



庞万勇, 博士, 中国实验动物学会常务理事, 兼中国实验动物学会实验动物医师工作委员会主任委员和实验动物福利伦理专业委员会秘书长, 中国合格评定国家认可委员会 (CNAS) 实验动物专业委员会委员; 美国实验动物医学学会认证的实验动物专科兽医 (DACLAM), 中国实验动物学会认证的实验动物高级医师和中国兽医病理学家分会认证的兽医病理学家, 国际实验动物评估和认可委员会 (AAALAC) 认证委员。毕业于中国农业大学动物医学院, 获得兽医病理学硕士学位; 随后于爱尔兰国立都柏林大学兽医学院获得博士学位, 并在丹麦哥本哈根大学从事实验动物医学博士后研究。2011 年加入赛诺菲公司全球研发中心, 负责公司在亚太区的动物实验和福利相关事务。

2016 年起隶属于赛诺菲公司全球研发中心转化体内模型研究平台, 负责公司在全球范围内动物实验外包和合作业务的动物福利合规事务, 并于 2015 年 6 月起协调公司在中国的临床前安全评价事务。

2020 版美国兽医协会动物安乐死指南解析

卢 今¹, 张 颖², 潘学营³, 王 剑¹, 严国锋¹, 周 晶¹, 朱 莲¹, 陈学进^{1,4}, 李 莹¹, 庞万勇⁵

(1. 上海交通大学医学院实验动物科学部, 上海 200025; 2. 北京海关, 北京 100026; 3. 上海益诺思生物技术股份有限公司, 上海 201203; 4. 香港中文大学 (深圳) 生命与健康学院, 深圳 518172; 5. 赛诺菲公司全球研发中心转化体内模型研究平台, 北京 100022)

[摘要] 巴比妥酸盐及其衍生物的过量注射是绝大多数动物种类首选的安乐死方法, 然而在此类药物不能或很难获得时, 兽医可参考美国兽医协会现行版《动物安乐死指南》(AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals) (简称《指南》) 选用其他合适的安乐死方法。2020 版《指南》根据最新的研究文献, 对现有的安乐死方法、技术和药物进行补充及修改。本文总结了 2020 版《指南》的更新内容, 并在此基础上归纳列举了适用于常见实验动物种类的首选安乐死方法、条件性接受安乐死方法和不可接受的安乐死方法, 另外简述了实施动物安乐死的基本原则和注意事项。

[关键词] 实验动物; 安乐死; 可接受性安乐死方法; 条件性接受安乐死方法; 注意事项

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)03-0195-12

A Brief Interpretation of AVMA Guidelines on Euthanasia of Animals: 2020 Edition

LU Jin¹, ZHANG Ying², PAN Xueying³, WANG Jian¹, YAN Guofeng¹, ZHOU Jing¹, ZHU Lian¹, CHEN Xuejin^{1,4}, LI Yao¹, PANG Wanyong⁵

(1. Department of Laboratory Animal Science, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China; 2. Beijing Customs District P.R.China, Beijing 100026, China; 3. Shanghai Innostar Biotechnology Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 4. School of Life and Health Sciences, Chinese University of Hong Kong (Shenzhen), Shenzhen 518172, China; 5. Translational In Vivo Model Research Platform, Sanofi G&D, Beijing 100022, China)

Correspondence to: PANG Wanyong, E-mail: pang1yong@outlook.com

[Abstract] Overdose of injectable barbiturates or barbituric acid derivatives is the most preferred euthanasia method for the majority of animal species. However, these controlled drugs have limited access, and in this case or in any other scientific concerns, veterinarians may choose alternative, conditional acceptable methods as recommended by American Veterinary Medical Association (AVMA) Guidelines for the Euthanasia of Animals. In the newest 2020 Edition, existing euthanasia methods, techniques and agents of euthanasia are updated according to recently released articles. This article summarized the updated content of the new version of the AVMA Guidelines and on this basis, enumerated the most preferred methods of euthanasia,

[作者简介] 卢 今(1990—), 女, 兽医学硕士, 研究方向: 实验动物医学。E-mail: ashleelu@shsmu.edu.cn

[通信作者] 庞万勇(1974—), 男, 兽医学博士, 研究方向: 实验动物医学。E-mail: pang1yong@outlook.com

methods acceptable with conditions and unacceptable methods to euthanize different animal species. In addition, principles and precautions related to animal euthanasia were also briefly described.

[Key words] Laboratory animal; Euthanasia; Acceptable euthanasia methods; Euthanasia methods acceptable with conditions; Precautions

在实验动物研究领域,随着动物福利水平的总体提升,如何对实验动物实施安乐死正逐步引起人们的重视。一系列“指南”和“法规”的出台,使实验动物安乐死相关的定义及操作得到了规范。在实验动物饲养及使用机构对动物相关研究计划进行评估时,实验动物安乐死方法的选择以及具体实施方案是极为重要的部分。选择合适的动物安乐死方法不但要能最大限度地减少动物死亡过程中所承受的痛苦,而且还要考虑到对操作人员心理的影响。制定实验动物安乐死程序时,要从研究目标和种属特异性的角度选择适当的操作方法及药物,同时兼顾操作便利性及人员安全等多方面因素。

针对动物安乐死,美国兽医协会(American Veterinary Medical Association, AVMA)出版了一系列参考资料,对动物安乐死的相关内容进行了解析和阐述。现行的3部AVMA指南分别为2020年出版的《AVMA动物安乐死指南》、2019年出版的《AVMA动物群体扑杀指南》和2016年出版的《AVMA动物屠宰指南》。其中,涉及实验动物安乐死的指导性文件为2020年出版的《AVMA动物安乐死指南》,以下简称《指南》。该文件是世界范围内实验动物安乐死操作所普遍使用的指导性文件。第1版《指南》于1963年出版,当时的篇幅只有9页。2020年出版的《指南》为第9版。相较于上一版即2013版,2020版《指南》对一些安乐死方法、要求和流程做了更新和细化。2013版《指南》已有中文版发布,而2020版《指南》目前只有英文原版。本文拟对2020版《指南》进行相应的解读,以便实验动物从业人员,尤其是执行和监督动物安乐死操作的实验动物兽医能够快速了解最新版《指南》的更新内容并酌情践行之。

1 安乐死相关理论更新

1.1 胎儿的意识

关于是否需要对已经被安乐死的母体体内胎

儿单独实施安乐死操作,2020版《指南》(第62页)就胎儿意识新增了理论性的描述。哺乳动物胎儿在子宫中是无意识的。子宫内的低氧状态以及激素水平抑制了胎儿的意识。和人类相比,大鼠幼仔和小鼠幼仔出生时神经系统发育不成熟,并且它们的传入疼痛通路直到出生后5~7 d才发育完好,大脑皮质发育则更晚^[1-4]。该理论解释了为何将母鼠安乐死后,无需再单独安乐死胎鼠。

1.2 安乐死后对动物死亡的确认

2013版《指南》(第49页)只提及通过吸入气体安乐死动物时“可进行死亡确认”这样的模糊建议,并未说必须进行死亡确认。而2020版《指南》(第60页)强调并明确:无论是使用吸入(麻醉)气体还是注射麻醉药物的安乐死方法,都应该通过体检或施以辅助的物理方法以确认或确保动物死亡;通过验证安乐死容器及操作程序的可靠性也可以免除死亡确认步骤。

1.3 啮齿类动物安乐死环境

2013版《指南》(第48页)指出:安乐死啮齿类动物前,会把它们从原先的饲养室和/或笼盒内取出,与不熟悉的动物混群一段时间^[5]。但是,动物运输、抓取、群体混养以及改变熟悉的气味都会给啮齿类动物造成痛苦。因此,在实施安乐死前,应尽可能地避免以上会给动物造成痛苦的操作。2020版《指南》在同样段落删除了上述内容,并在第31页指出:如果可能的话,安乐死应该在动物原来所处的较暗的饲养笼内进行,以尽量减少动物的痛苦和焦虑^[1];同时也要能观察到动物的状态^[1,5]。

2 安乐死方法更新

实验动物安乐死方法主要有吸入过量麻醉气体、注射过量麻醉药物以及物理性方法。以往曾采用的诸如空气栓塞、溺毙、饥饿、活体甲醛溶液注射等非人道的方法处死脊椎动物都是不可

接受的安乐死方法。在可采用的安乐死方法中,又分为可接受的安乐死方法和条件性接受安乐死方法。所谓可接受的安乐死方法是指通过单一方法即可保障人道地实施动物安乐死,通常为动物的首选安乐死方法。而条件性接受安乐死方法是指需要在满足一定的前提条件下,才能够保证人道地实施动物安乐死。例如:一些方法在应用时可能操作者失误率较高或存在安全隐患,也有一些可能是没有足够的科学文献支持的安乐死方法,或者某种需要辅助手段才能确保动物死亡的方法,均被称为条件性接受安乐死方法。当条件性接受方法所需的必要条件都满足时,条件性接受安乐死方法即等同于可接受的安乐死方法。2020版《指南》中安乐死方法的更新内容主要包括了二氧化碳充盈速率的改变,以及部分物理性安乐死方法实施条件的细化。

2.1 物理方法

2.1.1 颈椎脱臼

颈椎脱臼法即脱颈椎法,是一种条件性接受的安乐死方法。该安乐死方法可被接受的原则(即先决条件):被处死的动物体型较小,例如小于3 kg的禽类、体质量小于200 g的啮齿类和小于1 kg的兔,且操作人员要足够熟练。2013版《指南》曾经删除了对实验兔体质量的建议。

如采用直接脱颈椎法安乐死动物,动物的脑电活动还能够维持约13~30 s^[6-7]。亦有研究认为,在动物脱颈椎后,其脑电图不足以证明动物仍然能感受到疼痛^[8-11],即动物在脱颈椎后会很快失去意识。因此,2020版《指南》(第44页)建议,如实验人员可熟练完成脱颈椎操作,可徒手对上述体型较小的动物实施脱颈椎法安乐死。技术生疏或力量不足的实验人员需在动物麻醉的前提下,对其实施脱颈椎安乐死。

对于体质量大于1 kg的兔,即使技术熟练的操作人员也很难徒手将其颈椎完全脱臼。但借助能够固定兔头部的特殊装置,操作人员通过拉拽兔的后肢也可完成兔颈椎脱臼安乐死^[2]。该机械装置已被证明对刚离乳的动物、幼年动物和成年动物(兔)都有效^[12]。2020版《指南》(第63页)也明确,该机械装置的有效率为96%^[12]。因此,建议操作人员在正式使用该装置前,仍需

使用动物尸体先行练习,确保能熟练操作。

2.1.2 断头术

断头术也是一种条件性接受的安乐死方法。因科学研究需要,当使用麻醉气体或注射用麻醉药品会影响组织、血液、尿液等样本的分析结果时,断头术也是一种可被条件性接受的安乐死方法^[1]。断头可以使动物在5~30 s即脑死亡^[13]。操作人员可利用特制的断头装置(如闸刀^[14]),实施动物断头操作。用于动物安乐死的闸刀,必须保持清洁,且刀片足够锋利^[1]。因此,定期对断头装置进行维护保养是断头术作为可接受安乐死方法的必要条件之一。2020版《指南》(第61页)指出,如操作正确,大鼠和小鼠不会因为断头或处于其他大鼠或小鼠被断头的现场而产生下丘脑-垂体-肾上腺轴的应激反应。然而在2020版《指南》的第5、14和90页则建议,避免在安乐死场所出现别的动物,特别是对较敏感的种属,因为被安乐死的动物可能喊叫、释放出某种气味或外激素而影响到别的动物。笔者认为,一般要尽量避免在安乐死场所出现别的动物。与颈椎脱臼法一样,操作人员应该在正式使用断头装置前,先使用麻醉的动物或用动物尸体加以练习,确保能熟练操作。

2.1.3 穿透型系簧枪(penetrating captive bolt, PCB)

使用PCB击穿脑部是一种条件性接受的动物安乐死方法。2013版(第35页)和2020版(第41页)的《指南》都提及:使用PCB击打动物头部后,建议使用第2种方法如立即放血或刺毁脑脊髓来确保动物死亡;但又提及:如果使用已经上市的“强力PCB”,即可以不再实施辅助方法。2013版《指南》(第36页)对于此种安乐死方法的解释是:当动物脑半球和脑干被PCB充分破坏时,动物能够瞬间丧失意识并死亡。有些动物在丧失意识后,仍可有肢体活动的情况。对此,2020版《指南》(第41页)的解释是:动物在被PCB击中后,可能会出现肢体划船状的动作,这是由于在头部受到冲击时,与头骨连接的颈椎也同时受到冲击^[2]。此时的动物已处于完全无意识状态^[15-16]。

当使用PCB安乐死牛时,2020版《指南》(第41页)根据最新研究结果指出,如果从其

头部较高的位置击穿, 则能更有效地破坏牛的脑干组织^[17]。2013 版《指南》(第 50 页) 未提及 PCB 法可用于安乐死实验兔。而 2020 版《指南》(第 63 页) 建议可将 PCB 作为兔的条件性接受安乐死方法使用。当使用 PCB 安乐死兔时, 动物的头部应被固定牢, 以防止击空。其他建议还包括: 动物应该被保定在防滑底面上; 最好放在上部开口的固定器中, 使动物后躯体顶着固定器的壁; 操作者用非惯用手按压肩胛骨保定动物, 拇指和食指轻轻环绕兔颈部^[18]; 应选用适用于兔体型的系簧枪; 系簧枪应由经验丰富的操作人员使用, 并在使用后必须清洁以保证其功能的有效性; 击打位置也必须正确, 应位于额骨正中, 最靠近耳根的位置^[18]。2020 版《指南》(第 63 页) 同时提及, 使用 PCB 的方法对患病动物安乐死, 可能会造成环境污染, 在实际操作中需额外注意。

2.1.4 非穿透型系簧枪 (non-penetrating captive bolt, NPCB)

与 PCB 方法类似, NPCB 安乐死动物也是一种条件性接受安乐死方法。NPCB 一般不能单独用于安乐死动物, 因为此法只能击昏动物, 因此也称为 NPCB 击昏器。2013 版《指南》并未提及 NPCB 方法在实验兔安乐死中的应用, 而在 2020 版《指南》(第 63 页) 中 NPCB 方法被列为兔的条件性接受安乐死方法, 并给出了详细的使用指导和要求。实验兔专用的 NPCB 安乐死击昏器能够 100% 使动物失去知觉; 兔的固定方式与使用 PCB 安乐死时相同; NPCB 击昏器应放置在正确的解剖位置, 即兔的前额正中 (枪管位于耳的前方和眼睛的后方), 连续击打两次; 在操作时应根据兔的年龄和大小选择合适的压强: 离乳前的仔兔可用 55 psi 的压强, 幼年兔可用 70 psi 的压强, 成年兔可用 90 psi 的压强 (1 psi = 6.895 kPa)^[12]。此外, 2020 版《指南》(第 41 页) 还提及, 新款气动型 NPCB 装置能够成功将重达 9 kg 的乳猪击晕安乐死^[12]。

2.2 吸入性气体

吸入性气体广泛用于实验啮齿类动物、流浪动物和实验猪的安乐死^[1,19-20]。然而, 所有通过吸入气体对动物实施安乐死的方法都有影响动物

福利的可能, 因为此类方法通常不能使动物立即失去意识^[1]。动物从接触气体到丧失意识的时间长短取决于气体置换率、容器的容积以及气体浓度。给予动物的安乐死气体必须纯净、无杂质, 最好使用商业化的气体钢瓶作为气体来源, 这样也便于操作人员设定合适的气体置换率。另外, 用于安乐死的笼盒/空间须能使动物保持舒适状态, 即不过分拥挤且没有异味。新生动物、爬行动物、两栖动物、兔和禽类通常不适合用吸入气体的方式安乐死。也可使用挥发性麻醉气体来安乐死动物。2013 版《指南》(第 50 页) 提到: 兔在闻到使其不愉快的异味时常常会屏住呼吸, 这就会导致麻醉气体瞬间过量而出现窒息痛苦。因此, 2020 版《指南》(第 63 页) 建议, 将兔从笼具中抓出之前, 可先用镇定剂, 这样做可以减少其屏住呼吸的行为^[21-22]。

2.2.1 一氧化二氮

在标准大气压下, 处于一氧化二氮气体中的动物不能有效地停止呼吸和心跳^[5]。在 2013 版《指南》(第 21 页) 中, 一氧化二氮因其麻醉性较弱, 是最少被选择的吸入性安乐死气体。尽管一氧化二氮不能单独用于动物安乐死, 但是可以将其与其他麻醉剂联合使用, 从而减少动物失去意识所需要的时间。2020 版《指南》(第 25 页) 提到: 不同体积分数的一氧化二氮与 5% 异氟烷麻醉气体联用, 可以使小鼠更快地失去意识^[23]。因此, 加入一氧化二氮, 也许能优化目前的麻醉气体安乐死方案。

2.2.2 预充气体

通常, 当连续多次进行气体安乐死操作时, 安乐死容器内会有前次安乐死所遗留的气体。容器里遗留的气体会使动物紧张焦虑。在 2020 版《指南》(第 61 页) 中, 将 2013 版“在容器中预先充入气体是不可接受的”修改为“不建议在容器内预充入气体, 因为 (清醒) 动物吸入该 (浓度) 气体时可能会导致明显的疼痛”。

2.2.3 开放式麻醉气体

如无其他方法安乐死啮齿类动物, 也可以用长时间吸入高浓度麻醉气体的方式使动物死亡。除使用专业的气体挥发罐 (vaporizer) 外, 将挥发性麻醉剂置于其他密闭容器内, 使气体在一

定空间内自由扩散,当动物过量吸入后也能起到安乐死的作用。2020版《指南》(第61页)对这种开放式麻醉气体吸入技术(open drop technique)进行了条件限定,即在操作过程中必须确保动物不会直接接触到麻醉剂。

2.2.4 二氧化碳

实验动物设施常用压缩二氧化碳气体钢瓶向啮齿类动物笼盒内释放二氧化碳来使动物安乐死。二氧化碳和二氧化碳混合气体必须以精确的调节和净化的形式供应,不含污染物或杂质。然而只有合理地设置二氧化碳置换率(即充盈速率),才能在避免动物疼痛的前提下快速将动物安乐死。二氧化碳充盈速率过低会造成动物因呼吸困难而痛苦,二氧化碳流量过高则可能引起动物黏膜疼痛^[1,20,24]。在2013版《指南》(第249页)建议的基础上,2020版《指南》(第61页)将二氧化碳最佳充盈速率从每分钟置换安乐死容器体积的10%~30%,修改为每分钟30%~70%。实验动物兽医应按照最新的充盈速率,调整实验动物设施内的安乐死流程。然而,没有数据显示哪个流速设置能最大程度减少不同物种、性别及遗传背景的动物的安乐死痛苦。因此,实验动物兽医在实际工作中,应根据设施设备的实际情况,以及对动物承受痛苦时表现出的临床体征进行专业判断,从而决定合适的二氧化碳置换率。此外,在两次安乐死操作之间,应将容器中残余的二氧化碳体积分数降至最低(尽量排空),避免将动物放进一个预充了纯二氧化碳的容器中。

2.2.5 气体安乐死用于新生啮齿动物

在2013版《指南》(第50页)中只描述:新生的小鼠置于二氧化碳中可能50 min才会死亡,应保障充分的暴露时间,或使用辅助方法以确保动物的死亡。2020版《指南》根据最新的参考资料新增:新生的大鼠置于二氧化碳中可能需要35 min才会死亡^[1,25]。并再次强调:若使用二氧化碳或挥发性麻醉气体安乐死新生啮齿类动物,必须确保动物足够长的暴露时间,直到动物对疼痛刺激再无反应^[1];或者使用辅助性方法,例如脱颈椎法或断头术来确保动物死亡^[1]。

2.3 药物注射

静脉注射巴比妥酸盐和巴比妥酸衍生物是实验动物安乐死的首选方法^[1,5]。绝大多数种类的动物都可以使用此药物注射实施安乐死。除此之外,Tributame(磷酸氯喹、安非他酮乙甲丁酰胺、利多卡因混合注射液)以及T-61(乙甲丁酰胺安布曲米、碘环己铵碘化美比溴铵、盐酸丁卡因混合注射液)也可作为可接受的注射用安乐死药物。然而此类药物很难获得,在无法获得相关药物时,需要寻求其他的方法安乐死动物。具体何种药物及给药手段最适合,兽医应根据动物的种类、药物药效、物理或化学方法对动物保定程度的要求、对操作人员的潜在危害以及药物残留等多方面综合考虑^[5]。此外还应注意,大剂量的安乐死药物必须通过心内注射,或静脉给予,不可采用肌肉内注射、皮下注射其他方式给予,以避免药物引起的疼痛反应^[5]。

安乐死实际操作时,常出现难以保定的动物、吸入安乐死气体容易屏气的动物以及无法或不便建立静脉通路的动物。对于这些动物,在正式安乐死操作前,应提前给予合适剂量的镇定剂或麻醉剂^[5]。

2.3.1 乙醇

乙醇类化合物能够改变细胞膜流动性,并改变神经细胞离子通路以及降低神经细胞活性^[1,5]。乙醇通过腹腔注射后,能够使动物的神经和呼吸系统被抑制^[1,5],达到麻醉和安乐死的目的。对于用作抗体生产的动物,乙醇类注射是首选的安乐死方法^[1,5,26]。2020版《指南》(第61页)根据最新的研究资料,对乙醇注射后会产生的临床症状以及小鼠日龄要求加以细化。给成年小鼠腹腔注射0.5 mL体积分数为70%~100%的乙醇溶液,小鼠在2~4 min内出现肌肉逐渐松弛、翻正反射丧失、呼吸和心跳停止等临床症状,随后死亡^[1,27-28]。但是,如果给小于35日龄的小鼠注射乙醇溶液,小鼠不会很快死亡^[1,28]。因此,乙醇不能用于小于35日龄的小鼠安乐死,也不能用于比小鼠体型更大的动物(如大鼠)安乐死(因为诱导死亡所需的乙醇量较大)。

2.3.2 三溴乙醇

三溴乙醇也是乙醇类化合物的一种。目前尚

无商用的或药用级别的三溴乙醇。三溴乙醇虽然经常被用于实验啮齿类动物的麻醉,许多机构的福利伦理委员会如IACUC也会批准使用,但其使用是有争议的,因为三溴乙醇会对动物产生一些不良影响。2013版《指南》(第49页)将三溴乙醇列为条件性接受安乐死方法之一^[5]。因为目前还没有报告显示三溴乙醇可单独用于安乐死,在2020版《指南》(第61页)推荐仅将其用作安乐死前麻醉,动物麻醉后还需实施辅助性的安乐死操作^[1]。如果被用作麻醉剂,三溴乙醇溶液必须要正确配制、储存并确定正确的使用剂量。

2.3.3 乌拉坦

乌拉坦对于人类来说属于致癌类物质。与三溴乙醇类似,乌拉坦也不可单独用于安乐死^[5]。在特定条件下,乌拉坦可被用作啮齿类实验动物麻醉剂^[1];但是没有报告显示乌拉坦可被单独作为安乐死药物使用。因此2020版《指南》(第62页)建议:在实施物理性安乐死操作前,可先使用乌拉坦麻醉动物^[1]。

2.3.4 α 氯醛糖

α 氯醛糖不可单独用于动物安乐死。2020版《指南》(第62页)将 α 氯醛糖归为安眠药使用,并且其止痛效果也较差^[1]。在使用 α 氯醛糖麻醉动物后,还需再实施辅助性的安乐死操作^[1]。

3 动物种属特异性安乐死细节更新

3.1 二氧化碳气体用于兔安乐死

2013版《指南》(第51页)指出:当二氧化碳作为单一方法用于兔安乐死时,会给你带来痛苦,因此需对动物镇静后使用。在2020版《指南》(第63页)中进一步明确二氧化碳在兔安乐死时的使用细节。因为兔作为一种穴居的动物,对高浓度二氧化碳似乎有更高的耐受性,单独使用可能会导致痛苦。在高体积分数(70%、80%、90%和98%)的二氧化碳环境中,兔意识丧失前15 s内会表现出对气体的厌恶行为。在容器置换率为28%和58%时均未观察到任何痛苦表现,但是较高流速(58%)比较低流速(28%)明显更早期地使动物感觉丧失和死亡(40 s vs 99 s)。因此,2020版《指南》(第63页)推荐使用较高流速,即在对兔使用二氧

化碳进行安乐死时,容器置换率应设置为50%~60%容积/min;而且提前给予镇静剂可以减少动物对气体的潜在的厌恶行为^[1]。

3.2 水生动物的安乐死

目前还没有经过美国食品药品监督管理局(FDA)批准的水生动物安乐死药物。当因种种原因不能使用物理手段安乐死水生动物时,可以将动物浸泡在过量的水生动物麻醉剂中一段时间,达到安乐死的目的^[1,5]。因有斑马鱼浸泡于麻醉剂之后复苏的案例出现,2020版《指南》(第84页)建议:当观察到成年斑马鱼失去鱼鳃活动后,应将其再浸泡30 min,以确保动物死亡。

常用于水生动物的麻醉剂有苯佐卡因、二氧化碳饱和水、丁子香酚、异丁子香酚、丁香油、异氟烷、七氟烷、硫酸奎哪啶和甲磺酸三卡因(MS-222)。MS-222是美国FDA批准的用于鱼类、两栖类及其他水生动物和冷血动物的临时性保定剂(镇静、麻醉)。最近有研究表明,耐氧性的金鱼(*Carassius auratus*)以及丽鱼科鱼若浸入MS-222中,不足以死亡^[29]。因此,需要采用辅助性的方法确保水生动物死亡,例如断头、脑脊髓刺毁法或冷冻法^[1]。有些斑马鱼浸泡在MS-222中有痛苦的迹象,因此也建议采用第二种(物理)安乐死方法,以确保斑马鱼死亡^[30]。此外,单独使用MS-222对于斑马鱼卵、胚胎或幼体(<14 d)实施安乐死是无效的,对在这些生命阶段的动物应采用其他安乐死方法^[31]。

3.3 快速冷却法用于斑马鱼安乐死

快速冷却法(降温至2~4℃)可用于斑马鱼的安乐死。冷却使鱼鳃停止活动后,不同日龄的斑马鱼需要不同的延长冷却时间^[1,5]。2020版《指南》(第64页)指出:当快速冷却幼年斑马鱼鱼苗(4~7日龄)时,在鱼鳃停止活动后,应再将其保持在低温环境至少20 min;对于成年斑马鱼,在鱼鳃停止活动后,应再将其保持在低温环境至少10 min^[1,5];快速冷却法对于小于3日龄的斑马鱼胚胎是无效的。2020版《指南》还强调,不大于7日龄的斑马鱼胚胎受精卵或幼鱼可用稀释的次氯酸钠或次氯酸钙溶液浸泡安乐死^[1,32];但2013版未做同样表述。在实施快速冷却及浸泡在MS-222溶液中安乐死各日龄的斑马鱼后,都应采用辅助方法确保动物的死亡^[1,5]。

3.4 两栖类动物的安乐死

研究中常用的两栖动物包括非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*)、豹蛙 (leopard frog)、牛蛙 (bull frog) 和墨西哥钝口螈 (*Ambystoma mexicanum*)。对于这些动物的安乐死, 2013 版《指南》(第 51 页) 建议先将其完全麻醉后, 再使用物理方法安乐死^[5]。而 2020 版《指南》(第 64 页) 新给出了一项可接受的安乐死方法以供选择。除物理性安乐死方法外, 向两栖动物的静脉、体腔内和淋巴间隙注射高剂量的戊巴比妥钠是可被接受的一种安乐死方法^[1,33]。但是 2020 版《指南》也提到, 巴比妥类药物作用于两栖动物, 起效时间可能不一致^[1,33]。

4 常用实验动物安乐死方法推荐

2020 版《指南》的附录表列出了根据动物品种选择的安乐死方法和药物, 详见表 1。同时列出了不作为安乐死首选的可接受的方法和药物, 详见表 2。下文重点介绍一些常用实验动物的首选安乐死方法和条件性接受安乐死方法, 以供参考。

4.1 小鼠及大鼠

4.1.1 首选安乐死方法

啮齿类动物的安乐死应首选注射巴比妥类药物。此类药物对啮齿动物起效快速, 能使动物较平顺地进入无意识状态^[1,5]。值得注意的是, 腹腔注射巴比妥类药物可能会造成动物疼痛^[34-36]。

氯胺酮等分离型麻醉剂也可用作啮齿类动物的首选安乐死药物。但是, 如果动物尚处于清醒状态, 此类分离型麻醉剂必须与 α_2 肾上腺受体激动剂联用, 例如甲苯赛酮或苯二氮唑类麻醉剂 (如: 地西洋)^[1,5]。小鼠在注射氯胺酮与甲苯赛酮 (质量比为 10 mg : 1 mg 的混合溶液 100 μ L 后, 可在 3~5 s 死亡。

4.1.2 条件性接受安乐死方法

当药物残留可能会影响到取材组织的分析结果时, 也可以选用吸入性气体安乐死动物。国内常用二氧化碳作为吸入性气体安乐死动物, 该方法一般需要辅以第二种物理性方法确保动物死亡, 或通过验证设备的有效性以免除第二种物理性方法确保动物死亡的过程。二氧化碳置换率应

设置在 30%~70% (2020 版《指南》, 第 61 页), 此置换率较 2013 版《指南》建议的 10%~30% 有所提高。然而, 还没有一个最佳的二氧化碳置换率可以完美地既减少动物因低流速引起焦躁, 又防止流速过高引起黏膜疼痛。因此, 各单位兽医还应根据自己的专业判断, 选择最适合该设施的二氧化碳流速。

使用二氧化碳安乐死方法应注意: 动物安乐死容器保持清洁, 动物在笼盒内不能过于拥挤, 笼盒内的气体应该清除干净才能进行下一次安乐死操作。二氧化碳气体需来源于气体钢瓶, 不应含污染物或杂质。该二氧化碳安乐死装置还应包含一个适当的减压阀和流量计, 以保证二氧化碳置换率能够符合《指南》的建议。

挥发性麻醉气体安乐死也可作为啮齿动物的条件性接受安乐死方法, 例如异氟烷、七氟烷和地氟醚。若使用挥发性麻醉气体法, 动物需要在气体中暴露足够的时间或采用辅助性安乐死方法, 以确保动物死亡^[1,5]。

用于啮齿类动物的注射性安乐死药物有三溴乙醇和 70%~100% 乙醇溶液。使用三溴乙醇安乐死动物的条件是需辅以第二种辅助安乐死方法^[1,5]。若使用乙醇溶液安乐死动物, 则要考虑动物年龄和体型等限制因素。乙醇用于小于 35 日龄的小鼠是存在争议的^[1]。且不推荐将乙醇用于大鼠的安乐死^[1]。

啮齿类动物的物理性安乐死方法有颈椎脱臼、断头和微波辐照。这些物理性安乐死方法可以防止动物组织被化学试剂污染^[1,5]。颈椎脱臼常用于小鼠和小于 200 g 的大鼠^[1]。且实施颈椎脱臼和断头操作的人员必须经过良好的训练^[1,5]。此外, 对于需要立即固定脑部代谢物的研究, 可使用聚焦束微波辐照的方法 (需要特殊的设备) 对动物进行安乐死 (2020 版《指南》, 第 47 页)^[1,5]。

4.1.3 不可接受的安乐死方法

吸入氮气和氩气、单独注射氯化钾、单独注射神经肌肉阻断剂, 以及注射阿片类、乌拉坦和 α - 醛聚糖不可作为啮齿类动物的安乐死方法。

4.2 兔

兔安乐死方法的选择取决于其所在场所的设施及其条件。所选取的安乐死方法应尽可能地

表 1 根据动物种类选择安乐死方法和药物
Table 1 Agents and methods of euthanasia by species

种 类	首选的安乐死方法	条件性接受的安乐死方法
水生无脊椎动物	浸泡在麻醉液体(镁盐、丁香油、丁子香酚、乙醇)中	辅助方法(麻醉状态下): 70% 乙醇溶液、4% 中性甲醛溶液; 脑-脊髓穿刺; 冷冻; 煮沸
两栖类动物	根据动物种类而定: 注射巴比妥类药物、解离型麻醉剂和麻醉药物; 外用或注射甲磺酸三卡因缓冲液(MS-222); 外用盐酸苯佐卡因	根据动物种类而定: 根据指南吸入麻醉气体、二氧化碳; 系簧枪穿透; 枪击; 手持钝器击打头部; 快速冷冻(适用于体质量小于 4 g 的动物, 可快速致死)
鸟类(同禽类)	静脉注射巴比妥类药物	吸入麻醉气体、二氧化碳、一氧化碳、氮气、氩气; 颈椎脱臼(可用于小型鸟类或禽类); 断头(小型鸟类); 枪击(自由放养或野外鸟类)
猫	静脉注射巴比妥类药物; 过量注射丁甲乙酰胺(Tributame)或 T61 麻醉剂	巴比妥类药物注射(除静脉以外的途径给药); 过量给予吸入性麻醉气体一氧化碳*、二氧化碳*; 枪击*
牛	静脉注射巴比妥类药物	枪击、系簧枪穿透
犬	静脉注射巴比妥类药物; 过量注射丁甲乙酰胺(Tributame)或 T61 麻醉剂	巴比妥类药物注射(除静脉以外的途径给药); 过量给予吸入性麻醉气体、一氧化碳*、二氧化碳*; 枪击*; 系簧枪穿透*
鱼	浸泡在苯佐卡因缓冲液或盐酸苯佐卡因溶液、异氟烷、七氟烷、硫酸奎哪啶、甲磺酸三卡因缓冲液(MS-222)、2-苯氧乙醇中; 注射戊巴比妥; 快速冷却法(某些种类可用); 乙醇	丁香子酚、异丁子香酚、丁香油、饱和二氧化碳水; 断头/断颈/手持钝器击打头部后辅以脑脊髓穿刺或放血; 浸软(科研院所); 系簧枪(大型鱼类)
马	静脉注射巴比妥类药物	系簧枪穿透; 枪击
海洋哺乳动物	驯养动物: 巴比妥类药物注射。放养或野生动物: 巴比妥类药物注射或过量注射麻醉剂	驯养动物: 吸入麻醉气体。放养或野生动物: 枪击, 手持钝器击打头部, 颅内爆破
非人灵长类动物	巴比妥类药物注射或过量注射麻醉剂	视动物种类而定: 吸入麻醉气体、一氧化碳、二氧化碳
禽类	巴比妥类药物注射或过量注射麻醉剂	二氧化碳、一氧化碳、氮气、氩气、低气压致晕; 颈椎脱臼(视解剖结构而定); 断头; 手持钝器击打头部; 电击; 枪击; 系簧枪
兔	静脉注射巴比妥类药物	吸入过量麻醉气体、二氧化碳; 颈椎脱臼(视解剖结构而定); 系簧枪穿透; 非穿透型系簧枪
爬行动物	根据动物种类酌情选择: 巴比妥类药物、甲磺酸三卡因(MS-222)注射; 解离型麻醉剂与辅助方法联用; 根据动物种类选择麻醉剂	视动物种类而定: 吸入麻醉气体、二氧化碳; 系簧枪穿透或枪击; 手持钝器击打头部; 快速冷冻可使小于 4 g 的动物快速致死; 脊髓损毁/脑部破坏(鳄鱼)
啮齿类动物	巴比妥类药物或巴比妥类药物组合剂; 解离型麻醉药组合	吸入麻醉气体、二氧化碳、一氧化碳; 三溴乙醇; 乙醇; 颈椎脱臼; 断头; 聚焦束微波辐射
小型反刍动物	巴比妥类药物注射	二氧化碳(山羊羔); 枪击; 击昏器; 系簧枪穿透; 非穿透型系簧枪(山羊羔)
猪	巴比妥类药物注射	二氧化碳、一氧化碳、一氧化氮、氮气、氩气; 枪击; 电击; 系簧枪穿透; 非穿透型系簧枪(仔猪); 手持钝器击打头部

注: *代表该安乐死方法不是常规使用的方法。该表为 2020 版《指南》附录 1 的汉化。

减少动物应激。不管选用了哪种安乐死方式, 都要对死亡进行确认^[1,5]。确认死亡的方法是观察兔的呼吸和心跳停止, 并且兔的瞳孔散大且固定^[1,5]。对于拥有保定装置以及管制药品的单

位, 可以采用先镇静, 后过量给予麻醉气体的方式安乐死动物^[1,5]。

4.2.1 首选安乐死方法

兔安乐死首选巴比妥类药物注射。如果技术

表 2 不作为安乐死首选的可接受的方法和药物

Table 2 Agents and methods that are unacceptable as primary methods of euthanasia

药物或方法	备注及说明
空气栓塞	使用空气栓塞法安乐死的动物会出现抽搐、角弓反张、鸣叫等临床症状。如果必须使用该方法安乐死动物时,必须先将动物麻醉
窒息	不可用机械手段(如闷死、绞死、脱水)阻止动物呼吸
烧伤	化学或物理性烧伤是不可接受的安乐死方法
水合氯醛	不可用作犬、猫和小型哺乳动物的安乐死
氯仿	已知氯仿具有肝毒性,是疑似的致癌物。因此,对人有非常强的毒性
氰化物	氰化物对操作人员极度危险。用氰化物安乐死动物时,在观感上给人不适
泄压(不包括已证明的可实现安乐死的低气压晕厥)	泄压是不可接受的安乐死方式,其有许多缺点: (1) 许多容器的设计泄压速率过高,是推荐速率的15~60倍,从而导致动物体腔内的气体膨胀,引起动物疼痛和不安; (2) 幼年动物对低氧耐受,因此在呼吸停止前,需要较长的泄压时间; (3) 意外恢复气压,即受伤的动物有复苏的情况; (4) 无意识的动物可能会出现出血、呕吐、抽搐、排尿、排便等症状,在观感上可能会引起人的不适
溺水	溺水不是合适的安乐死方法,而且是不人道的
放血	因为极端低血容量会引起动物焦躁,所以放血如果作为单一处死动物的方法使用时,只能用于无意识的动物
甲醛	除海绵动物外,直接将动物浸泡在甲醛溶液中是不人道的
日化品及溶剂	丙酮、清洁剂、四元化合物(包括四氯化碳)、泻药、杀虫剂、二甲基酮、季铵盐类化合物、抗酸剂以及其他非专用于治疗或安乐死用途的有毒物质都不是可接受的安乐死方法
低温	低温是一种不合适的安乐死方法
胰岛素	胰岛素会引起低血糖症,动物因低血糖而昏厥前会出现明显的不适症状(如行为改变、应激反应、迷惑)。使用胰岛素不一定能有效安乐死动物
硫酸镁和氯化钾	此类化合物不可用于清醒脊椎动物的安乐死
手持钝器击打头部	除仔猪和小型实验动物外,多数情况下是不可接受的安乐死方法。尽可能使用其他方法代替手持钝器击打头部的的方法
神经肌肉阻断剂(尼古丁、硫酸镁、氯化钾和全部的箭毒类药物)	如果单独使用这些药物,动物失去意识前都会出现呼吸暂停。因此,动物在失去活动能力后,仍然能够感受到痛苦和不适
急速冷冻	除用于体质量小于4 g的爬行动物、两栖动物和出生时间少于5 d的新生仔鼠的快速死亡外,急速冷冻法属于非人道的安乐死方法。除此以外,只有接近死亡状态或已经处于无意识状态的动物,才可以使用急速冷冻法。鱼的急速冷却不属于此方法
士的宁	使用士的宁会造成动物抽搐和痛苦的肌肉收缩
胸廓压迫	不可用于清醒的动物

注: 该表为 2020 版《指南》附录 2 的汉化。

熟练,推荐使用静脉给药方式^[1,5];腹腔注射会造成一定程度的疼痛。

4.2.2 条件性接受的安乐死方法

如果设施内具备气体装置,可以选用吸入性气体的方式安乐死兔。使用挥发性麻醉剂或二氧化碳气体均可。二氧化碳置换率应设置为 50%~60% 的容器体积/min^[1]。但由于兔在应激状态以及闻到不适气体时,都会有屏气的生理现象出现^[1,5],因此在从饲养笼中将动物取出前,最好事先给予镇静药物。这样做的好处是可以减少动

物的屏气反应,防止麻醉气体“过量”。

可用于兔安乐死的物理性方法有颈椎脱臼、使用 PCB 或使用 NPCB。兔可被放置在专用的兔头部固定器中,操作人员只需拉拽兔后肢或髁部,即可完成兔颈椎脱臼^[1];这样做特别适用于颈部肌肉发达的成年兔^[1]。如使用 PCB 安乐死兔,需先将兔头部固定,以防止未击中的情况发生。要根据兔的体型选择合适的 PCB^[1]。不使用时,需要保持击昏器 PCB 的清洁。对于患病动物,使用 PCB 容易出现环境污染的问题,需特

别注意^[1]。另外,操作人员需要经过专门的训练,方可使用 PCB 安乐死动物^[1]。

已麻醉的兔也可使用静脉或心脏注射氯化钾、放血以及双侧胸腔打开等辅助性手段安乐死^[1,5]。

4.3 犬和非人灵长类动物

犬和非人灵长类动物首选的安乐死方法是先镇静,后经静脉给予巴比妥类药物^[1,5]。对于犬安乐死,如果无法获得巴比妥类药物,也可在动物镇静后,给予 Tributame (又称丁甲乙酰胺)安乐死^[1,5]。当动物处于麻醉状态时,也可以使用例如双侧胸腔打开、放血、灌注、静脉或心脏注射氯化钾等方式安乐死^[1,5]。

4.4 猪

猪的首选安乐死方法为静脉给予巴比妥类药物,或过量给予其他麻醉药物致死。如果无法获得巴比妥类药物,也可以选取包括高浓度二氧化碳、枪击、电击、PCB、NPCB (仅限于乳猪)以及钝击头部等条件性接受安乐死方法对动物实施安乐死^[1,5]。兽医可根据动物体型及体质量、设备设施、操作人员的经验和健康要求、取材组织的需要来选择合适的安乐死方法^[1,5]。

4.5 哺乳动物幼仔与胎儿

4.5.1 首选安乐死方法

哺乳动物幼仔的痛觉系统未发育完全,且常常对低氧耐受^[1,5]。因此,对于这些动物,首选的安乐死方式有注射巴比妥类药物,或巴比妥类药物与局部麻醉、抗痉挛药物联用,或分离型药物与 $\alpha 2$ 肾上腺受体激动剂或苯二氮卓类药物联用这3种方式^[1]。哺乳动物胎儿在子宫内是无意识的。因此,对于胎儿,在母体安乐死后,只需将胎儿遗留在母体子宫内一段时间(15~20 min)^[1],胎儿即会自然缺氧死亡,无须单独对胎儿进行安乐死操作。

4.5.2 条件性接受的安乐死方法

可条件性用于动物幼仔的安乐死方法有吸入挥发性麻醉气体法、低温法、快速冷却法、断头和颈椎脱臼法。

幼年动物在单纯二氧化碳中可存活较长时间^[1,5]。因此,需要将动物放置于安乐死气体中较长时间,并结合辅助(物理性)安乐死方法,以确保动物死亡。小于10日龄的动物可使用低温

法安乐死,但也需要辅助方法确保动物死亡。在使用低温方式时,需注意动物不能接触到冰块,以防冻伤引起的疼痛^[1,5]。小于5日龄的动物可浸泡于液氮中快速致死。

5 总结

对于绝大多数的脊椎动物来说,都可以将静脉注射巴比妥类药物作为安乐死的首选方法。若无法获取巴比妥类药物,或在动物难以保定的情况下,也可选取条件性接受安乐死方法。值得注意的是,一种方法是否定义为条件性接受的安乐死方法,与操作人员熟练程度、动物的生物学特性及操作环境等多方面因素有关,并不局限于方法本身。例如,采用吸入性麻醉气体安乐死动物时,实验人员必须要在确定动物失去反射后,辅以物理性方法确保动物死亡。因此,采用第二种方法确保动物死亡是使用吸入性麻醉法安乐死动物的前提条件。又如,对适用于颈椎脱臼法的啮齿类动物,如果操作人员可以保证瞬间将动物颈椎脱臼,则该方法是可被接受的。因此,采用颈椎脱臼法的前提条件是实验技术人员的操作足够熟练。再如,吸入性气体若要用于兔的安乐死,其前提条件是兔已经处于麻醉或镇静状态,以避免兔出现特有的屏气反应。由以上案例可以发现,所谓的条件性接受安乐死方法,其所要求的前提条件是不同的。当前提条件都被满足时,条件性接受的安乐死方法等同于首选安乐死方法。具体要选择何种安乐死方法,应由执行或监督安乐死操作的兽医根据操作人员的技术能力、动物种类、顺应程度、麻醉状态、实验终点要求和死亡确认步骤,选择适合的安乐死方法。

需要说明,实验动物的种类宽泛,饲养场所条件各有不同,而本文篇幅有限,未能全部涉及。读者可通过阅读2013版《指南》中文译本^[37]或2020版《指南》原文,进一步了解实验动物安乐死详情。

[参考文献]

- [1] LEARY S, UNDERWOOD W, ANTHONY R, et al. AVMA Guidelines for the euthanasia of animals: 2020

- Edition[M]. Schaumburg: American Veterinary Medical Association, 2020.
- [2] DANNEMAN P J, MANDRELL T D. Evaluation of five agents/methods for anesthesia of neonatal rats[J]. *Lab Anim Sci*, 1997, 47(4):386-395.
- [3] SILVERMAN J, HENDRICKS G. Sensory neuron development in mouse coccygeal vertebrae and its relationship to tail biopsies for genotyping[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88158. DOI:10.1371/journal.pone.0088158.
- [4] FITZGERALD M. The development of nociceptive circuits [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6(7):507-520. DOI:10.1038/nrn1701.
- [5] LEARY S, UNDERWOOD W, ANTHONY R, et al. AVMA Guidelines for the euthanasia of animals: 2013 Edition[M]. Schaumburg: American Veterinary Medical Association, 2013.
- [6] HICKMAN D L, JOHNSON S W. Evaluation of the aesthetics of physical methods of euthanasia of anesthetized rats[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2011, 50(5):695-701.
- [7] MAKOWSKA J, GOLLEDGE H, MARQUARDT N, et al. Sedation or inhalant anesthesia before euthanasia with CO₂ does not reduce behavioral or physiologic signs of pain and stress in mice[J]. *J Am Assoc Lab Animal Sci*, 2012, 51(4):396-397.
- [8] HEWETT T A, KOVACS M S, ARTWOHL J E, et al. A comparison of euthanasia methods in rats, using carbon dioxide in prefilled and fixed flow rate filled chambers[J]. *Lab Anim Sci*, 1993, 43(6):579-582.
- [9] HICKMAN D L, FITZ S D, BERNABE C S, et al. Evaluation of low versus high volume per minute displacement CO₂ methods of euthanasia in the induction and duration of panic-associated behavior and physiology[J]. *Animals (Basel)*, 2016, 6(8):E45. DOI:10.3390/ani6080045.
- [10] BOIVIN G P, BOTTOMLEY M A, DUDLEY E S, et al. Physiological, behavioral, and histological responses of male C57BL/6N mice to different CO₂ chamber replacement rates[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2016, 55(4):451-461.
- [11] POWELL K, ETHUN K, TAYLOR D K. The effect of light level, CO₂ flow rate, and anesthesia on the stress response of mice during CO₂ euthanasia[J]. *Lab Animal*, 2016, 45(10):386-395. DOI:10.1038/labani.1117.
- [12] WALSH J, PERCIVAL A, TURNER P. Efficacy of blunt force trauma, a novel mechanical cervical dislocation device, and a non-penetrating captive bolt device for on-farm euthanasia of pre-weaned kits, growers, and adult commercial meat rabbits[J]. *Animals*, 2017, 7(12):100. DOI:10.3390/ani7120100.
- [13] CARTNER S C, BARLOW S C, NESS T J. Loss of cortical function in mice after decapitation, cervical dislocation, potassium chloride injection, and CO₂ inhalation[J]. *Comp Med*, 2007, 57(6):570-573.
- [14] Leica Biosystems. Decapitator Rodent[Z]. (2020-05-31). <https://www.leicabiosystems.com/research/neuroscience/sample-preparation/products/decapitator/>.
- [15] POOLE G H, FLETCHER D L. A comparison of Argon, carbon dioxide, and nitrogen in a broiler killing system[J]. *Poult Sci*, 1995, 74(7):1218-1223. DOI:10.3382/ps.0741218.
- [16] RAJ A B, WHITTINGTON P E. Euthanasia of day-old chicks with carbon dioxide and Argon[J]. *Vet Rec*, 1995, 136(12):292-294. DOI:10.1136/vr.136.12.292.
- [17] CASEY-TROTT T M, MILLMAN S T, TURNER P V, et al. Effectiveness of a nonpenetrating captive bolt for euthanasia of 3 kg to 9 kg pigs[J]. *J Anim Sci*, 2014, 92(11): 5166-5174. DOI:10.2527/jas.2014-7980.
- [18] SCHÜTT-ABRAHAM I, KNAUER-KRAETZL B, WORMUTH H J. Observations during captive bolt stunning of rabbits[J]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 1992, 105(1):10-15.
- [19] MEYER R E, WHITLEY J T, MORROW W E M, et al. Effect of physical and inhaled euthanasia methods on hormonal measures of stress in pigs[J]. *J Swine Health Prod*, 2013, 21(5):261-269.
- [20] VALENTIM A M, GUEDES S R, PEREIRA A M, et al. Euthanasia using gaseous agents in laboratory rodents[J]. *Lab Anim*, 2016, 50(4):241-253. DOI:10.1177/0023677215618618.
- [21] HEDENQVIST P, ROUGHAN J V, ANTUNES L, et al. Induction of anaesthesia with desflurane and isoflurane in the rabbit[J]. *Lab Anim*, 2001, 35(2):172-179. DOI:10.1258/0023677011911561.
- [22] FLECKNELL P A, ROUGHAN J V, HEDENQVIST P. Induction of anaesthesia with sevoflurane and isoflurane in the rabbit[J]. *Lab Anim*, 1999, 33(1):41-46. DOI:10.1258/002367799780578516.
- [23] SHARP J L, ZAMMIT T G, AZAR T A, et al. Stress-like responses to common procedures in male rats housed alone or with other rats[J]. *Contemp Top Lab Animal Sci*, 2002, 41(4):8-14.
- [24] BOIVIN G P, HICKMAN D L, CREAMER-HENTE M A, et al. Review of CO₂ as a euthanasia agent for laboratory rats and mice[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2017, 56(5): 491-499.
- [25] PRITCHETT-CORNING K R. Euthanasia of neonatal rats with carbon dioxide[J]. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2009,

- 48(1):23-27.
- [26] LORD R. Use of ethanol for euthanasia of mice[J]. Aust Vet J, 1989, 66(8):268. DOI:10.1111/j.1751-0813.1989.tb13590.x.
- [27] ALLEN-WORTHINGTON K H, BRICE A K, MARX J O, et al. Intraperitoneal injection of ethanol for the euthanasia of laboratory mice (*Mus musculus*) and rats (*Rattus norvegicus*)[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2015, 54(6):769-778.
- [28] DE SOUZA DYER C, BRICE A K, MARX J O. Intraperitoneal administration of ethanol as a means of euthanasia for neonatal mice (*Mus musculus*)[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2017, 56(3): 299-306.
- [29] BALKO J A, ODA A, POSNER L P. Use of tricaine methanesulfonate or propofol for immersion euthanasia of goldfish (*Carassius auratus*)[J]. J Am Vet Med Assoc, 2018, 252(12):1555-1561. DOI:10.2460/javma.252.12.1555.
- [30] WILSON J M, BUNTE R M, CARTY A J. Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS-222) as methods of euthanasia in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2009, 48(6):785-789.
- [31] COLLYMORE C, BANKS E K, TURNER P V. Lidocaine hydrochloride compared with MS222 for the euthanasia of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2016, 55(6):816-820.
- [32] Office of Animal Care and Use. Guidelines for use of zebrafish in the NIH intramural research program[M]. Bethesda, Md: National Institutes of Health, 2009.
- [33] TORREILLES S L, MCCLURE D E, GREEN S L. Evaluation and refinement of euthanasia methods for *Xenopus laevis*[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2009, 48(5):512-516.
- [34] DUTTON J W 3rd, ARTWOHL J E, HUANG X C, et al. Assessment of pain associated with the injection of sodium pentobarbital in laboratory mice (*Mus musculus*)[J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2019, 58(3):373-379. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-18-000094.
- [35] KHOO S Y, LAY B P P, JOYA J, et al. Local anaesthetic refinement of pentobarbital euthanasia reduces abdominal writhing without affecting immunohistochemical endpoints in rats[J]. Lab Anim, 2018, 52(2):152-162. DOI:10.1177/0023677217721260.
- [36] SVENDSEN O, KOK L, LAURITZEN B. Nociception after intraperitoneal injection of a sodium pentobarbitone formulation with and without lidocaine in rats quantified by expression of neuronal c-fos in the spinal cord: a preliminary study[J]. Lab Animals, 2007, 41(2):197-203. DOI:10.1258/002367707780378140.
- [37] 卢选成. 美国兽医协会动物安乐死指南 2013 版 (翻译版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2019.
- (收稿日期: 2021-04-25 修回日期: 2021-05-31)

祝贺本刊编委周洁研究员荣获第三十三届上海市优秀发明金奖

2021 年 6 月, 由上海市总工会、上海市知识产权局、共青团上海市委员会、上海市科学技术协会、上海发明协会等单位联合主办, 经上海市人民政府批准的科技奖励项目之一“上海市优秀发明选拔赛”的获奖项目名单正式揭晓。《实验动物与比较医学》编委、上海实验动物研究中心研究员周洁博士的发明项目《试验小鼠病毒标准化快速核酸检测平台的建立》一举摘得第三十三届上海市优秀发明金奖。



该发明项目的部分相关成果已发表于本刊。具体文献列表如下:

- [1] 周洁, 陶凌云, 赵丽娟, 等. 鼠痘病毒环介导等温扩增可视化检测方法的建立[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(5):343-349. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2018.05.004.
- [2] 周洁, 赵丽娟, 陶凌云, 等. 鼠痘病毒感染机制及其检测方法研究进展[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(2): 160-164. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2018.02.016.
- [3] 陶凌云, 周洁, 胡建华, 等. 国内外大鼠和小鼠微生物、寄生虫检测标准的比较[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(2):166-172. DOI:10.3969/j.issn.1674-5817.2020.02.014.

《实验动物与比较医学》编辑部