

胚胎期及新生啮齿类动物安乐死指南 (NIH 2020)

刘晓宇 翻译 卢选成 审校

以下准则和参考文献可用于协助NIH内部实验动物使用和管理委员会审查胚胎期及新生啮齿类动物实验方案。任何情况下,执行安乐死的人员都须经过适合的培训。

美国兽医协会(AVMA)《动物安乐死的指南》2013版中提到“科学数据表明,哺乳类动物的胚胎和胎儿,从怀孕到出生,整个过程都处于无意识状态”。该书也提到“因为化学抑制剂的作用,直到妊娠进展到75~80%阶段豚鼠都是无知觉和无意识的,同时它们直到出生都是无意识的”。而且,胚胎和胎儿不能有意识地感觉到呼吸困难或疼痛。因此,无论什么原因,在子宫内死亡它们是不会感受到痛苦。还有文献表明,15天以上的小鼠、大鼠和仓鼠胎儿和35天以上的豚鼠胎儿,可能会感觉到疼痛,与其神经发育相关,并且确实会对感觉刺激产生行为反应。

1. 胎儿期——小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠: 如胎儿(小鼠,大鼠和仓鼠>胚胎15天,或豚鼠>胚胎35天)需要用于研究时,胎儿可通过物理方法安乐死。如用手术剪或颈椎脱臼,虽然因为速度快物理方法是最有效、最人道的;但如需要保存小鼠胎儿解剖学和组织学结构或避免因物理方法造成的缺氧,胎盘内注射戊巴比妥可能是合理的。

当胎儿不用于研究时,孕母鼠进行安乐死的方法应选择确保能快速使胎儿脑缺氧并对子宫环境干扰最小、尽力避免胎儿觉醒的方法。孕母鼠安乐死方法应遵循动物研究咨询委员会(ARAC)对啮齿类动物CO₂安乐死方法的建议以及AVMA的动物安乐死指南。

另外,如果孕母鼠按照如上述方法安乐死,那么有幼崽或有完整羊膜囊的幼崽可从母体中取出。可是这样,胎儿死亡可能会需要1个小时或更长时间。任何情况下,如果胎儿还有呼吸就需要实施安乐死,可使用的方法包括断头、颈椎脱臼、低温、麻醉后放血或使用过量化学麻醉剂。如胎儿被认定是无意识的,可被浸泡在液态氮中。如需要用化学药剂固定整个胎儿,浸泡前必须先实施安乐死。

2. 新生儿(可呼吸的新生动物): 痛觉感受器的成熟以及兴奋性和抑制性受

体系统的发育发生在快出生前至出生后第二周这段时间。在这个时间段的动物使用 CO₂ 安乐死时，由于更加耐缺氧故导致失去意识所需时间延长。如使用 CO₂ 安乐死方法，则需要继续实施第 2 种物理方法确保动物的死亡（如颈椎脱臼、断头或造成双侧气胸）。安乐死后须核实动物已经死亡才可进行下步处理。

3. 对小鼠、大鼠、仓鼠胎儿和晚成新生动物（不包括豚鼠）：低温是可接受的方法，对胎儿和 7 日龄内的晚成新生动物只要避免直接接触冰/冷的表面，也可使用注射过量麻醉剂的方法。

4. 10 日龄的新生小鼠、大鼠和仓鼠：可接受安乐死的方法包括注射化学麻醉剂（如戊巴比妥）、颈椎脱臼或断头。此外，这些动物对吸入性麻醉剂敏感，如 CO₂ 或从发生器里挥发的异氟烷（使用时注意安全），需长时间暴露，大约需要 50 分钟。推荐使用可确保动物死亡的物理安乐死方法有颈椎脱臼、断头和双侧气胸，安乐死后须核实动物已死亡才可进行下步处理。被认为是无意识的胎儿或 5 天以内的晚成新生动物可被快速冷冻到液氮中死亡；5 天或更大的新生动物须先麻醉再浸泡在液氮中。

5. 新生豚鼠：遵循成年动物的安乐死指南。

6. 超过 10 日龄的小鼠、大鼠、和 仓鼠：遵循成年动物的安乐死指南。