

弘光科技大學 實驗動物中心

實驗動物安樂死標準作業流程

SOP 編號	A-008	管理單位	實驗動物中心	管理人	曾雅莉
分機	#5079(N607)、#5811(N608) #7186(實驗動物中心)	管理單位主管	陳俊暉		

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：

於動物房使用進行實驗動物安樂死之作業流程。

三、作業流程：

(一) 二氧化碳(CO₂)

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 10%-30%/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，依 SOP-A-005「動物屍體處理標準作業流程處理」。

註：CO₂ 建議流速：2.4 L/min-7.2 L/min(最大流速不超過 7.2 L/min)

(二) 吸入性藥劑

1. 基本原則及注意事項:

- (1) 失去意識時間：考量氣體替換率，容器大小及氣體濃度。
- (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。

2. 吸入性藥劑請參閱附錄一「弘光科技大學實驗動物照護與使用委員會實驗動物適用之安樂死方法」。常用藥劑如 halothane、isoflurane、enflurane、sevoflurane 等操作時須符合下列條件：

- (1) 吸入性麻醉藥可單獨當作安樂死藥物，或是作為兩階段安樂死中第一階段使動物失去意識。
- (2) 吸入性藥劑藉由汽化器或密閉容器，將藥物投入動物體內，因此使用者須具備相關設備，並設計合適的可透視性密閉容器，以易於觀察動物。
- (3) 以低濃度至高濃度逐步誘導麻醉，使動物失去意識。

(三) 巴比妥鹽(Barbiturates)及其衍生物

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。各物種使用 pentobarbital 進行靜脈注射及腹腔注射之安樂死，請參閱附錄一「弘光科技大學實驗動物照護與使用委員會實驗動物適用之安樂死方法」。

(四) 物理性方法(*使用此方法前均需深度麻醉)

1. 頸椎脫臼法
 - (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委員會(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。

附錄一、 弘光科技大學實驗動物照護與使用委員會
實驗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(CO ₂)	○	○
Barbiturate 注射液,靜脈注射 (> 100 mg/kg) IV	○	○
Barbiturate 注射液,腹腔注射(> 100 mg/kg) IP	○	○
麻醉後採血(放血)致死	○	○
麻醉後靜脈注射 KCl(2meq/kg) 或神經肌肉阻斷劑	○	○
先麻醉，之後頸椎脫臼	○	○
動物深度麻醉中灌流	○	○
<p>○建議使用之方法</p> <p>說明：</p> <p>1. 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。</p> <p>2. Barbiturate 巴比妥鹽最常使用藥劑為 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</p>		