

# 徐州医科大学

## 实验动物伦理道德审查表

Application Format for Ethical Approval for Research Involving Animals

申请日期：2022 年 6 月 20 日

批准文号：

Appl.Date Y M D

IACUC Issue No.

课题名称：***调控病理性疼痛的机制研究 Program	课题来源：国家自然科学基金（166****） sponsor
课题负责人：** Name of Principal Investigator	科室：**实验室 Department
动物试验负责人：** Contact Person	电话和信箱：**（填表人的电话） Contact Tel.No. and E-mail
课题实施动物试验的人数：3 Number of Implement	经专业培训的人数：3 Number of certificate
参与动物试验操作人员姓名、相关专业证书编号，经验、培训、资质和能力的描述 Name and certificate number. Description of experience/training/competency of the individuals carrying out the research. 1. ***, 硕士生导师，具有*年以上实验动物和动物实验的工作经验；熟悉实验动物福利伦理知识；熟练掌握本课题相关的脑立体定位、灌注固定、电生理记录、行为学测试等实验技术；熟悉实验动物习性、动物使用、动物处理、动物饲养管理的流程和准则。已通过徐州医科大学动物中心培训获得入室资格。 2. ***, 2020 级硕士研究生，具有*年以上实验动物和相关动物实验操作的经验，已通过徐州医科大学动物中心培训获得入室资格，并取得江苏省实验动物专业技能培训（263****）。熟悉实验动物伦理准则；熟悉实验动物使用、动物处理等流程；熟练掌握***疼痛动物模型构建。 3. ***, 2021 级硕士研究生，具有*年以上实验动物相关实验学习的经验，在导师指导下学习脑立体定位注射技术，负责本研究中动物的饲养和脑立体定位操作，已通过徐州医科大学动物中心培训获得入室资格。  <b>（凡是参加试验的人员都必须经过专业培训，掌握试验所需的实验操作技能。）</b>	
动物试验设施许可证编号：SYXK(苏)2020-0048 Name and certificate number of the facility	

现有动物试验设施条件是否与拟开展动物实验的规范性要求相匹配的描述

Conformity of facility condition and proposed to carry out experiment requirement

本研究拟使用的\*\*\*动物进行\*\*机制研究的实验，在徐州医科大学主校区实验动物中心 SPF 级别屏障设施中进行。该设施由江苏省实验动物管理委员会考核验收合格，饲养笼位符合国家标准，本试验相关的设施设备齐全，与国家的各类规范性要求完全匹配。

拟试验时间：202\*年\*月\*日 至 202\*年\*月\*日 **（实验动物伦理申请批准后方可开始试验。）**

Experimental period : Y M D to Y M D

动物试验项目的目的、必要性、意义和如何设计以达成研究目标的

Experimental objective, necessity and significance and how the program has been designed to achieve the objectives of the research.

\*\*性疼痛是造成全球疾病负担的主要因素，但其发生的分子、细胞与环路机制仍未清楚。解析疼痛的生物学机理对于新型镇痛药的研发及非麻醉性治疗方法的确立非常关键。本课题通过对\*\*神经损伤模型\*\*小鼠的研究，阐明\*\*\*投射参与疼痛调控的作用机制。通过\*\*\*技术研究投射的分布、作用受体、靶向的细胞类型及突触可塑性，并进一步操纵参与的脑区和细胞类型进行特异的\*\*\*的调控，以期达到治疗或者缓解疼痛的目的。本课题的结果有助于完善\*\*\*疼痛发生的机制，指导未来基础研究并为疼痛的临床治疗及新型镇痛方式的研发提供科学依据。

研究内容：（1）考察\*\*疼痛发生发展过程中，\*\*信号通路在脊髓水平表达时空变化规律，并记录痛行为学变化；（2）考察鞘内注射\*\*\*治疗\*\*痛中枢敏化机制研究；

试验设计：\*\*\*

**试验目的、试验的必要性、试验的意义和试验设计是动物伦理审查的重要内容。**

拟使用动物信息 Animal to be used	动物来源:XXXXX 实验动物技术有限公司 Animal origin 许可证编号 Certificate number:SCXK (X) XXXX-XXXX	质量合格证: <input checked="" type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无 Certification of fitness
	品种/品系 breed/ strain <input type="checkbox"/> 小鼠 rat _____ <input checked="" type="checkbox"/> 小鼠 mice <b>***品系（写全名）</b> <input type="checkbox"/> 裸鼠 nude mice _____ <input type="checkbox"/> 兔 rabbit _____ <input type="checkbox"/> 犬 dog _____ <input type="checkbox"/> 灵长类 primary animal _____ <input checked="" type="checkbox"/> 转基因动物 genetically modified animal <b>**转基因小鼠</b> <input type="checkbox"/> 其他（具体说明） others _____	等级 Grade <input type="checkbox"/> 普通 CV <input type="checkbox"/> 清洁 CL <input checked="" type="checkbox"/> SPF <input type="checkbox"/> 无菌 GF <input type="checkbox"/> 其他

	数量只 ( ♀: 120♂) (请标明性别) Number ( ♀: ♂)	体重: 18-20 g Weight g	周龄: 6 Age w
Animal to be used 使用动物信息	<p>选择实验动物种类和数量的原因                  Reasons for the choice of species and numbers of animals to be used.</p> <p>1) 本课题选取的实验动物是小鼠(品系**), 其与和人的基因具有极高的相似度(小鼠99%的基因能在人类基因组中找到同源基因), 利于小鼠进行动物利于实验结果向临床研究转化。并且同猴子、猪等实验动物相比, 小鼠繁殖迅速, 饲养费用低。</p> <p>2) 此动物品系可保持遗传背景上的高度稳定性, 从而使所得实验数据具有高度一致性和可重复性。根据文献报道, ***疼痛的相关研究大多使用此进行模型的制备。</p> <p>3) 本课题计划使用 ***品系*性小鼠 80 只, 细胞类型特性型转基因***性小鼠 40 只, 其中***鼠 20 只, **鼠 20 只。每类小鼠均分两组, 一组为对照组, 一组进行坐***疼痛模型组。动物使用数量的判定依据文献报道相关实验的常规数目或最低数目。具体实验使用数量如下</p> <p>a) ***形态学分析。分布研究: *Control 对照组 10 只, **疼痛组 10 只; **投射靶向的**突触后细胞类型: Control 对照组 10 只+***疼痛组 10 只)。</p> <p>b) 细胞的电生理特性和可塑性研究。膜片钳电生理记录: Control 对照组 10 只, ***疼痛组 10 只)。***可塑性分析: Control 对照组 10 只, ***疼痛组 10 只</p> <p>c) 行为学检测疼痛阈值。行为学实验 40 只 (Control 对照组 20 只+***疼痛组 20 只)。</p> <p>本课题所设计的每次实验中使用的动物数量, 是获得具有统计学意义结果所必需的, 具有科学性和合理性。</p> <p><b>(以上内容只作为举例参考, 请根据自己试验的具体情况填写, 请不要直接 COPY。此处是动物伦理审查重要内容。)</b></p>		

详细列出对动物可能造成的所有可预期的伤害，包括动物运输、每个试验方案动物饲养方式、实验操作步骤中等可能产生伤害或不适的细节以及拟采取的防控措施

Description of the overall harms expected to be experienced by the animals—including details of the likely adverse effects of each protocol, cage breeding and the steps which will be taken to control these adverse effects.

1. 实验动物的运输均由实验动物生产厂家提供有资质、合格的运输方式。使用专用的空调车和特制动物转运箱进行运输，运输过程中添加动物果冻。动物运达后，置于隔离室观察一周，检疫合格后转移至饲养室开展后续实验。

2. 本课题的实验动物饲养于 12h/12h 光周期、恒温恒湿（~23℃，30-70%湿度）的 SPF 级屏障系统中，可自由采食食物和水。日常饲养管理中，\*只/笼，每周更换一次垫料，给实验动物提供磨牙棒、棉花球等玩具，定期对动物进行观察。实验操作后的小鼠，保持每日观察记录。

3. 在实验动物饲养过程中，饲养人员尽量固定，保持气味一致；试验人员将接受严格的培训和训练，熟练掌握操作技术，并接受专业技术人员的指导和监督，减轻因操作技术原因造成的伤害。相关操作人员在试验期间友善对待实验动物，动作轻柔，不大声喧哗，不虐待动物，不做与试验无关的操作，避免造成应激反应和与试验无关的伤害。

4. 本试验实验动物的识别方式为标记笼位。

（本试验实验动物的识别方式为标记笼位和打耳标，先用 3%异氟烷对实验动物进行麻醉后再打耳标。）

5. 本课题涉及对实验动物的操作：

a) **保定动物**：操作人员经过专业的动物保定培训，减轻动物的不适、痛苦和应激反应。

b) **腹腔注射**：小鼠腹腔注射的位置在下腹部腹中线两侧 1-2mm 处。（1）安全有效的进行小鼠保定，保定小鼠时需头部处于低位，腹部处于高处，使其下腹部脏器上移。（2）将注射器以约 30-45 度刺入腹腔，缓缓注入药液。

c) 进行**有创存活实验**时，将严格消毒并控制进行动物实验的环境，确保无菌操作。实验动物手术过程使用对实行全身麻醉（诱导：3%异氟烷，维持：1.5-2%异氟烷）并在 37℃加热垫上进行，眼睛涂抹眼药膏，并注意观察呼吸情况。

**脑立体定位注射**实验步骤：（1）**美洛昔康 8mg/kg, 皮下注射**，深度麻醉后的小鼠上门齿卡入横杆，调节旋钮压紧鼻杆；将耳杆插入小鼠耳道，平衡调节左、右耳杆，使小鼠两耳间连线与耳杆在同一直线上，保证左、右耳杆的刻度位置相同后调节旋钮锁紧耳杆。小鼠固定完好的判断标准：鼻对正中，头部不动，提尾不掉，目测大脑放置水平（使颅骨水平）。（2）使用电动剃须刀，剃除小鼠顶被毛后，用碘酒和酒精消毒，纵向切开头皮，用止血钳将皮肤左右分开，用刀片刮去颅盖骨膜，（大鼠可以选择用双氧水腐蚀头盖骨膜），让前囟点即 Bregma 点显现出来。位于冠状缝和矢状缝的交接处，用脑定位仪读取 Bregma 点数值作为颅骨三维坐标原点 0。（3）左右调平：以前囟为坐标原点左右移动相同的距离，下针接触颅骨表面分别读对应点 Z 轴坐标，通过 Z 轴坐标的差值小于 0.03 mm 来确定小鼠头部 X 轴方向左右齐平。若差值大于 0.03 mm，则上抬注射器以免针尖触碰颅骨表面，调节

左右支杆，使之左右齐平，移动支杆后重新定前囟并将坐标归零，重新左右调平，直至差值小于 0.03 mm。（4）前后调平，移动注射器至前囟上方并向后囟移动电极，刚接触到后囟颅骨表面时，停针，读数。若与前囟差值小于等于 0.03 mm，则认为小鼠头部 Y 轴方向前后齐平，若差值大于 0.03 mm，则需调节前方的支杆，并重新固定门齿，移动支杆后重新定前囟并将坐标归零，重新前后调平直至差值小于 0.03 mm。（5）定目标脑区：以前梨状皮层为例（AP: +2.15 mm, ML: ±2.00 mm, DV: -4.00 mm）注射器沿 Y 轴方向向前移动 2.15 mm, X 轴方向向左或向右移动 2.00 mm, 下针。刚接触到颅骨表面时停针并做标记。（6）钻孔：上台注射器至较高处，用颅骨钻在标记处磨孔暴露脑组织并用生理盐水清洗开孔处。（7）注射：用微量注射器吸取注射物，吸入结束后重新校准，然后将注射器移至目标脑区上方下针至深度 4.0 mm, 下针务必匀速缓慢。设置合适的体积与速度等参数，开始注射病毒。注射完成后，留针 10 min 后将注射器缓慢抬起，注射完成。（8）生理盐水清洗浸润头皮，使用缝合线进行缝合，伤口处用碘伏消毒。（9）移除异氟烷，将小鼠置于透明容器中在加热垫上苏醒，可以自由活动后放回原笼具中。

6. 术后三天皮下注射美洛昔康 4mg/kg, 抗炎镇痛。每日观察动物情况，对皮肤伤口处要每天涂抹碘伏消毒一次，伤口愈合为止。

7. 对于实验手术操作后的实验动物保持 1 次/天的观察频率，及时发现动物的异常情况，适当时在兽医指导下进行处理。

8. 其他试验操作……

9. ……，安乐死动物，取材。……

**（以上内容只作为举例参考，请根据自己实验的具体情况添删改正，请不要直接 COPY）**

Humane endpoint or experimental terminative indicator 人道终点或试验终结的指标	主要观察指标 Main observation target 实验动物的日常行为观察，如清理皮毛、转身、行走、做窝、攀爬、社交等自然习性。 实验动物的进食、饮水量的观察，并日常记录实验动物的体重等信息。 (以上内容作为举例参考，请根据自己试验的具体情况填写。)	
	疼痛或应激等级 Pain or Distress Classification	<input type="checkbox"/> A-小的或暂时没有疼痛和痛苦 Minimal, Transient, or No Pain or Distress <input checked="" type="checkbox"/> B-通过适当的措施缓解疼痛或痛苦 Pain or Distress Relieved By Appropriate Measure <input type="checkbox"/> C-无法缓解的疼痛或痛苦 Unrelieved pain or Distress
	人道终点或试验终结的指标 Humane endpoint or experimental terminative indicator 当实验动物出现以下症状时，我们将其被判断为到达人道终点，采取安乐死措施： <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 快速失去其体重的 15%-20%。</li> <li>2. 虚弱：丧失食欲、未进水、24h 内无法站立或极度勉强站立。</li> <li>3. 手术后伤口感染或不能愈合。</li> <li>4. 体温超正常 4℃持续 24 小时以上。</li> <li>5. 动物出现明显疼痛和痛苦的迹象，无精打采、攻击、无原因的逃逸和奔跑、行为改变明显或其他异常行为。</li> </ol> 试验终结的指标： ***疼痛模型小鼠在行为学试验结束后，对动物进行安乐死。 (以上内容只作为举例参考，请根据自己实验的具体情况添删改正，请不要直接 COPY)	

拟开展动物实验的详细信息 Detailed information of the experiments on animals	动物处死方法 Death conduct <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 符合人道终点或试验终结标准的实验动物，使用二氧化碳窒息安乐死。</li> <li>2. 麻醉+颈椎脱臼（适用于 200 克以下大小鼠）</li> <li>3. 其他合适的安乐死方法，根据试验具体需要确定。</li> </ol>
	非处死动物的处置方式 （此处一般为空，不用填写） Not for the death of the animal disposition <p><input type="checkbox"/> 继续使用</p> <p><input type="checkbox"/> Continue to use</p> <p><input type="checkbox"/> 保存的机构</p> <p><input type="checkbox"/> Save in the agency</p> <p><input type="checkbox"/> 放生野外</p> <p><input type="checkbox"/> Release to the wild</p> <p><input type="checkbox"/> 其他, 详细说明</p> <p><input type="checkbox"/> Others, detailed description</p>
	动物替代、减少动物用后、降低动物痛苦伤害的主要措施 Major measure for 3Rs <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 本课题需要在体情况下研究***发生的网络、细胞及突触机制，因此无法进行动物替代。</li> <li>2. 通过积极查询文献和实验组内人员充分讨论，本试验设计方案已经做到最简，动物用量满足统计学要求的最低动物使用数量，不存在重复实验和动物的滥用。</li> <li>3. 动物实验人员经过专业培训，具备丰富的操作经验，能最大程度减轻实验操作对动物的伤害，能够正确识别动物疼痛或者痛苦，在实验过程中对动物的疼痛和痛苦进行适当的监测，并及时给予针对性的干预措施，保障动物福利。</li> <li>4. 动物手术过程严格遵守无菌操作规程，手术前使用合适的麻醉剂进行麻醉，术前术后给予止痛药，术后伤口涂抹碘伏并给予抗生素，降低动物痛苦程度。动物饲养过程中，提供棉花球、磨牙棒等玩具，保障动物福利。</li> </ol>
	是否使用有毒(害)物质(感染、放射、化学毒、其他) Poisonous (harmful) material (infection, radiate, chemical poison and other) being used <p><input checked="" type="checkbox"/> 否 no</p> <p><input type="checkbox"/> 是 yes</p> <p>说明：若使用了有毒有害物质，请说明人员防护和动物尸体处理情况。</p> <p>Declare</p>

利害分析的小结，说明为何预期的利益多于害处？

A summary of the harm-benefit analysis - why the expected benefits might be considered to outweigh the predicted harms?

本课题通过在啮齿类动物上进行一系列\*\*\*实验研究，期望在分子、细胞、局部网络、神经环路等不同层次阐明\*\*\*疼痛发生的生物学机制。实验过程中会对实验动物会造成疼痛的伤害或压力（手术、腹腔注射、运输等）。在实验动物上进行人体不能应用的实验手段，符合伦理，并且本课题设计时充分考虑实验动物健康及动物福利，尽量减少实验过程中对动物可能造成的伤害。本课题结果不仅可以完善\*\*\*疼痛发生的机制及指导未来基础和临床的镇痛研究，对新型镇痛药的研发及非麻醉性治疗方法的确立也具有关键意义。研究成果将以研究论文的形式发表，及时与国际社会分享课题发现，减少重复性实验的设计和开展。

长远看来，本课题成果可能会满足当前镇痛药研发的理论需求，减少罹患\*\*\*疼痛患者的痛苦，降低目前社会在疼痛治疗方面的费用，将具有重大意义社会获利。因此，本课题研究利益多于伤害。

（以上内容只作为举例参考，请根据自己实验的具体情况添删改正，请不要直接 COPY）

相关的补充说明或辅助证明文件

Supplementary instruction or any auxiliary documents for investigate

无

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

Declaration for the information disclosure and confidentiality requirements, declaring the information need to be kept secret, the information can be disclosed.

无

对伦理委员有无回避要求

Claiming jurors for being debarb

无

声明： 1. 我将自觉遵守实验动物福利伦理相关法规和各项规定，同意接受伦理委员会和实验动物室管理者的监督与检查。

2. 本人保证本申请表中所填内容真实、详尽和易懂。

Declaration : 1. I will abide by the law and regulation stipulation, and accept the supervision and inspection by the committee and laboratory animal department.

2. The information I have given is accurate, detailed and comprehensive.

声明人:课题负责人签(章)

Declarant: Signature (stamp) of PI

(此处时间与申请时间一致)

年 月 日 Y M D

主管兽医师意见

Opinion of Veterinary of institution

主管兽医师签(章):

Signature (stamp) Veterinary

年 月 日

Y M D

伦理道德委员会审批意见

Approval opinion of Committee

负责人签(章 Stamp):

Signature (stamp) of the Chairman of Committee

年 月 日

Y M D

备注:  初审;  第 次审查.

Remarks  first trial ;  reexamine No.

申报说明: 申报时, 请提交本表一式两份及电子版。批准文号由伦理道德委员会填写.

Notice: Submitting the Application Format in duplicate and a electronic edition.

The IACUC Issue No. are make out by Committee.