

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

一、疼痛評估指導原則

在執行及設計動物實驗時，動物疼痛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及死亡率，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。

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 spinothalamic tract(身體脊髓丘腦)傳達到 trigeminal tract(腦部三叉神經)，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，以下的敘述及表格制定主要根據斑馬魚、鱒魚、鯉魚及鮭魚等的研究，其他魚種則依其特性評估。

(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、跛行、異常攻擊性、尖叫、夾緊腹部、脈搏和呼吸次數上升)。
- 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。
- 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 cortisol 量增加(鱒魚、斑馬魚)。
- 尾部異常擺動(tail beating) (斑馬魚)。
- 在底部來回滾動(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	僅單純養於人為的飼育環境，無實驗進行	無不良反應
C. 極小的不適或緊迫，不需用藥緩解	1. 注射(靜脈、皮下、肌肉、腹腔)、口服 2. 採血(不包含眼窩採血等動物需鎮靜之方法) 3. 短時間禁食或禁水 4. 完整的麻醉 5. 被核准的安樂死方法	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. 麻醉中插管 2. 全身麻醉下進行次要存活性手術 3. 全身麻醉下進行非存活性手術 4. 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
D2. 中等至嚴重程度的緊迫或疼痛，需給予適當的藥物緩解	1. 在全身麻醉下進行主要存活性手術 2. 長時間的物理性保定 3. 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 4. 誘導解剖學或物理學異常造成的疼痛或緊迫輻射性病痛	1. 行為異常 2. 不整理皮毛 3. 脫水 4. 不正常的喊叫 5. 長時間的食慾不振 6. 循環系統之瓦解 7. 極度倦怠或不願移動

	5.藥物或化學物損害動物體的生理系統	8.中等至嚴重程度的局部或全身性感染
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 及獸醫人員謹慎監督)	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 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 3.未麻醉情形下使用麻痺或肌肉鬆弛劑 4.燒燙傷或大規模皮膚創傷 5.任何會造成接近疼痛閾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) 6.未經 IACUC 核准的安樂死方法	1.自我孤立 2.社會化行為嚴重退縮 3.休息或睡眠增加 4.嚴重的食慾不振 5.動物外表的顯著改變 6.極度倦怠 7.垂死

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(眼窩注射注射、腹腔注射、括取鱗片、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 (pain) 或緊迫 (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、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)、動物實驗終點的評估項目

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(IACUC)、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。

(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(IACUC)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。

(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。

(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、爬蟲類等易憋氣，因此需做前處理後，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。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。

(七)、動物屍體處理

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。

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 *間歇性的弄濕下顎附近的皮毛 *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 *持續性弄濕下顎附近的皮毛 *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	*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 *間歇性的弄濕下顎附近的皮毛 *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 *持續性弄濕下顎附近的皮毛 *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	*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 *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 45-75%	*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%以下，或食慾不振超過 72 小時
外觀	*皮毛狀況 *身體姿勢	*局部掉毛 *短暫的拱背，特別是在投藥後	*明顯皮毛粗糙，脫毛 *間歇性的拱背	*明顯皮毛粗糙，並伴隨其他症狀如拱背、遲鈍反應及行為 *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（特別是在處理動物的時候） *無 *無	*間歇性的呼吸異常 *間歇性的弄濕下顎附近的皮毛 *間歇性 *間歇性（每次 10 分鐘以下） *短暫的（1 小時以下）	*持續性的呼吸困難 *持續性的弄濕下顎附近的皮毛 *持續性的 *持續性的（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（若每次超過 3 小時，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 *發出正常音頻的叫聲	*與群體的互動較少 *受刺激的時候發出間歇性的、悲傷的、沉鬱的叫聲	*沒有任何的互動行為 *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 *短暫的拱背，特別是在投藥後	*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 *無	*間歇性 *間歇性（每次 10 分鐘以下） *短暫的（1 小時以下）	*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 *間歇性的弄濕下顎附近的皮毛 *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 *持續性的弄濕下顎附近的皮毛 *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 *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，兩隻耳朵不對視轉動。	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	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)
	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	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)
	臉頰肌肉放鬆	臉頰肌肉部分緊縮	臉頰肌肉緊縮
耳 朵	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)
	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)
	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	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)
	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	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)	(參考之圖片， 請參閱下列參考文獻)
	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)

Appendix 1: Definition and Examples of USDA Pain and Distress Categories

Category B	Category C	Category D	Category E
Animals being bred, acclimatized, or held for use in teaching, testing, experiments, research, or surgery but not yet used for such purposes. Non-invasive observation only of animals in the wild.	Animals that are subject to procedures that cause no pain or distress, or only momentary or slight pain or distress and do not require the use of pain-relieving drugs.	Animals subjected to potentially painful or stressful procedures for which they receive appropriate anesthetics, analgesics and/or tranquilizer drugs.	Animals subjected to potentially painful or stressful procedures that are not relieved with anesthetics, analgesics and/or tranquilizer drugs. Withholding anesthesia/analgesia must be scientifically justified in writing and approved by the IACUC.
Example	Examples	Examples	Examples
<ol style="list-style-type: none"> 1. Animals being bred or housed, without any research manipulation, prior to euthanasia or transfer to another protocol 2. Observation of animal behavior in the wild without manipulating the animal or its environment 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Holding or weighing animals in teaching, outreach or research activities 2. Observation of animal behavior in the lab 3. Ear punching of rodents 4. Tail snips in mice ≤ 21 days old 5. Peripheral Injections, blood collection or catheter implantation 6. Feed studies, which do not result in clinical health problems 7. Routine agricultural husbandry procedures approved by the IACUC in a protocol or SOP 8. Live trapping 9. Positive reward training or research 10. Chemical restraint 11. Research procedures that involve no potential increase in pain or distress on client owned animals that are undergoing Clinical procedures (ex: drawing extra blood, choice of antibiotics). 12. Exposure to alterations in environmental conditions (not extreme) with appropriate conditioning and microenvironment 13. Food restriction that reduces the animals weight by no more than 20% of normal age matched controls 14. AVMA approved euthanasia procedures 15. Euthanasia of breeding animals or unused offspring 16. Exsanguination with anesthesia 17. Perfusion with anesthesia 18. Unknown genetically engineered phenotype 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Survival surgery 2. Non-survival surgical procedures 3. Laparoscopy or needle biopsies 4. Retro-orbital blood collection 5. Exposure of blood vessels for catheter implantation 6. Induced infections or antibody production 7. Tattooing 8. Exposure of skin to UV light to induce sunburn 9. Tail snips in mice > 21 days old Research procedures that could potentially increase pain or distress (ex: anesthesia/analgesia studies) on client owned animals that are undergoing Clinical procedures. 11. Genetically engineered phenotype that causes pain or distress that will be alleviated 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Toxicological or microbiological testing, cancer research or infectious disease research that requires continuation after clinical symptoms are evident without medical relief or require death as an endpoint 2. Ocular or skin irritancy testing 3. Food or water deprivation beyond that necessary for ordinary pre-surgical preparation 4. Application of noxious stimuli such as electrical shock that the animal cannot avoid/escape 5. Any procedures for which needed analgesics, tranquilizers, sedatives, or anesthetics must be withheld for justifiable study purposes 6. Exposure to extreme environmental conditions 7. Euthanasia by procedures not approved by the AVMA 8. Paralysis or immobilization of a conscious animal 9. Genetically engineered phenotype that causes pain or distress that will not be alleviated

Reference: <http://compliance.vpr.okstate.edu/acuc/USDA%20Pain%20Levels.doc>

Appendix 2: Clinical Signs of Pain or Distress

Species	Clinical Signs of Pain
Rodents, rabbit	<ol style="list-style-type: none"> 1. Avoidance, vocalization and aggressiveness (mainly if the animal cannot escape) 2. Spontaneous activities are reduced. The animal is isolated from the social group 3. Altered gait 4. Hunched posture 5. Pilo-erection 6. Reduced grooming; dark-red stain around the eyes and at nostrils 7. Reduced appetite and subsequent weight loss 8. Increased respiration rate 9. Failure to explore cage when disturbed
Cat, dog	<ol style="list-style-type: none"> 1. Avoidance, vocalization, eyebrow movements, escape and aggressiveness 2. Spontaneous activities are reduced. The animal is isolated from the social group 3. Apathy, anxiety, plaintive 4. Altered gait 5. Nibbling, licking, scratching, rubbing 6. Eyes are semi-closed 7. Head shaking (ear pain) 8. Reduced appetite and subsequent weight loss
Swine	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tolerate manipulations 2. Lying down more frequently, immobile 3. Aggressive vocalization and behavior 4. Altered gait 5. Increased muscle tension around the eye 6. Pilo-erection 7. Reduced appetite (sometimes) 8. Reluctance to move
Ruminants	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vocalization 2. The animal is isolated from the social group 3. Lying down more frequently, immobile 4. Apathy, depression 5. Altered gait, lameness 6. Increased respiratory rate (abdominal pain) or shallow respiration 7. Cessation of rumination; teeth grinding, dorsal lip-curling (goats) 8. Loss of appetite (partially or totally) 9. Tucked abdomen
Birds	<ol style="list-style-type: none"> 1. Inappetence 2. Wasting 3. Ruffled feathers 4. Altered gait or posture 5. Rapid open mouth breathing (panting) 6. Dull eyes
Horses	<ol style="list-style-type: none"> 1. Reluctance to handling (acute pain) 2. Restlessness 3. Anxious appearance with dilated pupils 4. Ears drawn back, flat to head 5. Rigid stance 6. Profuse sweating 7. Kicking at abdomen (abdominal pain) 8. Flehman-like lip posturing