

補遺9 実験動物の安楽死処置法

安楽死とは、迅速かつ苦痛を伴わない安楽な死を意味する。一方で、安楽死後の試料採取や検索に障害とならないよう実験目的に沿うような方法を選択しなければならない。又、重要なのは死の確認である。呼吸停止及び心停止を確実に確かめなければならない。安楽死の方法としては、大きく二つの方法がある。なお、げっ歯類胎児・新生児については、次の補遺10を参照されたい。

(1) 物理的方法

頸椎脱臼と断頭の方法があるが、これらの方法は熟練した実験者が行えばマウスやラット等の小型実験動物の安楽死法として有効である。万一失敗した時は、実験動物にとって苦痛となりかねないので、細心の注意が必要である。さらに可能な限り前もって鎮痛薬や麻酔薬を投与する。

*頸椎脱臼：マウスを平らな台上に置き、一方の手の親指と人差し指で頭の後ろ（頸背部）を下方に押しつけ、他方の手で尾のつけ根の近くを持って身体を伸ばし固定する。次いで、頭を固定している手を前方へ押し、尾を持っている手を後ろ上方に一気に強く引く。正しく頸椎が脱臼されれば、瞬間でマウスの身体の力が抜けてしまう。一時的に体動が残るが間もなく止まる。瞬時に意識消失、死亡するため動物の苦痛は少ない。実験に支障がなければ事前に軽麻酔を行っておくのもよい。ラットの場合も同様の方法で行うことができるが、かなりの熟練と力がある。

*断頭：マウスの場合にはよく切れる鋭利なハサミを用いる。ラットの場合には専用の断頭器が市販されているので利用する。この場合も実験に差し支えなければ事前に軽麻酔を施すことが望ましい。

(2) 化学的方法

*ペントバルビタールの過量投与

この麻酔薬は意識消失が早く、不安、興奮はなくその効果は用量、濃度及び投与速度に依存し、スムーズに安楽な状況にでき、安らかに死に至らしめることができる。又、マウスからイヌ・ブタまで各種の実験動物の安楽死に用いることができる。

麻酔適用量の3～4倍量又は100～150mg/kgを静脈内又は腹腔内投与を行う。（補遺8参照）

*炭酸ガス

炭酸ガスには麻酔作用があり、まず意識消失が起こり、ついで無意識下で酸素欠乏により死亡する。この時、チャンバー中の炭酸ガス濃度をどのような状態にすべきかについては、動物福祉の観点から多くの議論があり、完全な結論は得られていない。つまり、最初から高濃度（50～100%）にしておくと、動物を曝した時に、動物は意識が消失する前の少なくとも10から5秒間、苦痛を感じている可能性がある。一方、濃度を徐々に上げていくと意識喪失前に空気の濃度が減っていくにつれて呼吸困難をまねく。このため、炭酸ガスと同時に酸素を加えるなどの対策が考えられるが、この事により意識喪失までの時間が長引くなどの問題が起こり、十分な解決策は得られていない。

ここでは、暫定方法として安楽死専用容器内に動物を入れ、「炭酸ガス濃度を1分間で20% ずつ徐々に上げ、5分間で100%にもっていく」方法、または酸素を加える方法であり「炭酸ガス：酸素（6：4）の混合ガス（加湿をすると良い）を容器内にいれ、動物が意識を喪失したところで炭酸ガスを100%に上げる」を提案する。動物は炭酸ガス安楽死専用容器にケージごとまたは直接入れてから、炭酸ガスまたは酸素との混合ガスを送る。100%に達したのちは、少なくとも10分はこの濃度のガスを流し続ける。

この場合、死亡の第一の原因は酸素欠乏であるために、死後変化として血液ガスの変化とともにほかの組織に対する低酸素血症による影響を考慮する必要がある。一方、炭酸ガス濃度の高い空気を吸えばヒトでも酸素欠乏を起こすため、室内の換気と装置の取扱いには注意が必要である。

*ハロタンやイソフルラン等の吸入麻酔薬も過量投与により安楽死を行なう事ができる。

*硫酸マグネシウム (MgSO₄) 又は塩化カリウム (KCl)

高用量投与により完全な神経遮断と低酸素血漿により死亡する。これらの薬物は鎮痛・麻酔作用がないため、動物をあらかじめ全身麻酔を行う必要がある。

(平成8年3月初版、平成23年4月第二版)

文献：安楽死処分法の国際的なガイドとして次の文献が有用である。

AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition

(米国獣医学会動物の安楽死処置に関する指針：2013年版)

これには実験動物はもとより、ウシ等の家畜、愛玩動物、野生動物、両生類や水生動物等、多くの動物種に関する安楽死処置法が記載されている。

実験動物の安楽死処置法英語版

Euthanasia Procedures

When disposing of laboratory animals on completion of the experiment in accordance with the animal experiment protocol or due to the laboratory animals being subjected to severe pain and suffering during the course of the experiment when anesthetics and analgesics can not be used in the research, the researcher(s) should conduct euthanasia.

Selection of the agent and method used for the euthanasia procedure depends on the animal species and the objective of the experiment. In general, a chemical method (overdose of a barbiturate anesthetic, administration of a non-explosive inhalation of anesthetic or carbon dioxide gas) or a physical method (cervical dislocation, decapitation, exsanguination under anesthesia, etc.) is used. However, from the standpoint of animal welfare, the principal investigator should seek the advice and guidance of a laboratory animal specialist as required since there are slight international differences on what are judged to be appropriate methods of euthanasia for laboratory animals.

* Euthanasia procedures refer to procedures resulting in the rapid loss of consciousness and then death of a laboratory animal not associated with pain or suffering. In addition to Guidelines on Methods of Sacrificing Animals (Notice No.40 of the Prime Minister's Office, July 4, 1995), international guidelines should be taken into consideration.

* Euthanasia should be performed by methods that do not cause distress to other animals in the laboratory. This requires careful attention because until animals lose consciousness they can vocalize and release pheromones.

* A person who has acquired the skills required for handling a particular animal species should conduct euthanasia procedures, and the death of the animal should always be verified.

* Confirmation of death is very important. A mistake of dose is occasionally occurred.

A physical method:

*Cervical dislocation is carried out by stretching the animal and rotating the neck. The spinal cord is disrupted and nerve impulses to the vital organs such as the respiratory system and the heart are no longer transmitted. This method is applicable in mice, rats, hamsters, gerbils, kittens and small birds, but not in larger animals. If it is done quickly and expertly it is a painless method.

*Decapitation can be performed by using scissors or a guillotine.

*Exsanguination from a cut through the carotid arteries under anesthesia is applicable to large animal such as dogs and pigs.

A chemical method:

*Overdose administration of Barbituric acid derivatives is applicable to many species of animals such as mice, rats, rabbits, dogs, pigs, monkey so on when administered IV, intraperitoneal or intracoelomic. Sodium pentobarbital (100-150mg/kg) best fits a rapid onset of action, and loss of consciousness in minimal or transient pain associated with venipuncture.

* Overdose administration of a non-explosive inhalation of anesthetic gas can be carried out with isoflurane or sevoflurane. Carbon dioxide is also commonly used for euthanasia. Two methods, a 100 % CO₂ method and a combination method of CO₂/O₂, can be carried out.

The former is the use of a 100 % CO₂ at a flow rate of 20 % of the chamber volume per minute. The chamber becomes 100 % CO₂ for five minutes. The latter is the use of a combination of CO₂/O₂ (6:4) and a humidifier. After the animal has lost consciousness, the concentration of CO₂ is raised to 100%. In both case, animals must remain in 100% CO₂ for at least 10 minutes to ensure that they are dead.

Carbon dioxide has low anesthetic effect and animals finally die with suffocation in 100% CO₂. Direct exposure with 100% CO₂ suffocates animals with cruelty. Therefore, animals should be anesthetized with low dose of CO₂ at first stage and gradually raised to high dose, and finally reached 100% CO₂ for suffocation.

Reference: AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition