



V Forum de Ensaio Pré-clínicos

## Avaliação da dor em animais de laboratório

Stelio Pacca L Luna



fmvz – unesp  
Botucatu - SP - Brazil


1

## Sumário

- ▶ Por que avaliar a dor
- ▶ Como avaliar a dor
- ▶ Diferenças entre as escalas
- ▶ Escalas validadas nas diferentes espécies

2

### Premissa 1 - Sensciência



3

### Premissa 2 - negligência


2000 cientistas

106 respostas (5,3%)

Dor em 61% dos estudos

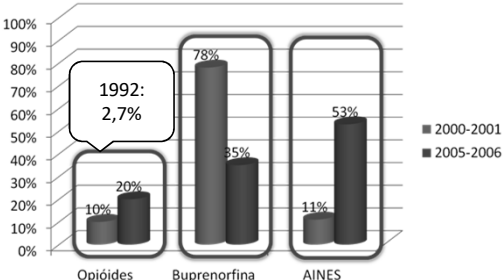
63% usavam escalas de dor

8% sem analgesia



Tomacheuski et al 2018

### Uso de analgésicos e anestésicos em ratos e camundongos (comparação entre 2000-2001 e 2005-2006)



Substância	2000-2001	2005-2006
Opióides	10%	20%
Buprenorfina	78%	35%
AINES	11%	53%

1992: 2,7%

Stokes et al. Lab Anim, 43(2):149-54, 2009. Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures

### Problemas na avaliação e tratamento da dor em animais de laboratório

- estudos com cirurgia sem analgesia: "não havia dor"...

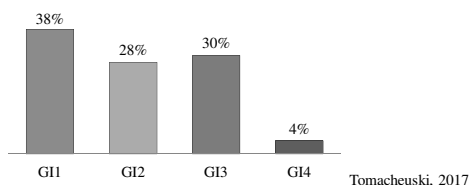
Labat et al – Laboratory animals, 36:426-31, 2002 – Transplante de carótida e aorta

Grau & Steiniger - Laboratory animals, 37:162-5, 2003  
Transplante renal bilateral

6

### Qual o cenário brasileiro?

Figura 1: Grau de invasividade em porcentagem de experimentos conduzidos em animais de laboratório por pesquisadores brasileiros entre Outubro/2016 à Outubro/2017.



### Qual o cenário brasileiro?

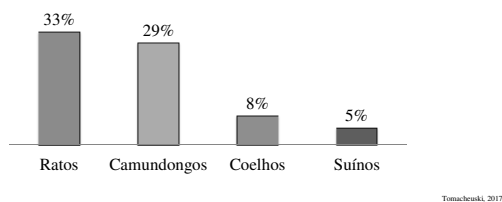
Tabela 1: Principais estudos conduzidos em animais de laboratório no Brasil entre Outubro/2016 à Outubro/2017.

Experimentos conduzidos em animais de laboratório	
Testes farmacológicos	35%
Dor	13%
Trauma	7%
Células tumorais	6%

Tomache

### Qual o cenário brasileiro?

Figura 1: Espécies de animais de laboratório mais usadas em experimentos no Brasil entre Outubro/2016 à Outubro/2017.



### Qual o cenário brasileiro?

- 62% experimentos cursam dor!

- 15% não utiliza analgésico!

### Qual o cenário brasileiro?

Tabela 2: Principais analgésicos utilizados em animais de laboratório entre Outubro/2016 à Outubro/2017.

Principais analgésicos usados em animais de laboratório no Brasil	
Morfina	44%
Meloxicam	43%
Tramadol	37%

27% utiliza método não farmacológico

Tomacheuski, 2017

### Qual o cenário brasileiro?

- 77% IES não oferecem treinamento avaliar dor

- 24% respondentes nenhum treinamento

### Qual o cenário brasileiro?

Tabela 3: Experiência de trabalho (em anos) com animais de laboratório dos participantes do estudo demonstrada por porcentagem, correlacionada ao uso de analgésicos.

**Experiência (em anos) de trabalho com animais de laboratório**

Uso de analgésicos	0 - 1	1 - 5	5 - 10	10 - 20	20 - 30	30 - 50	Total
Não	3%	13%	9%	0%	2%	3%	35%
Sim	2%	20%	18%	13%	2%	2%	65%

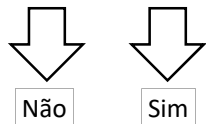
↑ Experiência = ↑ uso de analgésicos (p = 0.0069)

Tomacheuski, 2017

### CONCLUSÃO

A avaliação e controle da dor em animais de laboratório ainda são negligenciados no Brasil.

O animal sente dor?



Quantificação da dor

Qual intensidade

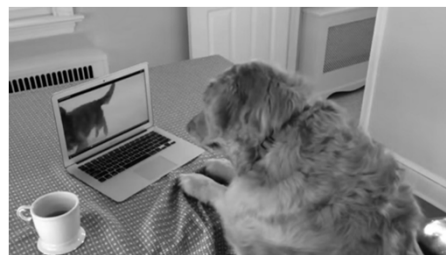
- › Eficácia
- › Duração

Analgésicos

É necessário analgesia resgate?

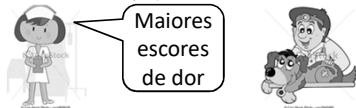
15

### Premissa 3 – mensuração – metrologia treinamento



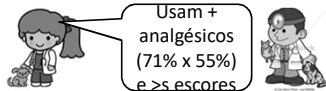
### Porque validar a escala de dor? Há diferenças em

Experiências e cuidados entre avaliadores (Coleman & Slingsby. Vet Rec,160, 541-544, 2007)



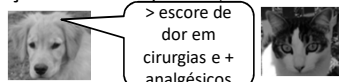
Maiores escores de dor

Gênero (Hugonnard et al 2004 – VAA 31, 154-163)



Usam + analgésicos (71% x 55%) e > s escores

Diferenças entre as espécies (Lorena et al 2014 VAA)



> escore de dor em cirurgias e + analgésicos

### Diferenças entre métodos de avaliação da dor

EAV

x

Análise de comportamento

31-54%

Sucesso em diferenciar animais com ou sem analgesia pós-operatória

89%




Experiência não garante confiabilidade



Roughan & Flecknell – Applied Anim Behav Sci, 96:327-42, 2006

Premissa 4 – dor é multifatorial


- Sensorial
  - Ai!
- Afetiva/emocional
  - O que o animal sente?
- Cognitiva/avaliativa
- Funcional
  - O quanto ele pode pular?



19

Quais são as ferramentas para avaliar a dor?

- Fisiológicas
  - Cardiorrespiratórias
    - FC, FR, PA, Temperatura
  - Endócrinas
  - Podometria (plataformas de força e pressão)
  - Outras: salivação, tamanho da pupila
- Comportamento



20

Premissa 5 – comportamento

.....**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL**

Principal ferramenta para avaliar a dor nos animais

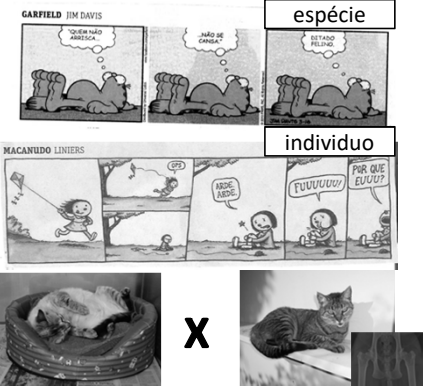


21

Premissa 6 – espécie; indivíduo; dor aguda x crônica

espécie

indivíduo



22

Como avaliar a dor?

?

Padrão ouro: expressão verbal



24

## E nos animais?

NÓS decidimos!



25

## DESAFIO



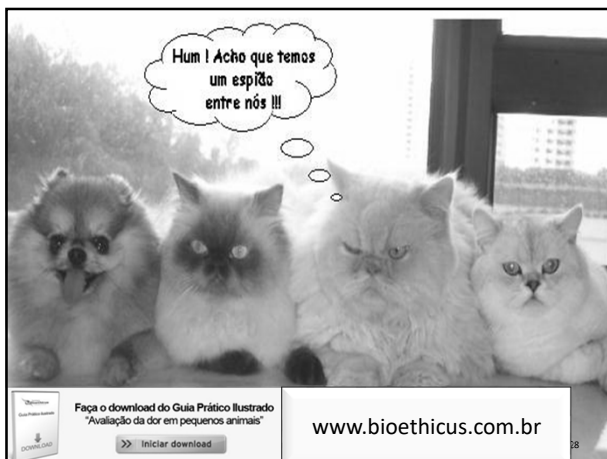
Avaliar a dor em seres que não se expressam verbalmente

26

## Antropomorfismo crítico



27



28

Há muitas escalas para avaliar a dor em animais. Qual devo usar?

?

- Descritiva simples
- Contagem numérica
- EAV
- Facial
- Escalas de contagem variável

29

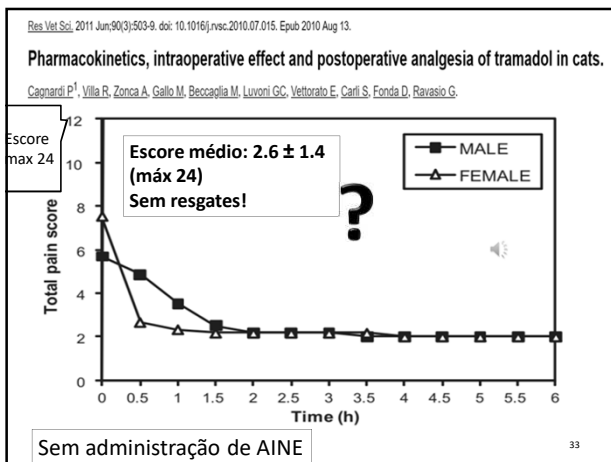
Há diferença em usar uma escala validada?



Qual é o problema em usar escalas não validadas?  
 Não há certeza de:

- Confiabilidade
  - Intra-observador
  - Inter-observadores
- Sensibilidade
  - Verdadeiros “+” (identificar corretamente animais com dor)
- Especificidade
  - Verdadeiros “-” (identificar corretamente animais sem dor)
- Ponto de intervenção analgésica
  - Escore mínimo para intervenção analgésica

**Escalas não validadas são confiáveis?**



1) detecção dos sinais de dor

Antes da cirurgia


1-4hs após cirurgia

Após resgate analgésico

24hs após cirurgia

2) Análise dos vídeos - etograma

- Identificação dos sinais de dor mais relevantes (etograma)



## Avaliação da dor em animais de laboratório

Escalas parcialmente validadas

37

### Escala de faces Wong Baker



4 6 8 10

dor moderada dor forte dor insuportável

### Particularidades na avaliação da dor em espécies de laboratório

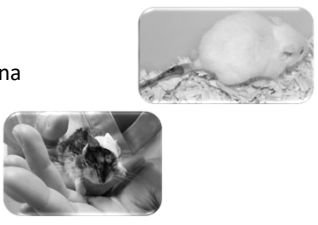
- Familiaridade com as espécies
- Condições ambientais
- Diferenças entre as espécies



Slide de Renata Haddad

### Comportamentos inespecíficos

- ↓ apetite
- Arqueamento da coluna
- Alteração na pelagem
- Área afetada



Slide de Renata Haddad

### Comportamentos inespecíficos

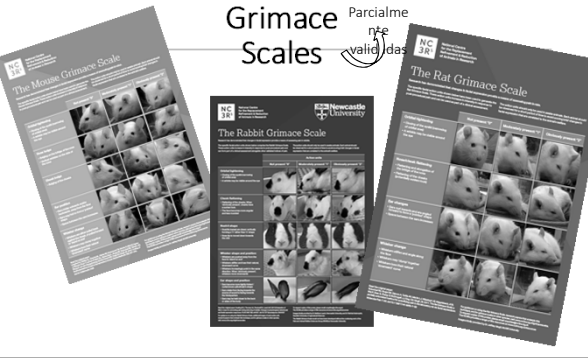
- Comportamento de escavação
- Ninhos



(ANDREWS et al., 2011; JIRKOF, 2014)

### Grimace Scales

Parcialmente validadas



The Mouse Grimace Scale  
The Rabbit Grimace Scale  
The Rat Grimace Scale

**Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse**

Dale J Langford<sup>1</sup>, Andrea L Bailey<sup>1</sup>, Mona Lisa Chandu<sup>1</sup>, Sarah E Clarke<sup>1</sup>, Tanya E Drummond<sup>1</sup>, Stephanie Echols<sup>1</sup>, Sarah Glick<sup>1</sup>, Joëlle Ingrassia<sup>1</sup>, Tammy Klassen-Ross<sup>1</sup>, Michael L LaCroix-Fralish<sup>1</sup>, Lynne Matsumiya<sup>1</sup>, Robert E Sorge<sup>1</sup>, Susana G Sotocinal<sup>1</sup>, John M Tabaka<sup>1</sup>, David Wong<sup>1</sup>, Arn M J M van den Maagdenberg<sup>1</sup>, Nichol D Ferrari<sup>1</sup>, Kenneth D Craig<sup>1</sup> & Jeffrey S Mogil<sup>1</sup>

*NATURE METHODS* | 10.1038/nmeth.2010 | 447

Not present 0	Moderate 1	Severe 2
Orbital tightening		
Nose bulge		
Cheek bulge		
Ear position		
Whisker change		

Not present 0	Moderate 1	Severe 2
APERTO DOS OLHOS		
PROTUBERÂNCIA DO FOCINHO		

44

Not present 0	Moderate 1	Severe 2
PROTUBERÂNCIA DAS BOCHECHAS		
POSICIONAMENTO DAS ORELHAS		

Not present 0	Moderate 1	Severe 2
ALTERAÇÃO NAS VIBRISSAS		

Lab. Anim. 2015 Apr;49(2): 117-20. doi: 10.1177/0023677214559084. Epub 2014 Nov 6.

**Using the mouse grimace scale to assess pain associated with routine ear notching and the effect of analgesia in laboratory mice.**

Miller AL<sup>1</sup>, Leach MC<sup>2</sup>.

**Inadequada para avaliar a dor após corte de orelha...**

**Dificuldade em avaliar as vibrissas**

Leach et al. (2012) & Miller et al. (2016)

### Mouse Grimace Scale

- Escores basais > zero
- Diferenças entre linhagens; sexo
- Avaliação por fotos (necessita estudos in loco)
- Pontuação *in situ* menor que pontuação nas fotos

RESEARCH ARTICLE  
**The Mouse Grimace Scale: A Clinically Useful Tool?**

Amy L. Miller<sup>1</sup>, Matthew C. Leach  
School of Agriculture, Food and Rural Development, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom  
\*amy.miller@ncl.ac.uk

Slide de Renata Haddad

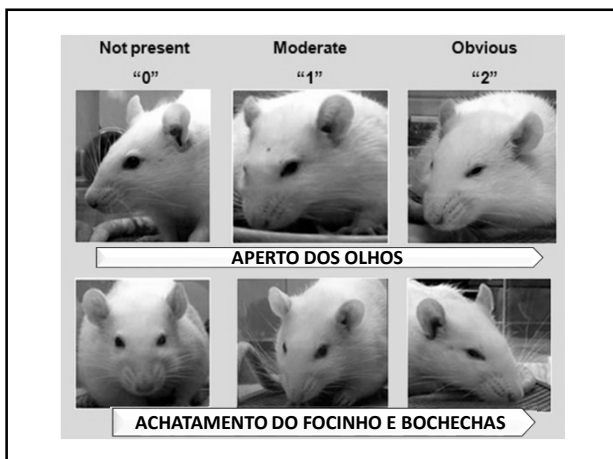
### The Rat Grimace Scale: A partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions

Sotocinal et al. *Molecular Pain* 2011, 7:55  
<http://www.molecularpain.com/content/7/1/55>

Susana G Sotocinal<sup>1</sup>, Robert E Sorge<sup>1</sup>, Austin Zaloum<sup>1</sup>, Alexander H Tuttle<sup>1</sup>, Loren J Martin<sup>1</sup>, Jeffrey S Wieskopf<sup>1</sup>, Josiane CS Mapplebeck<sup>1</sup>, Peng Wei<sup>2</sup>, Shu Zhan<sup>3</sup>, Shuren Zhang<sup>3</sup>, Jason J McDougall<sup>3</sup>, Oliver D King<sup>2</sup> and Jeffrey S Mogil<sup>1</sup>

48





### Rat Grimace Scale

- Método viável e rápido de avaliação da dor
- Avaliação *in situ*

**Performance of behavioral assays: the Rat Grimace Scale, burrowing activity and a composite behavior score to identify visceral pain in an acute and chronic colitis model**  
Wan S.Y. Leung, Marie-Cécile Benoît-Blochmann, Daniel S.J. Pang

- Definição de ponto de corte para resgate analgésico (*curva ROC*)
- Confiabilidade intra e interobservadores

**Psychometric Assessment of the Rat Grimace Scale and Development of an Analgesic Intervention Score**  
Vanessa Oliver<sup>1</sup>, Debbie De Rantere<sup>1</sup>, Rheanne Ritchie<sup>2</sup>, Jessica Chisholm<sup>1</sup>, Kent G. Hecker<sup>1</sup>, Daniel S. J. Pang<sup>1,3\*</sup>

Slide de Renata Haddad

### The relationship between the Rat Grimace Scale and mechanical hypersensitivity testing in three experimental pain models

D. De Rantere<sup>1</sup>, C.J. Schuster<sup>1</sup>, J.N. Reimer<sup>1</sup>, D.S.J. Pang<sup>1,2</sup> Eur J Pain 20 (2016) 417-426

### Psychometric Assessment of the Rat Grimace Scale and Development of an Analgesic Intervention Score

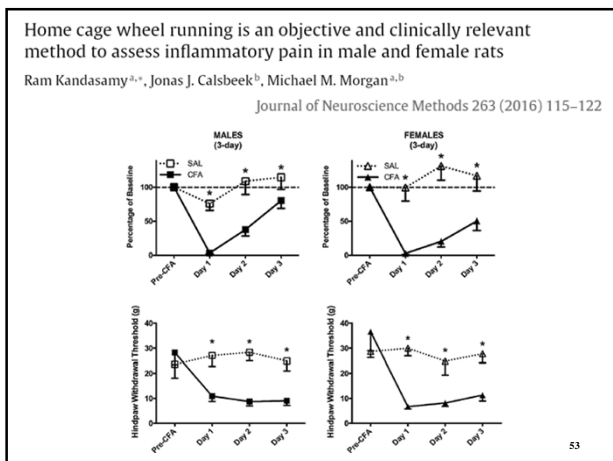
Vanessa Oliver<sup>1</sup>, Debbie De Rantere<sup>1</sup>, Rheanne Ritchie<sup>2</sup>, Jessica Chisholm<sup>1</sup>, Kent G. Hecker<sup>1</sup>, Daniel S. J. Pang<sup>1,3\*</sup> PLOS ONE | www.plosone.org April 2014 | Volume 9 | Issue 5 | e97882

**Resgate > 0,67**

### Real-time application of the Rat Grimace Scale as a welfare refinement in laboratory rats

Vivian Leung<sup>1</sup>, Emily Zhang<sup>1</sup> & Daniel SJ Pang<sup>1,2</sup> SCIENTIFIC REPORTS | 6:31667 | DOI:10.1038/srep31667

[www.nature.com/scientificreports/](http://www.nature.com/scientificreports/)



### Validation of a Behavioral Ethogram for Assessing Postoperative Pain in Guinea Pigs (*Cavia porcellus*)


Journal of the American Association for Laboratory Animal Science Vol 55, No 1 January 2016 Pages 29-34

Misha L Dunbar, Emily M David, Marian R Aline, and Jennifer L Lofgren\*

Category	Inclusive Behaviors
<b>Movement</b>	Forward or backward motion, turning the body or head, head or neck extensions, ambulation
<b>Chew</b>	May or may not be observed with coprophagy behavior
<b>Bite or Lick Bars</b>	Biting or licking of mesh floor in observational cage
<b>Subtle Body Movements</b>	Abdominal contraction, back arching, twitching, and weight shifting

Keating SCJ, Thomas AA, Flecknell PA, Leach MC (2012) Evaluation of EMLA cream for preventing pain during tattooing of rabbits: Changes in physiological, behavioural and facial expression responses. *PLOS ONE* 7(9): e44437.


**Orbital Tightening**



Not Present (0)      Moderately Present (1)      Obviously Present (2)

The eyelid is partially or completely closed. The globes themselves may also be drawn in toward the head so that they protrude less. If the eye closure reduces the visibility of the eye by more than half, it would be scored as '2' or 'obviously present'.

**Cheek Flattening**

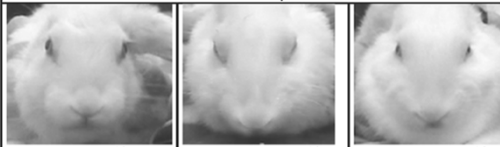


Not Present (0)      Moderately Present (1)      Obviously Present (2)

Contraction around the muzzle so that the whisker pads are pressed against the side of the face. The side contour of the face and nose is angular and the rounded appearance of the cheeks to either side of the nose is lost.

55


**Nose Shape**



Not Present (0)      Moderately Present (1)      Obviously Present (2)

The nares (nostril slits) are drawn vertically creating a more pointed nose that resembles a 'V' more than a 'U'. The tip of the nose may also be tucked under towards the chin exaggerating this appearance.


**Whisker Position**



Not Present (0)      Moderately Present (1)      Obviously Present (2)

Whiskers are straightened and extended horizontally or pulled back toward the cheeks instead of the normal position where whiskers tend to have a gentle downward curve.

**Ear Position**




Not Present (0)      Moderately Present (1)      Obviously Present (2)

Normally the ears are roughly perpendicular to the head, facing forward or to the side, held in an upright position away from the back and sides of the body with a more open and loosely curled shape. In pain the ears rotate away from normal position to face towards the hindquarters, tend to curve backward and be held closer to the back or sides of the body and have a more tightly folded or curled shape (i.e. more like a tube).

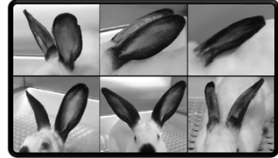
57

**Rabbit Grimace Scale**

APERTO DOS OLHOS



POSIÇÃO E FORMATO DAS ORELHAS




Evaluation of EMLA Cream for Preventing Pain during Tattooing of Rabbits: Changes in Physiological, Behavioural and Facial Expression Responses  
 Stephanie C. J. Keating<sup>1</sup>, Aurika A. Thomas<sup>1</sup>, Paul A. Flecknell<sup>2</sup>, Matthew C. Leach<sup>3\*</sup>  
<sup>1</sup>Department of Health, Behavior and Society, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, United States of America, <sup>2</sup>Department of Veterinary Clinical Science, Royal (Dick) Veterinary School, Edinburgh, United Kingdom, <sup>3</sup>Department of Veterinary Clinical Science, Royal (Dick) Veterinary School, Edinburgh, United Kingdom

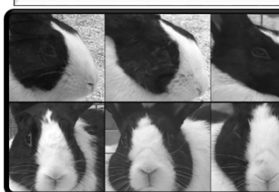
Slide de Renata Haddad

**Rabbit Grimace Scale**

ACHATAMENTO DAS BOCHECHAS



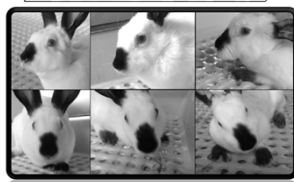
FORMATO DO FOCINHO



Slide de Renata Haddad

**Rabbit Grimace Scale**

ALTERAÇÃO NAS VIBRISSAS



Slide de Renata Haddad

## Rabbit Grimace Scale

- "Observação do aperto dos olhos e posicionamento e formato das orelhas"
- "Não foram identificadas as outras alterações faciais"

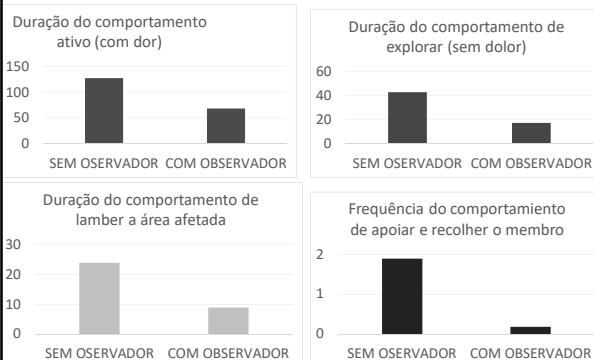
Capsaicin neither reduces postoperative facial expression scores in rabbits treated with buprenorphine nor alters long-term bone formation after maxillary sinus grafting

Patricia Haddad<sup>1\*</sup>, Ana Carolina<sup>2</sup>, Andreia<sup>3</sup>, Andréa<sup>4</sup>, Andréa<sup>5</sup>, Andréa<sup>6</sup>, Andréa<sup>7</sup>, Andréa<sup>8</sup>, Andréa<sup>9</sup>, Andréa<sup>10</sup>, Andréa<sup>11</sup>, Andréa<sup>12</sup>, Andréa<sup>13</sup>, Andréa<sup>14</sup>, Andréa<sup>15</sup>, Andréa<sup>16</sup>, Andréa<sup>17</sup>, Andréa<sup>18</sup>, Andréa<sup>19</sup>, Andréa<sup>20</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>2</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>3</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>4</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>5</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>6</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>7</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>8</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>9</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>10</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>11</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>12</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>13</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>14</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>15</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>16</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>17</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>18</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>19</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; <sup>20</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Slide de Renata Haddad

## Diferença da ausência ou presença do observador



62

## Desafios ao avaliar dor em coelhos

- Tipos de alojamentos
- Manejo
- Diferentes tipos de cirurgia
- Presas na natureza
- **Influência do observador**



## E o futuro?



**Renata Haddad**  
**FCAV-Unesp-Jaboticabal**  
**Univ Newcastle-Matt Leach**

64

## Conclusões

- **treinamento**
- a dor é uma experiência **multifatorial**
- a avaliação da dor deve ser **multimodal**
- é importante **mensurar** a dor (metrologia) para **qualificá-la** e **quantificá-la**
- é fundamental usar uma escala validada para **avaliação precisa da dor**, senão a dor é **subdimensionada**

**OBRIGADO!**

stelio.pacca@unesp.br