



实验动物运输福利的研究进展

李彩云, 潘学莹, 张 超, 宋 征, 常 艳

(国家上海新药安全评价研究中心, 上海 201203)

【摘要】 运输是实验动物行业的必要环节, 运输过程的装卸、装载密度、运输时间、禁食禁水、运输笼盒、环境温度等因素如控制不当, 均会使实验动物产生应激。本文介绍了国内外动物运输福利法规, 从运输过程中对被运输动物产生应激影响的因素进行了探讨, 总结了实验动物运输中减少动物应激的措施和方法。

【关键词】 运输; 动物福利; 应激

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 11-0086-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2015.11.018

Research progress of transportation welfare for laboratory animal

LI Cai-yun, PAN Xue-ying, ZHANG Chao, SONG Zheng, CHANG Yan

(National Shanghai Center for New Drug Safety Evaluation and Research, Shanghai, 201203, China)

【Abstract】 Transportation is essential in laboratory animal field. If control is improperly, stress occurs to the laboratory animal in terms of loading and unloading, density, transporting duration, fasting, handle cages and temperature, etc. during transportation. This article elaborates laws and regulations on animal transportation both domestically and oversea, discusses the factors that cause stress to laboratory animals during transportation, summarizes measures and methods to minimize the stress to lab animals in transportation.

【Key words】 Transportation; Animal welfare; Stress

现代生物技术和生物医药的快速发展推动了生物医药研究中基础的研究体系实验动物行业的发展。实验动物在国际和国内的增长显著, 尤其是近 20 年国际知名医药企业的涌入, 全面提升了国内实验动物行业的整体水平。实验动物行业的发展必然导致生产和使用的分离, 运输是衔接实验动物生产和使用的必要环节。运输环节对于实验动物的福利和健康的影响和干扰已受到公认。本文主要关注机构之间实验动物运输, 介绍国内外动物运输福利法规、运输对于动物产生的影响, 以及对如何改善和提升动物运输福利的各个关键方面进行

概括和论述。

1 国内外动物运输法规

1.1 国际法规

针对动物运输福利法的规定以欧盟的法律法规早而齐全, 从最早的 1964 年出台的 64/432/EEC, 经过多次修改和补充, 到现行的 1/2005/EC 法案, 内容包括了对动物运输车辆、运输物种、生理阶段、年龄和性别、运输时间、食水供应、停车休息、装卸设施、运输记录装置、防疫、检疫等做了相应的细致规定^[1]。此外 1988 年德国颁布《保护在容器中的

[作者简介] 李彩云(1983-), 女, 兽医学硕士, 助理研究员, 国家上海新药安全评价研究中心, E-mail: cyli@ncdser.com。

[通讯作者] 常艳(1974-), 女, 药理学博士, 研究员, AAALAC 检查顾问, 国家上海新药安全评价研究中心, E-mail: ychang@ncdser.com。

运输动物的条例》中列出动物在运输中的福利要求;1997 年英国颁布了专门的《动物运输法案》,限定了运输时间和运输过程中的动物福利要求^[2]。实验动物运输参考和使用的法律法规,航空运输方面以 IATA 列出的国际航空运输活体动物的规章制度是商业航空运输活体动物的通用国际标准,内容包括包装箱的设计和结构、温度、食物和饮水等有要求^[3];AVMA 则要求在动物运输过程中有专业人员陪同,合理的保定动物和运输过程中动物福利保障,对于相关人员需要提供专业培训等^[4];AAALAC 指南 Guide 中,单独列出动物运输章节,对于动物运输前准备、运输过程中的防护和福利保障以及人员培训等方面都提出了一些要求和规范;国际兽医局对于动物运输中动物的饮水、饮食和运输包装盒、安全等方面也有明确的规定和指导^[5];而对于某些特定阶段或条件下的运输考虑,如动物处于怀孕或围产期、老年动物、或处于疾病期的动物、转基因动物、手术动物等运输需要有特殊的指导和要求^[6]。

1.2 国内法规

国内在动物运输方面的法规相对起步晚。在我国针对动物运输相关内容有提到的法律法规有《进出境动植物检疫法》、《动物防疫法》、《野生动物保护法》;《水生野生动物保护实施条例》、《进出境动植物检疫法实施条例》、《水路运输管理条例》、《实验动物管理条例》;民航总局《中国民用航空货物国内运输规则》、国家林业局《活体野生动物运输要求》、农业部《动物检疫管理办法》和《动物免疫标识管理办法》等部门规章制度的内容主要涉及动物运输及其过程中的检疫和免疫问题^[7]。上述我国的法律法规仅包含动物运输过程中的检疫、防疫、标识等方面的规定和一些规定运输物种的限制,对动物运输过程中的福利问题几乎没有涉及,且内容描述简单。目前我国尚无明确的动物运输法规。而涉及实验动物运输的法规是 1988 年我国实验动物行业唯一的一部国家行政法规《实验动物管理条例》,第二十一条规定“实验动物运输工作应当有专人负责。实验动物的装运工具应当安全、可靠。不得将不同品种、品系或者不同等级的实验动物混合装运”。其他部分省市修订的地方立法,如《北京实验动物管理条例》、《湖北省实验动物管理条例》和《云南省实验动物管理条例》,关于实验动物运输的要求与《条例》基本一致。《实验动物环境及设施》国标第 9 章节提出的实验动物运输的要求,包含了

对于动物笼具结构、材质、和设计要求,运输工具配备空调设备的要求,运输超过 6 h,需要提供饮食和饮水^[8]。相对于国际动物运输法规,国内法律法规略显简单,对于实验动物运输过程的指导、辨别和借鉴效果不明显。

2 运输对实验动物的影响

运输对实验动物造成的最重要的影响是应激。运输应激的外在表现为反应激烈、恐惧或抑郁、异常发声、攻击性加强、心跳和呼吸频率加快、体温变化等;运输后动物饮食饮水减少或废绝、疲乏衰弱、腹泻或排便减少、脱水、甚至导致疾病无法恢复、死亡^[9]。造成的体内变化表现为各种酶和激素的异常,如皮质醇、皮质酮、加压素、甲状腺激素、若干转氨酶、脱氢酶、肌酸磷酸激酶等浓度变化;此外运输饥饿造成游离脂肪酸、 β -羟基丁酸酯、血糖、尿素以及血液生化参数的变化^[10]。以上运输应激不仅妨碍实验动物身心健康,降低其福利水平,且可导致对实验研究的背景性干扰。

2.1 装卸

动物敏锐的感官使得对任何不熟悉的景象和声音异常警觉。装卸过程中动物面对不熟悉的景象和声音不可避免。一些不适当的操作可能会使动物恐慌。装卸对大型的高智商的实验动物造成应激更大,例如比格犬在装卸车的时候心率达到最高。非人灵长类因运输应激导致的行为改变可以持续到抵达后超过 1 个月^[11]。

2.2 装载密度

装载密度决定了拥挤的程度,一般情况下幼龄动物对于拥挤的适应性比成年动物更强^[12]。装载密度主要影响心率和血浆乳酸浓度,高密度装载的动物心率和乳酸浓度比中等密度和低密度的高;处于装载车辆后面或中部圈栏的动物比处于前面圈栏的动物心率和乳酸浓度高^[7]。

2.3 禁食禁水

出于方便运输的目的,很多时候对动物采用禁食禁水运输的方式。研究证明休息、食物和饮水可以不同程度地改善动物福利^[7]。欧盟现行规定运输动物的饲喂间隔和饮水间隔分别不超过 24 h 和 12 h^[1]。中国国标则要求运输时间超过 6 h 以上需要提供饮食和水^[8]。提供食物和饮水不仅补充营养和水分,也是缓解动物紧张情绪和应激反应的手段。

2.4 颠簸或震动

运输过程中的振动和加速度对动物的影响一直存在。有研究显示运输过程中震动的频率使猪心率显著提高,加速度会使这种影响更加显著;粗糙路面上运输的牛的 pH 和心率比在柏油路面运输的值均要高^[7]。此外,动物的头部朝向与行驶方向的角度对水平和横向振动有显著影响,与行驶方向成直角的站姿比面向行驶方向的水平和横向振动更小^[14]。关于运输过程中震动对实验动物的影响尚未有相关研究。

2.5 运输时间

运输时间的长短对动物影响显著。Wistar 大鼠血糖和血清皮质酮在运输初期均升高^[15]。短途运输比格犬对动物的心肺生理参数影响显著^[16];另外皮质醇和钠的浓度随运输时间而显著升高,心率和乳酸浓度随运输时间而显著降低^[7]。在自由获得干草和饮水的情况下长途运输亦可导致动物 T3、T4 浓度显著升高^[17]。

2.6 其他

运输时的外部环境温度也影响运输福利的一个重要因素。极端天气导致动物运输过程中产生应激、疾病的发生,甚至死亡。美国国家委员会推荐常见实验动物运输中比较安全的外环境温度范围,小鼠、豚鼠和兔子建议在 4℃~34℃,大鼠 6℃~33℃,犬为 10℃~28℃,恒河猴 6℃~35℃^[18]。带有空调设施的运输车辆,运输过程对外界环境温度的依赖变小,中国国家标准要求运输工具应配备空调设备,运输内环境温度应符合相应的等级要求,如小鼠运输车内温度为 20℃~26℃^[8]。一般情况下高温天气运输的危害大于低温天气的运输。包装容器的材质和合适程度也影响着被运输动物的舒适度。航空运输动物中造成的事故,因为包装容器不合格,导致动物逃逸占 22%;造成动物死亡的占 10%^[19]。

3 实验动物运输的改进和完善方向

3.1 改善硬件设施和软件程序减少运输应激

硬件设施包括运输车辆和运输笼盒。适宜的运输车辆和笼盒能够很大程度的改善动物运输过程中的福利和应激。例如小型啮齿类需要专用运输箱,确保充分换气和防止外面微生物污染;兔需要保证有自由的活动空间,底板防滑,保持适当的温度和良好的通风;犬和猴要求单只运输,留有足

够的空间让动物保持自然的姿态,足够的通风。运输装载密度根据动物的体重提供适当的底面积^[8]。运输箱固定,防止急刹车或颠簸;给运输车辆配备导航系统和温湿度监控和调节装置等。目前,国内实验动物生产供应机构基本上采用专用运输车和运输包装箱运送实验动物,提供符合动物种属和微生物级别的装载笼具,运输期间保障对温度和湿度的控制。软件程序方面从运输方案、计划和人员培训等各个方面进行有效的提升和改善。设置合理的运输方案或计划及应激情况下的备用方案;安排运输负责人和紧急联系人;提供动物运输的相关人员包括司机陪同人员等进行专业的动物护理培训和福利培训;运输过程中供水供食,部分实验动物供应商均考虑了长途运输过程中供食饮水问题。例如在 SPF 动物运输盒中提供果冻;给猴在运输笼中提供水果。最后尽量避免高温天气运输减少动物应激和死亡^[20]。

3.2 采用干预的方式减少运输应激

由于运输应激的不可避免性,科研人员尝试以主动干预的模式来解决动物运输应激问题。目前研究发现酪氨酸和维生素 E 能使运输中的猪更多的卧卧和降低心率;酪氨酸、镁离子、维生素 E 和维生素 C 配合制剂可以改善动物应对振动和加速度的能力^[21];提供富含氨基酸和维生素的营养补充剂有助缩短小鼠短途运输后恢复所需时间^[22];另外抗氧化剂维生素 C、维生素 E、槲皮素和止痢草油在大鼠的运输过程中具有一定的抗运输应激效果^[23];在运输前灌饲谷氨酰胺具有保护大鼠抵抗运输应激的作用^[24]。由维生素 C、维生素 E、碳酸氢钾和 γ -氨基丁酸制作的抗应激复合添加剂对大鼠进行灌胃后,能降低大鼠运输应激敏感性,起到抵抗运输应激的作用^[25]。

3.3 给动物足够的适应期从运输应激中恢复

目前在国内外实验动物行业应对动物运输应激的最常用的方式是设定适应期,让动物能够自动平复运输应激带来的身体可见或不可见的多种参数的变化。OECD 规定小鼠、豚鼠的适应性饲养至少 5 d,兔至少 6 d,犬和非人灵长类至少 14 d^[26]。而中国 FDA 则规定啮齿类动物在进行试验前至少需要适应性饲养 5 d,非啮齿类至少需要 2 周^[27]。对于啮齿类实验动物在接收后,接收单位均会按照惯例或研究需求和经验设立一个 1~7 d 不等的适应期限^[28]。上海市为例,针对实验大鼠的检

度和适应期均定为 3~5 d,部分单位定为 1 周。短途运输的小鼠和 Wistar 大鼠常规需要 72 h 的恢复期^[16,22]。对于犬、猴等智商高等的动物,运输应激会持续 1 个月左右,因此非人灵长类动物的适应时间通常大于 1 个月^[11]。

4 结语

综上所述,运输对动物产生应激的因素是多方面的,如将动物从熟悉的笼盒和种群中转移;运输过程中将动物单独饲养或密集的群体饲养;装载在不熟悉的运输容器中;装卸和运输途中的运动和震动;为保证平衡导致的紧张,特别是大动物;不熟悉的信息、声音和气味;温度的波动,尤其是极端温度;黑暗;运输过程中被停止供食供水等。如何改善和减少运输的应激和影响,一方面从硬件运输设备上改善,另一方面操作程序的合理可控能有效减少应激,改善动物运输福利;再者运输后给予动物合适的适应期来平复运输应激是现在实验动物行业的主流方式,但是我们需要在这方面有更多的研究证明和确定一个合理的适应期;采用干扰物质减低运输应激是一个新的研究方向,但尚未成为主流形式,仍然需要有更多的研究数据来支持可行性。最后从根本上我国在动物运输法律法规方面较为欠缺,需要建立起一个规范合适的制度来保证动物运输过程中的福利得到有效保障。

参考文献:

- [1] 1/2005/EC; Council Regulation (EC) No 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) No 1255/97 [EB/OL].
- [2] 常纪文. 动物福利法—中国与欧盟之比较[M]. 北京:中国环境科学出版社,2006.
- [3] Live Animal Regulations, The Global Standard for the Transportation of Live Animal by Air. IATA, 2015 edition.
- [4] A Report from the American Veterinary Medical Association Animal Air Transportation Study Group. Schaumburg, IL; AVMA, 2002.
- [5] Guide for the Care and Use of Laboratory Animals[M]. Eighth Edition,2010.
- [6] FASS (Federation of Animal Science Societies). Transport// Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching, 3rd ed [M]. Champlain, IL; FASS, 2010; 54.
- [7] 邓红雨. 公路运输条件下牛的运输应激反应研究[D]. 河南农业大学,2013.
- [8] 实验动物环境及设施,中华人民共和国国家标准,2010.
- [9] Swallow J, Anderson D, Buckwell AC, *et al.* Guidance on the transport of laboratory animals [J]. Lab Anim. 2005, 39(1):1-39.
- [10] The Scientific Panel on Animal Health and Welfare. The welfare of animals during transport. European Food Safety Authority,2004.
- [11] 梁春南,李明,黎绍明,等. 实验动物运输中的福利保障[J]. 中国动物保健,2012,14(9):20-23.
- [12] Broom D M, Fraser A F. Domestic animal behavior and welfare, 4th ed [M]. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2007.
- [14] Girma G, Samuel A, Fufa S B, *et al.* Vibration levels and frequencies on vehicle and animals during transport [J]. Biosystems Engineering, 2011, 110(1):10-19.
- [15] 杨斐,胡樱. 短途运输应激对 Wistar 大鼠的影响[J]. 中国实验动物学报,2009,17(4):279-281.
- [16] 潘永明,陈亮,何欢,等. 无创遥测技术观察运输应激对 Beagle 犬部分生理指标的影响[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(4):56-61.
- [17] Fazio E, Medica P, Alberghina D, *et al.* Effect of Long-distance Road Transport on Thyroid and Adrenal Function and Haematocrit Values in Limousin Cattle; Influence of Body Weight Decrease[J]. Veterinary Research Communications, 2005, 29:713-719.
- [18] National Research Council. Guidelines for the Humane Transportation of Research Animals. <http://www.nap.edu/catalog/11557.html>,2006.
- [19] 王实,张伟. 野生动物航空运输包装容器安全问题调查与分析[J]. 2009,30(4):210-213.
- [20] Grandin T. Livestock handling and transport, 3rd ed [M]. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2007.
- [21] Peeters E, Neyt A, Beckers F, *et al.* Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration[J]. Journal of Animal Science, 2006,1827-1838.
- [22] 胡樱,杨斐. 小鼠短途运输应激及其营养干预的研究[J]. 实验动物科学,2012,29(3):15-19.
- [23] 田艳. 抗氧化剂的体外评价及在运输应激大鼠中的抗应激效果研究[D]. 2014.06.
- [24] 吴艳. 大鼠的运输应激及谷氨酰胺的抗应激研究[D]. 南京农业大学,2008.05.
- [25] 赫荣贺. 复合添加剂对大鼠抗运输应激能力的影响及配伍剂量筛选[D]. 黑龙江八一农垦大学, 2013,04.
- [26] OECD. Guideline for testing of Chemicals. 2011.
- [27] SFDA. 药物重复给药毒性试验技术指导原则. 2014.
- [28] Obernier J A, Baldwin R L. Establishing an appropriate period of acclimatization following transportation of laboratory animals[J]. ILAR J,2006,47(4):364-369.

[修回日期]2015-09-30