



CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

**GUIA DE PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E DE DOSES
EM ROEDORES DE LABORATÓRIO**



CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

GUIA DE PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E DE DOSES EM ROEDORES DE LABORATÓRIO

1ª edição – 2021

Elaborado por:

Erika K I Garcia

Médica Veterinária – Responsável Técnica (RT)

Embasado nas Resoluções Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA): RN nº 13, de 20 de setembro de 2013, RN nº 37 de janeiro de 2018, RN nº 33 de 18 de novembro de 2016, Diretriz Brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos (DBCA, 2016) e Guias da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Aprovado por:

CEUA – UNIFAL-MG

Em 02/07/2021

Vigente de 01/08/2021 à 31/07/2023

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	5
2	CUIDADOS GERAIS	6
2.1	ACLIMATAÇÃO	6
2.2	AVALIAÇÃO CLÍNICA	6
2.3	JEJUM	6
2.4	SALA DE TRABALHO	6
2.5	POSICIONAMENTO	7
2.6	LUBRIFICAÇÃO OCULAR	7
2.7	HIPOTERMIA	7
2.8	HIDRATAÇÃO	8
2.9	HORÁRIO	8
2.10	ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS	8
3	SELEÇÃO DO PROTOCOLO DE ANALGESIA/ANESTESIA	10
3.1	ANALGESIA	10
3.1.1	Anestesia Local	13
3.1.2	Anti-inflamatório não esteroide (AINES)	14
3.1.3	Analgésicos narcóticos ou opioides	15
3.2	Medicação pré-anestésica (MPA)	17
3.3	ANESTESIA	17
3.3.1	Medicação anestésica para camundongos	19
3.3.2	Medicação anestésica para ratos	20
3.4	PERÍODO PÓS-ANESTÉSICO	22
3.5	<i>CHECK LIST</i>	22
4	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	22
5	CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS	24
6	ANTIMICROBIANOS	26
7	PONTO FINAL HUMANITÁRIO	27
8	OUTROS PROCEDIMENTOS	28
8.1	COLETA DE SANGUE	28
9	EUTANÁSIA	29
9.1	MÉTODOS RECOMENDÁVEIS	30
9.1.1	Protocolos de eutanásia mediante utilização de anestésicos injetáveis	30
9.1.2	Protocolos de eutanásia mediante utilização de anestésicos inalatórios	31
9.2	MÉTODOS ACEITOS COM RESTRIÇÃO	32
9.2.1	Tribromoetanol - TBE (Avertin)	32
9.2.2	Protocolos de eutanásia mediante utilização de dióxido de carbono (CO ₂)	32
9.2.3	Protocolos de eutanásia mediante utilização de métodos físicos	33
9.2.4	Método aceito apenas como método complementar	33
9.3	MÉTODOS INACEITÁVEIS	34
10	ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL	34
11	CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
	REFERÊNCIAS	35
	ANEXO 1 - Procedimentos, dor e condutas recomendadas	37

ANEXO 2 - <i>Check list</i> e registro de monitoramento anestésico, analgésico, cirúrgico e pós-cirúrgico de animais submetidos a procedimentos invasivos.	43
ANEXO 3 - <i>Grimace scale</i> para ratos	47
ANEXO 4 - <i>Grimace scale</i> para camundongos	48
ANEXO 5 - Registro de monitoramento do animal após procedimento para determinação da necessidade do ponto final humanitário	49

1. INTRODUÇÃO

A dor e o sofrimento no manejo dos animais em um projeto de pesquisa são aspectos que devem ser observados por questões metodológicas e éticas, sendo apontados, tanto pela comunidade científica quanto por organizações internacionais, como fatores importantes que interferem no resultado da pesquisa. Legislações nacionais e internacionais resguardam direitos e cuidados desses animais, principalmente em relação ao sofrimento e a dor, sendo responsabilidade dos pesquisadores a garantia de aplicação das normas. Por isso, não se permite a realização de pesquisa em casos em que o dano ao animal for maior que os ganhos do conhecimento, e nos casos em que se possam empregar métodos alternativos de pesquisa. A dor comprovadamente resulta em alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais significativas e indesejáveis ao animal e aos estudos científicos, interferindo nos resultados da pesquisa e comprometendo o bem-estar animal (RN33, CONCEA, 2016).

Há variações significativas nas respostas aos medicamentos de acordo com a espécie, linhagem, sexo e variações individuais, portanto é aconselhável que sejam avaliados os efeitos em cada animal individualmente. Não se recomenda extrapolar os efeitos de um agente anestésico ou analgésico de uma espécie para outra, incluindo humanos (RN33, CONCEA, 2016). Sempre que for administrar um medicamento ao animal, deve ser realizado o cálculo do volume a ser administrado conforme o peso do animal e dose recomendada do agente para a espécie em questão.

Deve-se consultar orientação especializada ao planejar um protocolo de anestesia e controle da dor (RN33, CONCEA, 2016). Vale salientar que é de fundamental importância uma equipe qualificada para reconhecer os sinais de dor (RN33, CONCEA, 2016).

A intensidade da anestesia, os potenciais efeitos adversos (por exemplo: hipotermia, depressão cardiovascular ou respiratória, perfusão tecidual inadequada) e controle da dor inadequado no pós-operatório devem ser monitorados pois podem produzir efeitos indesejados e afetar dados da pesquisa (DBCA, item 6.3.10.3; RN33, CONCEA, 2016). **Um animal sob bem-estar reflete uma pesquisa de qualidade.**

Agentes anestésicos, mesmo que promovam perda da consciência não são, em sua maioria, produtores de analgesia. Assim, o animal continua recebendo e processando os estímulos dolorosos. Portanto, é mandatório que, se o procedimento realizado causar dor, associe analgésicos (opioide e/ou anti-inflamatório não esteroides) (Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020).

O padrão genético do animal pode alterar os parâmetros apresentados para peso e idade de acasalamento e desmame. Animais isogênicos (*inbred*), mutantes ou modificados, assim como animais heterogênicos (*outbred*) podem necessitar de condições diferenciadas de manejo. Portanto, caso o projeto experimental exija acasalamento dos animais, o pesquisador deve se informar da condição genética dos mesmos e suas particularidades de manejo e acasalamento.

2. CUIDADOS GERAIS

O controle eficaz da dor depende dos cuidados com o animal antes da indução da anestesia, do desempenho do procedimento, da monitoração no transoperatório e dos cuidados com o animal na recuperação (RN 33, CONCEA, 2016). Segue abaixo, alguns fatores essenciais que devem ser implementados:

2.1 ACLIMATAÇÃO: os efeitos do transporte, introdução em novas instalações, novos grupos sociais e novo cuidador sobre a resposta do estresse (juntamente com alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais) são bem documentados. Assim, um período de aclimatação deve ser dado para garantir que o animal tenha se recuperado desses estressores antes que seja marcada a intervenção cirúrgica. Esse tempo pode variar com as circunstâncias, mas é recomendado um **mínimo de 10 a 14 dias** para animais criados em laboratório (RN 33, CONCEA, 2016); deve-se aclimatar o animal ao manuseio para reduzir os efeitos do estresse e a possibilidade de acidentes com o animal e o operador (RN 33, CONCEA, 2016); recomenda-se uma ambientação à equipe cirúrgica por no **mínimo 3 dias**.

2.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA: avaliar se o animal está **saudável**, registrar o **peso corporal** para ajudar na monitoração anestésica e no **cálculo das doses**. O registro de consumo de alimento e água antes do procedimento auxiliará no monitoramento pós-operatório (RN 33, CONCEA, 2016). A Tabela 1 apresenta o volume de água e ração que devem ser ingeridos diariamente de acordo com a espécie.

Tabela 1. Volumes de água e ração/dia para ratos e camundongos adultos.

Espécie	Volume de água ingerido/dia (mL)	Volume de ração ingerido/dia (g)
Camundongo	3-7	4-5
Rato	10-20	10-20

Fonte: Adaptado do Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020

2.3 JEJUM: períodos de privação total de alimentos (jejum) podem prejudicar a saúde e o bem-estar dos animais. A duração do jejum precisa ser justificada em um contexto científico, específico da espécie, condição fisiológica e de saúde dos animais envolvidos. Para o uso científico ou didático, portanto, qualquer período de privação de alimento proposto para o animal será avaliado cuidadosamente pela CEUA. O período de jejum pré-anestésico é espécie-específico. Em pequenos roedores, é geralmente **desnecessário**, pois o vômito durante a indução não ocorre nessas espécies (RN 33, CONCEA, 2016). O jejum pode resultar em depleção de reservas de glicogênio e causar hipoglicemia. Roedores são coprofágicos (ingerem suas próprias fezes) e, portanto, medidas para prevenir a ingestão de fezes são necessárias se o estômago precisar estar vazio para o protocolo de pesquisa (RN 33, CONCEA, 2016).

2.4 SALA DE TRABALHO: a anestesia pode ser induzida por agentes inalatórios ou injetáveis. Seja qual for a técnica escolhida, a anestesia deve ser administrada com

equipamento apropriado, em uma sala específica, sem a presença de outros animais (RN 33, CONCEA, 2016).

2.5 POSICIONAMENTO: após indução anestésica, posicionar o animal com sua **cabeça e região cervical em extensão** para minimizar obstrução das vias aéreas (RN 33, CONCEA, 2016). Monitorar a posição do animal é importante para evitar pressão exacerbada de partes ou todo o corpo (RN 33, CONCEA, 2016). Deve-se evitar o alongamento ou imobilização dos membros pelo risco de danos nervosos e sanguíneos. Quando possível, permitir que os membros fiquem em uma posição anatômica natural (RN 33, CONCEA, 2016). Quando os animais estão anestesiados ou imóveis por longos períodos, é recomendado que o animal seja movido ou virado a cada 20 minutos para promover o fluxo normal de sangue nos tecidos (RN 33, CONCEA, 2016).

2.6 LUBRIFICAÇÃO OCULAR: sob anestesia, os olhos dos animais frequentemente ficam abertos. Portanto, deve-se garantir que a córnea esteja protegida do ressecamento e trauma, por meio do uso de **pomadas oftálmicas** (lubrificantes, Ex: Refresh gel TM, Regencil TM) desde o início da anestesia (RN 33, CONCEA, 2016). A pomada deve ser aplicada logo após o momento em que o animal perder o reflexo motor (cair) e os reflexos óculo-palpebrais. Anestesiá-lo sem a aplicação de uma pomada oftálmica causa ceratite severa e conseqüente comprometimento da acuidade visual do animal, comprometendo seriamente seu bem-estar.

2.7 HIPOTERMIA: a redução da temperatura corporal pode se desenvolver rapidamente durante a anestesia e é uma das causas mais comuns de óbito, especialmente em animais menores como roedores que perdem calor rapidamente (RN 33, CONCEA, 2016). Deve-se manter a temperatura corporal pela **provisão de calor suplementar** (exemplo: bolsas térmicas, colchão térmico), por todo o momento que o animal estiver sob anestesia (RN 33, CONCEA, 2016) com cuidado para não queimar o animal, protegendo-o com um tecido para não entrar em contato direto com a fonte de calor, mantendo-a levemente afastada. A temperatura do corpo pode ser monitorada por um termômetro retal ou infravermelho (em que se aponta o feixe vermelho para a cavidade bucal ou abdômen para obter a temperatura) (RN 33, CONCEA, 2016). A temperatura ambiente da área de recuperação deve ser 30 a 35 graus para roedores pequenos (RN 33, CONCEA, 2016). A Tabela 2 apresenta dados sobre a temperatura corpórea dos roedores

Tabela 2. Temperatura corpórea dos roedores.

Espécie	Temperatura corpórea (°C)
Camundongo	35,8-37,7
Rato	37,5-38,1

Fonte: Adaptado do Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020

2.8 HIDRATAÇÃO: para manter a hidratação, a infusão intravenosa (IV) ou subcutânea (SC) de **fluidoterapia** (exemplo: ringer lactato, solução fisiológica NaCl 0,9%) é especialmente importante em anestésias longas ou cirurgias invasivas. Os fluidos devem ser aquecidos para não contribuírem para a hipotermia (RN 33, CONCEA, 2016): A dose recomendada é 10 mL/kg/hora no intraoperatório e, se necessário, 40 mL/kg/24horas (roedores) para manutenção diária (RN 33, CONCEA, 2016). Deve-se realizar a **aplicação com o animal ainda anestesiado**, e, no caso da aplicação subcutânea, não exceder 2 mL por local de aplicação (Tabela 3), ou seja, acima de 2 mL, dividir a aplicação em locais diferentes e manter os tecidos expostos umedecidos com solução fisiológica aquecida (RN 33, CONCEA, 2016). No período pós-operatório, deve-se atentar se a ingestão hídrica e alimentar está adequada. Caso o animal não se alimente ou beba água, pode-se configurar analgesia inadequada ou estresse e deve ser corrigida o mais rápido possível; pode-se colocar pellets de **ração molhada com água** no chão da caixa para facilitar a ingestão pelo animal no pós-operatório, especialmente para animais que sofreram procedimentos intraorais, os quais comprometem a mastigação.

Tabela 3. Volumes indicados de fluidoterapia subcutânea e intraperitoneal em roedores.

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

Fonte: Adaptado do Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020

2.9 HORÁRIO: recomenda-se que os procedimentos cirúrgicos sejam realizados no período da **manhã**, assim os animais poderão ser assistidos durante o período de recuperação anestésica imediata e o pós-operatório durante o período da tarde. Caso seja identificado animais com dificuldade de recuperação anestésica ou complicações no pós-operatório, o médico veterinário deverá ser consultado.

2.10 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: o procedimento de administração de substâncias pode causar impacto no bem-estar do animal e na validade dos resultados (RN 33, CONCEA, 2016). A necessidade de inúmeras injeções pode, inclusive, **mudar o grau de invasividade** do experimento. **Treinamento** é um pré-requisito fundamental para realização desse procedimento (RN 33, CONCEA, 2016). Pode-se realizar treinamento em cadáveres antes do início do experimento. Deve-se também ter atenção quanto ao volume de administração por cada via escolhida. O Quadro 1 apresenta os métodos e vias comuns de administração de substâncias, assim como o volume e a agulha a serem utilizadas. Além disso, no Quadro 2 tem-se as vantagens e desvantagens de cada uma das vias de administração.

Quadro 1. Métodos e vias comuns de administração de substâncias, considerando volume total aceito e tamanho de agulha.

Espécie	Subcutâneo	Intraperitoneal	Intramuscular	Intravenoso
CAMUNDONGO	<ul style="list-style-type: none"> • Dorso-cervical • 2-3 mL • Agulha calibre < 20G 	<ul style="list-style-type: none"> • Quadrante abdominal inferior direito • 2-3 mL • Agulha calibre < 21G 	<ul style="list-style-type: none"> • Músculo quadríceps/coxa • 0,05 mL • Agulha calibre < 23G 	<ul style="list-style-type: none"> • Veia lateral da cauda • 0,2 mL • Agulha calibre < 25G
RATO	<ul style="list-style-type: none"> • Dorso-cervical • 5-10 mL • Diferentes sítios de aplicação • Agulha calibre < 20G 	<ul style="list-style-type: none"> • Quadrante abdominal inferior direito • 5-10 mL • Agulha calibre < 21G 	<ul style="list-style-type: none"> • Músculo quadríceps/coxa • 0,3 mL • Agulha calibre < 21G 	<ul style="list-style-type: none"> • Veia lateral da cauda, sublingual, peniana e por incisão a jugular e femoral • 0,5 mL • Agulha calibre < 23G

Fonte: RN33, CONCEA, 2016

Quadro 2. Vantagens e desvantagens das diferentes vias de administração de substâncias.

Vias	Vantagens	Desvantagens
Intraperitoneal (IP)	<ul style="list-style-type: none"> - Fácil acesso; - Deve ser feita no quadrante abdominal inferior direito. 	<ul style="list-style-type: none"> - Risco de puncionar o trato intestinal; - Não são indicadas para múltiplas doses; - Materiais irritantes podem causar peritonite.
Oral (VO)	<ul style="list-style-type: none"> - Gavagem: permite volume preciso; - Animal pode ser treinado para ingestão voluntária. 	<ul style="list-style-type: none"> - É um método invasivo, pode apresentar risco ao bem-estar animal; - Volume máximo 10 mL/kg peso corpóreo.

Subcutânea (SC)	- Soluções devem ter pH fisiológico e serem isotônicas; - No dorso, nuca ou flanco; - Em múltiplas doses, alternar o local de aplicação.	- Absorção é mais lenta.
Intravenosa (IV)	- Rápida indução da anestesia; - Tamanhos e calibres de agulhas devem ser compatíveis com a espécie.	- Requer muita experiência; - Recomenda-se sedação prévia; - Alguns agentes anestésicos são citotóxicos perivascular (ex: tiopental).
Intramuscular (IM)	- Realizada no bíceps femoral; - Em múltiplas doses, alternar o local de aplicação.	- Possibilidade de danos às terminações nervosas; - Deve ser evitada frente a outras opções; - Absorção lenta; - Pode ser dolorosa.

Fonte: Adaptado do Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020

3- SELEÇÃO DO PROTOCOLO DE ANALGESIA/ANESTESIA

O agente anestésico, analgésico ou sedativo selecionado deve ser seguro para o animal e para quem o administra e interferir o mínimo possível no protocolo de pesquisa, conforme protocolo indicado e supervisionado por médico veterinário e previamente aprovado pela CEUA (RN33, CONCEA, 2016).

Devem ser considerados os seguintes fatores antes da seleção do protocolo analgésico e anestésico:

- Interações fisiológicas e influência nos resultados dos fármacos utilizados;
- Espécie, linhagem, raça, idade e estado fisiológico do animal;
- Grau de invasividade e duração da dor ou estresse, se for o caso;
- Plano ou profundidade necessários da anestesia;
- Se o estudo é terminal ou não;
- Duração da anestesia;
- Aspecto humanitário da técnica (ex.: facilidade de indução e recuperação da anestesia, efeitos adversos dos fármacos nos animais);
- Métodos de administração e dosagens;
- Experiência dos pesquisadores com a técnica (incluindo um veterinário com experiência apropriada);
- Disponibilidade de técnicas de monitoração anestésica (incluindo número adequado de pessoal treinado);
- Monitoração necessária durante o período de recuperação;
- Segurança dos pesquisadores;
- Equipamentos disponíveis.

3.1 ANALGESIA

A **dor produz alterações fisiopatológicas que afetam os resultados experimentais**. A dor em alta intensidade ou prolongada pode inclusive resultar em morte. As alterações orgânicas provocadas pela dor são:

- **Sistema endócrino:** secreção de catecolaminas, corticoides, glucagon, hormônio do crescimento, hormônio adrenocorticotrófico, hormônio antidiurético, diminuição da secreção de insulina e testosterona, resultando em mobilização reduzida e convalescência prolongada, retenção de fluido, oligúria, desequilíbrio eletrolítico, aumento do consumo de oxigênio, atonia gastrointestinal, vasoconstrição periférica;
- **Sistema imune:** imunodeficiência, aumento da susceptibilidade a infecções, retardo na cicatrização de feridas, inibição da produção de linfócitos e inibição da atividade fagocitária, diminuição da liberação de interleucinas, redução da imunidade celular, humoral, do status imune e da geração de anticorpos;
- **Componentes sanguíneos:** linfopenia, eosinopenia, neutropenia;
- **Sistema respiratório:** redução do volume tidal e da capacidade vital, taquipneia, atelectasia, acidose respiratória;
- **Sistema cardiovascular:** taquicardia, vasoconstrição periférica, aumento do consumo de O₂ pelo coração e aumento da pressão arterial;
- **Sistema gastrointestinal:** redução da ingestão de água e alimento, resultando em desidratação e hipoglicemia;
- **Sistema muscular:** espasmos, tremores, amiotrofia, imobilização prolongada;
- **Comportamento:** semelhante à depressão (anedonia, por exemplo), aumento do comportamento agressivo, automutilação, redução do grooming.

A **anestesia geral** com perda da consciência **não garante analgesia eficaz**. Os estímulos nocivos são transmitidos e processados pelo sistema nervoso central, durante os atos cirúrgicos, e podem desencadear hipersensibilidade central e produzir dor crônica e/ou neuropática (RN33, CONCEA, 2016). A percepção da **dor envolve uma multiplicidade de vias nociceptivas**, por isso, normalmente se faz a associação de opioides (o que diminui a transmissão nociceptiva periférica e central) e anti-inflamatórios (que agem periféricamente para diminuir a inflamação local e sua informação nociceptiva) (RN 33 CONCEA, 2016).

A dor pós-operatória é controlada mais prontamente quando se realiza a analgesia no pré-operatório, chamada analgesia preemptiva, preventiva ou protetiva (RN33, CONCEA, 2016). Recomenda-se a aplicação dos **analgésicos 30 minutos antes do procedimento**.

Segundo o CONCEA, os procedimentos em animais também são classificados conforme o **grau de invasividade (GI)** por eles provocados e a **escolha do protocolo de analgesia** também deve ser **baseada nele**:

- GI1 = Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse (ex.: observação e exame físico; administração oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutânea, ou intramuscular de substâncias que não causem reações adversas

perceptíveis; eutanásia por métodos aprovados após anestesia ou sedação; privação alimentar ou hídrica por períodos equivalentes à privação na natureza);

- GI2 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de leve intensidade (ex.: procedimentos cirúrgicos menores, como biópsias, sob anestesia; períodos breves de contenção e imobilidade em animais conscientes; exposição a níveis não letais de compostos químicos que não causem reações adversas graves);

- GI3 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de intensidade intermediária (ex.: procedimentos cirúrgicos invasivos conduzidos em animais anestesiados; imobilidade física por várias horas; indução de estresse por separação materna ou exposição a agressor; exposição a estímulos aversivos inescapáveis; exposição a choques localizados de intensidade leve; exposição a níveis de radiação e compostos químicos que provoquem prejuízo duradouro da função sensorial e motora; administração de agentes químicos por vias como a intracardiaca e intracerebral);

- GI4 = Experimentos que causam dor de alta intensidade (ex.: Indução de trauma a animais não sedados).

A **escolha do analgésico é baseada no procedimento e no consequente estímulo doloroso** produzido por ele. O Quadro 3 demonstra exemplos de procedimentos, dor provocada e o tipo de analgesia recomendada.

Quadro 3. Tipo de procedimentos, dor provocada e analgesia recomendada.

Dor leve a moderada (GI1 e GI2)	Dor moderada (GI2 e GI3)	Dor moderada a severa (GI3 e GI4)
<ul style="list-style-type: none"> - Colocação de cateter vascular; - Colocação de brinco; - Implantação superficial de tumor; - Procedimentos oculares; Injeções múltiplas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Laparotomia; - Tireodectomia; - Cesariana; - Transferência de embrião; - Hipofisectomia; - Timectomia; - Acesso a veia porta; - Colocação de bomba osmótica; - Colocação de implante intracerebral; - Modelo com indução de tumores. 	<ul style="list-style-type: none"> - Laparotomia exploratória; - Toracotomia; - Transplante de órgãos; - Procedimentos em coluna vertebral; - Queimaduras; - Modelos de trauma; - Procedimentos ortopédicos; - Catéteres de longa permanência; - Modelos de sepse (CLP); - Modelos de indução de tumores invasivos.
Anestesia local + AINES (dipirona, carprofeno ou meloxicam) ou Opioide fraco (codeína, tramadol)	Anestesia local + AINES (carprofeno ou meloxicam) e Opioide fortes (morfina, buprenorfina, fentanil)	Anestesia local + AINES (carprofeno ou meloxicam) e Opioide fortes (morfina, buprenorfina, fentanil)

	* Avaliar se necessário analgesia também no pós-cirúrgico	*Analgesia necessária por no mínimo 3 dias consecutivos
--	---	---

Fonte: Adaptado do Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. *Para as cirurgias em que não houver recuperação, o animal deve permanecer **anestesiado e com medicação analgésica** que garanta o devido controle da dor até a conclusão da eutanásia (DBCA, item 6.3.10.8, 2016). # CLP - Cecal ligation and puncture; AINES – Anti-inflamatórios não esteroidais.

3.1.1 Anestesia local (AL)

A anestesia local é utilizada antes ou durante o procedimento cirúrgico para contribuir no controle da dor (RN 33 CONCEA, 2016). Adicionar um anestésico local injetável fornece analgesia adicional, pelo bloqueio da transmissão nervosa periférica da área em questão (RN33, CONCEA, 2016). A anestesia local **por infiltração** na área alvo ou em **bloqueios perineurais** auxilia na inibição da transmissão nociceptiva (RN 33 CONCEA,2016). Podem ser utilizados cremes ou pomadas com anestésicos locais aplicados topicamente na pele ou colírios para procedimentos oftálmicos (RN 33 CONCEA, 2016). Ainda há as vias **epidural, intratecal e intra-articular** que podem auxiliar no bloqueio da dor (RN 33 CONCEA, 2016). A Tabela 4, apresenta o resumo destes procedimentos para roedores e as Tabelas 5 e 6 o volume de AL a ser administrado no rato e camundongos, respectivamente, conforme o peso do animal.

Tabela 4. Anestésicos locais

Anestésico local	Pequenos roedores	Comentários
Lidocaína 1-2%	Diluir a substância para 0,5%. 1-2 mL SC, IP, intratecal. Dose tóxica: 7 mg/kg.	Início rápido (1-3 min), duração curta (20-40 min).
Bupivacaína 0,25-0,5%	Diluir a substância para 0,25%. 1-2 mL SC, IP, intratecal Dose tóxica: 8 mg/kg	Início demorado (20 min) e duração longa (4-6 h).
Lidocaína+ Bupivacaína (recomendado)	Usar metade da dose de cada (50%+50%).	Início rápido (1-3 min) e duração longa (4-6 h).
EMLA® (lidocaína/prilocaína)	Apliação tópica de camada espessa sobre o local.	
Colírio anestésico	1 gota em cada olho	

Fonte: Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. SC: subcutâneo; IP: intraperitoneal.

Para facilitar a administração, pode-se utilizar os volumes abaixo para bloqueio local em ratos e camundongos, adicionando na mesma seringa **0,5 mL de solução salina** para

umentar volume de administração muito reduzido, especialmente em camundongos. Veja nas Tabelas 5 e 6 os volumes a serem administrados em cada espécie.

Tabela 5. Volume de anestésico local para **Ratos**.

Peso corpóreo (g)	Lidocaina 2% (mL)	Bupivacaina 0,5% (mL)	Solução salina (mL)
200	0,10	0,20	0,50
250	0,12	0,25	0,50
275	0,13	0,27	0,50
300	0,15	0,30	0,50
325	0,16	0,32	0,50
350	0,17	0,35	0,50
375	0,19	0,37	0,50
400	0,20	0,40	0,50
425	0,21	0,42	0,50
450	0,22	0,45	0,50
475	0,24	0,47	0,50
500	0,25	0,50	0,50

Fonte: Guidelines for Lidocaine and Bupivacaine for Line Block Anesthesia in Mice and Rats, 2021.

Tabela 6. Volume de anestésico local para **Camundongos**

Peso corpóreo (g)	Lidocaina 1% (mL)	Bupivacaina 0,25% (mL)	Solução salina (mL)
15	0,015	0,030	0,500
20	0,020	0,040	0,500
25	0,025	0,050	0,500
30	0,030	0,060	0,500
35	0,035	0,070	0,500
40	0,040	0,080	0,500
45	0,045	0,090	0,500

Fonte: Guidelines for Lidocaine and Bupivacaine for Line Block Anesthesia in Mice and Rats, 2021.

3.1.2 Anti-inflamatórios não esteroides (AINES)

Os AINES também possuem potencial analgésico. Sua administração deve ser iniciada no período **pré-operatório** e deve-se dar prioridade por inibidores preferenciais e seletivos da cicloxigenase 2 (coxibes), tais como carprofeno e meloxicam para minimizar a inibição de plaquetas e hipoperfusão renal (RN 33 CONCEA, 2016). Evitar o uso prolongando (mais que 5 dias). As indicações e dosagens estão resumidas na Tabela 7.

Tabela 7. Anti-inflamatórios não esteroides (AINES): dosagens e vias de administração para ratos e camundongos.

AINES	Camundongo (mg/Kg, via, frequência)	Rato (mg/Kg, via, frequência)	Comentário
Carprofeno (Rymadil®)	5 SC 24h	5 SC 12-24h	Efetivo para dor pós-operatória (dores graves associar opioide). Fornecer 30 minutos antes da cirurgia.
Cetoprofeno	-	5 SC 24h	Para procedimentos com dor moderada (se indicado, associar opioide).
Meloxicam (Maxicam® 0,2%)	1-2 IM; SC 24h	1 SC VO 24h	Efetivo para dor pós-operatória (dores graves associar opioide). Fornecer 30 minutos antes da cirurgia. Na aplicação anterior a cirurgia, recomenda-se 1ª dose de 2 mg/kg para pequenos roedores.
Ibuprofeno	7,5 VO 4h; 30 VO 24h;	10-30 VO 4h	Para procedimentos com dores discretas.
Dipirona	-	150-200 SC; VO 4-6h	Dor discreta. Dor discreta a moderada: dipirona + opioide. Dor grave: dipirona + morfina. Fornecer 30 minutos antes da cirurgia.

Fonte: Adaptado de Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. SC: subcutâneo; VO: via oral, IM: intramuscular.

3.1.3 Analgésicos narcóticos ou opioides

Os opioides, outra classe de fármacos analgésicos com ação central e com potencial para induzir sono, estão apresentados na Tabela 8 (RN33, CONCEA, 2016).

Tabela 8. Opioides: dosagens e vias de administração para camundongos e ratos.

Opioide	Camundongo (mg/Kg, via, frequência)	Rato (mg/Kg, via, frequência)	Comentário
Buprenorfina	0,5-2,0 SC 3-12h	0,01-0,05 IV, SC 6- 12h; 0,1-0,24 VO; 0,1-0,5 SC 8h; 5-10 VO (gavagem)	Procedimentos muito invasivos requerem frequência menores que 12h. Considere o uso também de AINE nesses casos. Analgesia moderada a grave.
Butorfanol (Torbugesic® vet)	1-5 SC 4h	1-2 SC 4h	Analgesia discreta a moderada.
Fentanil (Fentanest® hum)	0,025-0,6 SC IP	0,01-0,1 SC, IP	O injetável promove analgesia de curta duração para período transoperatório (25 min). Cirurgias longas, deve-se reaplicar a cada 25 min.
Meperidina	10-20 SC IM 2- 3h	10-20 IM, SC 2- 3h	Analgesia moderada.
Morfina (Dimorf® hum)	10 SC 2-4h	2-5 SC 1h; 10 SC 2-4h	Analgesia intensa. Para melhor analgesia, fornecer 30 minutos antes do procedimento e 30 minutos depois da cirurgia. Efetivo em 15 minutos. Para dor grave, reaplicar a cada 2 a 3 horas.
Tramadol (Cronidor® 2% vet)		12,5 SC IP 4-8h	Uso isolado apenas para procedimentos com dor leve (realizar via IP para início rápido); Insuficiente analgesia para procedimentos incisionais (McKeon et al., 2011); Associado a meloxicam induz boa analgesia preemptiva para ligação

nervo ciático em rato
(Abass et al., 2014).

Fonte: Adaptado de Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. Veja no ANEXO 1 os diferentes procedimentos, o tipo de dor provocada e condutas recomendadas. SC: subcutâneo; IP: intraperitoneal; VO: via oral, IM: intramuscular.

3.2 MEDICAÇÃO PRÉ-ANESTÉSICA (MPA):

A MPA prepara o animal para o sono artificial, sedando-o e suprimindo a irritabilidade, agressividade e as reações indesejáveis causadas pelos fármacos anestésicos. Além disso, esse procedimento **melhora a indução anestésica**, diminui a dose dos anestésicos, aumenta o tempo de anestesia e permite uma recuperação melhor e mais rápida do animal. Em pequenos roedores, é realizada a associação dos medicamentos em uma mesma seringa. A MPA pode ser utilizada apenas para contenção química do animal quando o procedimento for de menor invasividade. Os agentes empregados em pequenos roedores na pré-medicação podem incluir analgésicos opioides e/ou sedativos.

Nos casos em que não é necessária a anestesia geral, pode se recorrer a administração apenas de sedativos ou tranquilizantes a fim de induzir sedação nos animais. Vale ressaltar que essas medicações **isoladamente não induzem plano anestésico**. Pode-se utilizar por exemplo a acepromazina na dose de 3 mg/kg, para camundongos para sedação. Ela minimiza a ocorrência de excitação inicial que normalmente se observa quando se associa xilazina e cetamina nessa espécie, além de propiciar um melhor plano anestésico (RN 33 CONCEA, 2016). Pode-se também utilizar a acepromazina associada a um opioide, como a morfina, para procedimentos onde só a sedação é suficiente e acompanhada de analgesia. A Tabela 9 apresenta os tranquilizantes/sedativos e suas doses para ratos e camundongos.

Tabela 9. Tranquilizantes/sedativos: dosagens e vias de administração para camundongos e ratos.

Sedativo/Tranquilizante	Camundongo (mg/kg, via)	Rato (mg/kg, via)	Comentário
Acepram	1-2 IM 2-5 IP	1-2 IM	Sedação leve
Diazepam	5 IP	2 IV 2,5-4 IM IP	Sedação leve
Midazolam	5 IM IP	2 IV 2-5 SC 4h 4-5 IM IP	Sedação leve
Xilazina	4-10 IM 10 IP	1-8 IM 10 IP	Sedação leve/moderada

Fonte: Adaptado de Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. SC: subcutâneo; IP: intraperitoneal; IM: intramuscular.

3.3 ANESTESIA

O objetivo da **anestesia cirúrgica** é produzir hipnose, relaxamento muscular, amnésia, atenuação das respostas autonômicas e analgesia. Porém, uma única medicação aplicada não alcança todos os efeitos desejáveis, sendo necessária a administração de vários compostos, tais como a MPA, analgésicos e o agente anestésico, que pode ser geral ou dissociativo. Com a associação destes agentes tem-se a **anestesia balanceada**, importante para alcançar os efeitos desejados de uma anestesia cirúrgica.

Anestesia reversível. Muitos regimes de anestésias injetáveis envolvem períodos de recuperação prolongados. Em roedores, nos quais os anestésicos administrados pela via IP produzem em média 30 a 60 minutos de anestesia, seguidos de tempo de recuperação de 2 a 4 horas. Durante o período de recuperação, os animais permanecem suscetíveis à hipotermia e apresentam algum grau de depressão cardiorrespiratória. Esses efeitos podem ser superados ao se utilizar **antagonistas**. Os antagonistas, como a **naloxona**, estão disponíveis para opioides. Os agonistas adrenérgicos- α_2 , como a medetomidina e xilazina, podem ser revertidos pelos antagonistas **ioimbina**, tolazolina e atipamezol, e as benzodiazepinas, pelo **flumazenil**.

Profundidade da anestesia. Os pesquisadores devem se familiarizar com os sinais específicos da espécie animal e dos estágios da anestesia. No mínimo, deve-se monitorar e registrar em fichas a profundidade da anestesia pela presença ou ausência de reflexos. A anestesia cirúrgica é obtida quando há perda do reflexo de pinçamento da cauda e do reflexo interdigital (Figura 1).

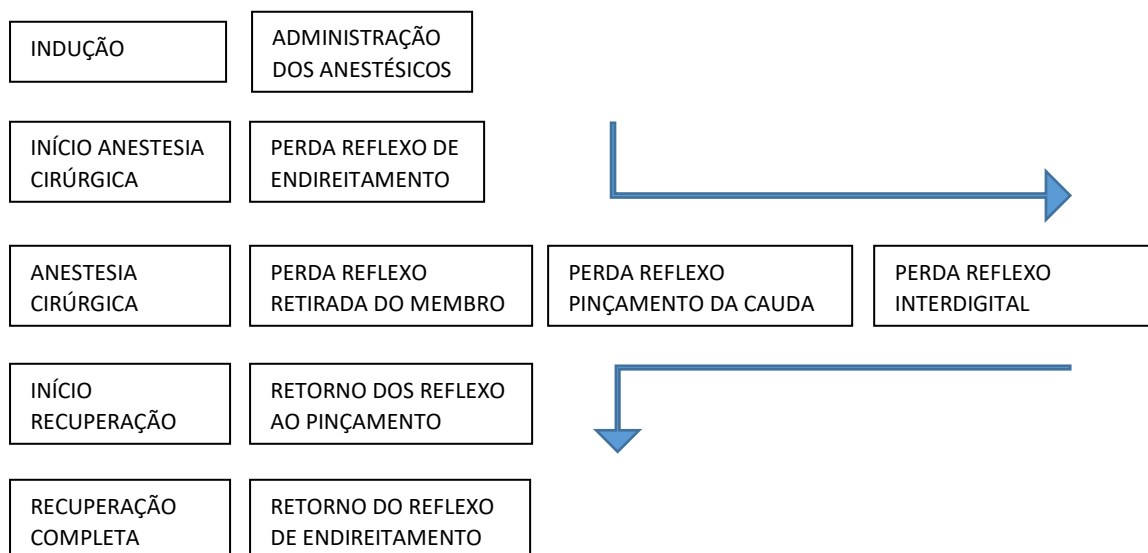


Figura 1. Representação esquemática da perda e recuperação dos reflexos, indicados pelas setas, conforme estágios e planos anestésicos.

Fonte: da Autora.

Além disso, deve-se **monitorar**:

- **Sistema Respiratório** através, ao menos, das observações clínicas: monitora-se a **amplitude, a frequência e o padrão da respiração** (aumento na amplitude e diminuição

da frequência se intensifica com o aprofundamento da anestesia) e **oximetria do pulso**: mede a saturação de oxigênio no sangue arterial. Cuidados devem ser tomados quanto a obstrução respiratória causada por secreções, objetos externos, língua ou posições anormais do pescoço. A respiração também pode ser comprometida por compressão do tórax;

- **Sistema cardiovascular** através, ao menos, das observações clínicas: **cor das membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar, sons cardíacos e frequência cardíaca, qualidade de pulso periférico**;

- **Temperatura corpórea** através de termômetro retal ou termômetro de infravermelho, em que se aponta o feixe de infravermelho para a cavidade bucal ou o abdômen e se obtém o registro da temperatura corporal. A habilidade do animal de regular a temperatura é reduzida até que se recupere da anestesia. Em sua forma mais branda, a hipotermia aumenta o período de recuperação anestésica e pode alterar o metabolismo. Quanto maior a hipotermia, maior a suscetibilidade do animal à sobredosagem anestésica e choque. Portanto, a **temperatura ambiente** da área de recuperação deve ser de **30-35°C para roedores pequenos**. Pode se fornecer calor suplementar (ex.: lâmpadas de aquecimento, bolsas quentes, incubadora, colchão térmico), mas se deve tomar cuidado para não sobreaquecer o animal. A provisão de zonas aquecidas e não aquecidas na área de recuperação permitirá que o animal escolha sua zona preferida após a recuperação. A temperatura do corpo do animal durante o período de recuperação pós-anestesia e a temperatura do ambiente devem ser monitoradas.

3.3.1 – Medicação anestésica para **CAMUNDONGOS**

As substâncias, doses e vias de administração presentes na Tabela 10 são sugestivas. Recomenda-se que o pesquisador consulte o médico veterinário da Instituição a fim de adequá-las em benefício do bem-estar animal e da boa qualidade dos resultados.

Tabela 10. Medicação anestésica para camundongos.

Anestésico	Dose	Via	Duração (min.)	Comentários
Isoflurano (recomendado)	3-5% (indução), 1-2% (manutenção);	Inalatória	Variável	Necessita de vaporizador; Mínimos efeitos adversos; Controle do plano anestésico; Retorno rápido; Mais seguro.
Propofol	20-30 mg/kg	IV	5-10	Usado normalmente apenas para indução; Curta duração.
*Cetamina Xilazina	80-100 mg/kg 5-10 mg/kg	IP	20-30	Anestesia cirúrgica.

*Cetamina	100 mg/kg	IP	20-30	Imobilização/anestesia.
Acepromazina	5 mg/kg			
*Cetamina	100 mg/kg	IP	20-30	Imobilização/anestesia.
Diazepam	5 mg/kg			
*Cetamina	100 mg/kg	IP	20-30	Imobilização/anestesia.
Midazolam	5 mg/kg			
*Cetamina	80-100 mg/kg	IP	30-40	Anestesia cirúrgica.
Xilazina	5-10 mg/kg			
Acepromazina	3 mg/kg			
Cetamina	80-100 mg/kg	IP	30-40	Anestesia cirúrgica;
Xilazina	5-10 mg/kg			Analgesia moderada.
Acepromazina	1 mg/kg			
Fentanil	0,06 mg/kg			
Tiopental	50 mg/kg	IP	5-10	
Tribromoetanol (TBE - Avertin)	125-300 mg/kg	IP	15-45	Higroscópica e fotossensível; O produto de degradação é letal; Estocar a 4°C; Preparar solução antes do uso; solução preparada a 20 mg/mL; Nunca usar solução amarelada ou com precipitado, pois é indicativo de oxidação.

Fonte: adaptado de Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. *O uso isolado de Cetamina não deve ser realizado, por não promover relaxamento adequado, além de provocar espasmos musculares. Por isso, surgem protocolos diferentes com intuito de reduzir ou eliminar os efeitos indesejáveis. *Todos os protocolos apresentados acima, se forem utilizados para procedimentos que cause dor moderada a grave, devem vir acompanhados de opioide já que não apresentam analgesia efetiva (RN33, CONCEA, 2016). IP: intraperitoneal; IV: intravenosa.

3.3.2 – Medicação anestésica para **RATOS**

As substâncias, doses e vias de administração presentes na Tabela 11 são sugestivas. Recomenda-se que o pesquisador consulte o médico veterinário da Instituição a fim de adequá-las em benefício do bem-estar animal e da boa qualidade dos resultados.

Tabela 11. Medicação anestésica para ratos.

Anestésico	Dose	Via	Duração (min.)	Comentários
------------	------	-----	-------------------	-------------

Isoflurano (recomendado)	3-5% (indução), 1-2% (manutenção);	Inalatória	Variável	Necessita de vaporizador; Mínimos efeitos adversos; Controle do plano anestésico; Retorno rápido; Mais seguro.
Propofol	10 mg/Kg	IV	5-10	Usado normalmente apenas para indução; Curta duração.
Cetamina Xilazina	75-100 mg/kg 10 mg/kg	IP	20-30	Anestesia cirúrgica; Não é recomendado o uso de cetamina isoladamente.
Cetamina Acepromazina	75 mg/kg 2,5-3 mg/kg	IP	20-30	Anestesia leve.
Cetamina Diazepam	75 mg/kg 5 mg/kg	IP	20-30	Anestesia leve.
Cetamina Midazolam	75 mg/kg 5 mg/kg	IP	20-30	Anestesia leve.
Cetamina Xilazina Acepromazina	70-90 mg/kg 7-9 mg/kg 1 mg/kg	IP	30-40	Anestesia cirúrgica.
Cetamina Xilazina Acepromazina Fentanil Tiopental	70-90 mg/kg 7-9 mg/kg 1 mg/kg 0,06 mg/kg 20-40 mg/kg 40 mg/kg	IP IV IP	30-40 5-10	Anestesia cirúrgica; Analgesia moderada.
Tribromoetanol *(TBE - Avertin)	250-300 mg/Kg	IP	15-45	Higroscópica e fotossensível; O produto de degradação é letal; Estocar a 4°C; Preparar solução antes do uso; solução a 20 mg/mL; Nunca usar solução amarelada ou com precipitado, pois é indicativo de oxidação.
Tribromoetanol *(TBE - Avertin) Medetomidina	150 mg/Kg 0,5 mg/Kg	IP	15-45	*O uso de TBE deve sempre vir acompanhado da associação com um opioide.

Fonte: Adaptado de Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. *Não há recomendação para uso na legislação brasileira. Sua utilização é citada na literatura apenas para camundongos. Deverá haver forte justificativa para o uso deste fármaco. Obs: Todos os protocolos apresentados acima se foram utilizados

para procedimentos que cause dor moderada a grave devem vir acompanhados de opioide já que não apresentam analgesia efetiva (RN33, CONCEA, 2016). IP: intraperitoneal; IV: intravenosa.

3.4 PERÍODO PÓS-ANESTÉSICO

Nesse momento, deve-se observar os animais durante **toda a recuperação da anestesia** para garantir que:

- As vias **respiratórias não sejam obstruídas**;
- A **temperatura do corpo seja mantida**;
- Eles **não se machuquem**;
- A **dor pós-operatória seja adequadamente controlada** (RN33, CONCEA, 2016).

Nunca deixar um animal anestesiado ou em recuperação anestésica sem assistência. Colocar o animal em **local silencioso**, em caixa com **aquecimento térmico**, e tomar providências para **evitar o ressecamento da córnea** até completa recuperação anestésica.

Devem-se tomar precauções para garantir que animais em fase de recuperação da anestesia não se firam por causa de movimentos descoordenados e que as condições de alojamento ou das instalações sejam adequadas para que não sejam perturbados, feridos ou mortos por outros animais presentes no mesmo espaço (DBCA, item 6.3.11.1).

Ao usar anestésicos inalatórios, fornecer **oxigênio puro** aos animais ao final do procedimento, para que o anestésico seja exalado dos pulmões e a oxigenação garantida aos tecidos (RN33, CONCEA, 2016).

Orienta-se o alojamento individual no momento da recuperação para evitar brigas e prevenir perturbação do animal nesse momento. Além disso, o odor de sangue gera grave estresse e alteração dos resultados de pesquisa.

No caso de cirurgia, transferir os animais para gaiolas limpas evitando contaminação da ferida cirúrgica (RN33, CONCEA, 2016).

Se os animais tiverem passado por um procedimento invasivo, uma monitoração cuidadosa, durante o pós-operatório é essencial para avaliar se a analgesia foi eficaz e se analgesia adicional é necessária (RN33, CONCEA, 2016).

3.5 CHECK LIST DE MONITORAMENTO ANESTÉSICO, ANALGÉSICO, CIRÚRGICO E PÓS CIRÚRGICO

A CEUA recomenda fortemente o preenchimento do *check list* (ANEXO 2) para cada grupo de animais operados em série para proporcionar melhor bem-estar aos animais, uma vez que reúne todos os cuidados tratados acima.

4. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Define-se procedimento cirúrgico como uma intervenção que requer acesso a um tecido vivo. No cenário científico, o tipo de procedimento dependerá do propósito científico e pode variar desde uma **incisão superficial até a penetração de uma cavidade do corpo**, intervenção em órgão(s) ou dissecação tecidual extensa, que deverá ser realizada/monitorada por Médico Veterinário responsável.

Qualquer procedimento cirúrgico deve ser **acompanhado de anestesia e analgesia apropriadas para o tipo de procedimento**, bem como, da espécie envolvida. Dependendo dos objetivos do estudo, ao final do procedimento cirúrgico, os animais podem recuperar a consciência ou não. No segundo caso, o animal deve sofrer eutanásia no final do procedimento.

Quando um animal se recupera de uma intervenção cirúrgica, precauções especiais devem ser tomadas para minimizar o risco de complicações, tais como dor ou infecção no pós-operatório.

Os procedimentos cirúrgicos devem seguir a **técnica asséptica**. Procedimentos assépticos devem sempre ser utilizados, principalmente, quando se objetiva conseguir resultados após o procedimento cirúrgico. A cirurgia asséptica é definida como uma intervenção em que se realiza um conjunto de medidas (esterilização do instrumental, desinfecção do ambiente, antisepsia do campo cirúrgico e equipe), com a finalidade de evitar a contaminação/infecção em locais sem contaminação (Figura 2). Os elementos de técnica asséptica envolvem:

- a) realização de procedimentos cirúrgicos em uma determinada área em que foi feita a **antisepsia**;
- b) preparação do sítio operatório para minimizar o risco de entrada de bactérias na ferida; isto normalmente envolve a **remoção de pelo** nas imediações da ferida cirúrgica pretendida e a limpeza e desinfecção daquela área;
- c) cirurgião e assistentes cirúrgicos devem utilizar **aventais cirúrgicos e luvas estéreis**;
- d) local da intervenção cirúrgica deve estar delimitado por campos estéreis para criar um "**campo**" **estéril adjacente**;
- e) utilizar instrumentos e **kits estéreis**;
- f) somente instrumentos, campos cirúrgicos, kits e luvas estéreis devem entrar em contato com o campo operatório;
- g) superfícies estéreis devem ser mantidas secas para evitar que a umidade contamine a área cirúrgica;
- h) a saúde clínica de todos os animais deve ser checada alguns dias antes da intervenção cirúrgica ser executada; atenção especial para sinais de respiração ou função cardiovascular comprometidas ou de infecção intercorrente.

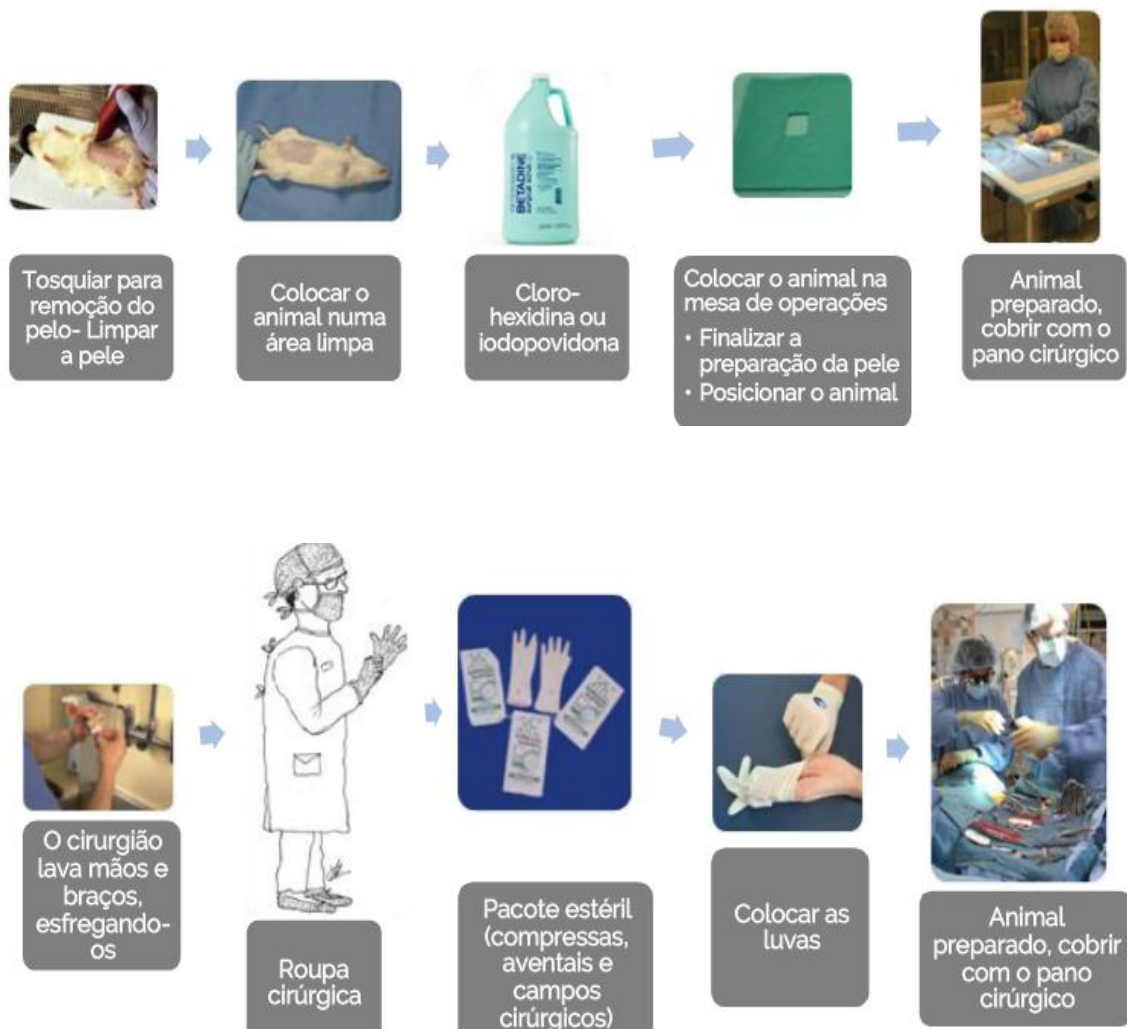


Figura 2. Passo-a-passo dos procedimentos de assepsia.

Fonte: Instituto de Investigação e Inovação em Saúde – Universidade do Porto

5. CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS

Atenção especial deve ser dada durante ou imediatamente após uma intervenção cirúrgica, especialmente aos seguintes eventos:

a) **Perda de sangue** devido a um trauma no tecido ou controle inadequado da hemorragia, resultando em perfusão e oxigenação comprometidas do tecido e, se for grave, em colapso cardiovascular;

- **Ação:** Manipule os tecidos com delicadeza e destreza. Realize hemostasia antes do fechamento dos tecidos.

b) **Desidratação** devido à perda descompensada de líquido durante o procedimento cirúrgico, que será exacerbada pela exposição e ressecamento dos tecidos, consumo restrito de fluido no pré-operatório e consumo voluntário reduzido no período pós-operatório;

- **Ação:** Faça reposição volêmica SC ao término da cirurgia e mantenha vasilha de água e/ou ração úmida no chão da caixa para melhor acesso do animal. Monitore o animal para ter certeza, ao menos, da ingestão de água.

c) **Hipotermia** devido ao comprometimento da termorregulação pelos agentes anestésicos, o que é um grande risco em pequenos roedores que possuam área de superfície extensa em relação à massa corporal e uma alta taxa metabólica;

- **Ação:** mantenha animal aquecido durante toda a cirurgia e até que o animal se recupere completamente. Cuidado com o excesso de calor.

d) **Hipóxia e má perfusão tecidual** (i) como consequência do decréscimo no volume de sangue, desidratação, desequilíbrio ácido-base ou hipotermia, ou (ii) associada com função respiratória inadequada;

-**Ação:** faça reposição volêmica, aquecimento do animal e verifique a posição em que o animal se encontra. Estire levemente o pescoço do animal e verifique se não há nenhum tipo de obstrução das vias aéreas (por maravalha, papel, coágulo de sangue etc.).

e) **Distúrbios metabólicos** devido à ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e mudanças associadas na função celular, com metabolismo alterado de glicose e proteína resultando em hiperglicemia e balanço nitrogenado negativo;

- **Ação:** Aclimatar os animais as instalações e ao pessoal para reduzir a ativação da resposta ao estresse. Monitorar e controlar os fatores propensos a exacerbar a resposta ao estresse da intervenção, principalmente dano ao tecido e dor. Fornecer suporte nutricional para minimizar a glicólise durante o ato operatório e recuperação no pós-operatório. Monitorar o consumo de água e alimento no pós-operatório. Corrija a dor e estimule o animal a se alimentar colocando a ração umedecida com água no chão da caixa após recuperação anestésica.

f) **Falência cardiovascular e/ou respiratória**, riscos durante procedimentos cirúrgicos e no período pós-operatório imediato, não somente devido às complicações potenciais, listadas anteriormente, mas também porque muitos agentes anestésicos possuem efeitos depressivos significativos e específicos em ambos os sistemas, um risco exacerbado por mau gerenciamento da dose anestésica;

- **Ação:** calcule cuidadosamente a dose de cada agente anestésico/analgésico a ser aplicado no animal e utilize antagonistas.

g) **Choque-hipovolêmico ou séptico**. Infecções no pós-operatório podem incluir infecção e ruptura da ferida causada por uma falha nas técnicas assépticas; ou podem ser resultado de um trauma excessivo no tecido, má homeostase, aparelhos, cateteres, os quais podem ser um receptáculo de infecção. A hipotermia e agentes anestésicos modulam a resposta imune e aumentam o risco de infecção após procedimentos cirúrgicos;

-**Ação:** Realize técnica asséptica e, se necessário, administre antibióticos.

Em casos em que é necessário o **isolamento do animal no pós-cirúrgico**, para prevenir danos ao local da incisão/cateter/instrumentos cirúrgicos ou implantes, recomenda-se alojar o animal em gaiola que lhe permita o **contato visual, auditivo e olfatório** com

outros animais. A Figura 3 traz um resumo dos cuidados pré, trans e pós-cirúrgico para redução do risco potencial ao bem-estar animal.

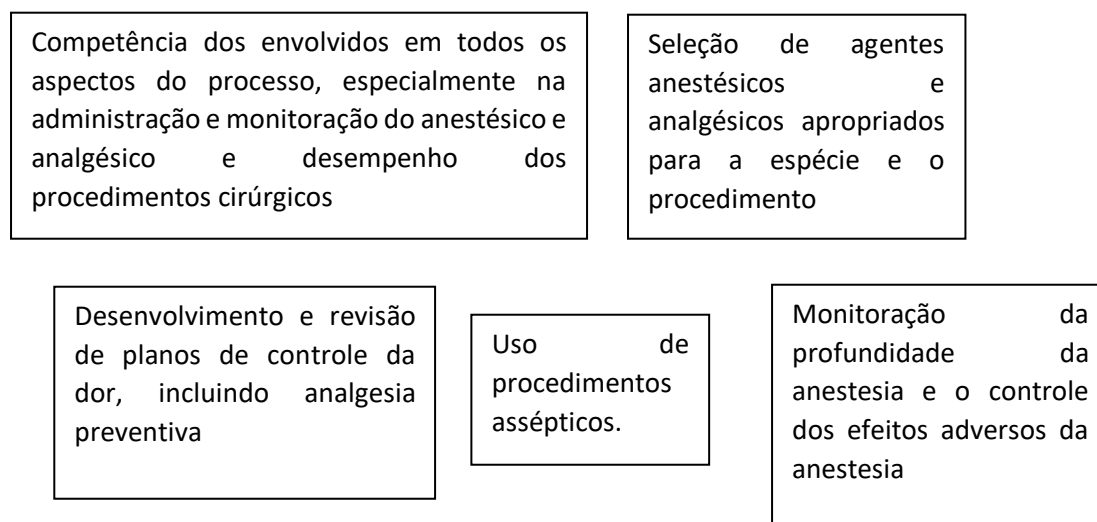


Figura 3. Cuidados pré, trans e pós-cirúrgico para redução do risco potencial ao bem-estar animal.

Fonte: da Autora

6. ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos devem ser administrados antes e após o procedimento cirúrgico afim de reduzir a chance de infecções. A Tabela 12 mostra alguns antimicrobianos e suas respectivas doses e vias para ratos e camundongos.

Tabela 12. Antimicrobianos: dosagens e vias de administração para ratos e camundongos.

Princípio ativo	Camundongo	Rato	Comentário
Pentabiótico	24.000 UI/kg IM	24.000 UI/kg IM	Período de cobertura: 5-7 dias. Antimicrobiano de amplo espectro.
Amoxicilina	22 mg/Kg VO	20 mg/Kg VO	Frequência: 12/12 horas
Enrofloxacina	10 mg/Kg SC	10 mg/Kg SC	Frequência: 12/12 horas
Cloranfenicol	50 mg/Kg SC	10 mg/Kg SC	Frequência: 12/12 horas
Ampicilina	20-100 mg/Kg SC	20-100 mg/Kg SC	Frequência: 8/8 horas

Fonte: Adaptado de Guia Anestesia e Analgesia UNIFESP, 2020. IM: intramuscular; VO: via oral; SC: subcutâneo.

7. PONTO FINAL HUMANITÁRIO (PFH)

É um **indicador precoce de dor/distresse** no animal de experimentação que, em um contexto legal, moral e científico, é determinado um limite do sofrimento por tomada de ações.

Segundo RN 25 de 29/09/2015, todo protocolo de pesquisa **deve** considerar a adoção de pontos finais humanitários. Portanto, todo projeto deve **prever os pontos críticos** que podem levar ao sofrimento do animal, **determinar *check lists*** com escores para monitorização da possível deterioração do bem-estar do animal e **tomar ações** de prevenção, tratamento ou, se ultrapassar limite de sofrimento, realizar a morte humanitária.

Para aplicar o PFH, o pesquisador deve conhecer o comportamento normal do animal com o qual trabalha e assim conhecer o que é anormal além dos **sinais de dor**. A dor pode se manifestar por **alterações no comportamento** e da **expressão facial**. No ANEXO 3 está a escala facial de dor (*grimace scale*) para ratos e no ANEXO 4 para camundongos. A CEUA recomenda fortemente a impressão e a fixação na sala de experimentação da expressão facial, que pode ser baixada do site da NC3R: <https://nc3rs.org.uk/grimacescales>

Ações a serem tomadas sem demora:

- Interrupção do procedimento doloroso;
- Adoção de tratamento para aliviar a dor, o desconforto ou o distresse;
- Ajustar o protocolo para reduzir ou remover a causa do efeito adverso;
- Exclusão do animal do estudo;
- Morte humanitária do animal.

Os projetos ou protocolos devem ser **planejados para evitar a dor, estresse ou distresse** aos animais. Caso isso não seja possível, a necessidade de submeter os animais a essas situações devem ser **cientificamente justificadas** e a **ausência de alternativas deve ser comprovada** com base em ampla revisão da literatura, incluindo **dados recentes**. Os **critérios definidos para a aplicação do ponto final humanitário devem ser detalhadamente informados no protocolo**.

No ANEXO 5 tem-se o *check list* do PFH básico que pode ser empregado em qualquer projeto. Porém, é necessário que cada protocolo tenha seu **check list específico** prevendo possíveis danos que possam ocorrer no animal devido ao protocolo experimental. Ele deve ser **desenvolvido e submetido com o projeto** para a CEUA.

Para maior aprofundamento no assunto, recomendamos a visita aos sites abaixo: <https://az.research.umich.edu/animalcare/guidelines/end-stage-illness-scoring-system>

<https://nc3rs.org.uk/humane-endpoints>

<https://www.humane-endpoints.info/en>

8. OUTROS PROCEDIMENTOS

8.1 Coleta de sangue

A frequência e o volume aceitáveis de coleta de sangue dependem do volume total de sangue circulante dos animais e da quantidade de glóbulos vermelhos (RBC). Como representativo do volume de sangue total, **calcula-se 6% a 8% do peso** dos ratos e camundongos. Do volume de sangue circulante, cerca de **10% do volume total** pode ser removido com segurança a cada **duas a quatro semanas**; **7,5% desse volume** pode ser removido a **cada sete dias**; e **1% a cada 24 horas**.

Para a coleta de volumes maiores que o recomendado, **deve-se apresentar uma justificativa e fazer a reposição de líquidos e substitutos celulares**. É importante salientar que o volume de sangue é recuperado em 24 horas, mas os eritrócitos retornam aos níveis normais somente em duas semanas (Neves et al, 2013). A Tabela 13 apresenta o volume de sangue e o intervalo entre as coletas de acordo com o peso do animal e a Tabela 14 resume os locais indicados para a coleta do sangue em roedores.

Tabela 13. Volume de sangue aproximado e intervalos entre coletas

Peso do animal (g)	Volume de sangue circulante (mL)	1% a cada 24 h (mL)	10% a cada duas semanas (mL)
20	1,10-1,40	0,011-0,014	0,11-0,14
25	1,37-1,75	0,014-0,018	0,14-0,18
30	1,65-2,10	0,017-0,021	0,17-0,21
35	1,93-2,45	0,019-0,025	0,19-0,25
40	2,20-2,80	0,022-0,028	0,22-0,28
125	6,88-8,75	0,069-0,088	0,69-0,88
150	8,25-10,50	0,082-0,105	0,82-1,0
200	11,00-14,00	0,11-0,14	1,1-1,4
250	13,75-17,50	0,14-0,18	1,4-1,8
300	16,50-21,00	0,17-0,21	1,7-2,1
350	19,25-24,50	0,19-0,25	1,9-2,5
400	24,0-32,0	0,24-0,32	2,4-3,2
450	27,0-36,0	0,27-0,36	2,7-3,6

Fonte: Adaptado de National Research Council.

Tabela 14. Recomendações de locais de coleta de sangue para roedores

Espécie	Amputação da cauda	Veia caudal	Sinus* retro-orbital	Veia jugular	Punção cardíaca*	Veia facial	Veia safena	Veia gengival**
Camundongo	+++	++	terminal	-	terminal	+++	+++	++
Rato	-	+++	-	+	terminal	++	++	+++

Fonte: Adaptado de RN33, CONCEA, 2016. (-) não recomendado; (+) via possível; (++) via aceitável; (+++) via de preferência; *somente sob anestesia; **Veja como se faz a coleta em:

http://bpeanimal.iq.usp.br/paginas_view.php?idPagina=850&idTopico=1365#.YNHY0WhKjcs

9. EUTANÁSIA

Constitui-se no modo humanitário de matar o animal, sem dor e com mínimo desconforto. É a prática de causar a morte de um animal de maneira controlada e assistida para alívio da dor e/ou do sofrimento. Ela pode ser indicada quando o **bem-estar do animal estiver comprometido** de forma irreversível, ao final de atividades científicas devidamente aprovadas por uma Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA.

A eutanásia não se limita apenas ao momento da morte. **Todo o processo desde o alojamento dos animais e à contenção física deve ser cuidadoso para minimizar ao máximo o sofrimento, o medo, a ansiedade e a apreensão.** A manipulação dos animais deve ser cuidadosa e, muitas vezes, conversar com o animal durante a eutanásia pode ter um efeito calmante em animais acostumados ao manuseio. O uso de baixa luminosidade e um ambiente livre de ruídos também deve ser preconizado. Os animais devem ser mortos em um **ambiente silencioso, limpo, longe de outros animais.** Um animal não deve assistir a eutanásia de outro, devendo o cadáver ser retirado do ambiente e o local, bem como os objetos utilizados ser limpos antes da entrada do próximo animal.

É imperativa a confirmação da morte antes do descarte do animal. Animais inconscientes podem parecer mortos. Entretanto, podem se recuperar. Todos os sinais a seguir devem ser associados para confirmar a morte do animal: ausência de movimento respiratório (apneia); ausência de batimentos cardíacos (assistolia), preferencialmente, por meio do uso de estetoscópio ou doppler-ultrassom; ausência de pulsação, mucosas pálidas e perda do reflexo corneal ou àqueles apropriados para a espécie. A confirmação da morte deve ser realizada por profissional qualificado para tal fim.

“Os procedimentos de eutanásia devem ser supervisionados, mesmo que não de forma presencial, pelo Responsável Técnico pelo Biotério. A pessoa responsável pela eutanásia deve ter conhecimento técnico, usar métodos humanitários de manuseio, entender o motivo pelo qual o animal está sendo morto, estar familiarizado com o método e estar informado sobre a finalidade a que se destinará o cadáver”. (BRASIL - CONCEA, 2018).

Um método adequado de eutanásia deve garantir perda da consciência de forma rápida, irreversível e desprovida de experiência emocional ou física desagradável, ou seja, o animal não deve apresentar dor, estresse, apreensão ou ansiedade. Independentemente do método de eleição, a inconsciência deve anteceder a parada cardiorrespiratória, seguida da perda da função cerebral. Estas características são mais fáceis de serem encontradas nos métodos chamados **“recomendáveis”**, por **provocarem a morte de forma consistente e humanitária.** Métodos ditos **“aceito com restrição”**, é o que **não atende a todos os critérios ideais** e devem ser previamente **aprovados e autorizados pela CEUA** se plenamente justificados para o objetivo científico, detalhadamente descritos na proposta enviada para avaliação, a pessoa responsável apresentar comprovada habilidade e qualificação para o emprego do

método e for considerado o devido cuidado à saúde e à segurança ocupacionais; e os métodos “**inaceitáveis**” causam sofrimento nos animais, **não são humanitários** ou apresentam outros problemas significativos associados ao seu uso.

Todos os protocolos aqui descritos estão de acordo com a Lei 11.794 de 2008, artigo 14 § 1º. Salienta-se que o método escolhido deve constar no formulário de submissão à CEUA/UNIFAL-MG, devendo ser previamente aprovado pela mesma.

Em se tratando da utilização de **anestésicos injetáveis para a eutanásia**, o cálculo do volume final do agente a ser administrado deve ser **multiplicado por 3**. Abaixo, exemplo do cálculo da dose letal de anestésicos injetáveis:

$$\text{Volume final para eutanásia} = \frac{\text{Peso do animal (kg)} \times \text{Dose do anestésico (mg/kg)}}{\text{Concentração do anestésico (mg/mL)}} \times 3$$

Recomendamos que as diluições sejam preparadas no momento da administração e o volume residual descartado após o uso, a fim de prevenir a administração de substâncias degradadas por má conservação ou fora do prazo de validade. As soluções de agentes **barbitúricos devem ser misturadas com lidocaína** na concentração de 10 mg/mL ou outro anestésico local, para minimizar a dor.

9.1 MÉTODOS RECOMENDÁVEIS:

9.1.1 Protocolos de eutanásia mediante a utilização de **anestésicos injetáveis**

Dentre todos os métodos, os agentes injetáveis são os **mais indicados para eutanásia** na maioria das espécies, pois, desde que o manejo prévio seja realizado de forma adequada, apresentam efeito rápido e confiável; não causam sofrimento físico e emocional para o animal; são de baixo risco aos operadores; apresentam uma maior probabilidade de irreversibilidade; confiabilidade; menor custo e melhor aspecto estético em relação ao uso de agentes inalatórios e métodos físicos. As suas desvantagens são a necessidade de contenção individual dos animais e necessidade de experiência para administração.

Quando, para se realizar a administração, a contenção física do animal for difícil ou causar estresse a ele ou risco ao operador, deve-se proceder, previamente, a contenção química por outra via que não a injetável. A Tabela 15 mostra as doses e vias do pentobarbital e do propofol, dois anestésicos injetáveis, para eutanásia e a Tabela 16 as doses da cetamina e xilazina para a mesma finalidade.

Tabela 15. Doses e vias para administração de Pentobarbital e Propofol para eutanásia em camundongos e ratos.

Anestésico	Dose e Via	Camundongo	Rato
Pentobarbital	Dose Anestésica (mg/kg) /via	40-85 IP; 40-70 IV	40-60 IP; 30-40 IV
	Dose Letal (mg/kg) /via	255 IP; 210 IV	180 IP; 120 IV
Propofol	Dose Anestésica (mg/kg) /via	30 IV	10 IV
	Dose Letal (mg/kg) /via	90 IV	30 IV

Fonte: Adaptado de Guia de eutanásia, UNIFESP, 2019. IP: intraperitoneal; IV: intravenosa.

Tabela 16. Dose letal de cetamina e xilazina para pequenos roedores.

Espécie	Dose Letal xilazina (mg/kg)	Dose Letal cetamina (mg/kg)	Via
Camundongo	30	300	IP
Rato	30	180	IP
Hamsters	30	600	IP

Fonte: Adaptado de Guia de eutanásia, UNIFESP, 2019. IP: intraperitoneal.

9.1.2 Protocolos de eutanásia mediante a utilização de **anestésicos inalatórios**

Os fármacos mais indicados, por **ordem de preferência**, levando-se em consideração o **bem-estar** dos animais e a **segurança** destes e do operador são: **sevoflurano, isoflurano e halotano**.

Por questões de biossegurança o local deve possuir um **sistema de exaustão do gás**, uma vez que a exposição aos agentes pode promover **teratogenicidade, mutagenicidade e problemas respiratórios, além de aumentar a incidência de aborto espontâneo**.

O **contato direto do animal** com o anestésico em sua forma líquida **causa irritação das mucosas**, por isso os animais devem ser **expostos apenas ao vapor do anestésico**. Portanto, uma gaze embebida com anestésico pode ser colocada em um recipiente fechado juntamente com o animal de maneira que este fique em contato apenas com o vapor do anestésico. Esta técnica permite a volatilização do anestésico rapidamente, atingindo concentrações muito mais elevadas que em vaporizadores (normalmente 5%), provocando a morte do animal em período relativamente curto. Assim, pode-se dizer que a eutanásia ocorre por overdose de isoflurano inalado sob pressão de vapor saturado (aproximadamente 31% a 760mmHg) a temperatura da sala de 20°C. No entanto, os ratos expostos a uma concentração rapidamente crescente de isoflurano mostraram um maior nível de aversão do que aqueles expostos usando um vaporizador.

Recomendação: pelo fato de produzirem um estado anestésico reversível, preferencialmente, um segundo método deve ser utilizado para garantir o óbito do animal (ex. método físico, exsanguinação).

9.2 MÉTODOS ACEITOS COM RESTRIÇÃO

9.2.1 Tribromoetanol - TBE (Avertin®)

Não é citado na legislação atual (BRASIL-CONCEA 2018).

O fármaco só deverá ser utilizado caso haja adequada diluição e armazenamento. O fármaco é higroscópico, fotossensível e pode sofrer oxidação. O produto de sua degradação é letal. Nunca usar solução amarelada ou com precipitado.

Recomendação: sua utilização é citada na literatura **apenas para camundongos**. Deverá haver **forte justificativa** para o uso deste fármaco. Como os demais anestésicos injetáveis, para eutanásia, devem ser utilizadas no mínimo 3 vezes a dose anestésica. Veja na Tabela 17 as doses anestésica e letal para o TBE.

Tabela 17. Doses anestésica e letal do tribromoetanol

Espécie	Dose anestésica (mg/kg)	Dose Letal (mg/kg)	Via
Camundongo	250	750	IP

Fonte: Adaptado de Guia de eutanásia, UNIFESP, 2019. IP: intraperitoneal.

9.2.2 Protocolo de eutanásia mediante a utilização de dióxido de carbono (CO₂)

Como todo método aceito com restrição, **somente poderá ser utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa** e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA. Em roedores, o CO₂ é aceito com a restrição desde que seja utilizado em câmaras específicas que se mensurem o fluxo de CO₂, por meio de fluxômetro de modo que o volume de preenchimento esteja na ordem de 20% do volume da câmara por minuto, mantendo o fluxo por pelo menos 1 minuto após confirmação da morte clínica.

O tempo até a inconsciência como uso de CO₂ é inversamente proporcional à concentração utilizada, tendo o potencial de causar distresse por três diferentes mecanismos:

- As concentrações acima de 40% causa dor devido a formação de ácido carbônico nas mucosas ocular e respiratória;
- Pode induzir à sensação de sufocamento - “falta de ar”;
- Causa estimulação direta de canais de íons na amígdala associados a resposta ao medo.

Recomendação: pelo fato de produzirem um estado anestésico reversível, preferencialmente, um segundo método deve ser utilizado para garantir o óbito do animal, especialmente em neonatos (ex. método físico, exsanguinação).

9.2.3 Protocolo de eutanásia mediante a utilização de **métodos físicos**

Deslocamento cervical

Como todo método aceito com restrição somente poderá ser **utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa** e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA.

São **obrigatórios** o treinamento prévio e a comprovação de qualificação do executor.

Descrição do método: polegar e indicador devem ser posicionados um de cada lado na região cervical cranial (base do crânio) ou um bastão deve ser pressionado nesta região do crânio. Com a outra mão deve-se tracionar a base da cauda ou membros pélvicos para trás para causar a separação das vértebras cervicais em relação ao crânio. Após a tração poderá ser palpado um espaço de 2 a 4 mm que se forma na base do crânio.

Recomendação: pode ser utilizado para causar a morte de camundongos e ratos com no máximo 150 g, preferencialmente após a anestesia. **Não deve ser utilizado para hamsters e cobaias**, nem como método secundário devido à forte musculatura cervical que esses animais possuem.

Decapitação

Como todo método aceito com restrição somente poderá ser **utilizado quando comprovada a interferência da utilização de anestésicos nos resultados da pesquisa** e desde que devidamente justificado e aprovado pela CEUA.

São **obrigatórios** o treinamento prévio e a comprovação de qualificação do executor.

Deve ser utilizado equipamento específico para esse fim: tesoura para neonatos e guilhotina para animais adultos. O **equipamento deve estar em boas condições de uso**, sem ferrugem e passar por manutenção periódica mantendo-se a lâmina amolada. Deve ser realizada sua limpeza após o óbito de cada animal.

Descrição do método: a lâmina deve ser posicionada na base do crânio realizando-se um movimento único e preciso que promova a separação da cabeça e do corpo do animal.

Recomendação: Camundongos, ratos de até 150 g, **preferencialmente deve ser utilizado após a anestesia**.

9.2.4 Método aceito apenas como **método complementar**

Exsanguinação

Realizada por meio de secção das artérias carótidas ou pela punção cardíaca (roedores) em **animais previamente anestesiados**.

9.3 MÉTODOS INACEITÁVEIS

- Formaldeído;
- Éter;
- Clorofórmio;
- Hidrato de cloral;
- Uso isolado de bloqueadores neuromusculares, cloreto de potássio ou sulfato de magnésio;
- Descompressão;
- Embolia gasosa;
- Traumatismo craniano;
- Incineração *in vivo*;
- Afogamento;
- Anestésicos dissociativos (ex. cetamina) utilizados de forma isolada.

10. ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

Animais mantidos em ambientes enriquecidos adequadamente para a espécie e linhagem são mais estáveis do ponto de vista fisiológico e cognitivo por permitir expressar seus comportamentos naturais, promovendo bem-estar e assegurando melhores resultados científicos. Em 1959, Russel e Burch, já consideravam o enriquecimento como uma necessidade ética no ambiente dos animais de laboratório, com o objetivo de introduzir o refino tanto na criação como na experimentação. O CONCEA (RN 30 de 16 de setembro de 2016) diz que a impossibilidade de aplicação de enriquecimento ambiental deve ser justificada no projeto. Assim, a CEUA recomenda que as propostas devam prever o programa de enriquecimento ambiental do animal de experimentação.

Para os camundongos é importante introduzir em seu microambiente materiais que permitam o descanso e a reprodução, tais como materiais para a construção de ninhos: papel-toalha, algodão e/ou máscaras descartáveis, que além de ajudarem a regular a temperatura e servirem de abrigo, evitam a agressividade, especialmente entre os machos.

Para os ratos é importante introduzir objetos que sirvam de esconderijo e/ou que possam ser mastigados, como canos de papelão ou PVC e pedaços de madeira.

O setor de criação do Centro de Bioterismo da UNIFAL-MG, utiliza como enriquecimento papel-toalha para camundongos e canos de PVC para ratos.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A CEUA recomenda fortemente que os pesquisadores sigam as diretrizes ARRIVE para a elaboração do desenho e análise do projeto e, por fim do manuscrito. As diretrizes foram publicadas na revista *PLOS Biology* em junho 2010 ([doi:10.1371/journal.pbio.3000411](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000411)) e são atualmente endossadas por revistas científicas, agências de financiamento e sociedades científicas. Veja os passos das diretrizes no endereço <https://arriveguidelines.org/arrive-guidelines>.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos – DBCA, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, 2013.

BRASIL. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais. In: Coletânea legislativa ambiental. São Paulo: Saraiva; 2011.

BRASIL. Resolução normativa nº 13, de 20 de setembro de 2013 - Diretrizes da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação animal –CONCEA, 2013.

BRASIL. Resolução normativa nº 30, de 2 de fevereiro de 2016 - Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA – CONCEA, 2016.

BRASIL. Resolução normativa nº 33, de 18 de novembro de 2016 - Procedimentos – Roedores e Lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica do Conselho Nacional de Controle de Experimentação animal –CONCEA, 2016.

BRASIL. Resolução normativa nº 37, de 27 de janeiro de 2018 - Diretrizes para prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação animal –CONCEA, 2018.

DAMY S.B.; CAMARGO R.S.; CHAMMAS R.; FIGUEIREDO L.F.P. Aspectos fundamentais da experimentação animal: aplicações em cirurgia experimental. **Rev Assoc Med Bras.** 2010;56(1):103-11.

Guia anestesia e analgesia em animais de laboratório Universidade Federal de São Paulo UNIFESP. Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA. Versão nº 03, 14/07/2020.

Guidelines for Lidocaine and Bupivacaine for Line Block Anesthesia in Mice and Rats. Reviewed and Approved by FAU IACUC. Last Reviewed/Revised: 29/01/2021.

HENKE, J. et al. Pain management for laboratory animals. Committee on Anaesthesia of the GV-Solas. Disponível em: http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/Anaest._Analgesie/Schmerztherapie_Mai2015_e.pdf. Acesso em 09 de junho de 2021.

KOHN D.F.; MARTIN T.E.; FOLEY P.L.; MORRIS T.H.; SWINDLE M.M.; VOGLER G.A. *et al.* Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2007;46(2):97-108.

Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP, 2013.

NEVES, S. M. P. et al. Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. São Paulo, 2013.

OLFERT, E. et al. CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. Guidelines on choosing an appropriate endpoint in experiments using animals for research, teaching and testing. CCAC, 1998.

SCHANAIDER A.; SILVA P.C. Uso de animais em cirurgia experimental. **Acta Cir Bras.** 2004;19(4):441-7.

ANEXOS

ANEXO 1

Procedimentos, dor e condutas recomendadas

Abaixo estão relacionados diversos procedimentos, dor gerada e condutas para controle de dor recomendada (Henke *et al.*, 2015; RN33, CONCEA, 2016)

Tecido/Órgão/ Região	Procedimento	Exposição a dor	Terapia recomendada
Cabeça			
Nariz, paranasal, sinusal	Formação tumoral	Discreta a moderada	AINE
Olho	Todos modelos oftalmológicos	Moderada a grave	AINE ou esteroide, colírio tópico e opioide se necessário (3 a 5 dias)
Ouvido interno e médio	Osteotomia bula, lesão explosiva	Moderada a grave	AINE e opioide (3 a 5d)
Neurocrânio	Cirurgia estereotáxica	Moderada	AL+ AINE + opioide (2-3d) Para reduzir a dor e irritação local, como por exemplo a das barras de ouvido do aparelho estereotáxico, 2% de lidocaína gel pode ser colocado no canal auditivo do animal e nas barras de ouvido do aparelho estereotáxico. Anestésicos tópicos líquidos (lidocaína) também podem ser utilizados, aplicando de uma a duas gotas em cada pavilhão auricular do animal antes de inserir as barras de ouvido do aparelho estereotáxico.
	Implantação de sonda	Moderada	AL+ AINE + opioide (2-3d)
	Inoculação de tecido, células ou substâncias infecciosas	Discreta	Se necessário AINE (0-1d)
Coluna			
Raízes nervosas	Radiculite, cirurgia e experimento de estenose	Dor radicular: radiação, alteração sensorial, dor cortante e de pressão.	AINE ou esteroide Infusão manitol (edema) Relaxante muscular
Disco vertebral	Degeneração ou inflamação do disco, cirurgia da coluna vertebral	Cervical: má regulação autonômica, disfunção sintomática As dores desse grupo são graves.	Opioides 3d
Osso	Modelos de fraturas, estáveis e instáveis.	Grave	AINE e opioides (2-3d)

Músculo/fáscia	Acesso ao sistema esquelético Artrotomia Modelos de trauma	Moderado Grave Grave	AINE Relaxante muscular Opioides 3-5d
Nervo	Acesso ao sistema esquelético Artrotomia Modelos de trauma	Moderado Grave Grave	AINE Relaxante muscular Opioides 3-5d
Articulações	Modelos ortopédicos	Dores artrogênicas e miogênicas Moderada	AINE Relaxante muscular Sugere-se uso inicial com opioide 2-3d
Coxim Dedo do membro posterior	Injeção (vírus, vacina) Imunização Queimadura Queimadura química Contusão	Geralmente são extremamente dolorosos. Solicita-se revisão dos modelos.	EVITAR! Opioide e AINE (mínimo 5d)
Trato reprodutivo			
Ovário	Ovariectomia/ implantação tumoral	Grave (laparotomia)	AINE e opioide (3d). No caso de tumor, o tratamento é prolongado.
Útero	Operação fetal	Grave (laparotomia)	Opioide, relaxante uterino e AINE (3d)
Próstata	Prostatectomia	Grave. Osteotomia pélvica poderá ser realizada apenas em exceções	Opioide e AINE (3d).
Testículo	Orquiectomia	Moderado	AINE e, se necessário, opioide
Pele			
Alotransplante de tecido na pele ou tecido SC	Implantação do coração no tecido SC; transplante de pele no camundongo imunodeficiente; Alotransplante como tecido traqueal no tecido SC.	Discreta a moderada	AINE e cetamina (2d)
Implantação de tumor	Injeção de células tumorais dentro ou embaixo da pele	Discreta na injeção mas pode se tornar grave na presença do tumor.	Opioide
Queimadura	Feridas superficiais	Grave	Opioide, cetamina e AINE.

Cicatrização de ferida	Incisão simples	Discreta a moderada (depende da extensão)	AINE.
Tatuagem	Marcação de orelha	Moderada	Dipirona preventiva e EMLA local
Baço Esplenectomia		Grave (laparotomia)	Opioide e AINE (3d)
Imunização	Injeção embaixo da cápsula esplênica; implantação de antígenos embaixo da cápsula esplênica.	Grave (laparotomia)	Opioide e AINE (3d)
Trato Urinário			
Rim	Nefrectomia (total, subtotal, unilateral, bilateral), transplante, hidronefrose; implantação de tecido debaixo da cápsula renal.	Grave (laparotomia)	Opioide e dipirona. AINE: cuidado com função renal. (Mínimo 3d)
Bexiga	Ressecção da bexiga (parcial, total), modelo de disfunção miccional; inflamação.	Grave	AINE, Buscopan® dipirona, opioide, analgesia epidural
Ureter	Oclusão parcial ou total uretral para hidronefrose ou modelo de refluxo nefropático	Grave	AINE, opioide, Buscopan®, dipirona, analgesia epidural
Fígado Hepatectomia		Grave	Opioide e AINE (3d)
Transplante (receptor)	Ortotópico, heterotópico, autogênico, alogênico, xenogênico	Grave	Opioide e AINE (3d)
Implantação de tumor		Grave	Opioide e AINE (3d)
Necrose hepática, cirrose, falência hepática aguda		Discreta a grave. Nos estágios intermediários à final, a dor se torna grave pela inflamação e desarranjo metabólico. (Identificar ponto final humanitário)	AINE e opioide quando aumentar o grau da dor.
Vesiculabiliar			
Colecistectomia	Canulação para extração	Grave	Opioide e AINE (3d)
Ducto biliar		Grave	Opioide e AINE (3d)

Trato gastrointestinal			
Abdômen	Ressecção gástrica (parcial/total), fístula gástrica, úlceras estomacais, piloroplastia.	Grave	Opioide e dipirona ou AINE (3d)
Cólon	Bolsa, fístula, ânus artificial, ressecção do cólon, transplante de cólon, transplante de mucosa, <i>by-pass</i> intestinal, expansão do cólon com balão (modelo cólica), modelo íleo.	Grave	AINE associado com dipirona ou Buscopan® (cólica) + Opioide (3d)
Pâncreas			
Pancreatectomia	Completa ou parcial	Grave	Opioide e AINE (3d)
Transplante (receptor)	Canulação para extração de secreção pancreática	Grave. Identificar ponto final humanitário.	Opioide e AINE (3d)
Ducto pancreático	Injeção de Na	Grave	Opioide e AINE (3d)
Implantação Tumoral	taurocolateretrogrado no colédoco pancreático;	Grave. Identificar ponto final	Opioide e AINE (3d)
Pancreatite aguda, necrotizante	Oclusão do colédoco pancreático; estenose duodenal	Grave. Identificar ponto final humanitário.	Opioide e dipirona durante todo o processo. Acompanhamento contínuo e intenso do animal.
Trato gastrointestinal			
Laparotomia	Cirurgia de órgãos abdominais	Moderada a grave (pouca ou muita manipulação de órgãos, incisão)	Opioide e AINE (3d)
Peritônio	Peritonite (ligadura de vasos, oclusão de ceco/cólon e perfuração)	Dor grave	Dipirona e opioide. (Acompanhamento contínuo até desaparecimento dos sintomas) E AINE no caso de inflamação pós-operatória.
Vasos			
Oclusão de vasos periféricos	Isquemia por ligadura da artéria femoral ou vasos no ouvido; infarto cerebral (isquemia focal) por cauterização ou cateterização da artéria cerebral média; isquemia cerebral global devido a oclusão transitória de ambas as artérias carótidas.	Moderada	Opioide e AINE (2-3d)

Arteriosclerose ou inflamação dos vasos periféricos	Arteriosclerose da artéria carótida	Discreta a moderada	Opioide e AINE (aplicação única preemptiva. AINE: meloxicam ou carprofeno: ação 24h) (se necessário: 2-3d)
Transplante de vasos periféricos, implantação de <i>stent</i> coronariano	Alotransplante da artéria carótida; autotransplante de vasos sanguíneos, teste de próteses em grandes vasos abdominais.	Discreta a moderada	Opioide e AINE (2-3d)
Crescimento de vasos sanguíneos periféricos	<i>Skinfolderchambers</i>	Discreta a moderada	Opioide e AINE (2-3d)
Vasos Isquemia extensiva		Grave	Opioide e AINE Terapia constante, acompanhamento contínuo
Instrumentação em vasos sanguíneos periféricos e tecidos	Implantação de sistemas para realização ECG e/ou pressão sanguínea; cateter permanente em vasos sanguíneos periféricos.	Moderada a grave	Opioide e AINE (3d)
Oclusão de vasos periféricos	Isquemia por ligadura da artéria femoral ou vasos no ouvido; infarto cerebral (isquemia focal) por cauterização ou cateterização.	Moderada	Opioide e AINE (2-3d)
Coração			
Alotransplante coração/abdômen	Administração de substâncias que causem alteração no vaso ou coração (inflamação, calcificação, microenfarto). Ex: mediadores inflamatórios, antígenos, antibióticos, carcinógenos, coagulantes etc.	Grave	Opioide, AINE (3-5d)
Indução de alteração patológica no coração por substâncias tóxicas		A dor depende do tipo de substância e dose	Opioide, AINE, acompanhamento constante.
Danos secundários ao coração e vasos sanguíneos	Cirurgia primária em outros órgãos, modelos de hipertensão, modificações genéticas, sistemas transgênicos induzidos.	Depende da alteração inicial. Acompanhamento próximo necessário.	Opioide, AINE.
Dor no sistema musculoesquelético por neoplasia - Crescimento do tumor: Infiltração de tecido ósseo e mole; compressão e infiltração neural, sanguínea e vasos linfáticos; edema e dificuldade circulatória; tumor	Modelos de tumor	Moderada a grave, dependendo do estágio.	AINE ou esteroide -Dipirona -Em estágios mais avançados, opioide. -Uso de anestesia local! -Condição terminal -Acompanhamento contínuo,

com necrose de pele, ulceração e infecção secundária. Quimioterapia: inflamação e neuropatia.			
Pulmão			
Ressecção parcial		Grave	AL (bupivacaina intercostal) + opioide+ AINE (3-8d)
Transplante		Grave	AL (bupivacaina intercostal) + opioide+ AINE (4-8d)
Pneumonia/ pleurisia		Grave	AINE durante todo o experimento (coelho)

ANEXO 2



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas. Unifal-MG
 Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas/MG. CEP 37130-001
 Fone: (35) 3791-9000



CHECK LIST E REGISTRO DE MONITORAMENTO ANESTÉSICO, ANALGÉSICO, CIRÚRGICO E PÓS-CIRÚRGICO DE ANIMAIS SUBMETIDOS A PROCEDIMENTOS INVASIVOS.

Título do projeto: _____

Número de aprovação da CEUA: _____

Procedimento realizado: _____

Nome do responsável por executar o procedimento: _____

Identificação do animal: _____

Data: _____

A) SALA DE CIRURGIA

		SIM	NÃO
1	A área de cirurgia designada é limpa e desinfetada antes da cirurgia?		
2	Há separação da área de preparação (tricotomia) e área cirúrgica?		
3	A área cirúrgica é em uma área de baixo tráfego de pessoas?		
4	A área cirúrgica está longe das aberturas de ventilação?		

B) INSTRUMENTOS E EQUIPAMENTOS

		SIM	NÃO
1	Os instrumentos foram esterilizados em autoclave para o uso na cirurgia?		
2	Cânulas, gaze, implantes, etc. usados na cirurgia foram esterilizados?		
3	Medicamentos, fluidos e materiais de sutura estão no prazo de validade?		
4	As seringas e agulhas são estéreis e utilizadas para cada animal?		

C) CIRURGIÃO

		SIM	NÃO
1	O cirurgião usa roupa cirúrgica, como avental de manga comprida, gorro, máscara facial e luvas cirúrgicas estéreis (no tamanho correto)?		

2	Estes itens estão sempre disponíveis para uso no laboratório		
---	--	--	--

D) TREINAMENTO

		SIM	NÃO
1	O cirurgião realizou / praticou este procedimento para se tornar proficiente antes de realizar a cirurgia pela primeira vez nos animais experimentais?		

E) MANUTENÇÃO DOS REGISTROS

		SIM	NÃO
1	A administração de medicamentos (analgesia, antibióticos, etc.) é registrada no cartão da gaiola do animal?		

F) PARA CIRURGIAS SERIADAS

		SIM	NÃO
1	Os instrumentos cirúrgicos foram esterilizados antes de iniciar a série de cirurgias (5 animais)?		
2	Os instrumentos são limpos e desinfetados entre os animais a serem operados?		
3	As luvas do cirurgião são trocadas entre as séries?		
4	É colocado um novo campo operatório para cada animal?		
5	Os instrumentos cirúrgicos são esterilizados após o uso em 5 animais?		

G) ANIMAL(IS) A SER(EM) OPERADO(S) _____

Pré-anestésico utilizado/dose/via: _____

Anestésico utilizado/dose/via: _____

		SIM	NÃO
1	Alguma pomada oftálmica foi aplicada nos olhos imediatamente após a indução da anestesia?		
2	Foi realizada antissepsia da pele com solução de clorexidina?		
3	A área cirúrgica (bancada / mesa superior) foi coberta com pano de campo estéril para colocar itens estéreis?		
4	Foi verificada a profundidade da anestesia pinçando os dedos traseiros do animal (reflexo interdígital) antes de fazer a incisão para garantir que o animal esteja dentro de um plano cirúrgico adequado?		
5	Fluidos aquecidos foram aplicados antes ou após a cirurgia?		

	Deve ser administrado solução de Ringer com lactato ou salina nas doses: * 5-10 ml para ratos adultos * 0,5-1 ml para camundongos adultos		
6	Os animais foram monitorados quanto ao reflexo interdigital, movimentos respiratórios, movimentos de cauda e orelha, cor das mucosas, patas e focinho, tempo de preenchimento capilar e temperatura corpórea durante a cirurgia?		
7	A hidratação do tecido é mantida com salina estéril durante a cirurgia?		
8	Outros cuidados de suporte, como antibióticos, analgésicos, etc., foram administrados de acordo com o protocolo aprovado pela CEUA?		

H) PREVENÇÃO DA HIPOTERMIA

		SIM	NÃO
1	Foi utilizada alguma fonte externa de calor para minimizar a hipotermia durante a cirurgia?		

I) CONTROLE DA DOR

		SIM	NÃO
1	Os analgésicos foram administrados de acordo com o protocolo aprovado pela CEUA?		
2	Quais analgésicos foram administrados? Pré-Op _____ Pós-Op _____		

J) MONITORAMENTO PÓS-CIRÚRGICO

		SIM	NÃO
1	Os animais foram colocados próximos à alguma fonte externa de calor para prevenir a hipotermia durante a recuperação?		
3	Os animais foram monitorados continuamente até recuperar os reflexos inteiramente?		
4	Os animais foram observados durante pelo menos 3 dias de pós-operatório ou até que suturas ou cliques sejam removidos?		
5	Foi realizado tratamento da ferida cirúrgica?		
6	As suturas ou cliques foram removidos com 10-14 dias de pós-operatório?		
7	Foram providenciados cuidados de suporte (fluidos aquecidos, analgésicos, etc.) para melhorar a recuperação?		
8	Os animais foram colocados em gaiolas limpas / novas após a cirurgia?		

K) MONITORAMENTO PÓS-CIRÚRGICO TARDIO (após 24h de cirurgia)

		SIM	NÃO
1	O animal está apresentando anormalidade em sua aparência geral, como pelos arrepiados, arqueamento de dorso, falta de se limpar, porfirina nos olhos e nariz?		
2	O animal está apresentando anormalidades de comportamento, como excesso de agitação ou imóvel, apatia, vocalização, agressividade quando estimulado?		
3	O animal está apresentando anormalidades no local da cirurgia, como sangramento, ruptura dos pontos, vermelhidão e aumento da temperatura local?		
4	O animal está apresentando alterações na temperatura corporal, como extremidades geladas ou corpo muito quente associados a mudanças da frequência respiratória e de comportamento?		
	Se a resposta foi SIM para qualquer pergunta anterior, faça o <i>check list</i> de ponto final humanitário e chame o médico veterinário.		

Descreva detalhadamente as complicações ocorridas durante o procedimento anestésico e/ou cirúrgico que possam justificar qualquer anormalidade que, porventura, possa ocorrer com o animal.

Para aprendizagem cirúrgica para novas cirurgias acesse:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3376945/>

ANEXO 3 - Grimace scale para RATOS



National Centre
for the Replacement,
Refinement & Reduction
of Animals In Research

The Rat Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in rats.

The specific facial action units shown below have been used to generate the Rat Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can be used as part of a clinical assessment.


The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening <ul style="list-style-type: none"> Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) A wrinkle may be visible around the eye 			
Nose/cheek flattening <ul style="list-style-type: none"> Flattening and elongation of the bridge of the nose Flattening of the cheeks (potentially sunken look) 			
Ear changes <ul style="list-style-type: none"> Ears curl inward and are angled forward to form a 'pointed' shape Space between the ears increases 			
Whisker change <ul style="list-style-type: none"> Whiskers stiffen and angle along the face Whiskers may 'clump' together Whiskers lose their natural 'downward' curve 			

Read the original paper:
Sokoloff SL, Rogge RE, Dibbern A, Tuttle AH, Marish LJ, Westkopf JS, Meppelbeck JCS, Wei P, Shan S, Zhang S, McDougall JJ, King CD, Mogil JS. 2011. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory via facial expressions. *Molecular Pain* 7:55. doi:10.1186/1745-0099-7-55

For guidance on using the Rat Grimace Scale, research papers that underpin this technique and for grimace scales in other species, visit www.nc3r.org.uk/grimacescale. To request copies of this poster, please email enquiries@nc3r.org.uk. The NC3Rs provides a range of 3Rs resources at www.nc3r.org.uk/resources. Images kindly provided by Dr Jeffrey Mogil, McGill University.

ANEXO 4 - Grimace scale para CAMUNDONGOS



**NC
3R⁵**
















National Centre
for the Replacement,
Refinement & Reduction
of Animals In Research

The Mouse Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in mice.

The specific facial action units shown below have been used to generate the Mouse Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can be used as part of a clinical assessment.

The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening <ul style="list-style-type: none"> • Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) • A wrinkle may be visible around the eye 			
Nose bulge <ul style="list-style-type: none"> • Bulging on the bridge of the nose • Vertical wrinkles on the side of the nose 			
Cheek bulge <ul style="list-style-type: none"> • Bulging of the cheeks 			
Ear position <ul style="list-style-type: none"> • Ears rotate outwards and/or backwards, away from the face • Ears may fold to form a 'pointed' shape • Space between the ears increases 			
Whisker change <ul style="list-style-type: none"> • Whiskers are either pulled back against the cheek, or pulled forward to 'stand on end' • Whiskers may clump together • Whiskers lose their natural 'downward' curve 			

Read the original paper:
Langford DJ, Farver JL, Chenot ML, Clarke SC, Drummond TE, Sifakis S, Gluck S, Ingram J, Rosen-Strauss T, LeClerc-Frédérin M, Mészáros L, Sanga-RE, Stinson BS, Tachibana JM, Wang D, van den Broekdenburg AAMM, Peralta MG, Ostig KG, Mogk JB. 2010. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods* 7(9): 607-614. doi:10.1038/nmeth.1438

For guidance on using the Mouse Grimace Scale, research papers that describe this technique and for grimace scales in other species, visit www.nc3rs.org.uk/grimacescales. To request copies of this poster, please email enquiries@nc3rs.org.uk. The NC3Rs provides a range of 3Rs resources at www.nc3rs.org.uk/resources. Images kindly provided by Dr Jeffrey Mogk, McGill University.

ANEXO 5



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas. Unifal-MG
 Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas/MG. CEP 37130-001
 Fone: (35) 3701-9000



**Registro de monitoramento do animal após procedimento para determinação da
 necessidade do ponto final humanitário**

**(Este monitoramento deve ser realizado em tempo e frequência descritos no protocolo de aprovação
 pela CEUA e exclusivamente para cada animal)**

Título do projeto: _____

Número de aprovação da CEUA: _____

Responsável pelo monitoramento: _____

Procedimento realizado: _____

Data do procedimento: _____

Identificação do animal: _____

Parâmetros		Score	Data/hora _____	Data/hora _____
Aparência	Normal	0		
	Falta de limpeza geral	1		
	Descarga nasal e ocular	2		
	Piloereção, encurvado	3		
Ingestão de água e ração	Normal	0		
	Incerta: perda de peso < 5%	1		
	Perda de peso entre 0-15%	2		
	Sem ingestão de água ou ração	3		
Sinais clínicos	Temperatura normal, FC e FR padrão	0		
	Mudanças leves nos parâmetros	1		
	T° ± 1 / FC e FR ↑ 30%	2		
	T° ± 2 / FC e FR ↑ 50% ou mais	3		

Comportamento natural	Normal	0		
	Mudança mínima	1		
	Menos móvel, mas alerta / isolado	2		
	Vocalização / automutilação / inquieto / parado (não alerta)	3		
Comportamento provocado	Normal	0		
	Mínima depressão/resposta exagerada	1		
	Moderadas mudanças no aspecto comportamental	2		
	Reação violenta ou fraco e pré-comatoso	3		
Score	Se teve score 3 mais de uma vez, some 1 ponto a cada 3 score	2-5		
	TOTAL	0-20		

0-4 = normal

5-9 = monitorar com atenção, considerar o uso de analgésicos. (**Continua**)

10-14 = sofrimento, prover alívio, observar regularmente. Busque segunda opinião ou chame o veterinário. Considere a eutanásia.

15-20 = dor severa. Considere a eutanásia. Revise os procedimentos de seu protocolo experimental.

A) CONCLUSÃO DO CHECK LIST DE PONTO FINAL HUMANITÁRIO

		SIM	NÃO
1	O animal acima avaliado foi eutanasiado?		
2	Se NÃO , qual a conduta adotada? Justifique _____ _____ _____		
3	Se SIM , qual o método adotado? _____ _____ _____		
4	O método teve aprovação da CEUA?		

Data: _____ Assinatura do responsável _____