



上海交通大学医学院实验动物科学部  
Shanghai Jiao Tong University School of medicine DEAS

# 医学院实验动物相关规章制度培训

实验动物科学部



1

大鼠及小鼠安乐死

DLAS-MP-ANIM. 04

2

新生动物及胎儿安乐死

DLAS-MP-ANIM. 05

3

除大鼠及小鼠以外其他动  
物的安乐死

DLAS-MP-ANIM. 06



<b>上海交通大学医学院</b> <b>Shanghai Jiao Tong University School of Medicine</b>  <b>实验动物科学部</b> <b>Department of Laboratory Animal Science (DLAS)</b>	<b>政策编号 (Policy Number):</b>  DLAS-MP-ANIM.04
<b>管理政策</b> <b>Management Policy</b>	<b>版本 (Version Number):</b>  1.0
<b>标题: 小鼠以及大鼠安乐死</b> <b>Title: Euthanasia of Mice and Rats</b>	<b>生效日期 (Effective Date):</b>  2015/6/1
	<b>替换版本 (Supersedes):</b>  无



- 安乐死：在动物承受不可缓解的病痛以及非存活手术和样本采集时对动物实施的一种痛苦感最低或无痛苦感的死亡方式，安乐死操作过程通常分为主要方法和辅助性物理致死方法两个步骤组成。
- 安乐死容器：安乐死容器通常采用饲养笼盒或特殊的有机玻璃容器，能够将动物放入并通入二氧化碳，**该容器应为透明器皿**以便随时观察动物状态。



- 辅助性物理致死方法：动物实施安乐死后，**需使用第二种安乐死的方法来确保动物不会从安乐死状态中恢复**。通常第二种安乐死方法为物理性的操作方法，并主要通过通过对动物组织或器官的破坏来实现，具体方法包括**双侧胸部打开**，放血以及断头。**颈椎脱臼方法不做为辅助性物理致死方法。**



- 课题组长和所有列入“实验动物研究及使用计划”的课题组实验人员都需遵守实验动物福利，并对动物实施“人道终点”。
- 实施安乐死的操作人员必须经过相关的培训，认证合格后方可进行安乐死操作。
- 在对动物实施“人道终点”时，安乐死的操作方法必须列入“实验动物研究及使用计划”或采用经过IACUC批准的其他方法。



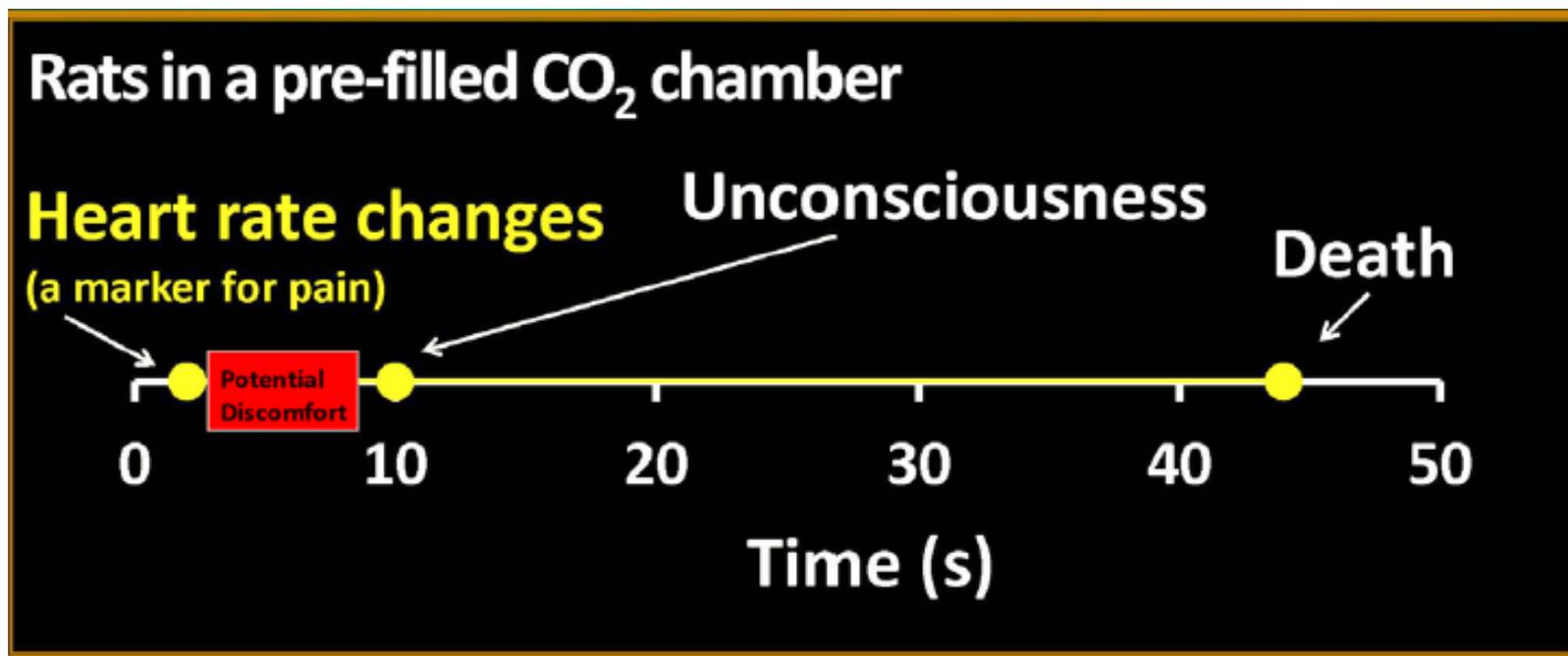
- 二氧化碳安乐死方法**不用于小于15日龄的新生大鼠以及小鼠**，因为新生大鼠以及小鼠对缺氧环境的耐受能力较强，在缺氧环境中可存活超过50分钟。
- 二氧化碳来源：必须使用**钢瓶灌装的二氧化碳气体**（由专业的气体公司提供），干冰，灭火器以及其他化学方法制备的二氧化碳气体不可应用到大鼠和小鼠安乐死操作中。
- 二氧化碳安乐死容器：推荐使用**饲养笼盒**，因为动物从饲养笼盒中转移出进行安乐死动物可导致动物出现应激反应。**也可以使用安乐死专用容器进行操作。**



- 在进行安乐死操作的时候**不能够出现动物拥挤的状况**，即确保每只在安乐死容器中的动物四肢都接触容器底部，从而使动物失去意识后能够有足够的空间趴在笼盒底部而不至于叠加到另外一只动物身上。
- 在进行安乐死过程中，**大鼠和小鼠不能同时放入同一安乐死容器中进行操作**，因为不同种动物间会照成应激反应，无法达到安乐死的目的。

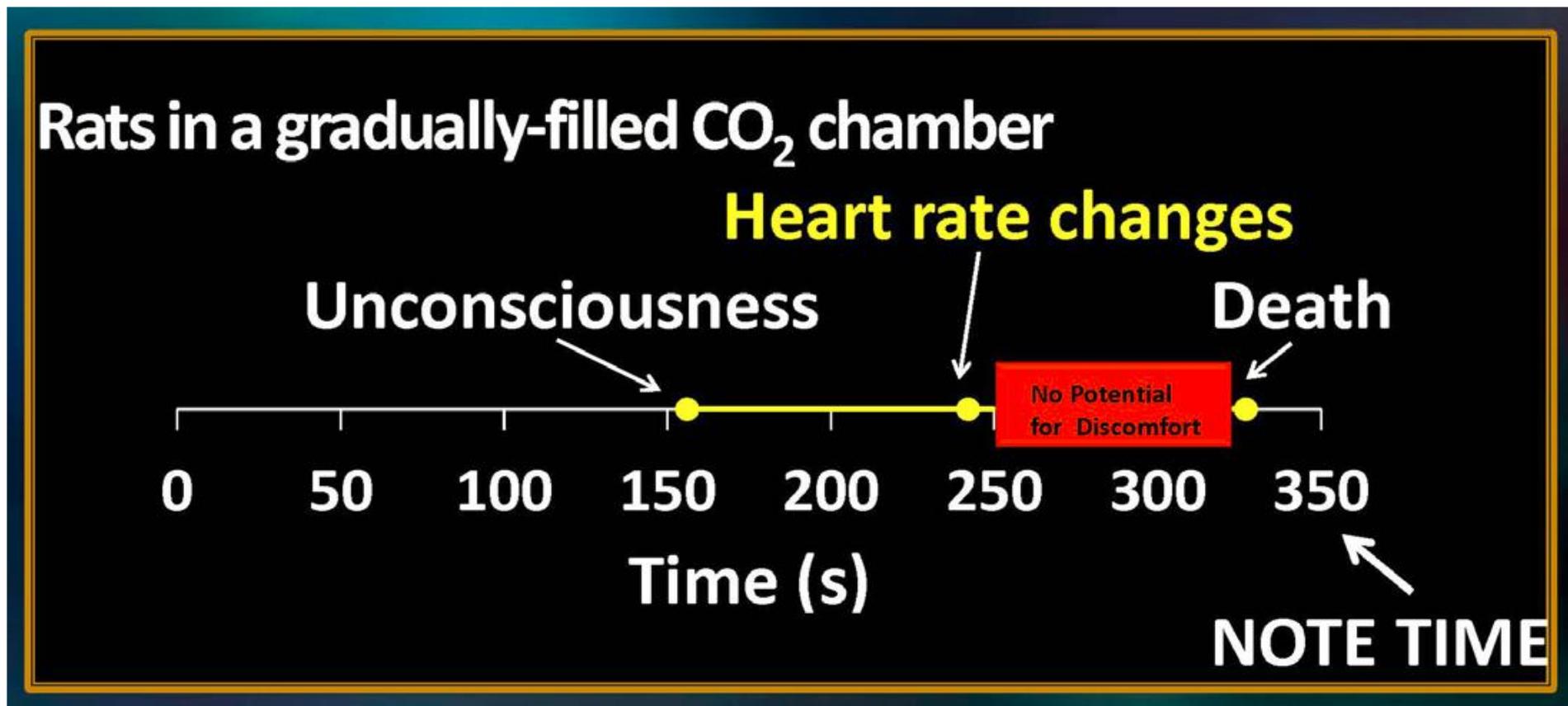


- 两次安乐死操作间期应预留充足的时间将容器中的二氧化碳释放，通常为1-2分钟，确保下一批安乐死动物不会突然暴露在高浓度二氧化碳气体中。根据实验表明当实验动物突然暴露在高浓度二氧化碳环境中时动物将在**10秒内出现心率变化并感受到疼痛**，然后才失去知觉，**到40秒后才出现死亡**





- 如果安乐死容器中二氧化碳浓度缓慢上升，则动物会在失去知觉后才出现心率变化并不感受到疼痛，然后死亡。





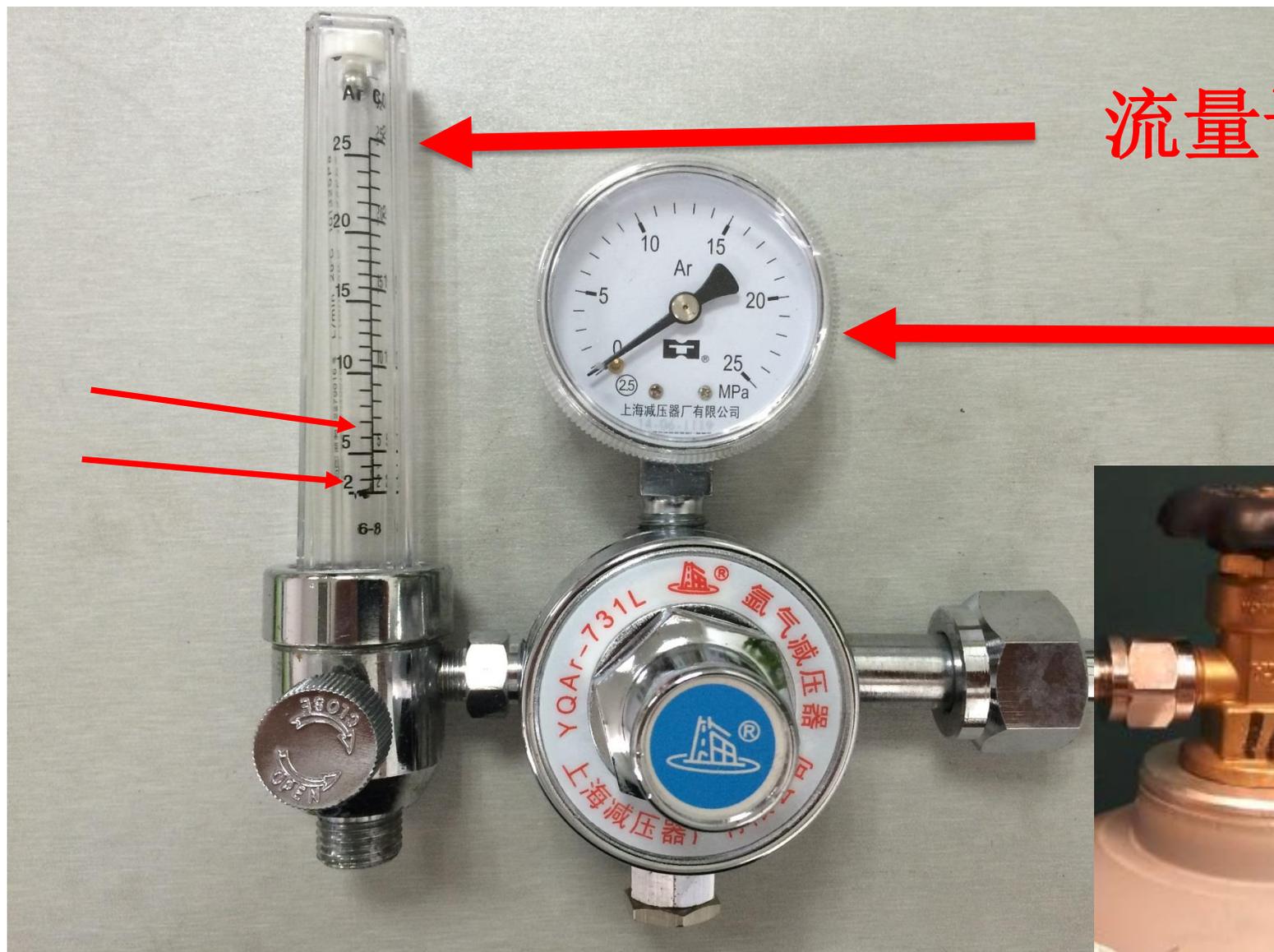
- 当动物放入安乐死容器后，二氧化碳在容器内的充盈速率**不应超过30%**，即1L的容器二氧化碳的充盈速度（流量）**不应超过0.3L/分钟。**

$$\text{容器体积 (L)} = \frac{\text{容器高度 (cm)} \times \text{容器宽度 (cm)} \times \text{容器长度 (cm)}}{1000}$$

- 最大可接受流量 = **容器体积 (L) × 0.3L/分钟**
  - 标准小鼠笼子 — 2L/分钟
  - 标准大鼠笼子 — 6.5L/分钟
  - 安乐死容器（标准大鼠笼盒）— 6.5L/分钟
  - 如使用其他不同尺寸的容器需要重新计算流量



- 二氧化碳安乐死操作过程中必须保证动物在二氧化碳环境中暴露充分的时间以确保动物的死亡，这个时间通常**需要5-6分钟**，为进一步确定死亡，上海交通大学医学院实验动物科学部推荐在观察动物无呼吸动作后**仍需将其置于安乐死容器中2分钟，确保动物完全死亡**。如需要采取动物的新鲜组织或器官，应在动物无呼吸动作后立即将动物取出，在采取组织后，**采取辅助性物理致死方法来确定动物死亡**。

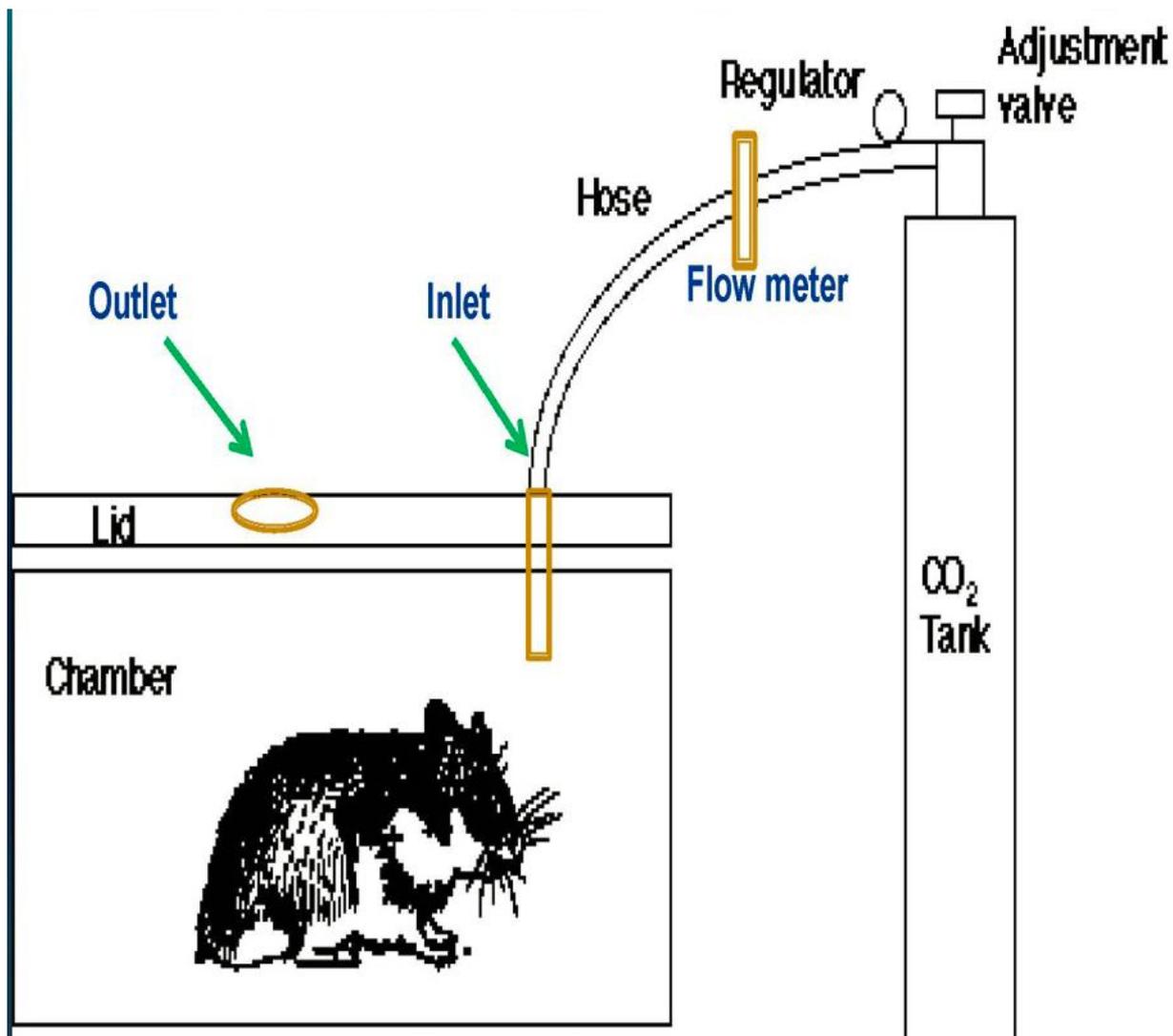
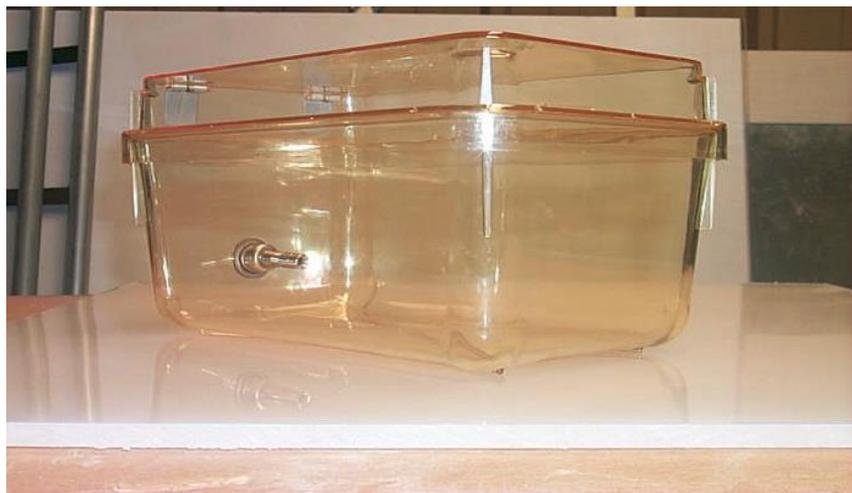


流量计

气瓶减压阀

气瓶开关







- 对动物实施安乐死操作后必须使用**辅助性物理致死**的方法确保动物死亡。辅助性物理致死的方法主要包括以下几种：
  - a) 双侧胸部打开。
  - b) 断头。
  - c) 器官或组织采集（采集的量足以确保动物不会从窒息状态恢复）。
  - d) 放血。
  - e) 颈椎脱白的方法不作为确认死亡的方法。
  - f) 如果在“实验动物研究及使用计划”中无特殊说明，推荐使用双侧胸部打开操作作为辅助性物理致死的方法。



# 小鼠安乐死操作示意图

## 步骤一：请先打开气瓶阀门。

1. 如使用小鼠笼盒实施安乐死操作，请将流量计调至刻度“2”
2. 如使用大鼠笼盒实施安乐死操作，请将流量计调至刻度“6”



## 步骤二：将二氧化碳安乐死有机玻璃盖覆盖安乐死笼盒

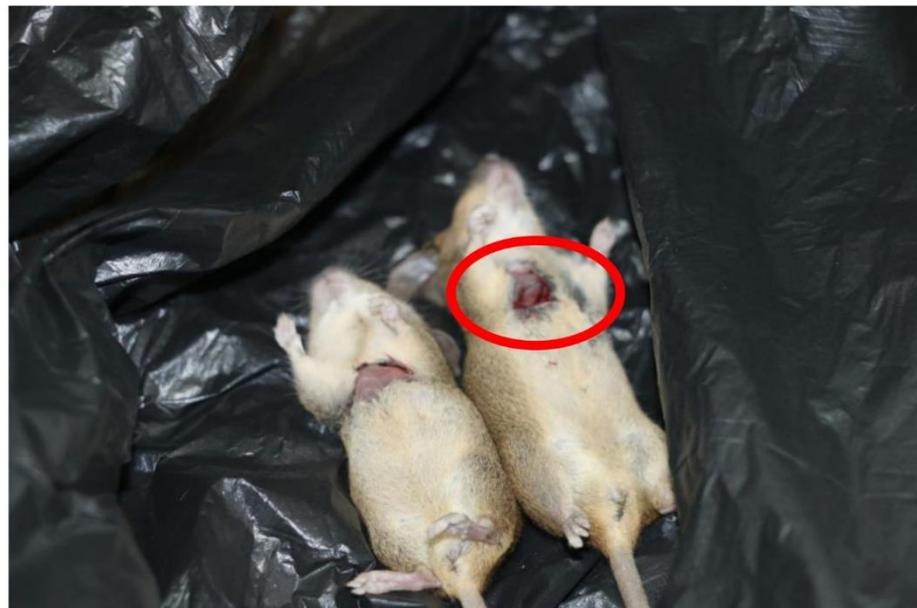
注意：确保“二氧化碳输入孔”以及“空气排出孔”覆盖笼盒顶部



### 步骤三：观察动物死亡后并刺激足底确定无任何反应



步骤四：对动物实施双侧胸部打开的操作，以确保动物无法从窒息状态恢复



步骤五：将动物尸体放入黑色垃圾袋，  
并贴上“动物尸体处理标签”放入动物尸体存放盒





- 采用戊巴比妥类药物过量注射的方法实施动物安乐死：注射过量戊巴比妥类药物是实施安乐死较为快速和可靠的方法。**使用该种方法同样需要辅助性物理方法作为第二种安乐死手段来确保动物的死亡。**
- **注射剂量：不低于250mg/kg**，如果低于这个剂量将造成动物深度麻醉，并且存在从安乐死状态苏醒的可能。
- **注射途径：**可以使用腹腔注射（IP），静脉注射（IV），心脏注射（IC）。当采用心脏注射时必须对动物进行麻醉方可实施。



- **吸入过量麻醉气体实施安乐死：** 实施该操作使用常规的麻醉气体，例如：**异氟烷**，**七氟烷**等，具体操作方法和规定与使用二氧化碳安乐死方法相同。**并且需要辅助性物理方法作为第二种安乐死手段来确保动物的死亡。**



- **麻醉状态下颈椎脱臼实施安乐死：**当采用二氧化碳、过量麻醉气体以及过量戊巴比妥类药物注射的方法会对样本采集及实验产生影响的时候可使用颈椎脱臼的方法进行安乐死。使用颈椎脱臼的方法前需对动物实施麻醉，减少操作过程中的疼痛，做到安乐死的要求。在进行颈椎脱臼操作时，需确定脱臼的幅度为：**动物的枕(骨)髁到第一颈椎的脱臼脱离2-4mm。**使用该种方法操作同样需要辅助性物理方法作为第二种安乐死手段来确保动物的死亡。



- **麻醉状态下断头实施安乐死：**当采用二氧化碳、过量麻醉气体以及过量戊巴比妥类药物注射的方法会对样本采集及实验产生影响的时候可使用断头的方法进行安乐死。使用断头的方法前需对动物实施麻醉，减少操作过程中的疼痛，做到安乐死的要求。断头操作时需使用断头装置辅助，断头装置要定期保养，确定铡刀的保持锋利。**该方法不需要第二种安乐死方法确保动物死亡。**



- **深入麻醉状态时放血实施安乐死：**使用该种方法对动物实施安乐死时，血压的迅速降低会使动物产生焦虑和痛苦，因此使用该方法时应先对动物进行麻醉，确定动物完全失去知觉后方可实施放血安乐死。



- **可接受的安乐死方法：**是指那些容易实现并且完全做到“人道终点“的安乐死方法，例如：二氧化碳安乐死方法。
- **不可接受的安乐死方法：**那些对动物伤害大，并且无法完成“人道终点“的方法，例如：敲头的方法处死动物，这些方法是IACUC严格禁止的。
- **条件性接受的安乐死方法：**条件性接受的安乐死方法需在特殊条件下执行，并且存在生物安全及对操作人员损伤的风险。这些方法必须向上海交通大学医学院IACUC提供科学依据和具体操作说明，经IACUC批准后方可实施。主要包括以下两种方法：



## • 条件性接受的安乐死方法

- a) 非麻醉状态下颈椎脱臼操作：这种方法操作对象仅限于体重低于200g以下的大鼠或小鼠。相关人员需经过培训方可实施动物操作，操作前需经过IACUC批准。
- b) 非麻醉状态下断头操作：这种操作首先需要通过IACUC严格审查，经批准后实施。操作过程中需要满足的条件包括：使用锋利的铡刀，人员需要经过严格的培训，使用保定器来固定动物以减少动物被抓取造成的应激反应，尽量避免对操作人员的伤害。以上所述条件满足后方可实施断头操作。



- 1 / 动物尸体处理  
DLAS-MP-ANIM. 01
- 2 / 动物运输  
DLAS-MP-ANIM. 02
- 3 / 小鼠笼盒饲养空间政策  
DLAS-MP-ANIM. 03
- 4 / 大鼠及小鼠安乐死  
DLAS-MP-ANIM. 04
- 5 / 新生动物及胎儿安乐死  
DLAS-MP-ANIM. 05
- 6 / 除大鼠及小鼠以外其他动物的安乐死  
DLAS-MP-ANIM. 06



<b>上海交通大学医学院</b> <b>Shanghai Jiao Tong University School of Medicine</b>  <b>实验动物科学部</b> <b>Department of Laboratory Animal Science (DLAS)</b>	<b>政策编号 (Policy Number):</b>  DLAS-MP-ANIM.05
<b>管理政策</b> <b>Management Policy</b>	<b>版本 (Version Number):</b>  1.0
<b>标题: 新生动物及胎儿的安乐死</b> <b>Title: Euthanasia of Fetuses and Newborn Animals</b>	<b>生效日期 (Effective Date):</b>  2015/6/1
	<b>替换版本 (Supersedes):</b>  无



- **子宫内怀孕14天以内胎儿的安乐死**：怀孕14天以内的胎儿对痛觉的感知很小或没有，并且当母体被安乐死或将胎儿移出子宫都将导致胎儿的快速死亡，因此可以**采用安乐死母鼠的方法从而导致子宫内胎儿的死亡。**



- **怀孕15天或以上至出生前的胎儿安乐死：**文献显示，当胎儿在母体内发育到15天，其痛觉感知开始出现，并且胎儿在这个阶段对吸入式麻醉敏感性低于成年母鼠，因此母鼠采用吸入式麻醉或二氧化碳窒息的方法安乐死后，**取出胎儿需对其使用手术剪刀进行断头操作才能确保其死亡。**当需要完整的胎儿进行实验室时，应将取出的胎儿通过麻醉剂注射或母体注射麻醉剂的方法对胎儿进行麻醉，方可将取出的胎儿进行固定或液氮冷冻等实验操作。



- **新生小鼠或大鼠至发育到15日龄安乐死：**上海交通大学医学院实验动物科学部推荐对这个阶段的动物采用**断头**的方式实施安乐死。



## • 实验兔安乐死方法

- a) **戊巴比妥类药物注射**的方法是对实验兔实施安乐死较为快速和可靠的方法。但保定行为会给动物增加额外的惊吓和不安，因此必要时使用镇静和麻醉的方法来辅助安乐死程序的实施。
- b) 戊巴比妥钠**100mg/kg**静脉注射（**IV**）为首选给药途径，腹腔注射（**IP**）、心内注射（**IC**）也可作为备选给药途径。



## • 物理性确定死亡手段

- a) **双侧胸部打开**：大多数情况下优先的方法。开胸时动物应该平躺在手术台、桌面等固定的表面，而不是操作者的手里。实施操作时可以用手术剪刀打开胸部，以确定呼吸停止。
- b) **放血**：安乐死后当某个器官（如肝脏，心脏，肾脏，等）需要被采集，放血是最常用的方法，将器官从体内移出时，连接器官和心血管系统的动脉和静脉被切断，从循环系统中释放剩余的血液；如果不需要采集器官，则实施一个体内主要静脉（如颈静脉或下腔静脉）的深切，将血液完全释放。