**实验动物镇静、止痛、麻醉和安乐死指南**

**1目的：**规范实验动物镇静剂、麻醉剂和止痛剂的使用。以及实验动物安乐死方法，确保人道的处理动物。

**2范围：**根据AAALAC要求，参考Laboratory Animal Anaesthesia 和AVMA Guidelines on Euthanasia推荐的动物安乐死方法制定本使用指南。

**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**

**3设备与材料：**CO2气瓶；配带盖和各种动物品种大小的麻醉诱导箱；麻醉机；注射剂或吸入剂；适当规格的注射器和针；个人防护装备至少包括防护服、手套、帽子和口罩等。

**4．步骤：**

**4.1麻醉规程**

麻醉时应认真检查所用的麻醉/止痛剂的有效使用日期，不可以使用过期的药物。

从开始麻醉到动物清醒必须对动物进行实时监护。麻醉的动物会反应迟钝、无方向感，所以麻醉时应将动物放置笼中或采取适当的措施防止动物造成损伤。动物完全麻醉（完全失去意识）方可开始手术。

麻醉期间应注意对动物采取适当的保温措施，如电热毯或红外线加热灯，防止动物体温降低。

**4.2对麻醉程度的检测**

如果动物有翻身反应或对疼痛和刺激发生反应，如表现蠕动、移动、收回肢体，则手术必须延迟进行。

深度疼痛测试，用手指挤压动物的后肢脚趾，如果动物有反应如缩回后肢，则动物意识未完全消失；如果动物对测试无反应，则为无意识或意识消失，麻醉达到手术要，可以开始手术。

外科手术开始时，动物应充分松弛、对疼痛刺激无反应、呼吸和心率正常。

**4.3设施**

在动物房或手术室实施麻醉。但麻醉时应尽量不要在其它动物听到、看见和闻到的区域进行。

**4.4局部麻醉**

局麻是在小的非创伤性手术时，减轻动物痛苦而采取的措施。局麻的选择将取决于手术所需时间的长短、场所和动物品种。常用的局麻药有盐酸利多卡因和盐酸普鲁卡因。

**4.5剂量计算**

根据动物的体重，计算麻醉药合适的给药剂量。

例如，用氯胺酮+安定麻醉300g的大鼠

氯胺酮的剂量是75mg/kg，安定是5mg/kg

因此，0.300kg×75mg/kg=22.5mg氯胺酮

0.300kg×5mg/kg=1.5mg安定

**4.6根据动物品种选择麻醉药物、剂量和给药途径**

吸入麻醉剂（如异丙烷）所有品种的动物均适用。钢瓶中压缩CO2气体与氧气（50:50）混合至100%的CO2可以用于啮齿类动物短期吸入麻醉剂。

**4.7.1 CO2麻醉**

CO2诱导短暂的失去意识并适用于某些实验过程，如眼眶后静脉丛采血和一些注射。每次只麻醉一只动物。

使用一个与氧气未混合的CO2相连的容器。打开气瓶的主要阀门，通过微调从而调整气体压力。把动物放进气体流动的容器并关上容器盖子。离开动物1-3/2分钟直到动物呼吸缓慢和无意识，从容器中取出动物开始实验。动物将维持20-30秒无意识状态。如果需要再麻醉20秒，追加一次麻醉剂量，不可以连续超过2次追加CO2麻醉。动物在容器中不可以放置超过5/2分钟。

动物将完全恢复，动物一恢复意识就放回原笼中。

在动物放进容器前，通过往眼里滴一滴盐酸丙对卡因更有宜于眼眶后静脉丛采血。局麻可以使动物减少对操作的敏感性并延长动物失去意识的时间，动物大约10秒钟就失去意识。先于采血前眼睛用薄纸擦拭以除去残余的盐酸丙对卡因。

**4.7.2常用的镇静、麻醉、止痛和安乐死推荐药物和方法**

**4.7.2.1小鼠的镇静、麻醉、止痛和安乐死推荐药物和方法**

**4.7.2.1.1小鼠镇静剂和诱导麻醉药物的选择**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 术前诱导麻醉药物 | 剂量 | 给药方式 | 效果 |
| 阿托品 | 0.04 mg/kg | SC or IP | 抗胆碱能作用；减少唾液，呼吸道分泌物，阻止血管迷走神经反射 |
| 安定 | 5 mg/kg | IP | 轻微镇静作用；不能止痛 |
| 氟胺酮 | 0.1-0.3 ml/kg | IP | 轻度镇静，中度止痛； |
| 氯胺酮 | 100-200 mg/kg | IM | 深度镇静，轻微止痛；缺乏肌肉松弛作用 |

**4.7.2.1.2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/minat 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。

**4.7.2.1.3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 |

**4.7.2.1.4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 |

**4.7.2.2大鼠的镇静、麻醉、止痛和安乐死推荐药物和方法**

**4.7.2.2.1大鼠镇静剂和诱导麻醉药物的选择**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 术前诱导麻醉药物 | 剂量 | 给药方式 | 效果 |
| 阿托品 | 0.05 mg/kg | SC or IP | 抗胆碱能作用；减少唾液，呼吸道分泌物，阻止血管迷走神经反射 |
| 氟胺酮 | 0.2-0.5 ml/kg | IM | 轻度/中度镇静，中度止痛； |
| 安定 | 2.5-5 mg/kg | IP or IM | 轻微镇静作用；不能止痛 |
| 氯胺酮 | 50-100 mg/kg | IP or IM | 深度镇静，轻微止痛；缺乏肌肉松弛作用 |

**4.7.2.2.2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。

**4.7.2.2.3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 |

**4.7.2.2.4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 |

**4.8保存记录**

需要所有麻醉程序的手写记录文件。记录应该包括但不仅局限于以下几点：

IACUC动物使用和管理方案编号

麻醉日期、时间和负责人签字

品系和个体或动物组别标记

使用的麻醉剂、止痛剂或镇静剂名称、剂量、给药途径和时间

如果需要在整个过程中监测生理参数（如心率、呼吸次数/节律、体温、粘膜色泽和足部的松弛度等）

**4.9术后恢复**

动物可与正处于恢复期的同一品系动物放在一个笼具中，也可单独放在一个饲养笼内，但不要与未麻醉的动物放在一起，防止恢复期动物受伤。动物恢复期必须保温。当动物恢复正常活动时，可以与其它动物放回同一笼或一个动物房间。随后几天必须定时对动物进行观察保证不出现并发症。