

【IACUC 參考資料】安樂死方法

摘錄自 111 年 01 月 18 日依 AVMA 2020 修訂之指引附件二

一、適用之安樂死方法：

(一) 陸生動物－啮齒類、兔、狗、貓、猿猴安樂死

安樂死方法	小於 200 g 啮齒動物	200 g~1 kg 啮齒動物/兔	1 kg~5 kg 啮齒動物/兔	狗	貓	猿猴
一、化學性方法						
二氧化碳（氣體置換率每分鐘 30%-70%，動物停止呼吸後須再持續灌注氣體至少一分鐘）	○	○	×	×	×	×
鎮定後二氧化碳	○	○	○	×	×	×
Barbiturate 注射液，靜脈注射（麻醉劑量的 3 倍劑量）	○	○	○	○	○	○
Barbiturate 注射液，腹腔注射（麻醉劑量的 3 倍劑量）	○	○	○	×	○	×
深度麻醉後採血(放血)致死	○	○	○	○	○	○
深度麻醉後靜脈注射 KCl (1-2 meq/kg)或神經肌肉阻斷劑	○	○	○	○	○	○
二、物理性方法						
深度麻醉後斷頭	○	○	×	×	×	×
深度麻醉後頸椎脫臼	○	○	×	×	×	×
動物清醒中直接斷頭	★	★	×	×	×	×
動物清醒中直接頸椎脫臼	★	×	×	×	×	×

說明：1. ○：建議使用的方法；×：不得使用的方法。★：一般情況不推薦使用，除非實驗需要（需說明於動物實驗申請表，由 IACUC 審核通過並現場確認操作人員之技能）。

2. Barbiturate 巴比妥鹽類最常使用藥劑為 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。

(二) 水生動物－魚類安樂死

1. 準備進行安樂死時前注意事項：

- 魚隻在進行安樂死之前應有 12~24 小時的禁食以減少魚便及含胺廢物的產生。
- 儘量在安靜、燈光溫和的環境中進行。
- 水質、水溫、水中溶氧量及魚隻數量要適中。
- 確定魚死亡後，魚屍體應收集並依生物廢棄物處理原則進行處置。
- 要進行大規量魚隻安樂死之前應先有執行少量安樂死的經驗。
- 依據以下幾點確定魚隻死亡：
 - ✓ 停止游動/活動。
 - ✓ 對任何刺激均無反應。
 - ✓ 無腮動及心跳。
 - ✓ 至少 10 分鐘無呼吸現象並且無眼珠轉動。

2. 常用的魚類安樂死方法：

安樂死方法	操作方法注意事項
一、非吸入性藥劑浸泡法	
Benzocaine 或 benzocaine hydrochloride	buffered solution >250mg/L 浸泡至少 10 分鐘。
飽和的 CO ₂ 溶液	需要於通風處進行。
Ethanol	10 to 30 mL of 95% ethanol/L (不可使用 70%之 ethanol)。
Eugenol, isoeugenol clover oil	濃度 ≥ 17mg/L，浸泡至少 10 分鐘，isoeugenol 為可能的致癌物使用時要小心。
Isoflurane, sevoflurane	微溶於水，濃度 >5mg/L~20mg/L，需要於通風處進行。
Quinaldine sulfate	buffered solution，濃度 ≥ 100mg/L。
Tricaine methane sulfonate (MS-222, TMS)	buffered solution，濃度 250~500mg/L 浸泡至少 10 分鐘，待魚鰓靜止不動後，再繼續浸泡 10-30 分鐘。(用於耐低氧的魚類，如金魚時可於浸泡後再加斷頭以確定死亡)
2-phenoxyethanol	濃度 ≥ 0.3~0.4mg/L。
二、非吸入性藥劑注射法	
Barbiturate 注射液	靜脈注射 60~100 mg/kg (麻醉劑量的 3 倍劑量)。
三、物理性方法	

斷頭	
脊髓穿刺	
captive bolt (捕捉栓)	用於大型魚。
冰浴冷凍法 Rapid cooling (僅適用於小型魚 $\leq 3.8\text{cm}$)	由魚缸取出盡快將魚放置於攝氏 $2^{\circ}\sim 4^{\circ}\text{C}$ 冰水中(ice chilled water) 斑馬魚成魚浸泡至少 10 分鐘，4~7 天大斑馬魚仔魚需至少 20 分鐘。 應確實控制水溫，魚體絕不可碰觸冰塊，適用於斑馬魚及其他小型熱帶魚，不適用於中大型魚。

3. 絕對禁止使用的方法：

直接沖下水道、直接放入冰箱慢慢冷凍致死

4. 斑馬魚、鯖江魚魚胚的安樂死：

通則：目前美國 NIH 及歐盟將斑馬魚、鯖江魚自孵化後(並開始接受餵食)才視為活體動物，故斑馬魚 5dpf (days post fertilization)、鯖江魚 3dpf 之前的胚胎並不納入規範，而之後的仔魚已有疼痛知覺就需要使用以上敘述之人道安樂死方法。

$\leq 5\text{dpf}$ 之斑馬魚胚及 $\leq 3\text{dpf}$ 之鯖江魚胚，常用安樂死方法如下：

安樂死方法	操作方法注意事項
一、非吸入性藥劑浸泡法	
漂白水(sodium hypochlorite)	浸泡 6.15% 稀釋 6 倍後之漂白水
Paraformaldehyde	$\leq 4\%$
二、物理性方法	
斷頭	
急凍法	快速置於 -70°C 冷凍

(三) 其他－陸生動物(禽類、野生動物)、水生動物(兩棲類)、爬蟲類安樂死

安樂死方法	操作方法注意事項	禽類	野生動物	兩棲類	爬蟲類
一、化學性					
麻醉性藥品	部分兩棲類會憋氣，須注意	○	○	○	○
二氧化碳	需要於通風處進行。	適合陸禽	○	○	○
Benzocaine 或 benzocaine hydrochloride	buffered solution >250mg/L 浸泡至少 10 分鐘。			○	
Tricaine methane sulfonate (MS-222, TMS)	buffered solution, 濃度 250~500mg/L 浸泡至少 10 分鐘。			○	
氮氣泡沫		○			
Barbiturate 靜脈注射	60~100 mg/kg (麻醉劑量的 3 倍劑量)。	○	○	○	○
Barbiturate 腹腔注射	60~100 mg/kg (麻醉劑量的 3 倍劑量)。	○	○	○	○
深度麻醉後靜脈注射 KCl (1-2 meq/kg) 或神經肌肉阻斷劑			○		
二、物理性方法					
斷頭				○	○
脊髓穿刺				○	
深度麻醉後頸椎脫臼		○			
動物清醒中直接頸椎脫臼	由 IACUC 審核通過並現場確認操作人員之技能	○			
腦部近距離射擊或使用撞擊槍破壞腦部	1.依動物種類選擇適當擊昏槍及撞擊部位進行擊昏作業。 2.擊昏動物後，應於 15 秒內切斷主要動脈，放血致死。 3.採用穿刺型擊昏槍撞擊致昏後，若不放血，可搭配腦組織穿刺破壞操作 (pithing) 致死。	○	○		○
電昏後放血	1.以電擊器置於動物頭部左右 2 側，施以至少 220V 之電壓電擊至少 3 秒，以利有	○			

	效致昏。 2.於致昏後 15 秒內切斷主要動脈放血致死。				
一次電擊致死	以電擊器分置動物頭部及胸2部位，施以至少 220V 之電壓電擊至少 3-15 秒致死。	○			

註:

1. 家禽(雞、鴨、鵝)胚蛋的使用：在孵化開始後，家禽胚蛋發育之脊椎出現時間約為 19-27 小時(雞 19-22 小時；鴨 26-29 小時；鵝 24-27 小時)，因此基本上判定為雞胚蛋即應計算動物使用量。
2. 家禽胚蛋的安樂死方式: 出生 14 日以前之家禽胚蛋可以低溫方式安樂死，如放置於-20℃冷凍櫃。出生 15 日以後之家禽胚蛋由於已可感受痛覺，所以應以更人道之方式安樂死，如 CO₂、過量麻醉藥或斷頭。由於雞胚對 CO₂ 有抗性，所以使用此法時，應將家禽胚蛋置於 90% CO₂ 中至少 20 分鐘以上，確認家禽胚蛋死亡。注意：不可使用乾冰做為 CO₂ 來源進行安樂死。

二、不可做為安樂死之主要方式的物質與方法：

方法	說明
空氣注射 Air embolism	此法導致動物痙攣、角弓反張和哀叫
燒死 Burning	化學式或加熱燒死大多數動物皆不被接受
水合氯醛 Chloral hydrate	所有動物不得使用。此法將造成動物緩慢缺氧死亡，死亡過程痛苦，且可能出現如喘氣、呻吟、痙攣等現象。
氯仿 Chloroform	具有肝毒性且可能有致癌性，有害於人
氰化物 Cyanide	極有害於人
減壓法 Decompression	(1)導致動物痛苦、垂死時間拉長 (2)年幼動物耐缺氧狀態，因此需較長時間才能達呼吸停止 (3)偶發動物甦醒的意外狀況 (4)會導致動物出血、嘔吐、痙攣、排尿或排便等現象
乙醚 Diethyl ether	乙醚具有刺激性、易燃性與爆炸性物質。若用於動物安樂死時、動物屍體裝袋冷藏冷凍沒有儲存於防爆冰箱中或是屍體焚化時均有燃燒爆炸的危險。
溺斃 Drowning	溺斃不是安樂死的方法，亦不人道
放血(採血)致死 Exsanguination	大量失血導致動物焦慮及暴躁，放血(採血)致死僅適用於動物已鎮靜、暈倒或麻醉
福馬林 Formaldehyde	直接將動物浸泡於福馬林，是非常不人道的方法
家庭用產品或溶劑 Household products and solvents	丙酮類(如去光水)，四級元素(如CCl ₄)、瀉劑、丁香油、四級胺類產品、胃藥、等，皆不得使用
低溫致死 Hypothermia	此法不適用於動物安樂死
硫酸鎂, 氯化鉀和神經肌肉阻斷劑 Magnesium sulfate, potassium chloride, and neuromuscular blocking agents	不被接受用於清醒脊椎動物，非安樂死物質
神經肌肉阻斷劑(如尼古丁、硫酸鎂、氯化鉀、以及其他類南美箭毒製劑) Neuromuscular blocking agents (nicotine, magnesium sulfate, potassium chloride, and all curariform agents)	如尼古丁、硫酸鎂、KCl、以及其他curariform類南美箭毒製劑。此類藥物單獨使用時，皆造成動物呼吸抑制(暫停)後才失去意識，因此動物在無法動彈後亦遭受一段時間的痛苦和壓迫。
快速冷凍 Rapid freezing	除了爬蟲類與兩棲類及五日齡以下的齧齒類；其他動物都應確認死亡或昏迷才能冷凍。(魚類快速降溫不視為快速冷凍)
窒息(悶死) Smothering	將小雞或幼禽裝在袋或容器中窒息不被接受
馬錢子素(番木鱈鹼) Strychnine	此藥劑造成動物的劇烈痙攣和痛苦的肌肉抽續
Tricaine methane sulfonate (TMS, MS 222)	食用動物勿用此藥劑

手動對頭部鈍擊造成創傷 manually applied blunt force trauma to the head	一般不接受此種動物安樂死法，除了仔豬與小型實驗動物，儘可能使用其他方式取代。
非穿透型撞擊致昏器 Nonpenetrating captive bolt	不能接受的方式，除非是為了特殊目的地設計的氣動型非穿透式撞擊致昏器，特別用於離乳小豬、新生反芻獸或火雞。
胸椎壓迫 Thoracic compression	不接受使用於清醒動物

四、參考文獻：

1. Pritchard D.G. 廖震元、陳書儀。2015。 家禽疾病控制人道致昏與撲殺技術之新發展。2015年家禽流行性感冒預防與控制國際研討會。財團法人農業科技研究院、行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。
2. American Association of Swine Veterinarians (2008) On-Farm Euthanasia of Swine Recommendations for the Producer. National Pork Board. USA. 18 pages.
3. AVMA. (2013). AVMA Guidelines on Euthanasia. Schaumburg, IL: AVMA.
4. Grandin T (1997) Cardiac Arrest Stunning Of Livestock And Poultry. <http://www.grandin.com/humane/cardiac.arrest.html>.
5. Grandin T (2015) Electric Stunning of Pigs and Sheep. <http://www.grandin.com/humane/elec.stun.html>.
6. Humane Slaughter Association. Practical Slaughter of Poultry-Neck Dislocation. <http://www.hsa.org.uk/neck-dislocation/neck-dislocation>
7. Meat & Livestock Australia (2016) Veterinary Handbook for Cattle, Sheep & Goats - 8.4.2.1 Pithing Following The Use Of A Captive Bolt. <http://www.veterinaryhandbook.com.au/ContentSection.aspx?id=111>
8. OIE(2016)Terrestrial Animal Health Code-CHAPTER 7. 5. http://web.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_1.7.5.htm.

三、Pentobarbital 之安樂死劑量(mg/kg)：

Species 種別	靜脈注射(mg/kg)	腹腔注射(mg/kg)
小鼠(Mouse)	100	150
大鼠(Rat)	100	150
倉鼠(Hamster)	100	150
沙鼠(Gerbil)	100	150
天竺鼠(Guinea Pig)	100	150
貂類(Ferret)	120	120
兔(Rabbit)	100	
貓(Cat)	100	
狗(Dog)	100	
靈長類(Primate)	100	
豬(Swine)	100	
綿羊(Sheep)	100	
山羊(Goat)	100	
牛(Cow)	100	
馬(Horse)	100	
家禽(Avian)	150	150
魚類(Fish)	100	100

註：一般動物以麻醉劑量的 3-5 倍劑量為安樂死劑量，並依各別動物狀況做後續增加。