# 如何填写《北京大学实验动物研究计划》

## 1、基本资料

“审查情况”中的“初审”指的是本实验是第一次申请。“复审”：研究计划的最长有效期限是5年，5年后必须重新递交。

* 1. 出现以下修改或调整，需要重新递交申请：

1. 实验设计，包括物种、数量、来源及动物选择得合理性，包括重复利用；
2. 实验程序、操作方法；
3. 运输及搬运方法和限制条件；
4. 对动物驯养、饲养、保定和操作性条件的加强措施；
5. 避免或缓解疼痛、不舒适、压力、痛苦或身体或生理机能的持续性损伤的方法，包括采用麻醉、止痛以及其他方式抑制不舒适的感觉，如治疗、保暖、铺软垫、辅助喂食等；
6. 仁慈终点的应用和动物的最后处理方法，包括安乐死；
7. 动物健康状况、饲养和护理情况，包括环境丰容；
8. 涉及“替代、减少、优化”原则和动物五项自由；
9. 任何涉及健康安全风险的特殊实验；
10. 设施、设备、环境条件和手术规程；
11. 项目中主要负责人和实际操作性人员；
12. 使用动物项目意义、目标、科研价值、社会效益（例如利害分析）
13. 其他可能对动物福利伦理原则造成负面影响的项目问题。

如增加危险试剂、病原微生物、管制类药品的使用。

* 1. 列出研究计划中主要工作人员

所有工作人员都应该填写是否有《北京市实验动物从业人员上岗证》。

## 2、动物需求

2.1 饲养场所的选择

实验动物中心将实验动物按照种类、洁净程度进行分群饲养。建议实验室PI引进动物开展实验前就饲养地点与动物中心进行沟通。

## 3、研究目的

以非生物医学背景人员身份，简述研究目的并描述做了什么实验，需要解决的科学问题以及做动物实验的必要性。

## 4、实验设计和动物实验步骤

可参照以下格式进行填写。

4.1 课题设计背景

说明课题设计背景。

查询文献，简述其他实验室是否发表过类似的结果。查询包括：文献数据库名称（如pubmeb、查阅时间范围、查阅关键词、查询结果）。

4.2 说明动物实验的必要性，是否可以用非动物实验进行替代。

4.3 说明选择动物种类、动物模型的科学性。

4.4 从科学和统计学的角度考虑，说明申请动物数量的科学性和合理性。申请的数量是为了得到预期实验结果的最少用量。必须说明实验的组别、每组的动物数量、复核使用动物的总数。举例如下：

（1）统计学意义：根据我们之前的实验经验，使用α=0.05和β=0.1进行统计，每组需要8只动物，一共需要3个实验组，A药、B药和对照组，所有共需要24只动物。我们实验室需要做10次类似的实验，共需要动物240只。

（2）如实验只需要收集组织、抗体或细胞，解释为什么需要申请的数量。举例：实验需要的线粒体500mg，每只大鼠可以得到大约10mg，因此需要申请50只大鼠。

（3）提供使用或者繁殖的动物总数，不仅仅限于用于收集数据的动物数量。对于繁殖用的动物，需要提供用于繁育的动物数量、预计的后代总数、实际用于实验的数量（比例参照孟德尔遗传定律）。举例：我们将设立6个繁殖笼（1:2）,希望得到120只后代。其中1/4是纯合子，即30只动物用于实验。

（4）需要考虑到实验过程中可能会出现不可预计的情况，可以适量在申请中增加动物数量。

（5）预实验：如果需要预实验进行培训或者评价方法的可行性，可申请少量动物进行预实验。举例：在执行详细的实验研究之前，我们需要证明此肿瘤细胞的成瘤性，所以我们需要5只裸鼠做成瘤性预实验。

4.5 实验设计、详细动物相关操作内容和数据分析，至少包括：

4.5.1动物分组和饲养情况：说明动物的识别方法，比如编号系统。剪趾法仅适用于出生后10-12d的小鼠。

4.5.2 造模过程：手术名称或接种肿瘤细胞的浓度、造模用药物剂量。

4.5.3 动物的注射或接种：给药剂量、注射部位、体积、途径和给药日程、佐剂类型、采血方法、体积、频率等。

4.6 实验中涉及活动限制、饮水和饲料的限制

（1）实验过程中，是否存在对动物进行活动限制以及禁水、禁食等限制；如果是活动限制，需要考虑到有没有更好的替代方法存在。一旦需要限制，需要考虑限制时间是否是为了达到科学目的的最短时间；操作人员是否经过了正确的培训；动物假如不能满足活动限制，需要采取相应的措施；加入限制饮食，动物至少每周称重一次，保存每天对动物的观察记录。

（2）禁食、禁水期间必须每天观察动物行为学和其他生理指标。

IACUC对限制饮食的要求：动物体重降低不能超过禁食前基础体重的20%。

IACUC对限制饮水的要求：加强观察，防止动物脱水。至少一天检查一次，检查项目包括饮水摄入量和体重。

假如可能，使用更加美味的食物或水增加动物的摄食或摄水量，正常饮水作为限制饮食的实验组进行实验。

（3）如果完全禁食的目的是为了减少麻醉后诱导及复苏阶段出现的呕吐，禁食8小时至16小时对犬、猫、雪貂、灵长类动物是适当的，但对没有呕吐功能的兔子和啮齿类动物是不必要的。

4.7 当实验中使用肿瘤细胞、生物制剂、疼痛模型、外伤模型、制备单克隆抗体等可引起明显的临床症状或潜在死亡，必须明确指出人道终点的标准。人道终点的评定需要考虑肿瘤大小、体重增加或减少的百分比、无力摄食或饮水、行为异常或其他临床症状等。

**IACUC推荐的决定动物实施安乐死的标准：**

4.7.1 通用指标

（1） 未麻醉或镇静状态下，动物无法站立或极度勉强才可站立；

（2）高温或低温超过24h且经治疗无改善；

（3）体重降低15%-20%，或动物出现恶病质或消耗性症候；

（4）明显可知的动物感染；

（5）出现器官功能丧失的临床症状且治疗无效。

4.7.2 肿瘤研究的推荐指标：

（1）一般实验，肿瘤负担不应超过动物正常体重的5%；治疗性实验中，不能超过动物体重的10%（10%表明，体重25g的小鼠背部皮下肿瘤直径达17mm，体重250g的大鼠背部皮下肿瘤的直径达35mm）：

（2）肿瘤不能达到严重影响动物行使正常功能的位置，或由于肿瘤的生长引起动物痛苦（固体肿瘤）；

（3）动物减轻的体重超过正常动物体重的20%（应考虑到肿瘤所占的分量）；

（4）肿瘤生长点出现溃疡或感染；

（5）转移至其他组织器官；

（6）持续的自残行为。

4.7.3 感染性研究的推荐指标

（1）动物体温降低超出一定限度（如超过4-6℃）；

（2）体重下降，将体重减轻（10%-20%）作为人道终点重要指标；

（3）活动减少、嗜睡等其他生理和行为学变化。

4.8 加强对基因修饰动物的检查和汇报，在研究计划中详细描述已知或可能影响繁育和寿命的表型，如果表型可引起动物焦虑、烦躁不安，描述如何减轻这些影响。如何表型尚不清晰，请描述预测的表型，以及有表型后的兽医护理及安乐死。

4.9 血液采集

血液采集的单次最大量是不能超过动物全身血液总体积的10%。

血液单次采集最大量=体重（kg）\*全身血液总体积（ml/kg）\*10%。多次采集可在3-4周后再收集一次。

常用动物的血液采集量：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 种类 | 体重（g） | 全身血液总体积（ml/kg） | 推荐的最大采集体积（ml） |
| 小鼠 | 30 | 70-80 | 0.21-0.24 |
| 大鼠 | 250 | 50-65 | 1.25-1.63 |
| 400 | 50-65 | 2.0-2.6 |
| 兔 | 2000 | 57-65 | 11-13 |
| 3000 | 57-65 | 17-20 |

## 5、存活手术

5.1 列举手术项目并详细描述手术步骤，包括所采用的消毒方法。若需要重复对同一动物进行多次手术，请详细说明原因。

5.2涉及到手术操作，必须列出手术操作者的资格，确保严格接受过此手术的相关培训。

IACUC要求所有需要进行存活性手术的操作人员，在手术操作之前，必须经过兽医指导。

PI负责确保所有手术操作人员的术前与术后照料已经经过以上培训，能够执行手术操作，并符合Guide和国家的相关规定。

## 6、疼痛或紧迫反应的级别

**实验动物疼痛分级表**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| B级 | C级 | D级 | E级 |
| 饲养或抓取动物 | 短暂或轻微的疼痛/抑郁，并且没有使用缓解疼痛的药物。 | 使用麻醉药、镇痛药、镇定剂或其他缓解疼痛或抑郁的方法 | 未使用麻醉药、镇痛药、镇定剂或其他缓解疼痛或抑郁的方法 |
| —— | 包括但不限于：   1. 教学或研究中抓取动物或给动物称重； 2. 注射、采血或在浅表血管留置导管； 3. 纹身（用于标记）； 4. 啮齿类动物打耳标； 5. 日常健康检查； 6. 动物行为观察； 7. 喂养实验，不会造成动物健康问题； 8. 美国兽医协会（AVMA）批准的人道安乐死方法； 9. 日常农业饲养； 10. 捕捉； 11. 正向驯练。 | 包括但不限于：   1. 诊断操作如腹腔镜、穿刺活检； 2. 非存活手术； 3. 存活手术； 4. 手术后疼痛/抑郁； 5. 小鼠眼部采血； 6. 心脏采血（非存活）； 7. 任何会造成动物后续明显疼痛、不适、抑郁（可表现为食欲下降、不活跃、触碰或揭开皮肤伤口、脓肿、残疾肢体）的操作，结膜炎，角膜水肿和畏光； 8. 为导管留置而暴露血管； 9. 麻醉下放血； 10. 诱发动物感染或产生抗体，麻醉或必要时使用镇痛药。 | 包括但不限于：   1. 持续到动物出现明显症状甚至死亡的毒性测试、微生物测试、癌症研究或感染性研究； 2. 眼或皮肤刺激实验； 3. 术前准备所必须的禁食禁水； 4. 在动物不能避免/躲避刺激的情况下，使用有害性刺激如电休克，或刺激能引起动物受伤或持久疼痛/抑郁； 5. 灼伤或外伤； 6. 长时间束缚； 7. 任何需要使用镇痛剂、镇定剂或镇静剂或麻醉剂，但因研究需要不能使用的操作； 8. 为达到动物不能活动的目的，给动物使用可引起麻痹或不能活动的药物； 9. 暴露于异常或极端环境条件下； 10. 出现精神病样行为也提示动物处于痛苦和抑郁状态； 11. AVMA不允许的安乐死方法 |
| 注：引自美国农业部疼痛分级（USDA Pain levels） | | | |

## 7、麻醉、止疼、镇静

**小鼠麻醉药物的选择**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **注射用**  **麻醉剂** | **剂量** | **给药方式** | **麻醉深度（轻度/外科麻醉）** | **持续时间 min** | **恢复时间**  **min** |
| 氯胺酮﹠  安定 | 100mg/kg﹠  5mg/kg | IP | 保定/麻醉 | 20-30 | 60-120 |
| 丙泊酚 | 26mg/kg | IV | 外科麻醉 | 5-10 | 10-15 |
| 氟胺铜﹠  安定 | 0.4ml/kg﹠  5mg/kg | IP or IP | 外科麻醉 | 20-40 | 120-240 |
| 丙泊酚 | 26mg/kg（然后2-2.5mg/kg/min） | IV | 外科麻醉 | 1-12hours | 10-15 |
| 异氟烷 | 0.41ml/min  at 4L/min  Fresh gas flow  (使用浓度2%) | 吸入 | 外科麻醉 | -- | -- |
| 三溴乙醇（阿弗丁） | 125-240 mg/kg(使用浓度0.25%) | IP | 外科麻醉 | 15-45 | 60-120 |

注： 100%阿佛丁（三溴乙醇+叔戊醇=1:1配成）；使用时用生理盐水进行稀释使用。

异氟烷使用需要面罩。

**小鼠止痛药物的选择**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **止痛剂** | **剂量** | **给药方式** | **效果** | **效果持续时间** |
| 阿司匹林 | 120 mg/kg | PO | 轻微止痛 | - |
| 丁丙诺啡 | 0.05-0.1mg/kg | SC | 中等止痛 | 8-12 Hours |
| 卡洛芬 | 5 mg/kg | SC | 中等止痛 | 24 Hours |
| 美洛昔康 | 5 mg/kg | SC | 中等止痛 | 24 Hours |

**大鼠麻醉药物的选择**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **注射用**  **麻醉剂** | **剂量** | **给药方式** | **麻醉深度（轻度/外科麻醉）** | **持续时间 min** | **恢复时间**  **min** |
| 氯胺酮﹠  安定 | 75mg/kg﹠  5mg/kg | IP | 轻度麻醉 | 20-30 | 120 |
| 丙泊酚 | 10 mg/kg | IV | 外科麻醉 | 5 | 10 |
| 氟胺铜﹠  安定 | 0.6ml/kg﹠  2.5mg/kg | IP or IP | 外科麻醉 | 20-40 | 120-240 |
| 丙泊酚 | 10-12mg/kg（然后0.5-1.0mg/kg/min） | IV | 外科麻醉 | 1-12 hours | 10-15 |
| 异氟烷 | 0.41ml/min  at 4L/min  Fresh gas flow  (使用浓度2%) | 吸入 | 外科麻醉 | -- | -- |
| 三溴乙醇（阿弗丁） | 300 mg/kg | IP | 外科麻醉 | 10-20 | 45-90 |

注： 100%阿佛丁（三溴乙醇+叔戊醇=1:1配成）；使用时用生理盐水进行稀释使用。

异氟烷使用需要面罩。

**大鼠止痛药物的选择**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **止痛剂** | **剂量** | **给药方式** | **效果** | **效果持续时间** |
| 阿司匹林 | 100 mg/kg | PO | 中等止痛 | - |
| 卡洛芬 | 5 mg/kg | SC | 中等止痛 | 24 Hours |
| 美洛昔康 | 5 mg/kg | SC | 中等止痛 | 24 Hours |
| 丁丙诺啡 | 0.01-0.05mg/kg | SC or IV | 中等止痛 | 8-12 Hours |
| 丁丙诺啡 | 0.1-0.25mg/kg | PO | 中等止痛 | 8-12 Hours |
|  |  |  |  |  |

对于给药方式说明：IP----腹腔注射 SC----皮下注射 IM----肌肉注射 IV----静脉注射 PO----口服

## 8、安乐死

**小鼠安乐死的药物和方法选择**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **药物或方法** | **剂量** | **试用动物** | **备注** |
| 戊巴比妥钠 | 100-200 mg/kg | 所有小鼠 | 可接受方法 |
| CO2 | ---- | 成年小鼠 | 可接受方法；幼龄动物和新生动物需要延长时间 |
| 颈椎脱臼 | ---- | 所有小鼠 | 条件可接受；操作人员需要接受培训，并具备熟练的技术 |

**大鼠安乐死的药物和方法选择**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **药物或方法** | **剂量** | **试用动物** | **备注** |
| 戊巴比妥钠 | 100-200 mg/kg | 所有大鼠 | 可接受方法 |
| CO2 | ---- | 成年大鼠 | 可接受方法；幼龄动物和新生动物需要延长时间 |
| 颈椎脱臼 | ---- | 体重＜200g | 条件可接受；操作人员需要接受培训，并具备熟练的技术***(颈椎脱臼前需要进行麻醉处理)*** |

## 9、生物材料/使用的动物产品（如细胞系，抗血清）

列出生物材料名称及来源。