驗) 尚無法以體外試驗取代，此類生物相容性試驗處於階段 4。基因毒性部分與健康食品類一樣，目前已有 *in vitro* TK assay, *in vitro* chromosome aberration test, Ames test 等 *in vitro* study。目前可列入首要導入替代試驗的部分為皮膚刺激性試驗、眼刺激性試驗和皮膚敏感性試驗 (ISO 10993-10)，這些試驗已有相關法規 (OECD 430、OECD 431、OECD 439、

OECD 429、OECD 422 系列等)。

(3) 化粧品部分：由於 2019 年 11 月 9 日起國內化粧品或化粧品成分之安全性評估，均不得以動物作為檢測對象，除該成分被廣泛使用，且其功能無法以其他成分替代，或具評估資料顯示有損害人體健康之虞的化粧品例如含藥化粧品（含有醫療及毒劇藥品成分的化粧品）。此部分動物試驗少，皮膚刺激性試驗、眼刺激性試驗和皮膚敏感性試驗可導入體外試驗。

5.項目 9.動物用藥及疫苗：

(1) 本次盤點 101 件共 17,339 隻動物，有 10 件約 4,000 隻動物單依計畫名稱無法確認試驗用途，無法評估可否替代或減量。另外 91 件，有 860 隻評估可在階段 2 進行減量或替代，

a.動物用一般藥品的注射劑的安全試驗，目前為使用小白鼠執行靜脈或皮下注射進行，建議修改注射劑檢驗標準，以內毒素熱源試驗（鬻血清）取代小鼠安全試驗，減少動物用量。

b.動物用疫苗檢驗，可朝向研擬取消疫苗非對象動物的安全試驗，以減少動物用量。

(2) 有 130 隻評估可在階段 3 進行減量或替代，因為此項是針對單株抗體委託生產試驗，使用 BALB/c 小鼠為傳統的製備方法，雖然現已有基因選殖的方式，還有表現系統可應用於製備單株抗體，但都有專利問題，且門檻比較高。

(二)、我國優先導入動物試驗替代方案及實驗室量能討論：

1.經上述盤點討論結果，初步以皮膚腐蝕和刺激性、皮膚敏感性、眼睛刺激性、致癌性試驗、熱原試驗、光毒性試驗為第一階段優先導入或推廣的動物測試替代方案。

2.第一階段優先導入或推廣的測試方法，將其連結產品項目、法規和替代標準方法、我國可供諮詢相關替代方案之實驗室或公司（初期參考）的分類索引，以利後續的應用及推廣。最後彙整為表 5-2-1 我國優先導入動物試驗替代方案之建議。

3.因試驗內容的特性不儘相同，因此僅列為“國內可供諮詢相關替代方案之

實驗室或公司（初期參考）”，相關試驗細節則須雙方再深入洽談其適用範圍及替代或減量程度。

- 4.表 5-2-1 在備註或該實驗室或公司後面可註記說明（已有案例、已有技術、近期規劃導入技術）讓讀者更了解。另外，實驗室其他部份如 GLP、TAF、AAALAC 等認證狀況或技術能力，可參閱表 5-1-1 我國動物試驗替代實驗室能力與方案盤點。

表 5-2 我國優先導入動物試驗替代方案之建議

毒性終點	測試方法	替代建議和標準方法	我國適用之產品項目	國內可供諮詢相關替代方案之實驗室或公司（初期參考）	備註
皮膚腐蝕和刺激性	針對皮膚腐蝕性 <i>in vitro</i> Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER)	OECD 430	化學品、醫療器材、農藥		針對皮膚刺激及腐蝕性之替代試驗包括 OECD 439、430 及 431 以目前國內農藥申請法規尚未接受相關試驗報告，仍處資料研析驗證階段。
	體外測試對皮膚之腐蝕性 <i>in vitro</i> Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RHE) Test	OECD 431	化學品、醫療器材、農藥	1.SGS-（已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品） 2.進階生技已建立，可執行 GLP 試驗 3.工業技術研究院（我國工研院自行開發之仿生皮膚組織產品 EPiTRI，應用於體外皮膚腐蝕性測試，品名 EPiTRI-SCT，依循 OECD431 Guideline 與 Performancestandards 開發並通過跨國國際驗證 Validation study，已測試過化粧品、化學品；此外也有試驗平台，進行 OECD 認證之市售品的皮膚腐蝕性測試，測試化粧品、化學品）	
	體外測試皮膚刺激性 <i>in vitro</i> Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method	OECD 439	化學品、農藥	1.SGS-（已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品） 2.台美檢驗科技有限公司（已設置試驗平台） 3.進階生技已建立，可執行 GLP 試驗 4.工業技術研究院（我國自行開發之產品 EPiTRI-SIT，依循 OECD439 Guideline 與 Performancestandards 開	

				發並通過跨國國際驗證 Validation study，已協助多家廠商與研發單位測試化粧品、化學品、醫藥等類型的樣品，並協助化粧品新原料 INCI（國際命名化粧品成分）送件；此外亦建立試驗平台，進行 OECD 認證之市售品的皮膚刺激性測試，已協助多家廠商與研發單位測試化粧品、化學品）	
皮膚 敏 感 性	Skin sensitisation: Local lymph node assay	OECD 429	化學品、醫療器材		
	Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay: BrdU-ELISA or -FCM	OECD 442B	農藥	1.藥物毒物試驗所 2.台美檢驗科技有限公司（已設置試驗平台） 3.麥德凱生科股份有限公司-（已測試過化學品、醫療器材等類型的樣品）	
	Skin Sensitization: In Chemico Skin Sensitisation Assays addressing the Adverse Outcome Pathway key event on covalent binding to proteins	OECD 442C	農藥	1.SGS-（已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品）	針對皮膚敏感性之替代試驗包括 OECD 442C、442D 及 442E 以目前國內農藥申請法規尚未接受相關試驗報告，仍處資料研悉驗證階段。
	Skin Sensitization: In Vitro Skin Sensitisation ARE-Nrf2 Luciferase Test Method	OECD 442D	農藥	1.SGS-（已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品） 2.工業技術研究院（已建立試驗平台，進行 OECD 認證之市售品的皮膚敏感性測試，已協助廠商測試過化粧品）	
	Skin Sensitization: In Vitro Skin Sensitisation In Vitro Skin Sensitisation assays addressing the Key Event on activation of dendritic cells on the Adverse Outcome	OECD 442E	農藥	1.SGS-（已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品）	

	Pathway for Skin Sensitisation				
眼睛 刺激性	體外測試眼睛刺激性: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method	OECD 492	化學品、農藥	1.SGS- (已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品) 2.進階生技已建立，可執行 GLP 試驗 3.工業技術研究院 (已建立試驗平台，進行 OECD 認證之市售品的體外眼睛刺激性測試，已協助廠商測試過化粧品)	針對眼刺激性之替代試驗包括 OECD 437、438、460、491 及 492 以目前國內農藥申請法規尚未接受相關試驗報告，仍處資料研悉驗證階段。
	體外測試眼睛刺激性:Isolated Chicken Eye Test Method	OECD 438	化學品、農藥		
	Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage	OECD 437	農藥		
	Fluorescein Leakage Test method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants	OECD 460	農藥		
	Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage	OECD 491	農藥	1.SGS- (已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品)	

致癌性試驗	In vitro cell transformation assay (CTA) - Bhas 42 CTA	OECD Guidance document No. 231	醫療器材、化學品		
	In vitro cell transformation assay (CTA) - SHE CTA	OECD Guidance document (No. 214)	醫療器材、化學品		
熱原試驗	單核球活化試驗 In vitro monocyte activation tests (MAT)	EP 2.6.30.	不適用醫療器材、藥品		
	endotoxin-specific LAL (Limulus Amebocyte Lysate) test	USP 85	醫療器材、藥品	1.進階生技已建立，可執行 GLP 試驗 2.已廣泛使用	
光毒性	<u>In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity</u> (測試過化粧品、化學品)	OECD 432	化粧品、化學品	1.SGS- (已測試過化粧品、化學品、醫療器材等類型的樣品) 2.工業技術研究院 (已建立試驗平台，進行過測試過化粧品、化學品的樣品)	

註 1：國內部份 CRO 公司（例如昌達生技）雖然目前沒有導入上述替代技術，但利用動物減量的方法，在研究設計中將動物數量減至最少，並配合電腦模擬預測的方法對化學品進行安全性評估。

第六章 我國動物實驗替代研發推廣共識平台之建置

本研究於 1 月 10 日召開第一次專家會議，說明這幾年的先期研究內容，如 107 年產品上市前法規盤點狀況、108 年舉辦實驗動物替代國際研討會以及說明 109 年農委會建構一個四年期的中綱計畫「建構生醫產業動物替代體系及開發關鍵技術」計畫，本研究為該中綱計畫的一項子計畫，並介紹本替代平台計畫目標及內容。另外，說明 109 年國衛院替代計畫、動物用藥品動物試驗 3R 模式開發及國家檢驗標準法規修正之評估計畫。建立農藥毒理評估替代試驗模式、國際認可農藥毒理評估之 3R 新穎技術及管理策略研析、工研院仿生皮膚組織於替代性動物試驗之研發計畫。此外，109 年還有農科院「飼料添加物與寵物食品之動物替代試驗技術支援體系及國際規範研析」計畫。讓與會專家了解本研究冀望建立動物實驗替代研發推廣共識平台，藉由專家會議的討論及交流凝聚國內實驗動物替代的發展規劃，相互了解各自領域的發展現況及面臨的問題，共同探討可能的解決方案。

這幾年各單位都陸陸續續地積極導入實驗動物替代的國際規範，從 2007 年藥毒所導入 OECD 的減量技術就有不錯的成效，加上歐盟自 2009 年起已禁止化粧品成分原料的動物測試，工研院在經濟部支持下也進行仿生皮膚組織於替代性動物試驗之研發，成功開發應用於皮膚刺激性（OECD439）與腐蝕性（OECD431）測試的仿生表皮組織 EPiTRI，並通過跨國驗證。但在申請 OECD 認證時卻因我國非 OECD 會員國，可能須繞道其他國家的合作協助。另外也建立了光毒性、致突變性、口服急毒性等測試替代技術。

雖然我國在法規面上都已依循動物保護精神，鼓勵使用替代方法來取代傳統的動物試驗結果，但由於非強制性，加上價格偏高以致採用的狀況非常少。在替代實驗室及技術方面，國內已有藥毒所、國衛院、SGS、麥德凱等機構在農藥、環境毒性、化粧品、醫療器材等方面推廣替代方法，但現階段客戶比較保守，替代方法成本下降有限及主管機關可能會拒絕風險的情況下，仍以動物測試為主，替代為輔。

基本上我國要推動實驗動物替代技術的發展應由農委會、科技部、環保署、衛福部、環保署，甚至教育部一起進行跨部會合作及分工，不過由於農委會為實驗動物主管機關，因此利用其轄下的計畫建立主要架構及各項研析，後

續再以此計畫成果為基礎，進行跨部會法規調合及資源投入之合作說帖。

本研究執行農委會科技計畫冀望研析國際上實驗動物替代技術之驗證管理，建立我國實驗動物替代方法專家團隊，盤點產品上市前試驗計畫中可能被替代或減量之動物數量，以及我國導入歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）驗證的完全替代或部份替代方法所需之實驗室能力、缺口，並藉由專家輔導平台及教育訓練，強化動物試驗計畫審查之替代意識（含動物減量、精緻化）及機構設施之品質提升，促進我國實驗動物替代技術發展。因此，規劃下列 5 項計畫目標：

- 1.研析歐盟及美國的發展路徑及經驗，建立我國實驗動物替代方法專家團隊。
- 2.發展動物替代試驗方案及試驗標準作業程序。
- 3.研擬動物試驗之損害、利益評估規範及危害分級規範。
- 4.盤點替代技術實驗室及技術項目，並累積替代專家人才庫，建構動物替代研發基盤與支援系統。
- 5.持續強化動物試驗機構之品質提升，推廣動物試驗替代專業知識。

本研究邀請相關專家學者於 1 月 10 日、9 月 2 日、10 月 14 日召開三次專家會議，並研析歐盟替代中心架構機制，亦討論國際替代試驗方法合作組織（ICATM）成員國相關的架構理念，規劃我國動物實驗替代研發推廣共識平台之架構〔替代技術專家及替代實驗室小組、替代技術驗證專家小組、實驗動物替代科學審查專家小組，以及國際合作小組（國衛院計畫主導）〕，如圖 6-0-1 我國動物實驗替代研發推廣共識平台。

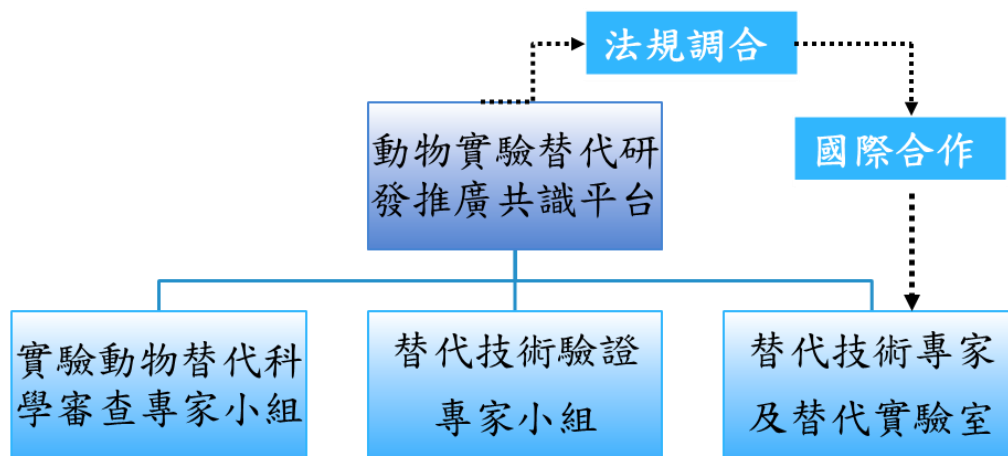


圖 6-0-1 我國動物實驗替代研發推廣共識平台

第二次專家會議討論後，現階段（暫定為第一階段）我國動物實驗替代技術乃處於萌芽階段，主要為研析國際上各項已驗證或部份驗證之替代方案，並盤點我國實驗室能力，進而規劃後續導入策略。因此，各專家小組及任務分工為初步區分，且多有重疊之處（第一階段將替代技術專家及替代實驗室、替代技術驗證專家小組暫時整併為第一組）。後續依本平台發展狀況，逐步展開並持續邀請專家加入。

第一階段專家小組分為第一組替代技術研究及驗證專家小組；第二組實驗動物替代科學審查專家小組；第三組法規調合及國際合作。其任務及工作方向請參閱表 6-0-1 第一階段動物實驗替代研發推廣共識平台任務及分工表。

第一階段專家小組成員主要為本研究 109 年於農委會科技計畫下邀請國內替代研究相關之專家學者（包括法規主管機關、產業界、研究單位、動物保護界）共 28 人。第一階段專家團隊為動物測試替代平台專家會議與會人員，之後將依本平台發展狀況持續邀請專家加入。

表 6-0-1 第一階段 動物實驗替代研發推廣共識平台任務及分工表

第一階段	第一組 替代技術研究及驗證專家小組 (研究、開發)	第二組 實驗動物替代科學審查專家小組 (科學法規、公眾諮詢)	第三組 法規調合及國際合作 (政策白皮書)
任務 及 工作方向	<ol style="list-style-type: none"> 1.盤點我國產品上市前試驗計畫中可能被替代或減量之動物數量。 2.研析 EURL-ECVAM 各項已驗證或部份驗證之替代方案。 3.盤點我國實驗室能力，提供各項替代技術之導入及研發策略之建議。 4.確定提出的推定的相似測試方法 (me-too methods) 是否確實與已驗證的方法足夠相似，以便可以通過基於性能標準的驗證。 5.協助建立符合技術能力驗證之流程。 	<ol style="list-style-type: none"> 1.結合公眾角度與科學證據，以全方位的觀點對替代技術的驗證研究提供意見。 2.藉由各項研討會、教育訓練及機構輔導，強化動物科學應用之品質提升，協助推動我國實驗動物替代科學之發展。 	<ol style="list-style-type: none"> 1.與其他國家/地區的驗證機構在替代方法國際合作框架 (ICATM) 中的互動。 2.協助國際驗證工作並就我國各種法規要求交換意見和訊息。 3.政策白皮書的建議與提出。

備註：現階段我國動物實驗替代技術乃處於萌芽階段，主要為研析國際上各項已驗證或部份驗證之替代方案，並盤點我國實驗室能力，進而規劃後續導入策略。因此，各專家小組及任務分工為初步區分，且多有重疊之處（第一階段將替代技術專家及替代實驗室、替代技術驗證專家小組暫時整併為第一組）。後續將依本平台發展狀況，逐步展開並持續邀請專家加入。

表 6-0-2 第一階段 動物實驗替代研發推廣共識平台專家團隊

第一階段專家小組為 109 年動物測試替代平台專家會議與會人員，將依本平台發展狀況持續邀請專家加入。

	專家小組成員
法規主管機關	行政院農業委員會畜牧處動物保護科 鄭祝菁科長、翁瑋琇技正 行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所 葉修如分所長、張家禎主任、張家嘉助理研究員 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 蔡韃任組長、廖俊麟獸醫師
產業界	台灣檢驗科技股份有限公司 劉錦誠博士 汎球藥理研究所股份有限公司 沈建璋總監 進階生物科技股份有限公司 洪昭竹博士、曾湘文博士 昌達生化科技股份有限公司 陳筱苓資深總監 麥德凱生科股份有限公司 謝逸璇博士
研究單位	工業技術研究院生醫與醫材研究所 陳婉昕博士 中山科學研究院第四研究所(退休) 李震東博士 中央研究院生物醫學科學研究所 陳燕輝主任 中華實驗動物學會 戴元基理事長、方美佐副理事長、賴政分秘書長 臺北醫學大學大數據科技及管理研究所 童俊維教授 國家實驗研究院實驗動物中心 張維正博士、吳建男獸醫師 國家衛生研究院生技與藥物研究所 陳炯東博士 國家衛生研究院國家環境醫學研究所 林嬪嬪博士、鄭獻仁博士 國家衛生研究院分子與基因醫學研究所 游美淑博士
動物保護團體	台灣動物社會研究會 朱增宏執行長、饒心怡研究員

一、替代技術研究及驗證專家小組

第二次專家會議討論後，原規劃替代技術專家及替代實驗室小組、替代技術驗證審議專家小組，因其任務包括研究、開發的功能，但現階段我國動物實驗替代技術乃處於萌芽階段，二個小組的專家成員重覆性高及任務目標不易區分，故先整併為一組，後續依本平台發展狀況，再逐步展開並持續邀請專家加入。

(一)、任務及工作方向

- 1.盤點我國產品上市前試驗計畫中可能被替代或減量之動物數量。
- 2.研析 EURL-ECVAM 各項已驗證或部份驗證之替代方案。
- 3..盤點我國實驗室能力，提供各項替代技術之導入及研發策略之建議。
- 4.確定提出的推定的相似測試方法（me-too methods）是否確實與已驗證的方法足夠相似，以便可以通過基於性能標準的驗證。
- 5.協助建立符合技術能力驗證之流程。

各項方法（籠統的術語，涵蓋諸如測定、測試、技術、工具、策略、方法等的描述）的使用可能會產生不可靠且無關緊要的結果，這些方法若未經證實適合特定目的，可能導致浪費時間、金錢和資源，以及動物生命，並且可能產生誤導性或不正確的數據。此外，也可能會減慢發現速度，並可能對保護消費者和使用人員的安全產生嚴重後果（例如，如果該分析方法用於評估化學品的安全性）。因此，對於研究人員來說，最重要的是要確保所使用的方法適合該目的。

由於基礎研究等領域的問題的獨特性，在大多數情況下，“正式驗證過程”不切實際，並且可能會導致不必要的動物使用，因為這樣的驗證結果不一定適用於下一個新穎的問題。但是，在法規測試領域，通常需要正式驗證雖然驗證是科學過程的內在組成部分，它也是監管接受程度的基本先決條件。驗證必須嚴格和公正，以便說服監管機構和最終用戶。

通常驗證的方法通常根據其可靠性和相關性進行評估。就可靠性而言，一種方法必須首先在一個實驗室內保持穩定和可重複性，然後在至少兩個其他尚未執行此方法的實驗室中顯示可轉移和重現。由於技術和管理的複雜性，這樣的“循環試驗”可能難以建立和執行。測試化學品的選擇、採購和分銷以及實驗室人員的培訓通常會帶來相當大的挑戰。此外，試驗“預驗證”試驗往往需要優

化和完善測試協議。驗證研究完成後，結果將進行獨立的科學同行評審。

科學驗證不應與法規接受過程相混淆。在監管機構可以接受監管環境中特定方法的使用之前，例如在化學品安全評估領域，該方法必須是通過正式的（科學的）驗證過程確認科學上的有效，並且被評估為能夠提供相應法規要求的答案，即獲得法規接受。在大多數情況下，科學驗證是監管接受的必要先決條件，但成功的驗證本身不足以保證監管接受。

歐盟和國際上的許多監管機構都在其各自領域（例如化學品、藥品以及食品和飼料安全性）中出於監管目的評估方法。在歐盟，指令 2010/63 / EU 甚至在正式驗證開始之前就將監管機構納入開發新替代方法的初期，要求每個成員國指定一個單一的聯繫點，以規範動物的使用，以通過 PARERE 網絡的工作來加快監管的理解、接受和採用新方法。

本小組冀望研析國際上實驗動物替代技術之驗證管理，建立我國實驗動物替代方法專家團隊，盤點產品上市前試驗計畫中可能被替代或減量之動物數量，以及我國導入 EURL-ECVAM 毒理學領域驗證的完全替代或部份替代方法所需之實驗室能力、缺口，討論導入技術的優先順序，循序漸進厚植我國替代技術產業量能。

（二）、專家小組成員

基於上述任務及工作內容，本小組的任務主要為替代方法的研究、開發以及協助建立符合技術能力驗證之流程。因此主要邀請之專家以相關法規主管機關，以及動物測試技術（含替代、減量）方面的產業界、研究單位之專家，如下表 6-1-1。

表 6-1-1 替代技術研究及驗證專家小組（第一組）成員

<p>法規 主管 機關</p>	<p>行政院農業委員會畜牧處動物保護科 翁瑋琿技正 行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所 張家禎主任、張家嘉助研員 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 蔡鍵任組長、廖俊麟獸醫師</p>
<p>產業 界</p>	<p>台灣檢驗科技股份有限公司 劉錦誠博士 汎球藥理研究所股份有限公司 沈建璋總監 進階生物科技股份有限公司 曾湘文博士 昌達生化科技股份有限公司 陳筱苓資深總監 麥德凱生科股份有限公司 謝逸璇博士</p>
<p>研究 單位</p>	<p>工業技術研究院生醫與醫材研究所 陳婉昕博士 中央研究院生物醫學科學研究所 陳燕輝主任 中華實驗動物學會 賴政分秘書長 臺北醫學大學大數據科技及管理研究所 童俊維教授 國家衛生研究院生技與藥物研究所 陳炯東博士 國家衛生研究院國家環境醫學研究所 鄭獻仁博士</p>

二、實驗動物替代科學審查專家小組

(一)、任務及工作方向

- 1.結合公眾角度與科學證據，以全方位的觀點對替代技術的驗證研究提供意見。
- 2.藉由各項研討會、教育訓練及機構輔導，強化動物科學應用之品質提升，協助推動我國實驗動物替代科學之發展。

替代技術研究及驗證完成後，本小組可以結合公眾角度與科學證據，以全方位的觀點對替代技術的驗證研究提供意見。儘可能提供關於研究質量和該方法潛在用途的獨立科學意見，制定相關的建議書，總結了驗證研究的結果，包括對該方法的總體性能、適用性、局限性和在不同情況下的潛在用途的描述，以利後續專家小組與法規主管機關進行法規調合與討論。

另外，本小組亦希望能架構易於獲取的替代方法資訊，在不同領域和環境（例如，知識共享、法規應用、教育訓練等）提供對 3Rs 原則採用推動。以歐盟替代中心為例，EURL-ECVAM 的任務包括通過提供有關替代方法的公共數據庫和訊息系統來傳播相關內容：(1) .DB-ALM —關於動物實驗替代方法的 EURL-ECVAM 數據庫。(2) . IPCHEM-化學監測資訊平台。(3) .JRC 數據目錄。另外，在教育和培訓的部份，EURL-ECVAM 參與了一些教育和培訓活動，(1) .3Rs 教育培訓資源盤點。(2) .促進動物試驗替代的歐洲議會試點項目。(3) .各項研討會活動，例如，不良結果途徑相關的培訓活動、羅倫茲計算建模研討會、JRC 暑期非動物科學方法學校。這些活動的目的是提高對“3Rs 原則”和替代方法的認識，對於推動替代方法和方法的發展與採用至關重要。相關的活動可參閱本研究報告第三章第四節替代方法工具與教育訓練。

本小組冀望扮演科學與法規調合、公眾諮詢的角色，以研析國際上實驗動物替代科學審查流程及管理機制，並參考 EURL-ECVAM 替代方法工具與教育訓練的方式建構相關機制，以利未來替代方案的推動。另外，藉由實驗動物專家輔導平台、各項教育訓練及研討會，強化動物試驗計畫審查之替代意識（含動物減量、精緻化做法）及機構設施之品質提升，促進我國實驗動物替代技術發展。

(二)、專家小組成員

基於上述任務及工作內容，本小組的任務主要為替代方法提供科學證據、倫理議題平衡的觀點，協助替代方法工具的建立，並配合教育訓練及研討會的舉行，推動我國實驗動物替代技術發展。因此，主要以動物科學應用主管機關、實驗動物照護及使用指引編審專家以及動物保護團體之專家為核心，如下表 6-2-1。

表 6-2-1 實驗動物替代科學審查專家小組（第二組）成員

法規主管機關	行政院農業委員會畜牧處動物保護科 鄭祝菁科長、翁瑋瑋技正
產業界	進階生物科技股份有限公司 洪昭竹博士
研究單位	中山科學研究院第四研究所（退休） 李震東博士 中華實驗動物學會 戴元基理事長、方美佐副理事長、賴政分秘書長 臺北醫學大學大數據科技及管理研究所 童俊維教授 國家實驗研究院實驗動物中心 張維正博士、吳建男獸醫師 國家衛生研究院生技與藥物研究所 陳炯東博士 國家衛生研究院分子與基因醫學研究所 游美淑博士
動物保護團體	台灣動物社會研究會 朱增宏執行長

三、法規調合及國際合作

(一)、任務及工作方向

1. 與其他國家/地區的驗證機構在替代方法國際合作框架 (ICATM) 中的互動。
2. 協助國際驗證工作並就我國各種法規要求交換意見和訊息。
3. 政策白皮書的建議與提出。

歐盟替代中心在皮膚刺激、皮膚腐蝕、皮膚吸收/滲透以及光毒性等毒理學領域驗證了完全替代方法，也驗證了在眼睛刺激、眼睛腐蝕、皮膚過敏、基因毒性、致癌性、生殖毒性（胚胎毒性和內分泌干擾）和急性口服毒性等方面部分替代和減少動物試驗的方法。除了用於研究之外，有許多經過驗證的方法已被納入歐盟法律和其他形式的國際認可的測試方法，如 OECD 和歐洲藥典的測試指南 (TG)。另外，2017 年 12 月美國食品和藥物管理局 (FDA) 發表預測毒理學路徑、2018 年 6 月美國環境保護署 (EPA) 公布促進有毒物質控制法

(TSCA) 計畫內替代測試方法的開發和實施的策略計，顯示相關主管部門積極研發新的方法和技術並提升毒理學預測能力，並儘可能地減少動物試驗的使用的戰略及落實方法，其中採用漸進式步驟來整合和應用新途徑方法 (NAMs)，這些步驟整合且適合於制定有毒物質控制法 (TSCA) 決策，例如 (1) 計算毒理學和生物信息學；(2) 高通量篩選方法；(3) 測試化學物質的種類；(4) 階層式測試方法；(5) 體外研究；(6) 系統生物學；(7) 由替代方法驗證機構間協調委員會 (ICCVAM) 或經濟合作暨發展組織 (OECD) 等驗證機構確定的新方法或修訂方法；或是 (8) 產業界聯盟根據該標題開發提交的信息。

另外，替代測試方法國際合作 (ICATM) 相關的國家，包括歐盟、美國、日本、加拿大、南韓、巴西及中國大陸正在共同努力，促進在替代方法的科學發展、驗證和監管使用方面加強國際合作與協調。

由美國 Leadscope® Inc. 領導的全球計算機毒理學協議聯盟是一項由美國環境衛生科學研究所 (NIEHS) 贈款發起的國際計畫，旨在為主要毒理學終點建立計算機毒理學協議，類似於體外應用中常規使用的測試指南或體內方法，以提高此類評估的效率、質量和接受度。為了達成廣泛共識，它包括 60 多個國際組織（監管機構或政府機構、學者、業者、模型開發人員和不同部門和地區的顧問）。

本小組冀望扮演導入替代技術以及提出政策白皮書建議的角色，以建立國際替代方法新知及國際技術導入為核心，與上述國際組織互動與合作，辦理動物試驗替代技術的國際研討會，並邀請其提供相關經驗，協助國際驗證工作並與我國各個法規主管機構交換意見和訊息，強化法規修訂與調合，以利我國動物替代技術與產業發展。

(二)、專家小組成員

基於上述任務及工作內容，本小組的任務主要為國際合作與法規調合。因此，主要以動物科學應用主管機關、動物科學應用與國際合作、以及動物保護團體之專家為核心，如下表 6-3-1。

表 6-3-1 法規調合及國際合作專家小組（第三組）成員

專家小組成員	
法規 主管 機關	行政院農業委員會畜牧處動物保護科 鄭祝菁科長、翁瑋琿技正
研究 單位	工業技術研究院生醫與醫材研究所 陳婉昕博士 中山科學研究院第四研究所（退休） 李震東博士 中央研究院生物醫學科學研究所 陳燕輝主任 中華實驗動物學會 戴元基理事長、賴政分秘書長 國家衛生研究院國家環境醫學研究所 林嬪嬪博士、鄭獻仁博士
動物 保護 團體	台灣動物社會研究會 朱增宏執行長、饒心怡研究員

第七章 結論與建議

動物實驗的 3Rs 原則：替代、減量和精緻化，其意涵為尋求另一種可以完全取代動物試驗的方法、減少測試中所需動物的數量，或改進動物測試程序以減輕疼痛和痛苦。過去，對動物進行測試一直是許多產業、產品進行風險評估的最佳選擇和最可靠的來源。儘管動物測試方法沒有經過與其他替代方法相同的驗證，但獲得了長期的使用經驗，並且已納入各國的測試方法法規。不過，動物試驗仍有其局限性，因此非動物方法的開發和驗證不僅從道德的角度來看很重要，而且最終為保護人類健康和環境提供更好的安全評估框架也很重要。

我國動物替代技術能量雖然現階段處於初階發展階段，不過近年來各部會主管機關已積極接受歐盟的替代測試方法，並持續於修訂的各項辦法中揭示動物保護 3R 觀念。例如，103 年公告的藥品非臨床試驗安全性規範（第五版）前言中即闡明實驗動物之品質宣言，表達動物之科學應用主要以 3R 為福利準則，未來食藥署仍將密切觀察國際醫藥法規協會（International Harmonization Conference, ICH），經由美國、歐洲及日本等全球目前主要研發國家之製藥產業的努力，逐步建立全世界共同認可的動物實驗替代方案，提升我國製藥產業實驗動物保護的品質及科學技術與倫理觀念的進步。在新藥、生物藥品、抗癌新藥非臨床試驗規範也說明了藥品的多樣性，而生物活性亦隨結構的變化而改變，則可考慮採用較彈性的方式，依試驗物質特性而進行評估，並依據 3R 原則，減少動物使用及製藥研發所需資源，非臨床與臨床試驗的時程可相互並行。環境保護署毒物及化學物質局亦強調毒理資訊之測試評估終點與測試規範建議，以經濟合作暨發展組織（OECD）的 3R 替代測試方法

（Testing Guideline, TG）為主，化學品少量登錄也接受電腦模擬預測-定量結構關係（Quantitative structure-activity relationship, QSAR）的分析。化粧品衛生管理條例修正案於 107 年 5 月 2 日頒布，法律名稱修正為「化粧品衛生安全管理法」，除為使化粧品業者因應調整外包裝，其施行日期由行政院核定除化粧品應標示事項相關規定自 110 年 7 月 1 日施行外，自 108 年 7 月 1 日施行，依同條例第 23 條之 2 第 3 項規定，化粧品製造、輸入或販賣業者於國內進行化粧品或化粧品成分之安全性評估，均不得以動物作為檢測對象。除該成分被廣泛使用，且其功能無法以其他成分替代，或具評估資料顯示有損害人體健康之

虞，須進行動物試驗者，其申請程序及其他應遵行事項之辦法，由中央主管機關定之。其他部會主管機關亦採類似的 3R 觀念，增加毒理資訊測試評估之彈性。

雖然我國在法規面上都已依循動物保護精神，鼓勵使用替代方法來取代傳統的動物試驗結果，但由於非強制性，加上替代方法價格偏高、相關案例缺乏，以致採用的狀況非常少。國內在替代實驗室及技術方面，已有農業藥物毒物試驗所、國家衛生研究院、台灣檢驗科技股份有限公司（SGS）、麥德凱生科股份有限公司等機構在農藥、環境毒性、化粧品、醫療器材等方面推廣替代方法，但現階段客戶比較保守，替代方法成本下降有限及主管機關可能會拒絕風險的情況下，仍以動物測試減量為主，替代為輔。

本研究研析國際上動物測試替代技術之驗證管理，建立我國實驗動物替代方法專家團隊，盤點產品上市前試驗計畫中可能被替代或減量之動物數量，以及我國導入歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）驗證的完全替代或部份替代方法所需之實驗室能力、缺口，並希望藉由專家輔導平台及教育訓練，強化動物試驗計畫審查之替代意識（含動物減量、精緻化做法）及機構設施之品質提升，促進我國實驗動物替代技術發展。因此，本研究提出下列 3 項結論及 3 項建議，以利各相關單位參考，持續進行動物測試替代研究發展。

結論一：我國動物替代技術能量約處於第一階段中期，各主管機關已認知動物測試替代意識，且鼓勵採用替代方案，國內實驗室逐漸累積替代技術量能

近年來各部會主管機關已積極接受歐盟的替代測試方法，並持續於修訂的各項辦法中揭示動物保護 3R 觀念，鼓勵採用減量、替代方案。實驗動物主管機關農業委員會也藉由「實驗動物照護及使用委員會或小組設置及管理辦法」及「實驗動物照護及使用指引」的公布與實施，加強三階段外部查核力道，促使國內各動物科學應用機構強化 IACUC 職能及動物實驗計畫書審查的嚴謹度。

國內進行動物毒理試驗相關之委外服務機構（CRO）或實驗室近年亦感受到動物替代、減量的趨勢，導入相關技術。本研究盤點以 TAF- OECD GLP 符合性登錄名錄、衛福部實驗室認證、AAALAC 國際認證機構為主，並加上研究

機構中發展替代技術之實驗室，分類目前其對於動物試驗替代方案的發展方向為 3 類：

1. 依循國際認證方法，導入多項替代性試驗平台，未來將積極擴展建立其他替代性試驗。
2. 雖然目前沒有導入上述替代技術，但利用動物減量的方法，在研究設計中將動物數量減至最少，並配合電腦模擬預測的方法對化學品進行安全性評估。
3. 研發各項替代技術產品、器官模擬晶片、電腦預測系統等，推動我國替代技術產業發展。

上述實驗室對於動物試驗替代方案的發展方向可能略有不同，亦有所重疊，現階段仍以動物測試減量為主，替代為輔，後續可能隨著我國替代技術的推動、發展，國內相關實驗室亦會調整及充實其技術能量。詳細介紹請參閱本研究報告第五章第一節。

結論二：本研究建立第一階段之動物實驗替代研發推廣共識平台，並以皮膚腐蝕和刺激性、皮膚敏感性、光毒性、眼睛刺激性、致癌性試驗、熱原試驗為我國優先導入或推廣的動物測試替代方案

本研究邀請相關專家學者於 1 月 10 日、9 月 2 日、10 月 14 日召開三次專家會議，主要議題包括：(1) 我國動物實驗替代研發推廣共識平台之建置-團隊架構及任務方向；(2) 我國 108 年度可能導入減量替代方案之動物實驗統計。(3) 我國導入歐盟毒理學替代方法之能量及時程評估。

第一階段專家小組成員主要為本研究 109 年於農委會科技計畫下邀請國內替代研究相關之專家學者（包括法規主管機關、產業界、研究單位、動物保護界）共 28 人（請參閱表 6-0-2）。第一階段專家團隊為動物測試替代平台專家會議與會人員，之後將持續依本平台發展狀況持續邀請專家加入。

專家小組分為第一組替代技術研究及驗證專家小組（研究、開發）；第二組實驗動物替代科學審查專家小組（科學法規、公眾諮詢）；第三組法規調合及國際合作（政策白皮書）。（各專家小組任務及工作方向請參閱表 6-0-1）

本研究替代技術專家小組彙整 109 年各動物科學應用機構呈報之監督報告，分析 108 年度之實驗動物計畫書，進行產品上市前測試（12 項）及教育訓

練項目可能導入減量與替代方案之動物試驗計畫，共完成 1951 件、使用 118,982 隻動物之試驗計畫盤點。主要將可能導入減量、替代的方案分為四個階段：

- (1) 階段 1：國內有其他減量替代方案，但費用稍高或流程（技術、法規、市場）較為複雜。
- (2) 階段 2：國外有相關減量替代方案，但費用較高（5 倍以內），5 年內導入機率較高。
- (3) 階段 3：國外有相關減量替代方案，但法規面、技術面門檻及費用太高（5 倍以上），5 年內導入機率低。
- (4) 階段 4：不適用（可能填報的內容不適合替代）；國外無相關替代方案（或僅研發中）。

動物實驗計畫中可能導入減量替代方案之案件統計，請參閱表 4-2-2。其中以項目 3 藥品使用動物 58,484 隻為最多，約佔總盤點隻數之 49%，但其中 58,185 隻超過 99% 的計畫為藥效測試試驗，現階段國內外無相關替代方案。僅約 1% 可使用 *in vitro* 熱原試驗或遵循 OECD Test Guideline 439 執行 *In Vitro* Skin Irritation Test。

案件數較多的是項目 7 醫療器材，有 934 件，使用 15,938 隻動物，於第一階段可減量或替代的動物為 8593 隻，約佔 54%，也是本次進行產品上市前測試（12 項）及教育訓練項目在第一階段 9,252 隻的 93%。生物相容性試驗是基於檢測材料或醫材是否對於生物體引起不良反應，現階段而言醫材類植入試驗、一般毒理試驗及針對 material mediated pyrogenicity（大白兔熱原試驗）尚無法以體外試驗取代，此類生物相容性試驗處於階段 4。目前可列入首要導入替代試驗的部分為皮膚刺激性試驗、眼刺激性試驗和皮膚敏感性試驗（ISO 10993-10），這些試驗已有相關法規（OECD 430、OECD 431、OECD 439、OECD 429、OECD 422 系列等）。

本研究專家會議最後以皮膚腐蝕和刺激性、皮膚敏感性、光毒性、眼睛刺激性、致癌性試驗、熱原試驗為第一階段優先導入或推廣的動物測試替代方案。本研究亦將第一階段優先導入或推廣的測試方法，將其連結產品項目、法規和替代標準方法、我國可供諮詢相關替代方案之實驗室或公司（初期參考）

的分類索引，以利後續的應用及推廣。最後彙整為表 5-2-1 我國優先導入動物試驗替代方案之建議。

結論三：動物替代測試方法發展不易，須長期舉行研討會與教育訓練，不斷凝聚共識方能有所進展。

認證一項替代測試的概念與複雜程度，都與臨床試驗相仿。臨床試驗是「以證據為基礎」，必須嚴謹證明藥物的效用；同樣的，認證測試也必須證明，某個替代測試可以達成它所要達到的目的。歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的驗證過程包含 4 個主要步驟，而利益相關方、國際合作夥伴以及測試方法提交者都將參與到關鍵階段。驗證的方法根據其可靠性和相關性進行評估，一種方法必須首先在一個實驗室內保持穩定和可重複性，然後在至少兩個其他尚未執行此方法的實驗室中顯示可轉移和重現，其技術和管理的複雜性有一定的難度。此外，試驗“預驗證”試驗往往需要優化和完善測試協議，驗證研究完成後，結果亦須進行獨立的科學同行評審。

另外，英國國家動物 3R 研究中心也提出了一些動物測試替代的挑戰，即使 3Rs 模型或方法發布其適合用途，影響成功的因素仍然很多。這些因素包括在 1.個人層面上，例如，由於擔心疏遠審稿人，他們不願意從既定的“黃金標準”轉變；2.在實驗室層面上，因為技能、資金和設備的可用性；3.在機構層面上，因為積極參與 3Rs 在職業發展中很少被認識到；4.在國家和國際層面上，由於不同的監管要求和對動物福祉重要性的認知。因此，動物測試替代方法涉及研發、確效和後續法制化，此過程絕非單一部會所能擔當。

歐盟替代方法確效中心於 1991 年成立，經過 30 年來各個領域的專家工作小組不斷地舉行各項研討會及教育訓練，並推動 2010 年歐盟委員會通過 2010/63/EU 指令時，規定了歐盟參考實驗室歐洲替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的法律依據。本研究亦於第三章介紹 2019 年歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）狀態報告，說明該中心有關替代動物方法和方法的開發、驗證和監管接受以及其傳播方面的最新進展的信息，主要的內容包括替代方法研究與開發活動、測試方法提交與驗證、促進監管接受和國際採用替代方法、替代方法工具與教育訓練等活動執行狀況。

美國亦是在 1978 年開始成立跨部門的國家毒理學計畫 (National Toxicology Program, NTP)，在 2005 年再度強化為 21 世紀毒理學計畫 (The Toxicology in the 21st Century program, Tox21)，至今亦推動三階段 15 年的戰略計畫，接受更新的毒理學方法 (例如，將更多預測模型納入管風險評估的標準)。其他國際替代試驗方法合作組織 (International Cooperation on Alternative Test Methods, ICATM) 的會員國家，日本、加拿大、南韓、巴西及中國大陸亦陸續設立相關的替代方法機構，進行非動物的毒理學預測與研發、建立。

本研究在實驗動物主管機關行政院農業委員會的科技計畫補助支持下，於 2018 年進行我國產品上市前動物測試法規盤點，2019 年辦理動物替代技術國際研討會，本年度亦邀請國內替代技術之專家學者，建立我國動物實驗替代研發推廣共識平台，冀望凝聚產、官、學、研界及動保團體的共識，不斷地舉行各項替代方法技術和觀念導入的研討會、教育訓練，後續強化跨部會協調，整合資源，共同進行短中長期的替代方法推動規劃，以利生技醫藥、醫療器材等產業發展，提高國際競爭力。

建議一：參考國際上動物測試替代技術之驗證管理架構，建立符合技術能力驗證之流程。

歐盟替代方法確效中心 (EURL-ECVAM) 的驗證過程包含 4 個主要步驟，在此過程中，利益相關方、國際合作夥伴以及測試方法提交者都將參與到關鍵階段，以盡可能地考慮他們的觀點以及他們的技術和科學投入。步驟包括：1. 評估提出的測試方法和優先等級設置；2. 規劃和執行驗證研究；3. 協調由 EURL-ECVAM 協調或評估的驗證研究的科學同儕評審；4. 制定 EURL-ECVAM 關於測試方法有效性狀態的建議。由上述可知，驗證是在測試方法開發/優化和監管驗收/國際認可之間的窗口，並確保對測試技術和方法進行科學和認真評估，建立其整體表現和適合某一特定目的，即其科學有效性。

國內進行動物毒理試驗相關之委外服務機構 (CRO) 或實驗室近年亦依循國際規範導入相關動物替代、減量的技術。另外，工業技術研究院生醫與醫材研究所進行仿生皮膚組織於替代性動物試驗之研發，成功開發應用於皮膚刺激性 (OECD439) 與腐蝕性 (OECD431) 測試的仿生表皮組織 EPI TRI，並通過

跨國驗證，但在申請 OECD 認證時卻因我國非 OECD 會員國，還須繞道其他國家的合作協助。

這些動物測試替代技術之開發及驗證可能需要國內專家團隊協助建立符合技術能力驗證流程，確定提出的相似測試方法（me-too methods）是否確實與已驗證的方法足夠相似，以便可以通過基於性能標準的驗證。若能建立動物替代試驗方案審查及試驗標準作業程序，後續無論是接軌國際上的認證申請，或是爭取國內法規主管機關的同意，就可以有比較好的基礎及依據。

建議二：建立學習及應用的動物替代技術案例及資料庫，以利替代技術產業的扎根及擴大應用

易於獲取的替代方法信息在不同領域和環境（例如，知識共享、法規應用、教育訓練等）中對 3Rs 原則的採用起著重要作用。歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM），主要的任務是研究、驗證、傳播、推廣。用於驗證替代方法的歐盟實驗室網絡（EU-NETVAL），目前在 15 個歐盟國家有 37 個 EU-NETVAL 成員。主要的任務是 A. 評估基礎和應用研究中使用的非動物方法，描述最新技術（state-of-art）並構建模型知識庫、Meta 分析（Meta-analyses）以了解策略和方法。B. 跨越生物科學方法的橋樑（Bridging across Methods in Biosciences, BeAMS），旨在激發和支持生物科學的跨學科性，例如科學“方法”在科學界有很大的要求、通過分析以方法為中心的案例來理解橋接、嘗試跨方法域橋接的新方法、提出建議。C. 審查 3Rs 教育和培訓資源，例如針對高中、大學和繼續教育不同的水準進行網絡搜索和專家調查，包括格式、內容、訪問級別、成本、位置等分析，充實全球 3Rs 教育和培訓機會。

例如，2019 年我國辦理動物替代技術國際研討會，邀請 Dr. Maurice Whelan 來台演講，導入歐盟使用非動物方法進行毒理學監管的經驗及作法，除了說明上述 EURL-ECVAM 的架構及任務，也介紹了 ORCHID（ORgan-on-CHip In Development，開發中的器官晶片）這個組織，其目標是 A. 建立學術界、研究機構、產業、監管機構、患者組織的網絡/社區；B. 創建晶片器官技術的路線圖；C. 通過傳播和溝通提高認識及近期的活動。ORCHID 戰略研討會（Strategy workshop）提出幾點建議：A. 應用方面-在用於疾病機制的器官晶片模型的背景下選擇的病理生理學領、藥物療效和毒性，以及個性化醫療。B. 技

術方面-可定製的平台適合用途；模塊化方法；開放技術平台；組件、方法和數據的標準化；私人利益和公共技術可用性的共存；升級要求。C.在資格方式：獨立測試中心；可訪問的演化數據庫；記錄清楚的陳列櫃；下一代研究人員的培訓計劃。D.在傳播，溝通和協作方面：現實的期望和抱負；關於道德問題的全球對話；EUROoCS（European Organ-on-Chip Society）的角色作用。

另外，歐盟替代方法確效中心（EURL-ECVAM）的現代毒理學工具箱（toxicology toolbox），在化學、體外、器官級晶片、組學、生物動力學、高通量篩選、電子計算機、遺留數據、臨床資料等。而在解決體外的關鍵挑戰（Addressing key challenges in vitro）則強調整合（Integration）、基準（Benchmarks）、資訊（Information）的各種考量。

EURL-ECVAM 通過上述的組織網絡，提供有關替代方法的公共數據庫和訊息系統來傳播相關內容，我國開始發展動物測試替代技術及產業，亦應建立學習及應用的動物替代技術案例及資料庫，以利替代技術的擴大應用。

建議三：結合 IACUC 計畫審查機制，強化教育訓練

我國動物實驗管理系統乃基於「動物保護法」，採取自主管理制度，要求國內動物科學應用機構成立實驗動物照護及使用委員會（IACUC）進行動物實驗的人道管理，並輔以外部查核機制。本研究研析國際上實驗動物替代技術，建立我國動物實驗替代研發推廣共識平台，但對於採用何種測試方法的各項考量，除了研究人員的主觀想法，各機構實驗動物照護及使用委員會或小組（IACUC）委員依 3R 原則進行計畫書審查及建議乃屬最重要的把關者。若能針對各單位 IACUC 委員提供更專業 3R 知識及教育訓練，在督導該機構進行實驗動物之科學應用時更能考量各項替代方案及損害利益評估，並引導研究人員實驗設計的嚴謹性，藉以推動動物測試替代或減量技術的應用。

因此，本研究結合上述結論三、動物替代測試方法發展不易，須長期舉行研討會與教育訓練，不斷凝聚共識方能有所進展。除了辦理動物測試替代技術的推廣研習，也會持續辦理損害利益評估研習會，強化 IACUC 教育訓練，落實計畫書審查機制。未來持續累積下列內容，強化教育訓練機制：

- 1.建置動物倫理相關專業知識及 IACUC 外部委員人才庫。

- 2.提升動物實驗申請書的審查內涵，建立損害利益評估機制（計畫審查與IACUC教育訓練）。
- 3.推廣與國際間替代試驗測試方法之執行及其結果審查等學術及實務經驗之交流。
- 4.舉行醫學教育及替代方案研習會（Work Shop）。
- 5.持續強化動物試驗設施之品質提升（動物設施品質評估與認證、內外部監督查核之教育訓練、較差之動物設施改善或裁撤）。

參考文獻

一、中文參考文獻

1. 陳炯東等人。(2019)。動物保護管理制度與動物測試替代技術之國際交流研究報告。中華實驗動物學會。臺北市。
2. 陳炯東等人。(2018)。產品上市前動物測試替代方法研究報告。中華實驗動物學會。臺北市。
3. 經濟部工業局。(2018)。2018 生技產業白皮書。臺北市。
4. 林聰賢等人。(2017)。實驗動物照護及使用指引。行政院農業委員會。臺北市。
5. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。(2017)。農藥理化性及毒理試驗準則第三條附件一農藥理化性試驗項目修正規定。臺北市。
6. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。(2017)。動物用藥品檢驗標準。臺北市。
7. 行政院環境保護署。(2016)。新化學物質與既有化學物質資料登錄工具說明(第一版)。臺北市。
8. 翁志弘。(2016)。農藥市場發展現況及趨勢。國家實驗研究院科技政策研究與資訊中心。臺北市。
9. 張章得等人。(2016)。2016 在教育中看見動物福祉：動物實驗替代方案。中華民國生命關懷協會。臺北市。
10. 張維正等人。(2015)。國際實驗動物人道管理監督查核及訓練制度研究報告。中華實驗動物學會。臺北市。
11. 行政院衛生福利部食品藥物管理署公告。(2014)。「藥品非臨床試驗安全性規範(第五版)」。臺北市。
12. 美國食品藥物管理局。(2013)。運用國際標準 ISO-10993：醫療器材生物性評估第一部分：評估與測試。
13. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。(2011)。動物用藥品新藥試驗辦法。臺北市。
14. 行政院衛生福利部食品藥物管理署公告。(1999)。「健康食品安全性評估方法」。臺北市。

二、英文參考文獻

1. Boyd Group/RSPCA (2004). Categorising the severity of scientific procedures on animals: summary and reports from three round-table discussions. RSPCA Research Animals Department: Horsham, UK.
2. EC. (2020). Report from the Commission to the European Parliament and the Council - 2019 report on the statistics on the use of animals for scientific

- purposes in the Member States of the European Union in 2015-2017. COM (2020) 16 final.
3. ECHA. (2016) . New Approach Methodologies in Regulatory Science - Proceedings of a scientific workshop. European Chemicals Agency (ECHA) , Helsinki. ECHA-16-R-21-EN.
 4. EFSA. (2019) . EFSA Workshop on in vitro comparative metabolism studies in regulatory pesticide risk assessment. EFSA Supporting publication. 16 (4) , EN-1618 .
 5. EPAA. (2019) . Annual Report 2019. European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing.
 6. EU. (2010) . Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union.
 7. EURL-ECVAM. (2019) . Proceeding and programme of JRC Summer School 2019: Non-Animal Approaches in Science-Challenges & Future Directions. Publications Office of the European Union.
 8. EURL-ECVAM. (2020) . EURL-ECVAM Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches (2019) . Publications Office of the European Union.
 9. ICCVAM. (2018) . A Strategic Roadmap for Establishing New Approaches to Evaluate the Safety of Chemicals and Medical Products in the United States. Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods.
 10. OECD. (2018) . Validation Report of the two new Test Guidelines on Determination of In Vitro Intrinsic Clearance Using Cryopreserved Rainbow Trout Hepatocytes or Liver S9 Sub-Cellular Fractions. Series on Testing and Assessment, No. 281. OECD Publishing, Paris.
 11. OECD. (2018) . Guidance Document on Good In Vitro Method Practices (GIVIMP) . OECD Series on Testing and Assessment, No. 286. OECD Publishing, Paris.
 12. RSPCA/LASA. (2015) . Guiding principles on good practice for Ethical Review Processes. 3rd edition, Sep 2015.
 13. U.S. Food and Drug Administration. (2017) .FDA'S PREDICTIVE TOXICOLOGY ROADMAP.
 14. United States Office of Chemical Safety and Pollution Prevention Environmental Protection Agency. (2018) . Strategic Plan to Promote the Development and Implementation of Alternative Test Methods Within the TSCA Program

三、參考網頁

1. 英國動物防止虐待動物協會網站
<https://www.rspca.org.uk/>
2. 美國國家環境衛生科學研究所國家毒理學計畫網站

3. <https://ntp.niehs.nih.gov/results/tox21/history-index.html>
美國環境保護局 21 世紀毒理學計畫網站
4. <https://www.epa.gov/chemical-research/toxicology-testing-21st-century-tox21>
歐盟參考實驗室「歐洲替代方法確效中心」驗證方法網頁
5. <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/validation-regulatory-acceptance/eurl-ecvams-validation-process/eurl-ecvams-validation-process>
國家衛生研究院國家環境毒物研究中心-非動物性替代方法網頁
6. <http://nehrc.nhri.org.tw/toxic/alternative.php>
台美檢驗科技有限公司
7. <https://www.superlab.com.tw/cro/general-toxicology/>
進階生物科技股份有限公司
8. https://www.level.com.tw/service_tw_1.php
昌達生化科技股份有限公司毒理與臨床前測試中心
9. <https://www.qps.com/service/toxicology/>
麥德凱生科股份有限公司
10. http://www.medgaea.com.tw/index.php?p=service_title
亮宇生物科技股份有限公司
11. <http://www.leon-bio.com.tw/services/biology/>
財團法人農業科技研究院
12. <https://cro.atri.org.tw/index.php/about/index>
啓弘生物科技股份有限公司生技藥品檢驗中心
13. <http://www.tfbsbio.com/tw/service/detail/148473618013976>
三華生物科技股份有限公司臨床前試驗中心
14. <http://www.trineo.com.tw/xmdoc/cont?xsmsid=0J270529157872297444>
財團法人國家實驗研究院國家實驗動物中心
15. www.nlac.org.tw
歐美生技股份有限公司
16. http://www.euroamerica.com.tw/test_items.php
財團法人工業技術研究院
17. <https://www.itri.org.tw/>
台灣檢驗科技股份有限公司超微量工業安全實驗室
18. <https://campaigns.sgs.com/zh-tw/taiwan/sgs-in-taiwan>
財團法人塑膠工業技術發展中心
19. <https://www.pidc.org.tw/>
瑞德生物科技股份有限公司
20. <http://masterlab.com.tw/about.php>
瑞德生物科技股份有限公司

附件

附件 2-1 歐盟實驗性或研究用動物保護指令 2010/63/EU-第五章 避免重複和替代方法（第 46-49 條）

附件 2-2 體外測試方法規範指南簡介 Guidance Document on Good In Vitro Method Practices （GIVIMP）

附件 4-1 108 年度動物實驗計畫中可能導入減量替代方案之案件-109 年專家盤點

附件2-1 歐盟實驗性或研究用動物保護指令2010/63/EU-第五章 避免重複和替代方法（第46-49條）

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22

September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes

CHAPTER V

AVOIDANCE OF DUPLICATION AND ALTERNATIVE APPROACHES

Article 46

Avoidance of duplication of procedures

Each Member State shall accept data from other Member States that are generated by procedures recognised by the legislation of the Union, unless further procedures need to be carried out regarding that data for the protection of public health, safety or the environment.

第四十六條

避免程序重複

每個成員國均應接受國際聯盟立法認可的程序所產生的其他成員國的數據，除非需要為保護公眾健康，安全或環境而對該數據進行進一步的程序。

Article 47

Alternative approaches

1. The Commission and the Member States shall contribute to the development and validation of alternative approaches which could provide the same or higher levels of information as those obtained in procedures using animals, but which do not involve the use of animals or use fewer animals or which entail less painful procedures, and they shall take such other steps as they consider appropriate to encourage research in this field.

2. Member States shall assist the Commission in identifying and nominating suitable specialised and qualified laboratories to carry out such validation studies.

3. After consulting the Member States, the Commission shall set the priorities for those validation studies and allocate the tasks between the laboratories for carrying out those studies.

4. Member States shall, at national level, ensure the promotion of alternative approaches and the dissemination of information thereon.

5. Member States shall nominate a single point of contact to provide advice on the regulatory relevance and suitability of alternative approaches proposed for validation.

6. The Commission shall take appropriate action with a view to obtaining international acceptance of alternative approaches validated in the Union.

第47條

替代方法

1. 委員會和成員國應促進替代方法的開發和驗證，這些替代方法可以提供與使用動物的程序中獲得的信息相同或更高水平的信息，但不涉及使用動物或減少使用動物或這將減少痛苦的程序，他們將採取他們認為適當的其他步驟來

- 鼓勵該領域的研究。
2. 會員國應協助委員會確定和提名合適的專門和合格實驗室進行此類驗證研究。
 3. 與成員國磋商後，委員會應確定驗證研究的優先級，並在實驗室之間分配開展這些研究的任務。
 4. 會員國應在國家一級確保促進替代方法並在其上傳播信息。
 5. 會員國應指定一個聯絡點，就擬議驗證的替代方法的監管相關性和適用性提供建議。
 6. 委員會應採取適當行動，以期獲得國際上對國際電聯認可的替代方法的接受。

Article 48

Union Reference Laboratory

1. The Union Reference Laboratory and its duties and tasks shall be those referred to in Annex VII.
2. The Union Reference Laboratory may collect charges for the services it provides that do not directly contribute to the further advancement of replacement, reduction and refinement.
3. Detailed rules necessary for the implementation of paragraph 2 of this Article and Annex VII may be adopted in accordance with the regulatory procedure referred to in Article 56 (3) .

第48條

聯合參考實驗室

1. 聯盟參考實驗室及其職責和任務應為附件七中提及的那些。
2. 聯合參考實驗室可能會對其所提供的服務收取費用，而這些服務不會直接促進替換，縮減和完善的進一步發展。
3. 實施本條第2款和附件七所必需的詳細規則，可以按照第56條第3款所述的管程序通過。

Article 49

National committees for the protection of animals used for scientific purposes

1. Each Member State shall establish a national committee for the protection of animals used for scientific purposes. It shall advise the competent authorities and animal-welfare bodies on matters dealing with the acquisition, breeding, accommodation, care and use of animals in procedures and ensure sharing of best practice.
2. The national committees referred to in paragraph 1 shall exchange information on the operation of animal-welfare bodies and project evaluation and share best practice within the Union.

第四十九條

國家保護用於科學目的的動物的委員會

1. 每個會員國應設立一個國家委員會，以保護用於科學目的的動物。委員會應

就程序中有關動物的獲取，繁殖，住宿，護理和使用的事項向主管當局和動物福利機構提供諮詢，並確保分享最佳做法。

- 2.第1款所指國家委員會應就動物福利機構的運作和項目評估交換信息，並在國際電聯內部分享最佳做法。

附件2-2 體外測試方法規範指南簡介Guidance Document on Good In Vitro Method Practices (GIVIMP)

經合組織 (OECD) 將“關於開發和實施用於人類安全性評估的法規，使用良好的體外測試方法規範 (GIVIMP)”的指導文件確定為高度優先的要求。該文件於 2018 年 4 月獲得測試指南計劃國家協調工作小組的批准，並在化學委員會聯席會議和化學，農藥和生物技術工作組的領導下出版。

該指導文件的目的是通過應用所有必要的良好科學、技術和質量規範 (從體外方法開發到用於監管用途的體外方法實施)，減少基於細胞和組織的體外方法衍生的預測的不確定性。該指導文件也適用於經合組織已經接受的體外方法。

GIVIMP 的開發始於 2013 年，當時經合組織良好實驗室規範工作組 (WG GLP) 和測試指南計劃國家協調工作小組 (WNT) 認為在這些重要問題上為 OECD 國家提供指導是值得的。該指南草案由驗證機構歐盟動物試驗替代參考實驗室 (EURL-ECVAM) 協調，並於 2015 年 4 月被 OECD 試驗指南計劃的工作計劃接受，作為 WG GLP 和 WNT 之間的一項聯合活動。

該指南主要針對實施體外方法的用戶，但也為體外方法開發人員提供了指南。該文件滿足以下目標；

1. 有關適用於以下方面的最新體外方法的良好實踐的詳細更新：各種化合物的監管人員安全評估。
2. 指導體外方法的用戶和實施者，以幫助確保此類方法的標準操作程序 (SOP) 設計合理，功能強大，定義明確並能夠在 GLP 環境中進行，這是必不可少的在監管環境中使用。
3. 描述可能影響產品可靠性和相關性的關鍵方面用於定量人類安全性評估目的的體外數據。
4. 描述報告標準，應用良好的實驗設計，建立接受標準以及基於來自體外數據集的科學證據的性能標準的重要性。

GIVIMP 的開發和修訂是在一大批專家 (包括 WG GLP 和 WNT 專家) 的投入下進行的。此外，經合組織 GIVIMP 專家組 (專門為 GIVIMP 建立) 通過

電話會議，面對面會議和兩輪書面評論提供了意見。

2017年1月，經合組織工作組 GLP 和經合組織 WNT 提名專家的第一輪意見被轉發給 EURL-ECVAM，後者在適用的情況下納入了這些意見並準備了更新版本。經合組織 GIVIMP 專家組於 2017年3月23日至24日處理了具體的未決問題（附件 D OECD GIVIMP 會議於 2017年3月23日至24日舉行），並就 GIVIMP 的內容，結構和措辭達成了一致，以便向 OECD 提供最新信息。版本準備進入第二個經合組織評論回合。在這一輪之後，2017年夏季，EURL-ECVAM 準備了最終的 GIVIMP 版本，並提交給 OECD 以供採用。

為了增強對動物測試的體外替代方法的信心，生成數據的測試方法和條件必須遵守已定義的標準，以確保所得數據嚴格且可重現。良好體外方法規範（GIVIMP），用於開發和實施用於人類安全性評估的法規使用的體外方法，旨在幫助減少基於細胞和組織的體外方法衍生的化學安全性預測的不確定性。GIVIMP 為測試方法開發人員和最終用戶提供有關體外方法關鍵要素的最終數據的指南。GIVIMP 解決了與體外工作有關的十個重要方面：(1) 角色和責任，(2) 質量考慮，(3) 設施 (4) 儀器，材料和試劑，(5) 測試系統，(6) 測試和參考/控制項目，(7) 標準操作程序（SOP），(8) 方法的執行，(9) 結果報告，(10) 記錄和材料的存儲和保留。

執行摘要

體外方法的迅速發展，以及對毒理學後遺症所涉及的生物學過程的更好理解，促進了多種預測性體外方法的發展。這些體外方法可能是使用動物識別和表徵化學安全危害的可靠替代方法。在某些監管部門中，最近的監管變化現在接受或在某些情況下需要體外數據來代替動物研究的數據。當證明了科學的適用性後，使用體外方法可以減少所需的資源並提高化學安全性評估的有效性。為了將這些替代方案用於監管決策，必須確保科學的完整性和質量保證。

制定了《良好體外方法規範指南》（GIVIMP），以開發和實施用於人類安全性評估的法規使用的體外方法，作為最佳實踐的參考，並作為避免體外毒理學中重現性危機的工具。該項目是良好實驗室規範工作組和測試指南計劃國家協調員工作組的一項聯合活動。該文件包括開發和使用體外方法進行化學安全性評估的指南，以及在其中生成和記錄測試數據的實驗室環境的指南。該項目由

歐盟參考實驗室協調，旨在替代歐盟委員會聯合研究中心（JRC）的動物試驗替代品（EURL-ECVAM），以減少基於細胞和組織的體外方法衍生預測的不確定性。GIVIMP 包含一些術語表，以確保開發人員和最終用戶可以達成共識，並解決與體外工作有關的十個重要方面。

GIVIMP 分為十個部分，內容包括：1.角色和責任。2.質量考量。3.設施。4.儀器、材料和試劑。5.測試系統。6.測試和參考/控制項目。7.標準操作程序。8.方法的執行。9.結果報告。10.記錄和材料的存儲和保存。在每章的開頭，都包含一個摘要框，其中包含關鍵信息，關鍵內容，改進實踐指南和建議。由於某些讀者可能只閱讀一個章節，因此每章都重複使用縮寫，即每個章節都可以視為一個單獨的文件。縮略語在每章的第一個出現處完整顯示，對於本章的其餘部分，僅使用縮略語。

在整個文件中，使用“must”一詞來表示義務；must 實例通常也特定於特定上下文。使用“should（be）”一詞來傳達建議，並且在特定情況下可能存在正當理由而無視該建議，但是必須理解所有含義並仔細權衡（和記錄）。“may（be）”一詞通常用於傳達建議，因此實際上是可選的。

第 1 章：角色和責任，描述了關鍵參與者在體外方法開發和用於安全性評估的生命週期中的角色，並提供了改進方法和結果數據的法規接受性的指導。

關鍵信息：從開發到用於安全性評估目的的體外方法生命週期，都有許多關鍵參與者，該指南明確指出了他們的個人和集體責任。

關鍵內容：描述過程中涉及的所有目標群體，例如體外方法開發人員，測試系統（細胞，組織）提供者，驗證機構，政府間合作組織，設備，材料和試劑的提供者，體外方法用戶（例如測試實驗室，大型工業和中小型企業），贊助商，接收機構和 GLP 監控機構。

改進、實踐的指導：除了進行出色的科研工作所必需的元素外，與體外方法和測試系統有關的其他要求（例如文件，所有權，身份和基因組成）也是其體外方法的關鍵在監管層面上的接受度。

針對幾個目標群體，就如何落實其職責以促進開發和實施用於監管用途的體外方法提出了建議。

第 2 章：質量注意事項討論了開發和實施體外方法的要求，以及確保所得數據完整性的注意事項。

關鍵訊息：為了充分發揮體外方法的潛力並使它們成為新的毒理學方法的關鍵工具，必須以確保科學完整性和品質的方式開發和應用它們。

關鍵內容：討論品質保證與品質控制，用於開發和實施體外方法的基於品質風險的評估和品質控制要求，所需文件的類型以及有關數據完整性的品質注意事項。

改進、實踐的指導：控制圖可以用作功能強大且簡單的統計工具，以幫助日常監視任何定量過程的品質並確定過程是否處於受控狀態。

描述了有關基本品質風險評估問題以及完整性檢查在細胞和組織培養物中的適用性的建議。

第 3 章：設備，詳細介紹了進行體外細胞和組織培養的物理環境，以限制可能對科學產生不利的影響。

關鍵訊息：體外細胞和組織培養設施應適合目的，對體外方法相關的工作流程的詳細了解至關重要。需要了解可能會對體外方法工作產生不利影響的特定實驗室功能和元素的分離。

關鍵內容：闡述安全性，安全風險評估和管理，包括對風險組和生物安全等級要求的描述，確保細胞和組織培養物完整性的適當設施設計，體外方法本身以及所得數據。

改進、實踐的指導：本章介紹了有關分離級別的指南，以避免新測試系統的交叉污染和隔離措施。流程圖顯示人員、材料和試劑、測試系統以及測試和參考項目以及廢物收集的動向，表明需要分離哪些過程。

給出了對感染性微生物，層流生物安全櫃和生物安全等級進行分類的建議。

第 4 章：儀器、材料和試劑指出了設備和試劑的質量要求，並包括提高方法和結果重現性的建議。

關鍵信息：儀器，包括經過驗證的計算機系統，應定期維護，校準和驗證（如果需要）。材料和試劑應從可靠的來源購買，以確保體外方法結果的完整性和可靠性。

關鍵內容：詳細說明了設備、材料和試劑的質量要求（例如，使用血清，使用動物來源血清的替代方法，抗生素，特殊介質，分析證書，穩定性和可追溯性）。

改進、實踐的指導：通過詳細介紹與體外相關的材料和試劑的多樣性，讀者可以為自己的工作確定其優勢和局限性。

建議通過了解正在使用的材料和試劑來減少實驗差異，並提高實驗室內和實驗室之間的可重複性，並注意執行校準的儀器性能檢查和適當設置操作極限。

第 5 章：測試系統，介紹了基於細胞和組織的測試系統的存儲、處理、認證和表徵的最佳實踐。

關鍵信息：隨著科學技術的進步，已經開發了各種不同的基於細胞和組織培養物的測試系統，但是由於由多種因素引起的可靠性問題，因此在監管機構批准的測試準則方法中僅使用了很少的方法。

關鍵內容：已在開發階段詳細闡述了良好細胞培養規範的後勤、冷凍儲存、處理、識別、遏止、鑑定和表徵測試系統（例如細胞系、幹細胞、原代細胞、工程組織等）。

改進、實踐的指導：給出了檢查測試系統身份和特性，比較超低溫冷凍方法和良好的亞培養、冷凍保存和保存方法的過程。

對於細胞和組織來源，污染物篩選，測試系統生物標誌物和功能測試，均提出了建議，因為它可能會影響體外方法的各個方面。

第 6 章：測試和參考/對照項目，提供有關如何評估測試系統和測試項目相互作用的信息，以確保準確和可靠的暴露並避免由於不溶性和其他限制而引起的體外方法干擾。

關鍵信息：應充分理解測試，參考和對照項目的製備和表徵以及它們與體外環境的相互作用，以確保獲得可靠且相關的結果。

關鍵內容：描述了測試項目（表徵、溶解度和處理），測試系統和測試項目在開發過程中的相互作用以及生物動力學，以確保測試項目的兼容性以及正確和可靠的暴露。

改進操作指南：有關溶解度測定方法的更多詳細信息；該方法適用的測試項目的局限性將使讀者可以根據自己的特殊需求選擇最合適的方

法。

建議確定合適的參考和對照項目，以避免測試，參考和/或對照項目干擾體外方法

第 7 章：標準操作程序，建議使用體外方法簡化人員工作的過程，以確保每次使用體外方法時都遵循類似的過程，並減少由於偏離固定方法而引起的可變性。

關鍵信息：應編寫和準備標準操作規程（SOP）以及隨附的表格、模板或工作表，以使其成為進行體外方法研究時簡化用戶工作的工具。

關鍵內容：本章詳細說明了用於常規測試的體外方法的正確文檔，包括對清晰簡潔的 SOP 的要求。

改進、實踐的指導：以逐步的方式描述了非常規體外方法向常規體外方法的演變。

給出了推導一組清晰且編寫良好的體外方法 SOP 的建議。

第 8 章：方法的性能，描述實驗設計的元素，例如佈局板、數據分析、線性度評估和準確性，以確保正確執行該方法並確保終點可靠。

關鍵信息：由於對方法性能的嚴格評估，體外方法開發人員需要確保他們設計的體外方法能夠產生高質量的數據，即適合目的。

關鍵內容：詳細介紹了實驗設計的元素以及如何確定方法的性能，例如佈局板、數據分析和內部方法驗證等方面，包括線性、範圍、準確性等評估。

改進、實踐的指導：提供了詳細信息，以提高運行多個獨立實驗時端點計算的可靠性，並使用工具量化性能特徵。

對於體外方法開發人員，建議如何增加出於監管目的採用其方法的可能性。

第 9 章：結果報告包括有關在科學出版物以及所有相關文件中包括適當的詳細信息和記錄做法的指南，以提高方法和結果的透明度和可重複性。

關鍵信息：只有當所有重要的細節都以允許他人複製或完全重構體外方法研究的方式記錄下來時，才能實現對體外方法的良好報告。

關鍵內容：提供有關體外方法研究的出版和報告以及出於監管目的的數據報告的指南。

改進、實踐的指導：詳細介紹了科學數據管理的示例和可用資源，以提高科學家的透明度和開放性，從而避免了與數據可重複性相關的問題，同時也促進了電子數據共享，以進行各種研究和安全評估。建議不僅發布或提供體外方法的結果，而且建議所有相關文件和為改進方法而引入的更改及其合理性。

第 10 章：紀錄的存儲和保留討論了在體外方法的整個週期中對數據的可追溯性、存儲、驗證和傳輸的要求。

關鍵信息：在通過體外方法收集數據之前，重要的是評估收集的格式、涉及的複雜性以及對數據的可追溯性、存儲、驗證和傳輸的要求。

關鍵內容：本章深入介紹了哪些關鍵紀錄和材料要歸檔和保留，還詳細介紹了流程的充分文檔和紀錄管理以及材料來源的可追溯性。

改進、實踐的指導：必須制定數據完整性安排，並為書面和電子數據描述結構化的方法和必要的過程組件，以確保收集的體外方法數據可歸因、清晰、原始和準確。

針對體外方法涉及的所有目標群體的保留、歸檔、檢索、備份和還原有關的必要程序，詳細介紹了建議。

十個部分中每個部分的開頭都突顯關鍵消息和內容。GIVIMP 還包括八個附件，這些附件針對與良好體外方法實踐相關的特定主題提供了詳細而直接的指導。

範圍

GIVIMP 的主要目標包括提高體外方法的可靠性和健全性，減少基於體外預測的不確定性，並因此提高監管機構對體外估計的安全性措施的接受度。考慮到良好的科學、技術和質量規範，GIVIMP 指南的範圍是確保從監管方法的體外方法開發到最終體外方法實施的整個過程更加有效。

該文件的重點主要在於使用哺乳動物細胞和組織培養物進行人類安全評估。但是，它可以擴展到其他領域，例如環境安全評估、基因治療和免疫學領域。它主要集中在更常用的 2D 細胞和組織培養系統上，但也可以應用於其他測試系統，例如 3D 培養，整個器官系統等。

該文件主要適用於當前的測試系統、實踐、趨勢和過程，如果覺得相關，

WNT 將負責發布新版本。在各章中，提供了不同類型的 2D 和 3D 測試系統（細胞系、共培養物、原代細胞、幹細胞和組織培養物）作為示例，但是它們仍然存在一些可靠性問題。使用其中一些測試系統進行當前的法規測試（例如，當前的“不可複製性流行病”，挑戰與 3D 系統相關的科學問題）（Frye 等人，2015 [3]）。因此，經合組織 GIVIMP 專家組之間達成共識，即某些較複雜的測試系統可能尚未達到 OECD 測試準則計畫所要求的水平，但是，日後在可靠性問題，它們可能會被接受與解決。

在該指南中，儘可能使用 OECD 優良實驗室規範（GLP）術語測試項目，因為其適用範圍從純物質、混合物、多成分物質到其他類型的測試項目（例如，納米顆粒、醫療設備）。

該指南文件針對過程中涉及的所有參與者，例如體外方法開發人員、體外測試系統生產商、驗證機構、設備、材料和試劑的生產商、體外方法用戶、測試實驗室、大型行業和中小型企業以及接收機構、監督機構、認可機構和經合組織。該指南旨在進一步促進將 OECD 數據相互接受（MAD）協議應用於通過體外方法生成的數據，因此有助於避免不必要的重複測試。該指南描述了與體外方法開發、標準化、協調和國際認可有關的領域，這些領域將從更詳細的科學、技術和質量指南中受益。

GIVIMP 文件是針對不同用戶編寫的，包括 GLP 測試設備以及研究實驗室，他們正在開發新的體外方法。在後一種情況下，完全遵守 GIVIMP 可能是不現實的，但是儘可能多地遵守“良好實踐”將有助於在監管環境中接受和常規使用體外方法。GIVIMP 並非旨在複製或替代現有的 OECD 指導或諮詢文件，而是補充性的，旨在彌補特定差距，並在一份文件中收集有關最佳科學、技術和質量實踐的可用參考資料和信息。

附件4-1 108年度動物實驗計畫中可能導入減量替代方案之案件-109年專家盤點

(基於資訊保密規定，本研究報告(完整版)僅提供農委會)

註1.本研究報告(不含盤點清單版)不便揭露，共135頁的盤點內容。

註2.本研究僅以醫療器材項目部份內容表達專家盤點過程，請參閱表4-2-1。

註3.本研究替代技術專家小組於109年盤點彙整狀況，請參閱表4-2-2 108年度動物實驗計畫中可能導入減量替代方案之案件統計-109年專家盤點彙整。)

動物實驗計畫書 研究分類	協助盤點專家
1.醫學研究	中央研究院生物醫學科學研究所 陳燕輝主任
2.農業研究 8.農藥	行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 蔡鍵任組長
3.藥物(含中草藥)	汎球藥理研究所(股)公司 沈建璋總監
4.健康食品。5.食品	麥德凱生科股份有限公司 謝逸璇博士
6.毒、化學品	汎球藥理研究所(股)公司 沈建璋總監
7.醫療器材	麥德凱生科股份有限公司 謝逸璇博士
9.動物用藥及疫苗	行政院農委會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所 張家嘉助理研究員
10.動物保健品、飼料添加物	行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 蔡鍵任組長
11.(含藥)化粧品。	麥德凱生科股份有限公司 謝逸璇博士
12.其他(請說明)	中央研究院生物醫學科學研究所 陳燕輝主任
教育訓練	中央研究院生物醫學科學研究所 陳燕輝主任