



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

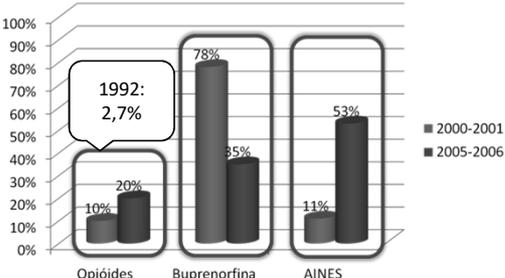
63% usavam escalas de dor

8% sem analgesia



Tomacheuski et al 2018

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



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

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"...

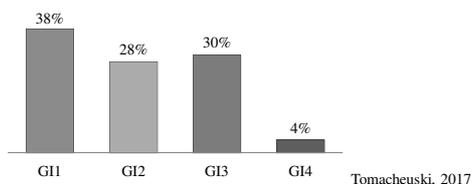
Labat et al – Laboratory animals, 36:426-31, 2002 – Transplante de carótida e aorta

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?

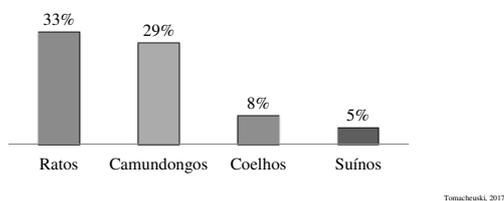
Tabela 1: Principais estudos conduzidos em animais de laboratório no Brasil entre Outubro/2016 à Outubro/2017.

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%

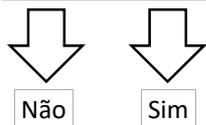
↑ Experiência = ↑ uso de analgésicos (p = 0.0069)

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

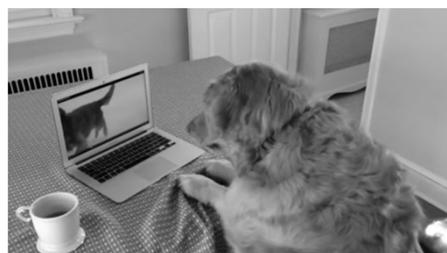
- › Eficácia
- › Duração

Analgésicos

É necessário analgesia resgate?

15

Premissa 3 – mensuração – metrologia treinamento

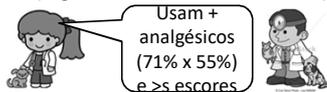


Porque validar a escala de dor? Há diferenças em

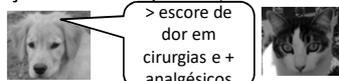
Experiências e cuidados entre avaliadores (Coleman & Slingsby. Vet Rec,160, 541-544, 2007)



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



Diferenças entre as espécies (Lorena et al 2014 VAA)



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

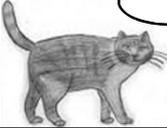
20

Premissa 5 – comportamento



.....AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL

Principal ferramenta
para avaliar a dor nos
animais



21

Premissa 6 – espécie; indivíduo; dor aguda x crônica

espécie



indivíduo





X



22

Como avaliar a dor?

?

Padrão ouro: expressão verbal



24

E nos animais?

NÓS decidimos!



25

DESAFIO



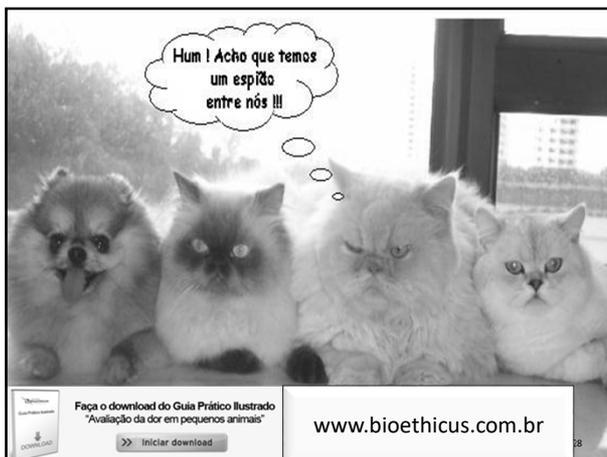
Avaliar a dor em seres que não se expressam verbalmente

26

Antropomorfismo crítico



27



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

?

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

29

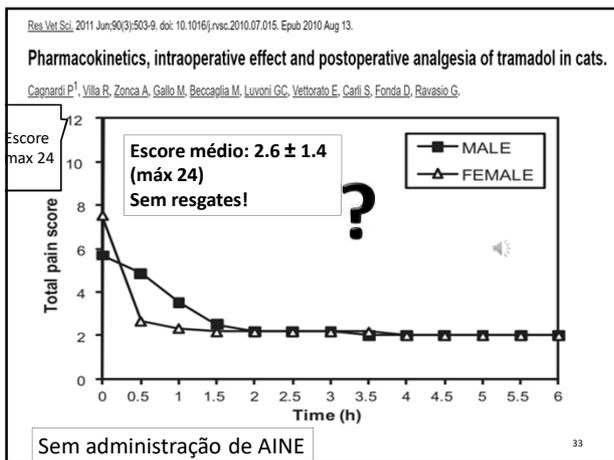
Há diferença em usar uma escala validada?



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



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



Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse

Dale J Langford¹, Andrea L Bailey¹, Mona Lisa Chandu¹, Sarah E Clarke¹, Tanya E Drummond¹, Stephanie Echols¹, Sarah Glick¹, Joëlle Ingrassia¹, Tammy Klassen-Ross¹, Michael L LaCroix-Fralish¹, Lynne Matsumiya¹, Robert E Sorge¹, Susana G Sotocinal¹, John M Tabaka¹, David Wong¹, Arn M J M van den Maagdenberg¹, Nichol D Ferrari¹, Kenneth D Craig¹ & Jeffrey S Mogil¹

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 AL¹, Leach MC².

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. Miller¹, Matthew C. Leach¹
School of Agriculture, Food and Rural Development, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom
*amy.miller@ncl.ac.uk

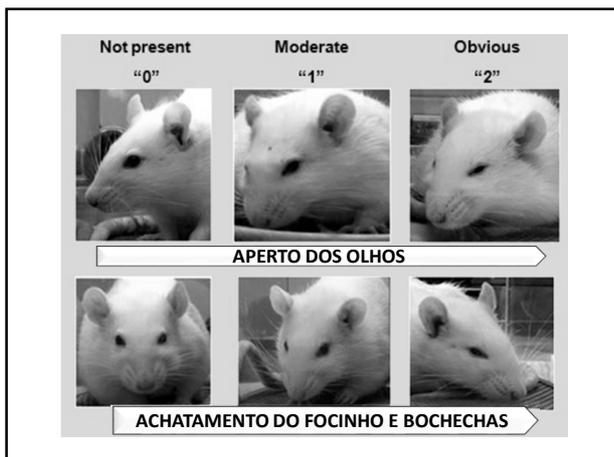
Slide de Renata Haddad

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 Sotocinal¹, Robert E Sorge¹, Austin Zaloum¹, Alexander H Tuttle¹, Loren J Martin¹, Jeffrey S Wieskopf¹, Josiane CS Mapplebeck¹, Peng Wei², Shu Zhan³, Shuren Zhang³, Jason J McDougall³, Oliver D King² and Jeffrey S Mogil¹

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 Oliver¹, Debbie De Rantere¹, Rheanne Ritchie², Jessica Chisholm¹, Kent G. Hecker¹, Daniel S. J. Pang^{1,3*}

Slide de Renata Haddad

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

D. De Rantere¹, C.J. Schuster¹, J.N. Reimer¹, D.S.J. Pang^{1,2} Eur J Pain 20 (2016) 417-426

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

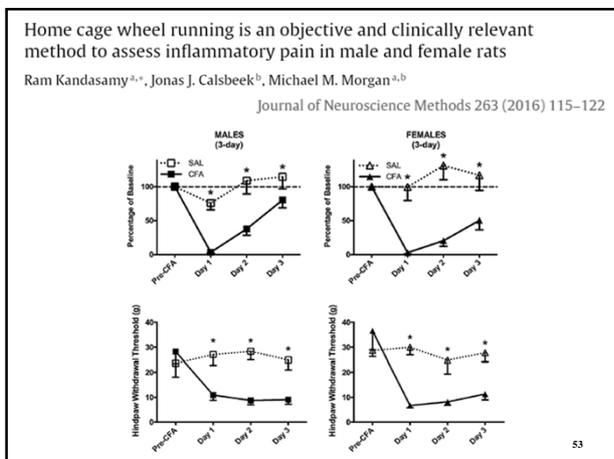
Vanessa Oliver¹, Debbie De Rantere¹, Rheanne Ritchie², Jessica Chisholm¹, Kent G. Hecker¹, Daniel S. J. Pang^{1,3*} PLOS ONE | www.plosone.org April 2014 | Volume 9 | Issue 5 | e97882

Resgate > 0,67

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

Vivian Leung¹, Emily Zhang¹ & Daniel SJ Pang^{1,2} SCIENTIFIC REPORTS | 6:31667 | DOI:10.1038/srep31667

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
Movement	Forward or backward motion, turning the body or head, head or neck extensions, ambulation
Chew	May or may not be observed with coprophagy behavior
Bite or Lick Bars	Biting or licking of mesh floor in observational cage
Subtle Body Movements	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. Keating¹, Aurika A. Thomas¹, Paul A. Flecknell², Matthew C. Leach^{3*}
¹Department of Health, Behavior and Society, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, United States of America, ²Department of Veterinary Clinical Science, Royal (Dick) Veterinary School, Edinburgh, United Kingdom, ³Department 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

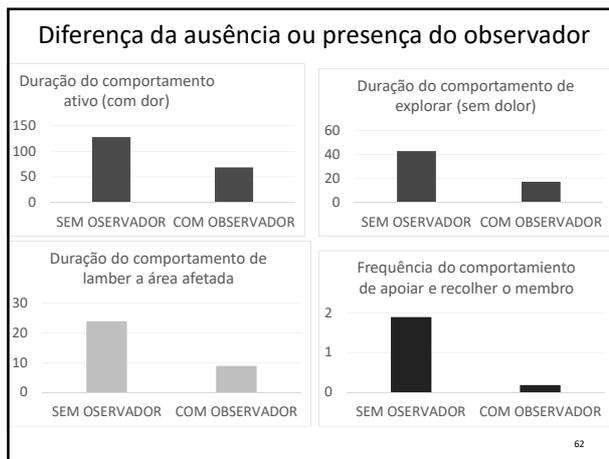
Rabbit Grimace Scale

- "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^{1*}, Aneta Thibault², Andrew Thor³, Ondra Ley⁴, Steve Emsw⁵, Matthew Green-Watson⁶

* Corresponding author: patricia.haddad@unesp.br
 † Equal contributors: Aneta Thibault, Andrew Thor, Ondra Ley, Steve Emsw, Matthew Green-Watson
 ‡ Additional authors: Aneta Thibault, Andrew Thor, Ondra Ley, Steve Emsw, Matthew Green-Watson

Slide de Renata Haddad



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