

Orientações para procedimentos cirúrgicos

1. Definição da dor

A associação internacional para o Estudo da Dor (International Association for the Study of Pain, ISAP) definiu: "A dor como uma sensação desagradável e uma experiência emocional associada com um dano tecidual potencial ou real". Os processos dolorosos acarretam uma série de alterações fisiológicas que interferem nos eixos neuroendócrinos, aumentando os níveis de aldosterona, cortisol (levando a hiperglicemia), catecolaminas (alterações cardíacas) e provocando alterações respiratórias. Por isso, experimentos que causem dor podem alterar os resultados que utilizem os parâmetros citados acima. Uma vez que mecanismos neurofisiológicos envolvidos na percepção da dor são semelhantes ao homem, quando um estímulo é doloroso para uma pessoa, assim será para o animal (LAPCHIK et al., 2010). O pesquisador possui responsabilidade ética de evitar a dor em qualquer experimento com animais, exceto nos casos onde a dor é um parâmetro importante a ser avaliado.

1.1 Parâmetros de Dor em Ratos

Os parâmetros de dor e analgesia em animais são avaliados indiretamente por meio de atitudes comportamentais e dados fisiológicos. Por isso, o comportamento dos animais * deve ser conhecido, para que comparativamente avaliemos o comportamento de dor. Existem diferenças individuais com relação à idade, sexo, estado de saúde, em resposta à dor e a fármacos utilizados no controle de analgesia (LAPCHIK et al., 2010). Os parâmetros de dor podem também ser classificados de acordo com os sinais apresentados pela FELASA (Federetion of European Laboratory Animal Science) indicados na Tabela 1.

*Utilizados como modelos experimentais.

Tabela 1- Parâmetros de Dor em Ratos.

Brando	Moderado	Substancial
Redução no ganho de peso Consumo de água e comida entre 40-75% do consumo normal por 72 horas	Perda de peso de 20% Em 72 horas ingere 40% do consumo de água e comida	Perda de peso de 25% Em 72 horas ingere menos de 40% do consumo normal (inapetência) de água e comida
Piloereção parcial	Piloereção marcante	Piloereção marcante com sinais de desidratação
Interação com olhar fixo	Interação com o olhar pouco fixo	Não há interação
Vocalização transitória	Vocalização intermitente quando provocado	Vocalização não provocada "angustia"
Secreção óculo-nasal discreto	Secreção óculo-nasal persistente	Secreção óculo-nasal intenso
Respiração normal	Frequência respiratória anormal	Dispnéia
Tremor transitório	Tremor intermitente	Tremor persistente
Não apresenta convulsão	Convulsão intermitente	Convulsão persistente
Não há prostração	Prostração transitória (menos de 1 hora)	Prostração prolongada (mais de 1 hora)
Não há automutilação	Não há mutilação	Automutilação

Fonte: FELASA (1992)

2. Procedimentos Cirúrgicos

Procedimentos cirúrgicos devem ser somente realizados por pessoas habilitadas e competentes, utilizando as melhores técnicas cirúrgicas disponíveis com procedimentos anestésicos e analgésicos que mais se adéquem a espécie, natureza, duração do procedimento e aos objetivos científicos (HUBRECHT; KIRKWOODM, 2012).

2.1 Considerações Pré-anestésicas

2.1.1 Inspeção Clínica e Cuidados

A inspeção clínica do animal antes do procedimento anestésico fornece informações importantes sobre seu estado de saúde, sendo fundamental observar o estado de hidratação e a presença de sinais clínicos respiratórios que são muito comuns em roedores (ex; infecção por *Mycoplasma Pulmonis*). Outro cuidado importante é com a massa corporal no momento

de cálculo das doses dos fármacos, esse deve ser preciso para se evitar sobredosagem (PRITCHETT e CORNING, 2014). Não é necessário jejum prévio em roedores, pois estes não vomitam, além disso, se tornam hipoglicêmicos muito rapidamente quando em jejum. O jejum só é necessário quando da cirurgia gastrointestinal superior, mas o estômago só ficará completamente vazio se conseguirmos evitar a coprofagia, o jejum deve ser de no máximo 6 a 8 horas. (ANDRADE et al., 2002).

O transporte de animais promove aumento da frequência cardíaca, perda de peso, elevação da concentração plasmática de adrenalina, noradrenalina, glicemia, cortisol, ácidos graxos livres, alteração de carboidratos e proteínas plasmáticas, da osmolaridade e do metabolismo lipídico, além de promover neutrofilia e linfopenia; um estudo demonstrou ainda que essas alterações permanecem por aproximadamente 7 dias, e dependendo do genótipo do animal, podem durar várias semanas (WELBERG et al., 2006). Portanto, antes de iniciar qualquer procedimento com os animais, reservar pelo menos sete dias (preferencialmente quatorze dias) para a aclimatização ao novo ambiente mesmo que o animal tenha apenas mudado de uma seção para outra dentro do mesmo biotério (NEVES, et.al, 2013).

Toda anestesia afeta a termorregulação em pequenos animais. Com isso, a temperatura corporal sofre redução, a menos que sejam tomadas medidas preventivas. A queda é exacerbada pelo fluxo de ar frio da máquina de anestesia, pela depilação do animal, pelo uso de preparados frios na pele, pela mesa operatória fria, pela exposição das vísceras durante a cirurgia e pela administração de fluidos frios. Animais menores têm uma superfície maior em relação ao volume, e são, portanto, muito susceptíveis ao frio. Essa perda de calor pode ser minimizada por meio de redução na região da tricotomia, cama aquecida ou qualquer outro artefato para reter calor (ANDRADE et al.,2002);

2.1.2 Medicação Pré- Anestésica

O termo medicação pré-anestésica aplica-se a administração de fármacos antes da indução com o anestésico geral. O uso dessas substâncias tem como finalidade reduzir a dose anestésica, facilitar a indução da anestesia, produzir sedação e reduzir a percepção da dor, além de, reduzir o estresse, a dor pós-cirúrgica e facilitar a recuperação (LAPCHIK et al., 2010). Na Tabela 2 constam as medicações pré-anestésicas indicadas para ratos.

Tabela 2- Medicções pré-anestésicas indicadas para ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Ação
Acepromazina	Acepran Frasco- Ampola 1% Acepran Frasco- Ampola 0,2% Acepran Gotas	2,5 mg/kg IM ou IP	Sedação
Atropina	Sulfato de Atropina Ampola 0,25mg/ml	0,05 mg/kg SC ou IP	Parassimpaticolítico
Propofol	Dirpivan 1% Frasco ampola ou ampola	10mg/kg IV	Sedação
Morfina	Morfenil ampola 10mg/ml	2-5 mg/kg SC	Analgesia
Diazepan	Diazepam Ampola 2,5 mg- 5mg/ml	4 mg/kg IP	Sedação
Cetamina	Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	50-100mg/kg IM ou IP	Sedação/Imobilização
Midazolam	Dormonid Ampola (15mg/3ml) Dormonid Ampola (50mg/10ml) Dormonid Ampola (5mg/5ml)	5mg/kg IP	Sedação
Fentanil/droperidol *	Inoval Ampola 0,05mg Fentanil, 2,5mg droperidol	0,5ml/kg IP	Imobilização e analgesia
Xilazina	Anasedan Frasco- Ampola 2%	1-5mg/kg IP ou IM	Sedação/ analgesia leve

Fonte: Adaptado de Filho, 2006.

IM: intramuscular, IP: intraperitoneal, SC: subcutânea

*Associação comercializada com o nome de Inoval. Dose disponível em ml/kg.

2.2 Anestésias Geral

Anestesia geral é um estado de depressão geral do sistema nervoso central que envolve hipnose, analgesia, supressão da atividade reflexa e relaxamento dos músculos

voluntários. Para obtenção de anestesia geral pode se fazer uso de substâncias que associadas produzam o efeito desejado (anestesia geral) por via inalatória ou por via injetável (REMIE, 2010).

Os agentes injetáveis são administrados ou por via endovenosa ou por outra via parenteral. Em animais de experimentação, o tamanho ou a difícil contenção de alguns faz com que as vias mais utilizadas sejam a intramuscular e a intraperitoneal. Essas vias exigem doses mais altas do fármaco (ANDRADE et al., 2002). As vantagens da anestesia injetável são a acessibilidade à cabeça e pescoço durante a anestesia e não ser necessário equipamento caro. As desvantagens são a dificuldade de administração; dor durante a administração ou necrose dos tecidos da administração; a resposta variável de cada indivíduo à dosagem e a incapacidade de alterar a profundidade anestésica rapidamente (JOHNSON; SIMPSON in LONGLEY, 2008).

Anestesia volátil consiste na administração por via respiratória de uma mistura de gases ricos em oxigênio que veiculam vapores de agentes anestésicos voláteis. Este tipo de anestesia proporciona: maior controle do plano anestésico, retorno rápido da anestesia quando comparada a endovenosa e intramuscular, metabolização e eliminação do agente anestésico inalatório de modo rápido (LAPCHIK et al., 2010). Como desvantagens podemos citar; alto custo por ser um gás, há a necessidade de utilização dentro de uma capela, para a segurança do operador; aumento de secreções nas vias aéreas e necessidade de monitorização mais delicada; pois o plano anestésico pode se alterar rapidamente, ocorrendo overdose (NEVES et al., 2013).

Existem dois métodos de anestesia inalatória para roedores. O primeiro é através do uso de algodão estéril embebido de anestésico dentro de uma câmara de inalação, neste método a quantidade precisa de anestésico oferecida ao animal não é conhecida e o plano anestésico do animal deve ser observado através da câmara de inalação (MURRAY et al., 2000). A outra opção é a utilização de uma câmara de indução conectada a um vaporizador calibrado ou universal, dessa maneira a quantidade de anestésico administrada é conhecida. Uma vez o animal anestesiado, o mesmo deve ser retirado da caixa e mantido anestesiado mediante o uso de máscara (NEVES et al., 2013). A intubação é desaconselhada devido à dificuldade da realização da técnica em roedores, mas em caso estritamente necessário a técnica pode ser desenvolvida

Na Tabela 3 tem exemplos protocolos anestésicos usados em ratos e camundongos e na Tabela 4 exemplos de anestésicos inalatórios.

2.3 Monitorização do Plano Anestésico

Para determinar quando a anestesia está adequada, os sinais vitais e os reflexos do animal devem ser monitorados. Em geral utilizam-se as reações do sistema neuromuscular

para determinar o estágio da anestesia. Em ratos o pinçamento do dedo e a frequência respiratória são apropriados para avaliar o grau de anestesia. Outras características que podem ser empregadas para verificar a profundidade anestésica em ratos são: movimento das vibrissas e das orelhas em resposta ao sopro suave, o que indica sedação mínima, a não retração de uma pata ou da cauda em resposta a um pinçamento, indica anestesia cirúrgica e a frequência respiratória abaixo de 60 movimentos respiratórios/ minuto indica perigosa depressão do sistema nervoso central (SIROIS, 2007).

Tabela 3- Protocolos Anestésicos para ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Ação
Isoflurano + Morfina	Isoforine Frasco 100ml ou 240 ml + Morfenil ampola 10mg/ml	Isoflurano a 2% inalação + 5mg/kg Morfina IP	Recuperação rápida
Xilazina + Cetamina	Anasedan Frasco- Ampola 2% + Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	5-10mg/kg xilazina IP + 60-90mg/kg cetamina IP	30-45 minutos de duração, bom relaxamento muscular
Cetamina + Propofol	Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5% + Dirpivan 1% Frasco ampola ou ampola	40 mg/kg cetamina IP + 60 mg/kg propofol IP	30 minutos de anestesia
Diazepan + Cetamina	Diazepan ampola 5mg/ml + Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	5mg/kg diazepan + 75mg/kg Cetamina IP	20-30 minutos de anestesia leve

Thiopental + Cetamina	Thiopentax 1g + Dopalen Frasco Ampola 10% Vetanarcol Inj. Frasco Ampola 5%	30mg/kg IP + 40mg/kg IP	10-15 minutos de anestesia cirúrgica
-----------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------	-----------------------------------------

Fonte: Adaptada de Lapchik et al, 2010.

Tabela 4- Anestésicos inalatórios para ratos e camundongos.

Anestésico	Concentração alveolar para Indução da anestesia (%)	Concentração alveolar para manutenção da anestesia (%)
Enflurano	3,5	1-3
Halotano	4	1-2
Isoflurano	4	1,5-3
Metoxiflurano	3	0,4-1

Fonte: Cuidado e Manejo de Animais de Laboratório, 2010.

2.4 Analgesia

Os analgésicos podem ser divididos em 2 grupos: os opióides ou narcóticos e fármacos anti-inflamatórios não esteróidal (AINES) (LAPCHIK et al., 2010). O principal mecanismo de ação dos AINES se dá através da inibição específica da cicloxigenase e redução da conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas. A resposta analgésica dos analgésicos anti-inflamatórios não esteroidal é em geral moderada e caracterizada por "efeito teto", isto é, alcançado determinado nível de analgesia, o aumento da dose não traz alívio adicional (McCLEANE, 2007).

Analgésicos opióides atuam em receptores específicos que, ao serem ativados, interferem na transmissão de impulsos dolorosos. Exercem efeitos inibitórios tanto no encéfalo, quanto através do aumento do limiar nociceptivo das fibras da substância gelatinosa localizada no corno posterior da medula espinhal. Estudos demonstram que os receptores opióides estão presentes também no sistema nervoso periférico. Os opióides são fármacos já consagrados para o tratamento da dor de moderada a forte intensidade (McCLEANE, 2007). Nas Tabelas 5 e 6 temos

exemplos dos AINES indicados para dor leve a moderada e opióides indicado para dor moderada a forte intensidade em ratos.

Tabela 5- Anti-inflamatórios não esteróides indicados para dor leve a moderada em ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Intervalo de Administração
Carprofeno	Rimadyl 50mg/ml	5mg/kg SC ou IM	12 /12 h Máximo 4 dias de uso
Cetoprofeno	Ketofen 1% e 10 %	5 mg/kg VO ou IM 10-20mg/kg IP	24/24h Máximo 3 dias de uso
Ibuprofeno	Alivium gotas: 50mg/ml 100mg/ml	10-30 mg/kg VO	4 /4h Máximo 4 dias
Acetaminofeno	Paracetamol Gotas 15ml, cada gota contem 13mg de acetaminofeno	1-2 mg/ml de água	
Dipirona 6	Analgex Frasco Ampola 500mg/ml Novalgina Ampola (500mg/ml)	50-600mg/kg SC ou IV ou IP	12/12h
Meloxican	Meloxican15mg/1,5ml Maxican 0,2%	1mg/kg VO ou SC	24/24h Máximo 3 dias de uso
Celecoxib	Celebra 100mg Celebra 200mg	10-20mg/kg VO	12/24 h

Fonte: Adaptado de Hrapkiewicz; Medina, 2007.

Tabela 6-Fármacos opióides indicados para dor moderada a forte intensidade em ratos.

Fármaco	Apresentação Comercial	Dose e Via de Administração	Intervalo de administração
Tramadol	Tramal Ampola 50mg/ml	5mg/kg SC ou IP	12/12h

Butorfanol	Turbogesic Frasco Ampola 10mg/ml	1-2mg/kg SC	4/4h
Morfina	Morfenil Ampola 10mg/ml	2-5mg/kg SC	4/4h
Fentanil	Fentanest Frasco Ampola ou Ampola 0,05mg/kg	0,1 – 0,01mg/kg IP	Utilização transoperatória
Meperidina	Dolosal Ampola 50mg/ml	20mg/kg SC ou IM	4/4h
Codeína	Codein Ampola 30mg/ml	25-60mg/kg SC	4/4h

Fonte: Adaptado de Hrapkiewicz ; Medina, 2007.

3.Cuidados Pós-operatórios

Todos os parâmetros monitorados durante a cirurgia devem continuar a ser monitorados no período pós-operatório. O ideal é ter uma área específica para a recuperação, onde possa ser feito acompanhamento individual. Verificar periodicamente: calor e conforto; depressão respiratória; volemia; perda sangüínea, perda plasmática, quantidade de urina produzida (redução do volume da urina pode ser causado por desidratação, lesão do trato urinário, ou dor) fezes (se o animal não defecar, pode ser devido à ausência de fezes, ou paralisia do íleo) e massa corporal (excelente indicador da recuperação da cirurgia, bem como o consumo de água e alimento) (ANDRADE et al., 2002).

O controle efetivo da dor pós-operatória nos animais de laboratório deve sempre estar entre os principais objetivos dos laboratórios de experimentação. Existe uma tendência de não valorizar a importância de administração de analgésicos principalmente quando da utilização de pequenos roedores. A escolha de um analgésico deve basear-se no possível grau de dor que estará presente, uma vez que o uso de drogas analgésicas potentes sem critérios pode levar a efeitos secundários perigosos, que não justificariam qualquer vantagem obtida pelo alívio da dor. Do mesmo modo, drogas de baixa potência analgésicas darão lugar a um alívio insuficiente (LAPCHIK et al., 2010).

A hipotermia é a causa mais comum de mortalidade em pequenos roedores, por isso, monitorar a temperatura corporal e tomar as medidas necessárias para prevenir a hipotermia são de vital importância. Bolsa de água quente, cobertor elétrico ou mesa aquecida controlada por um termostato são recomendados (SIROIS, 2007).

A fim de prevenir uma congestão pulmonar o rato deve ser virado de decúbito a cada 30-60 minutos durante as primeiras horas de recuperação. Para evitar o canibalismo o rato anestesiado não deve retornar para caixa que contenham ratos não anestesiados até que esteja completamente recuperado (HRAPKIEWICZ; MEDINA, 2007).

Referências Bibliográficas

1. LAPCHIK, V.B.V.; MATTARAIA, V.G.M.; KO, G.M. Cuidados e Manejos de Animais de Laboratório. São Paulo: Atheneu, 2010. p. 551-555.
2. HUBRECHT, R.; KIRKWOODM, J. The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. Wiley-Blackwell, 2012. p. 322-323.
3. PRITCHETT, K. R.; CORNING, B. F. Biology and Medicine of Rats, 2004. In: Laboratory Animal Medicine and Management. Edited by REUTER, J. D.; SUCKOW M. A. Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org)
4. HRAPKIEWICZ, K. & MEDINA, L. Clinical Laboratory Animal Medicine na Introduction. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 79-111.
5. FILHO, A.P.F.S.; Sedação, analgesia e anestesia geral em ratos In__RHODEN, E.L., RHODEN, C.R., *Princípios e Técnicas em Experimentação Animal*. Porto Alegre: UFRGS Editora. 2006. p. 46-47.
6. ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R.S. orgs. *Animais de Laboratório: criação e experimentação* Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Available from SciELO Books: [HTTP//books.scielo.org](http://books.scielo.org). Acesso em 07 de novembro de 2013.
7. JOHNSON & SIMPOSON "Rodent anaesthesia" In__ LONGLEY, L. (Ed.), *Anesthesia of exotic pets*, Saunders, 2008. p. 59-80.
8. SIROIS, M. Medicina De Animais de Laboratório- Princípios e Procedimentos. São Paulo: ROCA. 2007. p. 75-77.
9. NEVES, et.al, Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério e Experimentação da FCF-IQ/USP, 2013. p.137.
10. FELASA - Federation of European Laboratory Animal Science, disponível em: <http://www.felasa.eu/> Acesso em 09 de novembro 2013.

11. McCLEANE, G. Topical analgesics. *Anesthesiol Clin*, 2007;p. 825-839.
12. . WELBERG, L.A. ; KINKEAD, B.; THRIVIKRAMAN,K.; HUERKAMP, M.J.; NEMEROFF, C.B.; PLOTSKY, P.M. Ketamine-xylazine-acepromazine anesthesia and postoperative recovery in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2006. p.13-20.
13. REMIE, R. Anesthesia in Laboratory Animals. In__ANDERSEN, M.L.; TUFIK, S. *Animal Models as Tools in Ethical Biomedical Research*. 2010. p. 417-427.
14. MURRAY, K.A.; PEKOW, C.,BORKOWSKI, G.L. Laboratory Animals: Rodent Anesthesia & analgesia.In__ *Laboratory Animal Medicine and Science – Series II.*, Health Sciences for Educational Resources University of Washington, 2000.