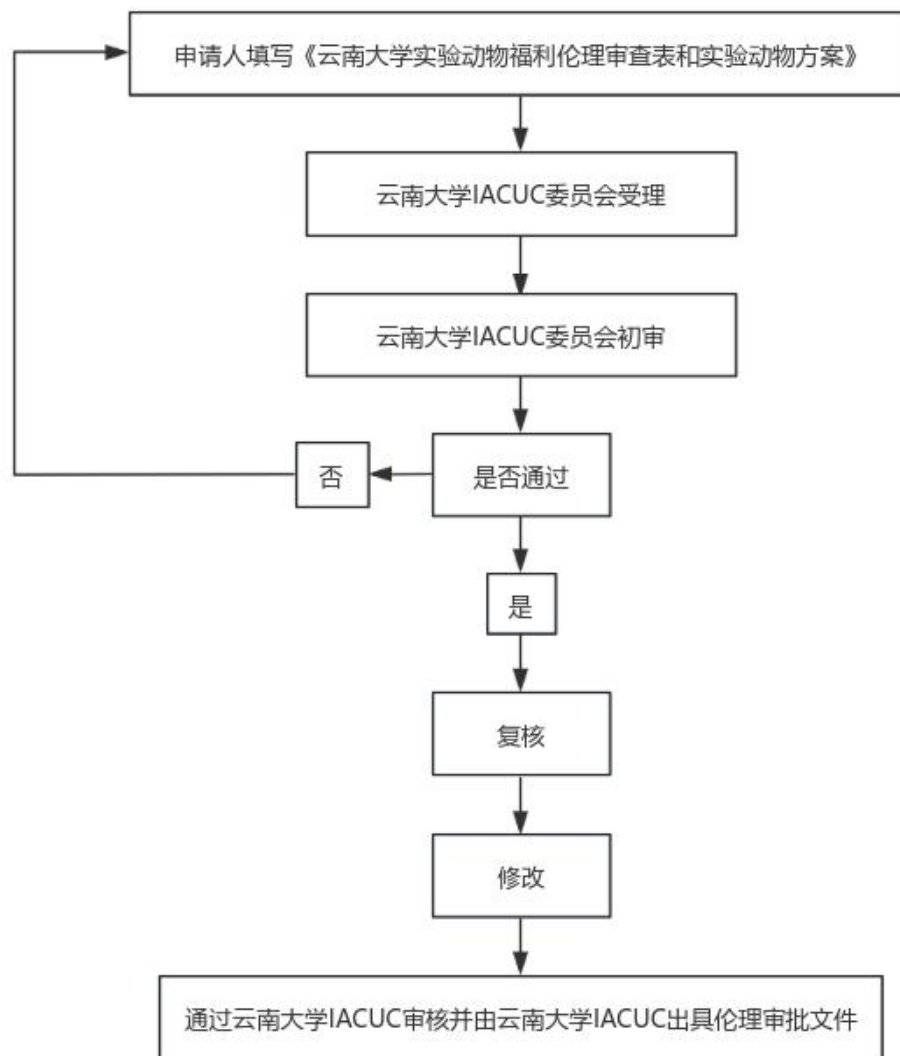


云南大学实验动物福利伦理审查表和实验动物方案申请填写指导

一、审批流程



二、填写说明

1. 项目基本资料

项目基本资料由申请人（课题组负责人）如实填写，并完整填写每一项内容。

2. 参与动物实验的相关人员资料

申请人如实填写参与实验的相关人员信息，并按要求附上实验动物从业人员培训证复印件和培训证明。

3. 实验基本信息

(1) 在云南大学实验动物中心开展动物实验请填写动物实验设施许可证编号：SYXK（滇）K2021-0002；

(2) 设施条件与实验描述：根据动物等级选取相应的饲养环境。云南大学实验动物中心目前有屏障环境和普通环境。

(3) 实验研究目标目的：申请人需详细填写动物实验项目的目的、必要性、意义和如何设计达成研究目标的。研究目的中需要描述做了什么实验，需要解决的科学问题以及做动物实验的必要性，是否可以用非动物实验进行替代。如何设计达成研究目标的一项需要按照实际实验设计来填写，包括详细的实验操作内容（包括但不限于动物识

别方法、造模方式、需要注射或给药的相关信息等)和后续结果的分析方法。

4. 拟使用动物信息: 申请人如实填写拟使用的动物信息,包括种属、品系、级别、雌雄的数量及总数量、体重要求、动物年龄、来源以及许可证编号,以及实验动物是否具有质量合格证等相关信息。其中需要特别注意实验动物使用数量的填写必须和实验开展后实际使用数量保持一致,考虑到实验过程中可能会出现不可预计的情况,在实验开展之后出现需要增加实验动物数量的情况,申请人需要根所增加的动物数量再提交一份《云南大学实验动物福利伦理审查表和实验动物方案》。

(1) 选择实验动物种类和数量的原因: 申请人需详细填写项目所使用的实验动物种类的原因,说明所选择动物种类或者模型的科学性,并从统计学角度和科学性角度填写实验分组详情,以及各个组别中所使用动物的数量,是否遵循“3R”原则,所使用的动物数量是否是为了达到实验预期的最少使用量。申请人可参考以下**示例**进行填写:

① **种类:** 本实验选择 XXXX 小鼠是因为 XX 小鼠的胸主动脉能自发形成动脉粥样硬化病变,病灶以黄色瘤为主并有大量的坏死脂肪成分,且具有与人类相似的易损斑块特点,即含有丰富的脂肪成分和相对变薄的纤维帽。故本实验选择 XXXXX 小鼠作为实验对象。

② **数量:** 本实验室共分为正常对照组、模型组、阳性药组、低中高浓度组共 6 组。为各组具有统计学意义,并

排除个体差异，故每组 XXXX 小鼠的数量定为 10 只，拟使用实验动物总数为 60 只。

5. 拟开展动物实验的详细信息

(1) 是否单笼饲养：为了保护动物福利，不推荐动物单只单笼饲养，确实需要单笼饲养的，请进行原因及必要性说明；

(2) 动物是否经过基因修饰：如果选择的实验动物经过基因修饰，必须评估基因修饰是否会出现对人体健康和环境的毒性或有害作用，并如实描述基因修饰造成可预见的动物有害表型，如影响动物繁育以及寿命等表型，并参照《农业转基因生物安全评价管理办法》对该项目的生物安全风险进行评估，确保该项目的生物安全风险在可控范围内。如果基因修饰动物涉及到病毒载体，需要另行填写《病原微生物生物安全评估表》并同时提交至云南大学 IACUC 和云南大学实验动物中心进行审批。

(3) 手术类型及详细手术计划：动物实验方案中涉及到存活手术操作时，需西永动物镇静、止痛和麻醉手段。申请人需要：

- ① 详细列举手术步骤，并详细列举手术需要的无菌条件和器械；
- ② 对有疼痛感的动物实施手术时，应采用麻醉等镇痛措施。麻醉可以通过注射（静脉、肌肉、腹腔注射等）或

吸入等途径实现（麻醉方式参考）；

③ 对感染性动物实施手术，应依据微生物分类确定其感染分类等，再遵循生物安全控制要求提出相应的实施手术的设施设备与地点的要求，涉及生物安全需在符合 ABSL-2 实验室管理要求时在 ABSL-2 实验室进行操作，进而对手术的风险作出评价。特别需要强调的是，手术参与者必须具备生物安全控制和操作的培训，严格按相应等级的生物安全操作要求开展的手术，防止人与动物的传播与感染，防止环境的污染，应参考 GB 19489-2008 的相关要求。

④ 若需要重复对同一动物进行多次手术，请详细说明原因。

（4）无菌操作过程：列举实验操作过程中涉及到的无菌操作内容，需要进行手术操作的详细内容在手术计划中阐述过的，在该项可以不必重复描述。

（5）长时间生理行为限制：申请人如实填写。

① **限水限食：**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。

② **特殊饲料或饮水：**如果需要喂食特殊饲料或者特殊饮水，申请人需要详细描述所用的特殊饲料或者饮水的成分，以及对动物产生的潜在影响。

(6) 体液收集、血液收集：采集标本类型为血液，应明确是否为终末采血（动物在采血后是否存活），如采血后动物还需存活，单次血液采集量不可超过动物体总循环血量的 15%，并须在 3-4 周后可重复采血；小鼠单次采血量不可超过 200ul，当采血量大于 300ul 时，每次采血的时间间隔不可少于 3 周。常用尾尖采血法或颌下采血法；

种属	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

（推荐动物采血量，具体可参考《实验动物采血指南》）

(7) 组织、肿瘤收集： 申请人如实填写。

(8) 疼痛分级评估： 实验动物疼痛分级评估及建议用药(USDA)，（参考美国农业部（USDA）分类标准）

① 评估动物疼痛和痛苦程度的评分标准

啮齿类（小鼠、大鼠）疼痛程度评价与止痛措施

	评估项目	轻微程度疼痛	中等程度疼痛	严重程度疼痛
体重下降程度	体重	减少试验前体重的 10%以下	减少试验前体重的 10-25%	减少试验前体重的 25%以上
外观	毛发竖起情况	部分毛发竖起	明显皮毛粗糙	明显皮毛粗糙，并伴有反应迟钝和行为异常
	身体姿势	短暂的拱背，特别是给药后	间歇性拱背	持续性拱背
临床症状	呼吸	正常	间隙性呼吸异常	持续性呼吸困难
	流涎	短暂的	间歇性的弄湿下颚附近的皮毛	持续性的弄湿下颚附近的皮毛
	震颤	短暂的	间歇性	持续性
	痉挛	无	间歇性（每次发作持续 10min 以下）	持续性（若每次发作持续超过 10min 以上，则建议安乐死）
	蜷卧不动	无	短暂的（每次发作持续 1h 以下）	持续性（若每次发作持续超过 3h 以上，则建议安乐死）
无刺激时行为	社会化行为，包括做窝	与其他动物有平等的互动	与其他动物互动较少	没有任何的互动行为
对刺激的反应	受刺激时行为反应	主动逃避	受刺激时不爱动，易被抓取	受刺激时不动，易被抓取

止痛措施	继续观察至恢复正常	给予止痛剂	无法解除疼痛，实施安乐死
------	-----------	-------	--------------

兔、犬和猪疼痛程度评价与止痛措施

	评估项目	轻微程度疼痛	中等程度疼痛	严重程度疼痛
体重下降程度	体重	减少试验前体重的 10%以下	减少试验前体重的 10-25%	减少试验前体重的 25%以上
	食物/饮水消耗	72 小时内摄食正常量的 40-75%	72 小时内摄食正常量的 40%以下，或食欲不振超过 48 小时	7 天内摄食低于正常量的 40%，或食欲不振超过 72 小时
外观	皮毛状况	正常	皮毛无光泽，较少整理毛发	明显皮毛粗糙，完全不整理毛发，并伴有反应迟钝和行为异常
	身体姿势	短暂的拱背，特别是给药后	间歇性拱背	持续性拱背
临床症状	呼吸	正常	间隙性呼吸异常	持续性呼吸困难
	流涎	短暂的	间歇性的弄湿下颚附近的皮毛	持续性的弄湿下颚附近的皮毛
	震颤	短暂的	间歇性	持续性
	痉挛	无	间歇性（每次发作持续 10min 以下）	持续性（若每次发作持续超过 10min 以上，则建议安乐死）
	蜷卧不动	无	短暂的（每次持续 30min 以下）	持续性（若每次持续超过 1h 以上，则建议安乐死）

无刺激时行为	社会化行为, 包括 做窝	与其他动物有平等的互动	与其他动物互动较少	没有任何的互动行为
	发声状况	发出正常音频的叫声	受刺激时发出间歇性、悲伤的、沉闷的叫声	发出悲伤的、痛苦的叫声, 或者完全不叫
对刺激的反应	受刺激时行为反应	压抑, 但受刺激还有正常行为 反应	受刺激时不爱动	受刺激时不动, 易被抓取
止痛措施		继续观察至恢复正常	给予止痛剂	无法解除疼痛, 实施安乐死

注：动物出现表中一项疼痛表型时即可判定其为对应级别的疼痛

疼痛的分类：疼痛（Pain）或紧迫（Distress）反应的级别评价及预防与减轻措施（参考美国农业部（USDA）分类标准）：

USDA-C 类：实施实验的动物没有疼痛、紧张或轻微或一过性的疼痛、紧张；

USDA-D 类：实验过程中有疼痛和紧张，但实施合适的麻醉、镇痛、镇静措施；

USDA-E 类：实验过程中有疼痛和紧张，但麻醉、镇痛、镇静的应用会影响实验结果。

具体级别分类的定义与案例见附表“美国农业部（USDA）对动物疼痛和痛苦级别分类的定义与案例”。

② 镇痛

当疼痛或痛苦超出了 Animal Protocol 中描述的预期程度或当常规镇痛无效时，必须由主治医师组织会诊进行讨论。

镇痛剂推荐使用方案：对于 USDA-D 和 USDA-E 类的实验需要选择合适的镇痛剂。**镇痛剂优先选择：美洛昔康[Meloxicam]**

适用范围：小鼠、大鼠、豚鼠、兔、雪貂；

推荐使用剂量：对于慢性疾病，兽医应根据需要，给最低有效剂量，即每天 0.2 mg/kg,灌胃或皮下注射，一般连续给药 3 天，此剂量和给药频率为给动物镇痛的日常基本护理处方。在当大鼠有严重的呼吸系统疾病，表现出非常不舒服时，可以每天给 0.3 mg/kg 到 0.6 mg/kg，灌胃或皮下注射，但如果已经使用了糖皮质激素，应禁止使用此药物。做为手术镇痛剂的用量：1 mg/kg 到 2 mg/kg，灌胃或皮下注射，每天一次。

(9) 麻醉药、镇静药的使用：麻醉药和镇静药的使用种类和剂量推荐参考云南大学实验动物中心官网相关资料。

① 推荐麻醉剂：（参考文献：FOX J G, ANDERSON L C, OTTO G M, et al. Laboratory animal medicine[M]. 3rd ed. California: Academic Press, 2015.）

异氟烷[Isoflurane] 吸入式麻醉

右旋美托咪啉[Dexmedetomidine]

舒泰-50[Zoletil]+赛拉嗪[Xylazine]

舒泰-50[Zoletil]

丙泊酚[Propofol]

三溴乙醇[Avertin]

常见种属不同麻醉药的推荐使用方法

种属	麻醉药名称	剂量	给药途径
小鼠	氯胺酮联合右旋美托咪啉	75/0.5 mg/kg	IP
	舒泰-50联合赛拉嗪	80/20 mg/kg	IP
大鼠	氯胺酮联合赛拉嗪	60/6 mg/kg	IP
	舒泰-50	40~50 mg/kg	IP, IM
兔	氯胺酮联合赛拉嗪	35/5 mg/kg	IM
	舒泰-50联合赛拉嗪	15/5 mg/kg	IM
猪	氯胺酮联合赛拉嗪	20/2 mg/kg	IM
	舒泰-50	6 ~ 8 mg/kg	IM
犬	丙泊酚	0.2 mg·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	IV
	舒泰-50	7.5 ~ 25 mg/kg	IM
食蟹猴	氯胺酮	5 ~ 20 mg/kg	IM
	舒泰-50	2 ~ 5 mg/kg	IM

注：IP指腹腔注射，IV指静脉注射，IM指肌内注射。

(10) 主要观察指标： 申请人如实填写动物实验过程中需要进行观察的指标，可参考以下**示例**：

① 小鼠的体重（the weight of the mice）：每周测量一次；

② 血清学指标检测（serological indicators testing）：给药结束和恢复期结束检测。麻醉后，腹主动脉采血约 X ml 用于检测。

③

(11) 仁慈终点或实验终结的指标： IACUC 推荐的决定动物实施安乐死的标准如下：当出现以下指标时需要对实验动物实施安乐死：

① 体重减轻：体重减轻达 20-25%，或是动物出现恶病质或消耗性症候时。

② 实体瘤的大小超过动物体重的 10%。

丧失食欲：小型啮齿类动物完全丧失食欲达 24 小时或食欲不佳（低于正常量之 50%）达 3 天时。大动物完全丧失食欲达 5 天或食欲不佳（低于正常量之 50%）达 7 天时。

③ 虚弱（无法进食或饮水）：动物在没有麻醉或镇静的状态下，无法进食或饮水，长达 24 小时无法站立或极度勉强才可站立时。

④ 垂死/濒死：动物在没有麻醉或镇静的状态下，表现精神抑郁伴随体温过低（低于 37℃）时。

⑤ 感染：在抗生素治疗无效并伴随动物全身性不适症状出现时。

- a.器官：出现器官严重丧失功能的临床症状且治疗无效，或经动物中心兽医师判断预后不佳。
- b.呼吸系统：呼吸困难、发绀大失血。
- c.心血管系统：大失血、已给予一次输液治疗后仍贫血（低于 20%）。
- d.消化系统：严重呕吐或下痢，消化道阻塞，套迭，腹膜炎，内脏摘除手术。
- e.神经系统：中枢神经抑制、震颤、瘫痪（其中任一枝或以上）、对止痛剂治疗无效之疼痛。
- f.肌肉骨骼系统：肌肉受损或骨折使肢体丧失功能。
- g.皮肤：无法治愈之伤口、重复性自残或二级以上之保温垫烫伤。

(12) 动物处死（安乐死）方式：参考《2020 年版美国兽医协会动物安乐死指南》

- ① 过量吸入二氧化碳气体，容器置换率为 30-70% 容积/min。
- ② 头颈部迅速脱臼（限小鼠以及体重小于 200g 的大鼠，且操作人员接受培训，操作熟练）。
- ③ 过量吸入麻醉剂（异氟烷等）。
- ④ 腹腔注射安乐死药剂（给药剂量和途径参考上述内容：（9）.①：推荐麻醉剂）
- ⑤ 静脉注射安乐死药剂（给药剂量和途径参考上述内容：（9）.①：推荐麻醉剂）
- ⑥ 甲磺酸三卡因（MS-222）浸泡（鱼类、两栖类动物）

(13) 非处死动物的处置方法： 申请人根据云南大学实验动物福利伦理审查表和实验动物方案选项如实填写。

(14) 动物替代、减少动物用量、降低动物痛苦伤害的主要措施： 依照动物福利的“3R 原则”，申请人可按照**示例**进行填写：

① 由于实验的最终目的是 xxxxx,由于目前其机制、原理还不清楚，……。该项目目前不可以用计算机模拟、细胞培养等非生命方法替代，本实验选用了低等动物小白鼠替代了高等动物。小白鼠是适合我们试验最低等最经济合理的动物……。

② 方案已经进行了必要的优化，采用了最少的实验动物来做实验。最后所选取的 xxx 是最适合我们实验方案的，可以节省大量的资源和生命……。在使用动物进行有关实验时，我们尽量减少非人道程序对动物的影响范围和程度，在实验过程中尽量采用物理、化学及体外检测等非夺取动物生命的方法，对动物身体的强制性限制减少到最低程度。

③ 实验过程中，确保动物在麻醉、镇痛、镇静、或其他适当手段下进行实验，避免、减少或减轻给动物造成的伤害和痛苦，以保证动物健康和康乐，保证动物实验结果的可靠性和采用提高实验动物福利的科学方法。

④ 在实验过程中，处理动物有适当的时间间隔，并减少必要的试验处理，尽量不增加动物的痛苦。同时，我们在实验过程中，严格按照操作规程的要求饲喂动物，给予动物舒适良好的生存环境，让动物能够安全舒适的生活和

休息。

⑤ 实验过程中，实验动物如果出现一些较大伤害，造成动物濒死或影响其正常生存，达到仁慈终点时，我们便即刻对动物实施安乐死。

⑥ 在对实验动物进行解剖时，将进行有效麻醉。处死实验动物时，将按照人道主义原则实施安死术。处死现场，不宜有其他动物在场。确认动物死亡后，方可妥善处置尸体。

(15) 是否使用有毒（害）物质（感染、放射、化学毒、其他）：一般填否。若填是，请详细说明，并将防护措施和急救措施附后。

(16) 利害分析的小结，说明为何预期的利益多于坏处： 申请人可参考**示例**填写：

① XXX 损伤在临床中十分常见，尤其是在手足外科，据统计，其年平均发病率为 13-23/10 万人，在直接影响患者生存质量的同时其高昂的治疗费用和较多的并发症也让很多家庭无法承受。利用电刺激维持人体肌肉运动收缩功能并不是一种新颖的方法，已有大量研究证实电刺激对神经恢复有一定的促进作用，但对其在分子层面的研究尚属空白。本实验具有创新性。

② 技术创新能力：提示治疗周围神经损伤的新途径并揭示其恢复原理。

③ 经济指标：研发促进周围神经损伤修复新方法、新药物，为临床广大患者节约大量的资金，并缩短住院周期。

④ 社会效益：为 XXX 损伤的修复提供更多的修复方法；可以为临床广大患者节约大量的资金，并缩短住院周期。

(17) 相关的补充说明或辅助证明文件： 申请人若有请补充说明，并将证明文件复印附后。

(18) 信息公开和保密要求：说明哪些信息需要保密，哪些信息可以公开： 申请人需进行确认信息是否公开或者保密，该项涉及到实验项目进行过程中，IACUC 委员会对该项目的现场监督以及实验记录的查阅，同时云南大学 IACUC 伦理委员会与实验室管理人员承诺在监督检查过程中对课题项目内容保密，实验项目的审查结果仅用于 IACUC 半年检查报告的总结填写。

(19) 对伦理委员有无回避要求： 申请人与 IACUC 委员有下列情形之一的，应当申请回避：

① 是申请人或者参与者近亲属的；

② 与申请人或者参与者有其他关系可能影响公正评审的。“其他关系”可能影响公正评审的规定，由 IACUC 委员会另行制定工作人员与评审专家行为规范予以细化。