

臺北市立大學實驗動物照護及使用小組

實驗動物安樂死標準作業流程暨處理要點

103 年 1 月 26 日 103 年度下半年 IACUC 委員會議通過

112 年 1 月 12 日 IACUC 臨時會議修正通過

112 年 6 月 7 日 111 學年度下半年 IACUC 會議修正通過

一、目的：

以人道安樂死方式進行動物犧牲，對動物引發最少疼痛、焦慮、不安和恐懼感與最短時間內喪失知覺。

二、適用範圍：

於實驗動物操作空間進行實驗動物安樂死之作業流程。

三、實驗中動物安樂死時機和準則

(一) 體重減輕、喪失食慾:

1. **體重減輕達 20-25%**，或是動物出現惡病質或消耗性症候時。
2. 喪失食慾:小型啮齒類動物**完全喪失食慾 24 小時**或食慾不佳(低於正常量之 50%)**達三天時**。

(二) 外觀：

1. 虛弱(無法進食或飲水):動物在沒有麻醉或鎮靜的狀態下，**長達 24 小時無法站立或極度勉強才能站立時**。
2. 持續性的拱背。
3. 明顯皮毛粗糙，並伴隨其他症狀如拱背、遲鈍反應及行為。

(三) 臨床症狀：

1. 持續性的呼吸困難。
2. 持續性流涎，弄濕下顎附近的皮毛。
3. 持續性的震顫。
4. 持續性的痙攣（若每次超過 10 分鐘以上，則建議安樂死）。
5. 沉鬱.臥倒持續超過一小時以上（若每次超過三小時以上，則建議安樂死）
6. 垂死/瀕死:動物在沒有麻醉或鎮靜的狀態下，表現精神抑鬱伴隨體溫過低(低於 37 °C)時。

(四) 感染:無論是明顯可知或因體溫升高白血球數目增加而判斷為感染所致，且在抗生素治療無效並伴隨動物全身性不適症狀出現時。

出現器官嚴重喪失功能的臨床症狀且治療無效，或經獸醫師判斷預後不佳時。如:

1. 呼吸系統:呼吸困難(dyspnea)、發紺(cyanosis)。
2. 心血管系統:大失血(blood loss)、貧血(anemia)。
3. 消化系統:嚴重嘔吐或下痢，消化道阻塞，套疊、腹膜炎、內臟摘除

手術。

4. 泌尿道系統:腎衰竭。
5. 神經系統:中樞神經抑制、震顫、癱瘓(其中任一肢或以上)、對止痛劑治療無效之疼痛。
6. 肌肉骨骼系統:肌肉受損或骨折使肢體喪失功能。
7. 皮膚:無法治癒之傷口、重複性自殘或二級以上之保溫墊燙傷。

(五) 無刺激時一般行為：無社會行為，沒有任何的互動。

(六) 對刺激的反應：對刺激或外部行為無任何的反應。

(七) 腫瘤生成終點評估:無論自發性或是實驗接種的腫瘤，均應進行實驗終點評估。當動物身上發現腫瘤，每週應至少檢查兩次腫瘤生長情形，兩次檢查的間隔不可超過四天。只要符合下列任一項情況即需將動物安樂死。

- (1) 單一腫瘤的重量超過動物體重的 10%，或是成年小鼠腫瘤平均直徑超過 20mm，或是成年大鼠腫瘤平均直徑超過 40mm。
- (2) 體表腫瘤：腫瘤表面出現潰瘍、壞死或是感染。
- (3) 腹腔腫瘤：腹腔異常擴張、呼吸困難。
- (4) 顱內腫瘤：神經症狀。

(八) 小型啮齒類安樂死作業流程

方法	作業流程
二氧化碳	<ol style="list-style-type: none">1. 從飼養室將實驗動物取出，使用推車運送至犧牲室。2. 開啟 CO2 鋼瓶旋鈕，確認 CO2 鋼瓶具有足量二氧化碳氣體。3. 依據安樂死箱大小計算體積，調整 CO2 流量計(L/min)流量。(根據實驗動物人道規定，施放 CO2 氣體建議流速為箱體體積的 30%-70%/每分鐘)4. 調整 CO2 鋼瓶釋放時間(依動物種類不同調整)。失去意識的時間通常在 2-3 分鐘之間。當失去意識後 CO2 的流速至少需維持 1 分鐘，CO2 釋放時間建議為 4 分鐘以上。5. 將實驗動物放入安樂箱，蓋上箱蓋，確定安樂箱 CO2 管線連接，打開二氧化碳開關注入氣體，4 分鐘後關上二氧化碳開關，再等待 1 分鐘確認無呼吸生命現象後，莊重取出。6. 關閉 CO2 開關，將安樂箱放回原位，矽膠軟管整線放好，清潔自己使用過的空間，以方便其他使用者。7. 將使用過的籠具，蓋好上蓋，放置於推車上運送至洗滌室進行清洗。8. 將實驗動物屍體裝入紅色感染性廢棄物塑膠袋，妥善打包以減少體積並將袋口打結封好。
吸入性藥劑	<ol style="list-style-type: none">1. 失去意識時間：考量氣體替換率，容器大小及氣體濃度。

	<ol style="list-style-type: none"> 2. 雖然高濃度氣體可縮短失去意識時間，但是也造成動物厭惡感及緊迫。逐漸增加氣體暴露濃度較為人道。 3. 吸入性氣體必須品質純正，不能摻有污染物或添加物。 4. 給予並維持吸入性氣體濃度之設備必須依相關規定保養維持在良好工作狀態。 5. 幾乎所有吸入性氣體對人員是有害的，應注意操作環境之通風。 6. 生病或抑鬱動物因呼吸量降低，導致肺泡氣體濃度延遲上升，容易於誘導期出現激動反應。 7. 仔獸對低氧耐受性較高，因此要比成年動物死亡耗時更久。吸入性氣體可以單獨使用於未離乳動物使其進入缺氧狀態，但是需比一般動物要更長時間或搭配輔助方法來達成動物之安樂死。 8. 需要鎮定後再用吸入性氣體誘導。 9. 氣體流速過快會產生噪音及冷氣流，易使動物緊迫，故應在適當之氣體置換率下注意進氣孔徑。 10. 吸入性安樂死應在動物舒適狀態下進行，如齧齒類使用原飼養籠具。 11. 應考慮吸入性氣體比重，避免在底層或上層形成氣體層流或流失氣體，導致誘導效果不佳務必確認動物死亡。
<p>巴比妥鹽 (Barbiturates) 及其衍生物</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 從飼養室將實驗動物取出，使用推車運送至犧牲室。 2. 靜脈給予實驗動物，它可抑制中樞神經反應，使動物失去知覺進入麻醉狀態，過量的藥劑使動物停止呼吸，接著停止心跳。 3. 當動物體型太小導致靜脈注射不易時才考慮使用腹腔注射。 4. 巴比妥鹽及其衍生物如經靜脈注射投藥，則皆可作為動物安樂死藥劑。
<p>物理性方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 頸椎脫臼法 <ol style="list-style-type: none"> (1)人員須接受完整的技術訓練才可使用此方法。 (2)從飼養室將實驗動物取出，使用推車運送至犧牲室。 (3)人員迅速將動物的頸椎與脊椎脫離，使動物死亡。對於小型齧齒類動物，利用硬桿或拇指、食指壓住頭頸部，用另一隻手抓住尾巴或後肢，迅速用力向後拉扯後驅，使頸椎脫離頭顱。 (4)使用於小鼠、體重低於 200 公克的大鼠，執行前動物得先給予鎮定或麻醉，以減低動物的緊迫。 (5)如需對體重較重的動物、或者未經鎮定或麻醉直接採取本法進行安樂死時，僅能在具備科學研究之必要性並確認無其他替代方案可使用時，則需由實驗動物照護及使用小組

(IACUC)評估核准後才可執行。

2. 放血

(1)用於已經失去意識或致昏後的動物，再配合放血方法，可確保動物的死亡。

(2)放血不得作為安樂死的單一方法。如因研究所須採放血取得動物血液，則必須先致昏或麻醉動物後執行，並避免不完整放血，以免動物甦醒。

3. 灌流

(1)動物必須在深度麻醉後進行。

(2)人員須接受完整的技術訓練才可使用此方法。

(3)當動物被深度麻醉且立即灌流導致死亡時，灌流為安樂死的方法之一。

(九) 齧齒動物適用之安樂死方法

安樂死法	齧齒動物 (<200g)	齧齒動物 (200g~1kg)
二氧化碳(CO2)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Barbiturate 注射液, 靜脈注射 (> 100 mg/kg) IV	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Barbiturate 注射液, 腹腔注射(> 100 mg/kg) IP	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
麻醉後採血(放血)致死	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
麻醉後靜脈注射 KCl(2meq/kg) 或神經肌肉阻斷劑	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
先麻醉, 之後頸椎脫臼	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
動物深度麻醉中灌流	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<p>○建議使用之方法</p> <p>說明：</p> <ol style="list-style-type: none"> 建議使用的方式，人員可選擇一項或合併多項使用，放血、擊暈、斷頭、腦脊隨穿刺等，不建議做為動物安樂死的單一方法，應配合其他建議方法共同使用。 Barbiturate 巴比妥鹽最常用藥劑為 pentobarbital 注射劑，屬管制藥品，需事先洽行政院衛生福利部食品藥物管理署申請核可後購買使用。 		

四、辨識和確認死亡狀態(death of confirm)

- (一) 執行安樂死後人員需檢查動物的心跳是否完全停止。停止呼吸不能做為判斷死亡的依據，動物往往先停止呼吸，數分鐘之後才停止心跳，尤其是使用二氧化碳進行安樂死時，需特別注意。
- (二) 判斷依據有：呼吸動作停止、心跳停止、瞳孔擴張且角膜反射消失、脈搏停止、黏膜失去血色、眼睛呆滯。