



庞万勇, 博士, 中国实验动物学会常务理事, 兼中国实验动物学会实验动物医师工作委员会主任委员和实验动物福利伦理专业委员会秘书长, 中国合格评定国家认可委员会 (CNAS) 实验动物专业委员会委员; 美国实验动物医学学会认证的实验动物专科兽医师 (DACLAM), 中国实验动物学会认证的实验动物高级医师和中国兽医病理学家分会认证的兽医病理学家, 国际实验动物评估和认可委员会 (AAALAC) 兼职专家和认证委员。毕业于中国农业大学动物医学院, 获得兽医病理学硕士学位; 随后于爱尔兰国立都柏林大学获得兽医学院博士学位, 并在丹麦哥本哈根大学从事实验动物医学博士后研究。2011年加入赛诺菲公司全球研发中心, 历任药物代谢、安全评价和动物实验部动物实验和福利项目专家 (总监) 和策略顾问 (总监), 负责公司在亚太区的动物实验和福利相关事务。2016年起隶属于赛诺菲公司全球研发中心转化体内模型研究平台, 负责公司在全球范围内动物实验外包和合作业务的动物福利合规事务, 并于2015年6月起协调公司在中国的临床前安全评价事务。

李夏莹, 北京大学实验动物中心兽医, 在国内外学术刊物上发表论文30余篇, 其中第一作者或通信作者18篇, 参与制定国家标准6项, 申报软件著作权3项, 参编著作2部。



2022版加拿大动物人道终点指南解析

李夏莹¹, 韦玉生¹, 田永路¹, 庞万勇²

(1. 北京大学生命科学学院实验动物中心, 北京 100871; 2. 赛诺菲公司全球研发中心转化体内模型研究平台, 北京 100022)

[摘要] 2022版加拿大实验动物管理委员会 (Canadian Council On Animal Care, CCAC) 动物人道终点指南——《动物科学终点、人道干预点和累积终点确定指南》(Identification of Scientific Endpoints, Humane Intervention Points, and Cumulative Endpoints) 简称“指南”) 根据最新的研究文献, 对现有的实验动物人道终点理论进行了补充和拓展。本文总结了该指南的主要内容, 对动物实验的科学终点、人道干预点、累积终点的确定、实施和监督进行了阐述和分析, 以期为同行提供有益的参考和借鉴。

[关键词] 实验动物; 科学终点; 人道干预点; 累积终点

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)06-0566-06

A Brief Interpretation of CCAC Guide on Humane Endpoints of Animals: 2022 Edition

LI Xiaying¹, WEI Yusheng¹, TIAN Yonglu¹, PANG Wanyong²

(1. Laboratory Research Center, School of Life Science, Peking University, Beijing 100871, China; 2. Translational In Vivo Model Research Platform, Sanofi G&D, Beijing 100022, China)

Correspondence to: PANG Wanyong (0000-0002-0724-2016), E-mail: pang1yong@outlook.com

[ABSTRACT] The 2022 Canadian Council On Animal Care (CCAC) guidelines: Identification of Scientific Endpoints, Human Intervention Points, and Cumulative Endpoints (CCAC Guide) supplements existing laboratory animal humane endpoint theory according to the latest available literature. This article summarized the main content of the 2022 CCAC Guide, and elaborated and analyzed the determination, implementation and supervision of the scientific endpoints, humane intervention points, and cumulative endpoints of animal experiments, in order to provide useful reference and information.

[第一作者] 李夏莹 (1986—), 女, 兽医学博士, 研究方向: 实验动物医学。E-mail: lixiaying@pku.edu.cn。ORCID: 0000-0002-0734-8961

[通信作者] 庞万勇 (1974—), 男, 兽医学博士, 研究方向: 实验动物医学。E-mail: pang1yong@outlook.com。ORCID: 0000-0002-0724-2016

[Key words] Laboratory animals; Scientific endpoints; Humane intervention points; Cumulative end points

在开展实验动物相关的科学活动过程中,动物的福利可能会受到损害,故实验动物饲养和使用单位对实验动物研究计划进行评审时,实验动物人道终点的确定以及具体实施方案是重点审查的一个部分。选择合适的时机对实验动物进行人道干预,不仅能最大限度减少动物在实验过程中所承受的痛苦,而且能保证实验结果准确可靠。

2022年加拿大实验动物管理委员会(Canadian Council On Animal Care, CCAC)制定了《动物科学终点、人道干预点和累积终点确定指南》(Identification of Scientific Endpoints, Human Intervention Points, and Cumulative Endpoints,以下简称“指南”),对动物的人道终点的确定进行了解析和阐述。该指南旨在提供相关信息,以便动物福利伦理委员会、兽医、研究人员能够合理地设置科学终点、人道干预点和累积终点,减少对动物福利的潜在影响。

1 相关概念

1.1 科学终点(scientific endpoints)

科学终点是科学活动达到既定目标的最早时间点,即在该时间点完成了数据或生物材料的收集。研究者有以下责任:(1)确定尽可能早的科学终点,以减少对动物福利的影响,包括当意识到科学活动没有按预期进行,则应该停止;(2)必须及时了解其研究领域中经过验证的科学终点,并将其纳入研究方案中;(3)尽可能通过预实验或平行研究,优化其专业领域内科学终点的设置。

1.2 人道干预点(humane intervention points)

人道干预点指在满足一些标准(即可观察到的动物的健康状况、生理状态或行为改变)的前提下,需要采取干预措施来应对动物福利恶化的情况。人道干预点指的是考虑人道对待动物的要求和实验要求,合理终止动物用于实验的时机。人道干预点的处理方式是安乐死(不一定全部处死)。而人道干预点可能采取的措施包括:(1)改变动物的物理或生活社会环境;(2)提供支持性护理(例如暂停操作、补充水分和改善营养);(3)用抗生素治疗感染;(4)缓解疼痛;(5)暂时(或永久)将个别动物从科学活动中移除;(6)如果福利影响超过了预期的严重程度,或者科学

获益不再能证明福利影响是合理的,则可以选择安乐死。

为了与3R原则保持一致,必须尽早进行干预。需要研究者和兽医根据具体的研究方案协商确定干预的时间点,并记录在案。通过选择适当的人道干预点可以提高研究质量和可重复性,避免继发性并发症的发生(例如血压升高、体质量减轻、身体状况变差、血糖变化、异常行为等)。人道干预点的确定应该满足以下要求:(1)客观且可测量(减少观察者的主观性);(2)在动物福利状态出现损害之前可检测到;(3)可以通过观察到的健康状态、生理变化或行为改变来判断。

1.3 累积终点(cumulative endpoints)

指南还提出了一个新概念“累积终点”。“累积终点”描述了在科学活动中停止使用某一只动物的阈值,该阈值是通过考虑动物一生中经历的所有影响动物福利的操作所带来的总体影响来确定^[1]。在考虑动物累积的一生经历时,必须考虑之前所有的福利影响,确保对动物福利的损害不超过实验动物管理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)批准的程度,参与科学活动和动物护理的人员有道德义务尽早识别不再适合作为科学研究对象的动物(例如未能梳理毛发、外观异常、食欲不振、刻板行为、对常规操作的过度反应、持续反抗保定等)。

2 科学终点和人道干预点的确定和监督规则

科学终点和人道干预点的实施应进行闭环管理(图1)。具体包括:(1)科学活动开始之前,确定好科学终点和人道干预点;(2)科学活动进行时做好动物的健康监测;(3)科学活动实施完成后,应审查所选的科学终点和人道干预点的有效性,以便在未来的科学活动中进行改进。

2.1 在开始科学活动之前

在开展任何以动物为对象的科学活动之前,必须在研究方案中描述科学终点、人道干预点和动物健康监测制度,并经IACUC批准。

2.1.1 选择科学终点

科学终点的确定及其对动物福利的影响因物种、实验步骤和研究目标等因素而异,所以应针对具体的



图1 科学终点和人道干预点的设定和实施过程概述

Figure 1 Overview of the process for setting and implementing scientific endpoints and humane intervention points

研究方案来设置专属的科学终点。当没有足够的证据来提前确定科学终点时,可进行预实验。预实验必须侧重于确定与福利相关的终点,而不是获取可用的科学数据。预实验结果必须在方案开始前提交给IACUC。

2.1.2 选择人道干预点

人道干预点不是描述科学活动何时结束,而是指出人道原因何时应该干预科学活动。人道干预点应通过科研人员和兽医人员之间的协商,参考科学文献、开展预实验,或在必要时参考专家意见,建立人道干预点。适当的干预应尽量减少对研究科学目标的干扰,必须寻找兽医和研究者共同接受的干预措施。通常,应遵循兽医建议的干预措施,除非研究者能够证明该措施将最终损害数据的完整性(在这种情况下,必须寻求其他干预措施),应考虑实施和保留干预措施的相对影响^[2]。与科学终点一样,人道干预点和相关干预措施应针对具体方案,并在所述科学活动的背景下进行评估。例如,一些研究要求将对动物福利的影响作为模型建立方案的一部分。在这种情况下,方案作者、兽医和动物护理人员应相互协商,以确保在对动物福利影响最小的情况下实现科学目标。人道干预点的最终目标应该是实现对动物福利影响最小的科学终点,还必须注意确保干预措施本身的福利影响最小化(包括对与目标个体一起饲养的任何同种动物的影响)。在任何科学研究开始之前,科学团队和兽医人员必须共同确定人道干预点,以便在动物福利受损时,适当的

干预行为不会出现问题或延误。如果研究者希望从任何必须实施安乐死的动物身上保存样本,则应提前计划。

2.2 在科学活动中

在研究计划实施过程中,必须对动物进行监控。当动物到达人道干预点时,必须进行干预。为保障动物福利,在科学活动开展期间,可能需要调整已确定的人道干预点和科学终点;对这些要点的修改应作为研究方案的修改部分纳入档案。

2.2.1 在整个科学活动中监控动物

所有动物必须按照研究方案中所述的要求进行监测。如果出现不利情况,可能需要增加某些动物的监测频率,每次评估时都应记录每只动物的状态,这些记录必须提供给所有利益相关者(例如兽医、动物健康技术人员、设施主管、科学团队成员等)^[3]。

2.2.2 确保评分表或检查表应用的一致性(即观察者间可靠性)

观察者评分标准的一致性是有有效使用评分表的关键,以确保评分表应用的变化不会导致动物出现不可预见的福利状况或不良的科学结果。在不止一个人负责监控动物的情况下,所有人必须以相同的标准来解释评分表。因此,除了最初受过良好训练外,负责监测动物的个人还应定期通过考核,以确保监测人员以一致的方式观察动物。通过量化观察指标,可以定期验证观察者之间的可靠性;在周末、节假日或人员生

病期间,这一点尤其重要,因为当班人员可能不具备常规技术人员可能具备的知识深度。表1是指南中提

供的用于癌症研究的小鼠的人道干预点监测模板示例。

表1 临床参数监测指南

Table 1 Clinical parameters monitoring guide

临床症状 Clinical sign	描述 Definition	得分 Score	分数评级 Score criteria
总体外观 General appearance	动物皮毛的状况	0	正常,皮毛光滑
		1	不顺滑的毛占区<身体的25%(不包括头部)
		2	不顺滑的毛占身体的25%~50%
		3	不顺滑的毛占区大于身体的50%
眼睛睁开的程度 Degree of eye opening	移动笼子前可见的眼睛比例	0	100% 睁开
		1	25% 闭眼
		2	50% 闭眼
		3	75% 闭眼
呼吸类型 Breathing pattern	移动笼子前胸腔的上升和下降模式	0	正常
		1	呼吸急促,没有腹式呼吸
		2	呼吸急促,腹式呼吸
笼内活动水平 In-cage activity level	当拿起笼子准备移动时观察动物的活动状态	0	移动笼子时,动物会活动
		1	动物稍微活动一下,很快安静下来
		2	动物几乎不活动
食欲 Appetite	观察补充饲料是否被食用	0	全部吃完
		1	大于50%被吃掉
		2	小于50%被吃掉
正常行为改变 Changes in normal behavior	观察笼内动物	0	无异常行为,无额外攻击性,行为正常(饮食、梳理、筑巢等)
		1	出现一些攻击性增强或行为异常的迹象
		2	攻击性、异常行为或不活动(活跃期)水平显著增加
实验操作时动物的反应 Activity during handling	观察实验操作时动物的反应	0	动物挣扎想逃脱
		1	动物先挣扎,之后很快安静
		2	动物在手中不活动
体质量降低 Body weight loss	与基础体质量相比体质量减轻的程度	0	0%~4.9%
		1	5%~9.9%
		2	10%~14.9%
		3	15%~19.9%
身体状况评分 Body condition score	用1分(消瘦)到5分(肥胖)来评估身体状况	0	≥3分
		1	2分
		2	<2分
脱水 Dehydration	通过轻轻拉动皮肤并计时恢复所需的时间来评估皮肤弹性	0	皮肤在不到2s的时间内恢复原位
		1	皮肤在2~5s恢复原位
		2	皮肤在5~10s恢复原位
肿瘤体积或负荷 Tumor volume or burden	单个肿瘤的大小或多个肿瘤的总质量	0	检测不到肿瘤
		1	肿瘤是存在的,但大小低于阈值
		2	肿瘤已达到或超过批准的最大尺寸
溃疡 Ulceration	可见溃疡的大小和特征	0	没有溃疡
		1	少量溃疡、炎症迹象
		2	大的渗漏的溃疡,自残迹象

2.2.3 根据需要采取干预措施

若有必要进行人道干预,那么研究者对预期的人道干预措施不能存在任何争论或不确定性,且必须遵

守批准的人道干预点。在某些情况下,根据观察的动物情况,可能需要在科学活动期间重新评估和修改预定的干预点。任何此类变更必须经过研究方案的修订

流程,并随后传达给所有利益相关者。在特殊情况下,可能会在未经兽医事先批准的情况下进行干预(例如,对处于极端状态的动物实施安乐死)。然而,未经兽医事先批准的干预只应在特殊情况下进行,而非作为标准做法,事后必须通知兽医。这些信息应用于预防类似情况再次发生。

2.2.4 在出现意外结果时,根据需要调整科学终点和人道干预点

科学活动并不总是按照批准方案中的设计进行。因此,研究者应有权酌情提前实施科学终点,并终止科学活动(例如研究者比研究计划时限更早获得足够的数据等)。

在应对研究计划未明确的动物福利受损的情况时,兽医人员、方案制订者和IACUC主席(必要时)应尽快相互协商,以便及时采取干预措施。在极端情况下,如果无法立即联系到研究者,兽医或其代表作为动物福利的最终权威,必须根据其专业判断,采取最佳干预措施。

2.3 科研活动完成后:回顾性分析

研究者应在实验结束之后评估科学终点和人道干预点设置的合理性和有效性,即预期数据是否在最初估计的时间范围内获得。如果未能达到预期的科学终点,应分析原因,并确定潜在的解决方案。即使达到了预期的科学终点,也应思考如何在收集数据的同时减少对动物的负面影响。

3 累积终点的确定及其通用原则

累积终点是指动物个体在科学活动中达到其一生最大参与度的时间点^[4]。确定动物何时达到最大参与度需要量化影响其福利的所有经历的总和^[5-6],必须考虑动物参与的多个科学活动,或多个过程的科学活动,以及长期参与科学活动的累积持续时间。

累积终点的评估应包括对动物身体影响(如组织创伤、疾病、营养不良)和心理影响(如疼痛、恐惧、焦虑)的评估^[7],动物一生中只应经历一次对动物福利造成严重影响(福利影响等级为D或E)的实验操作。3R原则中的“优化”应该优先于“减少”,不应仅为了减少动物使用总数而使用超过其累积终点的动物^[8]。最后,在决定累积终点时,不应将实验成本或操作便利性作为考虑因素。

根据IACUC制定的政策,必须考虑所有长期饲养的动物和经历多次科学实验的动物的累积终点。这些

动物必须有终生的经历记录,必要时进行更新,并定期审查。在更新方案或批准在新方案中使用每只动物之前,还应评估每只动物当前的福利状况,以确定其是否能继续用于科学研究(包括教学和培训)。

决定动物何时达到累积终点是一个需要科学团队、兽医和动物护理人员以及IACUC合作的过程^[4,9]。然而,由于IACUC最终负责监督动物使用的所有方面,因此它有最终的决定权。在可能的情况下,合作决策应针对具体物种并以证据为基础(或依靠专业判断)。潜在证据来源包括:(1)正式福利评估记录;(2)体检或健康检查记录;(3)之前在动物身上的操作清单;(4)计划的未来操作的清单^[1]。

关于累积终点如何设置,指南给出了如下参考因素:(1)种属;(2)饲养环境和离乳周龄;(3)在动物身上进行过的操作类型、次数、持续时间、频率和严重程度;(4)给药物质的理化特性;(5)任何化合物或药物的给药途径、剂量和频率;(6)不同操作之间的时间间隔——间隔越短,动物恢复到正常状态的机会越少;(7)动物的健康状况;(8)动物的适应性(例如,习惯化、积极强化训练);(9)社会结构或生活方式的改变(例如群居动物的单独饲养);(10)缓解未来福利影响而采取的干预措施和行为的类型和频率。

4 总结

合理地确定人道终点,包括科学终点、人道干预点和累积终点,对于实验结果的科学有效和动物的福利保障都非常重要。建立和实施人道终点需要整个研究团队(包括研究人员、动物饲养人员、IACUC和兽医)的通力合作。人道干预点不同于科学终点,可能需要在动物到达科学终点之前实施。制定人道干预终点评估标准的目的是形成一套明确的临床和行为标准来使干预措施趋于标准化,以减少、减轻或预防动物所经受的疼痛和痛苦。可以通过密切监控动物来确定是否应该在动物经历不必要的疼痛和痛苦之前将其从研究中移除、提供支持性护理和(或)安乐死。相关法律法规和人类道德要求尽量减少动物的疼痛和痛苦。研究者应在计划执行可能产生疼痛或痛苦的程序前咨询兽医;如果出于研究需要不能给予镇静剂、镇痛剂或实施安乐死,应该仅限在必要的时间内。累积终点是《动物科学终点、人道干预点和累积终点确定指南》中提出的新概念,尤其对于评估繁育群和衰老研究动

物具有很重要的参考意义。希望本文为进一步完善我国实验动物福利伦理中人道终点的合理设计和执行提供有益的参考和借鉴。

[作者贡献 Author Contribution]

李夏莹负责指南的翻译,并撰写文章;韦玉生负责论文修改;田永路负责文章内容的校对和审核;庞万勇指导文章的撰写及论文审核。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] Canadian Council on Animal Care. CCAC guidelines: Animal welfare assessment[M/OL]. Ottawa ON: CCAC, 2021. [2022-03-04]. https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/CCAC_guidelines-Animal_welfare_assessment.pdf.
- [2] PETERSON N C, NUNAMAKER E A, TURNER P V. To treat or not to treat: the effects of pain on experimental parameters [J]. *Comp Med*, 2017, 67(6):469-482.
- [3] Canadian Council on Animal Care. CCAC guidelines: Husbandry of animals in science[M/OL]. Ottawa ON: CCAC, 2017. [2022-03-04]. <https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/CCAC-guidelines-on-husbandry-of-animals-in-science.pdf>.

- [4] NUNAMAKER E A, DAVIS S, O' MALLEY C I, et al. Developing recommendations for cumulative endpoints and lifetime use for research animals[J]. *Animals (Basel)*, 2021, 11(7):2031. DOI: 10.3390/ani11072031.
- [5] HONNESS P, WOLFENSOHN S. The extended welfare assessment grid: a matrix for the assessment of welfare and cumulative suffering in experimental animals[J]. *Altern Lab Anim*, 2010, 38(3):205-212. DOI:10.1177/026119291003800304.
- [6] WOLFENSOHN S, SHARPE S, HALL I, et al. Refinement of welfare through development of a quantitative system for assessment of lifetime experience[J]. *Anim Welf*, 2015, 24(2): 139-149. DOI:10.7120/09627286.24.2.139.
- [7] SMITH D, ANDERSON D, DEGRYSE A D, et al. Classification and reporting of severity experienced by animals used in scientific procedures: FELASA/ECLAM/ESLAV Working Group report[J]. *Lab Animals*, 2018, 52(1 Suppl): 5-57. DOI: 10.1177/0023677217744587.
- [8] FENWICK N, GRIFFIN G. Balancing reduction and refinement [J]. *Altern Lab Animals*, 2013, 41(3): 33-35. DOI: 10.1177/026119291304100311.
- [9] HEIDERSTADT K M, KENNETT M J. IACUC issues related to animal models of aging[J]. *Ilar J*, 2011, 52(1): 106-109. DOI: 10.1093/ilar.52.1.106.

(收稿日期:2022-06-08 修回日期:2022-07-21)

(本文编辑:张俊彦,富群华,洪怡)

《实验动物与比较医学》有关实验动物福利伦理内容的说明

本刊是我国实验动物科学与比较医学领域的一本专业学术期刊,严格遵守国家实验动物相关法律、法规和标准,包括但不限于《实验动物管理条例》(2017年3月1日修订版)和《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)等,同时参考借鉴国际生物医学期刊关于动物实验研究报告的相关指南共识(如ARRIVE 2.0、IGP 2012、IAVE Guidelines 2010等)。因此,本刊对所有涉及动物实验的来稿均需审查实验动物福利与伦理相关内容。现将一些具体要求说明如下:

1. 涉及动物实验的来稿,需提供实验动物生产许可证和质量合格证,以及动物实验场所的实验动物使用许可证。以上证明须与使用动物种类及动物实验单位名称相匹配,并在正文中列出其对应的许可证编号。

2. 涉及动物实验的来稿,需在考虑3R(替代、减少和优化)原则的基础上设计动物实验,并提供作者单位实验动物福利伦理委员会(或相关机构)出具的实验动物福利伦理审查批件。批件中所列内容须与投稿文章相吻合,并在正文中列出对应的批准编号。

3. 实验动物的用药,尤其是麻醉镇痛药必须优先使用药用级麻醉剂,特别是当涉及存活手术的动物实验时。鉴于无法确定非药用级麻醉剂(如三溴乙醇、水合氯醛等)的相关性状及对实验动物的影响,从而不能保障实验动物福利及研究结果的可靠性,而且目前已有更优的市售麻醉剂可供选择,因此本刊不建议使用上述试剂。如确需使用,请提供充足理由说明及相应的批准文件。

4. 涉及肿瘤动物模型的研究,本刊参考国内及国际通用准则,建议单个肿瘤体直径不超过20 mm(小鼠)或40 mm(大鼠)且不出明显的肿瘤溃疡。如投稿文章有超出上述标准的研究内容,需提交作者单位相关肿瘤动物模型研究的指导原则文件,以及从科学角度判断肿瘤体积合理性的依据材料。

《实验动物与比较医学》编辑部