

MANUAL DE ANESTESIA E ANALGESIA DO BIOTÉRIO DA UNIFAL-MG

1 - ANESTESIA EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO

A preocupação com o bem-estar dos animais utilizados na pesquisa científica tem aumentado significativamente, tanto com o intuito de diminuir a dor e o sofrimento animal como também para melhorar a qualidade dos resultados experimentais.

Existe uma gama de agentes anestésicos e analgésicos disponíveis para uso em animais de laboratório, contudo considerações criteriosas devem ser feitas para a escolha do melhor agente, visto que a seleção de determinado agente anestésico ou técnica anestésica dependerá de vários fatores, alguns deles relacionados diretamente às interações potenciais com o protocolo de pesquisa e a sua capacidade de produzir a adequada profundidade anestésica. Também devem ser levados em consideração alguns fatores práticos, como a experiência do pessoal envolvido e a disponibilidade dos equipamentos necessários. Independentemente do método escolhido, deve-se ter em mente que os dois objetivos principais da anestesia são evitar a dor e proporcionar contenção humanitária.

A seleção de um método de anestesia que apresente menor probabilidade de interferir em determinado protocolo de pesquisa talvez seja uma das tarefas mais difíceis. O pesquisador deve ter conhecimento dos efeitos fisiológicos que tais anestésicos proporcionam, para tentar minimizar interações entre a técnica anestésica e o protocolo de pesquisa. É importante ter em mente que nenhum agente anestésico é ao mesmo tempo totalmente efetivo e seguro.

Para a escolha da melhor técnica anestésica, alguns questionamentos relevantes devem ser realizados:

- Qual a duração e a profundidade da anestesia desejada?
- Qual é o grau de analgesia produzido?
- A qualidade da anestesia é satisfatória?
- Há interação específica com o protocolo experimental?
- Existem requisitos legais e/ou regulamento para controle de narcóticos?
- É uma técnica de fácil realização?

- É confiável e reproduzível?
- É reversível?
- O operador está familiarizado com a técnica?

2 - PLANEJAMENTO E CUIDADOS ANESTÉSICOS

Em todas as situações em que seja necessário anestésias um animal, é muito importante que o pesquisador planeje e efetivamente ponha em prática os cuidados adequados antes, durante e depois de cada procedimento. O uso de agentes anestésicos altera significativamente a fisiologia do animal e, sem os cuidados necessários e o devido planejamento, o resultado pode ser desastroso.

O grau das alterações causadas varia, porém todo agente anestésico gera hipotermia e diminuição das atividades cardiovascular (bradicardia) e respiratória (bradipnéia). Após o procedimento, essas alterações persistem até a recuperação do animal, e por isso é necessário o cuidado com o animal imediatamente após o procedimento e, em alguns casos, por mais alguns dias depois. O tempo de recuperação do animal varia conforme o agente utilizado.

2.1 - PRÉ-PROCEDIMENTO

Antes de iniciar um procedimento em que haja necessidade do uso de agentes anestésicos ou sedativos, os pesquisadores devem avaliar alguns fatores:

- Fatores relacionados ao animal – idade; sexo; espécie; temperamento; linhagem; *status* sanitário;
- Fatores relacionados ao procedimento – devem-se considerar: a técnica selecionada e a duração do procedimento; o grau de dor/desconforto que o procedimento possa causar no animal e o treinamento das pessoas envolvidas;
- Fatores relacionados ao laboratório – considerar se o ambiente e os materiais disponíveis são adequados para a realização do procedimento;
- Fatores relacionados ao período pós-procedimento – os anestésicos podem causar efeitos indesejáveis no animal. Nos casos em que o procedimento não é terminal, ou seja, o animal deve recuperar-se da anestesia, é importante conhecer quais serão os efeitos esperados da administração do anestésico escolhido.

Dependendo do caso, é necessária a administração, antes do início do procedimento, de medicamentos como antibióticos (quando há a necessidade de minimizar o risco de infecção no pós-operatório) e analgésicos.

Deve-se lembrar que o transporte de animais promove aumento da frequência cardíaca, perda de peso, elevação da concentração plasmática de adrenalina, noradrenalina, glicemia, cortisol, ácidos graxos livres, alteração de carboidratos e proteínas plasmáticas, da osmolaridade e do metabolismo lipídico, além de promover neutrofilia e linfopenia; um estudo demonstrou ainda que essas alterações permanecem por aproximadamente 7 dias, e dependendo do genótipo do animal, podem durar várias semanas (WELBERG *et al.*, 2006). Portanto, antes de iniciar qualquer procedimento com os animais, reservar pelo menos sete dias (preferencialmente quatorze dias) para a aclimatização ao novo ambiente mesmo que o animal tenha apenas mudado de uma seção para outra dentro do mesmo biotério (NEVES, *et.al.*, 2013).

A inspeção clínica do animal antes do procedimento anestésico fornece informações importantes sobre seu estado de saúde, sendo fundamental observar o estado de hidratação e a presença de sinais clínicos respiratórios que são muito comuns em roedores (ex; infecção por *Mycoplasma Pulmonis*). Outro cuidado importante é com a massa corporal no momento de cálculo das doses dos fármacos, esse deve ser preciso para se evitar sobredosagem e também para acompanhar a perda de peso que ocorre inevitavelmente no período pós-cirúrgico. No caso de perda de 10% a 15% do peso corporal do animal em poucos dias, recomenda-se a eutanásia, indicada também quando a perda total chegar a 20% do peso corporal.

Não é necessário jejum prévio em roedores, pois estes não vomitam, além disso, se tornam hipoglicêmicos muito rapidamente quando em jejum. A restrição alimentar deve ocorrer somente se for realmente necessária e estiver especificada no protocolo de pesquisa aprovado na CEUA. No caso da oferta de água, a restrição deve ocorrer pelo menos 60 minutos antes da indução anestésica.

2.2 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Durante o procedimento experimental, deve-se atentar para os seguintes cuidados:

- Manter a esterilidade do ambiente;

- Manejar os tecidos com cuidado, pois, dessa forma, a dor após o procedimento cirúrgico é reduzida, assim como o risco de desenvolvimento de infecções;
- Repor a perda de fluidos (administrar o fluido aquecido, para prevenir uma queda brusca na temperatura do animal – Tabela abaixo);
- Manter o animal aquecido (usando placas aquecedoras, bolsa térmica, lâmpada, plástico-bolha etc.), pois, como tem o corpo pequeno, perde calor com mais facilidade. Também se deve atentar para que o animal não fique com hipertermia;
- Levar em consideração as particularidades anatômicas e as indicações e contraindicações de anestésicos de acordo com a espécie;
- Evitar o ressecamento dos olhos pelo contato excessivo com o ar, aplicando um gel/pomada protetor estéril, ou simplesmente algodão embebido em salina durante o período em que o animal estiver anestesiado.

Volumes aproximados para a fluidoterapia em ratos e camundongos

Espécie/via	Subcutânea (mL)	Intraperitoneal (mL)
Rato (200 g)	5	5
Camundongo (30 g)	1-2	2

Fonte: Adaptado de Flecknell²⁹.

2.3 - CUIDADOS PÓS-PROCEDIMENTO

Todos os parâmetros monitorados durante a cirurgia devem continuar a ser monitorados no período pós-operatório. O ideal é ter uma área específica para a recuperação, onde possa ser feito acompanhamento individual. Verificar periodicamente: calor e conforto; depressão respiratória; volemia; perda sangüínea, perda plasmática, quantidade de urina produzida (redução do volume da urina pode ser causado por desidratação, lesão do trato urinário, ou dor) fezes (se o animal não defecar, pode ser devido à ausência de fezes, ou paralisia do íleo) e massa corporal (excelente indicador da recuperação da cirurgia, bem como o consumo de água e alimento).

O controle efetivo da dor pós-operatória nos animais de laboratório deve sempre estar entre os principais objetivos dos laboratórios de experimentação. Existe uma tendência de não valorizar a importância de administração de analgésicos principalmente quando da utilização de pequenos roedores. A escolha de um analgésico deve basear-se no possível grau de dor que estará presente, uma vez que o uso de drogas analgésicas potentes sem critérios pode levar a efeitos secundários perigosos, que não justificariam qualquer vantagem obtida pelo alívio da dor. Do mesmo modo, drogas de baixa potência analgésicas darão lugar a um alívio insuficiente.

A hipotermia é a causa mais comum de mortalidade em pequenos roedores, por isso, monitorar a temperatura corporal e tomar as medidas necessárias para prevenir a hipotermia são de vital importância. Bolsa de água quente, cobertor elétrico ou mesa aquecida controlada por um termostato são recomendados.

A fim de prevenir uma congestão pulmonar o rato deve ser virado de decúbito a cada 30-60 minutos durante as primeiras horas de recuperação. Para evitar o canibalismo o rato anestesiado não deve retornar para caixa que contenham ratos não anestesiados até que esteja completamente recuperado.

Deve-se, portanto:

- Manter os animais separadamente em recuperação, em caixas com toalha de papel estéril em vez de maravalha, pois esta pode aderir à ferida cirúrgica ou ao nariz e à boca do animal;
- As gaiolas devem ser expostas a pouca luz, evitando-se a manipulação e o estresse do animal;
- Procurar manter o animal aquecido, para, assim ajudá-lo em sua recuperação. Ratos e camundongos são espécies bastante suscetíveis à hipotermia. A temperatura do ambiente deve variar de 27 °C a 30 °C para adultos e de 35 °C a 37° C para os neonatos até o restabelecimento dos parâmetros normais;
- Não retornar os animais à sala antes de ter certeza de que todos se recuperaram da anestesia;
- Monitorar os animais por aproximadamente uma semana para detectar sinais de doenças e infecção. Entre os sinais de infecção estão vermelhidão, inchaço, presença de secreção, dor e perda dos pontos com abertura da incisão;

- Os animais devem ser monitorados pelo menos uma vez ao dia, para avaliar a presença de dor no pós-procedimento;
- Considerar que, após a cirurgia, o animal diminuirá o consumo de água e ração. Isso pode ser resolvido facilitando seu acesso à alimentação e à hidratação, bem como providenciando analgesia adequada.

Como a ingestão de água nesse período diminui, ocorre facilmente a desidratação do animal. A administração de fluido estéril e aquecido por via subcutânea é um meio de melhorar a recuperação do animal. Pode ser utilizada solução fisiológica ou glicofisiológica pelas vias oral, subcutânea ou intraperitoneal.

3 - MEDICAÇÃO PRÉ-ANESTÉSICA

Antes do procedimento anestésico, há a possibilidade de administrar uma medicação pré-anestésica (MPA). Esse método consiste na aplicação de qualquer medicamento em um período que antecede a anestesia com a finalidade de aumentar a segurança e a qualidade do ato anestésico. Isso se aplica a todas as espécies animais. Esse procedimento proporciona analgesia e sedação, reduz o estresse antes da anestesia, propicia uma melhor indução anestésica, minimiza eventuais efeitos indesejáveis durante o procedimento, como aumento de salivação e secreções brônquicas, potencializa o efeito do agente, diminuindo a dose anestésica, e permite uma recuperação melhor e mais rápida do animal.

No caso de procedimentos menos invasivos a anestesia geral não é necessária sendo possível utilizar apenas sedativos ou tranquilizantes. Os grupos farmacológicos mais comumente utilizados como MPA são os seguintes:

Fármacos anticolinérgicos (exemplo: atropina) podem promover um aumento discreto dos batimentos cardíacos. Sua utilização visa reduzir a salivação e a secreção bronquial.

Fármacos hipnoanalgésicos (exemplos: morfina, tramadol) têm ação analgésica forte, pois causam depressão do sistema nervoso central, elevando o limiar da dor.

Fármacos hipnóticos (exemplos: etomidato e hidrato de cloral) têm ação analgésica muito pequena. Apenas promovem um estado de sono no animal.

Fármacos tranquilizantes (exemplos: acepromazina, diazepam) não produzem estado de sedação, porém acalmam o animal, pois levam à perda ou à redução da consciência. A analgesia que proporcionam é discreta, não permitindo intervenções muito invasivas. Os tranquilizantes são divididos nos grupos das fenotiazinas (exemplo: acepromazina), butirofenonas (exemplo: droperidol) e benzodiazepínicos (exemplo: diazepam).

Fármacos alfa-2-agonistas (exemplo: xilazina). A xilazina é utilizada em animais de laboratório principalmente associada ao agente anestésico cetamina. Pode ser administrada pelas vias subcutânea, intraperitoneal, intramuscular ou endovenosa. De ação sedativa, promove o relaxamento muscular e a analgesia visceral. Tem como efeitos adversos a depressão respiratória e cardiovascular.

– As tabelas abaixo mostram alguns exemplos de agentes e as respectivas dosagens e efeitos esperados.

Agentes pré-anestésicos em camundongos

Droga	Dosagem	Observações
Acepromazina	2,5 mg/kg IP/SC	Sedação leve
Atropina	0,04 mg/kg SC	Anticolinérgico
Diazepam	5,0 mg/kg IM/IP	Sedação leve
Cetamina	100-200 mg/kg IM	Sedação profunda Analgesia leve a moderada
Medetomidine	30-100 µ g/kg IP/SC.	Sedação e analgesia leve a moderada
Midazolam	5 mg/kg IP/IM	Sedação leve a moderada
Xilazina	5-10 mg/kg IP	Sedação leve/analgesia leve a moderada

Fonte: Adaptado de Flecknell²⁹. Legenda: IM – intramuscular; IP – intraperitoneal; SC – subcutânea.

Medicações pré-anestésicas indicadas para ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Ação
Acepromazina	Acepran Frasco- Ampola 1% Acepran Frasco- Ampola 0,2% Acepran Gotas	2,5 mg/kg IM ou IP	Sedação
Atropina	Sulfato de Atropina Ampola 0,25mg/ml	0,05 mg/kg SC ou IP	Parassimpaticolítico
Propofol	Dirpivan 1% Frasco ampola ou ampola	10mg/kg IV	Sedação
Morfina	Morfenil ampola 10mg/ml	2-5 mg/kg SC	Analgesia
Diazepan	Diazepam Ampola 2,5 mg- 5mg/ml	4 mg/kg IP	Sedação
Cetamina	Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	50-100mg/kg IM ou IP	Sedação/Imobilização
Midazolan	Dormonid Ampola (15mg/3ml) Dormonid Ampola (50mg/10ml) Dormonid Ampola (5mg/5ml)	5mg/kg IP	Sedação
Fentanil/droperidol *	Inoval Ampola 0,05mg Fentanil, 2,5mg droperidol	0,5ml/kg IP	Imobilização e analgesia
Xilazina	Anasedan Frasco- Ampola 2%	1-5mg/kg IP ou IM	Sedação/ analgesia leve

Fonte: Adaptado de Filho, 2006.

IM: intramuscular, IP: intraperitoneal, SC: subcutânea

4 - ANESTESIA GERAL

É um estado de depressão geral do sistema nervoso central que envolve hipnose, analgesia, supressão da atividade reflexa e relaxamento dos músculos voluntários. Para obtenção de anestesia geral pode se fazer uso de substâncias que

associadas produzam o efeito desejado (anestesia geral) por via inalatória ou por via injetável.

Em animais de experimentação, o tamanho ou a difícil contenção de alguns faz com que as vias mais utilizadas sejam a intramuscular e a intraperitoneal. Essas vias exigem doses mais altas do fármaco. As desvantagens são a dificuldade de administração; dor durante a administração ou necrose dos tecidos da administração; a resposta variável de cada indivíduo à dosagem e a incapacidade de alterar a profundidade anestésica rapidamente.

Exemplos de protocolos anestésicos usados em ratos e camundongos são mostrados nas tabelas abaixo.

Protocolos Anestésicos para ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Ação
Isoflurano + Morfina	Isoforine Frasco 100ml ou 240 ml + Morfenil ampola 10mg/ml	Isoflurano a 2% inalação + 5mg/kg Morfina IP	Recuperação rápida
Xilazina + Cetamina	Anasedan Frasco- Ampola 2% + Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	5-10mg/kg xilazina IP + 60-90mg/kg cetamina IP	30-45 minutos de duração, bom relaxamento muscular
Cetamina + Propofol	Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5% + Dirpivan 1% Frasco ampola ou ampola	40 mg/kg cetamina IP + 60 mg/kg propofol IP	30 minutos de anestesia
Diazepan + Cetamina	Diazepan ampola 5mg/ml + Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	5mg/kg diazepan + 75mg/kg Cetamina IP	20-30 minutos de anestesia leve

Thiopental + Cetamina	Thiopentax 1g + Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	30mg/kg IP + 40mg/kg IP	10-15 minutos de anestesia cirúrgica
-----------------------------	---	-------------------------------	---

Fonte: Adaptada de Lapchik et al, 2010.

Anestésicos inalatórios para ratos e camundongos.

Anestésico	Concentração alveolar para Indução da anestesia (%)	Concentração alveolar para manutenção da anestesia (%)
Enflurano	3,5	1-3
Halotano	4	1-2
Isoflurano	4	1,5-3
Metoxiflurano	3	0,4-1

Fonte: Cuidado e Manejo de Animais de Laboratório, 2010.

O plano anestésico a ser induzido depende do procedimento e da necessidade de supressão da dor percebida pelo animal. Procedimento invasivo (cirurgias, agentes que envolvem inflamação excessiva e necrose, bem como coleta de sangue via punção cardíaca, retro-orbital e aorta abdominal), é necessário suprimir completamente a percepção dos estímulos dolorosos utilizando-se agentes analgésicos e anestésicos.

Para a obtenção dos diversos planos de anestesia, há diferentes técnicas, utilizando-se um ou mais agentes anestésicos. As técnicas mais utilizadas são a anestesia injetável dissociativa com cetamina associada com xilazina e a anestesia inalatória com isoflurano. Para verificar a profundidade da anestesia, o pesquisador deve avaliar a presença ou a ausência de determinados sinais, como reflexo da cauda, reflexo palpebral e corneal e as alterações das frequências cardíaca e respiratória, que sofrem modificações de acordo com os planos anestésicos atingidos (profundidade da anestesia). A respiração do animal deve ser profunda e regular. Se houver reflexo presente, ou seja, se o animal responder a estímulos, a anestesia não está no plano anestésico adequado para a intervenção cirúrgica. No

caso de ratos e camundongos, a via mais utilizada para anestesia injetável é a intraperitoneal, pois a via endovenosa é de difícil acesso nessas espécies em razão do tamanho. Com a utilização dessa via, contudo, não é possível administrar o anestésico gradualmente como no acesso endovenoso. Portanto, ao utilizar essa via, administra-se uma dose única mais alta, calculada previamente. Como as variações entre as linhagens e até mesmo entre os gêneros resultam em respostas diferentes aos anestésicos, recomenda-se optar por agentes ou pela combinação de agentes que apresentem maior margem de segurança.

A cetamina ou quetamina é um anestésico injetável que induz a um estado de anestesia dissociativa. Na anestesia dissociativa, ocorre a dissociação com o córtex cerebral, na qual o animal fica em estado de analgesia e “desligamento” sem, contudo, perder os reflexos protetores. Os efeitos esperados da administração de cetamina em ratos e camundongos envolvem: imobilidade com aumento de tônus muscular; estabilidade de função respiratória; analgesia variável, porém não adequada para cirurgia em camundongos; estímulo de parâmetros cardiovasculares; aumento do fluxo sanguíneo cerebral; aumento da pressão intracraniana; e aumento da pressão intraocular. O agente utilizado isoladamente não produz um efeito anestésico adequado em ratos e camundongos. Para relaxar a musculatura em razão do aumento do tônus muscular e aumentar a duração da anestesia, pode-se utilizar a cetamina associada com agentes sedativos, como diazepam ou acepromazina. Nesse caso, a analgesia gerada é leve, não sendo suficiente para um procedimento cirúrgico, mas adequada para procedimentos menos invasivos e dolorosos. Se houver a necessidade da obtenção de um plano anestésico moderado para realizar procedimentos relativamente dolorosos, pode-se combinar a cetamina com um alfa-2-agonista como a xilazina. Esses medicamentos promovem melhor analgesia e relaxamento muscular, porém causam severa hipotermia e depressão cardiovascular e respiratória. Tais efeitos podem ser revertidos com a utilização de agentes antagonistas, porém, com a aplicação destes, perdem-se também a analgesia e o relaxamento muscular obtido.

A Tabela abaixo apresenta uma sugestão de protocolo para a realização de anestesia dissociativa em ratos e camundongos. As drogas deverão ser administradas na mesma seringa. No quadro abaixo se encontra uma sugestão de protocolo de diluição para o preparo de anestesia a ser administrada em um número maior de animais.

Protocolo anestésico de cetamina e xilazina em ratos e camundongos

Espécie	Cetamina	Xilazina	Duração da anestesia	Efeito
Rato	75-100 mg/kg IP	10 mg/kg IP	20-30 min	Anestesia cirúrgica
Camundongo	80-100 mg/kg IP	10 mg/kg IP	20-30 min	Anestesia cirúrgica

Fonte: Adaptado de Flecknell²⁰. IP – intraperitoneal.

Diluição de cetamina e xilazina para anestesia injetável

Rato

- ✓ A quantidade calculada abaixo é suficiente para um peso corporal de 1.000 g, ou seja, aproximadamente 4 a 5 ratos adultos
- ✓ 75 mg/kg cetamina + 10 mg/kg xilazina IP
- ✓ 0,75 mL (75 mg) cetamina + 0,5 mL (10 mg) xilazina + 0,75 mL água para injeção
- ✓ Obtêm-se 4-5 doses de 0,2 mL/100 g

Camundongo

- ✓ A quantidade calculada abaixo é suficiente para um peso corporal de 500 g, ou seja, aproximadamente 15 a 20 camundongos adultos
- ✓ 100 mg/kg cetamina + 10 mg/kg xilazina IP
- ✓ 0,5 mL (75 mg) cetamina + 0,25 mL (5 mg) xilazina + 4,25 mL água para injeção
- ✓ Obtêm-se aproximadamente 17 doses de 0,1 mL/10 g

IP – intraperitoneal

Anestesia volátil consiste na administração por via respiratória de uma mistura de gases ricos em oxigênio que veiculam vapores de agentes anestésicos voláteis. Este tipo de anestesia proporciona: maior controle do plano anestésico, retorno rápido da anestesia quando comparada a endovenosa e intramuscular, metabolização e eliminação do agente anestésico inalatório de modo rápido. Como desvantagens, podemos citar: alto custo por ser um gás, há a necessidade de utilização dentro de uma capela, para a segurança do operador; aumento de

secreções nas vias aéreas e necessidade de monitorização mais delicada; pois o plano anestésico pode se alterar rapidamente, ocorrendo sobredose. Existem dois métodos de anestesia inalatória para roedores. O primeiro é através do uso de algodão estéril embebido de anestésico dentro de uma câmara de inalação, neste método a quantidade precisa de anestésico oferecida ao animal não é conhecida e o plano anestésico do animal deve ser observado através da câmara de inalação. A outra opção é a utilização de uma câmara de indução conectada a um vaporizador calibrado ou universal, dessa maneira a quantidade de anestésico administrada é conhecida. Uma vez o animal anestesiado, o mesmo deve ser retirado da caixa e mantido anestesiado mediante o uso de máscara. A intubação é desaconselhada devido à dificuldade da realização da técnica em roedores, mas em caso estritamente necessário a técnica pode ser desenvolvida. Durante a administração da anestesia inalatória, deve-se observar o *status* de saúde do animal, principalmente se este não aparenta ter alguma doença no trato respiratório, o que pode interferir na administração do agente. O agente anestésico inalatório comumente utilizado é o isoflurano. No final de uma anestesia prolongada, recomenda-se administrar ao animal oxigênio puro por aproximadamente 5 a 10 minutos, para evitar hipóxia.

Concentração do isoflurano para anestesia inalatória de camundongos e ratos

Anestésico	Fase da anestesia	
	Isoflurano	Indução
Manutenção		1-2%

Fonte: University of South Florida³⁷.

5 - ANALGESIA

Acreditava-se no passado que os animais não eram capazes de sentir dor. Hoje, sabe-se que eles sentem dor, porém é difícil reconhecer essa dor e saber o grau de dor que o animal está sentindo. Essa dificuldade é baseada no fato de que os animais não têm a capacidade de nos falar o que sentem e que, por meio de um mecanismo instintivo de sobrevivência, escondem a dor para não serem presas vulneráveis.

Exceto em estudos justificados sobre a pesquisa da dor, nos demais procedimentos e estudos a dor deverá sempre ser minimizada. Deve-se identificar sua causa e eliminá-la/aliviá-la com o uso de analgésicos. A melhora do manejo e alojamento e a observação constante do animal para reavaliação da dor complementam o manejo da dor, em conjunto com o uso de analgésicos.

Para realizar adequado manejo da dor e estresse do animal, é preciso conhecer o comportamento normal da espécie e o comportamento relacionado à dor. O reconhecimento da dor em animais é difícil; por isso, na dúvida, deve-se considerar que, se o procedimento é passível de causar dor no humano, também é passível de causar dor no animal. Dessa forma, é preciso pensar em maneiras para o alívio potencial da dor.

No âmbito da pesquisa, é vantajoso promover o alívio da dor, pois o animal com dor sofre alterações patofisiológicas que podem influenciar os resultados dos experimentos. Além disso, ao promover o alívio da dor trabalha-se de acordo com a legislação e com princípios éticos e humanitários.

Em ratos e camundongos, os sinais indicativos de dor envolvem alterações no comportamento normal da espécie, tais como postura arqueada, vocalização ao ser manuseado, piloereção e perda de peso. A tabela abaixo mostra os parâmetros de dor em ratos.

· Parâmetros de Dor em Ratos.

Brando	Moderado	Substancial
Redução no ganho de peso Consumo de água e comida entre 40-75% do consumo normal por 72 horas	Perda de peso de 20% Em 72 horas ingere 40% do consumo de água e comida	Perda de peso de 25% Em 72 horas ingere menos de 40% do consumo normal (inapetência) de água e comida
Piloereção parcial	Piloereção marcante	Piloereção marcante com sinais de desidratação
Interação com olhar fixo	Interação com o olhar pouco fixo	Não há interação
Vocalização transitória	Vocalização intermitente quando provocado	Vocalização não provocada "angustia"
Secreção óculo-nasal discreto	Secreção óculo-nasal persistente	Secreção óculo-nasal intenso
Respiração normal	Frequência respiratória anormal	Dispnéia
Tremor transitório	Tremor intermitente	Tremor persistente
Não apresenta convulsão	Convulsão intermitente	Convulsão persistente
Não há prostração	Prostração transitória (menos de 1 hora)	Prostração prolongada (mais de 1 hora)
Não há automutilação	Não há mutilação	Automutilação

Fonte: FELASA (1992)

Além do comportamento, a postura do animal também se altera na presença de dor.

As fotos a seguir demonstram o score de dor em ratos:

Taxa de intensidade:

0 = ausência de dor

1 = dor moderada

2 = dor pronunciada

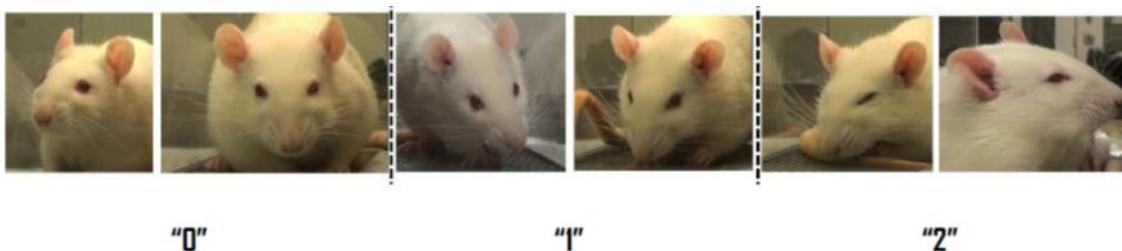
A) Orbita ocular: Os ratos com dor exibem um estreitamento da área orbital (pálpebras bem fechadas ou aperto dos olhos). O aperto dos olhos é definido como contração dos músculos orbitais. A membrana nictitante pode ser visível e se torna mais pronunciada à medida que a dor se intensifica. Como regra, qualquer fechamento palpebral que reduza o tamanho do olho por mais da metade deve ser codificado como "2". Note que ratos que dormem exibem os olhos fechados, mas de uma

natureza relaxado, enquanto que um rato em dor pode exibir um olho fechado com músculos orbitais contraídos.



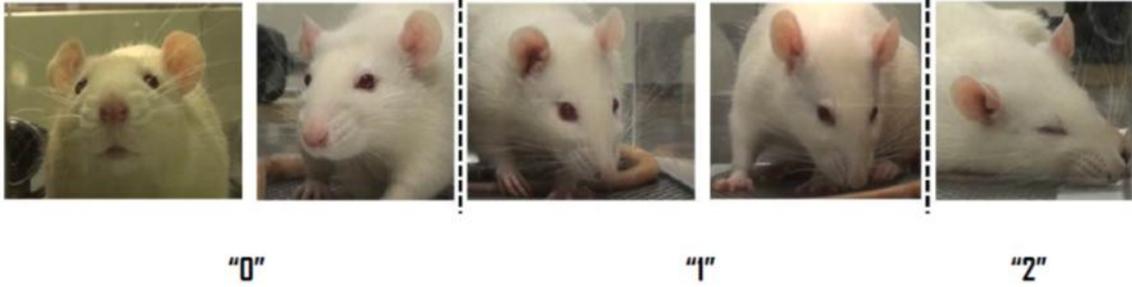
B) Nariz:

Os ratos com dor exibem falta de protuberância em cima do nariz, isto é, um achatamento da ponte nazal. Na condição de "nenhuma dor" há uma protuberância presente na ponte nazal. As almofadas suíças também são arredondadas e ligeiramente inchadas, deixando um claro vinco entre as almofadas e bochecha. Na dor, a ponte nazal se achata e se alonga, fazendo com que as almofadas suíças desapareçam. Nesta altura, o vinco entre as almofadas e a bochecha não está mais presente.



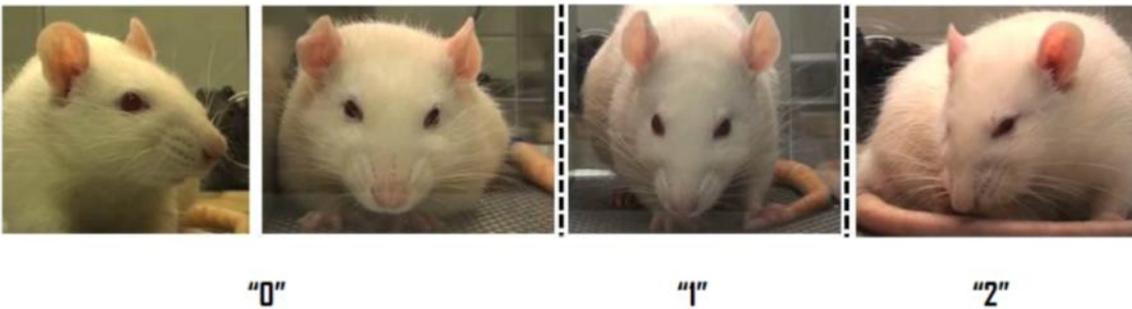
C) Orelhas:

As orelhas de ratos com dor podem ser ecurvadas e pontudas. Na condição de "nenhuma dor", as orelhas são perpendiculares à cabeça, voltadas para frente e com as pinas ligeiramente inclinadas para trás. Importaneamente, as orelhas também apresentam uma forma arredondada. Na dor, as orelhas tendem a se enrolar para dentro e aumentam o ângulo de inclinação. A orelha, ao se enrolar, resulta em uma forma "aguçada". Em estados de dor pronunciada, as orelhas são inclinadas para o trás e são mantidas perto de 45 ° em relação ao eixo perpendicular ao nariz. Como resultado, o espaço entre as orelhas podem aparecer mais amplo em relação à linha de base.



D) Bigodes:

Os ratos com dor têm bigodes que mudam de posição em relação à linha de base. Os bigodes se inclinam ligeiramente para baixo e, com a progressão da dor, as almofadas se tensionam e aumenta o ângulo dos bigodes em relação à cabeça. Isto dá a aparência de bigodes "em pé".



O Quadro abaixo classifica a dor pós-procedimento como leve, moderada ou severa, de acordo com o tipo de procedimento realizado.

Potencial de dor no pós-procedimento

Mínima a leve	Leve a moderada	Moderada a severa
Implantação de cateter	Laparotomia (pequenas incisões)	Laparotomia (maiores incisões) e incisões de órgãos
Corte da cauda	Tireoidectomia	Toracotomia
Marcação na orelha	Orquidectomia	Transplante de órgãos
Colocação de <i>transponder</i> subcutâneo	Cesariana	Procedimentos vertebrais
Implantação de tumor superficial	Hipofisectomia	Procedimentos de queimadura
Venotomia de seio orbital	Timectomia	Modelos de trauma
Transferência de embriões em roedores	Transferência de embriões em não roedores	Procedimentos ortopédicos
Múltiplas injeções	Coleta de medula óssea	
Procedimento ocular não corneal	Procedimento ocular na córnea	
Implante de eletrodos intracerebrais		
Vasectomia		
Implantação de via de acesso vascular		
Craniotomia (dor periosteal)		
Linfadenectomia superficial		

Fonte: Adaptado de *National Institute Health*³⁶

5.1 - MEDICAÇÃO ANALGÉSICA

Para garantir o bem-estar animal após a realização do procedimento cirúrgico, o pesquisador deve avaliar em seu protocolo a possibilidade de utilização de um agente analgésico. O uso de analgésicos **sempre** deve ser considerado quando são realizados procedimentos cirúrgicos invasivos, para aliviar a dor pós-operatória imediata e em longo prazo.

Os analgésicos podem ser divididos em dois grupos: os opióides ou narcóticos e fármacos anti-inflamatórios não esteroidal (AINES). O principal mecanismo de ação dos AINES se dá através da inibição específica da cicloxigenase e redução da conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas. A resposta analgésica dos analgésicos anti-inflamatórios não esteroidal é em geral

moderada e caracterizada por “efeito teto”, isto é, alcançado determinado nível de analgesia, o aumento da dose não traz alívio adicional (McCLEANE, 2007). Analgésicos opióides atuam em receptores específicos que, ao serem ativados, interferem na transmissão de impulsos dolorosos. Exercem efeitos inibitórios tanto no encéfalo, quanto através do aumento do limiar nociceptivo das fibras da substância gelatinosa localizada no corno posterior da medula espinhal. Estudos demonstram que os receptores opióides estão presentes também no sistema nervoso periférico. Os opióides são fármacos já consagrados para o tratamento da dor de moderada a forte intensidade.

Há muitos agentes analgésicos disponíveis para realizar o devido cuidado pós-operatório com o animal, considerando-se que existem procedimentos experimentais mais invasivos que outros, causando diferentes graus de dor no animal.

O ideal seria utilizar um agente que possa ser administrado na água, para evitar o maior estresse do animal pela manipulação excessiva. Deve-se estar atento, contudo, que os animais no período pós-cirúrgico estarão com a ingestão de água reduzida, podendo o analgésico administrado na água não atingir o efeito desejado. Há também a possibilidade em adicionar ao protocolo de medicação pré-anestésica um agente analgésico de longa duração.

Os quadros abaixo apresentam princípios ativos e doses de medicamentos analgésicos indicados para ratos e camundongos, a serem administrados sempre que houver a possibilidade de dor em razão do procedimento experimental. É importante ressaltar que não basta apenas administrar um analgésico; é necessário reavaliar o quadro do animal para confirmar se a dor foi controlada.

Agentes analgésicos recomendados para ratos

Categoria	Agente	Dosagem	Duração da analgesia	Indicação
Opioides	Buprenorfina	0,02-0,5 mg/kg SC/IV/IP	6-12 h	Dor moderada a severa
Opioides	Butorfanol	0,2-2 mg/kg SC/IP	2-4 h	Dor moderada a severa
Opioides	Meperidina	10-20 mg/kg SC/IM	2-3 h	Dor moderada a severa
Opioides	Morfina	2-5 mg/kg SC	2-4 h	Dor moderada a severa
AINES	Aspirina (ácido acetilsalicílico)	100 mg/kg VO	4-8 h	Dor leve a moderada
AINES	Flunixin meglumine	1,1-2,5 mg/kg SC/IM	12 h	Dor leve a moderada
AINES	Carprofeno	1,5 mg/kg VO	12 h	Dor leve a moderada
AINES	Ibuprofeno	10-30 mg/kg VO	4 h	Dor leve a moderada
AINES	Acetaminofeno (paracetamol)	1-2 mg/mL na água		Dor leve a moderada
AINES	Cetoprofeno	5 mg/kg VO/IM	24 h	Dor leve a moderada

Fonte: Adaptado de Ness³⁴.

Legenda: IM – intramuscular; IP – intraperitoneal; SC – subcutânea; IV – intravenosa; VO – via oral.

Agentes analgésicos recomendados para camundongos

Categoria	Agente	Dosagem	Duração da analgesia	Indicação
Opioides	Buprenorfina	0,05-2,5 mg/kg SC/IP	6-12 h	Dor moderada a severa
Opioides	Butorfanol	0,2-2 mg/kg SC/IP	2-4 h	Dor moderada a severa
Opioides	Meperidina	10-20 mg/kg SC/IM	2-3 h	Dor moderada a severa
Opioides	Morfina	2-5 mg/kg SC	2-4 h	Dor moderada a severa
AINES	Aspirina (ácido acetilsalicílico)	120 mg/kg VO	4 h	Dor leve a moderada
AINES	Flunixin Meglumine	0,3-2 mg/kg VO/IM/IV	12-24 h	Dor leve a moderada
AINES	Carprofeno	5 mg/kg SC	24 h	Dor leve a moderada
AINES	Ibuprofeno	7-15 mg/kg VO	4 h	Dor leve a moderada
AINES	Acetaminofeno (paracetamol)	1-2 mg/mL na água		Dor leve a moderada

Fonte: Adaptado de Ness³⁴.

Legenda: IM – intramuscular; IP – intraperitoneal; SC – subcutânea; IV – intravenosa; VO – via oral.

Os quadros abaixo indicam quais analgésicos indicados dependendo da intensidade da dor em ratos.

Anti-inflamatórios não esteróides indicados para dor leve a moderada em ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Intervalo de Administração
Carprofeno	Rimadyl 50mg/ml	5mg/kg SC ou IM	12 /12 h Máximo 4 dias de uso
Cetoprofeno	Ketofen 1% e 10 %	5 mg/kg VO ou IM 10-20mg/kg IP	24/24h Máximo 3 dias de uso
Ibuprofeno	Alivium gotas: 50mg/ml 100mg/ml	10-30 mg/kg VO	4 /4h Máximo 4 dias
Acetaminofeno	Paracetamol Gotas 15ml, cada gota contem 13mg de acetaminofeno	1-2 mg/ml de água	
Dipirona 6	Analgex Frasco Ampola 500mg/ml Novalgina Ampola (500mg/ml)	50-600mg/kg SC ou IV ou IP	12/12h
Meloxicam	Meloxicam 15mg/1,5ml Maxican 0,2%	1mg/kg VO ou SC	24/24h Máximo 3 dias de uso
Celecoxib	Celebra 100mg Celebra 200mg	10-20mg/kg VO	12/24 h

Fonte: Adaptado de Hrapkiewicz; Medina, 2007.

·Fármacos opióides indicados para dor moderada a forte intensidade em ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Intervalo de administração
Tramadol	Tramal Ampola 50mg/ml	5mg/kg SC ou IP	12/12h

Butorfanol	Turbogesic Frasco Ampola 10mg/ml	1-2mg/kg SC	4/4h
Morfina	Morfenil Ampola 10mg/ml	2-5mg/kg SC	4/4h
Fentanil	Fentanest Frasco Ampola ou Ampola 0,05mg/kg	0,1 - 0,01mg/kg IP	Utilização transoperatória
Meperidina	Dolosal Ampola 50mg/ml	20mg/kg SC ou IM	4/4h
Codeína	Codein Ampola 30mg/ml	25-60mg/kg SC	4/4h

Fonte: Adaptado de Hrapkiewicz ; Medina, 2007.

Referências Bibliográficas

LAPCHIK, V.B.V.; MATTARAIA, V.G.M.; KO, G.M. Cuidados e Manejos de Animais de Laboratório. São Paulo: Atheneu, 2010. p. 551-555.

HUBRECHT, R.; KIRKWOODM, J. The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. Wiley-Blackwell, 2012. p. 322-323.

PRITCHETT, K. R.; CORNING, B. F. Biology and Medicine of Rats, 2004. In: Laboratory Animal Medicine and Management. Edited by REUTER, J. D.; SUCKOW M. A. Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org)

HRAPKIEWICZ, K. & MEDINA, L. Clinical Laboratory Animal Medicine na Introduction. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 79-111.

FILHO, A.P.F.S.; Sedação, analgesia e anestesia geral em ratos In__RHODEN, E.L., RHODEN, C.R., *Princípios e Técnicas em Experimentação Animal*. Porto Alegre: UFRGS Editora. 2006. p. 46-47.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R.S. orgs. *Animais de Laboratório: criação e experimentação* Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Available from SciELO Books: [HTTP//books.scielo.org](http://books.scielo.org). Acesso em 07 de novembro de 2013.

JOHNSON & SIMPOSON "Rodent anaesthesia" In__ LONGLEY, L. (Ed.), *Anesthesia of exotic pets*, Saunders, 2008. p. 59-80.

SIROIS, M. Medicina De Animais de Laboratório- Princípios e Procedimentos. São Paulo: ROCA. 2007. p. 75-77.

NEVES, et.al, Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério e Experimentação da FCF-IQ/USP, 2013. p.137.

FELASA - Federetion of European Laboratory Animal Science, disponível em: <http://www.felasa.eu/> Acesso em 09 de novembro 2013.

McCLEANE, G. Topical analgesics. *Anesthesiol Clin*, 2007;p. 825-839.

WELBERG, L.A. ; KINKEAD, B.; THRIVIKRAMAN,K.; HUERKAMP, M.J.; NEMEROFF, C.B.; PLOTSKY, P.M. Ketamine-xylazine-acepromazine anesthesia and postoperative recovery in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2006. p.13-20.

REMIE, R. Anesthesia in Laboratory Animals. In__ANDERSEN, M.L.; TUFIK, S. *Animal Models as Tools in Ethical Biomedical Research*. 2010. p. 417-427.

MURRAY, K.A.; PEKOW, C.,BORKOWSKI, G.L. Laboratory Animals: Rodent nesthesia & analgesia. In__ Laboratory Animal Medicine and Science – Series II., Health Sciences for Educational Resources University of Washington, 2000.

Sites importantes:

www.bioterios.com

<http://web.jhu.edu/animalcare/index.html> (Johns Hopkins University)

Outras referências:

AALAS [American Association for Laboratory Animal Science] Technician Training and Certification. Available at www.aalas.org/certification/tech_cert.aspx; accessed May 21, 2010.

CALAS [Canadian Association of Laboratory Animal Science] Registry. Available at www.calas-acsal.org/index.php?option=com_content&task=view&id=24&Itemid=106; accessed August 10, 2010.

Clinical Textbook for Veterinary Technicians, 5th ed. 2002. McCurnin DM, Bassert JM, eds. McCurnin DM, Bassert JM, Philadelphia: WB Saunders.

Education and Training in the Care and Use of Laboratory Animals: A Guide for Developing Institutional Programs. 1991. National Research Council. Washington: National Academy Press.

FELASA recommendations for the accreditation of laboratory animal science education and training. 2002. Nevalainen T, Blom HJ, Guaitani A, Hardy P, Howard BR, Vergara P. *Lab Anim* 36:373-377.

Guidelines on Institutional Animal User Training. Ottawa. National Institutional Animal User Training Program. 1999. Canadian Council on Animal Care. Available at http://ccac.ca/en/CCAC_Programs/ETCC/Intro-coretopics-Web11.htm; accessed May 15, 2010.

National Need and Priorities for Veterinarians in Biomedical Research. 2004. National Research Council. Washington: National Academies Press.

Perspectives on curriculum needs in laboratory animal medicine. 2009. Turner PV, Colby LA, VandeWoude S, Gaertner DJ, Vasbinder MA. *J Vet Med Educ* 36:89-99.

The Care and Feeding of an IACUC: The Organization and Management of an Institutional Animal Care and Use Committee. 1999. Podolsky ML, Lucas V, eds. Boca Raton FL: CRC Press.

The IACUC Handbook, 2nd ed. 2006. Silverman J, Sukow MA, Murthy S, eds. Boca Raton FL: CRC Press.

Training and Adult Learning Strategies for the Care and Use of Laboratory Animals. 2007. *ILAR J* 48(2).

Formal training programs and resources for laboratory animal veterinarians. 2007. Colby LA, Turner PV, Vasbinder MA. *ILAR J* 48:143-155.

Training and adult learning strategies for the care and use of laboratory animals. 2007. Dobrovolny J, Stevens J, Medina LJ. *ILAR J* 48:75-89.

Training strategies for animal care technicians and veterinary technical staff. 2007. Pritt S, Duffee N. ILAR J 48:109-119.

Training strategies for IACUC members and the institutional official. 2007. Greene ME, Pitts ME, James ML. ILAR J 48:132-142.

Anesthesia and analgesia. 1997. Schaeffer D. In: Kohn DF, ed. Nontraditional Laboratory Animal Species in Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. San Diego: Academic Press.

Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. 1997. Kohn DF, Wixson SK, White WJ, Benson GJ, eds. San Diego: Academic Press.

Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals, 2nd ed. 2008. Fish R, Danneman PJ, Brown M, Karas A, eds. 2008. San Diego: Academic Press.

Anesthesia for Veterinary Technicians. 2010. Bryant S, ed. Somerset NJ: Wiley-Blackwell.

Animal Physiologic Surgery, 2nd ed. 1982. Lang CM, ed. New York: Springer-Verlag.

AVMA Guidelines on Euthanasia. 2007. Schaumburg IL: American Veterinary Medical Association.

Definition of Pain and Distress and Reporting Requirements for Laboratory Animals. 2000. National Research Council. Washington: National Academy Press.

Handbook of Veterinary Anesthesia, 4th ed. 2007. Muir WW III, Hubbell JAE. Maryland Heights MO: Mosby.

Handbook of Veterinary Pain Management. 2002. Gaynor JS, Muir W. St. Louis: Mosby.

Laboratory animal analgesia, anesthesia, and euthanasia. 2003. Hedenqvist P, Hellebrekers LJ. In: Hau J, Van Hoosier GL, eds. Handbook of Laboratory Animal Science: Essential Principles and Practices, 2nd ed. Boca Raton FL: CRC Press.

Laboratory Animal Anesthesia, 3rd ed. 2009. Flecknell PA. London: Academic Press.

Pain alleviation in laboratory animals: Methods commonly used for perioperative pain relief. 2002. Vainio O, Hellsten C, Voipio HM. *Scand J Lab Anim Sci* 29:1-21.

Pain and distress. 2006. Karas A, Silverman J. In: Suckow M, Silverman J, Murthy S, eds. *The IACUC Handbook*. Boca Raton FL: CRC Press.

Pain Management in Animals. 2000. Flecknell PA, Waterman-Pearson A, eds. Philadelphia: WB Saunders.

Paralytic agents. 1997. Hildebrand SV. In: Kohn DF, Wixson SK, White WJ, Benson GJ, eds. *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. San Diego: Academic Press.

Position Statement on Recognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animals. 2000. AALAS. Available at www.aalas.org/pdf/Recognition_and_Alleviation_of_Pain_and_Distress_in_Laboratory_Animals.pdf; accessed January 24, 2010.

Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. 2009. National Research Council. Washington: National Academies Press.

Recognizing pain and distress in laboratory animals. 2000. Carstens E, Moberg GP. *ILAR J* 41:62-71.

Recommendations for euthanasia of experimental animals. 1996. Close B, Baniste K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. *Lab Anim* 30:293-316.

Small Animal Anesthesia and Analgesia. 2008. Carroll GL. Ames IA: Blackwell Publishing.

Small Animal Surgery Textbook, 3rd ed. 2007. Fossum T. Maryland Heights MO: Mosby.

Small Animal Surgical Nursing, 2nd ed. 1994. Mosby's Fundamentals of Animal Health Technology. Tracy DL, ed. St. Louis: Mosby.

Surgery: Basic principles and procedures. 2003. Waynforth HB, Swindle MM, Elliott H, Smith AC. In: Hau J, Van Hoosier GL, eds. *Handbook of Laboratory Animal*

Science: Essential Principles and Practices, 2nd ed, vol 1. Boca Raton FL: CRC Press. p. 487-520.