



中华人民共和国认证认可行业标准

RB/T 061—2021

实验动物安乐死技术规范

Technical specifications on euthanasia of laboratory animals

2021-11-04 发布

2022-01-01 实施

国家认证认可监督管理委员会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本文件起草单位：中国合格评定国家认可中心、中国疾病预防控制中心、中国科学院昆明动物研究所、上海实验动物研究中心、北京大学、中国医学科学院实验动物研究所、苏州大学、中国食品药品检定研究院、北京市实验动物管理办公室、广东省实验动物监测所、山东大学、中国科学院动物研究所、中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所、中国人民解放军军事科学院军事医学研究院、北京维通利华实验动物技术有限公司、江苏集萃药康生物技术有限公司。

本文件主要起草人：史光华、刘晓宇、吕龙宝、周正宇、李娜、李秦、卢选成、魏晓峰、王锡乐、多曙光、李彦青、邵奇鸣、张晓迪、张爱国、吴宝金、邱业峰、卢胜明、黄韧、高诚。

实验动物安乐死技术规范

1 范围

本文件规定了实验动物安乐死实施的基本原则、资源配置以及过程控制等管理和技术方面的要求。

本文件适用于实验动物生产和使用机构建立和完善安乐死实施的技术能力和对安乐死实施过程的管理,也适用于认可机构、监管机构以及客户对实验动物生产和使用机构(以下简称“机构”)安乐死实施能力的确认。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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/T 27416—2014 实验动物机构 质量和能力的通用要求

RB/T 173—2018 实验动物人道终点评审指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

动物实验 animal experiment

任何为了可接受的目的而使用动物进行的实验,这一过程可能造成动物疼痛、痛苦、焦虑、持久性损伤、受孕、生育等。

[来源:GB/T 27416—2014,3.1]

3.2

实验动物 laboratory animals

按相关标准专门培育和饲养的旨在用于实验或用于其他科学目的的动物。

[来源:GB/T 27416—2014,3.2]

3.3

疼痛 pain

一种不愉快的感觉和情绪上的感受,常伴有实际发生的或潜在的机体损伤。

[来源:RB/T 173—2018,3.3]

注:常见的疼痛类型包括急性反应疼痛——由短暂有害刺激导致的一种疼痛反应,不伴有组织损伤,如足部反射;慢性炎症疼痛——由于组织受损以及炎症过程中所导致的一种慢性疼痛,可能比较严重或令动物较为痛苦,如局部感染;神经性疼痛——由于外周或中枢神经系统功能性损害或异常活化所导致的疼痛反应,往往很严重并令动物痛苦不堪,如压迫神经的内脏肿瘤等。

3.4

痛苦 distress

由于不适应或无能力适应应激而使动物表现出身体和行为发生改变的一种不良状态。

注 1:致使动物感觉明显疼痛、恐惧和焦虑的情况是导致动物痛苦的主要应激源。

注2：实验过程中，蜷缩到笼角、过分挣扎或用药时的鸣叫都是动物痛苦的表现。

[来源：RB/T173—2018,3.4]

3.5

人道终点 humane endpoint

考虑人道对待动物的要求和实验要求，合理终止动物用于实验的时机。

注：GB/T 27416—2014 3.6 称人道终点为“人道终止时机”。

[来源：GB/T 27416—2014,3.6]

3.6

安乐死 euthanasia

以迅速造成动物意识丧失而致身体、心理痛苦最小之处死动物的方法。

注：GB/T 27416—2014 3.4 称安乐死为“安死术”。

[来源：GB/T 27416—2014,3.4]

3.7

验证 verification

通过提供客观证据对规定要求已得到满足的认定。

[来源：GB/T 19000—2016/ISO 9000:2015,3.8.12]

3.8

确认 validation

通过提供客观证据对特定的预期用途或应用要求已得到满足的认定。

注：本文件中安乐死方法的“确认”适用于本定义。

[来源：GB/T 19000—2016/ISO 9000:2015,3.8.13]

4 基本原则

4.1 方法科学规范

应尽可能采用国际公认的安乐死方法。如有变更，应有充分的科学理由，并通过实验动物使用和管理委员会(IACUC)审核。

4.2 关注动物福利

选择的安乐死方法应适合相应的实验动物种类和生物学特征(或生理特征)，应能使实验动物在无痛苦或者极少痛苦的状态下迅速失去意识直至死亡。

4.3 实验结果影响最小化

方法的选择和实施应对实验结果影响最小。

5 资源要求

5.1 人员

5.1.1 培训

5.1.1.1 实施安乐死的人员均应经过安乐死技术的培训，熟练掌握安乐死技术。

5.1.1.2 应由兽医组织编制培训文件(包括培训计划、培训方式、上岗要求、考核及监督要求等)，并负责实施培训、考核以及培训效果的评价。

5.1.1.3 培训内容包括(但不限于):

- a) 实验动物福利伦理;
- b) 疼痛及痛苦分级与评估;
- c) 方法的致死原理;
- d) 适用不同种类实验动物的安乐死方法及技术;
- e) 判断实验动物疼痛、痛苦、意识丧失和确认死亡的方法;
- f) 安乐死相关仪器设备的使用;
- g) 人员防护、心理健康等职业健康安全。

5.1.1.4 对在岗人员持续的教育培训应纳入机构的年度人员培训计划。

5.1.2 考核及评估

5.1.2.1 根据培训计划,对接受培训的人员进行考核。考核可采用笔试、口试和实际操作等方式。

5.1.2.2 培训人员应通过考核、评价并经过授权后方可开展安乐死操作。

5.1.2.3 初次实施安乐死的人员应在有资格且有经验的人员的监督和指导下,方可开展安乐死的实施操作。

5.1.2.4 机构应对安乐死实施人员的技术能力进行定期评价,并纳入机构 IACUC 的年度监督检查计划。

5.2 设施和环境条件

5.2.1 安乐死实施的环境条件应不影响实验动物福利水平。

5.2.2 应以文件的形式规定安乐死实施所需设施及环境条件的要求。

5.2.3 安乐死实施的环境设施应远离人员流动密集的区域,避免受到强烈振动或者噪声的干扰。

5.2.4 应采用物理隔离方式或其他有效措施,以避免在实施安乐死时实验动物散发的气味或发出的声音及其濒死状态等对其他实验动物产生影响。

5.2.5 在非固定场所实施安乐死时,除满足上述条款规定外,机构应有非固定场所安乐死实施环境的处置程序,确保实施环境不受到污染或破坏。

5.3 设备

5.3.1 应配备实施安乐死所需的设备,列出设备清单并将设备使用方法形成文件。安乐死常用设备清单见附录 A。

5.3.2 应对下列设备关键参数定期进行维护、检定、校准或核查,包括:

- a) 吸入式安乐死设备的关键参数(如密封性、气体流量、计时器等);
- b) 吸入式安乐死设备的监测和报警装置(如报警器、检测仪等);
- c) 各种注射装置、浸泡装置、冷冻设备和装置;
- d) 各种钝击器、手术器械、挤压器、电击设备。

5.3.3 当在非固定场所实施安乐死时,应在实施安乐死前后对设备的检定/校准状态和功能进行适当的核查,以确认校准状态和在用设备的适宜性。如果现场不具备核查条件,应在领用前对设备进行核查。

5.4 药品、试剂和材料

5.4.1 药品、试剂和材料的购买、使用、储存和运输应符合国家和相关行业主管部门的规定和要求。如:

- a) 气体钢瓶应来自具有特种设备制造许可证的单位;

- b) 气体灌装单位应取得特种设备安全监督管理部门许可；
- c) 购买麻醉品应向当地公安部门申请备案,并从具有麻醉品经营资质的单位购买。

5.4.2 应有对外部提供产品和服务的程序和规定。如:

- a) 确定、审查和批准机构对药品、试剂和材料的要求；
- b) 确定对外部供应商的评价、选择、表现进行监控的标准；
- c) 在使用外部提供的药品、试剂或材料前,应确保符合本机构规定的要求；
- d) 根据对外部供应商的评价、监控和评价结果采取相应的应对措施。

5.4.3 安乐死用药品或试剂应形成清单。安乐死常用药品试剂清单见附录 A。

5.4.4 挥发性麻醉药品使用场所应配备必要的排风设备,以保证通风。

5.4.5 气体钢瓶应直立放置,并具有防倾倒措施。搬运时应使用专用推车。气体钢瓶使用前需检查连接部位是否漏气。瓶内气体不应全部用尽,一般应保持 0.2 MPa~1 MPa 的余压,以备充气单位检验取样及防止其他气体倒灌。

5.4.6 当在非固定场所实施安乐死时,应确保适宜的运输、存储和使用的环境条件,以保证药品和试剂的性能和状态有效。

6 实施过程要求

6.1 安乐死计划编制

6.1.1 应确保所有动物实验项目都编制安乐死计划,包括涉及野外开展的动物实验项目。安乐死计划可单独制定,也可作为实验方案的一部分内容。

6.1.2 计划应由实验人员编制,应在兽医的指导下或咨询兽医完成,并通过 IACUC 审核。

6.1.3 计划至少应包括以下内容:实施时机、使用方法、药品浓度及剂量、所需设备、动物死亡确认方法以及计划编制、实施操作人员名单、人员分工和意外情况处理方案等。

6.2 安乐死方法

6.2.1 安乐死方法选择

6.2.1.1 应按以下顺序依次选择实施安乐死的方法:国际标准、区域标准、国家标准、由权威行业组织发布的方法、在有关科技书籍、期刊中公布的方法。

6.2.1.2 适宜的安乐死方法应使实验动物在未感到恐惧和紧迫感的状态下迅速丧失意识,并且使实验动物历经最少表情变化、声音变化和身体挣扎,令旁观者容易接受以及对操作人员安全。适用不同实验动物的安乐死常用方法参见附录 B。

6.2.1.3 当因选用注射方式实施安乐死而使用药品时,应考虑减少被滥用的风险和对环境的影响。

6.2.2 安乐死方法的验证

6.2.2.1 方法使用前,机构应确认具备方法规定的环境设施、药品和材料等资源条件,并由具备专业能力的人员按照方法规定的程序验证方法的有效性。

6.2.2.2 安乐死标准操作程序批准在使用前应通过 IACUC 的审核。

6.2.2.3 应针对可能发生的风险制定应急处置预案并通过 IACUC 审核。

6.2.3 安乐死方法的确认

6.2.3.1 应对非标准方法、实验室开发的方法进行确认,筛选其中可达预期目的和要求的方法。

6.2.3.2 确认应满足以下要求:

- a) 符合国际通用的指导方针并通过 IACUC 审核；
- b) 优于或等效于国际公认的现行推荐方法，或者优于或等效于其他已确认的方法。

6.3 安乐死的实施

- 6.3.1 已获得预期的实验结果、实验动物达到人道终点标准或因特殊原因不适合继续饲养（如发生疫情或意外灾害等）时应实施安乐死。
- 6.3.2 安乐死的实施应严格按照安乐死计划执行。
- 6.3.3 安乐死实施过程中应密切观察动物状态，如有意外情况发生应及时报告兽医并记录。
- 6.3.4 安乐死实施过程中进行所有操作均应符合动物福利的相关规定，如动物抓取、保定、注射给药等。
- 6.3.5 安乐死实施后，应在确认动物死亡后方可处理动物尸体。动物死亡的确认方式可结合心跳和呼吸停止、反射消失或尸体僵硬等方法来确认。如无法确认动物已死亡，应实施包括放血、颈椎脱臼和脑脊髓损坏等措施以确保动物死亡。
- 6.3.6 动物尸体应严格按照法规要求，进行无害化处理。
- 6.3.7 使用对人有副作用的药物时，应有确保操作人员安全的防护措施。
- 6.3.8 应有保障人员心理健康的措施，如技术培训、轮班、心理咨询疏导等。
- 6.3.9 如未按照计划实施安乐死，应实施偏离程序。
- 6.3.10 IACUC 或其授权人应不定期监督安乐死实施过程是否符合要求，及时制止和纠正不恰当行为。

7 记录与档案

- 7.1 机构应有记录和档案的管理程序，对各类记录和档案的保存期限和保存条件予以规定。
- 7.2 人员培训及考核结果应记录并存档。
- 7.3 安乐死设备应建档。设备使用、校准和核查应记录并存档。
- 7.4 麻醉品购买、入库、领取、使用、返还和销毁应记录并存档。
- 7.5 安乐死方法确认程序、结果应记录并存档。
- 7.6 安乐死实施过程以及实施期间的相关环境参数应记录并存档。

附 录 A

(资料性)

安乐死常用设备及药品试剂清单

实验动物实施安乐死时常用设备清单和常用药品试剂清单分别见表 A.1 和表 A.2。

表 A.1 实验动物实施安乐死时常用设备清单

设备分类	设备名称	设备举例
化学方法设备	吸入式安乐死设备	安乐死箱和异氟醚/烷、氨氟醚/烷、氟烷等的气化发生器;安乐死箱和氮气、氩气、二氧化碳钢瓶
	注射用安乐死设备	各种注射器、输液器、麻醉枪等
	浸泡用安乐死设备	各种可密闭缸体
物理方法设备	冷冻用安乐死设备	各种可密闭抗冻箱体
	脱颈椎式安乐死设备	不透明隔档工作台
	断头式安乐死设备	各种型号断头台
	脑脊髓刺毁式安乐死设备	脊髓穿刺针
	放血式安乐死设备	手术刀等器械
	胸腔挤压式安乐死设备	动物保定架和相应型号挤压器
	钝器击打式安乐死设备	动物保定架和各种型号钝击器

表 A.2 常用药品试剂清单

药剂名称	英文名	适用动物	使用方法	备注
二氧化碳	Carbon dioxide	啮齿动物、家禽、兔、犬 ^a 、猫 ^a 、猪、非人灵长类	吸入 ^b	渐进填充法;适用于 7 日龄以上啮齿类动物;动物呼吸停止后至少再持续释放 1 min CO ₂ ;幼年动物应暴露更长时间
氟烷	halothane	啮齿动物、兔、猫、犬、雪貂、臭鼬、鸡、鸽、猴	吸入 ^b	一般不用于大型动物(体重小于 7 kg)
氨氟醚	Enflurane	啮齿动物、兔、猫、犬、雪貂、臭鼬、鸡、鸽、猴	吸入 ^b	一般不用于大型动物(体重小于 7 kg)
异氟烷	isoflurane	啮齿动物、兔、猫、犬、雪貂、臭鼬、鸡、鸽、猴	吸入 ^b	一般不用于大型动物(体重小于 7 kg)
苯佐卡因	benzocaine	青蛙、蟾蜍、鱼	浸泡	有刺激性
三卡因甲基磺酸盐(甲烷磺酸三钙)	Tricaine methane sulphate (TMS 或 MS-222)	青蛙、蟾蜍、鱼	浸泡	不适合注射法,对人有刺激性
依托咪酯/美托咪酯	Etomidate/metomidate	鱼	浸泡	—

表 A.2 常用药品试剂清单（续）

药剂名称	英文名	适用动物	使用方法	备注
喹哪啶（2-甲基喹啉）	Quinaldine (2-methylquinoline)	鱼	浸泡	美国推荐，欧盟不认可；对人有刺激性
巴比妥酸盐	Barbiturates	青蛙、蟾蜍、鱼、龟、蛇、蜥蜴、啮齿动物、兔、猫、犬、雪貂、臭鼬、鸡、鸽、猴、猪、牛、羊、马、驴、海洋哺乳动物	静脉或腹腔注射	动物要适当的保定；部分动物会引起脾肿大等病变
乙醇	Ethanol	啮齿动物	腹腔注射 ^b	—
氯化钾	Potassium chloride	—	注射 ^b	仅能在动物麻醉状态下使用
^a 不推荐作为常规方法使用。 ^b 条件性可接受方法。				

附录 B

(资料性)

实验动物安乐死常用方法

实验动物安乐死常用方法见表 B.1。

表 B.1 实验动物安乐死常用方法

品种	建议方法	备注
鱼	敲击颅骨,破坏脑部;水内加过量 TMS(MS-222)(浸渍法)或注射过量 TMS(MS-222)	—
禽类	过量麻醉;CO ₂ 安乐死;颈椎脱臼;断头;敲击颅骨,破坏脑部	小于 1 kg 的禽类才可使用颈椎脱臼,超过 250 g 的须在镇静或麻醉状态下实施;断头法仅在其他方法可用的情况下使用
啮齿类	过量麻醉;CO ₂ 安乐死;颈椎脱臼;断头;敲击颅骨,破坏脑部	CO ₂ 安乐死不可用于胎儿和新生的啮齿类动物;小于 1 kg 的啮齿动物才可使用颈椎脱臼,超过 150 g 的须在镇静或麻醉状态下实施;断头法仅在其他方法可用的情况下使用
兔	过量麻醉;颈椎脱臼;敲击颅骨,破坏脑部	小于 1 kg 的兔才可使用颈椎脱臼,超过 150 g 的须在镇静或麻醉状态下实施
犬、猫、仓鼠、豚鼠和雪貂	过量麻醉	—
非人灵长类	过量麻醉	—
注 1: 胚胎阶段、胎儿和新生动物安乐死:均可采用过量麻醉的方法;浸泡于冰冷的组织固定液后冷冻,适用于小鼠和兔;断头,适用于小于 50 g 的哺乳动物和禽类。 注 2: 由于麻醉剂种类多、麻醉途径不一,建议方法中的过量麻醉不得使用国际上禁用、不再使用、三致(致畸、致癌、致突变)或毒副作用大的麻醉剂和麻醉途径,如水合氯醛等。		

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国科学技术部.关于善待实验动物的指导性意见:科技部国科发财字(2006)第398号
- [2] GB/T 19000—2016 质量管理体系 基础和术语
- [3] GB/T 27416—2014 实验动物机构 质量和能力的通用要求
- [4] RB/T 173—2018 动物实验人道终点评审指南
- [5] European Commission. Directive 2010 /63 /EU of the European parliament and of the council of on the protection of animals used for scientific purpose[S].Official Journal of the European Union L 276 /33, 2010.
- [6] National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals: Eighth Edition. Washington, DC: The National Academies Press. 2011.
- [7] American Veterinary Medical Association. AVMA guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition.2013.
- [8] 贺争鸣,李根平,李冠民,等.实验动物福利与动物实验科学[M].北京:科学出版社,2011.
- [9] 栾蓉晖,李瑞生.转基因动物模型的进展[J].实验动物科学与管理,2001,18(2):43-44.
-