

ICS 65.020.30

B 44



中国实验动物学会团体标准

T/CALAS 31—2017

实验动物 安乐死指南

Laboratory animal - Guideline for euthanasia

2017-12-29 发布

2018-01-01 实施

中国实验动物学会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则编写。

本标准中附录 A、附录 B、附录 C 为规范性附录。

本标准由中国实验动物学会归口。

本标准由全国实验动物标准化技术委员会 (SAC/TC281) 技术审查。

本标准由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会提出并组织起草。

本标准起草单位：中国医学科学院医学实验动物研究所。

本标准主要起草人：秦川、孔琪、魏强、高虹。

引 言

安乐死是实验动物福利的一个核心内容。美国兽医医学会 (AVMA) 发布了 *Guidelines for the Euthanasia of Animals* (2013 版《动物安乐死指南》)。加拿大动物保护协会 (CCAC) 发布了 *CCAC Guidelines on: Euthanasia of Animals Used in Science* (CCAC《科学用动物安乐死指南》)。欧盟委员会发布了 *Recommendations for Euthanasia of Experimental Animals* (《实验动物安乐死推荐方法》)。其中, AVMA 的《动物安乐死指南》在世界范围, 尤其是欧美国家广泛使用。

本标准主要参考以上三个指南, 结合中国国情编制而成, 也参考了中国台湾地区、日本、新加坡等的文献资料。

实验动物 安乐死指南

1 范围

本标准规定了实验动物安乐死的原则性要求，包括实施安乐死的基本原则、实施背景、仁慈终点、药物选择、常用方法等。

本标准适用于实验动物安乐死。

2 规范性引用文件

下列文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 14925 《实验动物 环境及设施》

国科发财字〔2006〕398号 《关于善待实验动物的指导性意见》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

安乐死 euthanasia

用公认的、人道的方式处死动物的过程。

3.2

仁慈终点 human endpoint

动物实验过程中，选择动物表现疼痛和压抑的较早阶段为实验的终点。

4 基本原则

4.1 尊重生命：安乐死的整个过程均应尊重动物生命。

4.2 目的明确：安乐死的目的是以人道的方式使动物死亡，应以最低程度的疼痛、最短的时间使动物失去知觉和痛觉。

4.3 选对方法：应根据动物种类、年龄和健康状态选择合适的方法。还应考虑以下因素：动物的大小、数量、温驯度、兴奋度，对疼痛、窘迫和疾病的感受，保定方法，是否需组织采样，操作人员容易掌握的技术，对操作人员的影响等。选择不常用方法时，应咨询实验动物医师的意见。

4.4 福利审查：动物实验方案中应包含安乐死或善后方法。应符合《关于善待实验动物的指导性意见》有关要求，且通过所在机构实验动物管理和使用委员会（IACUC）的审查。

4.5 动物保定：适当的保定可降低动物的恐惧、焦虑及疼痛，也可保障操作人员的安全。

4.6 人员培训：IACUC 应制定计划，培训操作人员掌握正确的安乐死技术方法，了解实施动物安乐死的目的和动物福利原则，熟悉动物疼痛或窘迫体征，并能确认动物死亡。

4.7 场所选择：动物安乐死时，应选择远离同种动物的非公开场所实施。环境设施符合 GB 14925 的有关要求。

4.8 辅助措施：动物安乐死首要考虑为解除动物的疼痛与窘迫，面对神经质或难以驾驭的动物，可先给予镇定剂或止痛剂等药物，以便降低动物的紧迫与恐惧。

4.9 死亡确认：实施安乐死后，操作人员应检查确认动物是否已经死亡，主要依据是心跳是否完全停止。

5 实施条件

- a) 已达到实验目的；
- b) 因研究需要采集血液或组织样本；
- c) 动物疼痛程度超过预期；
- d) 严重影响动物健康和动物福利；
- e) 其他原因不适合继续繁殖或饲养。

6 选择仁慈终点的原则

6.1 体重减轻：体重减轻达动物原体重的 20%~25%，或动物出现恶病质或消耗性症状。

6.2 食欲丧失：小型啮齿类动物完全丧失食欲达 24 h 或食欲不佳（低于正常食量的 50%）达 3 天。大动物完全丧失食欲达 5 天或食欲不佳（低于正常食量的 50%）达 7 天。

6.3 虚弱或濒死：无法进食或饮水。动物在没有麻醉或镇静的状态下，长达 24 h 无法站立或极度勉强才可站立，或表现精神萎靡伴随体温过低（常温动物低于 37℃）。

6.4 严重感染：体温升高，白细胞数目增加，抗生素治疗无效并伴随动物全身性不适症状。

6.5 肿瘤：自发性或实验性肿瘤，均需仁慈终点评估。肿瘤生长超过动物原体重的 10%，肿瘤平均直径在成年小鼠超过 20 mm、成年大鼠超过 40 mm；体表肿瘤表面出现溃疡、坏死或感染；腹腔异常扩张、呼吸困难；神经精神症状。

6.6 动物预后不佳：出现器官严重丧失功能的临床症状且治疗无效，或经实验动物医师判断预后不佳。例如，呼吸困难、发绀；大失血、严重贫血（低于正常值 20%）；严重呕吐或下痢、消化道阻塞或套叠、腹膜炎、内脏摘除手术；肾衰竭；中枢神经抑制、震颤、瘫痪、止痛剂治疗无效的疼痛；肢体功能丧失；皮肤伤口无法愈合、重复性自残或严重烫伤等。

7 安乐死方法

7.1 总体要求

7.1.1 本标准推荐的常用实验动物安乐死方法参见附录 A。

7.1.2 本标准推荐的常用啮齿类动物安乐死方法参见附录 B。

7.1.3 安乐死方法选择要点主要包括以下几个方面：

- a) 可使动物无疼痛、恐惧、焦虑和不安地失去知觉直至死亡；
- b) 可缩短动物从失去知觉到死亡的时间；

- c) 安乐死药物及方法经过验证, 科学可靠;
- d) 不影响操作人员情绪、健康和安
- e) 安乐死过程不可逆转;
- f) 适合不同种类、年龄与健康状况的动物;
- g) 适合不同实验需求和目的;
- h) 所用设备方便易得, 便于维护;
- i) 不影响环境卫生。

7.2 吸入性药物

7.2.1 常见吸入性药物包括二氧化碳、氮气、一氧化碳、乙醚、氟烷、甲氧氟烷、异氟烷、安氟醚等。

7.2.2 二氧化碳是实验动物常用的吸入性药物, 吸入 40%二氧化碳时很快达到麻醉效果, 而长时间持续吸入时可导致动物死亡。安乐死箱内动物不宜过多。可使用透视性好的箱子, 以便确认动物死亡。二氧化碳安乐死方法见附录 C。

7.2.3 大部分吸入性药物对人体有害, 应在通风良好场所实施。

7.3 注射药物

7.3.1 有静脉、腹腔等多种注射方法, 优先选择静脉注射。

7.3.2 注射药物是动物安乐死的首选方法。

7.3.3 巴比妥类药物及其衍生物是动物安乐死的首选注射药物。

7.3.4 心脏注射技术难度大, 只用于呈现垂死、休克或深度麻醉中的动物。

7.3.5 腹腔注射需使用较高剂量的药物, 且可使动物死亡时间延长及死前挣扎。

7.4 物理方法

7.4.1 常用物理方法包括颈椎脱臼、断颈、放血、枪击、电击等。

7.4.2 物理方法可用于以下情况: 解剖性状适合使用的小型啮齿类动物; 大型动物; 其他安乐死方法影响实验结果。

7.4.3 所有操作人员应接受完整的技术训练, 并以尸体多次练习后方可正式实施。

7.4.4 颈椎脱臼法可用于体重低于 200 g 的啮齿类动物、禽类, 以及体重低于 1 kg 的仔兔。除非有特殊需求, 实施颈椎脱臼前应先给予动物镇定剂或吸入二氧化碳, 以减少动物的压力。

7.4.5 因实验需求无法使用化学药物或二氧化碳时, 可使用断颈法。如因实验所需采集动物的全身血液或放血, 动物需先麻醉或失去知觉后实施。

7.4.6 电击等物理方法需配合使用第二种方法 (如放血或重复电击)。

附录 A

(规范性附录)

常用实验动物安乐死方法

A.1 常用实验动物安乐死方法见附表 A.1。

附表 A.1 常用实验动物安乐死方法

安乐死方法	体重小于 125 g 啮齿类动物	体重 125 g~ 1 kg 啮齿类 动物/兔	体重 1~5 kg 啮齿类动物/兔	犬	猫	非人 灵长 类	牛、马、 猪
静脉注射巴比妥类药物注射液	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
腹腔注射巴比妥类药物注射液	Y	Y	Y	X	Y	X	Y
二氧化碳 (CO ₂)	Y	Y	Y	X	X	X	X
麻醉后采血 (放血) 致死	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
麻醉后静脉注射氯化钾 (1~2 meq/kg)	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
麻醉后断颈	Y	Y	N	X	X	X	X
麻醉后颈椎脱臼	Y	Y	X	X	X	X	X
动物清醒中直接断颈	N	N	N	X	X	X	X
动物清醒中直接颈椎脱臼	N	X	X	X	X	X	X
乙醚	N	X	X	X	X	X	X
电昏后放血致死	X	X	X	X	X	X	Y

注: Y, 建议使用; X, 不得使用; N, 不推荐, 除非实验需要 (IACUC 审核通过后可使用)。

A.2 巴比妥类药物的安乐死剂量见附表 A.2, 一般以麻醉剂量的 3 倍作为安乐死剂量。

附表 A.2 推荐的巴比妥类药物的安乐死剂量 (单位: mg/kg)

类别	静脉注射	腹腔注射	类别	静脉注射	腹腔注射
小鼠	150	150	雪貂	120	120
大鼠	150	150	猫	80	80
地鼠	150	150	家禽	150	150
豚鼠	120	150	猪	90	N
兔	100	150	绵羊	90	N
犬	80	80	山羊	90	N
非人灵长类	80	N			

注: N, 不推荐使用。

附录 B

(规范性附录)

啮齿类动物安乐死方法

B.1 啮齿类动物安乐死方法操作要点

- B.1.1 注射巴比妥类药物（如戊巴比妥钠）为啮齿类动物安乐死首选方法。
- B.1.2 操作人员应具备保定动物、注射及相关技术，并能识别动物死亡状态。
- B.1.3 断颈时，需以锐利的外科剪刀断颈。
- B.1.4 低温麻醉后断颈需将仔鼠放置标本杯，浸入冰浆中约 20 min，以减少脑活性及流血。
- B.1.5 放血时应防止动物因放血不完整而苏醒。
- B.1.6 14 日龄以下啮齿类动物，不建议单独使用二氧化碳安乐死，需配合断颈。
- B.2 常用啮齿类动物安乐死方法见附表 B.1。

附表 B.1 常用啮齿类动物安乐死方法

方法	1~6 日龄	7~14 日龄	体重 < 200 g	体重 > 200 g
静脉注射戊巴比妥钠 (100~150 mg/kg, IP, IV)	N	Y	Y	Y
二氧化碳 (CO ₂)	N	Y	Y	Y
氟烷、甲氧氟烷、异氟醚、安氟醚、七氟醚、地氟醚	N	Y	Y	Y
麻醉后放血	N	N	Y	Y
麻醉后断颈	Y	Y	Y	Y
低温麻醉后断颈	Y	N	N	N
清醒中断颈	Y	X	X	X
麻醉后颈椎脱臼	N	N	Y	Y
麻醉后静脉注射氯化钾 (2 meq/kg, IV)	N	N	Y	Y
清醒中颈椎脱臼	N	N	X	X

注：Y，推荐方法；N，不推荐方法，但经 IACUC 同意后可使用的方法；X，不推荐使用；IP，腹腔注射；IV，静脉注射。

附录 C

(规范性附录)

二氧化碳 (CO₂) 安乐死方法

C.1 材料

- a) 待安乐死的动物;
- b) 安乐死箱, 可选用干净可透视的密闭盒;
- c) 有通气孔的密闭式上盖;
- d) 二氧化碳 (CO₂) 钢瓶。

C.2 方法

- C.2.1 放入动物前, 先灌注 CO₂ 于安乐死箱内 20~30 s。关闭 CO₂, 放入动物。
- C.2.2 再灌注 CO₂ 于箱内 1~5 min (兔需较长时间), 确定动物不动、不呼吸、瞳孔放大。关闭 CO₂, 再观察 2 min, 确定动物死亡。
- C.2.3 动物尸体以不透明感染性物质专用塑料袋包装、储藏至冷冻柜后依法无害化处理。
- C.3 100%CO₂ 安乐死参考时间见附表 C.1。

附表 C.1 100%CO₂ 安乐死参考时间

小鼠年龄	CO ₂ 暴露时间/min	备注
0~6 日龄	60	一般需配合断颈法合并使用
7~13 日龄	20	一般需配合断颈法合并使用
14~20 日龄	10	—
≥21 日龄	5	—