

Caio Vinicius Botelho Brito

Org.

Manejo Prático de Animais de Experimentação





Manejo Prático de Animais de Experimentação



Universidade do Estado do Pará

Reitor

Juarez Antônio Simões Quaresma

Vice-Reitor

Rubens Cardoso da Silva

**Pró-Reitora de Pesquisa e
Pós- Graduação**

Hebe Morganne Campos Ribeiro

Pró-Reitora de Graduação

Ana da Conceição Oliveira

Pró-Reitora de Extensão

Mariane Cordeiro Alves Franco

Pró-Reitor de Gestão

Carlos José Capela Bispo



Editora da Universidade do Estado do Pará

**Coordenador e
Editor-Chefe**

Paulo Murilo Guerreiro do Amaral

Conselho Editorial

Francisca Regina Oliveira Carneiro

Hebe Morganne Campos Ribeiro

Joelma Cristina Parente Monteiro Alencar

Josebel Akel Fares

José Alberto Silva de Sá

Juarez Antônio Simões Quaresma

Lia Braga Vieira

Maria das Graças da Silva

Maria do Perpétuo Socorro Cardoso da Silva

Marília Brasil Xavier

Núbia Suely Silva Santos

Paulo Murilo Guerreiro do Amaral (Presidente)

Pedro Franco de Sá

Tânia Regina Lobato dos Santos

Valéria Marques Ferreira Normando

Caio Vinicius Botelho Brito

Manejo Prático de Animais de Experimentação



UEPA

Belém - Pará

2016

© EDUEPA 2016

Realização

Universidade do Estado do Pará - UEPA
Editora da Universidade do Estado do Pará - EDUEPA

Apoio



Normalização e Revisão

Marco A. da C. Camelo
Nilson Bezerra Neto

Capa

Fábio Nobre

Diagramação

Odivaldo T. Lopes

Apoio Técnico

Arlene S. D. Caldeira
Maria C. da Silva Faro

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Diretoria de Biblioteca Central da UEPA

Manejo Prático de Animais de Experimentação, Caio Vinicius Botelho Brito, Nara Macedo Botelho, Rosa Helena de Figueiredo Chaves Soares – Belém 2016.

ISBN: 978-85-8458-010-1

116f.

1. Pesquisa e cirurgia experimental. 2. Bioética. 3. Animais de laboratório. 4. Título.

Editora filiada



Editora da Universidade do Estado do Pará - EDUEPA
Travessa D. Pedro I, 519 - CEP: 66050-100
E-mail: editoradauepa@gmail.com

Organizador, Autor e Revisor

Caio Vinicius Botelho Brito, Médico pelo Centro Universitário do Estado do Pará – CESUPA, Mestrando no programa de Cirurgia e Pesquisa Experimental da Universidade do Estado do Pará – UEPA.

Autores e Revisores

Nara Macedo Botelho, Médica, Ginecologista e Obstetra, Doutora em Cirurgia Experimental pela Escola Paulista de Medicina- UNIFESP, Pós doutora em Ginecologia pela Faculdade de Medicina – USP, professora Titular de Ginecologia da Universidade do Estado do Pará- UEPA, professora Titular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará – UFPA, professora do Centro Universitário do Estado do Pará – CESUPA.

Rosa Helena de Figueiredo Chaves Soares, Médica Veterinária, Clínica Médica de Pequenos Animais, Doutoranda em Saúde e Produção Animal na Amazônia da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, professora colaboradora no Programa de Pós-Graduação da Universidade do Estado do Pará- UEPA, professora na Universidade da Amazônia- UNAMA, professora no Centro Universitário do Estado do Pará- CESUPA.

Robson José de Souza Domingues, Biólogo, Doutor em Ciências Biológicas Anatomia Botucatu- UNESP, Professor titular em Anatomia na Universidade do Estado do Pará - UEPA no curso de Medicina, Coordenador do Programa de Mestrado Profissional em Educação em Saúde da Universidade do Estado do Pará- UEPA.

“Esta obra é fruto do Programa de Mestrado Profissional de Cirurgia e Pesquisa Experimental – CIPE da Universidade do Estado do Pará- UEPA, vinculado à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -CAPES.”

Autores

Eduardo Henrique Herbster Gouveia, Graduando do curso de Medicina no Centro Universitário do Estado do Pará – CESUPA, Estagiário do Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará (LCE – UEPA).

Eduardo dos Santos Martins Neto, Graduando do curso de Medicina na Universidade do Estado do Pará – UEPA, Estagiário do Laboratório de Cirurgia experimental (LCE- UEPA).

Higor Yuri Bezerra Henriques, Graduando do curso de Medicina no Centro Universitário do Estado do Pará – CESUPA, Estagiário do Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará (LCE – UEPA).

Danilo Dantas Figueiredo, Graduando do curso de Medicina na Universidade do Estado do Pará – UEPA, Estagiário do Laboratório de Cirurgia experimental (LCE- UEPA).

Revisor externo

Irani Martins de Gouveia, Médica Veterinária, Mestra em Segurança alimentar pela Universidade de Lisboa, Médica veterinária do Laboratório de Cirurgia Experimental (LCE –UEPA)

Sumário

| | |
|----------------------------|-----|
| Prefácio..... | 9 |
| História e Legislação..... | 10 |
| Bioterismo..... | 38 |
| Contenção de animais..... | 45 |
| Anestesia..... | 62 |
| Analgesia..... | 82 |
| Eutanásia..... | 102 |

Prefácio

O Laboratório de Cirurgia Experimental é um dos setores mais profícuos da Universidade do Estado do Pará, no que se refere à produção científico literária. Apesar do exercício constante do respeito às normas de manipulação dos animais de experimentação no transcorrer do cotidiano do laboratório, há muito necessitávamos da compilação em um livro, de forma estruturada e organizada, de tais cuidados.

O Manual Prático de Manejo de Animais de Experimentação preenche essa lacuna e vai atender às necessidades daqueles que procuram o LCE em busca de explicações, no campo experimental, para fenômenos relevantes observados em humanos, beneficiando desde os estudantes até os pós-graduandos.

O mestrando Caio Brito e seus colaboradores desenvolvem esta obra de forma criteriosa e didática distribuindo, em capítulos apropriados e consistentes, o tema do manejo dos animais de experimentação, apresentando o leitor com um roteiro de normas e cuidados necessários para o desenvolvimento seguro de suas pesquisas, com ênfase no tratamento zeloso e minoração do sofrimento do animal.

Prof. Dr. Rui Sérgio Monteiro Barros

CAPÍTULO 1

História e Legislação

Caio Vinicius Botelho Brito

Eduardo dos Santos Martins Neto

História geral

Os primeiros relatos conhecidos do uso de animais em experimentações remontam há mais de dois mil anos com a vivisseção de animais, realizada por Hipócrates (450 A.C) e outros pensadores da época, a fim de estudar e comparar os órgãos de animais com os órgãos humanos. A partir desse ponto, a experimentação animal foi influenciada por várias correntes, como a influência filosófica de Renée Descartes, que ditava a incapacidade de sentir ou sofrer dos animais, a qual perdurou por muito tempo.

As primeiras tentativas de normatizar o uso de animais em pesquisa ocorreram em meados do século XVIII. A partir desta época, os animais começaram a ser benefi-

ciados por leis específicas, fato que se consolidou após a segunda Guerra Mundial, por meio da instituição do Código de Nuremberg e, logo depois, da Declaração de Helsinque, que impactaram as pesquisas em seres humanos e em animais, sendo obrigação dos pesquisadores respeitarem a integridade destes.

As legislações no mundo procederam com sucessivas evoluções acerca da experimentação animal. Apesar de essa prática ser realizada desde a Idade Antiga, os primeiros métodos de regulamentação iniciaram no Reino Unido, por meio da promulgação do *British Cruel to Animal Act*, criada em 1776 e vigente até os dias atuais, mesmo após sucessivas atualizações em prol do melhor uso de animais em pesquisa. Enquanto isso, na América do Norte, mais especificamente nos Estados Unidos, a lei *Laboratory Animal Welfare Act*, de 1966, e atualmente chamada apenas de *Animal Welfare Act*, foi a primeira que dispôs sobre a utilização de animais em pesquisas. Ano após ano, essa lei sofreu sucessivas emendas que a tornaram mais consolidada e de espectro de ação mais abrangente no campo cientificista, como o caráter intrínseco e obrigatório das comissões institucionais de ética no uso de animais.

Apesar de cada país possuir legislações específicas como a inclusão de animais invertebrados – observada na Suécia, Canadá e Reino Unido, há um regimento comum global publicado pela Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura (UNESCO), a *Declaração Universal dos Direitos dos Animais*, de 1978, que é o documento internacional mais importante, visto que aborda a garantia dos animais à liberdade; o direito de não sofrerem maus-tratos e a interdição de experimentos que impliquem dor física,

além de orientar para a utilização de procedimentos em que os animais sejam substituídos por outros métodos de teste. Este documento vislumbra os animais utilizados em pesquisa, pois inclui uma visão não antropocêntrica, caracterizando o prisma da igualdade entre todos os seres vivos, bem como a garantia à vida, à liberdade e à proteção contra maus-tratos.

História no Brasil

No Brasil, os primeiros relatos acerca da preocupação do uso de animais em experimentações iniciaram-se em 1934, fundamentando-se no Decreto Federal que reconhecia timidamente as práticas efetuadas com interesse científico. Contudo, foi a partir de 1991 que o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) procurou orientar a conduta dos profissionais, bem como de regulamentar o uso de animais em experimentos ao divulgar 12 artigos nomeados de Princípios Éticos na Experimentação Animal. Esse documento, portanto, surgiu em função de suprir a falta de leis que protegessem os envolvidos nesta prática.

Na falta de leis específicas, ficou clara a necessidade da criação de Comitês de Ética que regulamentassem e respaldassem as pesquisas com animais, de forma a destacar o primeiro passo dado por diversas entidades nacionais no concernente à experimentação animal. Dessa forma, apenas em 2008 foi sancionada a lei 11.794, que estabeleceu os procedimentos para o uso científico de animais, atendendo aos anseios da comunidade científica por regulamentação e pondo fim à lacuna legal existente. Assim, houve a criação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), bem como as Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUA) em instituições que almejam a pesquisa envolvendo animais.

É válido ressaltar que as CEUAs possuem funções importantes que credenciam as instituições possuidoras de práticas de experimentação animal. No art. 14º da lei 11.794, há alguns requisitos e procedimentos a serem adotados quando da utilização de animais em pesquisa, dentre eles: prática de eutanásia para interromper intenso sofrimento causado pelo experimento; redução de espécimes e utilização de meios alternativos, quando possíveis; utilização de sedação ou analgésicos para minimizar a dor resultante do processo de pesquisa; autorização específica da CEUA com objetivo de estudar a dor e angústia e, em casos de programas de ensino com o emprego de procedimentos traumáticos, vários processos poderão ser realizados em um mesmo animal desde que este não retorne à consciência, devendo ser submetido à eutanásia ao final do procedimento.

Tais critérios objetivam, essencialmente, a redução do número de animais utilizados, bem como a diminuição do sofrimento ocasionado a eles durante o experimento. A certificação por essa comissão é de suma importância na monitoração dos protocolos aplicados aos pesquisadores locais.

Princípios éticos gerais

Sumariamente, dentre esses princípios, ressalta-se que é primordial manter posturas de respeito ao animal, como ser vivo e pela contribuição científica que ele proporciona. Além disso, o animal é dotado de sensibilidade, de memória, e sofre de forma similar à humana, mas sem poder escapar da dor resultante de manobras experimentais. Dessa forma, o experimentador possui responsabilidade moral perante a escolha de seus métodos e ações frente à experimentação animal.

É válido ressaltar que se deve considerar a importância dos estudos realizados através da experimentação animal quanto a sua contribuição para saúde humana e animal, além do desenvolvimento do conhecimento e o bem da sociedade em geral. Assim, é de responsabilidade do pesquisador comprovar a relevância do estudo para o avanço do conhecimento, sendo o uso de animais a única maneira de alcançar determinados objetivos desejados.

A utilização do número mínimo necessário de animais em bom estado de saúde, a fim de se obter resultados válidos, deve ser aliada ao emprego de métodos alternativos, tais como modelos matemáticos, simulações por computadores e sistemas biológicos *in vitro*, quando possível, torna-se uma alternativa plausível de proteção aos animais em experimento.

Todos os procedimentos que possam causar dor ou angústia precisam ser desenvolvidos com sedação, analgesia ou anestesia adequada. Atos cirúrgicos ou atos dolorosos não devem ser aplicados quando há o uso de agentes químicos ou biológicos que causem paralisia, ou não sejam anestésicos. Além disso, quando existe o processo de dor intensa ou angústia crônica, é de extrema necessidade, antes mesmo do final do experimento, a submissão desses animais à eutanásia, de forma indolor e que não cause estresse. Dessa forma, podem ser citados certos experimentos condenáveis, devido ao intenso sofrimento físico ou psíquico, como a privação prolongada de água e alimento; exposição ao calor ou frio excessivo; privação de sono ou descanso; provocação deliberada de pânico; choque elétrico; lesão traumática violenta; provocação de queimaduras; bloqueio da respiração ou circulação; privação prolongada de movimentos e, por fim, mutilação grave.

Quanto aos pesquisadores, estes devem possuir qualificação necessária exigida para realização do procedimento em animais vivos, sendo que deverá haver a disposição de alojamento que propicie condições adequadas de saúde e conforto, conforme cada necessidade do animal. É imprescindível, também, que o pesquisador utilize testes estatísticos, de forma a viabilizar e justificar a utilização do número apropriado de animais no experimento.

Por fim, os animais devem possuir assistências adequadas em relação à alimentação e ao transporte, além de acompanhamento veterinário e atendimento sempre que necessário. Aliada a esses processos, há a importância de manter a biossegurança (conjunto de medidas biológicas necessárias para manipulação dos diversos agentes) dos demais pesquisadores e envolvidos nos manejos de modelos animais.

São considerados atos condenáveis pela comunidade científica internacional, para quem o conhecimento gerado deverá estar muito bem embasado para avaliação e autorização do CEUA, principalmente se não houver o uso de analgesia e/ou anestesia, e que dificilmente serão aprovados pelos comitês:

- Privação prolongada de água e alimento
- Calor e frio excessivo
- Privação de sono ou descanso
- Provocação deliberada de pânico
- Choques elétricos
- Lesão traumática violenta
- Queimaduras
- Bloqueio da respiração ou circulação

- Privação prolongada dos movimentos
- Não utilização de analgesia em procedimentos cirúrgicos
- Mutilação grave

Grau de invasividade (GI)

São as formas presentes no formulário de submissão de projeto ao CEUA, que atribuem a valoração ao desconforto, estresse, dor, trauma e sofrimentos causados aos seres vivos em experimento, de forma a orientar e fiscalizar a utilização animal na prática científica, bem como a conduta dos pesquisadores. Tais graus variam desde o nível GI1, experimentos de pouco ou nenhum desconforto/estresse, até o GI4, que são experimentos dolorosos de alta intensidade. Abaixo, segue-se na íntegra o grau de invasividade e seus níveis.

GRAU DE INVASIVIDADE (GI) - definições segundo o CONCEA (2010)

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 intracardíaca e intracerebral).

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

FORMULÁRIO UNIFICADO PARA SOLICITAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO PARA USO DE ANIMAIS EM ENSINO E/OU PESQUISA (Formulário CONCEA 2010)

PROTOCOLO
PARA USO DE
ANIMAIS

**USO EXCLUSIVO DA COMISSÃO
PROTOCOLO Nº**
RECEBIDO EM: ___/___/___

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com sua respectiva Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

Lista das DCBs disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/dcb/lista_dcb_2007.pdf

FINALIDADE

Finalidade do procedimento realizado.

Ensino
Pesquisa
Treinamento

| |
|--|
| |
| |
| |

Início: ____/____/____

Término: ____/____/____

TÍTULO DO PROJETO/AULA PRÁTICA/TREINAMENTO

Título na íntegra

| |
|--|
| |
|--|

Área do conhecimento: _____

Lista das áreas do conhecimento disponível em:

<http://www.cnpq.br/areasconhecimento/index.htm> .

RESPONSÁVEL

Profissional de ensino superior, o qual responderá legal e eticamente pelo manejo dos animais.

| | |
|---------------------------|--|
| Nome completo | |
| Instituição | |
| Unidade | |
| Departamento / Disciplina | |

Experiência Prévia:

Datar a experiência prévia, anterior a presente pesquisa, com o tipo de animal utilizado na pesquisa.

Não

Sim

Quanto tempo? _____

Treinamento:

Datar o tempo de treinamento necessário com os animais ou técnicas para a presente pesquisa, dentro do cronograma das atividades.

Não

Sim

Quanto tempo? _____

Vínculo com a Instituição:

Docente/Pesquisador

Téc. Nível Sup.

Jovem pesquisador/Pesquisador visitante

| |
|--|
| |
| |
| |

| | |
|----------|--|
| Telefone | |
| E-mail | |

4. COLABORADORES

Colocar todos os envolvidos que entraram em contato direto e indiretamente com os animais, sendo estes alunos ou pós-graduandos.

| | |
|---------------------------|--|
| Nome completo | |
| Instituição | |
| Nível acadêmico | |
| Experiência prévia (anos) | |
| Treinamento (especificar) | |
| Telefone | |
| E-mail | |

Utilize esta tabela para o preenchimento de um colaborador. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os colaboradores sejam contemplados.

Todos os dados abaixo devem ser incluídos na íntegra.

5. RESUMO DO PROJETO/AULA

6. OBJETIVOS

7. JUSTIFICATIVA

8. RELEVÂNCIA

9. MODELO ANIMAL

Espécie (nome vulgar, se existir): _____

Justificar o uso dos procedimentos e da espécie animal

Utilizar texto de referências bibliográficas relacionadas, respaldando o provável resultado.

9.1. PROCEDÊNCIA

Neste campo, deve ser colocada a procedência do fornecedor do animal, e não o biotério de estadia do animal.

Biotério, fazenda,
aviário, etc.

Animal silvestre

Número de protocolo SISBIO: _____

Outra procedência?

Qual? _____

O animal é geneticamente modificado?

Número de protocolo CTNBio: _____

9.2. TIPO E CARACTERÍSTICA

| Espécie | Linhagem | Idade | Peso aprox. | Quantidade | | |
|---------|----------|-------|-------------|------------|---|-----|
| | | | | M | F | M+F |
| Anfíbio | | | | | | |
| Ave | | | | | | |

| | | | | | | |
|-------------------------------------|--|--|--|--|--|--|
| Bovino | | | | | | |
| Bubalino | | | | | | |
| Cão | | | | | | |
| Camundongo hetero- gênico | | | | | | |
| Camundongo isogê- nico | | | | | | |
| Camundongo <i>Kno- ckout</i> | | | | | | |
| Camundongo trans- gênico | | | | | | |
| Caprino | | | | | | |
| Chinchila | | | | | | |
| Cobaia | | | | | | |
| Coelhos | | | | | | |
| Equídeo | | | | | | |
| Espécie silvestre brasileira | | | | | | |
| Espécie silvestre não-brasileira | | | | | | |
| Gato | | | | | | |
| Gerbil | | | | | | |
| Hamster | | | | | | |

| | | | | | | |
|----------------------|--|--|--|--|--|--|
| Ovino | | | | | | |
| Peixe | | | | | | |
| Primata não-humano | | | | | | |
| Rato heterogênico | | | | | | |
| Rato isogênico | | | | | | |
| Rato <i>Knockout</i> | | | | | | |
| Rato transgênico | | | | | | |
| Réptil | | | | | | |
| Suíno | | | | | | |
| Outra | | | | | | |
| TOTAL: | | | | | | |

9.3. MÉTODOS DE CAPTURA (somente em caso de uso de animais silvestres)

| |
|--|
| |
|--|

9.4. PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO/ DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Colocar o cálculo amostral e o método que será utilizado para tratar as variáveis.

| |
|--|
| |
|--|

9.5. GRAU DE INVASIVIDADE*: __ (1, 2, 3 ou 4)

Os materiais biológicos destes exemplares serão usados em outros projetos? Quais? Se já aprovado pela CEUA, mencionar o número do protocolo.

Utilizar o máximo de material do mesmo animal utilizado, evitando repetir o mesmo experimento para diferentes finalidades.

9.6. CONDIÇÕES DE ALOJAMENTO E ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS

- Alimentação
- Fonte de água
- Lotação - Número de animais/área
- Exaustão do ar: sim ou não

Comentar obrigatoriamente sobre os itens acima e as demais condições que forem particulares à espécie.

Local onde será mantido o animal: _____
_____ (biotério, fazenda, aviário, etc.).

Ambiente de alojamento:

Gaiola

Jaula

Baia

Outros

| |
|--|
| |
| |
| |
| |

Número de animais por gaiola/galpão: _____

Tipo de cama (maravalha, estrado ou outro): _____

10. PROCEDIMENTOS

EXPERIMENTAIS DO PROJETO/AULA

10.1. ESTRESSE/DOR INTENCIONAL NOS ANIMAIS

Curto = até 24h de estresse e/ou dor

Longo > 24h de estresse e/ou dor

Curto

Longo

Não

Sim

| |
|--|
| |
| |
| |
| |

(Se “sim”, JUSTIFIQUE.)

ESTRESSE:

DOR:

RESTRIÇÃO HÍDRICA/ALIMENTAR:

OUTROS:

10.2. USO DE FÁRMACOS ANESTÉSICOS

Sim

Não

| | |
|----------------------|--|
| Fármaco | |
| Dose (UI ou mg/kg) | |
| Via de administração | |

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

(Em caso de não-uso, JUSTIFIQUE.)

10.3. USO DE RELAXANTE MUSCULAR

Sim

Não

| | |
|----------------------|--|
| Fármaco | |
| Dose (UI ou mg/kg) | |
| Via de administração | |

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

10.4. USO DE FÁRMACOS ANALGÉSICOS

Deve ser realizada analgesia sempre que possível, sendo imprescindível para procedimentos com GI2 ou GI3.

Sim

Não

Justifique em caso negativo:

| | |
|----------------------|--|
| Fármaco | |
| Dose (UI ou mg/kg) | |
| Via de administração | |
| Frequência | |

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com sua respectiva Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

10.5. IMOBILIZAÇÃO DO ANIMAL

**Estrutura utilizada para imobilizar o animal ou membro (tala, gesso, imobilização externa).
Diferenciar este item da contenção realizada nos animais durante a manipulação.**

Sim

Não

Indique o tipo em caso positivo:

10.6. CONDIÇÕES ALIMENTARES

10.6.1. JEJUM:

Sim

Não

Duração em horas: _____

10.6.2. RESTRIÇÃO HÍDRICA:

Sim

Não

Duração em horas: _____

10.7. CIRURGIA

Sim

Não

Única

Múltipla

Qual(is)?

No mesmo ato cirúrgico ou em atos diferentes? _____

10.8. PÓS-OPERATÓRIO

10.8.1. OBSERVAÇÃO DA RECUPERAÇÃO

Sim

Não

Período de observação (em horas): _____

10.8.2. USO DE ANALGESIA

Sim

Não

Justificar o NÃO-uso de analgesia pós-operatório, quando for o caso:

| |
|--|
| |
|--|

| | |
|----------------------|--|
| Fármaco | |
| Dose (UI ou mg/kg) | |
| Via de administração | |
| Frequência | |
| Duração | |

Utilize esta tabela para o preenchimento de um fármaco. Copie, cole

e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os fármacos sejam contemplados.

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com sua respectiva Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

10.8.3. OUTROS CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS

Sim

Não

Descrição:

10.9. EXPOSIÇÃO / INOCULAÇÃO / ADMINISTRAÇÃO

Identificar se ocorrerá a introdução de alguma substância no corpo do animal.

Sim

Não

| | |
|----------------|--|
| Fármaco/Outros | |
|----------------|--|

| | |
|----------------------|--|
| Dose | |
| Via de administração | |
| Frequência | |

No campo “fármaco”, deve-se informar o(s) nome(s) do(s) princípio(s) ativo(s) com suas respectivas Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI).

11. EXTRAÇÃO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS

Sim

Não

| | |
|-----------------------|--|
| Material biológico | |
| Quantidade da amostra | |
| Frequência | |
| Método de coleta | |

Utilize esta tabela para o preenchimento de um material biológico. Copie, cole e preencha a tabela, quantas vezes forem necessárias, até que todos os materiais sejam contemplados.

12. FINALIZAÇÃO

12.1. MÉTODO DE INDUÇÃO DE MORTE

| | |
|-----------------------|--|
| Descrição | |
| Substância, dose, via | |

Caso método restrito, justifique:

| |
|--|
| |
|--|

12.2. DESTINO DOS ANIMAIS APÓS O EXPERIMENTO

| |
|--|
| |
|--|

12.3. FORMA DE DESCARTE DA CARÇAÇA

| |
|--|
| |
|--|

13. RESUMO DO PROCEDIMENTO (relatar todos os procedimentos com os animais)

| |
|--|
| |
|--|

14. TERMO DE RESPONSABILIDADE (LEIA CUIDADOSAMENTE ANTES DE ASSINAR)

Eu, _____
(nome do responsável), certifico que:

a) li o disposto na Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais em ensino e/ou pesquisa, especialmente as Resoluções Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA;

b) este estudo não é desnecessariamente duplicativo, possuindo mérito científico e a equipe participante deste projeto/aula foi treinada e é competente para executar os procedimentos descritos neste protocolo;

c) não existe método substitutivo que possa ser utilizado como uma alternativa ao projeto.

Assinatura: _____

Data: ____ / ____ / ____

Encaminhar em 2 vias.

A critério da CEUA, poderá ser solicitado o projeto, respeitando confidencialidade e conflito de interesses.

Quando cabível, anexar o termo de consentimento livre e esclarecido do proprietário ou responsável pelo animal.

15. RESOLUÇÃO DA COMISSÃO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, na sua reunião de ____ / ____ / ____, APROVOU os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo.

Assinatura: _____

Coordenador da Comissão

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, na sua reunião de ____ / ____ / ____, emitiu o parecer em anexo e retorna o Protocolo para sua revisão.

Assinatura: _____

Coordenador da Comissão

REFERÊNCIAS

BRITO, M. V. H. Ética em experimentação animal. In: BRITO, M. V. H. (Org.). **Manual do curso teórico-prático de cirurgia experimental: módulo básico**. Belém: Laboratório de Cirurgia Experimental, 2015. p. 1-11.

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Princípios éticos na experimentação animal**. 1991. Disponível em: < http://www.univap.br/institutos/ipd/docs/principios_eticos_na_experimentacaoanimal.doc > Acesso em: 25 out. 2015.

RAYMUNDO, M. M., GOLDIM, J. R. **Diretrizes para utilização de animais em experimentos científicos**. Disponível em: <<http://www.bioetica.ufrgs.br/animdir.htm>> Acesso em: 20 out. 2005.

RÉGIS, A. H. P, CORNELLI, G. Experimentação animal: panorama histórico e perspectivas. **Rev. Bioét (Imp.)** v.20, n.2, Fev., 2012, p. 232-243.

CAPITULO 2

Bioterismo

Caio Vinicius Botelho Brito

Eduardo Henrique Herbster Gouveia

Eduardo dos Santos Martins Neto

O uso de animais com objetivos científicos é uma prática comum, mas para que seja moralmente aceitável e apresente resultados confiáveis, é fundamental ter-se a consciência de que o animal, como ser vivo, possui hábitos de vida próprios da sua espécie, apresenta memória, preserva o instinto de sobrevivência e é sensível a angústia e à dor, razões que preconizam posturas éticas em todos os momentos do desenvolvimento dos estudos com animais de experimentação.

Cuidados pessoais

É muito importante que todas as pessoas envolvidas mantenham um alto padrão de higiene pessoal. Isso inclui o uso de vestuário adequado, sendo necessário uso de máscaras, luvas, óculos, proteção de calçado e gorro, que são os EPIs (equipamentos de proteção individual) necessários tanto para manipulação dos animais quanto para os cuidados com o microambiente, sempre visando a descontaminação rotineira do vestuário exposto e cuidado com riscos potenciais.

Não é recomendado:

- Utilização de roupas de uso rotineiro ou não apropriadas dentro do biotério, como vestimentas curtas e sapatos abertos.
- Comer, beber, fumar ou usar cosméticos como perfumes, desodorantes e hidratantes dentro do biotério.

Ambiente

O biotério deve aproximar-se o máximo possível do ambiente do habitat natural do animal. Além disso, devem-se tomar cuidados assíduos para evitar estresse e desconforto dos animais. É importante o entendimento dos conceitos de microambiente e macroambiente:

Microambiente

É o recinto primário do animal. O ambiente mais próximo, em que o animal tem maior contato. Nos casos de animais de pequeno porte são as gaiolas.

Microambiente ideal permite:

- A realização das necessidades fisiológicas e comportamentais normais dos animais, incluindo micção e defecação, manutenção da temperatura corporal, movimentos normais e ajustes de postura e, quando indicado, reprodução.
- Que os animais permaneçam limpos e secos (de acordo com as exigências de cada espécie).
- Ventilação adequada.
- Que os animais tenham acesso à comida à água e facilidade na colocação, recolocação, troca, manutenção e limpeza de bebedouros e comedouros.
- Um ambiente seguro que impeça a fuga ou prisão acidental do animal, ou de algum de seus membros, entre superfícies opostas ou por aberturas na estrutura.
- Que os animais possam ser observados com um mínimo de perturbação para eles.
- Utilização de serragem, maravalha e derivados para forrar o chão da gaiola.

Cuidados com o microambiente:

- O microambiente não deve ser pequeno demais, ao ponto de impedir a movimentação fisiológica do animal.
- Cuidado com a limpeza periódica é sempre importante. O ideal são higienizações diárias ou em dias alternados.

- Sempre evitar a superpopulação de animais, o que pode causar desconfortos e estresse aos mesmos.
- Observar a ventilação que chega ao microambiente, se este é capaz de suprir a necessidade dos animais.

Macroambiente

O macroambiente é o ambiente físico secundário, onde o microambiente está inserido. Como, por exemplo, a sala do Biotério que comporta as gaiolas no caso dos animais de pequeno porte.

Macroambiente ideal:

- Deve ter a temperatura rigidamente controlada, sendo que a temperatura ideal para o armazenamento de ratos é aproximadamente entre 22 – 24°C.
- A ventilação deve ser capaz de eliminar a maior parte do odor ofensivo produzido pela amônia. Tal substancia advém do metabolismo de bactérias a partir de substratos como as excretas dos roedores e oferece sérios riscos ao sistema respiratório dos animais.
- O ciclo de claro-escuro deve ser sempre respeitado, tendo como períodos de 12 horas intervalados de luz e escuro.
- Para evitar estresses, devem-se controlar ruídos sonoros dentro do biotério.
- Deve sempre contar com ração e água em quantidade acessível a todos os animais, para evitar conflitos e desconfortos.

Tabela 1: Número de animais por gaiola para diferentes espécies

| Tipo de caixa | Dimensões | Número de animais | | | |
|-------------------|-----------|-------------------|---------|------------|-------------|
| | | Camundongo | Hamster | Rato Jovem | Rato adulto |
| Pequena | 30x20x13 | 5 | - | - | - |
| Grande Retangular | 49x34x16 | 20 | 10 | 8 | 4 |
| Grande Cúbica | 41x34x16 | 20 | 10 | 8 | 4 |

Recepção de animais de outros biotérios

Os animais recém-chegados devem passar por um período de quarentena, onde serão observados, a fim de se impedir a contaminação de outros animais. A área de quarentena deve obedecer aos mesmos critérios do resto do biotério, como o conforto dos animais, o uso de EPIs, dentre outros. É aceitável um período de quarentena de duas a quatro semanas, período que pode ser estendido, dependendo do caso.

Também é válida a aplicação de exames diagnósticos de modo padronizado para todos os novos animais provenientes de outros biotérios.

Troca de Gaiola

A troca de gaiola é essencial para a manutenção da higiene do ambiente, assim como prevenção de possíveis

infecções aos animais de experimentação. A troca de gaiola, tanto para ratos quanto para camundongos pode ser feita duas vezes por semana ou até mesmo em dias alternados, de acordo com a quantidade de animais por gaiola.

Cuidado especial deve ser tomado com a higiene de animais de médio porte, como porcos. O ambiente desses animais deve ser limpo pelo menos 2 ou 3 vezes por semana, visando a retirada de excretas que possam ter se acumulado, as quais podem acarretar afecções diversas, recebendo destaque as doenças respiratórias. Além disso, a água e a ração devem ser monitoradas quanto a qualidade e quantidade durante toda a estadia do animal no biotério.

Alimentação dos animais de experimentação

A alimentação caracteriza-se como outro ponto importante, tanto qualitativamente, quanto quantitativamente. A tabela abaixo mostra a quantidade média de consumo diário de ração e água por animal de experimentação.

| Espécie | Consumo de ração/100g de peso (gr) | Consumo de água/100g de peso (ml) |
|----------------|---|--|
| Coelho | 5 | 10 |
| Cobaia | 6 | 10 |
| Hamster | 10-12 | 8-10 |
| Camundongo | 15 | 15 |
| Rato | 10 | 10-12 |

Exemplo: então em uma gaiola contendo 5 ratos de 200 gramas, o consumo diário de ração seria de 100 gramas, e em uma semana, 700 gramas.

REFERÊNCIAS

MANIPULAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO. Salvador: FIOCRUZ; 2005.

MANUAL DE CUIDADOS E PROCEDIMENTOS COM ANIMAIS DE LABORATÓRIO DO BIOTÉRIO DE PRODUÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO DA FCF-IQ/USP. São Paulo: FCF-IQ/USP, 2013.

MANUAL DE NORMAS TÉCNICAS. São Paulo: ICB – USP, 2004.

POLITI, F.A.S., MAJEROWICZ, J., CARDOSO, T. A.O et al. Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, São Paulo, v.29, n.1, Jul., 2008, p. 17-28.

CAPÍTULO 3

Contenção de Animais

*Caio Vinicius Botelho Brito
Rosa Helena de Figueiredo Chaves Soares
Eduardo Henrique Herbster Gouveia*

Para manipulação dos animais deve haver segurança e paciência, nunca manipular o animal em estado de estresse, ou seja, agitação, condicionar o animal em local escuro e silencioso, até momento para manuseio adequado. Quanto mais acostumado o animal, melhor a sua segurança.

As definições de manipular e conter são bem distintas, sendo a primeira o transporte do animal diretamente pelo pesquisador, enquanto que a contenção é deixar o animal se mexer o menos possível para realização de procedimento.

Manipulação e contenção de pequenos animais

Ratos

Nome da técnica: Abraço dorsal

Para quais animais posso usar: ratos

Número de manipuladores necessários: 1

Material necessário: Pano comum ou flanela

Como fazê-la: O animal deverá ser fixado com a mão espalmada em seu dorso, enquanto o dedo indicador e polegar abraçam o mesmo na região escapular, com auxílio de uma flanela ou pano cirúrgico, a outra mão fixa a cauda do animal.

O animal estará bem contido quando o mesmo deixar de debater-se e de mostrar estresse ou agressividade. A contenção não deve ser estressante ou machucar o rato, mas deve ser firme e precisa.



Figura 1: Contenção universal para ratos adultos na mesa.
(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)



Figura 2: Contenção universal para ratos adultos para aplicação de injetáveis. (Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

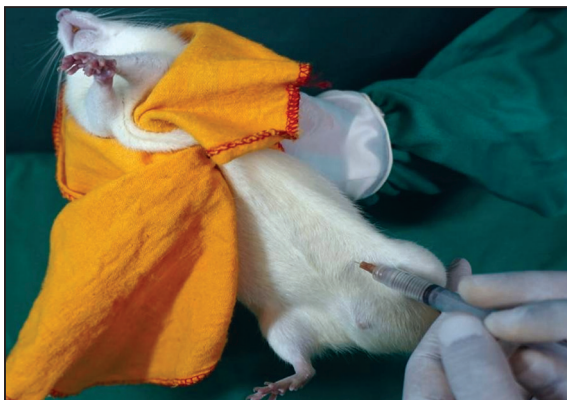


Figura 3: Contenção de rato adulto para aplicação intraperitoneal. (Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Abraço dorsal com aplicação intraperitoneal

Para quais animais posso usar: ratos

Número de manipuladores necessários: 1 ou 2

Material necessário: Pano comum ou flanela

Como fazê-la: Neste tipo de contenção, a forma de pegada deve ser feita da mesma forma mostrada anteriormente com a mão dominante, enquanto a mão não dominante imobiliza a pata traseira ipsilateral ao lado da aplicação.

Nesta contenção, é recomendado que a aplicação seja feita por um segundo manipulador.



Figura 4: Contenção de rato adulto para administração via gavagem. (Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção para administração via gavagem.

Para quais animais posso usar: ratos

Número de manipuladores necessários: 1 ou 2

Material necessário: Pano comum ou flanela

Como fazê-la: Para a contenção para aplicação via gavagem, a mão dominante contém o animal da mesma forma que descrito anteriormente, ou pela pele do dorso do animal, enquanto que a mão não dominante posiciona a agulha de gavagem de modo sutil na boca do mesmo.

A colocação do dispositivo de gavagem deve ser feita primariamente pela lateral da boca, para evitar os dentes incisivos, que podem atrapalhar a administração.

A Contenção e administração também podem ser feitas com dois manipuladores.

Camundongos



Figura 5: contenção universal para camundongos adultos.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção dorsal de camundongos

Para quais animais posso usar: camundongos e hamsters

Número de manipuladores necessários: 1

Como fazê-la: Ao contrário da manipulação do rato, a manipulação do camundongo deve ser feita da seguinte forma: com a mão dominante, pinça-se com o dedo indicador e polegar a pele do dorso do animal, enquanto que a cauda é posicionada entre o quarto e quinto dedo, contendo-a na face palmar da mão.

É de grande valia iniciar a contenção do camundongo posicionando-o sobre uma gaiola com aros de metal, pois o apoio das patas nessa superfície torna o animal mais calmo, e a manipulação mais tranquila.



Figura 6: Contenção de camundongos adultos para aplicação intraperitoneal.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção para aplicação via intraperitoneal

Para quais animais posso usar: camundongos e hamsters

Número de manipuladores necessários: 1 ou 2

Como fazê-la: Realizando-se a contenção de forma semelhante ao que foi descrito anteriormente com a mão dominante, a mão não-dominante realiza a aplicação intraperitoneal no quadrante ífero-lateral esquerdo do animal, para evitar o ceco.

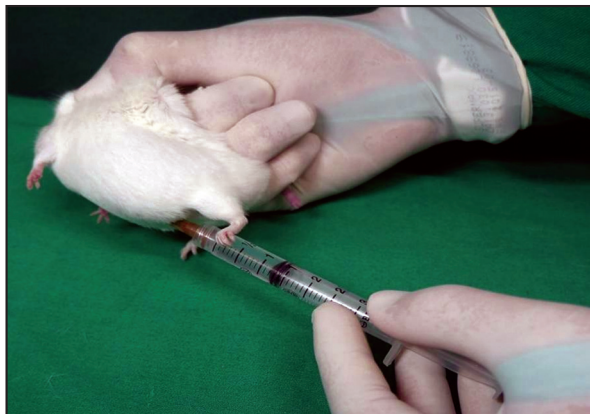


Figura 7: Forma alternativa para contenção de camundongos para aplicação intraperitoneal.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Hamsters



Figura 8: Contenção universal de hamsters.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção dorsal para hamsters

Para quais animais posso usar: hamsters e camundongo

Número de manipuladores necessários: 1

Como fazê-la: A manipulação de hamsters deve ser feita da mesma maneira como foi descrito na manipulação de camundongos, porém normalmente a cauda é curta, impedindo sua imobilização entre os dedos.

Contenção de animais de médio porte

Porcos



Figura 9: Contenção universal de porco adulto.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, CESUPA - 2015)

Nome da técnica: Contenção de suíno por fixação das patas

Para quais animais posso usar: porco

Número de manipuladores necessários: 2

Como fazê-la: A contenção do suíno deve ser feita com dois manipuladores, enquanto um imobiliza as patas dianteiras ao nível das articulações, o segundo imobiliza as patas traseiras.

É importante posicionar o animal de modo que o pesquisador que contém as patas dianteiras esteja agachado, enquanto que o segundo esteja em pé, inclinando o corpo do animal em um ângulo de aproximadamente 45 graus.

O animal normalmente oferece bastante resistência à contenção inicial, por isso o primeiro contato deve ser firme e conciso. Começar pelas patas traseiras normalmente facilita a adesão do animal. Paradoxalmente, após a contenção, e se bem executada, o porco não oferece resistência.



Figura 10: Contenção de porco adulto para aplicação intramuscular. (Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, CESUPA - 2015)

Nome da técnica: Contenção de suíno por fixação das patas e aplicação intramuscular

Para quais animais posso usar: porco

Número de manipuladores necessários: 3

Como fazê-la: A aplicação intramuscular deve ser feita por um terceiro pesquisador, que realiza a administração na face lateral da coxa ou nádega.



Figura 11: Contenção universal alternativa para porco adulto no chão.
(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, CESUPA - 2015)

Nome da técnica: Contenção de suíno no chão

Para quais animais posso usar: porco

Número de manipuladores necessários: 2

Como fazê-la: Neste outro tipo de contenção, um dos pesquisadores segura as patas dianteiras com uma das mãos, enquanto que a outra imobiliza a cabeça do animal contra o chão. O segundo pesquisador imobiliza as patas traseiras.

Coelho

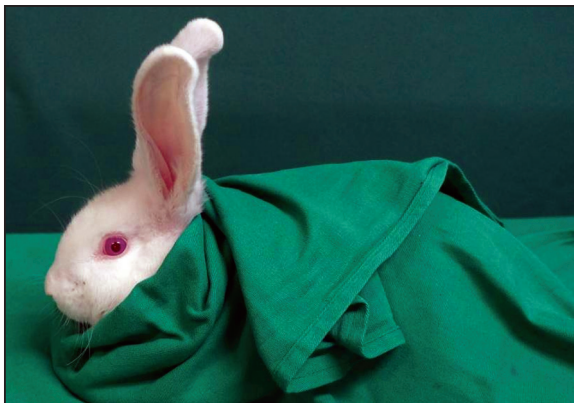


Figura 12: Coelho contido em charuto.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção de coelho por técnica de charuto

Para quais animais posso usar: coelho e porco

Material utilizado: Campo cirúrgico ou pano limpo

Número de manipuladores necessários: 1

Como fazê-la: Com o coelho calmo e sem agitação, o posicionamos em cima de um campo cirúrgico. Após isso, confeccionam-se duas dobras no campo que abraçarão o corpo do animal, de forma a conter todo o corpo, exceto a cabeça, que deverá ficar para fora.

O animal deve estar firme dentro do campo. Caso o mesmo ofereça resistência, a mão do manipulador pode ser útil na imobilização.



Figura 13: aplicação intramuscular no coelho.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Aplicação intramuscular no coelho no charuto

Para quais animais posso usar: coelho

Material utilizado: Campo cirúrgico ou pano limpo

Número de manipuladores necessários: 1

Como fazê-la: Com o coelho contido pela técnica do charuto, deve-se usar uma mão para isolar e expor o músculo da pata traseira do animal, enquanto que a outra mão realiza a aplicação.



Figura 14: aplicação subcutânea no coelho.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção de coelho por isolamento da cabeça

Para quais animais posso usar: coelho

Material utilizado: Campo cirúrgico ou pano limpo

Número de manipuladores necessários: 1 ou 2

Como fazê-la: Primeiro a cabeça do coelho deve ser coberta totalmente com duas dobras do campo cirúrgico, juntamente com as patas dianteiras. Em seguida, confecciona-se uma prega de tecido subcutâneo com a mão não dominante no dorso, e realiza-se a aplicação com a mão dominante.



Figura 15: contenção para transporte.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção de coelho para transporte

Para quais animais posso usar: coelho

Número de manipuladores necessários: 1

Como fazê-la: Com a mão dominante, fixa-se o coelho pelo dorso, enquanto que a mão não dominante apoia a região posterior do animal. Em animais pequenos, a mão não dominante é opcional.

Nunca transportar pelas orelhas ou patas.



Figura 16: contenção universal de coelho.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Contenção universal de coelho com os braços

Para quais animais posso usar: coelho

Material utilizado: Campo cirúrgico ou pano limpo

Número de manipuladores necessários: 1

Como fazê-la: A mão dominante deve fixar o coelho pelo dorso, enquanto que o braço oposto deve apoiar todo o corpo do animal pela região ventral e segurar a raiz das patas traseiras. A cabeça do animal deve posicionar-se debaixo do braço do manipulador.



Figura 17: Aplicação intramuscular.

(Foto: acervo do autor Eduardo Gouveia, UEPA CCBS - 2015)

Nome da técnica: Aplicação intramuscular na contenção universal

Para quais animais posso usar: coelho

Material utilizado: Seringa

Número de manipuladores necessários: 2

Como fazê-la: Após a realização correta da técnica de manipulação universal pelo primeiro manipulador, um segundo pesquisador realiza a aplicação intramuscular

CAPÍTULO 4

Anestesia

Rosa Helena de Figueiredo Chaves Soares
Daniilo Dantas Figueiredo

Anestesia é o estado temporário e reversível de redução ou eliminação de resposta sensorial e motora frente a um estímulo doloroso. A anestesia deve ser realizada sempre que o procedimento promova dor ou desconforto. De acordo com a Diretriz Brasileira Para o Cuidado e a Utilização De Animais Para Fins Científicos e Didáticos, os pesquisadores, professores, alunos e técnicos devem prever e tomar todas as medidas possíveis para evitar ou minimizar a dor e o estresse, incluindo, por exemplo, agentes tranquilizantes, analgésicos e anestésicos adequados para a espécie animal e para os objetivos científicos ou didáticos.

Medicação pré-anestésica

Qualquer medicamento que possa ser aplicado antes do procedimento anestésico e tenha como finalidade aumentar a segurança e a qualidade do ato anestésico. O uso de Medicação pré-anestésica (MPA) proporciona:

- Analgesia e sedação.
- Reduz o medo e apreensão e consequentemente, o estresse antes da anestesia.
- Propicia uma melhor indução anestésica.
- Minimiza eventuais efeitos indesejáveis durante o procedimento, como aumento de salivação e secreções brônquicas, além de bloquear o reflexo vagal, onde ocorre bradicardia devido ao manejo das vísceras.
- Potencializa o efeito do agente, diminuindo a dose anestésica.
- Permite uma recuperação melhor e mais rápida do animal.
- Reduz a dor no pós-operatório.

Os fármacos utilizados na pré-anestesia são os anticolinérgicos, os tranquilizantes, os sedativos e os alfa-2-agonistas. Os anticolinérgicos bloqueiam o estímulo parassimpático e diminuem a salivação e as secreções brônquicas; também protegem o coração da inibição vagal que ocorre quando as vísceras são manuseadas, porém podem promover um pequeno aumento dos batimentos cardíacos. Os tranquilizantes e sedativos produzem efeito calmante sem causar sedação e não possuem ação analgésica. Há grande

variação entre as espécies quanto ao efeito desses agentes. A xilazina é um alfa-2-agonista, utilizada em animais de laboratório, principalmente em associação ao agente anestésico cetamina, de ação sedativa, promovendo relaxamento muscular e discreta analgesia visceral. Tem como efeitos adversos a depressão respiratória e cardiovascular.

TRANQUILIZANTES

| Grupo Farmacológico | Fenotiazínicos | | | | Benzodiazéinicos | | Benzodiazepínicos | | Anticolinérgicos | | Alfa-2-agonistas | |
|---------------------|--------------------------------------|-------|--|----------|---|-------------|---|-------------|---|----------|------------------|-----|
| Fármaco | Acepromazina | | Cloropromazina | | Midazolam | | Diazepam | | Sulfato de atropina | | Xilazina | |
| Espécie/dose | mg/kg | Via | mg/kg | Via | mg/kg | mg/kg | Via | Via | mg/kg | Via | mg/kg | via |
| Rato | 1 | IM | - | - | 2 4 | IV IM/IP | 2 4 | IV IM/IP | 0,05 | SC/IP | 1 - 3 | IM |
| Camundongo | - | - | 25 - 40 | IM | - | - | 5 | IP | 0,04 | SC | - | - |
| Coelho | 1 | IM | 7,5 25 - 100 | IV IM | - | - | 5 | IP | 1 - 3 | SC/IM | - | - |
| Porco | 0,2 | IM/IV | - | - | - | - | 1 - 2 | IM/IV | 0,05-0,1 | SC/IM/IV | - | - |
| Hamsters | 0,5 - 5 | IM/SC | - | - | - | - | 5 | IP | 0,04 | SC/IM/IV | - | - |
| Cobaia | 2,5 | IP/SC | 5 | IP | - | - | 2,5 - 5 | IP | 0,05 | SC | - | - |
| Observações | Podem causar hipotensão e hipotermia | | Depressão respiratória e cardiovascular; Sedação leve na cobaia. | | Excelente sedação, bom relaxamento muscular e potente anticonvulsivante | | Excelente sedação, bom relaxamento muscular e potente anticonvulsivante | | Taquicardia e reduzem a secreção traqueal e dos brônquios | | | |

Com relação ao uso dos bloqueadores neuro-musculares é importante ressaltar que de acordo com a Lei nº 11.794 de 08 de outubro de 2008, capítulo IV, § 7º - “É vedado o uso de bloqueadores neuromusculares ou de relaxantes musculares em substituição a substâncias sedativas, analgésicas ou anestésicas”. Por isso os fármacos relaxantes musculares citados na tabela abaixo não devem ser usados sem a supervisão de um médico veterinário: o uso de relaxantes musculares não despolarizantes deve ser feito por veterinários familiarizados, pois sua ação resulta na paralisia dos músculos respiratórios, e a intubação endotraqueal e a ventilação devem ser realizadas obrigatoriamente. No geral, os bloqueadores neuromusculares alteram os parâmetros que são usados para avaliação da profundidade anestésica, por exemplo, eles provocam perda dos reflexos palpebral e podal.

| Bloqueadores neuro-musculares não-despolarizantes | Bloqueadores neuro-musculares despolarizantes |
|--|--|
| Atracúrio Pancurônio Vecurônio Cisatracúrio Rocurônio Rapacurônio | Succinilcolina Edrofônio Decametônio |

Dose para ratos de fármacos bloqueadores neuro-musculares

| | |
|-------------------|-----------|
| Pancurônio | 2 µg/mL |
| Atracúrio | 0,5 mg/kg |
| Rocurônio | 0,6mg/kg |

Anestesia local

É o procedimento anestésico restrito a uma região do corpo, pode ser feita por meio de infiltração ao redor da área da cirurgia proposta ou por meio de bloqueio dos nervos específicos do campo cirúrgico. Qualquer que seja o método de anestesia escolhido, é essencial manter um alto padrão de cuidado com os animais, com o intuito de obter dados de pesquisa significativos. (ANDRADE, 2002; NEVES 2013)

Para ratos, camundongos e coelhos

- Lidocaína (sem vasoconstritor)

Dose: 4-7 mg/kg

Diluir a 0,5% em soro fisiológico

Não ultrapassar o total de 7mg/kg

Anestesia local de rápida ação e com duração média de 1 hora.

- Bupivacaína

Dose: 1-7 mg/kg

Diluir a 0,25% em soro fisiológico

Não ultrapassar o total de 8mg/kg

Anestesia local de ação lenta com duração longa, entre 2-4 horas.

Os anestésicos locais podem ser administrados por várias vias, incluindo sprays tópicos, líquidos ou cremes, ou ainda infiltração local. A solubilidade lipídica afeta a duração da anestesia, como a bupivacaína é mais lipídica tem uma ação mais longa que a lidocaína. A overdose dos anestésicos locais resulta em toxicidade sistêmica que causa

hipotensão, arritmia ventricular, depressão do miocárdio e convulsões, por isso a dose máxima que se pode dar com segurança na maior parte das espécies é de 4 - 7 mg/kg de lidocaína, e 1-8 mg/kg de bupivacaína.

Anestesia Geral

Anestesia geral: é o estado anestésico reversível obtido com agentes inalatórios e/ou injetáveis, que satisfaz as seguintes condições: perda da consciência (narcose), abolição da dor (analgesia) e relaxamento muscular.

Para verificar a profundidade da anestesia, o pesquisador deve avaliar a presença ou a ausência de determinados sinais, como reflexo da cauda, reflexo palpebral e corneal e as alterações das frequências cardíaca e respiratória, que sofrem modificações de acordo com os planos anestésicos atingidos. Se houver reflexo presente, ou seja, se o animal responder a estímulos, a anestesia não está no plano anestésico adequado para a intervenção cirúrgica.

O tempo que o procedimento cirúrgico requer e a ajuda profissional disponível durante esse período determina a anestesia mais adequada. Além disso, outros aspectos influenciam na escolha da anestesia como a espécie do animal, a idade, o peso, o estado físico do animal, a habilidade do cirurgião, a severidade do procedimento (procedimentos complexos são associados com aumento da morbidade e mortalidade; com maior risco se envolvem os órgãos: do SNC, procedimentos cardíacos e pulmonares, seguido do trato gastrointestinal, fígado, rim, órgãos reprodutores, músculos, ossos e pele). A familiaridade com o anestésico proposto, equipamento e pessoal disponível são fatores a serem incluídos na escolha do anestésico.

Grupos mais utilizados de anestesia injetável

| Classe | Exemplos |
|------------------------|--|
| Barbitúricos | Pentobarbital, Tiopental, Methohexitono, Thiamylal e Inactin |
| Não barbitúrico | Propofol |
| Dissociativos | Quetamina, Tiletamina |

Tabela de Anestésicos injetáveis

| Espécie | Barbitúricos | | | | Não barbitúrico | | Dissociativos | |
|-------------------|----------------|------------------------------|-------------|------------------------------|------------------------|------------------------------|---------------------|----------------|
| | Pentobarbital | | Tiopental | | Propofol | | Cetamina | |
| | mg/kg | Via | mg/kg | Via | mg/kg | Via | mg/kg | Via |
| Rato | 20-40 40-60 | IV IP | 30 | IP | 7,5-10 | IV | 50-100 | IM |
| Camundongo | 60 | IP | 25-50 50 | IV IP | 12-26 | IV | 80-100 100 50 | IM IP IV |
| Coelho | 20-40 | IV | 50 | IV | 7,5-15 | IV | 20-60 | IM |
| Porco | 20-40 5-15 | IV IV infusão contínua | 5-11 3-6 | IV IV infusão contínua | 0,83 – 1,66 12 – 20 | IV IV Infusão contínua | - | - |
| Hamsters* | 50-90 | IP | - | - | - | - | - | - |
| Cobaia | 30-40 | IP/IV | 55 | IP/IV | 10 | IV | 40-200 | IV |

*Obs: de acordo com *manipulação de animais* FIOCRUZ os barbitúricos são contra-indicados nesta espécie devido a alta taxa de mortalidade

Anestesia inalatória

Entre as vantagens da anestesia inalatória estão: maior controle do plano anestésico, o qual leva a menor mortalidade durante os procedimentos, mínimo metabolismo hepático e renal, menor biotransformação e excreção, quando comparada com anestésicos injetáveis. Por estas características, este tipo de anestesia é recomendado principalmente em experimentos toxicológicos. O despertar rápido e tranquilo reduz o tempo necessário de monitorização após o procedimento.

A utilização da anestesia inalatória depende de equipamentos específicos e treinamento técnico, e algumas vezes de intubação endotraqueal (o que pode, por algumas vezes, inviabilizar sua utilização), porém é o método mais adequado para realizar procedimentos cirúrgicos, principalmente os de longa duração em ratos, camundongos, coelhos e porcos.

Esse tipo de anestesia proporciona: maior controle do plano anestésico, retorno rápido da anestesia quando comparada a endovenosa e intramuscular, metabolização e eliminação do agente anestésico inalatório de modo rápido. Como desvantagens, podemos citar: alto custo por ser um gás, há a necessidade de utilização dentro de uma capela, para a segurança do operador; aumento de secreções nas vias aéreas e necessidade de monitorização mais delicada; pois o plano anestésico pode se alterar rapidamente.

O agente anestésico inalatório comumente utilizado é o isoflurano. No final de uma anestesia prolongada, recomenda-se administrar ao animal oxigênio puro por aproxi-

madamente 5 a 10 minutos, para evitar hipóxia. Durante o uso da anestesia inalatória, deve-se observar o *status* de saúde do animal, principalmente se este não aparenta ter alguma doença no trato respiratório, o que pode interferir na administração do agente.

Com a inalação do anestésico, sua pressão parcial alveolar que resulta na anestesia mais leve possível é denominada concentração alveolar mínima (CAM). Especificamente, a CAM é a pressão parcial alveolar que extingue o movimento em resposta a uma incisão em 50% dos pacientes. A potência de um anestésico está inversamente relacionada à sua CAM. Se a CAM é pequena, a potência é alta, e uma quantidade relativamente baixa do anestésico será suficiente para causar anestesia.

Camundongos

| | | |
|----------------------|------------------------|---------------------------|
| Enflurano | 3,5 % CAM para indução | 1 – 3 % para manutenção |
| Metoxiflurano | 3% para indução | 0,4 – 1% para manutenção |
| Isoflurano | 4% para indução | 1,5 – 3 % para manutenção |
| Halotano | 4% para indução | 1 – 2 % para manutenção |

Ratos

| | | |
|----------------------|--------------------|-----------------------------|
| Enflurano | 3,5 % para indução | 1 – 3 % para manutenção |
| Metoxiflurano | 3% para indução | 0,4 – 1% para manutenção |
| Isoflurano | 5% para indução | 1 – 3 % para manutenção |
| Halotano | 1-3% para indução | 0,5 – 1,5 % para manutenção |

Coelhos

| | | |
|----------------------|--|--------------------------|
| Halotano | 3 – 4% para indução | 0,5 a 1% para manutenção |
| Isoflurano | Até 5% para indução | 1 – 3% para manutenção |
| Óxido Nitroso | Associado a anestésico halogenado Em procedimentos cirúrgicos não usar isoladamente. Indução e manutenção com até 60% com O ₂ | |

Porcos

| | | |
|---------------|---------------------|----------------------------|
| Isoflurano | 1- 5% para indução | 2 – 3% para manutenção |
| Halotano | 3% para indução | 1,5 – 2,5% para manutenção |
| Metoxiflurano | 2 – 4% para indução | 0,5 - 1,5% para manutenção |

Hamster

| | | |
|------------|---------------------|--------------------------|
| Halotano | 1 – 3% para indução | 0,5 – 1% para manutenção |
| Isoflurano | Até 5% para indução | 2 – 3% para manutenção |

Cobaia

| | | |
|------------------------------|---------------------|---------------------------|
| Isoflurano | 3- 4% para indução | 1,5 – 3 % para manutenção |
| Halotano | 3 - 4% para indução | 1 – 2 % para manutenção |
| OBS: Fluxo de O ₂ | 1-3 L/min | <1 L/min |

Protocolos anestésicos

Cada espécie de animal apresenta particularidades para a anestesia, sendo que as doses anestésicas são muito próximas às doses letais, e um plano anestésico adequado é difícil de ser obtido sem que se observe importante depressão cardiovascular e respiratória. Na literatura, são relatados diferentes protocolos de anestesia que devem ser aplicados e ajustados de acordo com o modelo experimental adotado. Associações anestésicas mais utilizadas em animais de laboratório:

Camundongos

| Protocolo | Doses (mg/kg) | Via de administração | Duração | Observação |
|--------------------------|-------------------------|----------------------|----------------|--|
| Cetamina+ Xilazina | 80 – 100 10 | IP IP | 20 – 30 min | Devem ser usadas na mesma seringa |
| | 100 – 150 10 – 15 | IP IP | 60 – 100 | |
| Tiletamina- Zolazepan | 80 – 100 (contenção) | IP | - | Não é indicado para procedimentos cirúrgicos se usada isoladamente |
| | 20 – 30 | IM | 20 – 40 min | - |

Ratos

| Protocolo | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Observação |
|-------------------------|-------------------|----------------------|-------------|--|
| Cetamina+ Xilazina | 50 – 75 5 – 10 | IP | 30 min | Misturadas na mesma seringa, bom relaxa- mento muscular. |
| Fentanil-droperidol | 2 mL/kg | IM | 30 min | - |
| Tiletamina-zolazepan | 20 – 30 | IM | 20 – 40 min | - |
| Cetamina + Propofol | 40 60 | IP IP | 30 min | - |
| Diazepan+ Cetamina | 5 75 | IP | 20 – 30 min | Anestesia leve |
| Tipental+ Cetamina | 30 40 | IP IP | 10 – 15 min | Anestesia cirúrgica |
| Isoflurano + Morfina | 2% 5 | Inalatória IP | - | Recuperação rápida |

Coelho

| Protocolo | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Observação |
|--|-------------------|----------------------|---|---|
| Xilazina+ Cetamina | 5 – 10 35 – 50 | IM | 90 min | Misturadas na mesma seringa |
| Acepromazina+ Cetamina | 1 50 | IV IM | 30 – 40 min | - |
| Diazepam+ Cetamina | 5 50 | IP IM | 30 – 40 min | - |
| | 5 25 | IM IM | 30 – 40 min | Administrados em seringas diferentes produzem sedação e grau de analgesia moderados |
| Fentanil-droperidol | 0,2 | IM | - | - |
| Tiletamina-zolazepam | 5 – 10 | IM | 30 min | - |
| Tiletamina-zolazepam + Fentanil-droperidol | 0,3 0,4 mL/kg | IM IM | 40 – 60 min | - |
| Acepromazina+ Xilazina+ Cetamina | 0,75 5 35 | IM IM IM | Mais longa que a associação de quetamina e xilazina somente | Mais hipotensão, mais hipotermia |
| Butorfanol+ Xilazina+ Cetamina | 0,1 5 35 | IM IM IM | Mais longa que a associação de quetamina e xilazina somente | Menos efeitos hipotensivos |

Porco

| Protocolo | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Observação |
|---|--|----------------------|-----------------------------------|---|
| Cetamina+ Acepromazina | 33 1 | IM, SC | 30 min | Provoca leve depressão cardíaca |
| Cetamina+ Diazepam | 15 2 | IM, SC | Similar a Cetamina + Acepromazina | Diazepam deve ser dado 15 – 20 min antes da cetamina |
| Cetamina+ Azaperone | 15 2 | IM, SC | Similar a Cetamina + Acepromazina | Azaperone deve ser dada 15 – 20 min antes da cetamina |
| Cetamina+ Midazolam | 33 500 µg/kg | IM, SC | - | Causa hipotermia e necessita de recuperação de 1 – 4 hrs |
| Cetamina+ Dexmedetomidina | 10 0.05 | IM IM | - | Dexedetomidine pode ser revertido com atipamezole (0.25-0.35 mg/kg IV). Pressão sanguínea fica normal |
| Cetamina+ Xilazina | 20 2 | IM, SC | - | - |
| Tiletamina-zolazepam (Telazol®)+ Xilazina | 4 – 6 2,2 | IM IM, SC | 30 min de sedação | - |
| Propofol + Midazolam + Fentanil | 2 – 4,4 mg/kg/hr 0,4 – 0,7 mg/kg/hr 0,003 – 0,005 mg/kg/hr | IV infusão contínua | - | - |

Hamster

| Protocolo | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Observação |
|-----------------------|--------------|----------------------|-------------|--------------------------------|
| Cetamina+ Xilazina | 200 10 | IP IP | 80 min | Misturadas na mesma seringa |
| Fentanil-droperidol | 12 ml/kg | IM | 60 min | - |
| Tiletamina-Zolapepan | 15 – 20 | IM | 20 – 40 min | - |

Cobaia

| Protocolo | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Observação |
|--|---|----------------------|--|---|
| Cetamina+ Diazepam | 60 – 100 5 – 8 | IM IM | Variável entre os animais | - |
| Cetamina+ Medetomidina | 40 0,5 | IM ou IP SC | Variável entre os animais; Até 3 hrs segundo alguns manuais | - |
| Tiletamina+ Zolazepam | 10 – 80 | IM ou IP | Variável entre os animais | - |
| Cetamina+ Xilazina | 30 – 44 0,1 - 5 | IM IM | 77 min | - |
| Tiletamina+ Xilazina+ Butorfanol | 60 mg/kg 5 mg/kg Diluido 1:10 em solução salina 0.1mg/kg) | IP IP IM | Anestesia cirúrgica de longa duração – 60 min | Diminui as funções respiratórias; Monitorar os níveis de oxigênio. |

REFERENCIAS:

ANDRADE, A., PINTO, S.C., OLIVEIRA, R.S. **Animais de laboratório: criação e experimentação** [online]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2002. 388 p. Available from SciELO Books .<http://books.scielo.org/>

ARAÚJO, S. A. C. **Anestesia em roedores**. 2010. 37 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade de Porto, Porto. 2010

BARCELOS, C. C. et al. Efeitos Neuromusculares In: Vitro e In Vivo do Atracúrio e do Rocurônio em Ratos Submetidos a Tratamento de Sete Dias com Carbamazepina. **Rev Bras Anesthesiol**. v.58, n.2, 2008, p. 137-151.

BRAGA, A. F. et al. Efecto de la asociación ropivacaína-pancuronio en la transmisión neuromuscular. Eficacia de la neostigmina y 4-aminopiridina en la reversión del bloqueo. Estudio experimental. **Brazilian Journal of Anesthesiology** (edición en español) 2015 65(2): 136-140.

BRAZ, J. R. C., CASTIGLIA, Y. M. M. **Temas de anestesiologia**. UNESP, 2000, 387 p.

COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – UFMG. **Protocolos anestésicos comumente utilizados em animais de pequeno porte**. 2015. Disponível em: https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/index.php?option=com_content&task=view&id=22&Itemid=35. Acesso em: 10 out 2015

DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA FINS CIENTÍFICOS E DIDÁTICOS – DBCA. Disponível em: <http://>

www.mct.gov.br/upd_blob/0226/226494.pdf. Acesso em: 15 dez 2015

HARKNESS, J. E., TURNER, P. V., VANDEWOUDE, S., WHELER, C. L. et al. Harkness and Wagner's Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. 472 p.

INSTITUTE FOR LABORATORY ANIMAL RESEARCH (US). COMMITTEE FOR UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS. Division on Earth and Life Studies. **Guide for the care and use of Laboratory Animals. National Academies**, Washington, D.C.; 2011. 246 p.

JOHNS HOPKINS UNIVERSITY. **Use of experimental animals at Johns Hopkins University**. Baltimore; 2002

KOHN, D. F., et al. Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. **J. A. A. L. A. S.**, v.26, n.2, Março, 2007, p. 97 – 108.

MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; CHURCH, D. B. **Farmacologia clínica de pequenos animais**. Elsevier, 2010, 600 p.

MANICA, J. **Anestesiologia: princípios e técnicas**. 3.ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2008, 1384 p.

NETO, H. C. C. F.; SANTOS, B. F. Fármacos usados em animais de laboratório anestésicos e analgésicos. In: CEUA – FIOCRUZ. **Manual de utilização de animais/FIOCRUZ**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2008.

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: FCF-IQ/USP, 2013.

PAIVA, F. P.; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. C. S. **Curso de manipulação de animais de laboratório**. Salvador, Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, 2005.

SEABRA, D. I.; POMPEU, E.; VALENTI, M. L. G. **Anestesia e analgesia de animais utilizados em protocolos experimentais. Biotério central da USP**; 2015. Disponível em: http://www.bioterio.fm.usp.br/pdf/Anestesia_e_Analgesia.pdf. Acesso em: 9 out 2015

SWINDLE, M. M. **Technical Bulletin: anesthesia and analgesia in swine**. SINCLAIR RESEARCH CENTER, 2008. Disponível em: <http://www.sinclairbioresources.com/Downloads/TechnicalBulletins/Anesthesia%20and%20Analgesia%20in%20Swine.pdf>. Acesso em: 9 out 2015

TRANQUILLI, W. J., THURMON, J. C., GRIMM, K. A. **Lumb and jones' veterinary anesthetics and analgesia**. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2007. 1057 p.

UNIFAL-MG. **Manual de anestesia e analgesia do biotério da UNIFAL-MG**. Disponível em: <http://www.unifal-mg.edu.br/bioterio/sites/default/files/Anestesia%20e%20Analgesia.pdf>. Acesso em: 9 out 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS). **Procedimentos para anestesia de animais de laboratório**. 2013, p. 12

UNIVERSITY OF ROCHESTER MEDICAL CENTER. **Anesthesia and analgesia in USDA regulated laboratory animals at UR**; 2014. Disponível em: <https://www.urmc.rochester.edu/MediaLibraries/URMCMedia/animal-resource/forms/Anesthesia-and-Analgesia-in-Laboratory-Animals-at-UR.pdf>. Acesso em: 10 out 2015

CAPÍTULO 5

Analgesia

Rosa Helena de Figueiredo Chaves Soares
Daniilo Dantas Figueiredo

A analgesia deve ser feita para todos os animais que passarem por procedimentos potencialmente dolorosos, devendo ser adicionados inclusive no período pós-operatório. Os Analgésicos garantem uma melhor recuperação, visto que a dor pode causar alterações fisiológicas que podem influenciar nos resultados da pesquisa.

É válido ressaltar a diferença entre analgesia e anestesia:

- **Analgesia:** caracterizada como o estado de diminuição ou eliminação temporária da sensação de dor.

- **Anestesia:** caracterizada como o estado reversível e temporário de redução ou eliminação de respostas motoras e sensoriais frente ao estímulo doloroso.

Segundo o item 6.3.2 da Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos do CONCEA, pesquisadores e professores devem considerar que os animais sentem dor de forma similar aos seres humanos. Portanto o cuidado com a dor dos animais deve estar baseado nesse conhecimento.

No âmbito da pesquisa, é vantajoso promover o alívio da dor, pois o animal nesta situação sofre alterações patofisiológicas que podem influenciar os resultados. Uma questão de grande preocupação é o fato de que poucos pesquisadores utilizam protocolos que incluam analgésicos no período pós-operatório, alegando muitas vezes a interferência destes fármacos no protocolo utilizado.

Mesmo nos ensaios em que a dor ou situações de estresse forem os objetos de estudo, medidas de conforto devem ser implementadas e nunca permitir níveis de desconforto superiores àqueles tolerados por humanos. O bem-estar animal é um pré-requisito para resultados experimentais mais realistas, portanto devem ser prioridade de escolha os procedimentos que reduzam seu sofrimento.

Como resposta ao estímulo estressor, o sistema nervoso autônomo promove um aumento na frequência cardíaca e respiratória, na secreção de catecolaminas e de glicocorticoides, pode provocar patologias como: ulceração gástrica, lesões cardiovasculares, lesões renais, amiloidose, hipertrofia e hemorragia das adrenais, alterações

musculoesqueléticas e, em alguns casos, pode modificar a secreção dos hormônios da pituitária, que regulam diretamente a reprodução, resistência à doenças, desenvolvimento normal e crescimento.

Para controle da dor, pode-se utilizar analgésicos opióides e anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Os fármacos do grupo opióides, como morfina, meperidine, fentanil, tramadol, entre outros, são empregados principalmente em casos de dor moderada a severa, e podem causar efeitos adversos como depressão respiratória e hipotensão. Já os AINEs, como dipirona, aspirina, cetoprofeno, meloxicam, etc., são usados principalmente no controle da dor de intensidade leve a moderada e são muito úteis quando o uso de opióides não é recomendado. Alguns agentes anti-inflamatórios podem produzir uma pequena ação analgésica central.

Escala de Dor:

Algumas escalas de dor foram desenvolvidas para quantificar o grau de dor sentido por um animal durante a realização dos procedimentos. Para que um sistema deste tipo seja bem-sucedido, deve ser aplicado com facilidade, ser empregado por todos no laboratório, adaptado ao procedimento específico e reprodutível. Essas escalas muitas vezes incorporam variáveis comportamentais e sinais clínicos, e as ações devem ser tomadas em função da pontuação obtida. Algumas escalas de dor são inicialmente desenvolvidas com o mínimo de dados a partir de estudo inicial, havendo necessidade de flexibilização dos sistemas de avaliação, permitindo a revisão e ajuste dos valores (escores) atribuídos a cada parâmetro em estudos futuros.

Escala Descritiva Simples (SDS): Este método consiste em 4 ou 5 categorias ou descrições de intensidade de dor que o observador escolherá de acordo com o procedimento a ser realizado no projeto de pesquisa. A cada descrição é atribuído um número que será a pontuação de dor do paciente. A sua utilização é simples e não envolve acuidade visual, mas é um método pouco sensível (número reduzido de categorias).

Potencial de dor observado no animal:

| Escala Descritiva simples |
|---------------------------|
| 0 – Ausência de dor |
| 1 – Dor mínima a leve |
| 2 – Dor leve a moderada |
| 3 – Dor moderada a severa |

Potencial de dor no pós-procedimento:

| Mínima a Leve = 1 | Leve a Moderada = 2 | Moderada a severa = 3 |
|---------------------------------|---------------------------------|---|
| Implantação de cateter vascular | Laparotomia (pequenas incisões) | Laparotomia (maiores incisões) e incisões de órgãos |
| Vasectomia/Orquidectomia* | Tireoidectomia | Toracotomia |
| Procedimento ocular não corneal | Orquidectomia* | Transplante de órgãos |

| | | |
|--|--|---|
| Colocação de <i>transponder</i> subcutâneo | Cesariana | Procedimentos vertebrais |
| Implantação de tumor superficial | Hipofisectomia | Procedimentos de queimadura |
| Venotomia de seio orbital | Timectomia | Modelos de trauma |
| Linfadenectomia superficial | Transferência de embriões | Procedimentos ortopédicos |
| Múltiplas injeções | Coleta de medula óssea | Modelos com indução de tumores invasivos. |
| | Procedimento ocular na córnea | Ligação do ceco e punção |
| | Colocação de implante cerebral | |
| | Modelos com indução de tumores não-invasivos | |
| | Acesso a veia porta (via percutânea) | |

**Procedimentos que podem apresentar diferentes potenciais dolorosos de acordo com a técnica empregada.*

Indicadores de dor em animais de laboratório:

| Espécie | Comportamento | Aparência | Fisiologia |
|-------------------|--|--|--|
| Rato | <p>Atividade reduzida como: apetite e sede; Automutilação; Aumento da agressividade entre si; Vocalização durante manipulação; Perda de peso; Ato de lambe-se.</p> | <p>Piloereção; postura anormal e arqueada; Descarga ocular (cromodacriorréia); Pálpebras parcialmente fechadas; Pupilas dilatadas; secreção nasal.</p> | <p>Sono alterado; Hipotermia; respiração rápida e superficial e podem grunhir na expiração</p> |
| Camundongo | <p>Semelhante ao rato; menos dóceis que os ratos.</p> | <p>Similar ao rato; Sem cromodacriorréia;</p> | <p>Semelhante ao rato; Oscilação de temperatura maior do que o rato</p> |

| | | | |
|---|--|---|---|
| <p style="text-align: center;">Cobaia</p> | <p>Vocalização; Não respondem aos estímulos táteis; Apresentam sonolência, sem agressividade.</p> | <p>Semelhante ao rato</p> | <p>Semelhante ao rato</p> |
| <p style="text-align: center;">Hamster</p> | <p>Perda de peso; Maior sonolência em comparação à Cobaia; Aumento da agressividade ou letargia; Diarréia.</p> | <p>Aparência curvada; Não se move muito, especialmente onde os órgãos abdominais estão envolvidos; Decúbito lateral indica que o animal está desfalecido; Marcha pode ser afetada; Cromodacriorreia; Piloereção</p> | <p>Aumento da frequência respiratória; Constipação é incomum;</p> |

| | | | |
|--|--|--|--|
| <p style="text-align: center;">Coelho</p> | <p>Ansiedade; Esconde-se; Vocalização; Agressividade; arranha/ morde o local doloroso; Redução do apetite e sede; Automutilação;</p> | <p>Fica apreensivo e ansioso; Piloereção; Postura anormal; Pupilas dilatadas.</p> | <p>Salivação excessiva; Respiração rápida e superficial.</p> |
| <p style="text-align: center;">Porco</p> | <p>Hiperatividade/inquietação; Esconde-se; Perda de apetite; Agressividade.</p> | <p>Vocalização quando é palpada a área dolorosa; Mudanças na vocalização; Piloereção</p> | <p>Alterações da atitude e postura; Respiração abdominal, com boca aberta; Hipotermia.</p> |

Camundongos

| Categoria | Fármaco | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Indicação |
|------------------|--|---------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------|
| AINES | Acetaminofeno / Paracetamol (Tylenol®) | 110 – 305 | IP, VO | 12 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Aspirina (Ácido Acetil-Salicílico) | 120 | VO | 4 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Carprofeno (Rimadyl®) | 2,5 – 5 | SC | Dose única | Dor mínima a leve |
| | | 2,5 – 5 | SC | 24 hs | Dor leve a moderada |
| | | 2,5 – 5 | SC | 24 hs | Dor moderada a severa |
| AINES | Cetoprofeno (Ketofen®) | 5 | SC | 24 hrs | Dor moderada a severa |
| AINES | Diclofenaco (Voltarem®) | 9,0 – 28 | IP | 12 hrs | Dor moderada a severa |
| AINES | Flunixin meglumine (Banamine®) | 4,0 – 11 2,5 | IV SC | 12 hrs 12 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Ibuprofeno (Advil®) | 40 – 80 | VO | 24 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Meloxicam | 5 – 10 | VO, SC | 24 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Piroxicam | 3 | VO | 24hrs | Dor leve a moderada |
| Opióides | Butorfanol | 5 | SC | 4 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióides | Buprenorfina | 0.05 - 0.1 | SC | 6-8 hrs | Dor moderada a severa |
| | | 0,05 – 0,1 | SC | 8 – 12 hs | Dor leve a moderada |

| | | | | | |
|-----------------|------------|---------|--------|---------|-----------------------|
| Opióides | Meperidina | 10 – 20 | SC, IM | 2-3 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióides | Morfina | 2-5 | SC | 4 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióides | Tramadol | 20 – 40 | IP | 12 hrs | Dor moderada a severa |

*Para melhor controle da dor faz-se a administração de um AINE associado à um opióide. **Buprenorfina isoladamente é recomendada somente para controle de dor moderada.

Ratos

| Categoria | Analgésico | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Indicação |
|------------------|---|---------------------|-----------------------------|----------------|-------------------------|
| AINES | Acetaminofeno / Paracetamol (Tylenol ®) | 110 - 305 | IP, VO | 12 hs | Dor leve a moderada |
| AINES | Aspirina (Ácido Acetil-Salicílico) | 100 100 - 120 | VO IP | 12 hs | Dor leve a moderada |
| AINES | Carprofeno (Rimadyl®) | 2,5 - 5 | SC | Dose única | Dor mínima a leve |
| | | 2,5 – 5 | SC | 24 hs | Dor leve a moderada |
| | | 2,5 – 5 | SC | 24 hs | Dor moderada a severa * |
| AINES | Cetoprofeno (Keto-fen®) | 2,5 - 5 | SC | Dose única | Dor mínima a leve |
| | | 2,5 – 5 | SC | 24 hs | Dor leve a moderada |
| | | 2,5 – 5 | SC | 24 hs | Dor moderada a severa * |

| | | | | | |
|-----------------|---------------------------------|------------------------|--------------|------------------------|-------------------------|
| AINES | Dipirona sódica | 25 | SC, IP, IV | 08 hs | Dor moderada a severa |
| AINES | Flunixin meglumi-ne (Banamine®) | 2.5 | SC | 12 hs | Dor leve a moderada |
| AINES | Ibuprofeno (Advil®) | 15 | VO | 24 hs | Dor leve a moderada |
| AINES | Meloxicam | 1 | SC | Dose única | Dor mínima a leve |
| | | 1 – 2 | SC | 24 hs | Dor leve a moderada |
| | | 1 – 2 | SC | 24 hs | Dor moderada a severa* |
| Opióides | Butorfanol | 1 - 2 | SC | 4hs | Dor mínima a leve |
| Opióides | Buprenorfina** | 0,01 - 0,5 0,1-0,25 | SC, IP VO | 8 - 12 hs 8 - 12 hs | Dor moderada a severa |
| | | 0,05 | SC | 6 - 12 hs | Dor leve a moderada |
| | | 0,05 | SC | 6 - 12 hs | Dor moderada a severa * |
| Opióides | Morfina | 2 - 10 | SC | 04 hs | Dor moderada a severa |

*Para melhor controle da dor faz-se a administração de um AINE com um opióide. **Buprenorfina isoladamente é recomendada somente para controle de dor moderada.

Obs: Uso de anestésicos locais (lidocaína e bupivacaína) são recomendados para dor mínima à leve e em associação com analgésicos opióides em casos de dor moderada à severa.

Coelhos

| Categoria | Fármaco | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Indicações |
|-----------------|--------------------------------|--------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| AINES | Cetoprofeno | 3 mg/kg | SC | Dose única | Dor mínima a leve |
| AINES | Carprofeno | 4 1,5 | SC VO | Dose única | Dor Mínima a leve |
| | | 4 1,5 | SC VO | 24 hrs 12 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Meloxicam | 0,2 – 0,3 | SC, VO | Dose única | Dor Mínima a leve |
| | | 0,3 – 1,5 | VO | 24 hrs | Dor Leve a moderada |
| AINES | Flunixin meglumine (Banamine®) | 1,0 | IM | 12 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Piroxicam | 0,2 | VO | 08 hrs | Dor leve a moderada |
| Opióides | Buprenorfina | 0,01-0,05 | SC, IV, IM | 6 - 12 hrs | Dor leve a moderada |
| | | 0,05 | SC, IV, IM | 6 - 12 hrs | Moderada a severa |
| Opióides | Butorfanol | 0,1- 0,5 | IV, IM | 4hrs | Dor mínima a leve |
| | | 0,1 – 0,5 | IM, IV | 4hrs | Dor leve a moderada |
| Opióides | Morfina | 2 – 5 | SC | 2 – 4 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióides | Meperidina | 5,0-10,0 | SC | 04 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióides | Tramadol | 5,0 | SC, IM | 04 hrs | Dor moderada a severa |

Obs: Fentanil, 25 µg/h, transdérmica, a cada 72 horas também é recomendado para controle da dor moderada a severa. Assim como o uso de anestésicos locais (lidocaína e bupivacaína) recomendados para dor mínima a leve e adjunto com analgésicos opióides recomendados para dor moderada a severa

Porcos

| Categoria | Fármaco | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Indicações |
|------------------|------------------------------------|---|-----------------------------|----------------|-----------------------|
| AINES | Aspirina (Ácido Acetil-Salicílico) | 10 – 20 mg/kg | VO | 6 hrs | Dor leve e moderada |
| AINES | Carprofeno | 3-4mg/kg | VO SC ou IM | 24hrs | Dor leve e moderada |
| AINES | Cetoprofeno | 1-3 mg/kg | IM, SC, VO | 24 hrs | Dor leve e moderada |
| AINES | Cetorolaco | 0.3-0.5 mg/kg | IM ou IV | 12 hrs | Dor leve e moderada |
| AINES | Flunixin meglumine (Banamine®) | 1 – 4 mg/kg | SC ou IM | 12 hrs | Dor leve e moderada |
| AINES | Meloxicam | 0.4mg/kg | PO ou SC | 4hrs | Dor leve a moderada |
| Opióides | Buprenorfina | 0.005-0.01mg/kg | IM ou IV | 12 hrs | Dor moderada e severa |
| Opióides | Fentanil | 0,02 - 0,05 mg/kg 0,05 – 0,1 mg/kg/h | IM IV | 2 hrs | Dor moderada e severa |
| Opióides | Oximorfina | 0,15mg/kg | IM | 6 hrs | Dor moderada e severa |

Para a maioria dos procedimentos é administrado um opióide, podendo ser feita uma infiltração de anestésico local ao longo da linha incisional. Analgésicos opióides não têm ação prolongada no porco quando administrados pela via IM. Fentanil, oximorfina e meperidina são potentes, mas duram somente algumas horas. Butorfanol e buprenorfina são opióides novos e tem mostrado maior duração de seus efeitos. Um dos mais utilizados é a buprenorfina e suas dosagens a partir de 0,01 mg/kg ou mais que têm se mostrado eficazes em promover 8 – 12 horas de analgesia.

Aspirina e fenilbutazona (4 – 20 mg/kg – VO) não são potentes para a maior parte dos procedimentos com manipulação das vísceras, mas podem ser administrados junto com opióides devido a suas características anti-inflamatórias.

Hamster

Há pouca informação acerca da eficácia dos analgésicos nessas espécies. Muitas publicações mostram a experiência dos autores no uso de analgésicos e sem muitos estudos clínicos. O analgésico mais recomendado para as espécies hamster e cobaia é a buprenorfina, 0,01 - 0,05 mg/kg, SC a cada 8 horas.

| Categoria | Fármaco | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Indicações |
|------------------|----------------|---------------------|-----------------------------|----------------|-----------------------|
| Opióide | Brupernorfina | 0,01 – 0,05 | SC | 8 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióide | Butorfanol | 1 – 5 | SC | 4 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióide | Morfina | 2 – 10 | SC | 4 hrs | Dor moderada a severa |
| AINES | Carprofeno | 4 – 5 | SC | 24 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Meloxicam | 0,2 | SC | 24 hrs | Dor leve a moderada |

Cobaia

| Categoria | Fármaco | Dose (mg/kg) | Via de administração | Duração | Indicações |
|------------------|------------------------------------|---------------------|-----------------------------|----------------|-----------------------|
| AINES | Aspirina (Ácido Acetil-Salicílico) | 87 | VO | 4 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Carprofeno | 2,5 | SC | 24 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Flunixin meglumine | 2,5 | SC | 12 hrs | Dor leve a moderada |
| AINES | Meloxicam | 0,2 | SC | 24 hrs | Dor leve a moderada |
| Opióide | Buprenorfina | 0,05 | SC, IV | 6 – 12 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióide | Meperidina | 10-20 | SC, IM | 2 – 3 hrs | Dor moderada a severa |
| Opióide | Morfina | 2,5 | SC | 4 hrs | Dor moderada a severa |

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. **Animais de laboratório: criação e experimentação** [online]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2002. 388 p. Available from SciELO Books . <http://books.scielo.org/>
- BARROS, C. A. de. **Guia de vias de administração, medicamentos e eutanásia para animais em experimentação**. Centro Universitário Filadélfia; 2014. 22p
- BETTIO, J. A. **Transplante intraprotal por via percutânea de células tronco da medula óssea em ratos cirróticos: exequibilidade e eficácia**. 2010. 75 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010
- CARSTENS, E., MOBERG, G. P. Recognizing pain and distress in laboratory animals. **Ilar J.** v.41, n. 2, 2000, p. 62 -71.
- CHORILLI, M., MICHELIN, D. C., SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 28, n.1, 2007, p. 11-23.
- COUTINHO; A.F.O.S.V. **Subjetividade na avaliação da dor animal**. 2012. 79f. Dissertação (Mestrado Integrado Em Medicina Veterinária) – Faculdade de medicina veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.
- HELLEBREKERS, L. J. **Dor em animais**. São Paulo: Manole, 2002. 173 p.
- HENNEMANN-KRAUSE, L. Aspectos práticos da prescrição de analgésicos na dor do câncer. **Rev. Hosp. Univ. Pedro Ernesto.** v.11, n.2, Jun. 2012, p. 38 – 49.

JOHNS HOPKINS UNIVERSITY. **Use of experimental animals at Johns Hopkins University**, Baltimore, 2002

KOHN, D. F.; MARTIN et al. Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. **J. A. A. L. A. S.** v. 26, n.2, p.97 – 108.

MIDON, M. **Uso de anti-inflamatórios não esferoidais na terapêutica analgésica de pequenos animais**. 2012. 58 f. Trabalho (Graduação em medicina veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre; 2012.

NETO, H. C. C. F., SANTOS, B. F. Fármacos usados em animais de laboratório anestésicos e analgésicos. In: CEUA – FIOCRUZ. **Manual de utilização de animais/FIOCRUZ**, Rio de Janeiro; 2008. p. 20 – 27.

RIVERA, E.A.B. Analgesia, anestesia e eutanásia em roedores, lagomorfos, cães e suínos. In: FEIJÓ, A. G. S; BRAGA, L. M. G. M.; PITREZ, P. M. C. (org). **Animais na pesquisa e ensino: aspectos éticos e técnicos**. Porto Alegre: EdIPUCRS, 2010. p. 198 - 216

SWINDLE, M. M. **Technical bulletin: pain assessment in swine**. Sinclair Research Center, 2008. Disponível em: <http://www.sinclairbioresources.com/Downloads/TechnicalBulletins/Pain%20Assessment%20in%20Swine.pdf>. Acesso em: 9 out 2015

SEABRA, D. I., POMPEU, E., VALENTI, M. L. G. **Anestesia e analgesia de animais utilizados em protocolos experimentais. Biotério central da USP**; 2015. Disponível em: http://www.bioterio.fm.usp.br/pdf/Anestesia_e_Analgesia.pdf. Acessado em: 09 out 2015

SOUSA, A. M. **Efeito analgésico periférico do tramadol em ratos**. 2009. 119 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SOUSA, A. M. et al. Efeito analgésico local do tramadol em modelo de dor provocada por formalina em ratos. **Rev. Bras. Anesthesiol.** v. 58, n.4, 2008, p. 371 – 379.

SANTOS, O. J. et al. Efeito de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) e *Carapa guianensis* Aublet (andiroba) na cicatrização de gastrorrafias. **ABCD Arq. Bras. Cir. Dig.** v.26, n.2, 2013, p. 84-91.

SWINDLE, M. M. **Technical bulletin: Anesthesia and Analgesia in Swine**. Sinclair Research Center, 2008. Disponível em: <http://www.sinclairbioresources.com/Downloads/TechnicalBulletins/Anesthesia%20and%20Analgesia%20in%20Swine.pdf>. Acesso em: 9 out 2015

UNIFAL-MG. **Manual de anestesia e analgesia do biotério da UNIFAL-MG**. Disponível em: <http://www.unifal-mg.edu.br/bioterio/sites/default/files/Anestesia%20e%20Analgesia.pdf>. Acessado em: Acesso em: 9 out 2015

UNIVERSITY OF FLORIDA. **Guidelines on anesthesia and analgesia in laboratory animals**. 2014. Disponível em: https://www.research.usf.edu/cm/docs/cmdc/C086_Guidelines_Anesthesia_Analgesia_In_Lab_Animals.pdf. Acesso em: 10 out 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS). **Procedimentos para anestesia de animais de laboratório CREAL/2013**. 2013, p. 12

WATANABE, M., FONSECA, C. D. , VATTIMO, M. F. F.
Aspectos instrumentais e éticos da pesquisa experimental
com modelos animais. **Rev. Esc. Enferm. USP**, v.48, n.1,
2014, p. 181-188.

CAPÍTULO 6

Eutanásia

Rosa Helena de Figueiredo Chaves Soares

Higor Yuri Bezerra Henriques

Eutanásia, do grego *eu* (bom) *thanatos* (morte), é um procedimento fundamental, sua execução é um ponto chave para que os direitos e legislações referentes ao uso de animais de experimentação sejam respeitados. Induzir o animal a morte de maneira humanitária, indolor e com o mínimo desconforto é o objetivo principal ao se realizar este procedimento. É válido ressaltar a diferença de alguns conceitos distintos, porém equivocadamente referenciados como sinônimos, tais como eutanásia e sacrifício. Sacrifício é o ato de apresentar uma oferenda a uma divindade, logo, este termo não se aplica a fins científicos.

Segundo as diretrizes da prática de eutanásia do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal), alguns critérios precisam ser adotados. De acordo com a resolução normativa nº 6, de 2012 toda a eutanásia deve ser supervisionada (não obrigatoriamente de forma presencial) por um médico veterinário com registro ativo. Os critérios adotados para a indicação de eutanásia são:

- Animais gravemente feridos
- Portadores de doenças terminais
- Animais idosos
- Indução de morte para fins científicos

O método escolhido deve ser aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da instituição. Em estudos científicos, devem-se estabelecer critérios antes do início do estudo para que os animais sejam submetidos à eutanásia, como, por exemplo, o grau de sofrimento físico e psíquico, para que caso necessário seja realizada intervenção imediata.

Regulamentação CFMV

A resolução nº 1000, de maio de 2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, procedimento clínico na qual a responsabilidade compete privativamente aos pesquisadores.

Dessa forma, o grau de competência do CFMV em regulamentar, disciplinar e fiscalizar tal procedimento clínico de crescente diversidade de espécies en-

volvidas, além da multiplicidade de métodos aplicados, transforma a eutanásia em um procedimento necessário, quando empregado de forma científica e tecnicamente regulamentada, que deve seguir os preceitos éticos específicos.

Portanto, considera-se que os animais submetidos a esse processo são seres com capacidade de sentir e que os métodos aplicados devem atender ao princípio de bem-estar deles. Em consequência disso, esta resolução procura resolver a instituição de normas reguladoras de procedimentos relativos à eutanásia, indução da cessação da vida animal por meio de método tecnicamente aceitável e cientificamente comprovado.

Assim, este procedimento de interrupção da vida animal é principalmente indicado em casos de comprometimento de saúde irreversível, sem meio de eliminar a dor ou sofrimento; de constituições de ameaça do animal à saúde pública; de risco à fauna nativa ou ao meio ambiente, bem como do animal ser objeto de atividades científicas, corretamente aprovadas por uma Comissão de Ética para o Uso de Animais - CEUA.

Tabela 1 – Métodos de eutanásia aceitáveis e métodos aceitos sob restrição para cada tipo de espécie animal.

| Animais | Aceitáveis | Aceitos sob restrição |
|--------------------------|--|--|
| Cães | Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*; anestésicos inalatórios seguidos de outro procedimento para assegurar a morte; anestesia geral prévia seguida de cloreto de potássio ou seguida de bloqueador neuromuscular e cloreto de potássio*. | N ₂ /argônio; eletrocussão com anestesia geral prévia; T61; CO ₂ ; aplicação intratecal de anestésico local com anestesia geral prévia*. |
| Coelhos | Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*; anestésicos inalatórios seguidos de outro procedimento para assegurar a morte; cloreto de potássio com anestesia geral prévia. | N ₂ /argônio; deslocamento cervical (animais <1kg); pistola de ar comprimido; T61; CO ₂ . |
| Ratos/camundongos | Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis; anestésicos inalatórios seguidos de outro procedimento para assegurar a morte; cloreto de potássio com anestesia geral prévia*. | N ₂ /argônio; deslocamento cervical (animais < 200g); decapitação por guilhotina; T61; CO ₂ . |
| Porcos | Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*; anestésicos inalatórios seguidos de outro procedimento para assegurar a morte (em algumas espécies). | N ₂ /argônio; arma de fogo; pistola de ar comprimido; etorfina; carfentanil. |

Fonte: Adaptado da Resolução n° 1000 do CFMV, maio de 2012.

Em todos os casos, para todas as espécies, os barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis devem:

- Ser precedidos de medicação pré-anestésica.
- Ser administrados por via intravenosa e, apenas na impossibilidade desta, por via intraperitoneal, em dose suficiente para produzir a ausência do reflexo corneal.

Métodos de eutanásia

Os métodos utilizados podem ser divididos em físicos e químicos.

Métodos Físicos:

Devem causar perda de consciência imediata, através de trauma físico do SNC. São indicados quando o método é imprescindível para o resultado da pesquisa.

A execução correta é primordial para evitar desconforto ao animal, deve ser rápida, certa e menos traumatizante para o animal. Todavia, o animal precisará de contenção, o que poderá induzir estresse em alguns animais. Este método não deve ser executado na presença (vista, audição ou fero) de outros animais. Como exemplos, têm-se:

Pistola de insensibilização por ar comprimido (percussiva não penetrativa) e de dardo cativo (percussiva penetrativa)

A primeira causa insensibilização por concussão cerebral e a segunda destruição imediata do tecido cerebral por trauma penetrante. Por produzir concussão e laceração

do tecido cerebral a pistola de dardo cativo penetrante é mais eficiente. Podem ser utilizados em ruminantes, equídeos, suínos e animais silvestres de grande porte, desde que seja possível a contenção química ou física adequada para o correto posicionamento da pistola.

Vantagens: eficiente e de baixo custo, pode ser utilizada em condições de campo.

Desvantagem: visualmente desagradável.

Deslocamento cervical

A qualificação do executor é imprescindível para a realização deste procedimento, quando bem executado causa lesão imediata da medula espinhal e inconsciência, seguido de morte.

Pode ser usado para causar a morte de camundongos e ratos (abaixo de 200 g). Para camundongos e ratos, o polegar e o indicador devem ser colocados, um de cada lado, na região cervical cranial ou um bastão é pressionado na base do crânio. Com a outra mão, a base da cauda ou membros pélvicos são tracionados caudalmente, para causar a separação das vértebras cervicais em relação ao crânio.

Vantagens: ausência de contaminação do material biológico; procedimento rápido quando executado de forma adequada e por profissional qualificado.

Desvantagens: estética desagradável; requer grande habilidade do executor; pode ser utilizada apenas em algumas espécies.

Decapitação

Deverá ser realizada a anestesia prévia, a menos que comprovada a interferência desta no resultado da pesquisa. Pode ser usado para pequenas aves, roedores, coelhos abaixo de 1 Kg e pequenos anfíbios. A atividade cerebral permanece por até 14 segundos após a decapitação. No entanto, parece não estar relacionado com a nocicepção.

Existe a comercialização de guilhotinas específicas para roedores adultos e pequenos coelhos.

Vantagens: não contamina o material biológico a ser utilizado e não danifica o cérebro; procedimento rápido.

Desvantagens: o manuseio e a contenção são estressantes; a permanência de atividade cerebral estabelece controvérsia frente a aceitação do método; risco de lesão física do profissional; visualmente desagradável; requer habilidade para sua correta execução.

Irradiação por micro-ondas:

É efetuada com auxílio de aparelhos produzidos especificamente para estes fins, uma vez que aparelhos domésticos não são inaceitáveis. A irradiação possui uma potência de 1,3 a 10 kW, dirigida ao crânio do animal, inativando as enzimas cerebrais do animal.

Vantagens: a inconsciência é atingida em menos de 100 ms, a morte em menos de 1 segundo; é o método mais eficaz para fixação do tecido cerebral *in vivo* para ensaios enzimáticos.

Desvantagens: alto custo do aparelho industrial.

Métodos químicos:

Consistem basicamente na ação de substância que rapidamente causam um estado de inconsciência em função da dose estabelecida. Estes compostos podem ser administrados por via inalatória ou injetável. O uso de substâncias controladas deve ser supervisionado por um médico veterinário, mesmo que não de forma presencial. Quando aplicado de maneira injetável a via de escolha é a endovenosa. Porém outras vias podem ser empregadas dependendo da espécie.

Agentes inalatórios:

Os anestésicos ou agentes inalatórios de escolha devem possuir um início de ação imediato, causando pronta perda de consciência e mínimo desconforto. Devem possuir odor agradável e não ser irritante para as vias aéreas, para a segurança dos pesquisadores e do local onde será realizado.

Os gases inalatórios mais utilizados são: monóxido de carbono, nitrogênio, argônio e o dióxido de carbono.

Pelo fato de a exposição a esses gases ser estressante para muitas espécies, deve ser realizada a utilização previa de sedativos.

A câmara de eutanásia deve ser grande o suficiente para permitir que os animais apoiem os membros e tenham espaços para virarem e se ajustarem.

Inalação de gases

O animal é confinado em um reservatório de dióxido de carbono a uma saturação de 40%, ou seja, em concentrações acima daquela encontrada normalmente

no ar atmosférico, o que provoca lesão letal e rápida por depressão do SNC. Este gás, apesar de apresentar baixo custo e promover a morte dos animais de modo rápido, deve ser utilizado com precauções, tendo em vista o risco de acidentes com os manipuladores da câmara de gás, assim como com os manipuladores dos recipientes contendo o gás comprimido.

Este processo se completa em torno de 8 a 10 minutos e é muito utilizado quando se quer submeter à eutanásia um grande número de animais, sendo que estes já devem estar previamente sedados, evitando-se assim desconforto e a ocorrência de brigas e acidentes.

Inalação de vapores

Podem ser utilizados anestésicos inalatórios voláteis (halotano, isoflurano, sevoflurano, etc), porém administrados em altas concentrações, causando uma depressão do SNC levando à parada cardiorrespiratória. Como desvantagens ao emprego destes agentes, tem-se o fato do alto custo dos equipamentos e dos fármacos, além da possibilidade de os animais tornarem-se ansiosos e irritados durante a indução anestésica.

Injeção de fármacos anestésicos

Consiste na aplicação endovenosa ou intraperitoneal de anestésicos gerais. Sendo que o modelo mais utilizado é a aplicação de uma superdosagem, três vezes superior à aplicada inicialmente para indução anestésica. A principal vantagem do emprego desta técnica é o fato de ser acessível e proporcionar uma rápida perda

de consciência, com mínimo desconforto aos animais. Tal procedimento deve prever o uso de altas concentrações do produto empregado associadas à rápida velocidade de aplicação. Como são agentes controlados por legislação federal, tais fármacos devem ser mantidos sob estrito controle por parte dos profissionais.

As substâncias adotadas podem ser agentes isolados (pentobarbital sódico), no entanto a maioria dos medicamentos deve ser utilizado em associação com outros fármacos. Uma alternativa de baixo custo e fácil aquisição é a utilização de Cloreto de potássio que consiste em um íon cardiotoxíco, deve ser utilizado apenas após o animal ser induzido ao plano anestésico, uma desvantagem é que deve ser utilizado exclusivamente por via endovenosa. Este agente produz fibrilação ventricular e morte entre 1 a 2 minutos.

Protocolos utilizado para a realização de eutanásia em animais.

| Protocolo de Eutanásia | Camundongo | Rato | Coelho | Porco |
|------------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| Tiopental | 210 – 300 (mg/kg) | 60 – 120 (mg/kg) | 45 – 90 (mg/kg) | 15 – 33 (mg/kg) |
| Propofol | 36 – 68 (mg/kg) | 22,5 – 30 (mg/kg) | * | 2,5 – 5 (mg/kg) |
| Cetamina+ Xilazina | 300 + 45(mg/kg) | 225 + 30 (mg/kg) | 30 + 150 (mg/kg) | 20 + 6 (mg/kg) |
| Pentobarbital | 180 (mg/kg) | 90 – 120 (mg/kg) | 111 (mg/kg) | 60 – 120 (mg/kg) |
| Fentanil-droperidol | * | 16 (mL/kg) | 0,6 (ml/kg) | * |
| Tiletamina-zolazepan | 300 (mg/kg) | 60 – 90 (mg/kg) | 15 – 30 (mg/kg) | * |
| Cetamina + Propofol | * | 120 + 180 (mg/kg) | * | * |
| Diazepan+ Cetamina | * | 15 + 225 (mg/kg) | 150 + 75 (mg/kg) | 6 + 45 (mg/kg) |
| Tipental+ Cetamina | * | 90 + 120 (mg/kg) | * | * |

(*) Não foi encontrado a descrição para a espécie.

Constatação da eutanásia

A verificação da cessação dos sinais vitais do animal é obrigatória. Um protocolo que pode ser seguido para tal fim é:

- Avaliar a ausência de batimentos cardíacos.
- Constatar a perda do reflexo ao toque do globo ocular.
- Verificar a presença da cianose decorrente do estado de anóxia.
- Ocorrendo a persistência de sinais vitais, o procedimento deverá ser repetido.

REFERÊNCIAS

CHARBONNEAU, R. et al. CCAC guidelines on: euthanasia of animals used in science. **Canadian Council on Animal Care. Ottawa ON, Canada, 2010.**

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. DISPOSIÇÃO SOBRE PROCEDIMENTOS E MÉTODOS DE EUTANÁSIA EM ANIMAIS, E DÁ OUTRAS PROVIDÊNCIAS. **RESOLUÇÃO NO1000, DE 11 DE ,MAIO DE 2012.** DISPONÍVEL EM: http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao_1000.pdf

Acessado em: 22 out 2015

DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL ON THE PROTECTION OF ANIMALS USED FOR SCIENTIFIC PURPOSES, DE 22 SETEMBRO DE 2010. OFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION L 276/33-79.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. **Guide for the care and use of laboratory animals.** National Academies Press, 2010.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH (NIH). **GUIDELINES FOR EUTHANASIA OF RODENTS USING CARBON DIOXIDE. ISSUING OFFICE: OACU, 2010.** DISPONÍVEL EM: http://oacu.od.nih.gov/arac/documents/rodent_euthanasia_adult.pdf .

Acessado em : 20 out 2015.

CHAGAS, Flávia Bernardo; DAGOSTINI, Fernanda Maurer. Considerações sobre a experimentação animal: Conhecendo as implicações éticas do uso de animais em pesquisas. **Rev. Redbioética**, UNESCO, 2012. p. 35

LEARY, Steven et al. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 ed. 2013.

MOODY, C. M.; CHUA, B.; WEARY, D. M. The effect of carbon dioxide flow rate on the euthanasia of laboratory mice. **Laboratory animals**, v. 48, n. 4, p. 298-304, 2014.

.

