

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ – CAMPUS UMUARAMA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO  
SUSTENTÁVEL E SAÚDE ANIMAL**

**RUBIA MITALLI TOMACHEUSKI**

**POSTURA DOS PESQUISADORES BRASILEIROS QUANTO AO  
RECONHECIMENTO E CONTROLE DA DOR EM ANIMAIS DE  
LABORATÓRIO**

**UMUARAMA  
Novembro - 2017**

RUBIA MITALLI TOMACHEUSKI

Postura dos pesquisadores brasileiros quanto ao reconhecimento e controle da dor em animais de laboratório

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para obtenção do título de Mestre em Veterinária.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilda Onghero Taffarel

Coorientador Prof. Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna

Umuarama

2017

Arquivo digital corresponde à versão final da dissertação

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR, Brasil)

T655p

Tomacheuski, Rubia Mitalli

Postura dos pesquisadores brasileiros quanto ao reconhecimento e controle da dor em animais de laboratório / Rubia Mitalli Tomacheuski. -- Umuarama, PR, 2017.

69 f.: il.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilda Onghero Taffarel.

Coorientador: Prof. Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Campus Umuarama, Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, 2017.

1. Analgesia - Animais. 2. Avaliação da dor - Animais. 3. Analgésicos - Animais. 4. Animais de laboratório - Dor. I. Taffarel, Marilda Onghero, orient. II. Luna, Stelio Pacca Loureiro, orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Campus Umuarama. Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal. IV. Título.

CDD 23.ed. 636.089

Márcia Regina Paiva de Brito – CRB-9/1267

# **FOLHA DE APROVAÇÃO**

RUBIA MITALLI TOMACHEUSKI

Postura dos pesquisadores brasileiros quanto ao reconhecimento e controle da dor em animais de laboratório

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Veterinária pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## **COMISSÃO JULGADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilda Onghero Taffarel  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso  
Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Bárbara Cristina Mazzucatto  
Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Aprovada em: 27 de novembro de 2017.

Local da defesa: Sala de Aulas do Mestrado, Campus Regional de Umuarama-UEM

## *Dedicatória*

*Dedico este trabalho aos meus Pais. Eles que sempre me apoiaram a seguir sonhando e lutando pelos meus sonhos, mesmo que muitas vezes estes me levassem para tão longe. A este amor infinito que segue me guiando.*

## ***Agradecimentos***

Sou grata à vida por ter chegado até aqui, foram tantos os caminhos traçados, os aprendizados ao longo desses dois anos, risos, e choros, e pessoas maravilhosas que conheci que agradecer chega ser tarefa difícil.

A minha família, meus pais, Renato e Mariza, que mesmo decidindo ir mais uma vez para tão longe nunca deixaram de me apoiar a seguir meus sonhos! O amor e educação que recebi me ensinaram que a gente deve sempre ouvir nosso coração, e fazer o que nos faz feliz! A minha irmã, Maga, obrigada por toda ajuda, por incentivar, por crer que tudo daria certo, lembro de ouvir de ti cada vez que conversávamos “Bi vai dar tudo certo”! Amo infinitamente vocês!

Em especial a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Marilda, palavras são incapazes de expressar a gratidão que sinto! Obrigada por me acolher, por não só orientar, mas se tornar alguém tão importante na minha vida! Obrigada por todos os ensinamentos, conselhos, e conversas, e risos, e abraços acolhedores nos momentos mais difíceis! Obrigada por todo carinho, por ter me acolhido como “fia”, e mesmo quando eu estava longe sempre ter tempo para conversarmos. Obrigada por acreditar, e tornar meu sonho de ser professora um pouquinho mais perto de ser real. Ao meu coorientador, Prof. Stelio, que me inspirou a seguir pelos caminhos da anestesiologia, a pesquisar sobre a dor, a seguir sempre em frente. Obrigada por ter aceitado participar desta empreitada, e muito obrigada por também aceitar me orientar na próxima fase desta jornada, o doutorado! Vocês dois são exemplos como pessoa, profissional, como professores, sou grata por ter a oportunidade de conhecê-los, e poder trabalhar com vocês!

A Prof.<sup>a</sup> Barbara, seu Fabricio, ao meu maninho do coração Henrique, que se tornaram família do coração em Umuarama, obrigada a Lira e todas suas pintas e carinhos que gentilmente me levou a conhecer essa família linda! Obrigada por todo apoio e incentivo, obrigada por todo amor! Lembro Prof.<sup>a</sup> Barbara que com frequência você perguntava “e aí quantas respostas já conseguiu?” e vibrava comigo a cada pequena conquista! Muito obrigada!

Aos meus amigos de Umuarama, e aos meus amigos que mesmo distantes tantas vezes escutaram sobre as dificuldades e alegrias, muito obrigada por cada palavra, conselho, abraço e riso compartilhado!

A Maíra que esteve ao meu lado em grande parte desta jornada como mestranda. Agradeço a sua amizade, amor, e apoio! Você foi muito importante, incentivando desde o início, quanto nem eu mesma acreditava que seria possível.

Aos meus colegas mestrandos por todo o “help” ao longo desse tempo, em especial ao Arthur que se tornou além de colega um grande amigo.

Aos professores do programa de pós-graduação por todas as boas conversas, e críticas que auxiliaram para que este dia se aproximasse. A Cris, secretária do PPS, por pacientemente explicar sobre todas as dúvidas que tinha, por todo trabalho e auxílio durante esse período.

Ao programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal por me aceitar como discente, e dar a oportunidade de aprimorar e desenvolver habilidades profissionais e pessoais.

A Universidade Estadual de Maringá que se tornou uma das minhas casas, e aos alunos, professores e servidores das agrárias que conheci e tornaram a estadia em Umuarama mais leve.

E finalmente, muito obrigada aos animais, eles que são minha paixão maior, prometo me comprometer a seguir trabalhando pelo seu bem estar, e principalmente para aliviar e tratar a dor que ainda é em muitos cenários negligenciada.

Reconheço hoje o quanto à vida é prodiga em nos oferecer daquilo que necessitamos, e que jamais estamos sozinhos, por isso tudo, sou imensamente agradecida!

**Resumo:** Tratar a dor é dever ético e moral de qualquer pesquisador que trabalhe com experimentação animal. Conhecer os métodos de avaliação e controle desta é crucial para escolher de forma acurada o tratamento ideal em cada caso de estudo, além de ser necessário saber diferir as peculiaridades de cada espécie. O presente estudo teve como objetivo realizar pesquisa demográfica nacional a fim de demonstrar o conhecimento dos profissionais e veterinários brasileiros que trabalham com animais de laboratório sobre avaliação e controle da dor, e ainda, especificamente sobre o uso de analgésicos nestes espécimes. Para tanto foi elaborado questionário que foi disponibilizado on-line e enviado para aproximadamente 2000 pesquisadores que trabalham diretamente com experimentação animal. Foram obtidas um total de 104 respostas, e destas oito foram excluídas por não se enquadrarem nos critérios de inclusão. Os resultados obtidos demonstraram que apenas 23% das instituições de ensino e pesquisa oferecem treinamento para avaliar a dor em animais de laboratório. Cerca de 35% dos pesquisadores não utilizam analgésicos em seus experimentos, porém, 40% dos respondentes afirmam utilizar de ferramentas (escalas) para avaliação da dor. Quanto aos fármacos analgésicos, os mais utilizados em protocolos antálgicos foram: morfina, tramadol, meloxicam, cetoprofeno, cetamina e xilazina. A partir dos resultados, podemos afirmar que a maioria dos pesquisadores brasileiros reconhece a importância da analgesia na experimentação animal. Porém, ainda há falta de preparo e treinamento dos profissionais como um todo, fica evidente, que há uma lacuna de conhecimento sobre a dor, e seus métodos objetivos de avaliação e controle.

**Palavras-chave:** analgesia; avaliação da dor; questionário; analgésicos; rato.



**Abstract:** Pain management is a moral and ethical owe of any researcher who works with animal experimentation. Know about methods of pain assessment and management is crucial to choose the most accurate way of ideal treatment in each experiment's case, besides of being necessary to know how to differ the peculiarities of each species. The present study had as objective to realize a national demographic research aiming to demonstrate the knowledge of Brazilian scientists and veterinarians, who work with laboratory animals, about assessing and controlling pain, and still, specifically about the use of analgesics in these species. Therefore, it was elaborated a questionnaire which was available online and sent to approximately 2000 researchers who work directly with animal experimentation. The study got a total of 104 responses, and 8 were discarded by not fitting in the inclusion criteria. The obtained results showed that only 23% of teaching and researching institutions offer training to assess and manage pain of laboratory animals. About 35% of researchers do not use analgesics in their experiments, though, 40% of the respondents affirmed to use tools (scales) to pain assessment. The most used analgesic drugs in antalgic protocols were: morphine, tramadol, meloxicam, ketoprofen, ketamine and xylazine. The results showed that the majority of Brazilian researchers recognize the importance of analgesia in animal experimentation. However, there is a lack of preparing and training of professionals as a whole; it is evident that there is a gap of knowledge about pain and its objective methods of assessing and management.

**Key-words:** analgesia; pain assessment; questionnaire; analgesic drugs; rat.

## SUMÁRIO

1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
1.1	Reconhecimento e avaliação da dor .....	13
1.1.1	Escalas de dor para animais de laboratório .....	13
1.2	Controle da dor.....	14
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo Geral .....	17
2.1.1	Objetivos específicos.....	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	18
4	RESULTADOS.....	20
5	DISCUSSÃO.....	32
6	CONCLUSÃO .....	39
	REFERÊNCIAS .....	40
	ARTIGO .....	46
	ANEXO .....	58
	Anexo 1: Modelo de questionário utilizado para a pesquisa .....	59
	Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE .....	63
	Anexo 3: Normas para publicação: Pesquisa Veterinária Brasileira .....	65

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os animais como seres sencientes são capazes de sofrer devido à dor (LUNA, 2008). Em experimentação animal ter ciência que a dor será um fator presente no âmbito laboratorial é fundamental, sendo um dever ético o pesquisador ser capaz de reconhecer, avaliar e tratar a dor, pois esta é uma das causas primárias de sofrimento e estresse em animais, inclusive os de experimentação (FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014).

Minimizar a dor e o sofrimento em animais usados com propósitos de pesquisa é um objetivo básico das regulamentações de bem estar animal ao redor do mundo e é considerado um ponto central de consideração ética em experimentação animal (FOLEY, 2014). A dor é uma das variáveis mais importantes que membros da comunidade científica em animais de laboratório tentam controlar e minimizar, e é um dos tópicos críticos da pesquisa das ciências básica e clínica (GRAHAM, 2016). A possibilidade dos animais sentirem dor quando usados em ciência apresenta um dilema ético para cientistas e médicos veterinários. O dilema aplica-se em ambos os casos, onde a dor é uma consequência direta da pesquisa (exemplo: quando a dor é a área central do estudo), e em casos onde a dor é uma consequência indireta do objetivo do estudo (FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014).

Durante as últimas décadas houve uma evolução gradual das atitudes dos veterinários com relação à dor, tendo sido expandido, por exemplo, o uso de analgésicos (FLECKNELL, 2008; RAEKALLIO et al., 2003). Embora o número de opções para promover o controle da dor e prolongar a analgesia em animais de laboratório tenha melhorado, eles ainda são limitados, especialmente para roedores (FOLEY, 2014). No Brasil ainda não há pesquisas que abordem o uso de analgésicos para animais de laboratório, ou mesmo, como e se são utilizadas formas objetivas de avaliação da dor. Em países da América do Norte e Europa, pesquisas realizadas demonstram que o uso de analgésicos ainda é pouco evidenciado para o tratamento e controle da dor, e que muitos profissionais são incapazes de reconhecer os sinais da dor, outros ainda creem que tratá-la não é essencial

(CARBONE, 2011; FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014; WHITTAKER; HOWARTH, 2014).

Em meta-análise realizada por Carbone e Austin (2016) encontraram-se deficiências em reportar uso de anestesia para cirurgias em animais, e uma falta significativa de informação no uso de analgésicos pós-operatórios. A dor, assim como os fármacos utilizados para seu controle, podem afetar a qualidade dos dados em experimentos com animais e o bem estar animal. Em muitos casos os autores não puderam afirmar se os cientistas restringiram o tratamento da dor ou este foi editado como metodologicamente irrelevante. Artigos com dados insuficientes afetam quão bem estes são avaliados ou reproduzidos, mas podem também modelar futuras práticas através de cientistas confiando em um corpo incompleto de literatura.

Desde Russell e Burch em (1959), o uso dos “3Rs” – *refine, reduce, replace*, que respectivamente significam refinar, reduzir e substituir (tradução livre); é uma prática essencial no âmbito da pesquisa que envolve animais de experimentação, e consiste em refinar os procedimentos em animais de forma que causem menos dor e estresse; reduzir o número de animais sencientes em projetos; e substituir estes por experimentos que não utilizem animais ou ainda por animais não-sencientes. Os “3Rs” tem sido tema de uma miríade de políticas, regulamentações e artigos, que tem padronizado e melhorado o bem estar de animais de laboratório (CARBONE, 2012; COULTER; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009).

O empenho das instituições em estimular o bem estar animal, assim como oferecer treinamento adequado ao pesquisador é fundamental para a evolução da pesquisa, oferecendo condições melhores aos animais, para que estes recebam tratamento adequado à dor e tenham o sofrimento e estresse aliviados (HAWKINS, 2002). Ter ciência que animais de laboratório sentem dor, além de treinamento para reconhecer as diferenças em comportamento e parâmetros vitais, são requisitos mínimos para avaliar e controlar a dor vivenciada por estes (HAWKINS, 2002; MEDINA, 2011).

## 1.1 Reconhecimento e avaliação da dor

Mensurações objetivas da severidade de dor, especialmente em animais, seres não verbais, que são usados como modelo de doenças podem ser difícil de obter, mas o desenvolvimento da neurociência do comportamento tem tornado a avaliação da dor mais consistente, automática e acurada (GRAHAM, 2016).

O reconhecimento da dor em animais, da mesma forma que em neonatos humanos, não é simples devido à dificuldade de interpretar o comportamento aversivo destes (LUNA, 2008). Sinais clínicos de dor podem ser difíceis de acessar em muitos modelos animais. Em roedores, por exemplo, o comportamento é moldado por seu nicho ecológico como uma espécie presa, geralmente evitam demonstração visual ou comportamental clara de sinais de dor, tanto que mesmo veterinários treinados e técnicos encontram dificuldade para identificar animais que requerem intervenção terapêutica (GRAHAM, 2016).

Entre as formas de reconhecer os sinais da dor, incluem-se observações do comportamento e aparência física do animal, e mensurações fisiológicas – como: peso, temperatura, frequência respiratória e cardíaca. Em estudo realizado no Canadá, pesquisadores descreveram que as principais mudanças de comportamento correlacionadas a quadros álgicos são: vocalização audível, interação social diminuída, expressões faciais alteradas, postura curvada, mobilidade debilitada, letargia, não fazer ninhos (para camundongos), anadipsia, hiporexia, preferência por um lugar específico, automutilação e ‘contorções’ (para roedores). Dentre algumas alterações em sinais físicos observadas, pode-se citar: aparecimento de massas e secreções corporais, olhos lacrimejantes (roedores) e desidratação (FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014).

### 1.1.1 Escalas de dor para animais de laboratório

Algumas pesquisas desenvolveram métodos de codificação da dor baseada na expressão facial para animais de laboratório. Dois exemplos de escalas criadas neste sentido são a *Mouse Grimace Scale* (MGS) e a *Rat Grimace Scale* (RGS). Ambas tem o intuito de quantificar a dor em ‘não presente’, ‘moderada’ ou ‘óbvia’, e,

treinar profissionais para que estes sejam capazes de identificar e tratar o animal que apresente o quadro doloroso (MATSUMIYA et al., 2012; SOTOCINAL et al., 2011).

A MGS tem como base um sistema adaptado de escalas não verbais de seres humanos para avaliação de expressões faciais de dor em camundongos, onde se avalia mudanças na expressão dos olhos, orelhas, vibrissas, nariz e bochecha. Esta escala mostrou-se acurada para mensuração da dor, desde a espontânea de duração moderada, até a dor de pós-operatório de laparotomia. Todos os animais do experimento, de ambos os sexos, foram mantidos individualmente em gaiolas de acrílico transparente, filmados durante o pré e pós-operatório, para se mensurar com maior precisão suas expressões faciais (MATSUMIYA et al., 2012).

A segunda escala (RGS) foi adaptada a partir da escala para camundongos para mensurar-se a dor em ratos, pois segundo os autores, estes são os espécimes mais utilizados no âmbito de pesquisa científica. Neste estudo foram avaliados animais submetidos a modelos experimentais de inflamação, artrite e laparotomia. Dentre as mudanças faciais mais marcantes na presença da dor tem-se: o nariz e bochecha abaixados; vibrissas voltadas para frente, com tendência a se agrupar dando a impressão de “bigodes em pé”; olhos comprimidos (semicerrados, ou fechados); orelhas dobradas, enroladas, ou em ângulo para frente e ou para fora, dando impressão que estão em ângulo mais aberto. Segundo os autores, a escala mostrou-se bastante acurada e confiável (SOTOCINAL et al., 2011).

## 1.2 Controle da dor

O controle da dor em animais de laboratório é um imperativo ético, contudo é também um desafio metodológico para cientistas, tendo em vista que a anestesia cirúrgica, os analgésicos pós-operatórios, e a própria dor não tratada, afetam a biologia do animal. Dor e drogas que aliviam a dor podem distorcer os dados experimentais, introduzindo variabilidade não desejada ou fontes de confusão. Estas preocupações entrelaçadas – que dor e analgésicos podem ambas afetar os resultados experimentais e o bem estar animal – deveria conduzir os cientistas a escreverem seus artigos de pesquisa experimental cuidadosamente, dando a devida

atenção para a descrição das práticas de controle da dor nos seus métodos de pesquisa (CARBONE; AUSTIN, 2016).

Prover analgesia adequada depois de um procedimento invasivo, ou para o controle geral da dor, é um importante componente de cuidado em animais de laboratório. Escolher o protocolo analgésico adequado requer atenção do pesquisador, da equipe veterinária e do comitê de ética da instituição (FOLEY, 2014).

Com intuito de aliviar a dor, são descritos em animais de laboratório o uso de abordagens farmacológicas e não farmacológicas. Embora as farmacológicas incluam o uso de opioides, anti-inflamatórios não esteroidais, anestésicos locais e gerais durante procedimentos cirúrgicos, a maioria dos animais é tratada de forma padronizada, em grupos, e poucos recebem tratamento individual para dor. Dentre as estratégias antálgicas não farmacológicas, a principal delas é melhora do conforto animal – como, por exemplo: oferecer cama mais macia, diminuir a luz na gaiola, deixar água e comida em locais mais baixos na gaiola, ou mesmo, próximo ao animal com dor, para que este não tenha que levantar para obtê-lo; entre outras citadas, também diminuir a manipulação destes animais (FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014).

Atualmente a administração de analgésicos sistêmicos para animais de laboratório é maior do que há uma década. Porém, se comparado roedores a ‘grandes’ animais de laboratório (como: cães, cordeiros, suínos, entre outros), o uso de analgésicos ainda é menor. Atribui-se a este fato o desafio de se observar os sinais dolorosos e, portanto, ser capaz de avaliar e controlar a dor (COULTER; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009).

A escolha do analgésico apropriado requer cuidado por parte da equipe veterinária e deve estar de acordo com o tipo de procedimento, além de levar em conta as exigências do comitê de ética. Em casos de procedimentos invasivos a analgesia adequada é fundamental, usando-se de fármacos de longa duração, o que facilitarão o manejo e o controle da dor em animais de laboratório (NEGUS, 2013). O uso de analgésicos de curta duração, além de trabalhoso, toma mais tempo do profissional, pois este terá que administrar várias doses durante dia, especificamente em roedores por apresentarem rápido metabolismo. Assim, fármacos de longa

duração (8-12hrs) seriam os mais adequados para o resgate analgésico, porém são poucas as drogas que possuem esta característica e são utilizadas em animais de experimento (FOLEY, 2014). Como exemplo, Coulter e colaboradores (2011) afirmam que, apesar de ter crescido potencialmente a administração de analgésicos para coelhos em experimento submetidos a procedimentos dolorosos, há poucos artigos que especifiquem o agente analgésico sistêmico administrado.

Os principais grupos de analgésicos sistêmicos reportados são: os opióides – a buprenorfina o butorfanol, e o fentanil; e os anti-inflamatórios não esteroidais – carprofeno, flunixin meglumine, metamizol e paracetamol. Dentre os fármacos analgésicos mais utilizados atualmente, pode-se citar o meloxicam, a buprenorfina e o tramadol. Estudo realizado em ratos demonstraram que, dentre os três, o meloxicam promove benefícios pós-operativos superiores em relação ao peso corpóreo, consumo de alimento, fatores de hemodinâmica e ainda com relação ao ciclo circadiano (RÄTSEP et al., 2013).

Pesquisas demonstram que a buprenorfina é o analgésico mais comumente utilizado no meio laboratorial (CARBONE et al., 2012; JIRKOF et al., 2015; ROUGHAN; FLECKNELL, 2002) entre os anos de 2000 a 2006, e que o uso de anti-inflamatórios não esteroidais, como por exemplo, carprofeno, flunixin meglumine e paracetamol, cresceram de 11% para 53% no mesmo período. Em relação à anestesia geral, o uso de fenobarbital tem decrescido (de 33% para 16%), ao mesmo tempo em que a utilização de anestesia inalatória, dando ênfase ao isoflurano, teve crescimento acentuado (de 2% para 16%), juntamente ao uso de técnicas de anestesia dissociativa, como a combinação de cetamina e xilazina (de 15% para 31%), porém ainda quase não há relatos de anestesia multimodal em roedores em semelhante período (STOKES; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009). Esse aumento se deve possivelmente as maiores exigências por parte do comitê de ética de cada instituição. No Brasil após a criação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, em 2008, e a obrigatoriedade da criação de Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUAs, por toda instituição que trabalhe com ensino e pesquisa que envolvam animais; estes que respondem e seguem as normativas do CONCEA; e a formulação de diretrizes a serem seguidas pelas CEUAs tiveram influencia positiva na experimentação animal (MCTIC, 2016).



Apesar de ser um dever ético e moral evitar e tratar a dor e sofrimento animal, em animais de laboratório (INSTITUTE FOR LABORATORY ANIMAL RESEARCH, 2011), estes podem muitas vezes são negligenciados pelo parco conhecimento sobre como reconhecer e tratar a dor. No Brasil, pesquisas sobre o reconhecimento, controle e avaliação da dor em animais de laboratório deveriam ser mais abordadas, não havendo um estudo que se assimile a esta pesquisa demográfica sobre tal tema.

## **2 OBJETIVOS**

### 2.1 Objetivo Geral

Realizar estudo demográfico com intuito de demonstrar o cenário atual no tocante ao uso de analgésicos exercido por pesquisadores brasileiros em animais de laboratório.

#### 2.1.1 Objetivos específicos

- Identificar quais são os métodos utilizados para o reconhecimento da dor nas diferentes espécies e experimentos conduzidos.
- Conhecer as formas de tratamento usadas para o controle da dor.
- Determinar quais são os analgésicos mais utilizados na rotina da experimentação animal.
- Identificar se há treinamento do pesquisador para o trabalho com animais de laboratório, especialmente no tocante ao reconhecimento e tratamento da dor.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (COPEP) da Universidade Estadual de Maringá sob o protocolo CAAE: 58575816.0.0000.0104 em 07 de outubro de 2016.

O método utilizado foi de pesquisa descritiva, analítica e transversal, não controlada, realizada por meio de questionário, com a população formada por cientistas e médicos veterinários brasileiros que trabalhem com animais de laboratório em experimentos. Devido tratar-se de uma população desconhecida, foi considerado 139 respostas como amostragem mínima - o cálculo realizado para definir esta amostragem levou em consideração nível de confiança de 95%, erro amostral de 5% e proporção de 10% desta população (SANTOS, [s.d.]), ou período de disponibilidade do questionário de 12 meses, independente do número de respostas.

O primeiro passo do estudo foi elaboração de questionário com perguntas concisas para investigação detalhada sobre se o pesquisador faz uso de analgésicos em suas pesquisas, quais os fármacos utilizados, se há treinamento e utilização de métodos objetivos para avaliação da dor em animais de laboratório (Anexo 1).

O questionário foi composto por três partes:

Parte I - Demografia: coleta de dados pessoais e profissionais, linha de pesquisa, experimentos realizados e grau de invasividade da pesquisa;

Parte II – Avaliação da Dor: qual conhecimento sobre o assunto, qual método de avaliação era utilizado;

Parte III – Controle da Dor: quais os analgésicos de eleição, qual a frequência, via de administração e dose eleita, em quais espécies e procedimentos eram utilizados.

Foram inclusos como respondentes todos os pesquisadores que trabalhem com animais de laboratório em suas pesquisas, sendo ou não médicos veterinários, que trabalhem com animais de laboratório em experimentos. Para contatar tais

profissionais, foi realizado um levantamento *online* dos programas de pós-graduação das universidades brasileiras que trabalhem com experimentação animal, para então, abordar seus coordenadores e professores através de e-mail, e quando possível, por telefone, com intuito de apresentar o projeto, fazer o convite à participação do pesquisador, e esclarecer a importância da pesquisa.

O grau de invasividade de uma pesquisa é definido de acordo ao tipo de procedimento e quanto este induz dor nos animais. Segundo o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, há quatro diferentes graus de invasividade na pesquisa com experimentação animal (descrito no corpo do questionário – Anexo 1), variando de experimentos que causam nenhum ou pouco desconforto, até procedimentos que cursem com dor intensa.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi anexado ao início do questionário (Anexo 2), e como este foi desenvolvido através do Google Forms®, o participante só respondeu o questionário após ler a TCLE e concordar com os termos nela contidos, cumprindo assim com os preceitos éticos da Resolução 466/12 (PLENÁRIO DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, 2012).

O questionário, confidencial e utilizado unicamente para o estudo em questão, foi enviado por e-mail, e ainda disponibilizado *online* em páginas de rede social e de entidades de classe, para acessar o maior número possível de pesquisadores. Como critério de exclusão foram considerados questionários em branco ou com menos de 80% das perguntas respondidas, pesquisadores que não estejam desenvolvendo pesquisas no momento, ou que as pesquisas não sejam realizadas no Brasil.

A coleta de dados foi encerrada após tempo mínimo predefinido de um ano, indiferentemente da quantidade de amostras obtidas. Os dados obtidos estão apresentados de maneira descritiva.

## 4 RESULTADOS

Ao final dos 12 meses de coleta de dados, foram obtidas 104 respostas. Destas, 96 foram incluídas na base de dados, e oito foram excluídas dos resultados, duas por serem de pesquisadores que estavam no momento conduzindo pesquisa no exterior, quatro por não estarem no momento realizando pesquisa com experimentação animal, e dois por não trabalharem com experimentação diretamente. Assim, redefinindo o cálculo estatístico a partir da amostra obtida, tivemos nível de confiança de 89,70%, mantendo o erro amostral de 5%, e proporção de população em 10%.

Foram abordados diretamente (via e-mail) 2000 pesquisadores, das cinco regiões brasileiras. Foram contatadas 64 universidades, sendo 54 Universidades Públicas – 38 federais e 16 estaduais; e 10 Universidades Privadas. Destas, foram 44 Departamentos de Pós-Graduação/Pesquisa/Biotérios e 217 Programas de Pós-Graduação contatados. A maior parte das respostas obtidas foi da região sudeste, e o menor número da região norte, mas quanto à porcentagem de respondentes comparado ao número de pesquisadores contados, a maior porcentagem de respostas veio do nordeste, seguida da região sul (Tabela 01).

Tabela 01: Número de pesquisadores contatados por região, as respostas obtidas em cada região, a porcentagem destas ao questionário quanto a população de cientistas contatados e também quanto a região geopolítica do Brasil, no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.

<b>Região Geopolítica Brasileira</b>	<b>Nº de Pesquisadores Contatados</b>	<b>Nº de Respostas Obtidas</b>	<b>Porcentagem de respondentes</b>	<b>Porcentagem de respostas por região</b>
Região Centro-Oeste	138	10	7,24%	11%
Região Nordeste	85	10	11,76%	10%
Região Norte	277	6	2,16%	6%
Região Sudeste	1262	46	3,64%	48%
Região Sul	238	24	10,08%	25%
<b>Total</b>	<b>2000</b>	<b>96</b>	<b>-</b>	<b>100%</b>

Dentre os respondentes, 57% eram do gênero feminino (n=55) e 43% do gênero masculino (n=41), a principal formação profissional apresentada foi de medicina veterinária (46%), seguida por ciências biológicas (16%). A Tabela 02 demonstra na íntegra a formação profissional dos pesquisadores que participaram da pesquisa.

Tabela 02: Formação profissional dos pesquisadores brasileiros participantes, a porcentagem e o número absoluto de pesquisadores de cada área de atuação, no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.

<b>Formação Profissional</b>	<b>Nº de Pesquisadores</b>	<b>Porcentagem</b>
Biomedicina	6	6%
Ciências Biológicas	15	16%
Enfermagem	1	1%
Farmácia	9	10%
Farmácia e Bioquímica	2	2%
Farmacologia	2	2%
Fisioterapia	1	1%
Medicina	7	7%
Medicina Veterinária	44	46%
Nutrição	2	2%
Odontologia	3	3%
Psicologia	1	1%
Zootecnia	3	3%
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>100%</b>

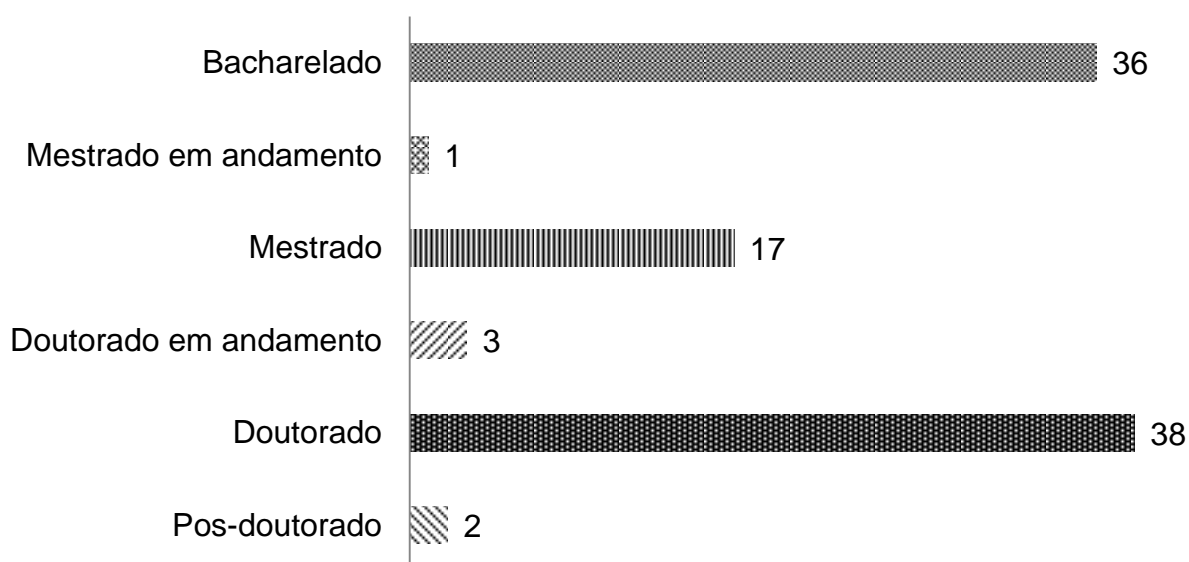
Quando questionados se possuíam algum tipo de treinamento para trabalhar com animais de laboratório, 76% responderam “sim”, e 24% relataram não possuir qualquer treinamento para trabalhar com animais de laboratório. Dentre os treinamentos realizados foram citados: “curso de manejo de animais de laboratório” (24%); “curso teórico-prático de manejo e cuidados em animais de laboratório” (31%); “aulas e práticas na pós-graduação” (27%); “treinamento em bioterismo” (9%); “curso teórico de manipulação em animais de laboratório” (5%); “seminários e palestras” (4%).

Cerca de 77% das instituições de ensino e pesquisa não oferecem treinamento para avaliar a dor em animais de laboratório, somente 23% dos pesquisadores afirmaram ter recebido treinamento por parte da instituição que

trabalham. Porém, 62% dos pesquisadores afirma terem algum conhecimento específico sobre o assunto, ao passo que 38% não possuem.

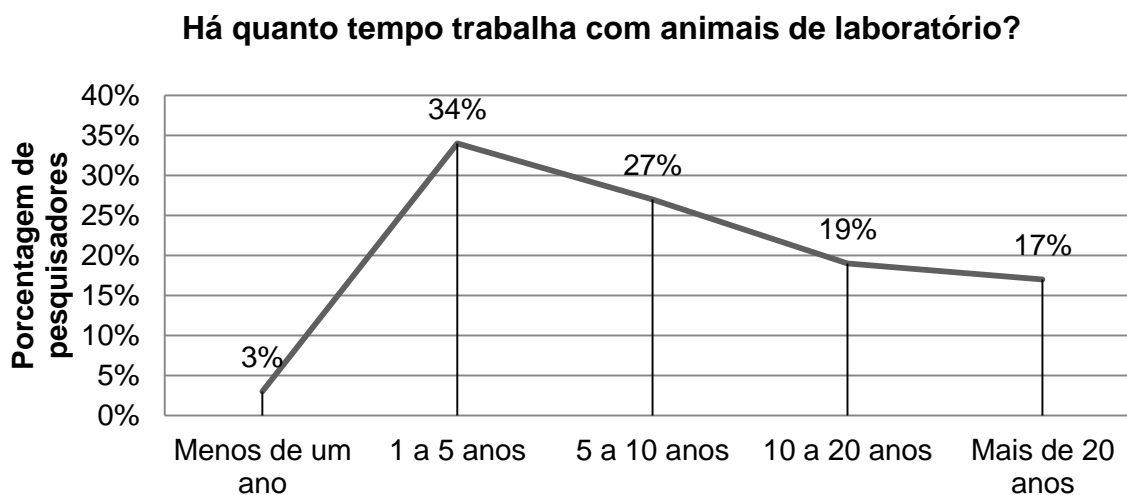
Quanto questionados sobre a titulação que possuíam, em sua maioria os pesquisadores eram doutores, seguidos de profissionais com bacharelado, o que esta retratado na Figura 01.

Figura 01: Quantidade de pesquisadores com titulação de bacharelado; mestrado em andamento; mestrado; doutorado em andamento; doutorado; e pós-doutorado; no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.



Quanto ao quesito idade, a média de idade dos pesquisadores foi de  $\pm 37,9$  anos, o mais jovem respondente tinha 23 e o mais velho 67 anos. Retratando o cenário de tempo de trabalho com animais de laboratório, a média de tempo de trabalho com experimentação animal foi de  $\pm 11,8$  anos. A Figura 02 demonstra uma linha ativa entre a porcentagem de pesquisadores em relação ao tempo de trabalho que vem conduzindo experimentação com animais de laboratório.

Figura 02: Tempo em que os pesquisadores trabalham com animais de laboratório. No eixo das abscissas apresenta as categorias relacionadas ao tempo (menos de um ano; de 1 a 5 anos; de 5 a 10 anos; de 10 a 20 anos; e mais de 20 anos) e das ordenadas a porcentagem de pesquisadores.



Dentre os animais utilizados na experimentação, ratos (32,63%) e camundongos (29,47%) são os principais, seguidos de coelhos (8,42%), suínos (4,74%) e outras espécies, retratado na Tabela 03.

Tabela 03: Principais espécies utilizadas em experimentação animal por pesquisadores brasileiros no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.

<b>Espécies</b>	<b>Porcentagem</b>
Aves	2,11%
Camundongos	29,47%
Caninos	3,68%
Caprinos	3,16%
Cobaias	2,11%
Coelhos	8,42%
Crustáceos, mexilhões e siris	1,05%
Felinos	1,58%
Gerbil	0,53%
Hamster	4,20%
Ovinos	3,16%
Peixes	2,63%
Primatas	0,53%
Ratos	32,63%
Suínos	4,74%

Entre as linhas de pesquisa seguidas pelos participantes do estudo, a principal é a anestesiologia (19%), seguida da farmacologia e imunologia (ambas com 11%). A Tabela 04 mostra detalhadamente as linhas de pesquisa dos participantes do estudo.

Tabela 04: Linhas de pesquisa - quantidade e porcentagem; que são seguidas pelos pesquisadores, no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.

<b>Linhas de pesquisa</b>	<b>Nº de Pesquisadores</b>	<b>Porcentagem</b>
Anestesiologia	18	18,8%
Bem Estar Animal	3	3,1%
Biomateriais	1	1,0%
Bioquímica	2	2,1%
Cardiologia	1	1,0%
Cirurgia	4	4,2%
Comportamento	5	5,2%
Doenças Infecciosas	6	6,3%
Farmacologia	10	10,4%
Fisiopatologia	1	1,0%
Genética	1	1,0%
Endocrinologia	7	7,3%
Fisiologia	3	3,1%
Imunologia	10	10,4%
Medicina Regenerativa	2	2,1%
Nefrologia	2	2,1%
Neurologia	5	5,2%
Nutrição	6	6,3%
Oncologia	4	4,2%
Reprodução	3	3,1%
Toxicologia	2	2,1%
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>100%</b>

Dentre os treinamentos e cursos oferecidos pelas instituições de ensino, os pesquisadores citaram: “aulas práticas e teóricas”; “avaliação para identificação de animais doentes”; “avaliação de dor em diferentes espécies”; “capacitações sobre animais de laboratório”; “cursos sobre bem-estar animal e reconhecimento da dor”; “curso sobre manipulação na experimentação animal”; “cursos e orientação do médico veterinário responsável pelo setor”; “cursos e treinamentos ministrados pelo responsável técnico do biotério”; “disciplina de ciência e manejo de animais experimentais”; “individual com acompanhamento diário dos animais por veterinário”;

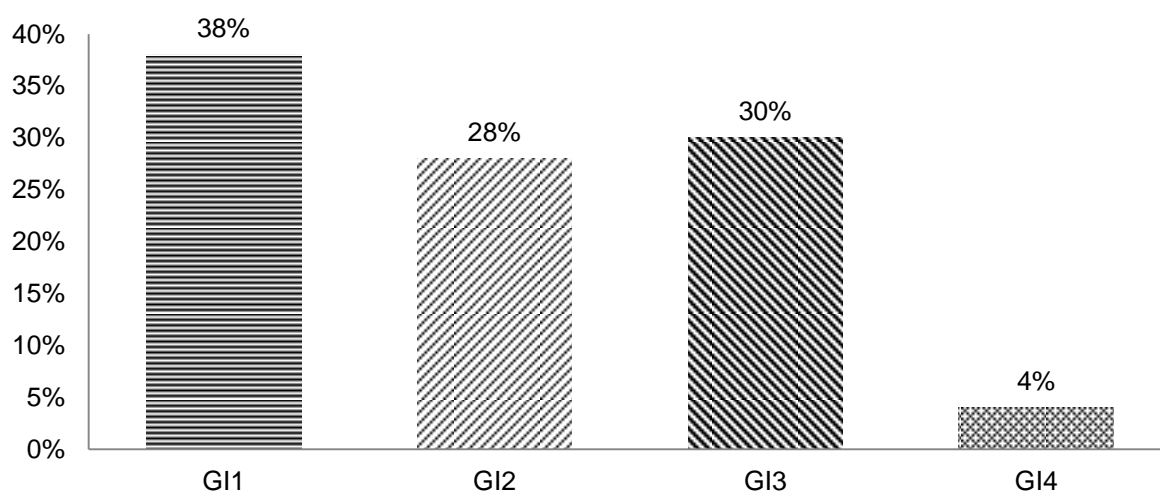


“curso de treinamento para boas práticas no manejo de animais”; “treinamento em análise de dor através de escalas”; “treinamento em laboratório pelos orientadores”.

Os pesquisadores que afirmaram possuírem conhecimento específico obtiveram através de disciplinas cursadas na graduação e pós-graduação; pesquisa e estudo autodidata; cursos teóricos e práticos sobre animais de laboratório; curso de atualização em animais de laboratório; congresso de cirurgia experimental; curso de anestesiologia veterinária; curso de bioterismo e de técnicas cirúrgicas em animais de laboratório; palestras sobre o tema; discussão de casos na Comissão de Ética no Uso de Animais; cursos online sobre o tema; treinamento no exterior (EUA) onde era obrigatório treinamento antes de qualquer manipulação dos animais; realização de projetos sobre utilização de anestésicos em aquicultura; simpósios e conferências na área.

Quando questionados com relação ao grau de invasividade da(s) pesquisa(s) que estavam conduzindo (Fig. 03), 38% afirmaram ser Grau de Invasividade 01, e somente 4% relataram que conduziam pesquisas com Grau de Invasividade 04. Porém reavaliando as respostas individualmente, cruzando os dados entre o grau de invasividade relatado pelo pesquisador, e quais as pesquisas conduzia, constatou-se que 15% das respostas estavam equivocadas.

Figura 03: Porcentagem dos experimentos realizados em animais de laboratório conduzidos por pesquisadores brasileiros, de acordo com o grau de invasividade, no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.



De todos os participantes deste estudo, 73% afirmaram que suas pesquisas cursavam com dor, e 27% relataram que seus experimentos não cursavam com dor. Quando questionados quais experimentos, na opinião dos pesquisadores, cursavam com dor, estes citaram: administração intraperitoneal, intracerebral fármacos; biopsias, cateterismo de artérias e veias, cirurgias – enucleação, estereotáxicas, traqueostomia, ovário-histerectomia, laparoscopia, laparotomia, acesso torácico, vasectomia, nefrectomia, osteossínteses, ovariectomia, facectomias, enxertos lamelares de córnea; contenção; eutanásia – dentre as técnicas, sacrifício com desarticulação atlanto-occipital; implantação de próteses e implantes; implante de cateter em veia jugular para coleta de sangue seriada; indução de artrite, resposta inflamatória, peritonite marginal e apical, tumores, sepse, infarto agudo do miocárdio e hipertensão; inoculação de agentes infecciosos; métodos invasivos de monitoração; modelos experimentais de dor neuropática e inflamatória; punção arterial, venosa e de medula óssea; termoalgimetria.

Dentre os experimentos que não cursavam com dor, os pesquisadores citaram: administração de fármacos por via oral, subcutâneo e intraperitoneal; avaliação de sedação; biometria; cateterização arterial e venosa; cirurgia de implante de eletros intracerebrais sob anestesia; coleta de sangue por veia da cauda, e da carótida sob anestesia; contenção física; eutanásia com CO<sub>2</sub>; exposição a agentes químicos via dieta e água de beber; gavagem; indução de infecção intranasal; indução de obesidade e dislipidemia; pesagem; privação de água para análise de comportamento, alimentação com rações formuladas de variados níveis de proteínas; registro de atividade locomotora; rotinas de manejo alimentar; testes comportamentais; vacinação (inoculação ocular, nasal ou oral).

Dentre os experimentos invasivos realizados pelos pesquisadores, pode-se citar: administração de drogas intraperitoneal, intracerebral e intravaginal, a procedimentos complexos como cirurgias de implante de eletrodos, estereotáxicas, osteossíntese utilizando enxerto 3D, videocirurgia; indução de sepse, artrite, tumores, resposta inflamatória, dor aguda e crônica, isquemia renal; modelo de edema, dor inflamatória, hemorragia controlada; monitoração hemodinâmica; obstrução da carótida; procedimentos cirúrgicos para extração de tecido, extração dental e de implante de enxerto ósseo; remoção do coração para obtenção de

células isoladas; termoalgiometria; vagotomia, simpatectomia, colocação de cânulas no cérebro e em vasos.

Dentre os experimentos conduzidos em animais nos laboratório em que os pesquisadores trabalhavam, pode-se citar: os testes farmacológicos (35%) foram os mais realizados nos laboratórios em quais os pesquisadores trabalhavam, seguidos de experimentos sobre dor (13%), trauma (7%), células tumorais (6%), nenhum participante relatou conduzir testes cosméticos em animais. Como 39% dos respondentes escolheram a opção outros (quanto a experimentos realizados no laboratório em que trabalham), a Tabela 05 demonstra quais são estes experimentos.

Tabela 05: Outros experimentos em animais de laboratório realizados nos laboratórios brasileiros; a quantidade e porcentagem destes estão também representadas.

<b>Tipo de experimento</b>	<b>Nº de Experimentos</b>
Agentes infecciosos	1
Antioxidantes dietéticos	1
Avaliação anatomopatológica	1
Avaliação clínica	1
Bem-estar animal	1
Células-tronco	1
Cirurgias	4
Comportamento	5
Diagnóstico de botulismo	1
Eletrocardiografia e eletrofisiologia celular	2
Estresse oxidativo e perfusão hepática	1
Exercício físico	1
Exposição a agentes químicos	3
Febre	1
Fisiologia da alimentação	1
Hemodinâmica	2
Implantes	1
Infecção	1
Isquemia renal	1
Fisiologia e patologia cardíaca	1
Nutracêuticos e obesidade	1
Nutrição	4
Processos neurodegenerativos	1
Reprodução de machos	1
Anastomose venosa e arterial	1
Teste de biocompatibilidade	1

Teste de biomateriais	1
Testes de vacinais	1
Testes neurofisiológicos	1
Testes toxicológicos	1
Virologia geral	1
<b>Total</b>	<b>45</b>

Quando questionados se usavam métodos como escalas para avaliar a dor, 40% dos pesquisadores responderam “sim”, e 60% “não”. Dentre os que utilizam escalas de dor, 16% utilizam mais de uma escala, e 84% se baseiam em uma única forma de avaliação. Observou-se que 29% dos participantes utilizam a escala de analogia numérica, 27% escala de analógica facial, e 44% outras escalas. A Tabela 06 descreve a porcentagem de utilização de cada uma destas escalas a para quais espécies foram utilizadas.

Tabela 06: Escalas de avaliação de dor, com porcentagem de respostas, e espécie para qual são utilizadas, relatadas por pesquisadores brasileiros durante o período de outubro de 2016 a outubro de 2017.

<b>Escala de Avaliação de Dor</b>	<b>Espécies</b>	<b>Porcentagem</b>
Escala Analógica Facial	Camundongos, cobaia, coelhos, hamster, ratos e suínos	34%
Escala Analógica Numérica	Camundongos, coelhos, ratos e suínos	37%
Escala Analógica Visual	Camundongos, cães e suínos	8%
Escala Composta de Glasgow	Coelhos, ratos, suínos e ovinos	6%
Escala Curta de Glasgow	Camundongos, coelhos e ratos	3%
Escala de Helsinki	Coelhos, ratos, suínos e ovinos	3%
Escala de Melbourne	Camundongos, coelhos, ratos, suínos e ovinos	3%
Escala de Suton	Coelhos, ratos, suínos e ovinos	3%
Escala Descritiva	Camundongos e ratos	3%

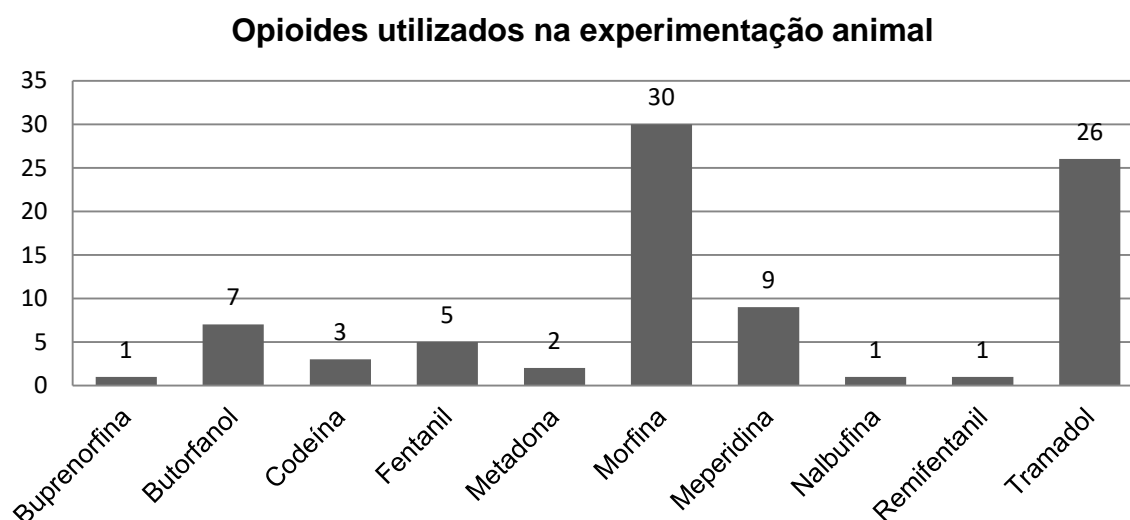
Uma das questões sobre avaliação da dor perguntava se esta interferia no protocolo analgésico escolhido, 53% dos pesquisadores responderam “não”, e 47% quem “sim”: a avaliação da dor interferia no protocolo de tratamento escolhido. Quanto aos protocolos analgésicos utilizados 39% dos pesquisadores afirmaram não utilizarem qualquer protocolo. Dentre os pesquisadores que utilizam protocolos analgésicos 29% relata serem protocolos grupais, 24% individuais, e 8% utiliza de

ambos. Dentre as justificativas utilizadas pelos pesquisadores para não utilizar a protocolos analgésicos, os participantes relataram: a) “dor faz parte do experimento para gerar estresse”; b) “analgésicos podem interferir no andamento do modelo experimental utilizado, e nos resultados obtidos”; c) “experimento não envolve nenhum procedimento que cause dor”; d) “testes realizados com animal inconsciente”; e) “baixo grau de invasividade”; e) “realiza-se eutanásia”.

Quando questionados se utilizavam fármacos analgésicos em suas pesquisas, 65% dos participantes afirmaram que sim, e 35% respondeu não utilizar. As justificativas dadas para não se utilizar de fármacos analgésicos foram variadas, desde: “baixo grau de invasividade” (10%); “experimento não causar dor” (37%); “porque interferia nos resultados obtidos” (27%); “devido ser um experimento terminal ou o animal estar sob anestesia” (13%); “porque não havia um protocolo pós-cirúrgico” (3%); e “porque não fazia parte do protocolo experimental” (10%).

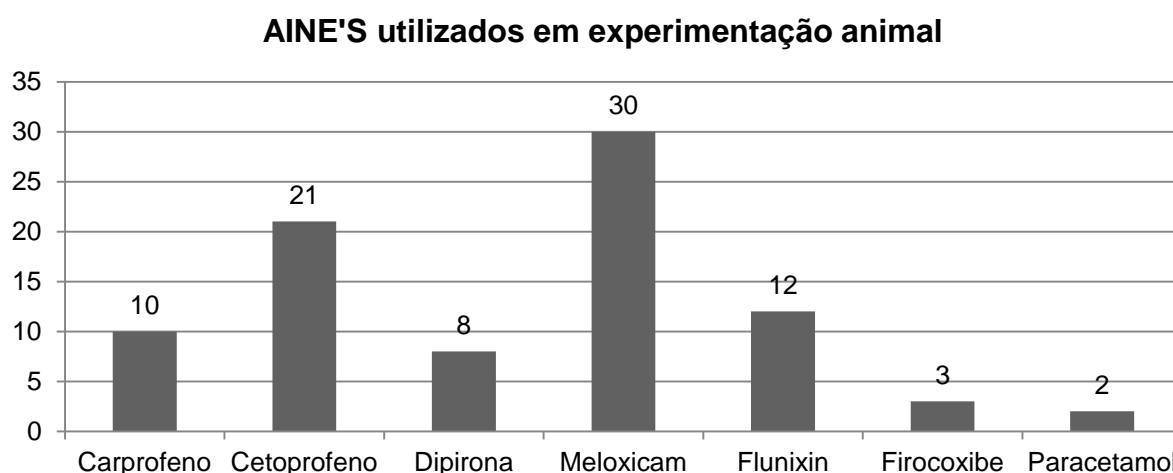
Quando questionados sobre quais opioides eram utilizados durante a experimentação (Fig. 04), os cinco mais citados foram: morfina - 30 pesquisadores afirmaram usá-la em seus protocolos analgésicos; tramadol – 26 pesquisadores relataram utilizar; seguida de meperidina; butorfanol e fentanil.

Figura 04: Opioides utilizados nos protocolos analgésicos pelos pesquisadores brasileiros em experimentação animal, no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.



Dentre os anti-inflamatórios não esteroidais (AINE'S) utilizados pelos pesquisadores (Fig. 05), os cinco mais citados foram: meloxicam – 30 pesquisadores afirmaram utilizá-lo; cetoprofeno – 21 pesquisadores utilizam em seus experimentos; seguido de flunixin, carprofeno e dipirona.

Figura 05: AINE'S utilizados em protocolos analgésicos na experimentação animal no Brasil, no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.

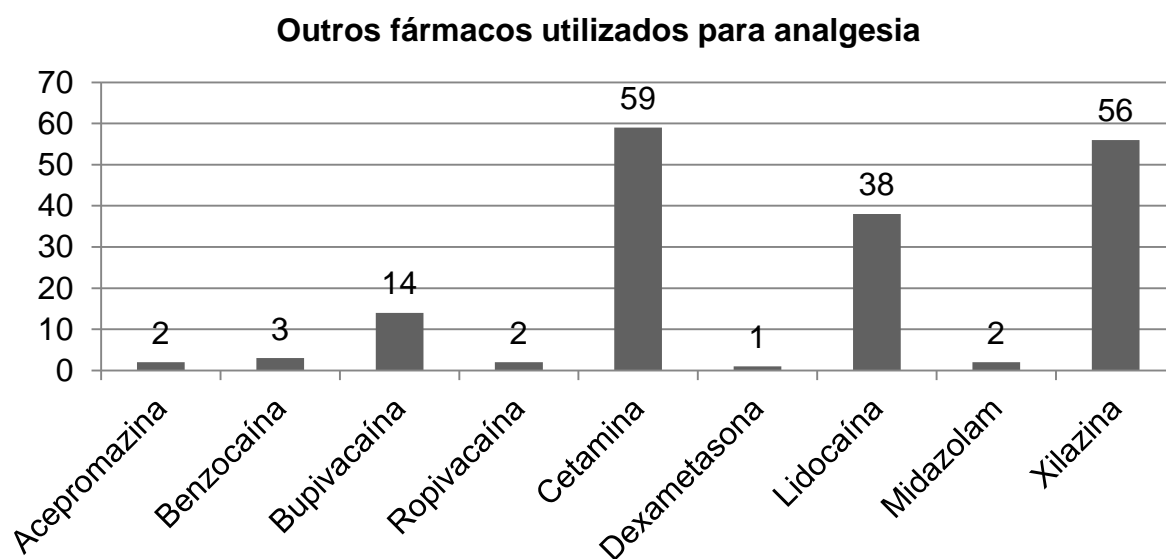


Dentre os outros fármacos utilizados em protocolos analgésicos (Fig. 06) pelos respondentes, os três mais usados são: cetamina – 60% dos pesquisadores; xilazina – 57% usam em seus protocolos analgésicos; e lidocaína – 39% afirmam utilizar este fármaco.

Em relação a métodos não farmacológicos para controlar a dor, apenas 27% dos respondentes afirmou utilizar destes. Dentre as técnicas não farmacológicas atualmente utilizadas pelos pesquisadores brasileiros, estão: “cuidados com a local onde os espécimes vivem, oferecendo cama macia, pouca luz, comida e água baixa de fácil acesso e *ad libitum*”; “dieta líquida”; “enriquecimento e conforto ambiental”; “aquecimento e controle de temperatura e ar”; “ambiente mais tranquilo”; “mais serragem na gaiola”; “aumento da oxigenação da água”; “cobertor na gaiola de recuperação”; “adaptação ao avaliador”; “acupuntura”; “animais com alguma alteração nos sinais motores, acesso à comida e água facilitados e ambiente enriquecido com tubos de papelão e papel higiênico autoclaváveis”; “ração

umedecida e pedaços de banana após a cirurgia dentro da gaiola, para evitar que o animal bata o capacete na grade e reduzir o atrito do ato de roer para evitar dor”.

Figura 06: Outros fármacos que são utilizados em protocolos analgésicos na experimentação animal por pesquisadores brasileiros no período de outubro de 2016 a outubro de 2017.



Quando questionados quanto à importância da analgesia na experimentação animal, 100% dos pesquisadores afirmaram que a analgesia é sim importante. Dos pesquisadores respondentes 56% consideram o tratamento da dor importante por questões de bem estar animal, e também para evitar a dor e o sofrimento destes; outras 13% pessoas relataram que é uma questão ética tratar a dor; 26% pesquisadores realçaram que a dor e os fatores de estresse que esta origina afetam diretamente os resultados obtidos, e por isso tratar a dor na experimentação animal é fundamental; 5% pesquisadores afirmaram que a importância é relativa, pois depende da pesquisa que esta sendo conduzida e que o uso de fármacos analgésicos poderia interferir nos resultados.

Segue alguns dos relatos sobre qual importância da analgesia nas diferentes pesquisas com experimentação animal:

“A prática da analgesia é indispensável em procedimentos que infringem dor por

questões humanitárias e de bem-estar animal, visto que são seres dotados de sensibilidade e capazes de sofrer.”

“Além das razões éticas, as alterações que a dor e outros fatores de distresse podem causar nos animais podem interferir e até inviabilizar os resultados de diversos modelos experimentais.”

“Cumprir as normas éticas para a experimentação animal protegendo os animais de tratamentos agressivos e sem dignidade.”

“Depende da finalidade da sua pesquisa. Isso não pode ser inferido como uma regra geral. Há de se analisar a pertinência de cada caso.”

“Relativa importância: sempre que os efeitos dos fármacos utilizados para analgesia resultarem em alteração da resposta teste, nesse caso, outras manobras devem ser adotadas.”

## 5 DISCUSSÃO

Este é o segundo maior estudo demográfico realizado no mundo abordando a temática sobre analgesia, animais de laboratório e dor, onde foram abordadas 64 Universidades, com 104 respostas obtidas, sendo 96 inclusas nos resultados obtidos. Há relatado em literatura somente outros dois estudos com metodologia e objetivos similares a esta pesquisa (FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014; HAWKINS, 2002). O primeiro é um estudo realizado na Inglaterra entre junho de 1999 e abril 2001 (HAWKINS, 2002), onde um total de 28 Instituições foi visitado, e 137 pessoas foram entrevistadas, incluindo cientistas, veterinários e técnicos em laboratório, o outro, um estudo conduzido no Canadá em 2014, que obteve pequeno êxito, com 21 participantes – veterinários, cientistas, e cientistas veterinários (FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014).

Apesar do grande número de pesquisadores abordados diretamente (n=2000) por e-mail e/ou telefone, e também a disponibilização do questionário on-line, obtivemos uma baixa adesão ao estudo – somente 5,3% dos pesquisadores contatados responderam o questionário base da pesquisa; acreditamos que tal fato



tenha ocorrido possivelmente por receio dos pesquisadores em responder o questionário e comprometerem suas pesquisas, embora este deixasse claro no Termo de Esclarecimento Livre e Consentido que as respostas fossem confidenciais, e que os resultados seriam apresentados de forma agrupada.

O exponencial crescimento e desenvolvimento da produção científica no Brasil nas últimas décadas tem evidenciado a importância de se tratar de assuntos que envolvam a ética, e o bem-estar dos animais utilizados em experimentação. Em estudo retrospectivo dos anos de 1992 a 2009, foi evidenciado que a produção científica no Brasil esta concentrada entre as regiões Sul e Sudeste, sendo o estado de São Paulo o principal destaque com 31% do total nacional no triênio de 2007-2009 (SIDONE; HADDAD; MENA-CHALCO, 2016), dados que corroboram os resultados obtidos neste estudo, onde a maioria dos participantes era da região Sudeste – grande parte do estado de São Paulo; seguidos da região Sul. Porém, o resultado diferiu quando analisado a porcentagem de respondentes de acordo com o número de pesquisadores contatados, onde a região Nordeste teve a maior adesão, seguida da região Sul.

Mundialmente as mulheres estão lutando para alcançar seu espaço, no meio científico isto não é diferente, em recente pesquisa conduzida por Carli e colaboradores (2016) demonstra que há ainda discriminação e preconceito contra cientistas mulheres, pois são vistas de forma deturpada com falta de qualidades necessárias para se tornarem cientistas de sucesso. Pesquisas realizadas no Brasil demonstram que apesar do crescimento de pesquisadores do sexo feminino no meio científico, ainda estamos longe de igualdade quando tratamos dos mais altos cargos no meio acadêmico/científico (LETA, 2003; SOARES, 2001). Nos resultados obtidos, 57% dos pesquisadores eram mulheres, o que evidencia o crescimento delas na pesquisa científica, superando neste estudo, a população de cientistas do sexo masculino (43%). Contudo, deve-se considerar que talvez a adesão de cientistas do sexo feminino à pesquisa possa ter sido maior. Estudos demonstraram que mulheres tendem a atribuir maiores escores de dor, e talvez isso demonstre também uma maior preocupação com o bem estar dos animais em pesquisa (CAMPBELL; EDWARDS; FILLINGIM, 2005; RACINE MÉLANIE et al., 2012; WISE et al., 2002)

Como o estudo demográfico visou delinear o cenário nacional com relação ao controle, avaliação e reconhecimento da dor em experimentação animal, a formação profissional dos participantes foi diversa, desde participantes biomédicos, até zootecnistas. Os formados em medicina veterinária representaram o maior número (n=44), como na pesquisa conduzida por Fenwick e colaboradores (2014). A maioria dos pesquisadores eram doutores (n=38), seguidos de bacharéis, e mestrados, o que delinea o cenário científico dividido entre pesquisadores jovens, e aqueles que trabalham com experimentação há mais tempo. Apesar da média de idade dos participantes ser  $\pm 37.89$  anos, e a média de tempo de trabalho com experimentação animal foi  $\pm 11.82$  anos. A população relativamente jovem quanto a tempo de trabalho com animais de laboratório - um terço desta população tinha de 1 a 5 anos trabalhando com experimentação; seguida de pesquisadores com 5 a 10 anos de experiência; possivelmente ocorreu devido à saída recente dos pesquisadores da graduação e sua entrada para pós-graduação.

A pesquisa demonstrou que 34% dos animais utilizados em modelos de experimentação são ratos, seguidos de camundongos (31%) e coelhos (9%), o que condiz com a literatura, sendo estes os principais espécimes em modelos experimentais. (FAGUNDES; TAHA, 2004). Como 18% dos respondentes relatou utilizar outros espécimes nas suas pesquisas, descobriu-se que em sua maioria eram (em ordem decrescente) suínos, cães, ovinos e peixes.

Quanto à linha de pesquisa, experimentos farmacológicos representam a maior fatia (35%) dos estudos realizados por cientistas brasileiros, seguidos de estudos sobre dor (13%). Os resultados sugerem que experimentos cosméticos não são mais realizados no país – nenhuma resposta obtida; o que vai de encontro à ementa de 2014 que altera a Lei nº 11.794/08 – que estabelece procedimentos para o uso científico de animais – para vedar a utilização de animais de qualquer espécie em atividades de ensino, pesquisa e testes laboratoriais que visem à produção e ao desenvolvimento de produtos cosméticos e de higiene pessoal e perfumes (“Projeto de Lei da Câmara nº 70, de 2014 - Pesquisas - Senado Federal”, [s.d.]).

Apesar de 76% dos pesquisadores afirmar possuírem algum tipo de treinamento para trabalhar com animais de laboratório, 77% das instituições de ensino e pesquisa não oferecem treinamento para avaliar a dor em animais de

laboratório, mas 62% dos participantes declararam ter conhecimento específico sobre o assunto, obtidos através de cursos, palestras, congressos, treinamentos em universidades no exterior, e estudo autodidata. Cerca de 24% dos pesquisadores abordados afirmam não possuírem treinamento para trabalhar com animais de laboratório, número que realça o despreparo que muitos enfrentam na pesquisa científica envolvendo animais de laboratório. Conhecimento e treinamento para trabalhar com animais de laboratório são essenciais para boas práticas de bem estar animal, e ainda, conhecimento específico sobre reconhecimento e avaliação da dor é fundamental para a melhor abordagem, cuidados e resultados obtidos com os animais de laboratório (GRUNE; HENSEL; SCHÖNFELDER, 2014; MEDINA, 2011). Na Inglaterra desde 1994 é obrigatório que toda instituição que conduza pesquisa com experimentação animal oferecer cursos de treinamento para trabalhar com animais de laboratório, seja este oferecido pela própria instituição ou empresas privadas (HAWKINS, 2002). Contudo, no Brasil ainda não existe normativas que obriguem às instituições que trabalhem com experimentação a oferecer treinamento aos pesquisadores, as pós-graduações deveriam oferecer disciplinas obrigatórias que abordassem o tema, com intuito de melhorar o bem estar de animais de laboratório.

Apesar de 73% dos pesquisadores declararem que os experimentos cursavam com dor, apenas 65% destes afirmaram utilizar fármacos analgésicos em suas pesquisas. Além disso, 39% dos participantes declaram não utilizar protocolos analgésicos em seus experimentos, o que demonstra respostas conflitantes. Muitos pesquisadores não utilizam analgésicos porque acreditam que estes interfiram nos resultados de suas pesquisas, se este dado é ou não real vai além do objetivo deste estudo. No entanto, cabe à ciência demonstrar o quanto a dor por si só, ou seu tratamento podem interferir em resultados reais de pesquisa. A base das normas de bem estar animal no mundo todo é minimizar a dor e o estresse em animais usados na pesquisa, e este é ponto central da ética em experimentação animal (FOLEY, 2014). Segundo Carbone e Austin (2016) as duas primeiras questões que cientistas consideram para planejar anestesia e analgesia, são: 1) que anestésico usar, e 2) se usa analgésicos. O “qual analgésico?” só é uma questão quando o “se uso” estiver resolvido. Infelizmente a perspectiva que os analgésicos podem interferir nos

resultados obtidos ainda é fator de influencia na falta de tratamento para dor em animais de laboratório. Pesquisas recentes demonstram que ambos, dor e drogas analgésicas podem distorcer os dados experimentais, introduzindo uma variabilidade não desejada ou fontes de confusão. A variabilidade criada pelo uso de analgésicos pode de certa forma ser prevista, pois seus efeitos colaterais são na maioria das vezes bem conhecidos, mas quando se trata da dor, apesar de sua fisiopatologia estar descrita, ainda há lacunas não conhecidas dos seus possíveis efeitos. Tais concernimentos – que a dor e os analgésicos podem afetar os resultados esperados e o bem estar dos animais; deveria conduzir os cientistas a utilizarem de práticas de controle da dor mais comumente em suas pesquisas (CARBONE, 2011; CARBONE; AUSTIN, 2016; COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009).

A avaliação da dor é fundamental para determinar a necessidade de tratamento analgésico e da efetividade da sua aplicação (DELLA ROCCA et al., 2017; GLEERUP et al., 2015), mas a falta de conhecimento sobre como reconhecer a dor em cada espécie culmina muitas vezes em tratamento antálgico inadequado (LORENA et al., 2013; RAEKALLIO et al., 2003). Neste estudo, a maioria dos pesquisadores referiram que não utilizam ferramentas, como escalas, para avaliar a dor. Além disso, foi possível observar que os pesquisadores não utilizam escalas espécie específicas, ou utilizam escalas unidimensionais (79%). Utilizar escalas multidimensionais ou de avaliação composta, que levam em conta as qualidades sensoriais e afetivas da dor (MURRELL et al., 2008), aumenta a acurácia da avaliação de dor quando comparado as unidimensionais, e ainda quando estas são espécie específicas os resultados se tornam mais fidedignos, pois a escala foi desenvolvida para a espécie (GAYNOR; MUIR, 2014; MORTON; GRIFFITHS, 1985; STASIAK; MAUL; FRENCH, 2003), o que foi pouco citado pelos pesquisadores.

Métodos não farmacológicos para tratar a dor são utilizados por pouco menos de um terço dos pesquisadores. As técnicas não farmacológicas atualmente utilizadas pelos pesquisadores brasileiros correspondem as retratadas em literatura, e são muito importantes para o bem estar dos animais em experimentação (FENWICK; DUFFUS; GRIFFIN, 2014). Contudo, poder-se perceber que a adesão dos pesquisadores a este tipo de procedimento ainda é muito aquém do esperado,

já que estas técnicas muitas vezes não geram impacto econômico na pesquisa e como não utilizam de fármacos, não incorrem no risco de interferir nos resultados da pesquisa.

Quando questionados com relação ao grau de invasividade da pesquisa que estavam conduzindo, 38% dos pesquisadores afirmaram ser Grau de Invasividade 01, e somente 4% relataram que conduziam pesquisas com Grau de Invasividade 04. Porém, cruzando as informações entre o Grau de Invasividade da pesquisa, o tipo de experimento conduzido e a declaração dos pesquisadores se estes causavam ou não dor, 15% das repostas foram equivocadas, o que demonstra que ainda há falta de treinamento e conhecimento específico sobre o assunto, quando, por exemplo: um dos pesquisadores declarou conduzir pesquisa de GI3, experimento com procedimentos cirúrgicos para retirada de tecidos, e declarar que não causava dor ao animal, onde por definição o GI3 representa experimentos que causam dor, estresse e desconforto, de intensidade intermediária; outro relatou que a pesquisa conduzida era GI2, porém os experimentos eram de cirurgia de dorso e calota craniana para implantação de biomateriais, e declarou que não cursavam com dor, e de acordo ao CONCEA o GI2, similar a categoria C de invasividade do CCAC, são procedimentos cirúrgicos menores, como por exemplo, biopsias, e causam desconforto, estresse ou dor de leve intensidade, o que não condiz ao tipo e experimento conduzido neste caso; entre outros casos similares, que evidenciam a falta de preparo de alguns cientistas em relação à dor – avaliação e controle (BRITO; SOARES; BOTELHO, 2016; CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 1991; CONCEA, [s.d.]).

Embora os pesquisadores reconheçam que o uso da analgesia é importante, muitos (39%) afirmam não utilizarem protocolo analgésico em suas pesquisas, e 53% dos pesquisadores acreditam que a avaliação da dor não influencia no analgésico escolhido. Se cruzarmos estes dados com os pesquisadores que não utilizam escalas de avaliação de dor (60%) fica evidenciada a possibilidade das pesquisas serem conduzidas com protocolo analgésico fixo, ou muitas vezes sem tratamento analgésico após a avaliação de dor. Dentre os pesquisadores que utilizam protocolos analgésicos, a maioria utiliza protocolos grupais, o que pode resultar em animais que recebam analgésicos desnecessariamente, enquanto outros

não recebem analgesia adequada, tendo em vista que a dor é uma experiência individual e a resposta de diferentes indivíduos frente a um mesmo estímulo pode diferir (FOLEY, 2014; GAYNOR; MUIR, 2014; STOKES; FLECKNELL; RICHARDSON, 2009). Estudo utilizando protocolo analgésico com buprenorfina oferecida na água dos animais demonstrou ser eficaz em tratar a dor de leve a moderada em camundongos, mas é preciso monitorar de perto os animais após a intervenção dolorosa, pois se a dor é observada em algum dos indivíduos do experimento deve-se realizar resgate analgésico, além do protocolo que está sendo conduzido (SAUER et al., 2016).

Com relação aos fármacos analgésicos utilizados observa-se um maior uso de opioides agonistas puros como a morfina, diferindo dos resultados obtidos no mesmo país quando se refere a cães e gatos. Nestas espécies o opioide mais utilizado foi o tramadol, já em grandes animais os opióides mais utilizados em ordem decrescente são: butorfanol, tramadol e então morfina (LORENA et al., 2014, 2013). Em modelos experimentais com coelhos, a principal droga analgésica utilizada é a buprenorfina (70%), seguida de butorfanol e fentanil (COULTER et al., 2011), contudo no Brasil a buprenorfina não está disponível (LORENA et al., 2014). Opiodes permanecem como as drogas mais eficazes para o tratamento da dor moderada a severa (GUNELI et al., 2007), são potentes analgésicos, que usados rotineiramente no tratamento de roedores de laboratório (JIRKOF, 2017), mas possuem seus efeitos adversos, como sedação, constipação e depressão respiratória, assim, muitas vezes são evitados pelos pesquisadores (GUNELI et al., 2007; RIVAT; BALLANTYNE, 2016).

O controle da dor em animais de laboratório é geralmente alcançado através do uso de opioides e anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) (REDDYJARUGU et al., 2015). Apenas 16% dos pesquisadores utilizam AINES, e destes o mais utilizado, assim como em cães e gatos (LORENA et al., 2014), foi o meloxicam. Os anti-inflamatórios não esteroidais são bastante importantes em tratar a dor aguda pós-operatória, em estudo sobre roedores submetidos à laparotomia exploratória os AINES foram eficazes no controle da dor destes espécimes (CANNON et al., 2011; REDDYJARUGU et al., 2015). O uso de outros fármacos com potencial analgésico como a xilazina e cetamina, ou mesmo de anestésicos locais, isoladamente não

podem justificar a ausência de outros fármacos essenciais tais como os AINES ou opioides, tendo em vista que o controle da dor deve ser multimodal, o que representa vantagens como maximização do efeito analgésico e minimização dos efeitos deletérios (JIRKOF, 2017). Além disso, o uso de anestésicos locais isoladamente não impede a sensibilização periférica e central que ocorre na dor clínica (ASHMAWI et al., 2016; XING et al., 2017).

A dor não tratada é um estressor e pode afetar a função imune, o consumo de alimentos, o comportamento social, o estado metabólico, tudo isto com potencial impacto no andamento das pesquisas e conseqüentemente nos resultados. Dependendo das questões propostas pela pesquisa, o sensato uso de analgésicos pode verdadeiramente contrariar os efeitos não desejados da dor, não somente para o bem estar do animal, mas também para a qualidade dos dados obtidos (COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009). Todos os pesquisadores que responderam ao questionário afirmaram que a analgesia é sim importante à pesquisa. O que demonstra preocupação com bem estar animal por parte dos pesquisadores. Cientistas podem achar, *a priori*, que quando resultados diferem dependendo se analgésicos são usados ou a dor não é tratada, que isso é devido aos fármacos, e não a dor que não foi tratada afetando os dados. Esta suposição frequentemente é errada, ou incognoscível, (CARBONE; AUSTIN, 2016). pois ambos afetam os resultados, porém os efeitos dos fármacos são mais previsíveis que os causados pelo processo algico.

## 6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados, podemos afirmar que a maioria dos pesquisadores brasileiros reconhece a importância da analgesia na experimentação animal. Porém, ainda há falta de preparo e treinamento dos profissionais, que se reflete na falta conhecimento sobre a dor, e seus métodos objetivos de avaliação e controle. O uso de práticas não farmacológicas para o controle da dor ainda são pouco utilizadas, e

os protocolos analgésicos podem não ser efetivos para todos os espécimes, pois em sua maioria são protocolos grupais.

## REFERÊNCIAS

- ANIMALS, N. R. C. (US) C. ON R. AND A. OF P. IN L. **Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals**. [s.l.] National Academies Press (US), 2009.
- ASHMAWI, H. A. et al. Peripheral and central sensitization. **Revista Dor**, v. 17, p. 31–34, 2016.
- BRITO, C. V. B.; SOARES, R. H. DE F. C.; BOTELHO, N. M. Analgesia de animais de laboratório: responsabilidade dos comitês de ética e obrigação dos pesquisadores. **Rev. bioét. (Impr.)**, v. 24, n. 3, p. 528–31, 2016.
- CAMPBELL, C.; EDWARDS, R.; FILLINGIM, R. Age and sex differences in pain perception: The role of gender role stereotypes. **The Journal of Pain**, v. 6, n. 3, p. S60, 1 mar. 2005.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. **Categories of Invasiveness in Animal Experiments InvestigatorsCCAC policy statement**, 1991. Disponível em: <[https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Policies/Categories\\_of\\_invasiveness.pdf](https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Policies/Categories_of_invasiveness.pdf)>. Acesso em: 2 nov. 2017
- CANNON, C. Z. et al. Analgesic effects of tramadol, carprofen or multimodal analgesia in rats undergoing ventral laparotomy. **Lab Animal**, v. 40, p. 85+, 4 nov. 2011.
- CARBONE, E. T. et al. Duration of action of sustained-release buprenorphine in 2 strains of mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 51, n. 6, p. 815–9, 2012.
- CARBONE, L. Pain in laboratory animals: The ethical and regulatory imperatives. **PLoS ONE**, v. 6, n. 9, 2011.
- CARBONE, L. **Pain Management Standards in the Eighth Edition of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**J. Amer. Assoc. Lab. Anim. Sci., 2012.



CARBONE, L.; AUSTIN, J. Pain and laboratory animals: Publication practices for better data reproducibility and better animal welfare. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 1–25, 2016.

CARLI, L. L. et al. Stereotypes About Gender and Science: Women ≠ Scientists. **Psychology of Women Quarterly**, v. 40, n. 2, p. 244–260, 6 jan. 2016.

COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS. **Recognition and alleviation of pain in laboratory animals**. [s.l.] National Academies Press, 2009.

CONCEA. **Grau de Invasividade(GI) - definições segundo o CONCEA**. Disponível em: <<https://www2.dti.ufv.br/ceua/scripts/grau-invasividade.html>>. Acesso em: 29 out. 2017.

CONCEA, MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, T. E. I.; CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE; EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **DIRETRIZES DA PRÁTICA DE EUTANÁSIA DO CONCEA**, 2013. Disponível em: <<http://www.ib.unicamp.br/comissoes/sites/www.ib.unicamp.br/comissoes/files/CONCEA-DIRETRIZ-EUTANÁSIA-2013.pdf>>. Acesso em: 29 out. 2017

COULTER, C. A. et al. Reported analgesic administration to rabbits undergoing experimental surgical procedures. **BMC Veterinary Research**, v. 7, n. 1, p. 12, fev. 2011.

COULTER, C. A.; FLECKNELL, P. A.; RICHARDSON, C. A. Reported analgesic administration to rabbits, pigs, sheep, dogs and non-human primates undergoing experimental surgical procedures. **Laboratory Animals**, v. 43, n. 1, p. 232–238, 2009.

DELLA ROCCA, G. et al. Validation of the Italian version of the UNESP-BOTUCATU unidimensional composite pain scale for the assessment of postoperative pain in cattle. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, p. 1–9, 2017.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Animal disease model: choice's criteria and current animals specimens. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 59–65, 2004.

FENWICK, N.; DUFFUS, S. E. G.; GRIFFIN, G. Pain management for animals used in science: Views of scientists and veterinarians in Canada. **Animals**, v. 4, n. 3, p. 494–514, 2014.

FLECKNELL, P. Analgesia from a veterinary perspective. v. 101, n. 1, p. 121–124,

2008.

FOLEY, P. L. Current options for providing sustained analgesia to laboratory animals. **Lab Animal**, v. 43, n. 10, p. 364–371, 2014.

GAYNOR, J. S.; MUIR, W. W. **Handbook of Veterinary Pain Management: Third Edition**. 3. ed. [s.l.] Mosby Elsevier, 2014.

GLEERUP, K. B. et al. Pain evaluation in dairy cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 171, p. 25–32, 2015.

GRAHAM, D. M. Methods for measuring pain in laboratory animals. **Laboratory Animals**, v. 45, n. 3, p. 99–101, 2016.

GRIFFIN, G.; DANSEREAU, M.; GAUTHIER, C. **Categories of invasiveness – A precautionary approach**. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences. **Anais...2007** Disponível em: <<http://altweb.jhsph.edu/wc6/paper715.pdf>>. Acesso em: 2 nov. 2017

GRUNE, B.; HENSEL, A.; SCHÖNFELDER, G. Animal welfare: Rules for assessing pain in lab animals. **Nature**, v. 512, n. 7512, p. 28, 2014.

GUNELI, E. et al. Analysis of the antinociceptive effect of systemic administration of tramadol and dexmedetomidine combination on rat models of acute and neuropathic pain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 88, n. 1, p. 9–17, 1 nov. 2007.

HAWKINS, P. Recognizing and assessing pain, suffering and distress in laboratory animals: a survey of current practice in the UK with recommendations. **Laboratory animals**, v. 36, n. 4, p. 378, 2002.

INSTITUTE FOR LABORATORY ANIMAL RESEARCH. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition**. National Academies Press. 8th ed. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 2011.

JIRKOF, P. et al. Buprenorphine for pain relief in mice: repeated injections vs sustained-release depot formulation. **Laboratory Animals**, v. 49, n. 3, p. 177–187, 8 jul. 2015.

JIRKOF, P. Side effects of pain and analgesia in animal experimentation. **Lab Animal**, v. 46, n. 4, p. 123–128, 22 mar. 2017.

LETA, J. As mulheres na ciência brasileira: crescimento, contrastes e um perfil de sucesso. **Estudos Avançados**, v. 17, n. 2001, p. 271–284, 2003.

LORENA, S. E. et al. Current attitudes regarding the use of perioperative analgesics

in dogs and cats by Brazilian veterinarians. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 41, n. 1, p. 82–89, 2014.

LORENA, S. E. et al. Attitude of Brazilian veterinarians in the recognition and treatment of pain in horses and cattle. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 40, p. 410–418, 2013.

LUNA, S. P. L. DOR, SENCIENTIA E BEM-ESTAR EM ANIMAIS Senciência e Dor. **Ciênc. vet. tróp**, v. 11, p. 17–21, 2008.

MATSUMIYA, L. C. et al. Using the Mouse Grimace Scale to reevaluate the efficacy of postoperative analgesics in laboratory mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, v. 51, n. 1, p. 42–9, 2012.

MCTIC, M. DA C. T. I. E C. **Normativas do CONCEA para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica**. 3 ed. ed. Brasília: [s.n.].

MEDINA, M. G. Reconocimiento y manejo del distress, sufrimiento y dolor en animales de laboratorio: una revisión. **Suma Psicológica**, v. 17, n. 2, p. 195–200, 2011.

MORTON, D.; GRIFFITHS, P. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. **Veterinary Record**, v. 116, n. 16, p. 431, 1985.

MURRELL, J. C. et al. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. **The Veterinary record**, v. 162, n. 13, p. 403–408, 2008.

NEGUS, S. S. Expression and treatment of pain-related behavioral depression.(Report). **Lab Animal**, v. 42, n. 8, p. 292, 2013.

PLENÁRIO DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. **RESOLUÇÃO Nº 466, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012.**, 2012. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/reso466.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2017

**Projeto de Lei da Câmara nº 70, de 2014 - Pesquisas - Senado Federal.** Disponível em: <<http://www25.senado.leg.br/web/atividade/materias/-/materia/118217>>. Acesso em: 28 out. 2017.

RACINE MÉLANIE, A. et al. A systematic literature review of 10 years of research

on sex/gender and pain perception – Part 2: Do biopsychosocial factors alter pain sensitivity differently in women and men? **Pain**, v. 153, n. 3, p. 619–635, 2012.

RAEKALLIO, M. et al. Pain Alleviation in Animals: Attitudes and Practices of Finnish Veterinarians. **The Veterinary Journal**, v. 165, n. 2, p. 131–135, mar. 2003.

RÄTSEP, M. T. et al. Hemodynamic and behavioral differences after administration of meloxicam, buprenorphine, or tramadol as analgesics for telemeter implantation in mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, v. 52, n. 5, p. 560–6, 2013.

REDDYJARUGU, B. et al. Analgesic Efficacy of Firocoxib, a Selective Inhibitor of Cyclooxygenase 2, in a Mouse Model of Incisional Pain. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 54, n. 4, p. 405–410, 2015.

RIVAT, C.; BALLANTYNE, J. The dark side of opioids in pain management. **PAIN Reports**, v. 1, n. 2, p. e570, ago. 2016.

ROUGHAN, J. V.; FLECKNELL, P. A. Buprenorphine: a reappraisal of its antinociceptive effects and therapeutic use in alleviating post-operative pain in animals. **Laboratory Animals**, v. 36, n. 3, p. 322–343, 24 jul. 2002.

RUSSELL, W.; BURCH, R. **The principles of humane experimental technique**. London: Methuen, 1959.

SANTOS, G. E. DE O. **Cálculo Amostral: Calculadora on-line**. Disponível em: <<http://www.publicacoesdeturismo.com.br/calculoamostral/>>. Acesso em: 1 out. 2016.

SAUER, M. et al. Buprenorphine via drinking water and combined oral-injection protocols for pain relief in mice. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 185, p. 103–112, 2016.

SIDONE, O. J. G.; HADDAD, E. A.; MENA-CHALCO, J. P. A ciência nas regiões brasileiras: evolução da produção e das redes de colaboração científica. **Transinformação**, v. 28, n. 1, p. 15–32, 2016.

SOARES, T. A. MULHERES EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA: ASCENSÃO LIMITADA. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 281–285, 2001.

SOTOCINAL, S. G. et al. The Rat Grimace Scale: A Partially Automated Method for Quantifying Pain in the Laboratory Rat via Facial Expressions. **Molecular Pain**, v. 7, n. 1, p. 1744-8069-7–55, 2011.

STASIAK, K. L.; MAUL, D. O. N.; FRENCH, E. Species-Specific Assessment of Pain in Laboratory Physiology of Pain. **Contemporary Topics**, v. 42, n. 4, p. 13–20, 2003.

STOKES, E. L.; FLECKNELL, P. A.; RICHARDSON, C. A. Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures. **Laboratory animals**, v. 43, n. 2, p. 149–154, 2009.

WHITTAKER, A. L.; HOWARTH, G. S. Use of spontaneous behaviour measures to assess pain in laboratory rats and mice: How are we progressing? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 151, p. 1–12, 2013.

WISE, E. A. et al. Gender role expectations of pain: relationship to experimental pain perception. **Pain**, v. 96, n. 3, p. 335–42, abr. 2002.

XING, J. et al. Intravenous Lidocaine Alleviates the Pain of Propofol Injection by Local Anesthetic and Central Analgesic Effects. **Pain Medicine**, 19 maio 2017.

**ARTIGO**

## Attitude of Brazilian researchers towards pain recognition and control in laboratory animals<sup>1</sup>

Rubia Mitalli Tomacheuski<sup>2</sup>, Stelio Pacca Loureiro Luna<sup>3</sup>, Marilda Onghero Taffarel<sup>2\*</sup>

**ABSTRACT.**- Tomacheuski, R.M., Luna, S.P.L., Taffarel, M.O. 2018. **Attitude of Brazilian researchers towards pain recognition and control in laboratory animals.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Maringá - UEM, Campus Avançado de Umuarama, Fazenda, Caixa postal: 65. E-mail: [mtafarel@yahoo.com](mailto:mtafarel@yahoo.com)

Pain management is a moral and ethical owe of any researcher who works with animal experimentation. Knowing about methods of pain assessment and management is crucial to choose the most accurate way of ideal treatment in each experiment's case. Such knowledge is also necessary to know how to differ the peculiarities related to pain of each species. The present study had as objective to carry out a demographic research aiming to demonstrate the knowledge of Brazilian scientists, who work with laboratory animals, about assessing and controlling pain, and still, about the use of analgesics in these species. Therefore, a questionnaire was elaborated and published online. The questionnaire was sent to approximately 2000 researchers who work directly with animal experimentation. The study got a total of 104 responses, and 8 were discarded because they didn't fit in the inclusion criteria. The experimental outcomes showed that only 23% of teaching and researching institutions offer training to assess and manage pain in laboratory animals. About 35% of the researchers do not use analgesics in their experiments, however, 40% of the respondents affirmed to use scales to pain assessment. The most used analgesic drugs were: morphine, tramadol, meloxicam, ketoprofen, ketamine and xylazine. The results evidenced that the majority of Brazilian researchers recognize the importance of analgesia in animal experimentation. However, there is a lack of preparing and training of professionals; evidently, there is a gap of knowledge about pain and its management and objective methods of assessing.

INDEX TERMS: analgesia; pain assessment; questionnaire; analgesic; rat;

<sup>1</sup>Received on.....

Accepted for publication on.....

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Campus Umuarama. \*Corresponding Author: [mtafarel@yahoo.com](mailto:mtafarel@yahoo.com)

<sup>3</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Campus de Botucatu.

**RESUMO.**- Tratar a dor é dever ético e moral de qualquer pesquisador que trabalhe com experimentação animal. Conhecer os métodos de avaliação e controle desta é crucial para escolher de forma acurada o tratamento ideal em cada caso de estudo. Tal conhecimento é também necessário para saber diferir as peculiaridades relacionadas à dor de cada espécie. O presente estudo teve como objetivo realizar pesquisa demográfica nacional a fim de demonstrar o conhecimento dos pesquisadores brasileiros que trabalham com animais de laboratório sobre a avaliação e controle da dor, e ainda, sobre o uso de analgésicos nestes espécimes. Para tanto foi um questionário foi elaborado e disponibilizado on-line. O questionário foi enviado para aproximadamente 2000 pesquisadores que trabalham diretamente com experimentação animal. Foram obtidas um total de 104 respostas, e oito foram descartadas porque não se enquadraram nos critérios de inclusão. Os resultados obtidos demonstraram que apenas 23% das instituições de ensino e pesquisa oferecem treinamento para avaliar a dor em animais de laboratório. Cerca de 35% dos pesquisadores não utilizam analgésicos em seus experimentos, porém, 40% dos respondentes afirmam utilizar escalas para avaliação da dor. Quanto aos fármacos analgésicos, os mais utilizados foram: morfina, tramadol, meloxicam, cetoprofeno, cetamina e xilazina. A partir dos resultados, podemos afirmar que a maioria dos pesquisadores brasileiros reconhece a importância da analgesia na experimentação animal. Porém, ainda há falta de preparo e treinamento dos profissionais; evidentemente, que há uma lacuna de conhecimento sobre a dor, e seus métodos objetivos de avaliação e controle.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: analgesia; avaliação da dor; questionário; analgésicos; rato.

### INTRODUCTION

Pain is one of the most important subjects that members of the laboratory animal scientific community try to control and minimize. It is a critical topic of clinical and science research (Graham 2016). Animal suffering in scientific studies represents an ethical dilemma as well as interferes in the results, as "happy animals make good science" (Poole 1997). The dilemma happens in both situations, where pain is a research's direct consequence (for exempla: pain is the central area of the study), and in cases where pain is an indirect

consequence, (Fenwick et al. 2014) for instance the post-operative of invasive surgeries, or animal models of cancer and its treatment.

The development of pain management in animals happened in parallel to the pediatric developing. During the last three decades there was a gradual evolution of veterinarian attitudes towards pain, expanding, for instance, the use of analgesics (Flecknell 2008, Raekallio et al. 2003). Even though the number of options to accomplish pain management and prolong analgesia in laboratory animals has improved, it is still limited, specially to rodents (Foley 2014). Brazil has a lack of researches which approach the use of analgesics in laboratory animals, or even, "how and if" objective ways are utilized to assess pain. North American and European researches demonstrated that the use of analgesics is little evidenced to manage pain in laboratory animals, and many professionals were unable to recognize pain signals, or believed that was not essential to treat pain (Carbone 2011, Whittaker & Howarth 2013, Fenwick et al. 2014).

Meta-analysis performed by Carbone and Austin (2016) found deficiencies on reporting the use of trans and post-operative analgesia in laboratory animals. Both pain and analgesic drugs can affect the quality of data in experiments with animals, as well as its welfare. Clinical signals of pain may be challenging in several animal models. For example, rodents, which have their behavior shaped by their ecological niches as a prey, usually avoid visual or behavioral demonstration of clear signals of pain. Even trained veterinarians and technicians found difficulties to identify animals which requires therapeutic intervention (Graham 2016).

Pain management in laboratory animals is an ethical imperative. It is also a methodological challenge for scientists, since surgical pain, potent analgesics, and even pain not treated, all these affect deeply the animal biology (Carbone & Austin 2016). Providing adequate analgesia after an invasive procedure, or general pain control in any experiment, is an important component of animal care. Choosing a suitable analgesic protocol requires careful consideration by researchers, the vet team and the institution's ethical committee as well (Foley 2014).

Even though it is an ethical and moral duty to avoid and treat pain and distress in laboratory animals (Institute for Laboratory Animal Research 2011), many times they may be neglected by a lack of knowledge about pain recognition and management. In Brazil, researches about pain recognition, management and assessment on laboratory animals should be further accomplished; there is no study similar to this demographic research about the theme. The present study had as objective to carry out a demographic research aiming to demonstrate the knowledge of Brazilian scientists, who work with laboratory animals, about assessing and controlling pain, and still, about the use of analgesics in these species.

## MATERIAL AND METHODS

**Ethics statement.** This research was approved by the Permanent Committee on Ethics in Research Involving Human Beings of the Maringá State University under the following protocol CAAE: 58575816.0.0000.0104 in 07 of October of 2017.

This was a descriptive, analytical and transversal research, not randomized, carried out through questionnaire, with a population formed by Brazilian scientists who work with laboratory animals in experiments. Collecting data was ended after a minimum period of one year (October 2016 to October 2017), independently of how many responses it accomplished.

Firstly, the questionnaire was elaborated with concise questions to detailed an investigation about "how" and "if" there was utilization of objective methods to assess pain in laboratory animals, which were the attitudes of these professionals towards pain management during experimentation, and which were the analgesics used.

Three parts composed the questionnaire:

- Part I – Demography: personal and professional data, research area and conducted experiments;
- Part II – Pain assessment: knowledge about this theme, and which method of assessment was used;
- Part III – Pain management: analgesics used, in which species and procedures;

As respondents, this paper selected all researchers that worked with laboratory animals in their studies, being or not veterinarians, giving priority to people who were currently conducting experiments. In order to contact these professionals, an online data collection was carried out, about post-graduation courses of Brazilian universities, which worked with animal experimentation, its supervisors and professors. So then, there was an approach by email and telephone (when possible), aiming to present the study, invite their participation and clarifying the importance of this research.

The Free and Informed Consent Term was attached to the beginning of the questionnaire. Since it was developed through the Google Forms®, the participant only answered the questionnaire after reading the consent form and agreed with it, fulfilling the ethical precepts of research in Brazil.

The questionnaire was confidential and used uniquely to this study. It was sent by e-mail and was available online, to access the majority of professionals who worked with lab animals. As exclusion criteria were considered blank questionnaires or with less than 80% of the responses, researchers who worked out of Brazil or those who, at the moment, were not conducting studies with animal experimentation.



## RESULTS

The questionnaire has been shared by the authors in research groups on Facebook®, pages of researchers and websites of the regional veterinarian council. Two thousand researchers were directly contacted (by e-mail), from all over the Brazilian geopolitical regions. 64 universities were contacted – 54 public universities and 10 private universities. In total, 217 post-graduation and research courses were contacted during the collecting data.

After 12 months of collecting data, 104 responses were gotten, 96 were included in data collection, and 8 were excluded from results – two of them because the researchers were conducting experiments in another country, four because they were not currently working with animal experimentation, and another two because they did not work directly with animals scientific experiments. Resulting in the statistic calculation of 89,70% of confidence level, 5% of sampling error and a proportion of 10% from this population (Santos 2016).

The majority of responses came from Southwestern Brazil (48%), followed by Southern (25%), Center-Western (11%), Northwestern (10%) and Northern (6%). Although the percentage of respondents compared to the number of researchers contacted in each Brazilian Region presented a different result, the biggest adhesion to this study came from the Brazilian Northwest Region with 11,76%, after Southern Brazilians (10,08%), people from Center-Western (7,24%), Southwestern Brazil (3,64%) and Northern (2,16%).

In relation to gender, 57% were women (n=55) and 43% men (n=41), the principal professional qualification found out was veterinary medicine (46%), followed by biological science (16%). The Table.1 describes the researchers' qualification.

Regarding to degree, the majority of researchers have doctorate, followed by people with bachelor degree (Fig.1).

The average age of researchers was 38 years old, the youngest and the oldest respondent were 23 and 67 years old respectively. Furthermore, to delineate the scenario about working time with laboratory animals, the average time working with animal experimentation was 11,82 years. The Figure 2 shows an active line between researchers' percentage and time working with laboratory animals.

There are many species used in animal experimentation. This demographic study found out that in Brazil 32,63% of them are rats and 29,47% mouse, followed by rabbits (8,42%), swine (4,74%), hamsters (4,20%), canine (3,68%), ovine and caprine (3,16% each), fish (2,63%), guinea pigs and birds (2,11% each), feline (1,58%), crustaceans, mussels and crabs (1,05%), gerbils and primates (0,53% each).

Related to specific training to work with laboratory animals, 76% answered they had some kind of training and 24% reported they did not have any training to work with animals in scientific experiments. Among the trainings done by the participants are: course theoretical and practical of laboratory animals' management, seminars, lectures, etc.

In another context, the main research area from the respondents was anesthesiology (19%), followed by pharmacology and immunology (both with 11% each). When asked whether or not the experiments were undergoing in pain, 73% of researchers affirmed their experiments occurred with pain. Moreover, the invasive experiments conducted by Brazilian researchers were: drugs administration (by intraperitoneal, intracerebral, intravaginal, intravenous via); complex procedures such as surgeries of electrode implants, osteosynthesis using 3D grafts, video surgery; induction of sepsis, arthritis ortumors, inflammatory response, acute and chronic pain, and renal ischemia; model of edema, acute pain, controlled hemorrhage; carotid obstruction; surgical procedures to tissues extraction, dental extraction and bone graft implant; ablation of heart to obtain isolated cells; thermoalgiometry; vagotomy and sympathectomy; cannulas insertion in the brain and blood vessels.

The category or degree of invasiveness in a research is defined by the type of procedure and how much it inflicts pain and distress in animals. The Canadian Council on Animal Care – CCAC established five categories of invasiveness (A, B, C, D, and E) in researches with animal experimentation. Similarly, the Brazilian National Council on Animal Experimentation Control has established four different degrees of invasiveness (GI1, GI2, GI3, and GI4). Both defines GI1/B as experiments which cause little or no discomfort or stress, for instance observation and physical examination; GI2/C, experiments which cause minor pain, discomfort and stress, for example minor surgical procedures as biopsies under anesthesia; GI3/D, experiments which cause discomfort, pain and stress in a moderate intensity, such as invasive surgical procedures, several hours of physical immobility; GI4/E, experiments which cause severe pain, as for instance burn or trauma infliction on unanesthetized animals, exposure to drugs in levels that may cause irreparable physiological alterations and lead to death (CONCEA 2013, Griffin et al. 2007). When questioned about degrees of invasiveness in the research they were conducting (Fig.3), the majority of respondents (38%) selected degree of invasiveness 1 (GI1), and only 4% affirmed to conduct researches with degree of invasiveness 4. However, evaluating the responses about which kind of experiments were conducted, 15% of the researchers made a mistake when answered about the degree of invasiveness.

In relation to conducted experiments in animals, in the laboratory place where the respondents worked, 35% were pharmacological testing, followed of experiments about pain (13%), trauma (7%), and tumor cells (6%), no participant declared to conduct cosmetic tests in animals.

When questioned if they used analgesic drugs in their researches, 65% affirmed positively, and 35% said they did not use it. The arguments for not using analgesics were varied, such as low degree of invasiveness (10%); the experiment did not cause pain (37%); because it interfered in results (27%); due to being a terminal experiment or the animal was under anesthesia (13%); because there was not a post-surgical analgesic protocol (3%); and because analgesic did not make part of the experimental protocol (10%).

When questioned if they used objective methods (scales) to evaluate pain, 40% responded “yes” and 60% “no”. Among the researchers who used scales, 29% used the numeric pain scale, 27% used the facial analog scale, and 44% used others scales. The Table.2 shows the percentage of utilization on these scales and which species it is used.

Related to pain assessment, one of the questions in the questionnaire was about whether or not assessing pain interfered in the chosen analgesic protocol. 53% of researchers answered “no”, and 47% “yes”, the pain assessment interfered to choose the analgesic protocol. In contrast, 39% of respondents did not use any analgesic protocols in their experiments and the ones who use analgesic protocols, 29% were group analgesic protocols, 24% individual protocols, and 8% reported to use both.

Moreover, 77% of researching and teaching institutions do not offer training for assessing or managing pain in laboratory animals, only 23% of researchers affirmed they have received some specific training by their institutions about this subject. However, 62% of them expressed to have specific knowledge about the theme, and 38% did not have any knowledge about it.

The study found out the main analgesic drugs used by Brazilian researchers in laboratory animals. In relation to opioids used in animal experimentation, respondents cited: morphine – 30 researchers reported to use it in their analgesic protocols; tramadol – 26 respondents reported to use this drug; followed by use of meperidine, butorphanol and fentanyl. Additionally, about non-steroidal anti-inflammatories drugs (NSAID’s) used by Brazilian researchers, the five most mentioned were: meloxicam – 30 people used this drug; ketoprofen – 21 participants used it in their experiments; followed by flunixin, carprofen and dipyrone. In average, only 16% of researchers used NSAID’s in their analgesic protocols. Lastly, the other drugs reported as used in analgesic protocols were ketamine – 60% of respondents affirmed to use; xylazine – 57% of researchers reported to use this drug; and lidocaine – 39% of respondents said to use it.

In relation to non-pharmacological methods to treat pain, 27% of respondents attested to utilize it, and 73% reported not using these methods. The current non-pharmacological technics mentioned by Brazilian researchers for alleviating pain and distress were: environmental care, comfort and enrichment where animals live, offering softer bedding, lowered light, food and water in easy access and *ad libitum*; liquid diet; warming and controlled of air and temperature; tranquil environment; increasing of water oxygenation; blankets in recovering cages; adapting to evaluators; acupuncture; animals with any alterations of motor signals having access to water and food facilitated.

Finally, about the importance of analgesia, although 100% of researchers affirmed that it is important, 5% of them attested in personal opinions that this importance is relative, because depends on the research, and that the use of analgesic drugs may interfere on results. 56% considered pain management important because of ethical and welfare issues, and also to avoid pain and distress in animals; others 13% reported that it is an ethical duty to treat pain; 26% of researchers highlighted that pain and stress factors originated by pain affect directly the experimental results, and because of it treating pain in animal experimentation is fundamental.

Following are some of the researchers’ reports about the importance of analgesia in the different animal experiments:

“The practice of analgesia is indispensable in procedures that inflict pain because of humanitarian and welfare issues, since animals are beings able to suffer and feel.”

“Besides of ethical reasons, the alterations that pain and distress factors can cause in animals may affect and even unfeasible the results of several experimental models.”

“Accomplish the ethical regulations to animal experimentation protecting animals from aversive treatments and without dignity.”

“Depend on the research’s finality. This cannot be inferred as general rule. the pertinence of the case must be analyzed.”

“Relative importance: whenever the drug effects used to analgesia resulted in alteration of the test’s response, in this case, others maneuvers should be adopted.”

## DISCUSSION

This is the second biggest demographical study realized in the world approaching the thematic of analgesia, laboratory animals and pain. It contacted 64 Universities, gotten 104 questionnaire responses, 94 included in the final results. There was reported in literature only another two similar studies (Hawkins 2002, Fenwick et al. 2014). The first one was conducted in the United Kingdom between June of 1999 and April of 2001 (Hawkins 2002), where a total of 28 Institutions were visited, and 137 people interviewed including scientists, veterinarians and technicians. The other one was a Canadian study realized in 2014, which attained little success, with 21 participants – veterinarians, scientists, and veterinarian scientists (Fenwick et al. 2014).

Despite of the large number of researchers contacted directly (n=2000) through email and/or telephone, and also the questionnaire available online, the accession was low – only 5,3% of approached people answered the questionnaire; we believe that this fact happened possibly because of researchers' apprehension on responding the questionnaire and compromised their own researches, even though it was clearly established in the consent term the confidentiality of respondents and that results would be mostly showed in a grouped way.

The exponential growth and development of scientific production in Brazil in the last decades has evidenced the importance of dealing with subjects that involve ethics and welfare of animals used in science. A retrospective study from 1992 to 2009 demonstrated that scientific production is concentrated in Southwestern and Southern Brazil, and the state of São Paulo was the principal featured with 31% of the total scientific production in the triennium of 2007 to 2009 (Sidone et al. 2016). This study corroborated the obtained results, where 48% of respondents were from Southwestern Brazil – mainly from São Paulo; and 25% were from Southern Brazil. However, the result differed when analyzing the percentage of respondents according to the number of researchers contacted in each region, where the Northwest Region had the biggest adhesion, followed by the South region.

The results showed that 57% of respondents were women, what highlighted the growth of them in the scientific community, surpassing in this study the population of men (43%). However, it must be considered that adhesion to this study by women researchers could be major. Additionally, some studies showed that women tend to attribute bigger pain scores than men, perhaps this demonstrates also a bigger concern about animal welfare in researches (Racine Mélanie et al. 2012, Campbell et al. 2005, Wise et al. 2002).

As this demographic study aimed to delineate the Brazilian scenario in relation to pain assessment, management and recognition on animal experimentation, the professional qualification was varied, since biomedical participants, to zootechnicians. The graduated in veterinary medicine represented the largest number (n=44), as in the study done by Fenwick and contributors (2014). The majority of researchers had doctorate (n=38), followed by bachelors and masters, what defined a scenario divided by young and mature people, who worked with animal experimentation already for a while. This relatively young population could possibly be a result of recent graduated people and their post-graduation entrance.

The main areas of research mentioned by respondents were: anesthesiology (19%), immunology and pharmacology (both with 11%). Furthermore, the pharmacological experiments represented the biggest piece (35%) of studies realized by Brazilian scientists and veterinarians, coming along with pain studies (13%). Whereas, it is not possible to affirm that this is the real proportion of researches realized in Brazil, because the authors of the study are veterinarian anesthesiologists, what might have resulted in a major empathy of colleagues of this specialty in answering the questionnaire. The results showed that cosmetic experiments were not performed in Brazil (no response gotten on this subject) what respects the amendment of 2014 that changes the law nº 11.794/08 – which establishes procedures to scientific use of animals; this law prohibited the using of animals of any specie in researching, testing or teaching activities which aims production or development of any cosmetics products, personal hygiene or perfumes (Projeto de Lei Da Câmara Nº 70, de 2014 - Senado Federal 2017).

Although 76% of researchers affirmed to have some kind of training to work with laboratory animals, 77% of researching and teaching institutions did not offer training to assess and manage pain in laboratory animals. Despite of 62% of participants declared to have specific knowledge about this theme – obtained through courses, lectures, congresses, trainings in abroad universities, and self-taught studies; this demonstrates a clear necessity that institutions should pay attention not only in the quantity of researches, but also in its quality, especially in reference of ethics and animal welfare. 24% of researchers declared not having any kind of training to work with laboratory animals, number that highlight the unpreparation of many people who face and work with scientific researches involving animals. Knowledge and training are essential to work with good practices and welfare of laboratory animals, moreover, specific knowledge about pain assessment and recognition is fundamental to a better treatment, care, and results with animal experimentation (Grune et al. 2014, Medina 2011). In the United Kingdom (UK) since 1994 is an obligation of any institution which has researches with animal experimentation to offer training courses about working with laboratory animals. It can be done by the own institutions or be offered by private companies (Hawkins 2002). Even though in Brazil there are no such regulations as in UK, the Brazilian post-graduations should offer mandatory units, which approached this subject, attempting to improve the welfare of lab animals.

While 73% of the researchers declared that their experiments inflicted pain on animals, only 65% of them affirmed to use analgesic drugs in their researches. Besides that, 39% reported not using analgesic protocols in their experiments, which showed conflicted responses. Many researchers did not use analgesics because they believe that these drugs interfere in their researches' results. If this data is real or not goes beyond this study. However, it is up to science to demonstrate how pain for its own or its treatment can interfere in real results of researches. The base of animal welfare regulations all over the world is to minimize pain and stress in animals used on researches, and this is a central ethical point in animal experimentation (Foley 2014). According to Carbone & Austin (2016) the two first questions which scientists must consider when planning anesthesia and analgesia are 1) "which anesthetic to use", and 2) "if use analgesics". The "which analgesic?" is a question only

when the “if use” is solved. Unfortunately the perspective that analgesics can interfere in results, is still an influence factor to treat or not animals used on science. Recent studies showed that both, pain or analgesic drugs may wrest experimental data, introducing an unwanted variability or confounding sources. The variability originated by the use of analgesic drugs may be in certain way predicted, as its collateral effects are well known, while pain still has some unknown gaps of its possible effects. These concerns – that pain and analgesic drugs may affect expected results and animal welfare - should lead scientists to use methods of pain management more usually in their researches (Carbone & Austin 2016, Carbone 2011, National Research Council 2009).

Pain assessment is fundamental to determine the necessity of analgesic treatment and also its effectiveness (Della Rocca et al. 2017, Gleerup et al. 2015), but the lack of knowledge about how to recognize pain in each specie culminates often in insufficient antalgic treatment (Lorena et al. 2013, Raekallio et al. 2003). In this study, the majority of researchers reported that they do not utilize tools, as scales, to assess pain. Besides that, it was possible to observe that researchers did not use specie-specific scales, or used unidimensional scales (79%). Using multidimensional scales or composed assessment, which evaluates the sensorial and affective qualities of pain (Murrell et al. 2008), increases the accuracy of pain assessment when compared to unidimensional scales, and yet, when it is specie specific results become more reliable, because it was developed to the specie (Gaynor & Muir 2014, Morton & Griffiths 1985, Stasiak et al. 2003); what was little mentioned by participants of this study. However, the lack of reliable specie specific tools may have contributed to this result.

Non-pharmacological methods to treat pain were used by 27% of researches. Among the current non-pharmacological techniques used by Brazilian researchers are, for instance: environmental care, comfort and enrichment where animals live, offering softer bedding, lowered light, food and water in easy access and *adlibitum*; liquid diet. These are similar to methods retracted in literature, and are very important to animal welfare in experimentation (Fenwick et al. 2014).

In relation to degree of invasiveness, 38% of participants declared to have conducted experiments with the degree of invasiveness 1 (GI1), and only 4% reported to have realized experiments of the degree of invasiveness 4 (GI4). Whereas, crossing the information about their researches' degree of invasiveness, the type of experiment conducted and the declaration whether or not it causes pain, 15% of answers were mistaken, which showed a lack of specific knowledge and training about the subject. When, for example: one of the researchers affirmed to realize a GI3 research, and declared that this did not cause pain to the animal; where by definition, GI3 represents experiments which causes pain, discomfort and stress, in a moderate intensity. Another participant reported that the research was GI2, but the experiments described did not match with the definition of GI2 of the Brazilian National Council on Animal Experimentation Control. Others similar cases were found, evidencing the lack of preparation of scientists in relation to pain – assessment and management (CONCEA 2017, Brito et al. 2016, Canadian Council on Animal Care 1991).

Notwithstanding all researchers recognized the importance of analgesia use, many (39%) declared not using analgesic protocols in their studies, and 53% of them reported that pain assessment did not influence the chosen analgesic protocol. Crossing these data with the researchers who did not use pain scales (60%) shows evidences of the possibility of researches being conducted with a fix analgesic protocol, or often without analgesic treatment or even, without pain assessment post-procedures.

The majority of participants used analgesic drugs on group protocols, what may result in animals receiving analgesics unnecessarily, while others do not receive adequate analgesia, knowing that pain is an individual experience and the response of different individuals facing a painful stimuli can differ (Gaynor & Muir 2014, Stokes et al. 2009, Foley 2014). In a study of analgesic protocol with buprenorphine administrated on animal's water demonstrated being efficient to treat low to moderate pain in mice, but it is needed to monitor closely animals post a painful intervention, because if pain is observed in any individual of the experiment, it must be realized analgesic rescue, beyond of the protocol that has been used (Sauer et al. 2016).

In regarding of analgesic drugs, a bigger use on opioids pure agonists has been observed, as morphine, differing from results got in the same country when referring to cats and dogs. In these species the most used is tramadol, yet in large animals the most used opioids in decreasing order are: butorphanol, tramadol and then morphine (Lorena et al. 2013). In experimental models with rabbits, the main analgesic drug used is buprenorphine (70%), followed by butorphanol and fentanyl (Coulter et al. 2011), whereas in Brazil buprenorphine is not available (Lorena et al. 2014). Opioids remained as the biggest drugs used to treat moderate to severe pain (Guneli et al. 2007), they are potent analgesics, used routinely in the treatment of laboratory rodents (Jirkof 2017), but have their adverse effects, as sedation, constipation, and respiratory depression, that frequently are avoid by scientists (Guneli et al. 2007, Rivat and Ballantyne 2016).

Pain management in laboratory animals is usually achieved through using opioids and non-steroidal anti-inflammatories (Reddyjarugu et al. 2015). In median, only 16% of researchers used NAID's, for them the most used, as in dogs and cats (Lorena et al. 2014), was meloxicam. The non-steroidal anti-inflammatories are very important to threat post-operative acute pain, in study about rodents undergoing exploratory laparotomy the NAID's were efficient to pain management in this species (Cannon et al. 2011, Reddyjarugu et al. 2015).

In addition, the use of other drugs with analgesic potential, such as xylazine and ketamine, or even local anesthetics, singly, may not justify the absence of other essential drugs such as opioids and NAID's, seeing that pain management must be multimodal, which represents advantages as maximization of analgesic effects and minimization of deleterious effects (Jirkof 2017). Besides that, the use of local anesthetics in isolation does not impede the peripheral and central sensitization of clinical pain (Ashmawi et al. 2016, Xing et al. 2017).

Not treated pain is a stressor and can affect the immune function, food consumption, social behavior, and metabolic state, all these with potential impact on results. Depending of the proposed question by research, the wise use of analgesics can truly contradict the unwanted effects of pain, not only towards animal welfare, but also for the quality of data collection (Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals 2009). All researchers who answered the questionnaire declared that analgesia is important to research, what shows a clear concern about animal welfare. Scientists may think, *a priori*, when results differ depending on the used analgesics or not treated pain, that this is due to drugs and not the not treated pain affecting data. This assumption frequently is wrong, or unknowable (Carbone & Austin 2016).

### CONCLUSION

From the results, it can be affirmed that the majority of Brazilian researchers recognize the importance of analgesia in animal experimentation. However, there is lack of training and preparing of professionals, which reflects in a gap of knowledge about pain, and its objective methods of assessment and management. The use of non-pharmacological techniques to control the pain is still little utilized, and the analgesic protocols may not be effective to all specimens, since in its majority they use group protocols.

### REFERENCES

- Animals, National Research Council (US) Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory. 2009. *Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals*. Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. National Academies Press (US). doi:10.17226/12526.
- Ashmawi, Hazem Adel, George Miguel Góes Freire, Hazem Adel Ashmawi, and George Miguel Góes Freire. 2016. "Peripheral and Central Sensitization." *Revista Dor* 17. Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor: 31–34. doi:10.5935/1806-0013.20160044.
- Brito, Caio Vinicius Botelho, Rosa Helena de Figueiredo Chaves Soares, and Nara Macedo Botelho. 2016. "Analgesia de Animais de Laboratório: Responsabilidade Dos Comitês de Ética E Obrigação Dos Pesquisadores." *Rev. Bioét. (Impr.)* 24 (3): 528–31. doi:10.1590/1983-80422016243152.
- Campbell, C, R Edwards, and R Fillingim. 2005. "Age and Sex Differences in Pain Perception: The Role of Gender Role Stereotypes." *The Journal of Pain* 6 (3). Churchill Livingstone: S60. doi:10.1016/J.JPAIN.2005.01.236.
- Canadian Council on Animal Care. 1991. *Categories of Invasiveness in Animal Experiments Investigators*. CCAC Policy Statement. [https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Policies/Categories\\_of\\_invasiveness.pdf](https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Policies/Categories_of_invasiveness.pdf).
- Cannon, Coralie Zegre, Grace E Kissling, David R Goulding, Angela P King-Herbert, and Terry Blankenship-Paris. 2011. "Analgesic Effects of Tramadol, Carprofen or Multimodal Analgesia in Rats Undergoing Ventral Laparotomy." *Lab Animal* 40 (November): 85+. <http://go-galegroup.ez79.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&sw=w&u=capes&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA249958533&asid=f9f53941ed07d6d0afa20174f9403df8>.
- Carbone, Larry. 2011. "Pain in Laboratory Animals: The Ethical and Regulatory Imperatives." *PLoS ONE* 6 (9). doi:10.1371/journal.pone.0021578.
- Carbone, Larry, and Jamie Austin. 2016. "Pain and Laboratory Animals: Publication Practices for Better Data Reproducibility and Better Animal Welfare." *PLoS ONE* 11 (5): 1–25. doi:10.1371/journal.pone.0155001.
- Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. 2009. *Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals*. National Academies Press.
- CONCEA. 2017. "Grau de Invasividade(GI) - Definições Segundo O CONCEA." Accessed October 29. <https://www2.dti.ufv.br/ceua/scripts/grau-invasividade.html>.
- CONCEA, MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO, CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE, and EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. 2013. *DIRETRIZES DA PRÁTICA DE EUTANÁSIA DO CONCEA*. [http://www.ib.unicamp.br/comissoes/sites/www.ib.unicamp.br/comissoes/files/CONCEA\\_DIRETRIZ\\_EUTANÁSIA\\_2013.pdf](http://www.ib.unicamp.br/comissoes/sites/www.ib.unicamp.br/comissoes/files/CONCEA_DIRETRIZ_EUTANÁSIA_2013.pdf).
- Coulter, Claire A, Paul A Flecknell, Matthew C Leach, and Claire A Richardson. 2011. "Reported Analgesic Administration to Rabbits Undergoing Experimental Surgical Procedures." *BMC Veterinary Research* 7 (1): 12. doi:10.1186/1746-6148-7-12.
- Fenwick, Nicole, Shannon E G Duffus, and Gilly Griffin. 2014. "Pain Management for Animals Used in Science: Views of Scientists and Veterinarians in Canada." *Animals* 4 (3): 494–514. doi:10.3390/ani4030494.
- Flecknell, P. 2008. "Analgesia from a Veterinary Perspective" 101 (1): 121–24. doi:10.1093/bja/aen087.
- Foley, P. L. 2014. "Current Options for Providing Sustained Analgesia to Laboratory Animals." *Lab Animal* 43 (10): 364–71.
- Foley, Pl. 2014. "Current Options for Providing Sustained Analgesia to Laboratory Animals." *Laboratory Animals*.

- Gaynor, James S., and William W. Muir. 2014. *Handbook of Veterinary Pain Management: Third Edition. Handbook of Veterinary Pain Management: Third Edition*. 3rd ed. Mosby Elsevier. doi:10.1016/C2010-0-67083-0.
- Gleerup, Karina Bech, Pia Haubro Andersen, Lene Munksgaard, and Bjørn Forkman. 2015. "Pain Evaluation in Dairy Cattle." *Applied Animal Behaviour Science* 171. Elsevier B.V.: 25–32. doi:10.1016/j.applanim.2015.08.023.
- Graham, Dustin M. 2016. "Methods for Measuring Pain in Laboratory Animals." *Laboratory Animals* 45 (3): 99–101.
- Griffin, Gilly, Maryse Dansereau, and Clément Gauthier. 2007. "Categories of Invasiveness – A Precautionary Approach." In *6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences*, 14:715–20. <http://altweb.jhsph.edu/wc6/paper715.pdf>.
- Grune, Barbara, Andreas Hensel, and Gilbert Schönfelder. 2014. "Animal Welfare: Rules for Assessing Pain in Lab Animals." *Nature* 512 (7512): 28. doi:10.1038/512028c.
- Guneli, Ensari, N. Ulku Karabay Yavasaglu, Sebnem Apaydin, Meltem Uyar, and Mehmet Uyar. 2007. "Analysis of the Antinociceptive Effect of Systemic Administration of Tramadol and Dexmedetomidine Combination on Rat Models of Acute and Neuropathic Pain." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 88 (1). Elsevier: 9–17. doi:10.1016/j.PBB.2007.06.006.
- Hawkins, Penny. 2002. "Recognizing and Assessing Pain, Suffering and Distress in Laboratory Animals: A Survey of Current Practice in the UK with Recommendations." *Laboratory Animals* 36 (4): 378.
- Institute for Laboratory Animal Research. 2011. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Edition*. National Academies Press. National Research Council. 8th ed. Washington, D.C.: National Academies Press. <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>.
- Jirkof, Paulin. 2017. "Side Effects of Pain and Analgesia in Animal Experimentation." *Lab Animal* 46 (4): 123–28. doi:10.1038/labani.1216.
- Lorena, Sílvia Ers, Stelio Pl Luna, B. Duncan X Lascelles, and José E. Corrente. 2014. "Current Attitudes Regarding the Use of Perioperative Analgesics in Dogs and Cats by Brazilian Veterinarians." *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 41 (1): 82–89. doi:10.1111/vaa.12104.
- Lorena, S. E. R. S., S. P. L. Luna, B. D. LASCELLES, and J. E. Corrente. 2013. "Attitude of Brazilian Veterinarians in the Recognition and Treatment of Pain in Horses and Cattle." *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 40: 410–18. doi:10.1111/vaa.12025.
- Medina, M. G. 2011. "Reconocimiento Y Manejo Del Distress, Sufrimiento Y Dolor En Animales de Laboratorio: Una Revisión." *Suma Psicológica* 17 (2): 195–200. <http://openjournal.konradlorenz.edu.co/index.php/sumapsi/article/viewArticle/563>.
- Morton, Db, and Ph Griffiths. 1985. "Guidelines on the Recognition of Pain, Distress and Discomfort in Experimental Animals and an Hypothesis for Assessment." *Veterinary Record* 116 (16). BMJ Publishing Group Limited: 431. doi:10.1136/vr.116.16.431.
- Murrell, J C, E P Psatha, E M Scott, J Reid, and L J Hellebrekers. 2008. "Application of a Modified Form of the Glasgow Pain Scale in a Veterinary Teaching Centre in the Netherlands." *The Veterinary Record* 162 (13). Division of Clinical Sciences of Companion Animals, University of Utrecht, Utrecht, The Netherlands.: 403–8. doi:10.1136/vr.162.13.403.
- Poole, Trevor. 1997. "Happy Animals Make Good Science." *Laboratory Animals* 31 (2): 116–24. doi:10.1258/002367797780600198.
- "Projeto de Lei Da Câmara Nº 70, de 2014 - Pesquisas - Senado Federal." 2017. Accessed October 28. <http://www25.senado.leg.br/web/atividade/materias/-/materia/118217>.
- Racine Mélanie, A, A Tousignant-Laflamme Yannick, A Kloda Lorie, A Dion Dominique, A Dupuis Gilles, and A Choinière Manon. 2012. "A Systematic Literature Review of 10 Years of Research on Sex/gender and Pain Perception – Part 2: Do Biopsychosocial Factors Alter Pain Sensitivity Differently in Women and Men?" *Pain* 153 (3): 619–35. doi:10.1016/j.pain.2011.11.026.
- Raekallio, M, K M Heinonen, J Kuussaari, and O Vainio. 2003. "Pain Alleviation in Animals: Attitudes and Practices of Finnish Veterinarians." *The Veterinary Journal* 165 (2): 131–35. doi:https://doi.org/10.1016/S1090-0233(02)00186-7.
- Reddyjarugu, Balagangadharreddy, Todd Pavek, Teresa Southard, Jason Barry, and Bhupinder Singh. 2015. "Analgesic Efficacy of Firocoxib, a Selective Inhibitor of Cyclooxygenase 2, in a Mouse Model of Incisional Pain." *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 54 (4): 405–10.
- Rivat, Cyril, and Jane Ballantyne. 2016. "The Dark Side of Opioids in Pain Management." *PAIN Reports* 1 (2): e570. doi:10.1097/PR9.0000000000000570.
- Rocca, Giorgia della, Juliana Tabarelli Brondani, Flávia Augusta de Oliveira, Martina Crociati, Lakamy Sylla, Agnes Elad Ngonput, Alessandra Di Salvo, and Stelio Pacca Loureiro Luna. 2017. "Validation of the Italian Version of the UNESP-BOTUCATU Unidimensional Composite Pain Scale for the Assessment of Postoperative Pain in Cattle." *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 1–9. doi:10.1016/j.vaa.2016.11.008.
- SANTOS, Glauber Eduardo de Oliveira. 2016. "Cálculo Amostral: Calculadora on-Line." Accessed October 1. <http://www.publicacoesdeturismo.com.br/calculoamostral/>.

- Sauer, Mareike, Thea Fleischmann, Miriam Lipiski, Margarete Arras, and Paulin Jirkof. 2016. "Buprenorphine via Drinking Water and Combined Oral-Injection Protocols for Pain Relief in Mice." *Applied Animal Behaviour Science* 185: 103–12. doi:10.1016/j.applanim.2016.09.009.
- SIDONE, Otávio José Guerci, Eduardo Amaral HADDAD, and Jesús Pascual MENA-CHALCO. 2016. "A Ciência Nas Regiões Brasileiras: Evolução Da Produção E Das Redes de Colaboração Científica." *Transinformação* 28 (1): 15–32. doi:10.1590/2318-08892016002800002.
- Stasiak, Karen L, D O N Maul, and Elisa French. 2003. "Species-Specific Assessment of Pain in Laboratory Physiology of Pain." *Contemporary Topics* 42 (4): 13–20.
- Stokes, E L, P a Flecknell, and C a Richardson. 2009. "Reported Analgesic and Anaesthetic Administration to Rodents Undergoing Experimental Surgical Procedures." *Laboratory Animals* 43 (2): 149–54. doi:10.1258/la.2008.008020.
- Whittaker, Alexandra L, and Gordon S Howarth. 2013. "Use of Spontaneous Behaviour Measures to Assess Pain in Laboratory Rats and Mice: How Are We Progressing?" *Applied Animal Behaviour Science* 151: 1–12. doi:10.1016/j.applanim.2013.11.001.
- Wise, Emily A, Donald D Price, Cynthia D Myers, Marc W Heft, and Michael E Robinson. 2002. "Gender Role Expectations of Pain: Relationship to Experimental Pain Perception." *Pain* 96 (3). NIH Public Access: 335–42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11973007>.
- Xing, Jibin, Ling Liang, Shaoli Zhou, Chenfang Luo, Jun Cai, and Ziqing Hei. 2017. "Intravenous Lidocaine Alleviates the Pain of Propofol Injection by Local Anesthetic and Central Analgesic Effects." *Pain Medicine*, May. doi:10.1093/pm/pnx070.

### Legendas das Figuras

Table.1: Professional qualification of respondents presented in percentage and number of researchers, in the period of October 2016 to October 2017

Fig.1. Figure illustrates the degree and quantity of Brazilian researchers who work with animal experimentation – bachelor and graduation, bachelor, masters in progress, masters, doctorate in progress, doctorate, and post-doctorate; in the period of October 2016 to October 2017

Fig.2. Figure illustrates the time percentage (in years) which Brazilian researchers work with laboratory animals

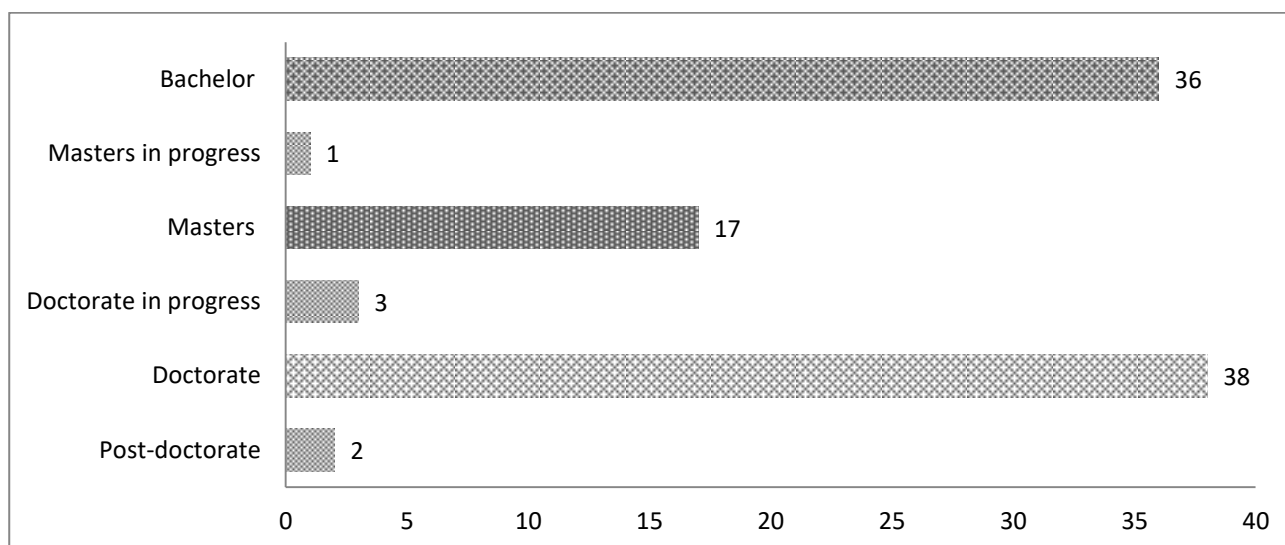
Fig.3. Figure demonstrates the degree of invasiveness (in percentage) of experiments in laboratory animals conducted by Brazilian researchers in the period of October of 2016 to October of 2017

Table.2. Table demonstrates the pain assessment scales used by Brazilian researchers and which species it is used for

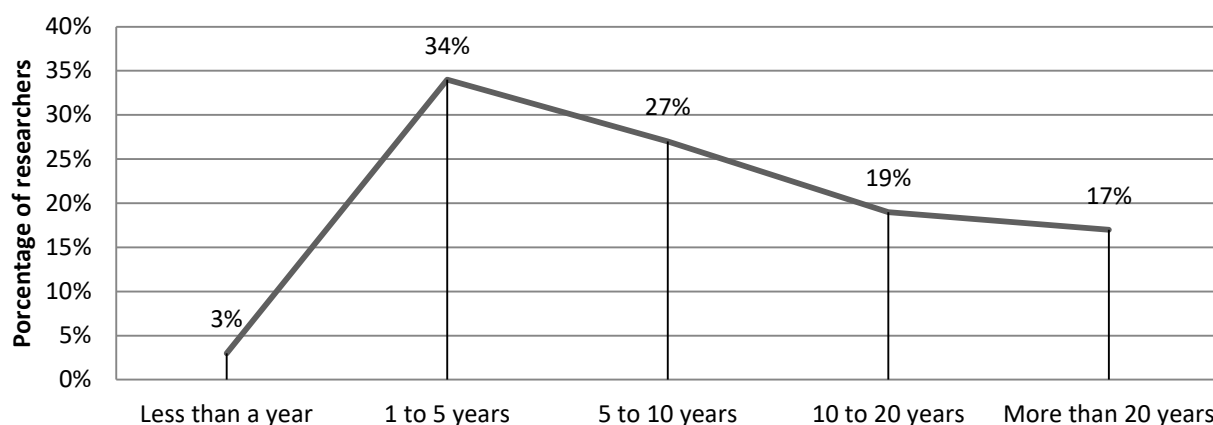
**Table.1: Professional qualification of respondents presented in percentage and number of researchers, in the period of October 2016 to October 2017**

PROFESSIONAL QUALIFICATION	Nº OF RESEARCHERS	PERCENTAGE
Biomedicine	6	6%
Biological Science	15	16%
Nursing	1	1%
Pharmacy	9	10%
Biochemistry and Pharmacy	2	2%
Pharmacology	2	2%
Physiotherapy	1	1%
Medicine	7	7%
Veterinary Medicine	44	46%
Nutrition	2	2%
Odontology	3	3%
Psychology	1	1%
Zootechny	3	3%

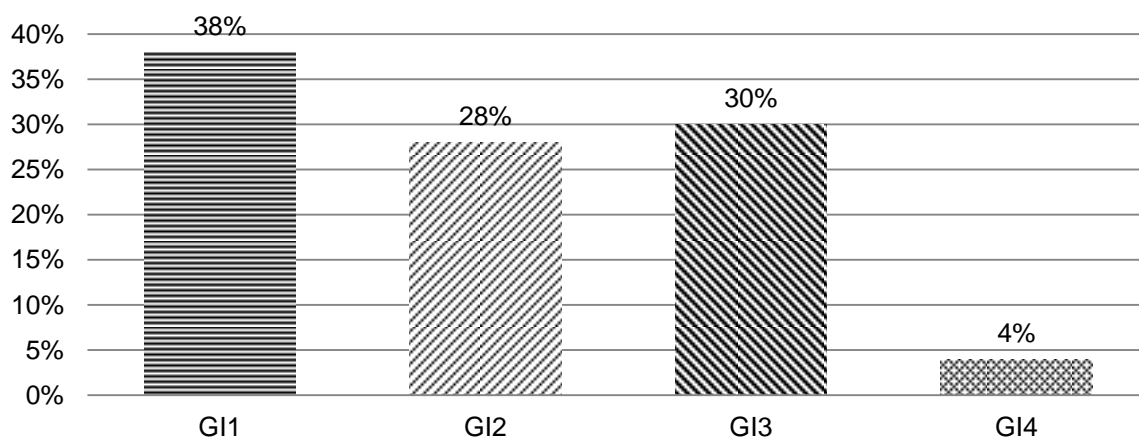
**Fig.1. Figure illustrates the degree and quantity of Brazilian researchers who work with animal experimentation - bachelor and graduation, bachelor, masters in progress, masters, doctorate in progress, doctorate, and post-doctorate; in the period of October 2016 to October 2017**



**Fig.2. Figure illustrates the time percentage (in years) which Brazilian researchers work with laboratory animals**



**Fig.3. Figure demonstrates the degree of invasiveness (in percentage) of experiments in laboratory animals conducted by Brazilian researchers in the period of October of 2016 to October of 2017**





**Table.2. Table demonstrates the pain assessment scales used by Brazilian researchers and which species it is used for**

<b>PAIN ASSESSMENT SCALE</b>	<b>SPECIES</b>	<b>PERCENTAGE</b>
<b>Facial Analog Scale</b>	Mice, guinea pigs, rabbits, hamsters, rats and pigs	34%
<b>Numeric Pain Scale</b>	Mice, rabbits, rats and pigs	37%
<b>Visual Analog Scale</b>	Mice, dogs and pigs	8%
<b>Glasgow Composed Scale</b>	Rabbits, rats, pigs and sheep	6%
<b>Glasgow Short Pain Scale</b>	Mice, rabbits and rats	3%
<b>Helsinki Pain Scale</b>	Rabbits, rats, pigs and sheep	3%
<b>Melbourne Pain Scale</b>	Mice, rabbits, rats, pigs and sheep	3%
<b>Suton Pain Scale</b>	Rabbits, rats, pigs and sheep	3%
<b>Descriptive Pain Scale</b>	Mice and rats	3%

**ANEXO**

## Anexo 1: Modelo de questionário utilizado para a pesquisa

### Informações Pessoais:

Nome: \_\_\_\_\_ Formação: \_\_\_\_\_  
 Rua: \_\_\_\_\_ Nº: \_\_\_\_\_ Complemento: \_\_\_\_\_  
 Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_  
 Tel. Residencial: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ Tel. Comercial: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ Tel. Celular: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_  
 E-mail: \_\_\_\_\_ Home Page: \_\_\_\_\_  
 Local: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### PARTE I: Demografia

1. Faculdade que cursou: \_\_\_\_\_
2. Qualificação e ano da graduação: \_\_\_\_\_
3. Gênero:  feminino  masculino  outro
4. Idade: \_\_\_\_\_
5. Há quanto tempo trabalha com animais de laboratório: \_\_\_\_\_
6. Quais espécies fazem parte do(s) experimento(s):
  - Camundongos
  - Cobaia
  - Coelhos
  - Gerbils
  - Hamster
  - Ratos
  - Outros (especificar) \_\_\_\_\_
7. Possui algum tipo de treinamento para trabalhar com animais de laboratório?
  - Sim
    - Qual(is)? \_\_\_\_\_
  - Não
8. Qual(is) a(s) sua(s) linha(s) de pesquisa? \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_
9. Você acredita que os procedimentos realizados em sua pesquisa cursam com dor?
  - Sim
    - Qual(is)? \_\_\_\_\_
  - Não
    - Qual(is)? \_\_\_\_\_
10. Qual o grau de invasividade do(s) seu(s) experimento(s)? (Veja quadro abaixo)
  - GI1
  - GI2
  - GI3
  - GI4

Grau de Invasividade (GI)	Definições segundo o CONCEA	Descrição / exemplos:
---------------------------	-----------------------------	-----------------------

GI1	Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse.	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; deprivação alimentar ou hídrica por períodos equivalentes à de privação na natureza.
GI2	Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de leve intensidade	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	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	Indução de trauma a animais não sedados.

11. Quais os testes / experimentos invasivos que você realiza? \_\_\_\_\_

12. Dentre estes experimentos, quais são os mais realizados no laboratório que você trabalha?

- Células tumorais
- Farmacológicos
- Cosméticos
- Trauma
- Dor
- Outros (especificar) \_\_\_\_\_

## PARTE II: Avaliação da Dor

1. Você usa algum método objetivo (escala) para avaliar a dor?

- Sim
  - Qual(is)?
    - Escala Analógica Numérica
    - Escala Analógica Facial
    - Outras (especificar) \_\_\_\_\_
- Não

2. A avaliação da dor interfere no protocolo analgésico escolhido?

- Sim
- Não

3. Usa protocolos analgésicos:

- Grupais
- Individualizados
- Não utilizo protocolos analgésicos

4. Há algum tipo de treinamento por parte da instituição para avaliar a dor nos animais?

- Sim
  - Qual(is)? (especificar) \_\_\_\_\_
- Não

5. Possui conhecimento específico sobre o assunto?

- Sim
  - Qual(is)? (especificar) \_\_\_\_\_
- Não

### PARTE III: Controle da Dor

1. Utiliza fármacos analgésicos durante a pesquisa?

- Sim  
 Não

• Qual o(s) motivo(s) para não utilizar analgésicos durante a pesquisa? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

2. Dentre estes fármacos citados a baixo, assinale quais são usados, descreva qual a via de administração, qual frequência e quais procedimentos:

\*Em caso de fármacos não usados, assinale com "X" na opção "NA" (não se aplica) / não utilizo.

<b>Analgésicos opióides:</b>	<b>NA / Não Utilizo</b>	<b>Via Adm./ frequência:</b>	<b>Procedimentos:</b>
<input type="checkbox"/> Buprenorfina			
<input type="checkbox"/> Butorfanol			
<input type="checkbox"/> Morfina (parenteral)			
<input type="checkbox"/> Meperidina			
<input type="checkbox"/> Tramadol			
<input type="checkbox"/> Outros (especificar) _____			

<b>Anti-inflamatórios não esteroidais:</b>	<b>NA / Não Utilizo</b>	<b>Via Adm./ frequência:</b>	<b>Procedimentos:</b>
<input type="checkbox"/> Carprofeno			
<input type="checkbox"/> Cetoprofeno			
<input type="checkbox"/> Meloxicam			
<input type="checkbox"/> Flunixin			
<input type="checkbox"/> Firocoxibe			
<input type="checkbox"/> Outros (especificar) _____			

<b>Outros:</b>	<b>NA / Não Utilizo</b>	<b>Via Adm./ frequência:</b>	<b>Procedimentos:</b>
Anestésicos locais (não epidural):			
<input type="checkbox"/> Bupivacaína <input type="checkbox"/> Lidocaina			
<input type="checkbox"/> Cetamina			
<input type="checkbox"/> Outros (especificar) _____			

3. Dentre os fármacos citados abaixo, descrevaem quais espécies são utilizados e quais as doses administradas:

\*Em caso de fármacos não usados, assinale com "X" na opção "NA" (não se aplica) / não utilizo.

<b>Analgésicos opióides:</b>	<b>NA / Não Utilizo</b>	<b>Espécies:</b>	<b>Doses:</b>
<input type="checkbox"/> Buprenorfina			
<input type="checkbox"/> Butorfanol			
<input type="checkbox"/> Morfina (parenteral)			
<input type="checkbox"/> Meperidina			
<input type="checkbox"/> Tramadol			
<input type="checkbox"/> Outros (especificar) _____			

<b>Anti-inflamatórios não esteroidais:</b>	<b>NA / Não Utilizo</b>	<b>Espécies:</b>	<b>Doses:</b>
<input type="checkbox"/> Carprofeno			

<input type="checkbox"/> Cetoprofeno		
<input type="checkbox"/> Meloxicam		
<input type="checkbox"/> Flunixin		
<input type="checkbox"/> Firocoxibe		
<input type="checkbox"/> Outros (especificar)_____		

<b>Outros:</b>	<b>NA / Não Utilizo</b>	<b>Espécies:</b>	<b>Doses:</b>
Anestésicos locais (não epidural):			
<input type="checkbox"/> Bupivacaina <input type="checkbox"/> Lidocaina			
<input type="checkbox"/> Cetamina			
<input type="checkbox"/> Outros (especificar)_____			

4. Faz uso de métodos não farmacológicos para tratar a dor?  
 \*Por exemplo: oferecer cama mais macia; diminuir a luz na gaiola; deixar água e comida em níveis mais baixos na gaiola, ou mesmo, próximo ao animal com dor; etc.
- Sim  
 Não
- Qual(is)? \_\_\_\_\_
5. Você concorda que a prática de analgesia é muito importante nas pesquisas com experimentação animal?
- Sim  
 Não
6. Na sua opinião, qual a importância da prática de analgesia nas diferentes pesquisas com experimentação animal?
- \_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_

## Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Prezada (o) Colega:

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa intitulada “ESTUDO DEMOGRÁFICO SOBRE O USO DE ANALGÉSICOS EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO POR MÉDICOS VETERINÁRIOS E CIENTISTAS BRASILEIROS”, que faz parte do Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal (PPS), orientado pela Prof<sup>a</sup> Marilda Onghero Taffarel da Universidade Estadual de Maringá (UEM) – Campus Avançado de Umuarama.

O objetivo da pesquisa é realizar estudo demográfico com intuito de demonstrar o cenário atual no tocante ao uso de analgésicos exercido por pesquisadores e veterinários brasileiros em animais de laboratório. Para isto a sua participação é muito importante, e ela se daria respondendo ao questionário desenvolvido especialmente para esta pesquisa. Informamos que são mínimos os possíveis riscos/desconfortos oferecidos por esta pesquisa, e estão relacionados principalmente a quebra de sigilo e exposição dos participantes, mas por utilizar questionário confidencial, com o intuito único de coletar dados para a pesquisa, ninguém além do pesquisador e orientador do projeto terão acesso a estes dados, pessoas as quais são eticamente comprometidas com a pesquisa.

Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade e, após a elaboração da pesquisa, serão destruídos todos os dados obtidos com o questionário.

No Brasil não há pesquisas que abordem o uso de analgésicos em animais de laboratório, apesar de termos milhares de projetos científicos em andamento, muitos

deles que utilizam animais para experimentação, não se sabe qual a realidade brasileira quanto à avaliação e o controle da dor nestes, ou mesmo quais são os principais analgésicos utilizados. Este estudo tenciona preencher esta lacuna, realizando uma pesquisa demográfica que responda de forma objetiva questões que possam ilustrar e esclarecer qual o atual cenário neste contexto.

Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar nos endereços abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta neste documento.

Prof<sup>a</sup> Marilda Onghero Taffarel  
Farmacologia e Anestesiologia Veterinária  
Departamento de Medicina Veterinária  
Universidade Estadual de Maringá  
Email: mtafarel@yahoo.com.br

Mestranda Rubia Mitalli Tomacheuski  
Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal  
Mestrado com ênfase em Anestesiologia  
Universidade Estadual de Maringá, Campus Avançado de Umuarama Fazenda.  
Email: rubia\_mitalli@hotmail.com

COPEP/UEM  
Universidade Estadual de Maringá.  
Av. Colombo, 5790. Campus Sede da UEM.  
Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM.  
CEP 87020-900. Maringá-Pr. Tel: (44) 3261-4444  
E-mail: copep@uem.br



## ANEXO 3: Normas para publicação: Pesquisa Veterinária Brasileira

**INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

**A submissão de artigos à revista “Pesquisa Veterinária Brasileira” (PVB) deve ser feita em Word, através do Sistema ScholarOne, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>**

**A tramitação somente pode ter início se o seu artigo estiver rigorosamente dentro das normas de apresentação da revista**, de acordo com as Instruções aos Autores, o modelo no site da revista e os últimos fascículos publicados ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)). Na verificação de falhas de apresentação, o artigo será devolvido aos autores para as devidas correções.

**Os autores devem submeter seus artigos em inglês ou em português, mas sempre com um Resumo em português. No caso que artigos escritos em português sejam aceitos pelos revisores, estes artigos serão enviados aos respectivos autores para que esses procedam com a tradução para o inglês** e devolução, com o Resumo em português, e de um certificado da conversão da língua, dentro de um prazo dado para isso. **Pois todos os artigos serão publicados em inglês.**

**O texto** deve ser formatado, em todos os pormenores, de acordo com as normas de apresentação da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

**Se o artigo for submetido fora das normas de apresentação, a tramitação somente ocorrerá após as devidas correções feitas pelo autor.**

A PVB publica Artigos Originais, Artigos de Revisão Crítica e Tópicos de Interesse Geral; não publica artigos com a denominação de *Short Communications*.

Os Artigos Originais devem conter resultados de pesquisa ainda não publicados ou submetidos para outros periódicos.

Artigos de Revisão de Literatura, submetidos a convite, devem constituir-se de análise crítica, de assuntos na área de experiência dos autores, isto é, quando os autores já tiverem publicado anteriormente artigos sobre o assunto.

Os raros Tópicos de Interesse Geral devem constituir-se de assuntos de grande importância atual baseado na vasta experiência dos autores.

As opiniões e conceitos emitidos nos artigos submetidos são de responsabilidade dos autores. O Conselho Editorial da PVB, com a assistência da Assessoria Científica, pode sugerir ou solicitar modificações. Os artigos submetidos são avaliados pelos pares (*peer review*) e, aceitos para publicação com dois pareceres favoráveis, ou rejeitados por dois pareceres desfavoráveis.

Os direitos autorais dos artigos aceitos para publicação permanecem com os autores.

**Na ocasião do envio da comunicação de aceite, o(a) autor(a) para correspondência, será cobrada a taxa de publicação (*paper charge*) no valor de R\$ 1.500,00 por artigo.**

**1. Os artigos devem ser organizados em TÍTULO, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (de preferência os últimos três separadamente), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:**

a) O **TÍTULO** deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) **O(s) Autor(es) com numerosos primeiros nomes e sobrenomes, deve(m) padronizar o seu “nome para publicações científicas”,** como por exemplo: Cláudio Severo Lombardo de Barros, escreve Cláudio S.L. Barros ou Barros C.S.L.; Franklin Riet-

Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F. **Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores.** O autor para correspondência deve ser um autor que garante o contato com o Conselho Editorial da PVB. Asteriscos de chamadas para o rodapé devem ser mais uma vez elevados (sobrescritos), para aparecerem maiores e mais nítidos.

c) O **Cabeçalho do ABSTRACT** deve conter, além dos nomes dos autores abreviados invertidos, o ano, o TÍTULO, o endereço postal do laboratório (inclusive o CEP) ou instituição principal onde foi desenvolvida a pesquisa. Endereços postais brasileiros não devem ser traduzidos para o inglês, mesmo em artigos escritos na língua inglesa, a fim de evitar dificuldade na postagem. Devem-se conferir os nomes dos autores do artigo e do Cabeçalho do Abstract para evitar discrepâncias.

d) O **Rodapé da primeira página** deve conter os endereços profissionais postais completos dos autores (evitando-se traços horizontais), na língua do país do respectivo autor (em português, espanhol, inglês) e seus e-mails; o e-mail do autor para correspondência deve ser sublinhado. Os sinais de chamada para os nomes dos autores devem ser números arábicos, colocados em sobrescrito, sem o uso automático de “Inserir nota de fim”, do Word (essas chamadas devem ser contínuas por todo artigo, isto é, em todas as notas de rodapé das outras páginas).

e) O **ABSTRACT** deve ser uma versão do RESUMO, mas pode ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que devem incluir termos do título, por não se tratar somente de “ADDITIONAL INDEX TERMS”.

f) O **RESUMO** deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem termos do título, por não se tratar somente de “TERMOS DE INDEXAÇÃO ADICIONAIS”.

g) A **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal e deve finalizar com a indicação do objetivo do artigo.

h) **MATERIAL E MÉTODOS** deve reunir a totalidade dos dados que permitam o desenvolvimento de trabalho semelhante por outros pesquisadores.

i) Em **RESULTADOS** devem ser apresentados concisamente os dados obtidos.

j) Na **DISCUSSÃO** devem ser confrontados os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los.

k) **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados obtidos e devem ser apresentados em diferentes parágrafos (uma Conclusão somente deve ser apresentada em parágrafo único).

l) Os **Agradecimentos** não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé; devem ser sucintos e colocados antes da Lista de Referências.

m) A Lista de **REFERÊNCIAS** deve incluir todas as citações apresentadas no texto e que tenham servido como fonte para consulta. A Lista deve ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido de todos os demais autores (em caixa alta e baixa), do ano, do título da publicação citada, e abreviado (por extenso em casos de dúvida) o nome do periódico. Sugerimos consultar exemplos dos últimos fascículos ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

(Notem: (1) As Referências citadas no texto devem ser colocadas em ordem cronológica, mas alfabética tratando-se de referências do mesmo ano; (2) Quando utilizados programas de formatação (p.ex. Endnote X7), remover o fundo automático cinzento antes da submissão, para não dificultar eventuais correções.

**2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:**

a) Fonte **Cambria, corpo 10, entrelinha simples; página formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, e b) ABSTRACT e RESUMO serão escritos em um só parágrafo corrente e não devem conter citações bibliográficas.

c) A redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal.

d) Os nomes científicos usados no manuscrito devem ser apresentados por extenso (p.ex. *Palicourea marcgravii*), no início de cada capítulo (TÍTULO, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, etc.), quando aparecem pela primeira vez, seguido da abreviação do gênero (p.ex. *P. marcgravii*).

e) Nos títulos dos Quadros e nas Legendas das Figuras os nomes científicos devem ser apresentados por extenso, já que estes são independentes do texto.

f) No texto, os sinais de chamada para notas de rodapé devem ser números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word.

Notem: para evitar a separação em duas linhas, os numerais devem ser apresentados junto com suas unidades, ou seja, sem espaçamento, por exemplo: 100ppm, 10mm, 50cm, 18x10cm, (P<0,05), 15h; de conveniência quando seguida de letra alta (35 kg ou 35kg, 4 h ou 4h). A abreviação de número é “no” e não “no”; grau Celsius é “oC” e não “oC”.

g) Os Quadros (não usar o termo Tabela) e as Figuras devem ser citados no texto, pelos respectivos números, em ordem crescente e devem ser submetidos separadamente do texto!

h) Siglas e abreviações das instituições, ao aparecerem pela primeira vez, deverão ser colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

i) Citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”, p.ex. (Caldas 2005); artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois (Pedroso & Pimentel 2013); e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano (Brito et al. 2015); se dois artigos não se distinguirem, a diferenciação será feita através do acréscimo de letra minúscula ao ano (Barros 2017a, 2017b). A ordem de citação deve ser cronológica (Barbosa et al. 2003, Armien et al. 2004).

j) **Recomenda-se consultar na íntegra todos os artigos citados**; se isto não for possível, deve-se colocar no texto a referência original (não consultada na íntegra) seguida do ano, p.ex. (Bancroft 1921); na Lista de Referências deve ser incluída a referência original como: Bancroft 1921. .... título. ... periódico. (Apud Suvarna & Layton 2013). A referência consultada também deve ser incluída na Lista de Referências.

k) O uso de “comunicação pessoal” e de “dados não publicados” deve ser feito apenas em casos excepcionais; no texto com citação de Nome e Ano, e na Lista de Referências como: Barbosa 2016. Comunicação pessoal (Universidade Federal do Pará, campus Castanhal).

l) As **Legendas das Figuras** devem conter informações suficientes para sua compreensão (independente do texto); e devem ser precedidas de “Fig.” seguida do número sem espaço, p.ex. “Fig.8. ...”. Para elaboração das legendas sugerimos consultar exemplos nos últimos fascículos ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

(Notem: Na legenda de Figuras compostas deve-se colocar a letra de cada “subfigura” em **negrito** com parênteses claros antes do texto correspondente e devem ser mencionados letras ou sinais, que estão dentro de cada “subfigura”, em parênteses e claros após o respectivo texto da legenda.)

m) O Título dos **Quadros** devem ser em **negrito**, sem ponto, e a “garganta” (título das colunas) deve ser escrita em claro e separada por dois traços longos horizontais; o Título dos Quadros e da “garganta” devem ser escritas em caixa alta e baixa. Os Quadros (não usem o termo Tabela) devem conter os resultados mais relevantes. Não há traços verticais, nem fundos cinzentos; excepcionalmente pode conter traços horizontais. Os sinais de chamada

serão alfabéticos, começando, com “a” em cada Quadro. As chamadas de rodapé deverão ser lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda; e devem evitar números arábicos. Os títulos não têm ponto no final, ao passo que as legendas terminam com um ponto. Os Quadros devem ser apresentados em Word e ser editáveis, a fim de inserirmos eventuais alterações de apresentação, dentro das normas da revista.

n) Dados complexos devem ser expressos por Gráficos (devem ser chamados de **Figuras**). Os gráficos devem ser produzidos em 2D, sem fundo e sem linhas horizontais.

3. Todas as referências citadas no texto devem ser incluídas na Lista de Referências e vice-versa; na revisão final do artigo pelos autores, antes da submissão, isto deve ser conferido criteriosamente, para evitar discrepâncias (o sistema ScholarOne bloqueia automaticamente artigos com discrepâncias).

### **Exemplos de Referências:**

\*Artigos publicados em periódicos:

Pavarini S.P., Soares M.P., Bandarra P.M., Gomes D.C., Bandinelli M.B., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2011. Mortes súbitas causadas por *Amorimia exotropa* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 31(4):291-296.

Hooiveld M., Smit L.A., Wouters I.M., Van Dijk C.E., Spreeuwenberg P., Heederik D.J. & Yzermans C.J. 2016. Doctor-diagnosed health problems in a region with a high density of concentrated animal feeding operations: a cross-sectional study. *Environ. Health* 17:15-24.

(Notem: Os iniciais dos autores devem ser colocados sem espaço. O sinal “&” é usado para separar o penúltimo do último autor. As primeiras letras das palavras do título de artigos publicados em periódicos científicos devem ser de preferência minúsculas. A palavra “Revista” deve ser abreviada como “Revta” em diferença a “Rev.”, do inglês “Review”. Deve-se indicar o número do respectivo volume do periódico e, se possível, também do fascículo. Somente abreviações tem um ponto, exceto as que terminam com a última letra da palavra em extenso. O traço entre as páginas é curto (-) e não comprido. Não devem ser usados “ponto-vírgulas” (;) em lugar de vírgulas.

\*Livros:

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.305-348.

Marsh P. & Martin M. 1992. *Oral Microbiology*. 3rd ed. Chapman and Hall, London, p.167-196.

(Notem: A primeira letra de termos do título de livros deve ser maiúscula. Devem ser mencionadas as páginas que foram consultadas, em vez do total de páginas do livro.

\*Capítulos de livros:

Barros C.S.L. 2007. Doenças víricas: leucose bovina, p.159-169. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Equídeos*. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas que afetam o funcionamento do coração, p.27-94. In: *Ibid.* (Eds), *Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção*. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro.

(Notem: As primeiras letras das palavras do título de capítulos de livros são minúsculas, mas as de livros são maiúsculas.)

\*Dissertações e Teses:

Silva R.M.M. 2016. Prevalência, identificação e distribuição das lesões abscedativas em caprinos e ovinos abatidos em um matadouro frigorífico no Estado da Bahia. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 56p.

Sant'Ana V.A.C. 2004. Proteínograma do leite de vacas: padrões e variabilidade. Tese de Doutorado, Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP. 161p.

(Notem: (1) Deve-se evitar se referir a Dissertações ou Teses em vez de aos artigos baseados nas mesmas e publicados em periódicos científicos que são de mais fácil acesso. (2) Não deve-se tentar de publicar o texto de Dissertação ou Tese praticamente na íntegra sem escrever um artigo conciso de seus resultados.

\*Resumos publicados em eventos:

Mendonça F.S., Almeida V.M., Albuquerque R.F., Chaves H.A.S., Silva Filho G.B., Braga T.C., Lemos B.O. & Riet Correa F. 2016. Paralisia laríngea associada à deficiência de cobre em caprinos no semiárido de Pernambuco (IX Endivet, Salvador, BA). *Pesq. Vet. Bras.* 36(Supl.2):50-51. (Resumo)

Pierezan F., Lemos R.A.A., Rech R.R., Rissi D.R., Kommers G.D., Cortada V.C.L.M., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2007. Raiva em equinos. *Anais XIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, MS*, p.145-146. (Resumo)

(Notem: Evitar na consulta o uso de Resumos ao invés de artigos na sua íntegra!)

---