

實驗動物照護及使用指引

附件二實驗動物疼痛評估、人道終點及安樂死方法指導原則

111.1.18 修訂

一、疼痛評估指導原則

在執行及設計動物實驗時，動物疼痛(pain)程度的評估對實驗者和動物福利保護者而言，一直是個最難以解決的問題。一般較為簡單而有意義的方法是評估實驗操作中動物疾病的發生率(incidence rate)及死亡率(mortality rate)，但是這樣的方法卻無法提供對於動物在進行實驗中所需承受疼痛的狀況。因此在 1985 年，由 Moron & Griffiths 建立了一套可作為依據的評估方法，此種方法用了 5 種資料來評估動物於實驗中所可能遭受的疼痛狀況，這 5 種資料包含有：體重、外觀、臨床症狀、先天性的行為及對刺激的反應等。

然而只有瞭解疼痛的機制，才能定義無疼痛死亡的準則。疼痛的感知通常被定義為一種有意識的體驗。國際疼痛研究協會(International Association for the Study of Pain, IASP)將疼痛描述為“與實際或潛在的組織損傷有相關聯性的不愉悅的感覺與情感體驗。即便我們意識到疼痛通常是由物理原因引起的，然而侵害性刺激 (noxious stimulus) 傷害對於痛覺受體(nociceptor)和痛覺感受途徑(nociceptive pathways)中所誘導的活動雖其本質上不是疼痛但仍會引起心理感受。”

哺乳動物模型的疼痛感知需要來自周圍痛覺受體的神經衝動才能傳達到有意識大腦皮層和相關的皮層下腦結構。侵害性刺激傷害會在初級痛覺受體和其他感覺神經末梢產生活性。除機械和熱刺激外，多種內源性物質還可產生痛覺衝動，包括前列腺素 (prostaglandins)、氫離子、鉀離子、P 物質 (substance P)、嘌呤(purines)、組織胺 (histamine)、緩激肽(bradykinin)和白三烯(leukotrienes)、以及電流。

然而疼痛是主觀的感受，因為每個個體對疼痛強度的感知以及對疼痛的身體和行為反應都可能有所不同。疼痛可大致分為感覺區辨性(sensory-discriminative，確定疼痛的起源和刺激因素)或動機情感性(motivational-affective，可識別疼痛刺激的嚴重程度並確定對疼痛的反應)。感覺區辨性的疼痛發生在皮質和皮質下結構，其機制類似於處理其他感覺輸入的機制，並提供刺激強度，持續時間，位置和量的相關信息。動機情感處理則涉及行為和皮質活化(behavioral and cortical arousal)，及針對前腦和邊緣系統的丘腦輸入(thalamic input)，以感知不適，恐懼，焦慮和抑鬱為主。動機情感神經網絡還會對邊緣系統，下丘腦和自主神經系統提供了強大的輸入，以激活心血管，呼吸和腦下垂體-腎上腺系統的反射。

許多研究均顯示魚類就如同哺乳類一樣可以感覺疼痛，其疼痛的感覺由周邊到腦部主要是由身體脊髓丘腦(spinothalamic tract)傳達到腦部三叉神經(trigeminal tract)，而分子層面的研究顯示，當魚類接受各種的痛覺刺激後，不管是前、中、後腦的基因表現均有所改變，尤其以前腦的改變最多，這與哺乳類對疼痛感受的機制是很相似的。科學家甚至在魚類的腦中發現鴉片的受體(opiate and opioid receptors)。這一切均證明魚類有疼痛感受，而且這痛覺可以影

響到牠們的腦部，而並不只是一種簡單反射(simple reflex)。魚類的疼痛可以由觀察牠們的行動改變及生理的反應來察覺，不同種的魚類對相同的疼痛刺激之反應也可能不同，以下的敘述及表格的制定主要根據斑馬魚、鱒魚、鯉魚及鮭魚等的研究。儘管有關魚類感覺疼痛或遭受傷害反應的能力仍有許多爭論，但牠們確實對有害刺激做出了反應。因此，仍須針對不同魚種進行疼痛評估，以使其痛苦降至最低。

以下列出陸生動物及魚類常見疼痛的臨床症狀及其分類標準：

(一)、動物疼痛症狀通則：

1. 陸生動物疼痛常見症狀：

- 不清理皮毛(皮毛粗糙無光澤)。
- 食物及水分攝取量下降、尿液及糞便量減少。
- 對人類觸碰的物理性反應異常(退縮、異常攻擊性、尖叫)。
- 姿勢的改變(拱背、縮腹、肢體彎曲等)。
- 行動改變(跛行、起身困難、活動力減少、步態僵硬等)。
- 體重下降(原體重之 20-25%)、生長停滯(增重遲緩)、或體質改變(惡病質 cachexia)。
- 脫水。
- 體溫異常(上升或下降)。
- 脈搏和呼吸異常(上升或下降)。
- 磨牙(常見於兔子及大型經濟動物)、流汗(馬)。
- 自我攻擊、自我傷害疼痛部位。
- 疼痛部位之炎症反應。
- 畏/懼光。
- 嘔吐或下痢。
- 器官衰竭之具體證據(血液生化、超音波、生檢、肉眼病變等)。

2. 魚類疼痛時常見之症狀：

- 游動/活動減慢(鱒魚、斑馬魚、鯉魚、鮭魚等大多數的魚類)。
- 拒食(鱒魚、鮭魚)。
- 鰓的通氣量上升許多、鰓蓋加速活動(鱒魚、斑馬魚)。
- 血液中皮質酮(cortisol)量增加(鱒魚、斑馬魚)。
- 尾部異常擺動(tail beating)(斑馬魚)。
- 在魚缸底部來回滾動(鯉魚、彩虹鱒魚)。
- 摩擦疼痛部位(彩虹鱒魚、金魚)。
- 游動時出現各種保護性的動作如防禦、照護、摩擦或用嘴輕觸傷部等(鱒魚、斑馬魚、鯉魚、鮭魚、金魚等大多數的魚類)。

(二)、各種實驗可能造成的動物疼痛、緊迫及臨床症狀分類：

1. 陸生動物：

疼痛及緊迫分類	動物操作	臨床症狀
B.不引起不適或緊迫	1. 例行性飼養，無實驗進行 2. 單純觀察動物在野外的行為，無干擾該動物或影響其環境 3. 物理性保定和預防性的醫療(如疫苗接種)	無不良反應
C.極小的不適或緊迫，不需用藥緩解	1. 抓取，稱重或運輸動物 (無壓力狀態下短距離的運輸) 2. 注射(靜脈. 皮下. 肌肉. 腹腔)及口服無刺激性物質 3. 採血 (不包含眼窩採血等動物需鎮靜之方法) 4. 淺表血管導管穿入手術 5. 死後體液或組織收集 6. 動物紋身 7. 齒齒類動物的耳朵打孔 8. 例行性體檢 9. 實驗動物行為的觀察 10. 不會導致疼痛和/或臨床症狀的研究 11. 短時間禁食或禁水 12. 常規農牧業程序 13. 觀察研究與陷阱 (陷阱必須提供足夠的庇護所/食物，並經常檢查以確保生存) 14. 完整的全身麻醉 15. AVMA 認可的人道安樂死程序	無不良反應
D1.短時間的輕微緊迫或疼痛，需給予適當的藥物緩解	1. 存在潛在的壓力運輸，該動物需給予鎮靜劑 2. 麻醉中插管 3. 全身麻醉下進行次要存活性手術 4. 全身麻醉下進行非存活性手術 5. 暴露於不致命性的藥物或化學物下，未對動物造成顯著的物理性變化	動物應無自殘、食慾不振、脫水及過動現象，但休息或睡眠時間增加，喊叫次數增加，攻擊性/防禦性行為增加，或社會化行為退縮及自我孤立

	<p>6.麻醉下眼窩採血</p> <p>7.對 21 日齡以上的小鼠進行尾巴採檢</p> <p>8.在血管暴露狀況下植入導管</p> <p>9.在麻醉下放血和/或進行灌流</p> <p>10.使用弗氏完全佐劑。</p> <p>11.非手術前必要之限食及限水</p>	
D2. 中等至嚴重程度的緊迫或疼痛，需給予適當的藥物緩解	<p>1.在全身麻醉下進行主要存活性手術</p> <p>2.長時間的物理性保定</p> <p>3.基因工程導致疼痛，該疼痛可以被緩解</p> <p>4.誘導行為上的緊迫，如：剝奪母親照顧、侵略性行為、掠奪者/誘餌之相互作用</p> <p>5.任何流程導致明顯的疼痛，不適或不舒服，但可以施以止痛物予以緩解，如減少食慾/活動、觸摸引起不良反應、開放性皮膚病變、膿腫、跛行，結膜炎、角膜浮腫或畏光</p> <p>6.誘導解剖學或物理學異常造成的疼痛或緊迫 輻射性病痛</p> <p>7.藥物或化學物損害動物體的生理系統</p> <p>8.無法即刻逃脫之刺激性的電擊</p> <p>9.有意識的癱瘓或無法行動的動物</p> <p>10.眼睛和皮膚刺激性測試所引起的疼痛，該疼痛可以被緩解</p>	<p>1.行為異常</p> <p>2.不整理皮毛</p> <p>3.脫水</p> <p>4.不正常的喊叫</p> <p>5.長時間的食慾不振</p> <p>6.循環系統之瓦解</p> <p>7.極度倦怠或不願移動</p> <p>8.中等至嚴重程度的局部或全身性感染</p>
E. 對神智清醒、未麻醉的動物，造成劇烈疼痛且接近或超過疼痛極限，無法以藥物或其他方式緩解（這些實驗需經 IACUC 及獸醫師謹慎監督）	<p>1.毒性試驗、微生物試驗或腫瘤試驗於不做治療下導致動物重病或瀕死</p> <p>2.使用藥物或化學物嚴重損害動物生理系統而造成動物死亡、劇烈疼痛或極度緊迫</p> <p>3.未麻醉情形下使用麻痺或肌肉鬆弛劑</p> <p>4.燒燙傷或大規模皮膚創傷</p> <p>5.放射線所造成疾病</p> <p>6.實驗性誘發疾病，包括代謝干擾和營養性疾病或接觸會引起疾病有毒物質</p> <p>7.任何會造成接近疼痛閥值且無法以止痛劑解除該疼痛的操作步驟（如：關節炎模式、眼睛/皮膚刺激性試驗、強烈炎症反應模式、視覺剝奪、電擊/加熱試驗...等）</p>	<p>1.自我孤立</p> <p>2.社會化行為嚴重退縮</p> <p>3.休息或睡眠增加</p> <p>4.嚴重的食慾不振</p> <p>5.動物外表的顯著改變</p> <p>6.極度倦怠</p> <p>7.垂死</p>

	<p>8.突變或患有慢性疼痛的疾病，且無法用止痛藥或適當處置緩解</p> <p>9.超出常規術前必要之限食及限水且對動物產生壓力</p> <p>10.施加有害刺激（例如電擊）且動物完全無法避免或逃脫</p> <p>11.僅使用麻痺藥物做長時間固定(沒有使用麻醉藥)</p> <p>12.暴露於異常或極端環境中情況</p> <p>13.非實驗程序引起的痛苦精神病樣行為</p> <p>14.導致同籠伴侶或自己受傷的行為或測試</p> <p>15.允許無任何照護而引起動物的死亡之研究</p> <p>16.允許測試項目為疼痛或緊迫的研究（如未經治療就戒斷成癮的藥物或疼痛研究）</p> <p>17.未經 AVMA 認可的安樂死方法</p>	
--	---	--

2.水生動物 - 魚類：

疼痛及緊迫分類	動物操作	臨床症狀
B.不引起不適或緊迫	僅單純養於人為的飼育環境，無實驗進行	無不良反應
C.不引起不適或緊迫	僅單純撈取及放回、飼育、交配、產蛋等及早期的胚胎研究(<7dpf)	無不良反應
D.極小的不適或緊迫，需事先用藥麻醉或緩解措施	1.剪魚鰭 2.尾鰭植入標示用的 chip、tag、elastomer 或上色 3.人工取出魚卵/精子 4.各種手術包括(眼窩注射、腹腔注射、刮取麟片、皮膚及鰓做病理檢查等) 5.其他需要手術後恢復及暫時特殊照料的實驗步驟	可能導致輕微出血，但無不良反應、半天內就能恢復的手術
E.中等至嚴重程度的緊迫或疼痛，需事先麻醉並給予適當的後續處理	1.化學性誘變處理(如ENU處理) 2.切除/凍傷小部分心臟	需要較長時間的恢復的手術並可能導致魚隻不適甚至死亡

中央主管機關對於動物在實驗進行中所需承受的疼痛、緊迫、持續性傷害等等作了一些規範，並希望實驗者可以在對動物產生最小的傷害之下得到所需的實驗數值，而實驗者亦需瞭解動物的疼痛狀況會由輕微逐漸變為中等，

中等程度亦有可能會變為嚴重程度，因此制定一個依據來減低對實驗動物可能造成的傷害。附錄 1-1 列出常用實驗動物的疼痛程度評估資料，藉由臨床上動物觀察來判定動物所處的狀況，並搭配附錄 1-2 進行疼痛程度評估及止痛計畫。

二、人道終點評估指導原則

動物保護法第三章第十七條第一項：「科學應用後，應立即檢視實驗動物之狀況，如其已失去部分肢體器官或仍持續承受痛苦，而足以影響其生存品質者，應立即以產生最少痛苦之方式宰殺之。」。

動物實驗可能造成動物的疼痛及不適，如無法以藥物或其他方式解除動物的疼痛、緊迫或不舒服時，應施予安樂死。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(Experimentl endpoints)，除非安樂死確實影響實驗結果，並經過實驗動物照護及使用委員會或小組審核同意，否則應在動物呈現痛苦、垂死、死後組織自體溶解、或死後被籠內其他同類啃食等行為時，需以人道的方式解決。安樂死不但可以解決動物疼痛、緊迫及不舒服狀態，並可透過完整的屍體解剖更進一步瞭解動物的生理狀態，有助於實驗之進行。

動物安樂死的目的是以人道的方式使動物死亡，使動物在最低程度的疼痛、緊迫及恐懼下，以最短的時間內失去知覺和痛覺。在科學應用、教學及試驗中，常因下列因素選擇讓實驗動物的安樂死：

- 實驗終結。
- 因研究所需提供血液或其他組織臟器。
- 當動物的疼痛與緊迫程度超過預期程度以上。
- 因動物健康及福祉考量。
- 不適合繼續繁殖（育種因素）。

(一)、人道終點政策

除非有科學研究之必要性，並經過實驗動物照護及使用委員會或小組核准，否則建議給予動物安樂死，以解除其痛苦。不同的實驗類別有不同的參考準則，尤其是近 20 年以來，各種基因改良動物之產製與人類疾病模式之動物研發，往往使實驗動物呈現不同面貌的臨床表現，更因科學研究之目的，需採用各種不同的照護方法舒緩動物的不適。各機構的實驗動物照護及使用委員會或小組、研究人員、獸醫師、研究部門的主管應對實驗動物於科學應用之人道終點(Humane endpoints)、以及何時執行動物安樂死等方面共同擬定該機構之政策。

(二)、人員訓練

動物能否安詳地死亡，操作人員是關鍵因素之一。各機構的實驗動物照護及使用委員會或小組與獸醫師應建立完善的操作人員訓練計畫，包括動物安樂死的目的、各項安樂死的技術、動物抓取方法、評估及舒緩動物疼痛或恐懼的方法、死亡的確認等，必要時亦須安排人員間的相互討論與心理輔導，以紓解操作人員可能的心理緊迫。人道保定的經驗很重要，技術員需確保將動物的疼痛和緊迫降到最低，除了對該物種的正常行為的熟悉，亦需瞭解保定後行為的改變及對所選技術所引起意識喪失和死亡的機制。

(三)、避免造成存活動物的恐懼感

緊迫的叫聲、恐懼的行為、驚嚇動物產生的費洛蒙氣味等，皆會引起動物的焦慮和不安，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，最好選擇遠離存活動物的非公開場所來執行。

(四)、安樂死設備

執行安樂使用的藥品與器具，應隨時保持最佳使用狀態。依據動物品種、體重及數量，須先備好足量的藥劑、設備及器具，並應定期維護，保持良好的使用狀態。動物安樂死時被血液、糞尿等沾染的器具應立刻清洗，以免造成其他安樂死前動物的焦慮。

(五)、執行安樂死

動物安樂死首要考量為解除動物的疼痛與緊迫，因此面對神經質或難以駕馭的動物，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，之後再進行安樂死。另外，兔子、禽類、水生動物、爬蟲類等易懶氣，因此需進行前處理後，再以二氧化碳進行安樂死。

(六)、確認動物死亡

所有動物的安樂死，最終步驟需確認動物是否已經死亡。在確認死亡方面，最可靠是綜合評估下列各項標準，包含脈搏、呼吸、角膜反射 (corneal reflex) 及對腳趾捏緊 (firm toe pinch) 的反應；用聽診器無法聽到呼吸音和心音；粘膜變灰；及僵直 (rigor mortis)。人員需檢查動物的心跳是否完全停止、瞳孔是否放大。在使用二氧化碳進行安樂死時動物往往先停止呼吸，數分鐘之後才停止心跳。停止呼吸的單一現象不能作為判斷動物是否死亡的依據，必要時應配合輔助安樂死方式確認動物死亡。肢體僵直是唯一可單獨判斷動物死亡之依據。

此外，在小型動物中，動物昏迷後可透過經皮心臟穿刺來補充死亡驗證。當針插入心臟後，針頭和連接的注射器未能移動（可抽血液提供正確位置的證據），說明心肌運動不足且動物已死亡。

(七)、動物屍體處理

無論採用哪種安樂死方法，都必須按照地方法律對動物屍體進行適當的處理。法規不僅適用於動物屍體的處置，而且還適用於化學殘留物的管理。

執行動物安樂死及處理屍體的人員必須瞭解該動物是否有人畜共同傳染病的疑慮、是否曾進行放射性物質或有毒化學物質的試驗，必要時機構須提供適當的人員防護裝置 (Personnel Protective Equipments, PPE) 或設備。

三、安樂死方法指導原則：

(一)、選擇安樂死的藥物與方法

選擇動物安樂死的方法，應考慮動物品種、大小、溫馴度、對疼痛與緊迫的感受性、保定方法、實驗是否需組織採樣等。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。動物死亡的機制有：(1)直接或間接的缺氧。(2)直接抑制腦部神經維生機能。(3)物理性崩解腦部活動並破壞腦神經。操作安樂死程序應在動物失去意識前儘量減低動物疼痛、焦慮及緊迫。

使用管制藥品要依管制藥品條例取得及管理。若使用非藥品級麻醉安樂死藥品時，為確保動物的健康安全與福祉，應確認藥品為無菌，並注意該物質的物理化學性質，包括：純度、等級、穩定性、酸鹼值、滲透壓、對於動物可能產生之副作用等。同時為維持製劑的品質，藥品配製流程與儲存方式應妥善考量，容器外應清楚標示內容物成分、濃度、配製日期與有效期限等資訊。

1. 吸入性藥劑：

基本原則及注意事項：

- 失去意識時間：考量氣體替換率，容器大小及氣體濃度。
- 雖然高濃度氣體可縮短失去意識時間，但也會造成動物厭惡感及緊迫。逐漸增加氣體暴露濃度較為人道。
- 吸入性氣體必須品質純正，不能摻有污染物或添加物。其供應源必須能夠控制氣體替換率或濃度。因此，不得直接利用昇華或燃燒產生氣體的方式進行安樂死。
- 純正的吸入性氣體對人員是有害的，應注意操作環境之通風。
- 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，容易於誘導期出現躁動反應。興奮的動物由於心輸出量增加，肺泡氣體濃度的上升也會延遲，而容易出現誘導期躁動。此類動物應搭配適當的事前投藥，或改用其他方式進行安樂死。
- 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昏迷狀態，但是需比一般動物花上更長時間或搭配輔助方法來達成動物之安樂死。
- 爬蟲類、兩棲類、善潛之禽類和哺乳類等易憋氣，也能進行無氧代謝。此類動物應改以其他方式安樂死，或於動物昏迷後搭配輔助方法安樂死。
- 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，並避免氣體直吹動物。
- 吸入性安樂死應在動物舒適狀態下進行，如齶齒類使用原飼養籠具，豬隻則分為小群組，避免擁擠撞擊。
- 應考慮吸入性氣體比重，避免氣體分層或流失，導致安樂死效果不佳。足夠的流速可促使氣體均勻分布，防漏設計可避免氣體流

失。

- 執行後務必確認動物死亡。如動物未死亡，須重複執行或以其他方式將動物安樂死。

(1). 吸入性麻醉藥劑如 halothane、isoflurane、enflurane、sevoflurane 等。

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。大部分的情況下，動物快速暴露於高濃度藥劑時可快速失去知覺。多數的吸入性藥劑對人體有害，如乙醚具有易爆性、halothane易傷害肝臟、氮氣和一氧化碳易導致人體缺氧性、笑氣(N_2O)易導致成癮等，因此人員需在通風良好場所執行。剛出生的仔獸對缺氧環境的耐受性高，因此須較長的吸入時間。使用吸入性藥劑執行安樂死時，容器內裝入的動物勿過度擁擠，且勿同時混入不同品種的動物，以免造動物死亡前的緊迫。爬蟲類、兩棲類、善潛之禽類和哺乳類等善於懸氣，因此建議優先選擇其他方法。

優點：對於體重小於七公斤或難以施打針劑的動物具有高度價值。halothane、isoflurane、enflurane、sevoflurane，在一般環境條件下無易燃性且無易爆性。可以單獨作為安樂死藥劑或者作為兩階段安樂死中第一階段使動物失去知覺，再以輔助之第二種方法達成安樂死。

缺點：汽化器的設計限制了氣體流量，且常使用氧氣驅動藥劑揮發，因此動物誘導昏迷和缺氧致死所需時間較久。笑氣(N_2O)不可單獨使用，因為會在動物失去意識前先造成缺氧的狀態。由於乙醚具有易燃、易爆的性質，不建議使用。

建議：使用halothane、isoflurane、enflurane、sevoflurane等藥劑於體重小於七公斤的動物為有條件接受之安樂死方法，且必須符合下列條件。**對所用麻醉氣體沒有厭惡反應的物種，應以高濃度使動物迅速失去知覺。有厭惡反應的物種，以低濃度至高濃度逐步誘導麻醉，使動物失去意識。**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。笑氣(N_2O)不應單獨使用，大型動物不建議使用吸入性氣體麻醉藥物進行安樂死，主要因為所需藥量大而昂貴及不容易施行麻醉及造成死亡。

(2). 二氧化碳

空氣中含有 0.04% 二氧化碳，它較空氣重、無色、無味。吸入濃度於 7.5% 時動物的疼痛閾值上升，吸入濃度 30% 以上的二氧化碳可因呼吸性酸血症引起深度麻醉效果，持續吸入高濃度可致死。使用方式可分為預灌注高濃度二氧化碳至容器，再將動物沉浸其中的高濃度沉浸法，以及使用二氧化碳漸進置換容器內氣體的漸進充填法。由於不同物種、品種、品系動物對二氧化碳的反應差異很大，對某些動物而言，不論是漸進充填法或是高濃度沉浸法都非常緊迫。因此二氧化碳安樂死僅可用在目前有方法可降低厭惡及緊迫之物種，且為有條件接受的安樂死方法。

禽類如雞和火雞，在足以致死的 60% 二氧化碳濃度下並未顯現厭惡及緊迫反應，因此可以使用高濃度沉浸法安樂死。在齶齒類，高濃度二氧化碳可立即引發厭惡緊迫，並造成正腎上腺素、皮質性類固醇的分泌，因此不得使用高濃度沉浸法，須使用漸進充填法，以減輕緊迫狀況。在兔子，高濃度充填法可造

成明顯的緊迫反應，使用漸進充填法較無此問題，然而兔子作為穴居動物對二
氧化碳耐受性較高，需時較久，過程中仍可能造成緊迫，建議鎮定後再使用二
氧化碳安樂死。

出生一天的雛雞使用二氧化碳安樂死效果良好，於鳥類則造成不同程度的
緊迫，通常可於五分鐘內達到死亡。對於蛋而言，由於在胚胎發育即開始呼吸，
未孵化的蛋內有 14% 的二氧化碳，因此對於雛雞和其他初生仔獸，對於二
氧化碳具高耐受性，應適度延長安樂死時間。懷孕母獸二氧化碳安樂死後不需再將
子宮內胚胎取出個別安樂死。齧齒類動物於其原飼養籠內吸入二氧化碳安樂死
時較少緊迫或焦慮現象。**保育豬(約 30Kg)暴露 80%至 90%的恆定二氧化碳中
至少 5 分鐘。二氧化碳適用 30Kg 以下，不適用肥育、成年豬。**

優點：快速鎮靜、止痛、麻醉效果明確。高壓桶裝二氧化碳易於取得，容
易使用，價格便宜，無易燃易爆性，無異味，在通風良好的場所配合適當的設
備使用時，較其他藥劑安全，**且沒有組織內殘留毒性物質的問題。**

缺點：由於二氧化碳較空氣重，**如未能均勻分布而產生分層，或未能灌滿**
容器，動物**可能爬至高處或將頭部抬高到二氧化碳層以上，導致無法有效安樂**
死。年幼動物、水棲、善潛及穴居之動物，對二氧化碳的耐受性非常高，而兩
棲類和爬蟲類動物的呼吸頻率較低，往往無法有效吸入足量的二氧化碳，導致
長時間操作才能完成安樂死。以低於 80%的二氧化碳誘導動物失去知覺時，可
能產生呼吸道的病灶，但是過高濃度的二氧化碳可能對部分動物造成緊迫。

建議：對於**有方法**可降低厭惡及緊迫的動物品種，可**有條件**使用二氧化碳
進行安樂死。高壓桶裝二氧化碳為唯一建議使用的設備，不推薦使用乾冰或其他
化學方法製造的二氧化碳。高壓桶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。動物裝入容器內時，勿過度擁擠，且勿同時
混入不同**物種**的動物。使用時應計算容器容量及氣體流量。**在齧齒類動物，除非**
事先以其他方式完成致昏，否則不得使用高濃度沉浸法，只能使用漸進充填
法，其建議的氣體置換率為每分鐘 30%-70%。當動物停止呼吸後須再持續灌注
氣體至少一分鐘。年幼動物必須提高二氧化碳濃度並延長氣體暴露時間，以確
保死亡。不建議將二氧化碳混合純氧使用，也不建議先以其他氣體迷昏動物後
使用二氧化碳。在不引發厭惡緊迫反應的前提下，禽類可使用高濃度沉浸法安
樂死。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法（如開胸）完成安樂死。

(3). 氮氣及氬氣

運用氮氣或氬氣造成缺氧死亡可用於禽類(雞、火雞)及豬隻之有條件接受
之安樂死方法。對其他哺乳類動物為不可接受之安樂死方法。如欲搭配氧氣使
用，氧氣濃度需低於 2%。

優點：對禽類及豬隻不易造成**厭惡**或緊迫感。不易燃、不爆炸，有現成壓
縮氣體，對操作人員傷害小，比空氣重較易沉浸於動物籠具中。

缺點：所造成缺氧狀態**在齧齒類及貂類會引起厭惡反應**，就算使用**漸進充**
填法還是會讓這些動物在失去意識之前產生缺氧的行為反應。在齧齒類使用氮
氣會造成肺泡出血而窒息死亡。在豬隻使用必須大於 7 分鐘才能讓動物死亡。
氬氣比氮氣昂貴三倍。

2. 非吸入性藥劑

多數為注射性藥物，此法能使動物迅速死亡，是非常可靠的動物安樂死方法，唯須注意的是操作中避免使動物遭受緊迫與恐懼，而人員亦須學習各種注射技術。注射性藥劑有多種投藥方法，其中靜脈注射是最佳選擇，藥物注射前人員須評估動物是否過度神經質或難以駕馭，必要時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，或放入動物保定設備中，並保障操作人員的安全。如動物已呈現垂死、休克、或深度麻醉中，難以順利進行靜脈注射時，可給予心臟注射。如無法建立靜脈注射，腹腔及腔體注射非刺激性藥物為可接受之替代方式。腹腔注射需使用較高劑量的藥物，而且可能使動物延長死亡時間及死前掙扎，因此腹腔注射後，將動物移入小箱子或籠子內，置於安靜無干擾的場所，以減輕興奮程度或創傷的可能性。

在動物清醒狀態下肌肉注射、皮下注射、胸腔注射、肺臟注射、鞘膜注射及其他非血管注射皆為不可接受之安樂死藥物注射方式。

經骨髓注射會因藥物的黏稠度及化學刺激性引起疼痛，如欲經由現有骨髓注射管路給予安樂死藥物，應先給予止痛劑並減緩注射速度，以減少動物的不舒服。

無論經骨髓注射、心臟注射、肝臟注射、脾臟注射、腎臟注射等都必須在動物麻醉狀態或失去意識下進行，但有些變溫動物在清醒下心臟注射為可接受之注射方式。實驗小鼠於麻醉狀態下後眼窩注射小於 200 微升麻醉藥(10 mg ketamine : 1mg xylazine) 或以 5 倍麻醉劑量腹腔注射為有條件接受之安樂死法。

(1). 巴比妥鹽及其衍生物 (Barbiturates)

它是動物安樂死的首選藥物。靜脈給予可用於犬、貓、馬及其他中小型動物，它抑制中樞神經反應，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。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，但是其中 pentobarbital sodium 為最理想的動物安樂死藥劑，Beuthanasia-D (Burns-Biotec)、Sleepaway (Fort Dodge Laboratories)商品化藥劑亦同。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。只有在動物麻醉或失去意識狀態下才可經由心臟、脾臟、肝臟、腎臟等直接給予。

優點：效果迅速為最主要的優點，唯其效果依劑量、濃度、投藥方式而不同。此藥劑平穩地誘導並麻醉動物，也使動物的不適反應降到最低程度。

缺點：為達到最佳效果，須給予靜脈注射，操作人員須具備不同品種動物的靜脈投藥技術，且須每隻動物個別保定後投予。此藥亦可能造成人類濫用，因此需經管制藥品管理局申請核准後取得及使用。失去知覺的動物可能會出現喘氣反應，在中樞抑制出現前有可能出現短暫興奮現象，對於難以駕馭或過度神經質的動物，須先給予適當的藥物鎮定，但是經鎮定後的動物由於循環及心跳變慢，對於藥劑注射後的死亡時間比未鎮定動物來的慢，需特別注意。藥物會殘留在動物屍體內，也會引起動物之脾臟腫大。

建議：對於狗、貓、其他小型動物及馬，須靜脈注射投藥，當靜脈注射對動物造成緊迫或危險時採用腹腔注射，心臟注射僅適用於深度麻醉或失去意識的動物。各物種使用 pentobarbital 進行靜脈注射及腹腔注射之安樂死劑量，請參閱附錄 3-1。

(2).Chloral hydrate

緩慢壓制大腦，動物必須在保定下給藥，逐步壓迫呼吸中樞導致缺氧而使動物死亡，過程中可能會使動物喘息、肌肉痙攣、鳴叫。有致癌性，腹腔注射會造成動物胃潰瘍、腹膜炎而死亡。美國 FDA 不再批准作為安樂死藥物。

建議：不建議作為安樂死之藥物。

(3).Tricaine methane sulfonate (TMS, MS 222)

商品化產品，粉末狀，溶於水中用來麻醉或安樂死爬蟲類、兩棲類與魚類。它是 benzoic acid 衍生物，使用碳酸氫鈉緩衝液製作酸鹼值 7.0-7.5 溶液，原液 (stock solution) 須存於避光容器冷凍保存，如變質成深棕色須予以廢棄。進行魚類安樂死時，以濃度 250~500mg/L 浸泡，待魚鰓靜止不動後，再繼續浸泡 10-30 分鐘。此藥劑於鹹水或淡水條件下皆可使用，且非管制類藥物，但暴露此藥劑可對人員產生腎毒性，使用上必須注意。

(4).Benzocaine HCl

Benzocaine 為類似 TMS 的化合物，不溶於水，使用丙酮或乙醇製作原液 (stock solution)，因溶劑對組織有刺激性，不能用於麻醉和安樂死。而 Benzocaine HCl 溶於水，可直接使用於麻醉或安樂死兩棲類與魚類。用於魚類安樂死的濃度為 $> 250\text{mg/L}$ ，須緩衝酸鹼值再使用。於兩棲類可使用 7.5% 或 20% 的凝膠劑型，塗抹在腹部，不須緩衝酸鹼值。此藥劑須避光保存於攝氏 40 度以下環境。為非管制藥物，安樂死劑量對人類毒性低。

(5).次氯酸鈉

又名漂白水，可利用次氯酸鈣製備溶液。受精後 7 日內之斑馬魚胚胎及仔魚，痛覺感受能力尚未發育完全，可使用 1-10% 次氯酸鈉溶液安樂死。更成熟的仔魚能夠感受疼痛和緊迫，不能使用此方法。次氯酸鈉和次氯酸鈣便宜且易於取得，使用濃度對人員危害性亦低，但仍需注意高濃度次氯酸鈉具腐蝕性，操作不慎可能傷害人員的皮膚、眼以及呼吸道。

3.物理性方法

包括頸椎脫臼、斷頭、放血、槍擊、電擊、聚焦微波照射等。有些人員抗拒並排斥物理性安樂死方法，但是只要在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。如未受過訓練的人貿然實施物理性方法，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，如放血、擊昏、腦脊隨穿刺等，不建議作為動物安樂死的單一方法，配合其他方法共同使用較佳。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。

(1).頸椎脫臼法

常使用於齧齒類動物、禽類及仔兔。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。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；對於仔兔與禽類，一手抓頭，另一手抓後肢，將身體迅速拉長，使頸椎脫離頭顱；亦可利用頸椎脫臼專用之工具進行。

優點：能使動物快速失去意識，無化學藥劑污染體組織，迅速執行完畢。

缺點：可能造成執行者的不愉快感，如操作技術不佳，恐無法使動物迅速死亡，而導致動物的極大痛苦。

建議：使用於禽類、小鳥、小鼠、體重低於 200 公克的大鼠、體重低於 1 公斤的兔子，且由技術精湛的人員完成，執行前動物得先給予鎮定或麻醉，以減低動物的緊迫。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，則需由動物實驗管理小組評估，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，再經委員會核准後執行。**部分禽類在頸椎脫臼後不會立即喪失知覺，這些動物應事先致昏再施行頸椎脫臼，或改以斷頭等其他方式安樂死。**

(2).斷頭

此方法用來執行小型齧齒類動物或**小型兔**的安樂死。此法可提供研究人員無化學藥劑污染的乾淨組織及體液，亦可提供完整的腦部組織供研究。斷頭後動物雖呈現約 13-14 秒的腦部活性，但是研究顯示此時無疼痛反應的傳遞，動物迅速失去意識。商品化的斷頭台 (guillotine) 可用於成鼠與**小型兔**的斷頭。仔鼠**無商品化斷頭台，但可使用銳利刀刃執行**。

優點：能使動物快速失去意識，無化學藥劑污染體組織，執行完成度高。

缺點：抓取及保定動物至斷頭台前可能導致動物緊迫，動物斷頭後存留的腦部活性尚無法確實定論，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。

建議：配合正確的操作技術，有條件的使用。使用本方法進行動物安樂死時，須具備科學研究的必要性，並經機構的實驗動物照護及使用委員會或小組核准後執行。需注意隨時保持斷頭台刀刃的銳利度，並在每次使用後徹底清洗殘留的血跡和氣味。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。使用錐形塑膠保定袋 (decapitcone) 保定動物後斷頭有助於降低動物的緊迫，並減少人員在操作中受傷的機會。執行本方法前操作人員須接受完整的技術訓練。

(3).放血

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。由於大量失血時動物呈現焦慮，因此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。

(4).電擊

電擊被用來進行犬、牛、山羊、綿羊、豬、雞、狐、貂及魚類的安樂死，使用 50-60Hz 交流電最為有效。致死的機制是引發心纖維顫抖，心跳停止使血液無法循環導致腦缺氧死亡。但多種動物在心纖維顫抖後 10-30 秒仍保有知覺，因此事先將動物麻醉或致昏非常重要。致昏的方法包括使電流通過腦部，足夠強的電流引起癲癇大發作，動物呈現角弓反張、眼球向下翻轉、肌肉強直和痙攣，最後癱軟。致昏後，動物會有喘氣和眼球震顫，但不應與規律呼吸及正常眨眼混淆，後者為動物恢復知覺的徵兆，如出現須重新致昏。

電極設置方式分為 3 種：電流僅通過頭部、電流一次通過頭及軀體、電流分兩階段通過頭及軀體。3 種都必須引起癲癇大發作，才算達到安樂死所需的致昏。電極位置不佳可造成致昏失敗。

電流僅通過頭部時，能造成動物失去 15-30 秒意識，但不會引起心纖維顫抖，因此須立即搭配輔助方法以完成安樂死。電極應對稱設置(左右眼耳之間或雙耳根部)，或對角設置(一側耳下及另一側眼上方)。

電流一次通過頭及軀體時，可同時使動物喪失知覺及停止心跳，但電流通過脊柱，常使癲癇不易觀察，因此設備需設定合適的安培數以確保動物成功致昏，一般建議豬及牛為 1.25 安培，綿羊為 1 安培。頭部電極應設置在前額或一側耳後，不得設在頸部，軀體電極則設在對側體側。

電流分兩階段通過頭及軀體時，先以電流通過頭部致昏，再以電流通過軀體引致心跳停止。軀體電極設在前肢後方體壁或胸部兩側。

優點：用於失去意識的動物時，為人道的安樂死方法，無化學藥劑污染體組織，且執行起來不昂貴。

缺點：動物須良好保定，在難以保定的動物無法使用。體重 5 公斤以下的小型動物可能在電擊後恢復心跳，而脫水動物則電擊效果不佳。實施此法易造成人員的不適，且對人員造成傷害的風險高，因此必須使用專用設備，並訓練人員熟悉設置電極和操作設備的方法。

建議：電擊是有條件接受的安樂死方法。執行時須確保足夠電流通過腦部以達到癲癇痙攣和致昏效果，且致昏須發生在心纖維顫抖之前，或同時發生。必要時採取輔助方式確保動物死亡。電極設置不得為頭至尾、頭至足、頭至動物立足的潮濕金屬板等。不可使用電擊麻痺方式保定清醒動物，因為會造成極度不適。為了人道和安全考量，須使用專用設備，不可使用家用電線。

(5).腦脊髓穿刺

不建議作為動物安樂死的單一方法，但可作為確保死亡的輔助方式。在蛙類，穿刺針能輕易進入其腦脊髓腔，摧毀腦幹，所以腦脊髓穿刺常用於蛙類動物安樂死。

(二)、適用之安樂死方法

1. 陸生動物-齧齒類、兔、狗、貓、猿猴

安樂死方法	小於 200 g 齧齒動物	200 g~1 kg 齧齒動物/兔	1 kg~5 kg 齧齒動物/兔	狗	貓	猿猴
一、化學性方法						
二氧化碳	○	○	×	×	×	×
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	○	○	×	×	×	×
深度麻醉後頸椎脫白	○	○	×	×	×	×
動物清醒中直接斷頭	★	★	×	×	×	×
動物清醒中直接頸 椎脫白	★	×	×	×	×	×

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。

2. 陸生動物-中大型 (牛、羊、馬、豬等)

基於動物福祉及人員操作安全之考量，建議優先使用化學性方法。

安樂死方法	適用動物及建議之操作方法	備註
一、化學性方法		
惰性氣體(氮氣、氯氣)	○(豬)	
Barbiturate 注射液, 靜脈注射 (100mg/kg)	○	豬靜脈注射劑量 30kg 以下 20mg/kg, 30kg 以上 100mg/kg
Barbiturate 注射液, 腹腔注射 (100mg/kg)	△ (豬或極年幼或老弱動物可用)	濃度不可大於 60mg/ml, 以免過度刺激。
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		
電昏後放血致死	○ (豬、羊) 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。	1.可應用於犧牲或病理解剖生病之實驗用經濟動物。 2.須於動物致昏後配合放血致死，避免動物甦醒。 3.操作人員要進行動物致昏或死亡之徵兆觀察。家畜有效致昏之判定基準：無眼瞼反應、無節律性呼吸、對擰耳刺鼻無反應、無平衡反應、無發出聲音或四肢先僵直後產生之無意識踢動。
電昏後電擊致死	○ (豬、羊) 1.以電擊器置於動物頭部左右兩側，施以至少 220V 電壓電擊至少 3 秒，以利有效致昏。 2.於致昏後 15 秒內，再將電擊器分置頭及胸 2 部位，施以至少 220V 之電壓電擊至少 3-15 秒致死。	1.家畜有效致昏之判定基準：無眼瞼反應、無節律性呼吸、對擰耳刺鼻無反應、無平衡反應、無發出聲音或四肢先僵直後產生無意識踢動。 2.心臟電擊之通電時間，商用操作至少 3 秒，實驗室操作建議至少 15 秒。電擊心臟之頻率建議為 50~60Hz(一般電源即符合)才能有效停止心臟跳動。 3.電擊致死後須確認動物已為死亡狀態。
一次電擊致死	○ (豬、羊) 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。	1.施以頭-胸同時電擊，須確保電流同時通過腦部及心臟，以確保動物在無意識下有效致死。 2.頭-胸同時電擊之通電時間，商用操作至少 3 秒，實驗室操作建議至少 15 秒。 3.電擊心臟之頻率建議為 50~60Hz(一般電源即符合)才能有效停止心臟跳動。 4.電擊致死後須確認動物已為死亡狀態。
人道擊昏槍+放血或	○ (豬、羊、牛、馬)	1.家畜有效擊昏之判定基準：無眼瞼反應、無節

腦破壞致死	<p>1.依動物種類選擇適當擊昏槍及撞擊部位進行擊昏作業。</p> <p>2.擊昏動物後，應於 15 秒內切斷主要動脈，放血致死。</p> <p>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。</p>	<p>律性呼吸、對擰耳刺鼻無反應、無平衡反應、無發出聲音或四肢先僵直後產生無意識踢動。</p> <p>2.人員須經過操作訓練後方可執行。</p> <p>3.擊昏槍可分為穿刺類及非穿刺 2 類。應注意撞擊力道與配合動物種類選擇撞擊部位。</p> <p>4.擊昏得搭配保定設備以利瞄準，對於不易瞄準之動物，建議優先使用注射藥物法或電擊法。</p> <p>5.不得以人力使用棍、棒等原始工具進行敲擊。</p> <p>6.操作人員須確認動物為已死亡狀態。</p>
-------	--	---

說明： 1.○：建議使用的方法；△(豬或極年幼或老弱動物可用)。

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。

3.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 $\geq 17\text{mg/L}$ ，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 $>5\text{mg/L} \sim 20\text{mg/L}$ ，需要於通風處進行。
Quinaldine sulfate	buffered solution，濃度 $\geq 100\text{mg/L}$ 。
Tricainemethanesulfonate (MS-222, TMS)	buffered solution，濃度 250~500mg/L 浸泡至少 10 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 $\geq 0.3 \sim 0.4\text{mg/L}$ 。
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≤3.8cm)	<p>由魚缸取出盡快將魚放置於攝氏 2°~4°C 冰水中(ice chilled water)</p> <p>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。</p> <p>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。</p>

(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 5dpf 之斑馬魚胚及 \leq 3dpf 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

4.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。			○	
Tricainemethanesulfonate (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°C 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。

(三)、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齶齒類；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(番木蠶鹼) Strychnine	此藥劑造成動物的劇烈痙攣和痛苦的肌肉抽繩
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.

附錄 1-1 常用實驗動物的疼痛程度評估

(一) 大鼠疼痛程度評估表

	評估項目	輕微疼痛	中度疼痛	嚴重疼痛
體重 (不包含暫時性體重減輕)	*體重 *食物/飲水消耗	*體重減少原體重的 10% 以下 *72 小時內僅攝食正常量的 40-75%	*體重減少原體重的 10-25% *72 小時內攝食低於正常量的 40% 以下	*體重減少原體重的 25% 以上 *7 天內攝食低於正常量的 40% ，或食慾不振超過 72 小時
外觀	*身體姿勢 *毛髮豎起情形	*短暫的拱背，特別是在投藥後 *部分毛髮豎起	*間歇性拱背 *明顯皮毛粗糙	*持續性的拱背 *明顯皮毛粗糙，並伴隨其他症狀如拱背、遲鈍反應及行為
臨床症狀	*呼吸 *流涎 *震顫 *痙攣 *沉鬱.臥倒	*正常 *短暫的 *短暫的 *無 *無	*間歇性的呼吸異常 *間歇性的弄濕下頸附近的皮毛 *間歇性的 *間歇性的 (每次 10 分鐘以下) *短暫的(1 小時以下)	*持續性的呼吸困難 *持續性弄濕下頸附近的皮毛 *持續性的 *持續性的(若每次超過 10 分鐘以上，則建議安樂死) *持續超過 1 小時以上 (若每次超過 3 小時以上，則建議安樂死)
無刺激時一般行為	*社會化行為	*與群體有對等的互動	*與群體的互動較少	*沒有任何的互動
對刺激的反應	*受刺激時行為反應	*變化不大	*受刺激時會有較少的反應 (如：被人捉拿)	*對刺激或外部行為無任何的反應

(二) 小鼠疼痛程度評估表

評估項目		輕微疼痛	中度疼痛	嚴重疼痛
體重	*體重	*體重減少原體重的 10% 以下	*體重減少原體重的 10-25%	*體重減少原體重的 25% 以上
外觀	*身體姿勢 *毛髮豎起情形	*短暫的拱背，特別是在投藥後 *部分毛髮豎起	*間歇性拱背 *明顯皮毛粗糙	*持續性的拱背 *明顯皮毛粗糙，並伴隨其他症狀如拱背、遲鈍反應及行為
臨床症狀	*呼吸 *流涎 *震顫 *痙攣 *沉鬱.臥倒	*正常 *短暫的 *短暫的 *無 *無	*間歇性的呼吸異常 *間歇性的弄濕下頸附近的皮毛 *間歇性的 *間歇性的 (每次 10 分鐘以下) *短暫的(1 小時以下)	*持續性的呼吸困難 *持續性弄濕下頸附近的皮毛 *持續性的 *持續性的(若每次超過 10 分鐘以上，則建議安樂死) *持續超過 1 小時以上 (若每次超過 3 小時以上，則建議安樂死)
無刺激時一般行為	*活力 *社會化行為	*活力輕微下降 *與群體有對等的互動	*活力明顯下降 *與群體的互動較少	*持續睡眠，或無法行動 *沒有任何的互動
對刺激的反應	*受刺激時行為反應	*變化不大，輕微出現沉鬱 / 興奮反應，仍有警覺性，	*受刺激時會有較少的反應 (如：被人捉拿)，或明顯出現沉鬱/興奮反應，仍有警覺性	*對刺激或外部行為無任何的反應

(三) 天竺鼠疼痛程度評估表

	評估項目	輕微疼痛	中度疼痛	嚴重疼痛
體重	*體重	*體重減少原體重的 10% 以下	*體重減少原體重的 10-25%	*體重減少原體重的 25% 以上
	*食物/飲水消耗	*72 小時內攝食正常量的 45-75%	*72 小時內攝食低於正常量的 40% 以下	*7 天內攝食低於正常量的 40% 以下，或食慾不振超過 72 小時
外觀	*皮毛狀況	*局部掉毛	*明顯皮毛粗糙，脫毛	*明顯皮毛粗糙，並伴隨其他症狀如拱背、遲鈍反應及行為
	*身體姿勢	*短暫的拱背，特別是在投藥後	*間歇性的拱背	*持續性的拱背
臨床症狀	*呼吸	*正常	*間歇性的呼吸異常	*持續性的呼吸困難
	*流涎	*短暫的	*間歇性的弄濕下頸附近的皮毛	*持續性的弄濕下頸附近的皮毛
	*震顫	*短暫的（特別是在處理動物的時候）	*間歇性	*持續性的
	*痙攣		*間歇性（每次 10 分鐘以下）	*持續性的（若每次痙攣超過 10 分鐘以上，則建議安樂死）
	*沉鬱.臥倒	*無	*短暫的（1 小時以下）	*持續 1 小時以上（若每次超過 3 小時，則建議安樂死）
		*無		
無刺激時一般行為	*社會化行為	*與群體有對等的互動	*與群體的互動較少	*沒有任何的互動行為
	*發聲狀況	*發出正常音頻的叫聲	*受刺激的時候發出間歇性的、悲傷的、沉鬱的叫聲	*發出悲傷的、沉鬱的叫聲，亦可能完全不叫
對刺激的反應	*受刺激時行為反應	*壓抑，但受刺激時還有正常行為反應	*受刺激時亦壓抑行為反應	*對刺激或外部行為無任何反應

(四) 倉鼠疼痛程度評估表

	評估項目	輕微疼痛	中度疼痛	嚴重疼痛
體重	*體重 *食物/飲水消耗	*體重減少原體重的 10% 以下 *72 小時內攝食正常量的 40-75%	*體重減少原體重的 10-25% *72 小時內攝食低於正常量的 40% 以下	*體重減少原體重的 25% 以上 *7 天內攝食低於正常量 40% 或食慾不振超過 72 小時
外觀	*皮毛狀況 *身體姿勢	*正常	*皮毛無光澤，較少整理皮毛 *間歇性拱背	*嚴重皮毛粗糙，完全不整理毛髮，並伴隨其他症狀如拱背、遲鈍反應及行為 *持續性拱背
臨床症狀	*震顫 *痙攣 *沉鬱.臥倒	*短暫的 *無	*間歇性 *間歇性 (每次 10 分鐘以下) *短暫的 (1 小時以	*持續性 *持續性 (若每次超過 10 分鐘以上，則建議安樂死) *持續超過 1 小時 (若每次超過 3 小時，則建議安樂死)
無刺激時一般行為	*發聲狀況	*發出正常音頻的聲音	*間歇性的發出悲傷的、沉鬱的叫聲	*發出悲傷的、沉鬱的叫聲，亦可能完全不叫
對刺激的反應	*受刺激時行為反應	*變化不大	*受刺激時有較小且溫和的反應	*對刺激或外部行為無任何反應

(五) 兔子疼痛程度評估表

	評估項目	輕微程度	中等程度	嚴重程度
體重	*體重 *食物/飲水消耗	*體重減少原體重的 10% 以下 *72 小時內攝食正常量的 40-75%	*體重減少原體重的 10-25% *72 小時內攝食低於正常量的 40% 以下，或食慾不振超過 48 小時	*體重減少原體重的 25% 以上 *7 天內攝食低於正常量的 40% 以下，或食慾不振超過 72 小時
外觀	*皮毛狀況 *身體姿勢	*正常 *短暫的拱背，特別是在投藥後	*皮毛無光澤，較少整理毛髮 *間歇性的拱背	*明顯皮毛粗糙，完全不整理毛髮，並伴隨其他症狀如拱背、遲鈍反應及行為 *持續性的拱背
臨床症狀	*呼吸 *流涎 *震顫 *痙攣 *沉鬱.臥倒	*正常 *短暫的 *短暫的 *無 *無	*間歇性的呼吸異常 *間歇性的弄濕下頷附近的皮毛 *間歇性 *間歇性 (每次 10 分鐘以下) *短暫的 (30 分鐘以下)	*持續性呼吸困難 *持續性的弄濕下頷附近的皮毛 *持續性 *持續性 (若每次超過 10 分鐘以上，則建議安樂死) *持續 30 分鐘以上 (若每次超過 1 小時以上，則建議安樂死)
無刺激時一般行為	*社會化行為 *發聲狀況	*與群體有對等的互動	*與群體的互動較少	*沒有任何的互動行為 *發出類似悲傷痛苦的叫聲
對刺激的反應	*受刺激時行為反應	*正常反應	*受刺激時亦壓抑行為反應	*對刺激或外部行為無任何反應

(六) 米格魯犬疼痛程度評估表

	評估項目	輕微疼痛	中度疼痛	嚴重疼痛
體重	*體重 *食物/飲水消耗	*7天間減少原體重的10%以下 *72小時內僅攝食正常量的40-75%	*7天間減少原體重的10-25% *72小時內攝食低於正常量的40%以下	*7天間減少原體重的25%以上 *7天間攝食低於正常量的40%以下或食慾不振超過72小時
外觀	*皮毛狀況 *身體姿勢	*正常	*皮毛無光澤，較少整理皮毛 *間歇性有'hang dog'姿勢	*皮毛狀況非常差，不整理皮毛，並伴隨有其他如'hang dog'症狀、遲鈍反應及行為 *持續性有'hang dog'姿勢
臨床症狀	*呼吸 *震顫 *痙攣 *沉鬱.臥倒	*正常 *短暫的 *無 *無	*間歇性呼吸異常 *間歇性 *間歇性（每次10分鐘以下） *短暫的（1小時以下）	*持續性呼吸困難 *持續性 *持續性（若每次痙攣超過10分鐘以上，則建議安樂死） *持續1小時以上（若持續超過2小時以上，則建議安樂死）
無刺激時一般行為	*社會化行為	*與群體有對等的互動	*與群體的互動較少	*沒有任何的互動行為
對刺激的反應	*受刺激時行為反應	*受刺激時有溫和且正常反應	*受刺激時有較少的反應	*對刺激或外來行為無任何反應

(七) 牛疼痛程度評估表

疼痛評分	0	1	2
對周遭環境的注意力	有活力，對周遭變化會注意或想探究，正常表現採食、反芻、理毛等行為。	沒有活力，心情低落，不跟觀察人員有眼睛對看動作，走避遠離觀察人員。不表現採食、反芻、理毛等行為。	沒有活力，不表現採食、反芻、理毛等行為。起身站立沒多久又躺下。
頭部位置	高於肩部或與肩部保持水平	與肩部保持水平	低於肩部
耳朵位置	兩隻耳朵都向前，或者有其中一隻耳朵前後轉動尋找聲音來源。	兩隻耳朵緊張並往後倒，兩隻耳朵不對襯轉動。	兩隻耳朵向下垂，耳翼稍為面向下。
臉部表情	專注平靜進行採食、反芻，或安穩睡覺。	緊張，皺臉，眼睛上方有皺紋，鼻子上方皮膚有皺紋	
對人員靠近的反應	注視觀察人員，頭抬高，兩隻耳朵向前，或者專心的理毛或反芻。	注視觀察人員，但是耳朵沒有轉向向前，觀察人員靠近時會避開。	可能會也可能不會注視觀察人員，耳朵沒有轉向向前，緩慢走離開。
背部姿勢	平直	些微拱背	拱背

(參考文獻：Gleerup et al. / Applied Animal Behaviour Science 171 (2015) 25–32)

(八) 馬疼痛程度評估表

疼痛評分	0	1	2	3
行為徵兆				
姿勢	動作正常，安靜站立將重量平均分配到四隻腳，或休息站立將重量放在三隻腳。	偶爾移動身體重心，臨時擺出要排尿或排糞的姿勢，有一些肌肉顫抖。	任何一隻腳站立不敢施力，不正常的身體重心分布。	解除疼痛的姿勢(試圖排尿)，虛脫，肌肉顫抖。
排汗	沒有明顯出汗	觸摸有感覺濕	有汗滴出現在體側	汗水直流
踢腹部	安靜站立，不會踢腹部。	偶爾踢腹部(5分鐘內踢1-2次)	經常踢腹部(5分鐘內踢3-4次)	頻繁踢腹部(5分鐘內踢>5次)，動作之間會想躺下。
使用腳蹄耙地	安靜站立，不會使用腳蹄耙地。	偶爾耙地(5分鐘內1-2次)	經常耙地(5分鐘內3-4次)	頻繁耙地(5分鐘內>5次)。
移動	輕鬆站立或安靜移動	減少移動或輕微激動	不想移動或中度激動	拒絕移動或無法控制的向前移動
頭部動作	正常頭部動作，頭保持直立向前。	頭間歇性往側面擺動或垂直擺動，回頭看體側(5分鐘內1-2次)，嘴唇捲起(5分鐘內1-2次)。	頭間歇性往側面擺動或垂直擺動，經常回頭看體側(5分鐘內3-4次)，嘴唇捲起(5分鐘內3-4次)。	頻繁回頭看體側(5分鐘內>5次)，嘴唇捲起(5分鐘內>5次)。
食慾	隨時會吃乾草	猶豫要不要吃乾草	沒興趣吃乾草，吃很少乾草或乾草咬在嘴裡但不咀嚼或吞嚥。	沒興趣，也不吃乾草。
聽覺刺激	會注意人與噪音	對噪音有過大反應	對噪音有過度反應或暴力反應	麻木，虛脫，對噪音沒有反應，
觸摸反應	會主動碰觸，對觸摸沒有防衛性反應	對觸摸有中度防衛性反應	不願被觸摸	對觸摸有暴力反應
生理徵兆				
心跳	每分鐘24-44次	每分鐘45-52次	每分鐘53-60次	每分鐘>60次
呼吸	每分鐘8-13次	每分鐘14-16次	每分鐘17-18次	每分鐘>18次
消化道聽診	正常	蠕動減少	沒有蠕動	過度蠕動
肛溫	36.9-38.5°C	36.4-36.9°C或38.5-39.0°C	35.9-36.4°C或39.0-39.5°C	35.4-35.9°C或39.5-40.0°C

(參考文獻：Costa et al. (2014) Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a Pain Assessment Tool in Horses Undergoing Routine Castration. PLoS ONE 9(3): e92281. doi:10.1371/journal.pone.0092281)

(九) 綿羊臉疼痛程度評估表

疼痛評分	0	1	2
眼眶	眼皮沒有緊縮	眼皮緊縮遮住部分眼孔	眼皮緊縮遮住超過一半眼孔
臉頰	臉頰肌肉放鬆	臉頰肌肉部分緊縮	臉頰肌肉緊縮
耳朵	耳翼張開的部位朝向前方	耳翼張開的部位部分轉朝下方，耳朵稍微往下垂。	耳翼張開的部位朝下，耳朵往後縮
嘴唇與下顎	嘴唇與下顎放鬆	下嘴唇往後縮，下巴與下顎的線條拉直或凹進去	下巴與下顎緊縮並且線條拉成直線，唇線靠近臉頰的位置往垂直上方拉提
鼻孔與人中	鼻孔與人中放鬆	人中縮緊造成上嘴唇中間凹陷，鼻孔中間連接處呈現V字形	人中完全縮緊，造成兩邊鼻孔開口拉緊與人中形成尖V字形

(參考文獻：McLennan et al. (2016)Development of a facial expression scale using footrot and mastitis as models of pain in sheep. Applied Animal Behaviour Science 176:19–26)

(十) 豬疼痛程度評估表

疼痛評分	0	1	2	3
手術後或患病時腹部觸診	正常，腹部柔軟，豬能很好地耐受觸診	腹部柔軟，豬主動退出觸診	腹部緊張，豬從觸診中退出	腹部僵硬，豬不動
身體外觀	正常（皮毛，眼睛清晰明亮，站立時抬頭）	皮毛略有變化，即豬開始看起來有點豎毛，眼睛明亮，位置正常，站立時頭朝上	豬的皮毛看起來很豎毛，鼻/眼分泌物，眼睛呆滯，眼睛沒有居中，但會跟隨人或物體的移動，豬低著頭，偶爾將鼻子壓在地面上，適度的口呼吸（氣喘吁嚥），豬來回步並發聲	非常粗糙，豎立的皮毛，異常姿勢（豎起），眼睛看上去乾燥，渾濁，並且不跟隨人或物體的移動，將鼻子壓在地面上，站立時不會抬起頭，劇烈的口呼吸，喘氣呼吸困難
未受刺激行為	正常行為模式	微小變化；少醒著，少玩玩具，鼓勵時玩	行為異常，行動不便，機敏性下降，不活躍	不請自來的發聲，不是非常躁動就是不動，呼氣不安
對外部刺激的行為反應（感覺遲鈍/感覺過敏）	正常（預期條件下的行為反應正常）	輕微壓抑/誇張的反應（疼痛或觸覺反應）	中度異常反應，行為中度變化（疼痛或觸覺反應）	對刺激有劇烈反應，或處於昏迷前狀態的非常虛弱的肌肉反應（疼痛或觸覺反應）

(參考網站：<https://ivapm.org/professionals/pain-scale-piglets/>)

使用上述條件評估動物的手術後情況：

得分 6-7：繼續監控病情下降。可以使用止痛藥

得分 8（手術後 1-24 小時）：需服用止痛藥

得分 9（手術後 48 小時以上）：額外的疼痛處理，抗生素，血液採樣和/或應該考慮平衡體液

得分 10-11：建議實施安樂死

(十一) 魚類疼痛程度評估表

評估項目	輕度疼痛	中度疼痛	重度疼痛
外觀	無異常	鱗片掉落、出現斑點、輕微出血、輕微嘔吐	身體潰瘍、傷口裸露、極端瘦弱、靜置魚缸底
呼吸(鰓蓋開關)	有規律	時有時無規律	完全無規律非常快或停止，
進食(胃口)	無異常	減少攝取食物	無法攝食
游動	正常	緩慢、不平衡或其他異常游動	非常異常或甚至靜止
臨床症狀	不引起不適或緊迫	極小的不適或緊迫，需事先用藥麻醉或緩解措施)	中、重程度的緊迫或疼痛，需事先麻醉並給予適當的後續處理
動物操作	僅單純撈取及放回、飼育、交配、產蛋等及早期的胚胎研究(<7dpf)	1.剪魚鰭 2.尾鰭植入標示用的 chip、tag、elastomer 或上色 3.人工取出魚卵/精子 4.各種手術包括(眼窩注射注射、腹腔注射、刮取麟片、皮膚及鰓做病理檢查等) 5.其他需要手術後恢復及暫時特殊照料的實驗步驟	1.化學性誘變處理(如ENU處理) 2.切除/凍傷小部分心臟 3.重度感染

(參考文獻Westerfield, M. (2007) THE ZEBRAFISH BOOK, 5th Edition; A guide for the laboratory use of zebrafish (Danio rerio), Eugene, University of Oregon Press. Paperback. (4th Edition available online))

附錄 1-2 疼痛程度評估及止痛計畫表

一、實驗鼠與兔止痛計畫

依據附錄 1-1，5 種評估項目進行疼痛程度給分

項目	正常	輕微疼痛	中度疼痛	重度疼痛
疼痛程度給分	0 分	1 分	2 分	4 分
分數加總	0-4	5-9	10-14	15-20
止痛計畫	無	提供止痛藥品，每 24 小時重新評估動物狀態	提供止痛藥品，每 8-12 小時重新評估動物狀態。連續 3 次此區分數，考慮給予安樂死。	提供止痛藥品，若 4 小時內無法緩解動物疼痛，考慮給予安樂死。

註：若單一項目達 4 分，應立即啟動止痛計畫。

止痛藥品使用(對應更新的疼痛分類表)

1. 小鼠

輕度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1)	中度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1、D2)	重度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D2、E)
局部麻醉劑 Lidocaine 1-3 mg/kg, Percutaneously, duration 30-60 minutes	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine 2 mg/kg (1-3 drops), duration 2-4 hours (與全身性止痛合併使用)	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine (與全身性止痛合併使用)
Butorphanol 1–2 mg/kg, SC, once	Buprenorphine 0.05–0.1 mg/kg, SC, q 8–12 h	Buprenorphine* 0.05–0.1 mg/kg, SC, q 8–12 h
Ketoprofen 2–5 mg/kg, SC, once	Ketoprofen 2–5 mg/kg, SC, q 24 h	Ketoprofen# 2–5 mg/kg, SC, q 24 h
Carprofen 5 mg/kg, SC, once	Carprofen 5 mg/kg, SC, q 24 h	Carprofen # 5 mg/kg, SC, q 24 h
Meloxicam 5 mg/kg, SC, PO, once	Meloxicam 5 mg/kg, SC, q 24 h	Meloxicam# 5 mg/kg, SC, q 24 h
		Morphine 2–5 mg/kg, SC, q 2–4 h

2. 大鼠

輕度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1)	中度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1、D2)	重度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D2、E)
局部麻醉劑 Lidocaine/ 1-3 mg/kg, Percutaneously, duration 30-60 minutes	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine 2 mg/kg (1-3 drops), duration 2-4 hours (與全身性止痛合併使用)	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine (與全身性止痛合併使用)
Butorphanol 2 mg/kg, SC, once	Buprenorphine 0.05 mg/kg, SC, q 6-12 h	Buprenorphine* 0.05 mg/kg, SC, q 6-8 h
Ketoprofen ≤3 mg/kg, SC, once	Ketoprofen ≤3 mg/kg, SC, q 24 h	Ketoprofen# ≤3 mg/kg, SC, q 24 h
Carprofen 5 mg/kg, SC, once	Carprofen 5 mg/kg, SC, q 24 h	Carprofen # 5 mg/kg, SC, q 24 h
Meloxicam 1 mg/kg, SC, once	Meloxicam 1-2 mg/kg, SC, q 24 h	Meloxicam# 1-2 mg/kg, SC, q 24 h
		Morphine 2.5-10 mg/kg, SC, q 2-4 h

3. 倉鼠

輕度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1)	中度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1、D2)	重度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D2、E)
局部麻醉劑 Lidocaine/ 1-3 mg/kg, Percutaneously, duration 30-60 minutes	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine 2 mg/kg (1-3 drops), duration 2-4 hours (與全身性止痛合併使用)	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine (與全身性止痛合併使用)
Butorphanol 1-5 mg/kg, SC, once	Buprenorphine 0.05-0.5 mg/kg, SC, q 8-12 h	Buprenorphine* 0.05-0.5 mg/kg, SC, q 8-12 h
Ketoprofen 5 mg/kg, SC, once	Ketoprofen 5 mg/kg, SC, q 24 h	Ketoprofen# 5 mg/kg, SC, q 24 h
Carprofen 5 mg/kg, SC, once	Carprofen 5 mg/kg, SC, q 24 h	Carprofen # 5 mg/kg, SC, q 24 h
Meloxicam 1 mg/kg, SC,	Meloxicam 1-2 mg/kg, SC,	Meloxicam# 1-2 mg/kg, SC,

once	q 24 h	q 24 h
		Morphine 10 mg/kg, SC, q 2-4 h

4. 沙鼠

輕度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1)	中度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1、D2)	重度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D2、E)
局部麻醉劑 Lidocaine/ 4 mg/kg (do not exceed 7 mg/kg total dose), Percutaneously, duration 30-60 minutes	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine 2 mg/kg (1-3 drops), duration 4-8 hours (與全身性止痛合併使用)	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine (與全身性止痛合併使用)
Butorphanol 1-5 mg/kg, SC, once	Buprenorphine 0.1-0.2 mg/kg, SC, q 8-12 h	Buprenorphine* 0.1-0.2 mg/kg, SC, q 8-12 h
Ketoprofen 2-5 mg/kg, SC, once	Ketoprofen 2-5 mg/kg, SC, q 12-24 h	Ketoprofen# 2-5 mg/kg, SC, q 12-24 h
Carprofen 5 mg/kg, SC, once	Carprofen 5 mg/kg, SC, q 12-24 h	Carprofen # 5 mg/kg, SC, q 12-24 h
Meloxicam 0.5 mg/kg, SC, once	Meloxicam 0.5-1 mg/kg, SC, q 24 h	Meloxicam# 0.5-1 mg/kg, SC, q 24 h
		Morphine 5-10 mg/kg, SC, q 2-4 h

5. 天竺鼠

輕度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1)	中度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1、D2)	重度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D2、E)
局部麻醉劑 Lidocaine/ 4 mg/kg (do not exceed 7 mg/kg total dose), Percutaneously, duration 30-60 minutes	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine 2 mg/kg (1-3 drops), duration 4-8 hours (與全身性止痛合併使用)	局部麻醉劑 Lidocaine/ Bupivacaine (與全身性止痛合併使用)
Butorphanol 2 mg/kg, SC, once	Buprenorphine 0.05 mg/kg, SC, q 8-12 h	Buprenorphine* 0.05 mg/kg, SC, q 8-12 h
Ketoprofen 1 mg/kg, SC, once	Ketoprofen 1 mg/kg, SC, q 12-24 h	Ketoprofen# 1 mg/kg, SC, q 12-24 h

Carprofen 4 mg/kg, SC, once	Carprofen 4 mg/kg, SC, q 24 h	Carprofen # 4 mg/kg, SC, q 24 h
Meloxicam 0.5 mg/kg, PO, once	Meloxicam 0.1–0.3 mg/kg, SC, q 24 h	Meloxicam# 0.1–0.3 mg/kg, SC, q 24 h
		Morphine 2-10 mg/kg, SC, q 2–4 h

嚴重疼痛或緊迫時，合併不同種類止痛藥比只用單一藥物效果更佳，例如合併使用鴉片類藥物與非類固醇類消炎藥：Buprenorphine* + Ketoprofen #或 Buprenorphine* + Meloxicam#。

6. 兔

輕度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1)	中度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D1、D2)	重度疼痛或緊迫 (對應疼痛等級D2、E)
局部麻醉劑 Lidocaine < 2 mg/kg, Percutaneously, duration 30-60 minutes / Bupivacaine < 2 mg/kg (1-3 drops), duration 2-4 hours	局部麻醉劑 Bupivacaine (與全身性止痛合併使用)	局部麻醉劑 Bupivacaine (與全身性止痛合併使用)
Ketoprofen 3 mg/kg, SC, once	Buprenorphine 0.01-0.05 mg/kg, SC,IM,IV, q 6–12 h	Buprenorphine 0.05 mg/kg, SC,IM,IV, q 6–12 h
Butorphanol 0.1-0.5 mg/kg, IM,IV, q 4 h	Butorphanol 0.1-0.5 mg/kg, IM,IV, q 4 h	Morphine 2–5 mg/kg, SC, q 2–4 h
Carprofen 4.0 mg/kg, SC, 1.5 mg/kg, PO, once	Carprofen 4.0 mg/kg, SC, q 24 h 1.5 mg/kg, PO, q 12 h	Fentanyl patch 25 μ g/h Transdermal q 72 h
Meloxicam 0.2-0.3 mg/kg, SC, PO, once	Meloxicam 0.3–1.5 mg/kg, PO, q 24 h	

(參考文獻：

1. Dennis F Kohn et al. (2007) Guidelines for the Assessment and Management of Pain in Rodents and Rabbits. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science Vol 46, No 2, 97–108)
2. Fish, R.E. et al. Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. 2nd Edition. 2008. Elsevier Inc.
3. Formulary for Laboratory Animals, 3rd Ed. 2005.

二、疼痛評估表範例

大小鼠疼痛評估記錄表

操作內容：		日期：		執行人員：		評估日期：	
IACUC No.:		動物品系：		動物週齡：		動物性別：	♂/♀

評估項目		分數	動物編號/術前體重(克)				
			/	/	/	/	/
體重	正常	0					
	A.體重減少原體重的 10%以下	1					
	B.體重減少原體重的 10-25%	2					
	C.體重減少原體重的 25%以上	4					
外觀	正常，眼眶乾淨	0					
	短暫的拱背，或部分毛髮豎起或傷口潮濕	1					
	持續性(超過 10 分鐘)拱背或異常姿勢，或明顯毛皮粗剛，或出現口鼻分泌物，或傷口紅腫潰爛	2					
	間歇性(10 分鐘以內)拱背或異常姿勢，或明顯毛皮粗剛並伴隨其他症狀(如拱背、遲鈍反應及行為)，或傷口持續出血、化膿	4					
臨床症狀	正常	0					
	呼吸異常，短暫的流涎，或震顫，或皮膚失去彈性(輕微脫水)	1					
	呼吸異常，間歇性(10 分鐘以內)震顫、痙攣，或皮膚回復慢(中度脫水)，或間歇性的弄濕下頷附近的皮毛，或沉鬱臥倒(1 小時以內)	2					
	呼吸異常，持續性(超過 10 分鐘)震顫、痙攣，或皮膚回復慢與眼窩凹陷(重度脫水)，或持續性的弄濕下頷附近的皮毛，或沉鬱臥倒(超過 1 小時)	4					
無刺激時 一般行為	正常	0					
	活力輕微下降	1					
	活力明顯下降	2					
	自殘，或持續走動繞圈，或持續睡眠，或無法行動	4					
對刺激的 反應	正常	0					
	輕微出現沉鬱/興奮反應，仍有警覺性	1					
	明顯出現沉鬱/興奮反應，仍有警覺性	2					
	反應過激有攻擊性，或昏迷，對刺激完全沒反應	4					
總分			0-20				
止痛劑給 予	Buprenorphine mg/kg						
	Ketoprofen/ Carprofen/ Meloxicam mg/kg						
	其他：						
其他說明							
觀察者	簽名/時間						

獸醫師/試 驗負責人 判定	簽名/時間 人道犧牲與否					
正常：0~4 分						
輕度疼痛：體重 A，5~9 分。 提供止痛藥品，每 24 小時重新評估動物狀態。						
中度疼痛：體重 B，10~14 分。 提供止痛藥品，每 8-12 小時重新評估動物狀態。連續 3 次此區分數，考慮給予安樂死。						
重度疼痛：體重 C，15~20 分。 提供止痛藥品，若 4 小時內無法緩解動物疼痛，建議給予安樂死。						

附錄 3-1

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。