



中国医学科学院-苏州系统医学研究所

Institutional Animal Care and Use Committee

IACUC Guideline # 131.00

- 标题 TITLE :** 实验动物的安乐死指南. Guidelines for Euthanasia
- 目的 PURPOSE :** 帮助员工，使他们以仁慈地态度进行动物实验的操作并遵守相关法令、法规的要求。Describe the procedures for euthanasia.
- 职责 RESPONSIBILITY :** IACUC 委员会. IACUC Committee
- 审核、修订 REVIEW/REVISIONS :** 如有需要 IACUC 负责审核及修订本. SOP IACUC Office Staff will review and revise this SOP as needed.
- 在 IACUC 委员会批准后执行. Implementation will proceed upon approval of IACUC Committee.

流程 PROCEDURE :

一、安乐死总则

定义：迅速而没有痛苦地处死动物的步骤。用于安乐死的技术必需确保动物快速的失去意识，接着使动物在短时间内没有痛苦的或不能感觉到明显痛苦的死亡。Euthanasia is the act of inducing humane death in an animal by a method that induces rapid loss of consciousness and death with a minimum of pain, discomfort or distress.

仁慈的考虑：现在有很多种动物用于生物医学研究，而用于不同种属动物的安乐死方法又必须基于其解剖学和生理学的考虑。但是适用于所有种属的仁慈安乐死总则已经由实验动物国际理事会总结出（2006年）：

动物安乐死的原则：

当某一动物将要被处死时，它应该被致以最崇高的敬意。

安乐死一般是在一项研究结束时进行，或者是在动物会经历剧烈而长期的疼痛的情况下。因为安乐死可能需要作为一种手段来减轻动物的疼痛或苦恼，而这些疼痛或苦恼是不能通过使用止痛剂、镇定剂以及其他治疗来减轻的。



安乐死应该把重点放在使动物无痛死亡和没有疼痛的死亡。应尽可能的使用引起动物最少疼痛和苦恼的安乐死方法。

安乐死技术应该导致动物快速的失去知觉，接着心跳和呼吸停止，最终失去脑部功能。

安乐死技术要求动物在失去知觉之前，经历最小限度的苦恼、最小限度的疼痛和焦虑。

使用的安乐死技术应该适合动物的种属、年龄和健康状况。

在进行安乐死之后处置动物尸体之前，必须核实动物的死亡。

执行安乐死技术的人员应该进行培训：

安乐死应该由经过了安乐死程序使用培训的人员执行。特别是当使用断头、颈椎脱臼或脑脊髓刺毁等物理方法时，培训尤为重要，因为这些方法要求拥有相当的专业技术才能确保仁慈的结果。实验项目负责人负责确保执行安乐死的所有人员都受过适当的培训及指导。所有执行安乐死的人员都必须作为研究项目的一部分在经批准的实验方案中列出。除非有立即执行安乐死的必要以缓解动物剧烈的痛苦，否则动物饲养人员必须要先于实验人员联系后才可执行安乐死。The Principal Investigator is responsible for assuring the committee that each member of the study team is prepared and familiar with an established course of action in the event that an animal must be euthanized to alleviate pain or distress. Additionally, the protocol must include contact information for all members of the research group, so that someone with authority to deal with sick or injury animals can always be reached. Animal staff will only euthanize animals after contacting laboratory staff, unless immediate euthanasia is required to relieve acute animal suffering.

- 以最有效和最仁道的方式进行安乐死
- 识别相关种属动物的疼痛、恐惧和苦恼迹象
- 识别和确认相关种属动物的死亡

在选择安乐死的方法时，人们的心理反应应该考虑进去，但是不能优于对动物福利的考虑。

伦理委员会应该负责在遵循相关法律法规的条件下对动物安乐死方法进行批准认可。包括对实验方案中的安乐死设计以及动物在安乐死过程中遭受到的意料之外的疼痛和苦恼。

在选择安乐死方法时，特别是在已经做过了少许种属的安乐死研究时，应该向在种属问题上经验丰富的兽医请教。

在实行安乐死时，为了将动物的悲痛最小化，轻柔而小心的处理动物是非常重要的。而为了确保在安乐死操作过程中，尽量减少对在场其他动物的影响，应该采取这样的措施：将动物放在一个与周围空间隔



离的特定程序上的区域里，快速有效的进行安乐死。

鉴于安乐死与动物福利的冲突，值得注意的是，失去知觉的动物不会感觉到疼痛。适当的操作程序可以使其大脑皮层失去感知疼痛的功能。当一开始进入昏迷状态时，反射活动可能仍然可以观察到，但是动物已经不能感觉到疼痛了。利用这一理念，可以进行两步完成的安乐死方法：结合初步麻醉（比如：通过异氟烷或丁卡因进行全身麻醉）和第二步物理方法（比如：断头或放血）进行安乐死。

流程要求：

- 1) 动物实验方案中应该包括控制和实施提早结束研究的标准。All the methods of euthanasia must be listed on a protocol and approved by the IACUC in advance.
- 2) 动物的最终处置必须在实验方案中列出来。在程序的最后，动物会被以方案中列出方法安乐死。Final disposition of an animal must be listed in the protocol. Animals are often euthanized at the end of a procedure as listed in the protocol.
- 3) Methods of euthanasia used will be consistent with the recommendations of the American Veterinary Medical Association (AVMA) Guidelines on Euthanasia, 2007, unless a deviation is justified for scientific reasons in writing by the investigator and approved by the IACUC.
- 4) 适当的安乐死技术，应该包括在处理动物以前对其进行体检和密切的观察以确保动物死亡。动物死亡的验证应该由专门的人员进行，该人员可以识别不同种属在安乐死时的生命停止体征。Death must be confirmed by one of the methods consistent with the AVMA Guidelines on Euthanasia. See below for more guidance. A secondary method of euthanasia and confirmation of death must be listed in the approved protocol. Rodents must receive a secondary physical method of euthanasia as listed in the approval protocol.

啮齿动物死亡确认方法 Confirming Death in Rodent Species :

啮齿动物尤其是新生动物对于二氧化碳安乐死方法不敏感，且容易反复，因此，IACUC要求对于啮齿动物必须使用第二种方法以确认死亡。Rodents, especially neonates, are particularly resistant to euthanasia by overdose of inhaled agents such as CO₂ or even injectable agents; for this reason, the IACUC requires a secondary physical method of euthanasia FOR ALL RODENTS after the animal is profoundly anesthetized, prior to carcass disposal. Inadequate exposure time to CO₂ may result in animals that appear dead but can awaken from deep anesthesia



以下方法可选择其一以确认死亡，方法要符合方案中的描述。One of the following procedures MUST be followed to assure death. This should match the description in your IACUC approved protocol.

- ✓ 断头Decapitation
- ✓ 心脏灌注Cardiac perfusion
- ✓ 器官摘除Removal of the chest organs (e.g. heart, lungs, brain)
- ✓ 开胸或放血Opening the chest cavity to induce exsanguination (e.g. aorta, vena cava)
- ✓ 颈椎脱臼法只能用于成年啮齿动物，离乳前动物不建议使用Cervical dislocation may only be used in adult rodents, as it can be difficult to perform in neonates and thus is not appropriate for use in animals prior to weaning.

最佳的操作知识：

正确进行安乐死的方法最主要的参考文件是美国兽医医疗协会对安乐死的指导方针（2007年修订版）。然而，动物管理委员会却认为：该指导方针不能作为唯一的参考，不能认为该文件包含了所有的安乐死方法。而且，专业用语应该以通用文献资料为基础。以下参考目录，包括了在考虑进行安乐死时的一些最有用最简便的方法。

研究的考虑和选择：

我们必须认识到的是，在实验的计划与进行中引用的资料，它们的有效性是非常重要的。如果使用的安乐死方法妨碍了实验研究的最终目标，使得数据无法使用，那么这些动物的生命可能就被浪费掉了，必须仔细考虑各种可供选择的方法可能带来的负面影响。有些偶尔会有的特殊情况特殊情形下的选择在这个文件中没有被列出，这些选项可能被视为是可以接受的。这些例外，必须由研究负责人和动物管理委员会仔细考虑，以确保为动物以及研究带来最好的结果。

二、安乐死方法Methods

按种属列出的被推荐的安乐死药剂及方法：

选择具体的安乐死药剂和方法，取决于复杂的种属和实验方案的目的。一般来说，吸入性或非吸入性化学药剂（比如巴比妥类、吸入性麻醉剂或二氧化碳）比物理的方法（比如颈椎脱臼或断头）更可取。然而，对于一些实验性研究，出于科学的考虑，使用化学药剂可能会行不通。所有安乐死方法必须得到动物管理委员会的审查和批准。在动物完全清醒的情况下单独使用物理方法进行安乐死，必须给出明确具体的理由。

大鼠、小鼠和其他小哺乳动物RATS, MICE AND OTHER SMALL MAMMALS



Inhalant anesthetics (halothane, isoflurane) 吸入性麻醉剂 (氟烷, 异氟醚)

Carbon dioxide (CO₂) 二氧化碳气体

Barbiturates 巴比妥盐类

Potassium chloride or exsanguination (under general anesthesia)

先麻醉, 再进行比如断头等物理方法

Physical methods such as decapitation or cervical dislocation after sedation

先麻醉, 再进行比如断头或脑脊髓刺毁法等物理方法

Conditionally acceptable: methoxyflurane; cervical dislocation (< 200 g); decapitation

条件许可的情况下：甲氧氟烷；颈椎脱臼 (< 200 g)；断头

对药剂和方法的技术注解

吸入性麻醉剂：

因为大部分吸入性麻醉剂在液态时只起局部的刺激作用，所以动物只能被暴露于麻醉剂的蒸汽状态下。密闭隔离箱的设计必须保证动物不能接触到灯芯材料，灯芯材料可能使麻醉剂在液态阶段饱和。在诱导期必须提供足够的空气和氧气，以免造成动物在失去意识之前的组织缺氧。直到动物的呼吸和心跳停止，所有的吸入性药剂都会持续性给予以产生效应。

氟烷和异氟醚有最快的麻醉作用，而且氟烷更能被承认，是首选药剂。甲氧氟烷不是很适合，因为它较慢的效果和市场滞销原因。应该尽量减少人员暴露于蒸汽下。

乙醚在历史上一直被用作安乐死药剂，但是，它极易燃，暴露于空气及光下，会产生爆炸性的过氧化物，而且众所周知的是，这些化合物会带给动物痛苦的刺激。考虑到这些缺点，乙醚不应该被用于实验动物常规的安乐死。如果基于特殊研究的需要，研究负责人必须使用乙醚，则必须向动物管理委员会和环境卫生及安全局提交申请，由他们考虑后决定是否理由充分，并确保采取正确安全的预防措施。

非麻醉剂气体（注意：大多数这类气体需要使用特殊的设备）：

二氧化碳长期以来被作为对啮齿动物及其他小实验动物进行安乐死的首选技术。使用压缩气体钢瓶对密闭的隔离箱进行填充是这项技术所必须的。由其他方式产生的二氧化碳，比如干冰，是不能接受的，因为这种方式产生的气体流量不能得到精确的调节。密闭箱不能过度拥挤以免造成困扰。因为二氧化碳的麻醉作用是可逆的，所以在动物停止呼吸以后，还必须将动物继续保留在密闭箱内几分钟。当动物需要被完整的丢弃时（也就是说，动物不被用于组织收获或其他死后侵入性的操作时），为了确保动物在吸入二氧化碳后的死亡，在暴露于二氧化碳之后，还必须施以确保死亡的物理手段。可接受的物



理方法包括：颈椎脱臼（用于体重小于200 g的大小鼠），断头或胸廓切开术（在胸部开一切口打开胸腔）。

根据生理特点，新生幼仔需要长时间的暴露于二氧化碳气体下。更多详细资讯，参见动物管理委员会的的指导文件“啮齿动物二氧化碳安乐死的指导方针”。

在具体而特有的情况下，氮气、氩气或一氧化碳可以被使用，但是它们没有明显的优势，也极少被用于生物医学的研究。

药剂

使用这些药剂要求适当的管制和精通的注射技术。巴比妥盐类适用于所有种属，但最常用于哺乳动物和鸟类。只要有可能，这些药物应静脉注射，但是，腹腔注射或体腔注射的方式适用于啮齿动物、两栖动物、爬行动物和鱼类。心内注射是可供替代的，但是这种方法只能用在动物被镇静或麻醉之后。戊巴比妥钠是用于安乐死最常见的巴比妥盐类药剂，既被单独使用，也以商业上一些安乐死混合物的形式被使用。使用剂量通常是麻醉需要量的两倍以上，剂量范围从大种属的85 mg/kg到一些啮齿动物的200 mg/kg。120 mg/kg的使用剂量对大多数种属来说是足够的，但是如果没有导致死亡，应该加大给药剂量。商业上的安乐死制剂应该根据附着的标签管理进行使用（比如，Beuthanasia-D的使用剂量是1 ml/磅）。戊巴比妥钠是二级管制药品，控制很严格。使用这些药物的研究负责人必须有禁药取缔机构和数据处理站的登记注册许可，必须将药物保存在一个锁定的地方并保持详细的每日使用记录。如需更多资讯，请联系环境卫生和安全局。使用氯化钾进行安乐死，只能在动物被麻醉后使用。浓缩的氯化钾应该经快速的静脉注射给予直到上升的血清钾水平导致心跳停止。

三卡因间氨基苯酸乙脂甲磺酸盐（鱼保安）对于水栖种属是一种有用的药剂。它可以以注射剂的形式使用（按200-300 mg/kg 的使用剂量用生理盐水配成1%的溶液），而更普遍的用法是用它来对两栖类及鱼类进行浸泡（500 mg/L水的浓度）。当在淡水中使用时，需要用碳酸氢钠将溶液的PH调整至中性。确保动物死亡的浸泡时间范围从二十分钟到三个小时不等，所以，先用三卡因间氨基苯酸乙脂甲磺酸盐进行初步的麻醉，然后再使用物理的方法进行安乐死会更有用一些。注意：将皮肤暴露在三卡因间氨基苯酸乙脂甲磺酸盐下会引起视网膜毒性。当处理鱼类和两栖动物时，应时刻戴好手套，特别是当使用三卡因间氨基苯酸乙脂甲磺酸盐时。苯佐卡因盐酸盐（250-500 mg/L）可以替代使用于两栖类及鱼类。其他可使用的浸泡药剂还包括：2-甲基喹啉（100 mg/L）、三氯叔丁醇(300 mg/L).丁香油的有效成分是丁香油酚，根据目前的文献资料，它是用于鱼类的安乐死（400 mg/L）。二苯氧基乙醇也可以被使用（每升水中放0.6 ml的液体化合物），但是不是作为首选的方法，因为对某些种属来说，它的作用较慢，而且，



可以在失去意识之前发生可逆反应。

注意：用于浸泡的一些微溶于水的药剂，要求用可用溶剂将原有的浓缩制剂进行稀释。适用于这些制剂的方案可以在文献中找到并使用。

过量使用非巴比妥盐类的注射麻醉剂（比如，氯胺酮/二甲苯胺噻嗪或三溴乙醇）不可作为单一的方法来用，但是这些药物可以用于两步安乐死方法，在使用物理方法之前对动物进行镇静或麻醉。

物理方法（注：这些方法要求使用者有熟练的技术经验）。

放血法适用于所有先在其他方法下失去意识后的种属动物。可以通过对主要的大血管进行抽血或心脏穿刺采血（对于小动物）的方法来快速完成采血。

颈椎脱臼适用于小鼠、鸟类、大鼠（< 200 g）和兔子（< 1 Kg），但是适当的技术是非常重要的。因此，推荐先用其他的药剂（建议使用二氧化碳，戊巴比妥钠或氟烷）对动物进行镇静。如果将其作为单一的方式进行安乐死，要求有科学的理由和动物管理委员会的批准。如需更详细的资讯，请参见动物管理委员会的指导文件“啮齿动物颈椎脱臼安乐死的指导方针”。

使用适当的设备施以断头术，适用于已经被镇静或麻醉（建议使用二氧化碳，戊巴比妥钠或氟烷）了的小哺乳动物或鸟类。鱼类、两栖类和爬行类的断头术，应该在断头术后再进行头盖脑脊髓刺毁术（见下文），以确保动物快速丧失大脑功能。如果将断头术作为单一的方式进行安乐死，要求有科学的理由和动物管理委员会的批准。断头术一般只在研究设计要求时使用，因为其对人员有潜在的危害，而且，很可能发生的操作误差会导致动物持久而痛苦的死亡过程。很多种属的动物闻到血的气味会有不利的反应，所以不应该在有其他动物在场的情况下对动物进行安乐死，而且，人员执行安乐死时，在动物与动物之间应该更换手套或洗手。成年啮齿动物的安乐死，应该使用从商业市场上可获得的断头台进行，除非该步骤是在麻醉的情况下或颈椎脱臼之后进行。

脑脊髓刺毁法是将一个器具插入中枢神经系统（脑壳或椎管）而快速扰乱意识并引起死亡。将脑髓和脊髓都刺毁（双重脑脊髓刺毁法），可以作为蛙属动物和其他在解剖学上方便进入中枢神经系统的两栖动物单一的安乐死方法。所有其它的两栖类和爬行类动物，在进行脑脊髓刺毁法之后，还应该进行断头术。

其他的物理学方法：

在非常特殊的情况下，其他的一些方法，比如头部击碎法、胸部击碎法或空气栓塞法（麻醉下），在研究需要而且没有其他的选择时，可以允许用于小的种属。降温（冰水）或冷冻不被认为适用于常规的安乐死，尽管降温可以作为鱼类、两栖类和爬行动物使用物理学安乐死方法之前的辅助方式。冷冻可



以在使用了化学的或物理的安乐死方法以后，作为第二步方法确保动物的死亡（经常用于变温动物），但是，如果使用的是某种麻醉气体或二氧化碳，还应该在将动物放入冷藏室之前使用另一种物理方法来确保动物的死亡。

参考文献 Reference

《实验动物管理条例》

Guide for the care and use of laboratory animals》

The development of science –based guidelines for laboratory animal care》

AVMA Guidelines on Euthanasia (2007)

American Veterinary Medical Association

http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf

*uide for the Care and Use of Laboratory Animals (1996)*Institute for Laboratory Animal Research

<http://fermat.nap.edu/books/0309053773/html>

International Sources□*Guide to the Care and Use of Experimental Animals – Euthanasia (1993)* Canadian Council on Animal Care

http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDES/ENGLISH/V1_93/CHAP/CHXII.HTM

Recommendations for Euthanasia of Experimental Animals Part 1 (1996) and Part 2 (1997) European Commission

<http://www.lal.org.uk/pdf/LA1.pdf> <http://www.lal.org.uk/pdf/LA2.pdf>

Euthanasia of Animals Used for Scientific Purposes Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching

<http://www.adelaide.edu.au/ANZCCART/news/Euthanasia.pdf>

《关于善待实验动物的指导性意见》

批准时间 Approved : 11/5/2018