

國立屏東科技大學實驗動物健康照護(監測)計畫

113年03月17日第十四屆IACUC第4次會議通過

一、依據

本校實驗動物健康照護(監測)計畫乃依據行政院農業委員會「實驗動物照護及使用指引-預防醫學計畫指導原則」(107.06.22 頒布)訂定之。

二、目的

進行預防醫學相關實驗時，藉由維持實驗動物的健康，減少因疾病和隱性感染等與計畫無關之變因，提高實驗動物的研究價值，減少實驗動物浪費，以及降低可能對動物福祉造成的影響。

三、執行人員

(1) 獸醫師：

實驗動物照護及使用小組(以下簡稱照護小組)應賦予獸醫師足夠權限、提供資源及巡視所有實驗動物飼養環境之權利義務，確保實驗動物健康。

(2) 動物實驗申請者：

依據申請案內容確實執行，如實驗動物有異常現象，應盡速通報照護小組，並與獸醫師討論做後續處理。

(3) 實驗動物照護人員：

依據實驗動物種類生活模式進行每日照護，如有異常現象，應通報申請者、獸醫師及照護小組進行處理。

四、照護(監測)項目

1. 運輸：

(1) 動物運輸機構應遵守國內、外動物運輸相關法規。

(2) 動物運輸得仔細規劃，以確保動物的安全和福祉。運輸過程中得提供適當等級的動物生物保全措施。為移動的安全性，得提供適當的裝載及卸載設施以維護動物福祉及人員安全。

(3) 進行不同場所或機構間動物移動作業時，得由雙方機構具備受訓資格的人

員執行規劃及協調的工作，以縮短運輸時間或避免發生接收延誤的狀況。動物運輸得協調儘量在上班時間送抵，若要於非上班時間送抵，要安排接收人員。動物運輸時得隨附相關文件，以減少運送及接收程序延誤。

(4)相關設施及作業程序得事先備妥，以協助確認運輸作業環境無任何會對動物福祉或人員安全構成威脅的狀況。

2. 檢疫：

(1) 獸醫人員應建立檢疫策略，以評估新進動物的健康，可參考文件：國立屏東科技大學 實驗動物的健康評估(附件-1)。

(2) 如果需進行檢疫程序，不同批次運送的動物得分開處理，或在運輸過程中以實體措施將之隔離，以避免感染物質在不同群體中相互傳染。

3. 照護觀察：

實驗動物照護人員應至少每天一次進行實驗動物外觀、行為、活動力等觀察，以確保實驗動物健康無虞；如實驗動物為手術後恢復期、生病或身體有缺陷或臨近實驗終點時，則需較頻繁的照護觀察。

4. 疾病預防：

(1) 使用者如果發現飼養的動物中，有疑似傳染病/人畜共通傳染病之動物，請立即通知獸醫師或工作人員。

(2) 傳染病-為防止病原擴散，不得移動該可疑動物，獸醫師將儘速確診病因，如有必要，需將該動物隔離或安樂死，並將該飼育室(區)封鎖、消毒，同時公告通知本中心之使用者。

(3) 人畜共通傳染病-應當儘速採取適措施，將感染動物隔離、安樂死。並將發病區徹底封鎖消毒，同時公告通知本中心之所有使用者，以防病原擴散。

5. 診斷及治療：

(1) 實驗動物每日照護觀察，發現其行為、外觀、活動力等項目異常時，應儘速與獸醫師討論進行異常項目評估診斷，由獸醫師提供建議治療方式。

(2) 實驗動物如顯現出罹患感染性疾病之症狀時，得將其與健康的實驗動物隔離，若已知或疑似整個房舍或實驗動物居留設施遭受病原污染時，在進行疾病診斷治療與控制期，得將該族群實驗動物保留於原處。

6. 安樂死：

人道安樂死是一種人道宰殺動物的動作，此方式可以在無痛苦或焦慮的狀態下迅速將動物導入無知覺及死亡的狀態。人道安樂死可以被規劃在實驗計畫終止時執行，或者是當止痛劑、鎮靜劑、或其他治療都無法減輕疼痛或緊迫

時所採用的方法。

人道安樂死指導原則：

- (1) 選擇安樂死所使用的方法會依所涉及的動物物種、動物年齡、和實驗目的而定。除非有科學或醫學理由，安樂死措施應符合國內動物保護法規所列之安樂死指導原則。
- (2) 獸醫師與實驗動物照護及使用委員會或小組應規劃及核可安樂死方法。
- (3) 安樂死動物對有些動物照護者、獸醫師和研究人員會造成心理上的壓力，主管委派工作時應留意此議題。
- (4) 動物死亡的狀態應由受過足以辨識該種動物生命終止跡象訓練的人員進行判斷。得使用輔助性的安樂死方法，以確保動物的死亡。

可參考文件：國立屏東科技大學 人道實驗終止時機(附件-2)、國立屏東科技大學 不可做為安樂死之主要方式的物質與方法(附件-3)及國立屏東科技大學-適用之安樂死方法(附件-4)。

五、其他

未詳列之項目請遵從行政院農業委員會「實驗動物照護及使用指引」進行。

六、本計畫經IACUC會議決議後送行政會議核備，修正時亦同。

國立屏東科技大學 實驗動物的健康與疾病監測

一、臨床觀察

體態分級：body condition score 將動物體態由瘦至胖進行體態分級，基本評估方式包括以目視及觸摸方式在脊椎、肋骨、骨盆等處察覺骨骼突起之難易程度、肌肉附著程度及脂肪肥厚程度，一般而言可分五級：等級 1 為極度消瘦動物，可目視察覺全身各處骨骼明顯突出，且缺乏皮下脂肪及肌肉附著。等級 2 為消瘦動物，經觸摸可輕易察覺脊椎、肋骨及骨盆之突出。等級 3 為標準體態動物，各部位骨骼突出及脂肪肥厚程度依物種略有不同，評估時應以該物種之 BCS 圖表為準。等級 4 為肥胖動物，可見到原本在標準體態下能目視察覺之骨骼突起變得較不明顯，觸摸時需稍微按壓才能感覺到骨骼突起。等級 5 為極度肥胖動物，目視可以見到動物肥大圓滾、因脂肪累積而缺乏正常體態應有之凹凸曲線，即使按壓仍然難以摸到或無法摸到脊椎、肋骨及骨盆等突起。

活動力：正常動物應警醒且富有活力，能對外界刺激迅速反應。身體不適之動物可能呈現睡眠惺忪、雙眼緊眯、不願移動、移動速度緩慢、動作姿勢不正常，對外界刺激反應遲緩或過度敏感等。

毛髮/羽毛：異常狀況如雜亂不平整、質地改變、斷裂、脫毛、油膩、顏色黯淡或灰白化。

皮膚：紅腫發炎、潰瘍、膿瘍、開放性傷口、皮屑、水腫、繭皮、水泡、皮疹、壞死。

眼睛：眼屎過多、淚斑、眼瞼紅腫、角膜/結膜炎、青光眼、白內障、鞏膜偏黃(黃疸)、眼球突出、眼球脫出、眼眶凹陷、眼瞼緊閉或無法閉合、虹膜對光反應異常。

耳朵：破損、紅腫發炎、耳垢過多、耳疥蟲。

鼻子：鼻涕、鼻水、流鼻血。

尾巴：末梢壞死、異常彎折/捲曲、咬傷、斷裂。

外陰部/性器官：異常分泌物、異常贅生物、紅腫、陰道/陰莖脫垂、陰囊/睪丸腫大。

黏膜等：如無色素，正常應為濕潤粉紅色，貧血時呈蒼白，缺氧時呈藍紫色(發紺)，黃疸時偏黃色。可按壓齒齦以觀察微血管回充時間(capillary refilling time, CRT)，犬貓正常 CRT 為 1.5 秒，如回充時間延長，顯示動物有效循環血量不足，處於休克或即將發生休克。可詳如參考：國立屏東科技大學 實驗動物的健康與疾病監測表(附件-1-1)

二、人員教育訓練

飼育員及研究人員接觸動物前，應對所使用或照護的物種有基礎了解，包括解剖構造、基礎生理、習性需求、相關人畜共通傳染病等，並學習正確之飼養、操作、保定及安樂死方式，以免產生實驗偏差、損害動物福祉，或危害人員安全。

三、動物取得

為確保實驗動物品質及一致性，應優先自專門培育實驗動物之合法供應商購買。例如國家實驗動物中心提供之大小鼠及倉鼠等。如利用野生動物進行實驗，必須依野生動物保護法規定向行政院農業委員會申請核可。動物運輸過程中，須妥善固定運輸容器，提供遮陽避雨並考慮動物密度及通氣狀況。

四、適應及檢疫

從供應商或其他單位取得動物之後，應讓動物對於新環境的一切，包含飼料適口性、墊料種類、飲水、環境之溫度、濕度、光照、音量及飼育員操作方式等有一段時間的適應期，待動物生理及心理達到適應平衡狀態後，再進行實驗操作。

若從動物健康狀態不明或與本單位動物健康狀態相異的單位引進動物，為避免將未知病原

引入隔離區內，導致疾病傳染與蔓延，應針對該動物進行適當的隔離檢疫作業；一般多採取隔離檢疫，即利用硬體設施來區隔新進動物與現有動物。各機構可依檢測的疾病種類自行訂定檢疫期間長

資料參考：中華動物學會 2018 實驗動物科學(基礎篇)

國立屏東科技大學 實驗動物的健康評估表

實驗動物設施名稱： _____

動物檢疫期間： _____

| | | | |
|---------|---|--|--|
| 體態分級 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 等級 1 為極度消瘦動物，可目視察覺全身各處骨骼明顯突出，且缺乏皮下脂肪及肌肉附著。 | <input type="checkbox"/> 等級 2 為消瘦動物，經觸摸可輕易察覺脊椎、肋骨及骨盆之突出。 |
| | <input type="checkbox"/> 等級 3 為標準體態動物，各部位骨骼突出及脂肪肥厚程度依物種略有不同，評估時應以該物種之 BCS 圖表為準。 | <input type="checkbox"/> 等級 4 為肥胖動物，可見到原本在標準體態下能目視察覺之骨骼突起變得較不明顯，觸摸時需稍微按壓才能感覺到骨骼突起。 | <input type="checkbox"/> 等級 5 為極度肥胖動物，目視可以見到動物肥大圓滾、因脂肪累積而缺乏正常體態應有之凹凸曲線，即使按壓仍然難以摸到或無法摸到脊椎、肋骨及骨盆等突起。 |
| 活動力 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 睡眠惺忪、 | <input type="checkbox"/> 雙眼緊眯、 |
| | <input type="checkbox"/> 不願移動、 | <input type="checkbox"/> 移動速度緩慢 | <input type="checkbox"/> 動作姿勢不正常 |
| | <input type="checkbox"/> 對外界刺激反應遲緩 | <input type="checkbox"/> 過度敏感 | |
| 毛髮/羽毛 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 雜亂不平整 | <input type="checkbox"/> 質地改變 |
| | <input type="checkbox"/> 斷裂 | <input type="checkbox"/> 脫毛 | <input type="checkbox"/> 油膩 |
| | <input type="checkbox"/> 顏色黯淡 | <input type="checkbox"/> 灰白化 | |
| 皮膚 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 紅腫發炎 | <input type="checkbox"/> 潰瘍 |
| | <input type="checkbox"/> 膿瘍 | <input type="checkbox"/> 開放性傷口 | <input type="checkbox"/> 皮屑 |
| | <input type="checkbox"/> 水腫 | <input type="checkbox"/> 繭皮 | <input type="checkbox"/> 水泡 |
| | <input type="checkbox"/> 皮疹、 | <input type="checkbox"/> 壞死 | |
| 眼睛 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 眼屎過多 | <input type="checkbox"/> 淚斑 |
| | <input type="checkbox"/> 眼瞼紅腫 | <input type="checkbox"/> 角膜/結膜炎 | <input type="checkbox"/> 青光眼 |
| | <input type="checkbox"/> 白內障 | <input type="checkbox"/> 鞏膜偏黃(黃疸) | <input type="checkbox"/> 眼球突出 |
| | <input type="checkbox"/> 眼球脫出 | <input type="checkbox"/> 眼眶凹陷 | <input type="checkbox"/> 眼瞼緊閉 |
| | <input type="checkbox"/> 無法閉合 | <input type="checkbox"/> 虹膜對光反應異常 | |
| 耳朵 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 破損 | <input type="checkbox"/> 紅腫發炎 |
| | <input type="checkbox"/> 耳垢過多 | <input type="checkbox"/> 耳疥蟲 | |
| 鼻子 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 鼻涕、 | <input type="checkbox"/> 鼻水、 |
| | <input type="checkbox"/> 流鼻血 | | |
| 尾巴 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 末梢壞死 | <input type="checkbox"/> 異常彎折/捲曲 |
| | <input type="checkbox"/> 咬傷 | <input type="checkbox"/> 斷裂 | |
| 外陰部/性器官 | <input type="checkbox"/> 正常 | <input type="checkbox"/> 異常分泌物 | <input type="checkbox"/> 異常贅生物 |
| | <input type="checkbox"/> 紅腫 | <input type="checkbox"/> 陰道/陰莖脫垂 | <input type="checkbox"/> 陰囊/睪丸腫大 |
| 黏膜等 | <input type="checkbox"/> 如無色素，正常應為濕潤粉紅色 | <input type="checkbox"/> 貧血時呈蒼白 | <input type="checkbox"/> 缺氧時呈藍 |

| | | | |
|----|---------------------------------|---------------------------------|--|
| | <input type="checkbox"/> 紫色(發紺) | <input type="checkbox"/> 黃疸時偏黃色 | |
| 其他 | <input type="checkbox"/> 異常，說明： | | |

獸醫師簽章：

日期：

設施負責人簽章：

日期：

國立屏東科技大學人道實驗終止時機

用在研究及測試之動物，有可能因為實驗操作，如藥物引發之疾病、操作處理及毒理測試等而產生疼痛感覺。PHS 政策及AWRs 中均有規定聲明，即任何操作程序如會對動物所造成非暫時性的或非屬於程度輕微之疼痛或焦慮時，則在操作執行時，應給予適當之鎮靜、止痛或麻醉藥物。然而在有些特定之狀況，因為給予這類藥物會影響實驗操作及結果，因而無法對動物施予藥物，以減輕控制疼痛或焦慮之狀態。為此，聯辦法規有要求由 IACUC 去判斷這種無法避免的不舒適感受，僅能出現在執行有價值之科學研究工作的動物身上，而這種無法減輕解除之疼痛或焦慮，僅能讓其發生在為完成實驗目的所必須經歷之過程中。

而PHS政策及AWRs更進一步聲明，如動物必須承受嚴重或長期性之疼痛或焦慮，且因實驗關係而無法以藥物加以減輕者，當在完成程序時，或在程序進行時適當的時機中，應隨即以無痛方式結束其生命。

人道實驗終止時機之訂定

為避免對動物產生一些無法忍受之疼痛及焦慮，或提前終止這類因試驗操作所引發之感受，研究人員有必要在設計實驗時，事先設計規劃出動物試驗操作結束之時間點，這個時間點或標準即稱之為人道實驗終止時機。有關人道實驗終止時機的一個重要觀點為，因為訂了實驗終止時機，所以實驗可能會在比較早之時間結束，但不可因此而影響到實驗之完整性。也就是說在訂定實驗終止時機時，必須符合實驗之目的。最理想之狀態為在疼痛或焦慮感受尚未形成之前，找到一個時間點作為實驗終止之時機。

另外一個很重要之觀念為當體內生理機能發生重大變化時，而動物無法去克服適應，此時加諸於動物身上之緊迫會變成焦慮感受，此種狀況即會危害到動物之健康福祉。如果預期實驗操作過程會對動物產生疼痛及焦慮時，則應在計劃內容中將對應措施詳細列出，包含何時或如何來減輕此種感受。

而在計劃書中亦應將人道實驗終止時機的判斷原則，以文字敘述方式列出。當實驗進行時，研究人員即可依此原則判定何時應將動物自實驗操作中移除、照料並施以安樂死。計劃書中亦應明確的指出下列原則，包含應由誰來負責決定動物應被施以安樂死或照料，而在例假日時當實驗負責人不在之情況下，前述之動物處理程序的程序。

儘管有些實驗可能不會有疼痛或焦慮之狀況產生，然在每一計劃書中亦應規劃設計因應計劃，以處理一些不預期發生之狀況。

規劃及執行人道實驗終止時機，往往可以降低或減輕疼痛及焦慮之嚴重性，並可縮短

其發生之時間。我們可以設計一份臨床觀察評鑑項目表格，並依此定義出實驗研究操作結束之時機。**在某些特定實驗模式中，評分表可以被用以記錄辨識臨床症狀及實驗狀況。**經測試後，如確認單一或多個臨床觀察症狀確實對現行實驗終止時機之判定是有效的，則可運用這些條件來建立更早之人道實驗終止時機或運用在更多計畫之人道實驗終止時機之訂定上。

人道實驗終止時機之建立及落實執行，有賴於研究人員，獸醫師及動物管理人員三方面之合作努力，才能獲得最佳之成效。

瀕臨死亡狀態作為實驗終止時機

所謂之**瀕臨死亡狀態 (Moribund)**指“將死之狀態”或“死亡的那一刻”。因此**瀕臨死亡狀態**，可以做為某類實驗之人道實驗終止時機，例如實驗會導致嚴重疾病狀態者，或具較高死亡率之實驗者。對瀕臨死亡之動物施行安樂死處置可以避免將更多的疼痛及焦慮感受加諸予動物身上。

依數據資料為基礎所規劃建立之瀕臨死亡的標準，可讓研究人員在動物衰竭死亡前，即時對動物執行安樂死處置。FDA 之測試管制準則中，允許研究人員對瀕死動物施以安樂死處置。但須注意的是此一措施並無法解除動物達到瀕臨死亡之過程中所承受之痛苦及焦慮。而另一件需注意的事項為死亡狀態非為一般毒物實驗測試分析所要求之必要結果，但動物通常會在實驗過程中死去。若能建立一套制度以偵測出瀕臨死亡之動物，並及時予以安樂死處置，如此當可減少自然死亡之動物數目。此一制度除了可以減少動物可能遭受之痛苦及焦慮外，有些組織或生物標本亦可在安樂死處理過之瀕死動物身上獲取，反之若放任讓動物自然死亡，則取得這些樣本之機會就減少很多了。

許多臨床徵候是可以作為瀕臨死亡動物之判斷指標。這些典型之徵候包含下列幾種現象：

- 行動能力出現障礙，致使動物無法獲取食物及飲水；
- 體重失重過多或消瘦；
- 身體或精神感官反應遲頓；
- 呼吸困難；
- 無法保持站立姿態。

應增加對瀕臨死亡動物之觀察次數，以便能夠及時地偵測到徵候，並施行安樂死處理。如預期會有較高之死亡率或罹病率發生，則建議應對這類動物每日至少觀察二次。如果察覺動物身體狀況無法支撐到下次觀察之時間，則應將動物作妥善之處理。如果某一實驗狀況會經常會發現有動物死亡之情形，則應將探視觀測之頻度增加，以減少自然死亡動物之

數量。在對瀕死動物或遭受極端痛苦之動物施行安樂死時，在操作上應更加小心，以免帶給動物額外之疼痛及焦慮。

其他研究之人道實驗終止時機

被運用在腫瘤實驗、開發癌症治療新技術、及評估某類藥物致癌可能之實驗動物，可能會感受到疼痛及焦慮。在進行腫瘤實驗時，應適時的對動物實施觀測，以便在動物出現健康惡化或死亡狀態時作出必要之處置。在訂定監控制度及終止時機時，亦應考量腫瘤大小及腫瘤相關疾病對動物之影響。一些生理生化數據、或其他生物標記之變異會比臨床徵候在判定實驗終止時機較為明確客觀些。

經由遺傳工程改造之動物模式，體內往往會出現非預期或無法預測之異常生理機能，此可能會對動物健康福祉造成負面之影響，因此研究人員應研擬對策以因應這類狀況之發生。各機構應建立一套有系統之基因表現型篩選程序，有效率地評估動物之利用價值，適時決定動物之去留。IACUC 應對這類研究計劃加以監控，確信研究人員是以積極與有效率之方式在處理動物福祉相關之問題。

當進行感染性實驗時，動物在疾病演變過程中會感受到極度之疼痛或焦慮。由實驗資料顯示在感染演變過程，早期出現之生理或生化數值之變化，可當作人道實驗終止時機判定之依據，這些會比利用死亡或瀕死狀況作為實驗終止時機來得好些。例如在染疾之啮齒類動物，其體溫若出現異常下降，這即為早期死亡之微候。另外疫苗力價測試試驗往往會將感染物質接種在具免疫抵抗力之動物身上。以往這類測試通常是以動物死亡比例來評估疫苗是否具有保護之效果，然而現今之法規已允許對瀕死動物施行安樂死處置。

毒性測試

用於毒性測試之動物，當藥物毒性效用開始出現時，動物個體會感受到疼痛及焦慮。依毒性測試之法規規定，在不會影響測試結果之前提下，可以給予動物減輕疼痛及焦慮之醫療措施。事實上，因為止痛劑經常會對測試結果造成負面的影響，因此極少數之動物在進行毒性測試時會被給予止痛之藥物。一旦試驗結束後，則會立即將動物處以安樂死，以減輕其所承受之疼痛與不安。

現行之管理法規要求在進行毒性試驗時，若動物呈現疼痛或有嚴重焦慮不安之情狀時，則必須將動物處以安樂死，而不能讓動物在受難之狀況下存活至計劃結束。在進行毒性試驗時，應建立與執行人道實驗終止時機，以減少動物疼痛及不安。

以死亡作為實驗終止點

在許多不同試驗中，長久以來均以死亡作為實驗終止之時機，究其原因主要在於死亡現象提供了一種客觀且不具爭議之辨別參數。以死亡作為實驗終止時機之測試活動有：癌症試驗、感染性疾病測試、及其他動物試驗，尤其是法規測試項目（例如藥物安全／效能實驗）。因為有越來越多之民眾對此一提之關注，以及新法規之頒訂，導致此措施被要求重新評估及修訂。多數關注之重點主要來自於以傳統 LD₅₀ 之標準來進行化學物及藥物之急性毒性測試實驗。現今有關急性毒物測試之規定允許對瀕死之動物以安樂死方式處理，而非讓其自然死去。對動物施以安樂死的另一優點，在於可以提供品質較佳之組織標本，以供後續分析之用，同時也可將動物可能遭受之苦難加以解除。因而不論就科學或道德觀點而言，人們漸漸傾向於使用安樂死而非以死亡為實驗終止之時機。

通常都不鼓勵以死亡作為實驗終止之時機，若有必要採用此一措施，計畫負責人需在申請文件中針對其必要性加以澄清解釋。研究人員在設計試驗計畫時，務必要考慮死亡以外之狀況作為試驗結束之時機；較正確之做法為取得必要之實驗數據結果時，即應終止實驗之執行，並對動物進行後續之照護及處置。若是以死亡作為實驗終止時機，則須以文字敘述在計畫書中加以解釋，並且要經 IACUC 核准後方得開始計畫之執行。

表 A. 針對具有致死性之試驗，可採用的實驗結束時機

| 實驗終止時機 | 特徵 | 試驗種類 |
|---------------------|--|--------------------|
| 腫瘤產生或其引發之狀況 | 腫瘤重量超過個體體重 10%；或有壞死、感染、潰瘍等狀況出現，而影響正常活動與進食行為者 | 皮下或腹腔接種腫瘤細胞或融合細胞 |
| 長期食慾不振或精神萎頓之狀況 | 體重減重過劇（超過正常體重 20%）的情況 | 代謝性疾病；長期性之感染性疾病試驗； |
| 無能力進行活動 | 長期坐臥靜止不動 | 許多種類之試驗 |
| 健康狀況變差是因為體內器官或系統造成的 | 呼吸系統：出現急促或呼吸困難症狀、咳嗽、囉音 | 毒性測試或系統性之疾病 |
| | 心臟血管系統：休克、出血、過敏反應 | |
| | 胃腸系統：嚴重下痢及嘔吐症狀 | |
| | 週圍神經系統：弛緩型或痙攣型之癱瘓 | |
| | 中樞神經系統症狀；旋轉、失明、瘋狂、抽搐 | |

| | | |
|----------------|--------------------------------------|----------------|
| 持續出現體溫狀過低之狀態 | 就啮齒類動物而言體溫降低4~6°C | 感染性疾病試驗；疫苗效力試驗 |
| 瀕臨死亡或接近瀕臨死亡之狀態 | 依照特殊之臨床徵狀將瀕臨死亡之狀態予以定義，當達到此狀況時即將動物安樂死 | 許多種類之試驗 |

以上資料參考

1. 『機構動物管理及使用委員會作業手冊』(2007版,106-111 頁)
2. ARENA/OLAW IACUC Guidebook, 2002

說明: PHS (Public Health Service美國公共衛生署)

AWRs(animal warefare動物福利政策)

國立屏東科技大學 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 Buring | 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。 |
| 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 | 大量失血導致動物焦慮及暴躁，放血(採血)致死僅適用於動 |
| Exsanguination | 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嚙齒類；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 |

參考資料來源：行政院農業委員會實驗動物照護及使用指引(2017年6月22日)

國立屏東科技大學 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 | ○ | ○ | × | × | × | × |
| 深度麻醉後頸椎脫臼 | ○ | ○ | × | × | × | × |
| 動物清醒中直接斷頭 | ★ | ★ | × | × | × | × |
| 動物清醒中直接頸椎脫臼 | ★ | × | × | × | × | × |
| 電昏後放血致死 | × | × | × | × | × | × |

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、鹿、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 (氫氣、氮氣) | ○ (豬) | |
| Barbiturate 注射液, 靜脈注射 (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、鹿) 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、鹿) 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 |

| | | |
|------------------------|---|--|
| | | <p>建議為 50~60Hz(一般電源即符合)才能有效停止心臟跳動。</p> <p>3.電擊致死後須確認動物已為死亡狀態。</p> |
| 一次電擊致死 | <p>○ (豬、羊、鹿)</p> <p>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。</p> | <p>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。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p>4.電擊致死後須確認動物已為死亡狀態。</p> |
| 人道擊昏槍 + 放血或腦破壞致死 | <p>○ (豬、羊、鹿、牛、馬)</p> <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>○ 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>1.家畜有效擊昏之判定基準：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。</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 | 95% ethanol(不可使用70%之ethanol)。 |
| Eugenol, isoeugenol clover oil | 濃度 ≥ 17mg/L，浸泡至少10分鐘, Isoeuge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。 |
| Tricainemethanesulfonate (MS-222, TMS) | buffered solution, 濃度 250~500mg/L 浸泡至少10分鐘。 |
| 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。 |
| 急凍法 (1隻1公斤以下者得採用冷凍法) | 2度C~ 4度C 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,較適用於斑馬魚及其他小型熱帶魚,不適用殆中大型魚。 |

(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。

≤5dpf 之斑馬魚胚及≤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 | ≤4% |
| 二、物理性方法 | |
| 斷頭 | |
| 急凍法 | 快速置於-70。C 冷凍 |

參考資料來源：行政院農業委員會實驗動物照護及使用指引(2017年6月22日)

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 浸泡致少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(1-2meq/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 | 1.依動物種類選擇適當擊昏槍 | ○ | ○ | | ○ |

| | | | | | |
|------------------------|---|---|--|--|--|
| <p>或使用撞擊槍 破壞腦部</p> | <p>及撞擊部位進行擊昏作業。 1.擊昏動物後，應於15秒內切斷主要動脈，放血致死。2.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>電昏後放血</p> | <p>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。</p> | ○ | | | |
| <p>一次電擊致死</p> | <p>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。</p> | ○ | | | |

參考資料來源：行政院農業委員會實驗動物照護及使用指引(2017年6月22日)