

實驗動物安樂死之標準作業流程

目的

動物安樂死的目的是以人道的方式使動物死亡，它以最低程度的疼痛、最短的時間使動物失去知覺和痛覺。在 2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasia 中詳細介紹了動物安樂死的各種方法和優缺點，本文僅對脊椎動物於科學、教學及試驗應用範圍內提供建議方法。

一、以安樂死作為解除疼痛的選擇

如無法以其他方式解除動物的疼痛(pain)或窘迫(distress)時，建議施予安樂死。在科學研究中，如動物的死亡是可預期或必然的實驗結果，則研究者應依據病理、生理或行為面詳加敘述動物實驗的終點(end points)，除非安樂死確實影響實驗結果，否則應在動物呈現垂死、死後組織自體溶解、或死後被籠內其他同類相食前以人道的方式解決。安樂死不但可以解決動物遭受嚴重疼痛，並可透過完整的屍體解剖更進一步了解動物的狀態，有助於實驗之進行。

二、執行安樂死的時機

一般而言選擇安樂死的考量因素有：動物體重下降、消瘦、成長期動物未增重、無法有效控制的疼痛、過度的腫瘤增長或腹水產生、持續性的自殘行為、疾病造成的全身性脫毛、因實驗因素無法治療的長期下痢、嚴重呼吸道感染、持續性的倦怠伴隨粗造的皮毛、拱背、腹圍擴大、四肢無法行走、嚴重貧血、黃疸、異常的中樞神經反應(抽搐、顫抖、癱瘓、歪頭等)、無法控制的出血現象、排尿異常(無尿、多尿等)、影響進食飲水的病症、傳染性疾病末期、嚴重低溫、明顯的功能損傷、動物遭受長期窘迫時的行為及生理現象等。

各機構的動物實驗管理委員(IACUCs)、研究人員、獸醫師、研究部門主管應對實驗動物的終點(end points)、以及何時執行動物安樂死等方面共同擬定該機構之政策。

三、安樂死：技術以及對執行者的衝擊

由於動物失去知覺與死亡的時間點不盡相同，且有些如靜脈注射或斷頭等方法需較高的技巧，難以由未接受訓練的人員立刻操作、或者決定動物是否遭受疼痛或失去知覺。各機構的動物實驗管理委員(IACUCs)與獸醫師應建立人員訓練計畫，使人員學習正確的安樂死技術、了解動物安樂死的目的，並安排人員間的相互討論，以舒解可能的心理緊迫。

四、避免造成其他動物的恐懼感

窘迫的叫聲、恐懼的行為、驚嚇動物的費洛蒙氣味等，皆引起其他動物的焦慮和不安，這些因素會影響存活動物的身心平衡與福祉，干擾實驗結果。因此，動物安樂死時，最好選擇遠離同種動物的非公開場所來執行。

五、輔助執行安樂死

動物安樂死首要考量為解除動物的疼痛與窘迫，因此面對神經質或難以駕御的動物，可先給予鎮定劑或止痛劑等藥物，以便降低動物的緊迫與恐懼。

六、確認死亡

確認動物是否死亡是非常重要的事項。執行安樂死後人員需檢查動物的心跳是否完全停止。停止呼吸不能作為判斷死亡的依據，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。

選擇安樂死的藥物與方法

動物安樂死的方法取決於品種，大小，溫馴度，興奮度，對疼痛、窘迫、疾病的感受性，保定方法，實驗是否需組織採樣及其他因素。適當的物理性保定不僅可減低動物的恐懼、焦慮及疼痛，

並可保障操作人員的安全。另外，人員的技術、動物的數量亦為安樂死程序是否順利完成的重要因素。

選擇安樂死藥物與方法的準則：

- 使動物無疼痛、窘迫、焦慮、不安的失去知覺至死亡的能力
- 失去知覺至死亡花費的時間
- 可靠性
- 對操作人員的安全性
- 不可逆性
- 對操作和觀察人員的情緒影響
- 對其後的評估、檢驗、組織應用的適合性
- 對品種、年齡、健康狀況的適合性
- 價格與可利用性
- 效能與操作方便性
- 對環境的衝擊
- 人濫用藥物的潛在性

安樂死的藥物與方法有三類：吸入性藥劑、非吸入性(化學性)藥劑、物理性方法。安樂死時最好先抑制動物的中樞神經而使其失去知覺，解除疼痛感。因此，首選為使用過量的化學性麻醉藥劑。動物一旦被施予深度麻醉，之後使用的安樂死方法選擇性較多，也較人道。如因科學研究所需無法使用麻醉劑，則使用物理性安樂死方法。

一、吸入性藥劑

常見藥物如乙醚、halothane、methoxyflurane、isoflurane、enflurane、氯氣、一氧化碳、二氧化碳等麻醉藥劑。通常藉由氣麻機或可透視的密閉容器執行體重低於 7 公斤的小型哺乳動物與鳥類安樂死，由於仔獸對缺氧狀態耐受性高，吸入藥劑的時間需延長 3-5 倍，亦可配合其他方法共同進行。大部分的吸入性藥劑對人體有害，因此需在通風良好場所執行。乙醚具有易燃、易爆的性質，通常不建議使用。如因特殊需求而使用乙醚進行動物安樂死，則全程需在抽氣櫃內操作，動物屍體需置於防爆冰櫃內。氯仿對人具有肝毒性和致癌性，一氧化碳對人員有害，因此不建議使用。

使用二氧化碳進行安樂死時，動物置入未預先充填二氧化碳之安樂死箱後，以經校正之流量控制設備逐步導入二氧化碳，使箱內二氧化碳濃度逐漸增加，以降低動物於失去意識前可能產生之疼痛及不適。操作時持續觀察動物狀況，並依核准 SOP 完成安樂死及死亡確認。

二、非吸入性藥劑

多數為注射性藥物，此類藥劑有多種投與方法，但是靜脈注射是最佳選擇。如需給予心臟注射，需先學習相關技術，否則如因操作不當而使藥物洩漏至胸腔或肺臟時，會導致動物痛苦、並延長死亡時間，因此只有在動物已呈現垂死、休克、或深度麻醉中才給予心臟注射。腹腔注射需使用較高劑量的藥物，而且可能使動物死亡時間延長及死前掙扎。

巴比妥鹽及其衍生物是動物安樂死的首選藥物。它人道、安全、正確投藥時效果迅速，靜脈注射時可使動物安詳的沉睡至死。巴比妥鹽及其衍生物中 sodium pentobarbital 的效果最佳，目前廣泛使用於大部分動物的安樂死。使用此類藥劑的缺點為必需每隻動物個別保定後投予，且操作人員須具有動物靜脈注射技術，由於可能造成人類濫用，此類藥劑需經管制藥品管理局申請核准後取得及使用。對於難以駕御或過度神經質的動物，須先給予適當的鎮定後注射。經藥物鎮定後的動物由於循環及心跳變慢，對於 pentobarbital 藥物注射後的反應時間比直接投藥來的慢，需特別注意。深度麻醉中的動物可利用快速靜脈注射 KCl (2mmol/ kg) 來完成安樂死，但未麻醉動物禁止直接注

射 KCl。

三、物理性方法

包括頸椎脫臼、斷頭、放血、槍擊、電擊等。物理性安樂死法在下列三種情形下評估使用：其解剖性狀適合使用此法的小型脊椎動物；大型農場動物；其他安樂死方法會影響實驗結果時。有些人抗拒並排斥物理性方法，但是只要有良好的技巧與適當的工具配合下，它能迅速使動物解除疼痛並死亡。如未受過訓練的人冒然實施物理性方法，不僅易造成人員受傷，更可能使動物未完全死亡而導致極大的痛苦。有些物理性方法，如電擊等，則需配合使用第二種方法(如放血)或重複電擊來完成安樂死。所有操作人員需接受完整的技術訓練，並以屍體多次練習後才正式執行。頸椎脫臼法常使用於體重低於 200 公克的齧齒類動物。透過正確的訓練技巧，人員可迅速將動物的頸椎與脊椎脫離，使動物死亡。除非有特殊實驗需求，執行頸椎脫臼前動物應先給予鎮定或吸入二氧化碳，以減低動物的窘迫。對於小型齧齒類動物，利用桿子或拇指食指壓住頭頸部，用另一隻手抓住尾巴，迅速用力向後拉扯後驅，使頸椎脫離頭顱；對於禽類，雙手抓取脖子扭斷。

因實驗需求無法使用化學性藥劑或二氧化碳實施安樂死時，可利用斷頭台（guillotine）砍斷小型齧齒類動物的頭頸部。實施此法易造成人員的不適，亦較具危險性，因此需接受完整的技術訓練。人員需溫柔穩固的保定動物，快速地利用斷頭台將頭頸連接處砍斷。注意需隨時保持斷頭台刀片的銳利度，並在每次使用後徹底清洗殘留的血跡和氣味。

如因實驗所需採集動物的全身血液或放血，動物需先麻醉或失去知覺後執行。

適用之安樂死方法

（一）小於 200 動物適用方法如下：

二氧化碳；先麻醉，之後採血(放血)致死；先麻醉，之後靜脈注射 KCl (1-2 meq/kg)；先麻醉，之後斷頭及先麻醉，之後頸椎脫臼。

說明：出生仔鼠對二氧化碳（缺氧）耐受性高，請另參考「國立中央大學 IACUC 齧齒類胎兒和新生仔鼠安樂死規範」。

二氧化碳安樂死執行規範暨鋼瓶使用方法：

安樂死的方式必須於動物實驗申請表中述明並核准通過。其重要的事項如下：

1. 使用透明箱進行安樂死，安樂死箱在每次使用前應排空並清潔。如需安樂死的動物數量太多時，則需將動物分批執行安樂死，不可使動物堆疊於飼育盒內，而造成下層動物無安樂死之現象。
2. 二氧化碳的來源需為安裝有氣體壓力閥的鋼瓶，並應配備有減壓閥及流量控制器，或者有相關機械式或電子式控制流量裝置，乾冰不可做為二氧化碳的來源。
3. 不能預先充氣在二氧化碳容器內，突然將有意識的動物曝露在 70%或以上濃度的二氧化碳，會造成動物極大痛苦。動物放入容器內後，轉開二氧化碳鋼瓶上方把手(逆時針方向)，灌注至透明盒內，開始注入二氧化碳至濃度 100%。二氧化碳最佳流速應為每分鐘置換 30% 至 70% 之體積(cage volume / min)。
4. 失去意識的時間通常在 2-3 分鐘之間。觀察每隻動物是否缺乏呼吸和眼睛顏色失去光澤或瞳孔散大。當動物呈現死亡狀態後在持續灌注氣體至少需維持 1 分鐘。
5. 確定動物不動、不呼吸、瞳孔放大後，即可關閉二氧化碳，再將動物屍體移出。
6. 初生的動物必須延長氣體暴露時間，並且避免以二氧化碳混和純氧氣使用。
7. 將動物從安樂死容器取出前務必確認動物的死亡，如不確定動物死亡，則應立刻使用其他輔助方式(如開胸)完成安樂死。