

實驗動物的安樂死及動物實驗的終點 (第二版, 2008) 周京玉撰寫

一、前言

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、恐懼，並在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
- 當動物的疼痛與窘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）

一般而言，選擇安樂死的藥物與方法有幾項準則：

- 使動物無疼痛、窘迫、焦慮、不安地失去知覺直到死亡
- 減少動物從失去知覺至死亡所耗費的時間
- 藥物與方法的可靠性
- 對操作人員的安全性
- 不可逆性
- 對操作和觀察人員情緒上的影響
- 對不同品種、年齡與健康狀況動物的適合性
- 對不同實驗需求和目的的適合性
- 設備的取得及維護的便利性
- 對環境的衝擊
- 人濫用藥物的潛在性

針對不同品種的動物或實驗可選擇不同的安樂死方法，本文僅參考國內外相關文獻、人道考量，以及實際執行之可行性，建議國內實驗動物的安樂死方法。文中“建議使用”的安樂死方法，是指研究顯示該方法可達到動物的人道死亡，另“有條件的可使用”的安樂死方法，這表示這些方法可能因技術本身、人為失誤或安全危害，恐無法一貫地達到動物的人道死亡，而在科學文獻中亦尚無完整的評估報告，“不建議使用的方法”是指這些方法無法使動物以人道方式死亡，亦恐導致人員的安全危害，不應選擇作為動物安樂死的方法。如研究人員選擇使用“有條件的可使用”方法進行實驗動物安樂死時，必須提出合理的科學需求及依據，由機構之動物實驗管理小組評估，並且僅能在具備科學研究之必要性及確認無其他替代方案可使用時，再經委員會核准後執行。

二、評估動物實驗的終點

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，如其已失去部份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 (pain) 或窘迫 (distress) 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 (end points)，除非安樂死確實影響實驗結果，並經過動物實驗管理委員會審核同意，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前，以人道的方式解決。安樂死不但可以解決動物遭受嚴重疼痛，並可透過完整的屍體解剖更進一步了解動物的生理狀態，有助於實驗之進行。

以下為常用來作為動物實驗終點的評估項目。除非有科學研究之必要性，並經過動物實驗管理委員會核准，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。各機構的動物實驗管理委員 (IACUCs)、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 end points)、以及何時執行動物安樂死等方面共同擬定該機構之政策。

1. 體重下降：快速失去原體重的 15-20%、或成長期動物持續無增重、未監測體重但動物呈現惡病質及持續性肌肉消耗時。
2. 食慾不振：小型齧齒類動物於 24-36 小時、大型動物於 5 天完全不進食時，或者小型齧齒類動物於 3 天、大型動物於 7 天僅攝食少量食物時（僅攝取部分之正常需求）。
3. 虛弱：無法自行攝食及飲水，人員需先排除是否為麻醉後動物甦醒期，再評估是否因疾病或實驗等因素導致動物虛弱。
4. 身體器官的感染：呈現物理性指標及異常的血檢值，對藥物治療無良好反應且持續演變為全身性疾病時。
5. 腫瘤：生長超過動物原體重的 10%，平均腫瘤直徑在小鼠超過 20mm、在大鼠超過 40mm，或者腫瘤轉移或快速增長至潰爛，造成感染或壞死時。
6. 其他：器官臟器的失能，對治療無反應，或由機構獸醫師評估為癒後極差者，如：
 - (1) 呼吸道系統：嚴重呼吸道感染、呼吸困難、發疳。
 - (2) 循環系統：嚴重貧血、無法控制的出血現象、(PVC 低於 15%)、黃疸。

- (3) 消化道系統：疾病或實驗造成嚴重持續性嘔吐或下痢、阻塞、腸套疊、腹膜炎、腹圍擴大。
- (4) 泌尿生殖系統：腎衰竭、腹腔積尿。
- (5) 肌肉骨骼系統：肌肉損傷、骨骼受損、四肢無法行走。
- (6) 神經系統：異常的中樞神經反應（抽搐、顫抖、癱瘓、歪頭等）、無法有效控制疼痛。
- (7) 其他：持續性的自殘行為、不癒合的傷口、嚴重影響動物進食飲水的病症、傳染性疾病末期、持續性低溫、明顯的器官及五官功能損傷、動物遭受窘迫及疼痛時的行為及生理現象等（參考 Morton and Griffiths 的五項評估）

三、人員訓練

動物能否安詳地死亡，操作人員是關鍵因素之一。各機構的動物實驗管理委員(IACUCs) 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裡輔導，以舒緩操作人員可能的心理緊迫。

四、避免造成存活動物的恐懼感

窘迫的叫聲、恐懼的行為、驚嚇動物的費洛蒙氣味等，皆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。

五、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。

六、輔助執行安樂死

動物安樂死首要考量為解除動物的疼痛與窘迫，因此面對神經質或難以駕御的動物，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。

七、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。人員需檢查動物的心跳是否完全停止、瞳孔是否放大。停止呼吸的單一現象不能作為判斷動物是否死亡的依據，因為動物往往先停止呼吸，數分鐘之後才停止心跳，在使用二氧化

碳進行安樂死時尤其明顯。另外，兔子與雞會憋氣，因此需延長吸入二氧化碳的時間。

八、動物屍體處理

執行動物安樂死及處理屍體的人員必須了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。

九、安樂死的藥物與方法

選擇動物安樂死的方法，取決於動物品種、大小、溫馴度、對疼痛與窘迫的感受性、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）直接使腦神經失去機能。（3）物理性崩解腦部活動並破壞腦神經。

（一）、吸入性藥劑

1. 常用藥劑如 halothane、isoflurane、enflurane、sevoflurane、乙醚等。

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、一氧化氮易導致成癮等，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窘迫。爬蟲類、兩棲類、水禽類及水中哺乳類善於憋氣，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。

缺點：由於汽化的麻醉劑有刺激性，麻醉誘導期動物可能出現掙扎及焦慮。乙醚具有易燃、易爆的性質，較不建議使用。如研究人員選擇使用乙醚進行動物的安樂死時，必須提出合理的科學需求及依據，由機構之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。操作過程需全程在抽氣櫃內操作，操作後也必須將動物屍體置於防爆冰櫃內。

建議：使用 halothane、isoflurane、enflurane、sevoflurane 等藥劑於體重小於七公斤的動物。以低濃度誘導麻醉後轉入高濃度（5%），使動物迅速失去意識。乙醚須於嚴格控制的條件下使用，一氧化氮不應單獨使用，大型動物除緊急狀況之外，不建議使用。

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% 時動物的疼痛閥值上升，愈高的二氧化碳濃度有愈快的麻醉效果，但是也有研究顯示動物快速暴露於高濃度二氧化碳時對部分動物造成窘迫。

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窘迫，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，應使用高濃度的二氧化碳進行安樂死。齧齒類動物於其原飼養籠內吸入二氧化碳安樂死時較少窘迫或焦慮現象。

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，以二氧化碳安樂死食用動物時，組織內無二氧化碳囤積。在老鼠，使用二氧化碳安樂死不會改變 cholinergic marker 或 corticosterone 濃度。

缺點：由於二氧化碳較空氣重，容器內未灌滿時動物往往將頭部抬高而難以迅速死亡。有些品種的動物，如穴居的魚類、水中哺乳類、新生齧齒類動物，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窘迫。

建議：對於適當的動物品種，宜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。動物裝入容器內時，勿過度擁擠，且勿同時混入不同品種的動物。以低濃度誘導後轉入高濃度，使動物迅速失去意識。當動物呈現死亡狀態後再持續灌注氣體至少數分鐘，將動物從安樂死容器取出前務必確認動物的死亡，如動物未死亡，則立刻使用其他方法（如開胸）完成安樂死。

（二）、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窘迫與恐懼，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，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。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。

1. 巴比妥鹽及其衍生物 (Barbiturates)

它是動物安樂死的首選藥物。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。

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麻醉性喘氣反應，因此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。

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。

2. Chloral hydrate

緩慢壓制大腦，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、吠叫。

建議：有條件性的使用於大型動物安樂死，動物須先藥物鎮定後靜脈注射本藥劑，由於副作用大，不建議使用於貓狗及其他小型哺乳動物。

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) 存於暗咖啡色容器冷凍保存。以 >250mg/L 的稀釋溶液進行安樂死。魚類安樂死須待魚鰓靜止不動後，再繼續浸泡十分鐘。

4. Benzocaine HCl

類似 TMS 的成分，加入水中用來安樂死兩棲類與魚類。Benzocaine 不溶於水，使用丙酮或乙醇製作原液（stock solution），而 Benzocaine HCl 溶於水，可直接使用於麻醉或安樂死，安樂死的濃度為 $>250\text{mg/L}$ 。

（三）、物理性方法

包括頸椎脫臼、斷頭、放血、槍擊、電擊等。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；對於禽類，雙手抓取脖子扭斷；對於仔兔，一手抓頭，另一手抓後肢，將身體迅速拉長，使頸椎脫離頭顱。

優點：能使動物快速失去意識，無化學藥劑污染生體組織，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，以減低動物的窘迫。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。

2. 斷頭

此方法用來執行小型齧齒類動物或仔兔的安樂死。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）可提供大鼠與仔兔的斷頭，而銳利的斷頭台刀刃亦可作為仔鼠斷頭之用。

優點：能使動物快速失去意識，無化學藥劑污染生體組織，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，並經機構的動物實驗管理委員會核准後執行。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 (decapicone) 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。

2. 放血

已經失去意識或擊昏後的動物，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。如因研究所須採取動物血液，則必須先擊昏或麻醉動物後執行，並避免不完整放血，以免動物甦醒。

十、參考文獻

1. AVMA Guidelines on Euthanasia.2007.American Veterinary medical Association.
2. Alternatives to Animal Testing on the Web (2004). Humane Endpoints database. <http://altweb.jhsph.edu/refinement/sections/euthanasia.htm>
3. Euthanasia of Reptiles in New Zealand: Current Issues and Methods. B.D.(Brett) Gartrell, E.J.(Ted) Kirk. Kokako 2005 ; 12(1) : 12-15.
4. Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publication. 2000.
5. Guidelines on: Choosing an appropriate Endpoint in Experiments Using Animals for Research, Teaching and Testing. Canadian Council on Animal Care. 1998.
6. Guidelines for Endpoints in Animal Study Proposals Introduction.
7. Humane Endpoints and Cancer Research. James Wallace. ILAR Journal 2000 ; Vol 41(2). Available from URL: http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/41_2/index.shtml
8. Humane Endpoints for Genetically Engineered Animal Models. Melvin B. Dennis, Jr. . ILAR Journal 2000 ; Vol 41(2). Available from URL: http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/41_2/index.shtml
9. <http://www.ahc.umn.edu/rar/euthanasia.html>

10. Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook. 2nd ed. 2002. OLAW.
11. NIH Intramural Research Program's Guideline on Fetal and Neonatal Mouse and Rat Euthanasia.
12. Recommendation for Euthanasia of Experimental Animals: Part 1. Working Party Report. *Laboratory Animals* 1996 ; 30, 293-316.
13. Recommendation for Euthanasia of Experimental Animals: Part 2. Working Party Report. *Laboratory Animals* 1997 ; 31, 1-32.
14. Review of Schedule 1 of the Animals (Scientific Procedures) Act 1986. Appropriate methods of Humane Killing. Animal Procedure Committee. 2006.

表 1. 啮齒類動物安樂死方法

方 法	胚胎鼠 ¹	01-06 日齡	07-14 日齡	<200g	>200g	備 註
二氧化碳	∅	∅	V	V	V	1. 使用高壓桶裝二氧化碳 2. 執行時，儘可能在遠離動物飼養房的非公開場所進行 3. 7-14 日齡動物吸入時間約 20 分鐘，14-21 日齡約 10 分鐘
Halothane, Isoflurane, Enflurane, Sevoflurane, Desflurane,	∅	∅	V	V	V	1. 須具備汽化器等專用設備，並設計合適的可透視性密閉容器，以易於觀察動物 2. 大部分的吸入性藥劑對人體有害，需在通風良好場所執行 3. 麻醉誘導期動物可能出現掙扎及焦慮，且死亡所需時間較久
Pentobarbital Na, 100-150mg/kg. IP, IV	∅	∅	V	V	V	1. 屬於管制藥品，須先申請核准 2. 人員須備有保定動物及注射的技術
麻醉後放血	∅	∅	∅	V	V	1. 放血不完整或心臟採血不完整時，動物可能會甦醒 2. 人員須備有相關技術
麻醉後斷頭	V	V	V	V	V	1. 人員須備有相關技術 2. 仔鼠需以銳利的外科剪刀斷頭，其他則使用斷頭台
低溫麻醉後斷頭	V	V	∅	∅	∅	將仔鼠放置標本杯（非 petri dish），浸入冰漿中約二十分鐘，以減少腦部活性及血流
麻醉後頸椎脫臼	∅	∅	∅	V	□	人員須備有相關技術
麻醉後注射 KCl. 2meq/kg, IV	∅	∅	∅	V	V	人員須備有靜脈注射的技術
清醒中動物斷頭	V	V	□	□	□	1. 人員須備有相關技術 2. 仔鼠需以銳利的外科剪刀斷頭，其他使用斷頭台
清醒中動物頸椎脫臼	∅	∅	∅	□	□	人員須備有相關技術
乙醚	∅	∅	□	□	□	乙醚具有易燃、易爆的性質，對呼吸道黏膜刺激性強，如因實驗需求而使用乙醚，則需全程在抽氣櫃內操作，動物屍體需置於防爆冰櫃內

V：建議使用的方法。∅：不建議使用的方法。□：有條件的可使用的方法，如研究人員選擇使用該方法為實驗動物進行安樂死時，必須提出合理的科學需求及依據，由機構之動物實驗管理小組進行評估，並且僅能在具備科學研究之必要性及確認無其他替代方案可使用時，經委員會核准後執行。

IP：腹腔注射。IV：靜脈注射。

胚胎鼠 1: 小鼠、大鼠、倉鼠大於懷孕 15 日的胚胎；天竺鼠大於懷孕 35 日的胚胎

表 2. 二氧化碳安樂死啮齒類動物操作方法

1. 儘可能將老鼠放在原飼養籠內移出進行安樂死，以降低老鼠的焦慮與恐懼。
2. 勿預先灌注二氧化碳於飼育籠或箱內。
3. 二氧化碳壓力閥調整約 4-8 psi，勿過度快速灌注
4. 灌注約 5-10 分鐘，直到動物不呼吸、不動。7 日齡以上幼鼠須延長灌注時間至 10-20 分鐘以上。
5. 關閉二氧化碳，繼續觀察老鼠確定不動至少 2 分鐘。7 日齡以上幼鼠須延長觀察時間至 15 分鐘以上。
6. 打開蓋子，確認動物死亡：觸碰老鼠的胸腔，確定無心跳，觸碰眼球，確定無眼瞼反射（眨眼）。
7. 如動物接觸空氣開始呼吸或蠕動，則立刻繼續灌注二氧化碳至少 5-10 分鐘，或者迅速用剪刀剪開胸腔或斷頭（執行過程中須確定動物無意識）。

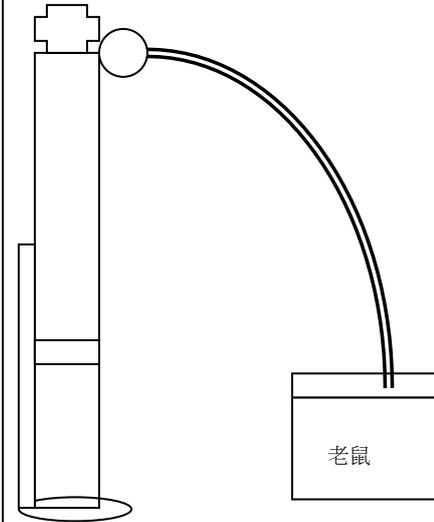


表 3. 兔子安樂死方法

方法	懷孕>15 日胚胎	01-10 日齡	<1kg	1-5kg	備註
Pentobarbital Na. 100mg/kg. IP,IV	∅	∅	V	V	1. 屬於管制藥品，須先申請核准 2. 兔子容易驚嚇，人員須溫和的保定兔子 3. 靜脈注射為最佳選擇
麻醉後放血	∅	∅	V	V	1. 如放血或心臟採血不完整，動物可能會甦醒 2. 人員須備有相關技術
麻醉後注射 KCl (2meq/kg), IV	∅	∅	V	V	人員須備有靜脈注射的技術
麻醉後斷頭	V	V	V	□	1. 人員須備有相關技術 2. 使用刀刃銳利的斷頭台
麻醉後頸椎脫臼	∅	∅	V	∅	人員須備有相關技術
Halothane, Isoflurane, Enflurane, Sevoflurane, Desflurane,	∅	∅	V	V	1. 須具備汽化器等專用設備，並設計合適的可透視性密閉容器，以易於觀察動物 2. 大部分的吸入性藥劑對人體有害，需在通風良好場所執行 3. 麻醉誘導期動物可能出現掙扎及焦慮
二氧化碳	∅	∅	V	□	1. 使用高壓桶裝二氧化碳 2. 由於兔子易憋氣，需延長吸入時間 3. 體重較重的兔子，於吸入初期可能出現緊迫焦慮反應，較不建議使用 4. 執行時，儘可能在遠離動物飼養房的非公開場所進行 5. 如動物過度緊張，可給予適量鎮定劑後執行，唯需注意鎮靜後動物呼吸變慢，必要時需延長吸入時間
清醒中動物斷頭	V	V	□	□	1. 人員須備有相關技術 2. 使用刀刃銳利的斷頭台
清醒中動物頸椎脫臼	∅	∅	□	∅	人員須備有相關技術

V：建議使用的方法。∅：不建議使用的方法。□：有條件的可使用的方法，如研究人員選擇使用該方法為實驗動物進行安樂死時，必須提出合理的科學需求及依據，由機構之動物實驗管理小組進行評估，並且僅能在具備科學研究之必要性及確認無其他替代方案可使用時，經委員會核准後執行。

IP：腹腔注射。IV：靜脈注射。

表 4. 二氧化碳安樂死兔子操作方法

1. 將兔子放入透明容器內。
 2. 二氧化碳壓力閥調整至 8 psi 灌注。
 3. 灌注約 8-10 分鐘，直到兔子不呼吸、不動
 4. 關閉二氧化碳，繼續觀察確定不動至少 10 分鐘。
 5. 打開蓋子，確認動物死亡：觸碰兔子的胸腔，確定無心跳；觸碰眼球，確定無眼瞼反射（眨眼）。
 6. 如兔子接觸空氣開始呼吸，則立刻繼續灌注二氧化碳至少 10 分鐘，或者迅速用剪刀剪開胸腔或斷頭（執行過程中須確定動物無意識）。
- 注意事項：**兔子耐低溫環境，如僅靠呼吸停止或不完整的放血後，將兔子置於冰櫃，數十分鐘後動物可能甦醒，需注意。

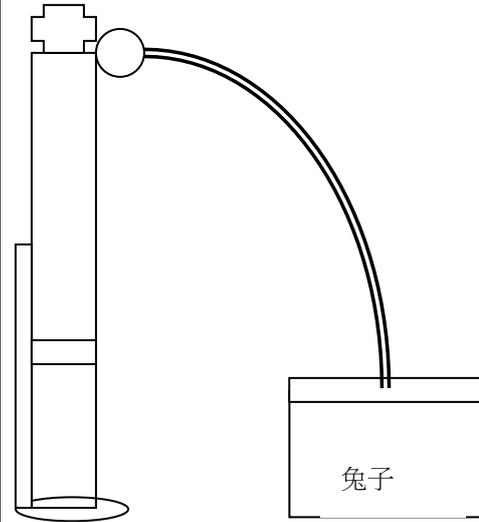


表 5. 中大型動物安樂死方法

方法	懷孕期 > 30 % 胚胎	狗	貓	貂	非人類 靈長類	農場動物 (豬.馬.牛.羊)	備註
Pentobarbital. 100mg/kg. IV	∅	V	V	V	V	V	1. 屬於管制藥品，須先申請核准 2. 人員須備有靜脈注射相關技術 3. 如動物難以保定，先給予鎮定劑
Pentobarbital Na. 100mg/kg. IP	∅	∅	V	V	∅	∅ (初生仔豬例 外)	1. 屬於管制藥品，須先申請核准 2. 人員須備有靜脈注射相關技術 3. 如動物難以保定，先給予鎮定劑
深度麻醉後放血	∅	V	V	V	V	V	1. 放血前，確定動物已進入深度麻 醉 2. 人員須備有相關技術 3. 猴子麻醉後放血，並配合灌流， 以免放血不完整
深度麻醉後注射 KCl (2meq/kg), IV	∅	V	V	V	V	V	1. 注射 KCl 前，確定動物已進入深 度麻醉 2. 人員須備有靜脈注射的技術
斷頭	V	∅	∅	∅	∅	∅	大型農場動物的胚胎，於懷孕後期 體型變大，處理上建議比照成年動 物
電擊後放血	∅	∅	∅	∅	∅	V	1. 電擊動物至昏厥，之後立刻大量 放血 2. 人員須備有相關技術
Halothane, Isoflurane, Enflurane, Sevoflurane, Desflurane,	∅	V	V	V	∅	∅	1. 須具備汽化器等專用設備，並設 計合適的可透視性密閉容器，以 易於觀察動物 2. 大部分的吸入性藥劑對人體有 害，需在通風良好場所執行 3. 麻醉誘導期動物可能出現掙扎 及焦慮 4. 建議使用於體重低於 7 公斤的動 物

V：建議使用的方法。∅：不建議使用的方法。□：有條件的可使用的方法，如研究人員選擇使用該方法為實驗動物進行安樂死時，必須提出合理的科學需求及依據，由機構之動物實驗管理小組進行評估，並且僅能在具備科學研究之必要性及確認無其他替代方案可使用時，經委員會核准後執行。

IP：腹腔注射。IV：靜脈注射。

表 6. 其他脊椎動物安樂死方法

方法	魚類 ¹	兩棲類 ²	爬蟲類 ³	鳥類 ⁴	備註
MS-222 (使用濃度 >250 mg/L)	V	V	∅	∅	1. 魚類安樂死須待魚鰓靜止不動後，再繼續浸泡十分鐘。 2. 盡量保持恆定的水溫，以減低對動物的緊迫
Pentobarbital Na. (100-150mg/kg) IV, IP	V	V	V	V	1. 屬於管制藥品，人員須先申請核准 2. 人員須備有注射相關技術 3. 如動物難以保定，先給予鎮定劑
Benzocaine(使用濃度 >250 mg/L)	V	V	∅	∅	類似 TMS 的成分，加入水中用來安樂死兩棲類與魚類。Benzocaine 不溶於水，使用丙酮或乙醇製作 stock solutio，而 Benzocaine HCl 溶於水，可直接使用於麻醉或安樂死
麻醉後斷頭	□	V	V	V	1. 大魚較難以執行 2. 斷頭後需立刻摧毀頭顱
麻醉後頸椎脫臼	∅	∅	∅	V	在鳥禽類適用於 <3kg 動物
將軀體浸泡至 0.1% MS-222 溶液約 30 分鐘後斷頭	V	V	∅	∅	
麻醉後 -70°C 冷凍	V	V	∅	∅	在魚類常用於斑馬魚
麻醉後腦脊髓雙穿刺	□	V	V	□	人員需具備相關技術
吸入性麻醉藥： Halothane, isoflurane, enfluran	V	∅	□ V	V	使用設計良好的容器或口罩，在小型爬蟲類可迅速達到死亡，但是對於極耐憋氣的爬蟲類如烏龜類 (terrapin, tortoises, turtles) 難以執行
二氧化碳	∅	∅	V	V	1. 使用於出生 72 小時內的雛雞較佳 2. 需注意不同品種爬蟲類的缺氧耐受性

V：建議使用的方法。∅：不建議使用的方法。□：有條件的可使用的方法，如研究人員選擇使用該方法為實驗動物進行安樂死時，必須提出合理的科學需求及依據，由機構之動物實驗管理小組進行評估，並且僅能在具備科學研究之必要性及確認無其他替代方案可使用時，經委員會核准後執行。IP：腹腔注射。IV：靜脈注射。

1: 魚類 Larvae：oviparous 體外孵化; ovoviviparous 體內孵化; viviparous 胎生。無論任何一種，孵化後的小魚皆比照成熟個體處理。尚未孵化的胎生魚，則注射或浸泡母魚安樂死。

2: 兩棲類 Larvae：置於含有 MS-222 或 Benzocaine 溶液的盤子安樂死。

3: 爬蟲類 Embryo：剛孵化的爬蟲類比照成熟個體處理，無胚胎的蛋或孵化早期（懷孕 <20%）直接冷凍；有胚胎的蛋於孵化後期（懷孕 >20%）需打破蛋殼取出胚胎，注射 Pentobarbital，或者以物理性方法破壞腦部致死。

4: 鳥類 Embryo：孵化後期 50%（約第十四、十五天）胚胎感覺疼痛，需以 <4°C 四小時冷凍致死，必要時再斷頭以確定死亡。如蛋胚已進行實驗，則採用個別斷頭法或 Pentobarbital 注射過量致死。

表 7. 脊椎動物禁止使用的安樂死方法

方 法	說 明
空氣注射	此法導致動物痙攣、角弓反張和哀號
打擊頭部	大多數動物皆不被接受
燒死	無論化學或加熱燒死，大多數動物皆不被接受
Chloral hydrate	狗、貓以及小型哺乳動物不被接受
氯仿 (Chloroform)	具有肝毒性且潛在的致癌性，有害於人體
氰化物 (Cyanide)	極有害於人體
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，因此需較長時間才達到呼吸停止 (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
溺斃	溺斃不是安樂死的方法亦不人道
放血 (採血) 致死	大量失血導致動物的焦慮及暴躁，因此放血(採血)致死僅於動物已鎮靜、暈倒或麻醉後使用
福馬林	直接將動物浸泡於福馬林是不人道的的方法
家庭用產品或溶劑	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、等任何居家用產品，皆不得使用為安樂死藥劑
低溫致死	此法不是恰當的動物安樂死方法
神經肌肉阻斷劑	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，皆使動物於呼吸抑制(暫停)後才失去意識，因此動物在無法動彈後亦需遭受一段時間的痛苦和窘迫
快速冷凍	單一使用此法不人道，如因實驗所需選用此法，動物需先深度麻醉
窒息	將雛雞或幼鳥於袋子或容器內悶死是不被接受的方法
馬錢子素 (Strychnine)	此藥劑造成動物的劇烈痙攣和痛苦的肌肉抽搐
打暈	此法可導致動物失去知覺，但不是動物安樂死法(初生仔獸例外)。如使用此方法，需立刻確認動物的死亡
Tricaine methane sulfonate (TMS, MS 222)	食用動物勿用此藥劑進行安樂死