



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Guia para a implementação de Ponto Final Humanitário





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

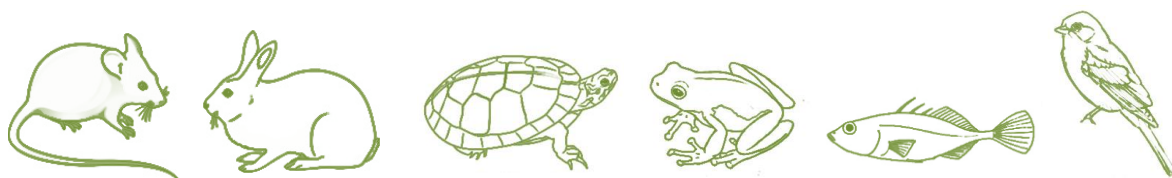
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Guia para a implementação de Ponto Final Humanitário

1ª edição – 2020

Elaborado por:
Médico Veterinário Paulo Varoni Cavalcanti

Aprovado pela CEUA/UNIFESP
Reunião de 13/08/2020



Sumário

1. Introdução.....	2
2. Ponto final humanitário	3
3. Avaliação do Bem-estar animal.....	7
4. Conclusões	12
5. Referências Bibliográficas.....	13
Anexo 1 - Alterações comuns encontradas em roedores de laboratório	14
Anexo 2 - Tabelas de escore direcionadas a protocolos experimentais.....	17
Anexo 3 - Planilha para avaliação de animais a campo.....	19
Anexo 4 - Escala Grimace para ratos	20
Anexo 5 - Escala Grimace para camundongos.....	21
Anexo 6 - Roteiro para elaboração de <i>EndPoint</i>	22

1. Introdução

A utilização de animais em experimentação traz um comprometimento ético significativo, uma vez que manter os animais em regime de contenção, com acesso limitado à alimentação, grupamento social determinado e condições ambientais pré-determinadas, reduzem as possibilidades dos animais à adaptação, impelindo que ajustem suas condições fisiológicas às condições as quais são expostos. Assim, o bem-estar dos animais torna-se dependente diretamente das condições do alojamento, do manejo e da submissão aos protocolos experimentais. É razoável que em virtude destas vulnerabilidades, sejam minimizadas as condições prejudiciais e maximizadas as de conforto e bem-estar. No entanto, identificar sinais de *distresse*, dor ou sofrimento em roedores de laboratório requer atenção e conhecimento dos comportamentos naturais das espécies envolvidas. Roedores são naturalmente animais predados, e por isso apresentam grande resistência a expressar sinais de dor, sofrimento ou comportamentos que evidenciem sua vulnerabilidade. Estas características geram a necessidade de desenvolver um sistema de monitoramento e observação dos animais para avaliar suas condições e determinar o momento de uma intervenção, seja para interromper um procedimento, adotar uma ação corretiva ou até, em casos extremos, realizar a eutanásia humanitária dos animais. A este sistema de monitoramento denomina-se de Ponto Final Humanitário (em inglês *EndPoint*), que contempla o treinamento dos profissionais envolvidos, um sistema de avaliação físico-comportamental dos animais e de registro, e a determinação da frequência de monitoramento. Como os protocolos experimentais são diversos, com especificidades e necessidades distintas, a elaboração dos parâmetros para a determinação do **ponto final humanitário** deve ser ajustada a cada protocolo experimental. O pesquisador responsável é a figura com maior aptidão para desenvolver e adequar o ponto final humanitário às nuances de seu projeto. É importante ressaltar que o objetivo principal da determinação do ponto final humanitário é impedir que os animais cheguem ao estado de moribundos, ou seja, determinar um ponto anterior ao comprometimento do bem-estar para que ações sejam tomadas. O ponto final

humanitário também contempla as ações adotadas ao final do experimento, quando o objetivo científico é atingido, abordando o que será feito com os animais ao término do protocolo experimental, bem como antecipar as iniciativas a serem tomadas em situações não previstas, como efeitos colaterais inesperados, acidentes com os animais, surgimento de doenças não previstas, animais feridos em brigas, dentre tantas outras situações não previsíveis.

Este Guia sobre ponto final humanitário desenvolvido pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Paulo busca servir de material de apoio para o esclarecimento de alunos e pesquisadores a respeito do tema e será subdividido em tópicos para facilitar a apresentação das informações pertinentes para o entendimento do ponto final humanitário em protocolo de pesquisa. Não é objetivo deste Guia determinar os parâmetros, ações ou impor estratégias de ponto final humanitário, restringindo-se apenas ao suporte para a implementação de estratégias para a determinação do ponto final humanitário em animais de laboratório. O principal enfoque adotado neste Guia é a apresentação de informações sobre ponto final humanitário para roedores de laboratório, principalmente ratos e camundongos.

2. Ponto final humanitário

O Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) define o ponto final humanitário como sendo o “momento no qual a dor, desconforto ou *distresse* de um animal utilizado em atividade de ensino ou pesquisa seja evitado, terminado, minimizado ou reduzido”. O ponto final humanitário deve permitir o alcance dos objetivos científicos do protocolo de pesquisa, minimizar o sofrimento animal e que todo o projeto de pesquisa deve conter as descrições dos pontos finais humanitários apropriados para a espécie animal e procedimentos utilizados. O ponto final humanitário pode, portanto, ser considerado uma técnica de refinamento do protocolo de pesquisa com o intuito de minimizar o sofrimento

animal e elevar a qualidade dos experimentos. O comprometimento do bem-estar dos animais resulta em aumento da variabilidade das respostas e conseqüente redução na qualidade da informação obtida. Neste sentido, surge o conceito de ponto final substitutivo que contempla a determinação de um ponto para a interrupção da experimentação ainda em um estágio precoce de comprometimento do animal, impedindo que se atinja estágios terminais de sofrimento animal. O ponto final substitutivo também se aplica a protocolos experimentais em que o desfecho provável seja a morte do animal, como em testes de dose letal (DL50).

Compreender os efeitos das intervenções sobre o bem-estar do animal é fundamental para a aplicação de ponto final humanitário adequado ao procedimento experimental. De modo geral, as intervenções podem apresentar um efeito pontual por um determinado período de tempo ou podem apresentar efeito somatório, agravando o comprometimento do bem-estar dos animais ao longo da experimentação. Chamamos de intervenção todo e qualquer evento que reduza o bem-estar do animal, seja ele inerente ao protocolo de pesquisa, como cirurgias, contenção, aplicação de drogas ou extrínsecos aos protocolos experimentais, como por exemplo, falha do sistema de ar-condicionado, alteração no fotoperíodo, transporte, mudança de tratador, dentre outros. Dessa forma, é importante para a determinação do ponto final humanitário que o pesquisador responsável prospecte todas as intervenções previsíveis pelas quais os animais passarão durante o protocolo experimental. A Figura 1 exemplifica duas situações distintas, na primeira ocorre um efeito focal em que há tempo para que o animal recupere seu bem-estar antes da ocorrência de uma nova intervenção. Na segunda situação há um efeito somatório, no qual o animal não recupera seu bem-estar antes da ocorrência de nova intervenção. Como exemplo, podemos supor que a primeira intervenção seja o transporte dos animais e/ou mudança de alojamento para a sala de experimentação, a segunda um procedimento cirúrgico e a terceira a contenção para a aplicação de uma droga. Assim, é possível notar que o comprometimento do bem-estar do animal é menor quando há tempo para sua recuperação (situação 1, efeito focal), e maior quando não há tempo para sua recuperação (situação 2, efeito somatório). É fundamental avaliar quais são os efeitos das intervenções intrínsecas e extrínsecas as quais os animais serão submetidos,

o que auxilia no planejamento do protocolo experimental, bem como na determinação do ponto final humanitário.

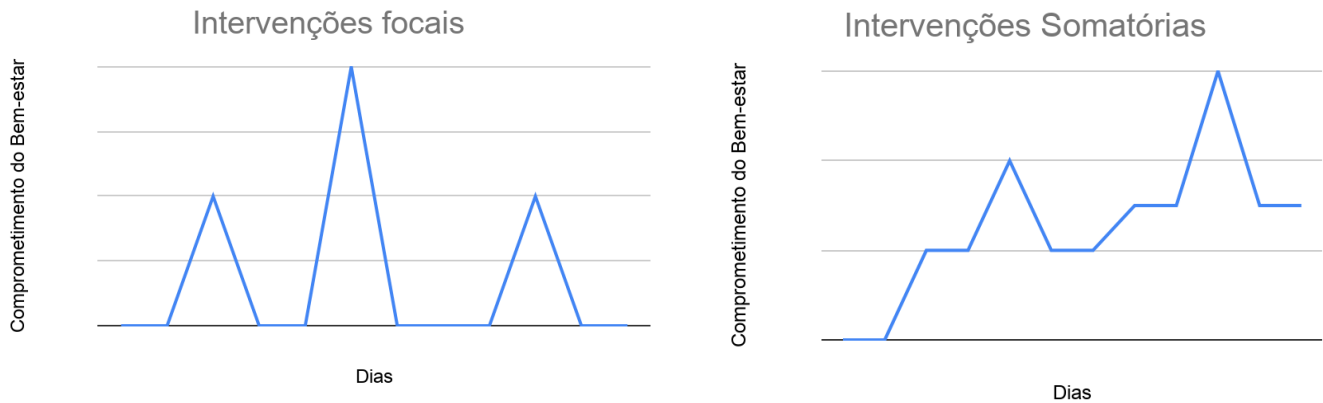


Figura 1 - Representação esquemática dos efeitos focais ou somáticos das intervenções no comprometimento do bem-estar dos animais.

Definir o ponto final humanitário é estipular o momento em que uma ação deve ser tomada a fim de minimizar o sofrimento animal. Se a ação corretiva obtiver sucesso, o animal inicia um processo de recuperação, reduzindo o comprometimento de seu bem-estar. Caso a ação adotada seja insuficiente para a recuperação do animal e o comprometimento do bem-estar seguir progredindo, o animal deve ser retirado do protocolo experimental e/ou conduzido a morte humanitária (eutanásia). A Figura 2 exemplifica os possíveis desdobramentos no bem-estar animal ao ser atingido o ponto final humanitário. O ponto final humanitário, tempo 4 na figura, requer que uma ação seja tomada (ponto de intervenção; tempo 3), e caso esta tenha efeito positivo, o animal inicia sua recuperação e pode continuar no protocolo experimental (linha azul). Caso a intervenção adotada seja insuficiente, e comprometa o bem-estar do animal, o mesmo deverá ser encaminhado para eutanásia (continuação da linha

vermelha). Para exemplificar podemos imaginar uma situação na qual em um protocolo experimental o animal é submetido a uma intervenção cirúrgica, mesmo recebendo cuidados pós cirúrgicos, seu bem-estar vai sendo comprometido com o passar do tempo. Ao ser atingido o ponto de intervenção (tempo 3), os pesquisadores optam por aumentar a dose de analgésicos e antibióticos e iniciam o tratamento do animal com alimentação pastosa. Caso este tratamento seja bem sucedido (linha azul) o animal se recupera e pode ser mantido na experimentação. Caso o tratamento não apresente sucesso (continuação da linha vermelha) deve ser acionado o ponto final humanitário e o animal retirado do protocolo experimental e/ou submetido à eutanásia.

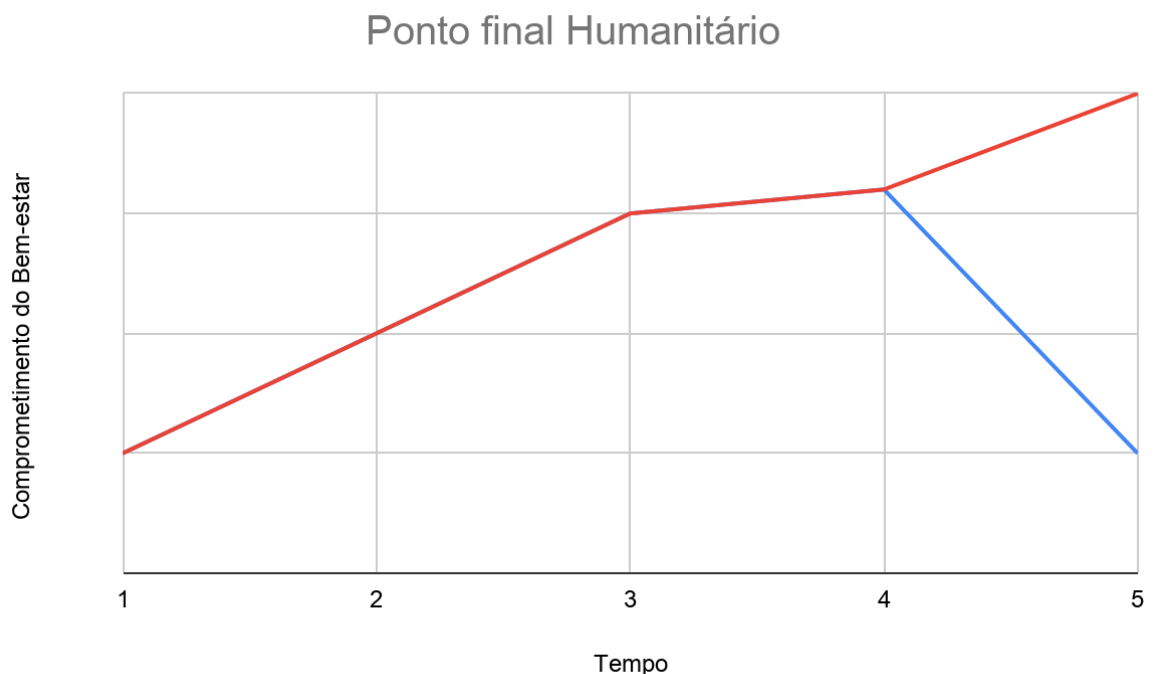


Figura 2 - Representação esquemática do comprometimento do bem-estar animal durante protocolo experimental a fim de determinar o ponto final humanitário e seus desdobramentos.

É fundamental para a determinação do ponto final humanitário um método simples e objetivo para a avaliação do bem-estar animal, bem como o comprometimento dos pesquisadores em realizar o monitoramento dos animais com frequência suficiente para identificar o momento de intervenção e o de ponto final humanitário. A determinação da frequência de monitoramento deve ser compatível com o protocolo experimental, sendo recomendado que os animais sejam avaliados diariamente. Em situações de intervenções invasivas a frequência de monitorização deve ser aumentada, sendo recomendado que os animais sejam avaliados duas vezes por dia, pela manhã e ao final da tarde.

3. Avaliação do Bem-estar animal

Compreender os comportamentos naturais da espécie que se trabalha é fundamental para avaliar o bem-estar dos animais e possibilitar a determinação do ponto final humanitário. Os roedores de laboratório, mesmo sendo criados há séculos, por centenas de gerações, em condições padronizadas de cativeiro, não perderam as características comportamentais naturais da espécie. De modo geral, são animais com hábitos noturnos (maior atividade locomotora no período de escuro), vívidos, curiosos e dóceis. Quando em sistema de criação em gaiolas de cativeiro (biotérios) passam 39% do tempo em atividade de busca de alimentos, 22% em atividade de exploração do ambiente, 19% realizando auto-higienização, 14% em repouso e 6% interagindo com os demais animais da gaiola. Para uma correta avaliação do bem-estar animal, é importante realizar a observação inicial dos animais em seu

microambiente (gaiolas) com a menor perturbação possível (que a presença do observador não seja notada ou que pouco influencie o comportamento espontâneo dos animais). Neste momento, deve ser observada a atividade motora e comportamento espontâneo dos animais. O observador deve procurar observar a condição corporal dos animais, avaliando se há homogeneidade de tamanho, peso e condições gerais. Deve prestar atenção à condição da pelagem dos animais, se estão limpos ou sujos (presença de material aderido a pelagem). A Figura 3 exemplifica a observação inicial de animais em seu microambiente, onde pode ser notado que os diferentes animais apresentam comportamentos e atividade diferentes; chama a atenção para o exame individual um animal com postura curvada e imóvel na gaiola do lado direito.



Figura 3 - Observação de camundongos em seu microambiente, onde os animais expressam seu comportamento espontâneo (fonte. sciencenews.org).

Terminada a avaliação inicial dos animais, o observador deve avaliar individualmente os animais que evidenciam alterações ou os quais o observador suspeite que apresentem alterações. Neste momento, o observador deve conter individualmente o animal e avaliá-lo por inteiro, iniciando sua avaliação pela cabeça e progredindo pelo corpo do animal até o final de sua cauda. É importante que sejam examinados os olhos, focinho, boca, orelhas, vibrissas, a superfície corporal do animal, bem como a coloração de suas patas, cauda e orelhas. As alterações comuns encontradas em roedores de laboratório são apresentadas no Anexo 1. Qualquer alteração encontrada deve ser investigada e relatada ao Médico Veterinário da instalação animal. Devido à subjetividade das informações obtidas na avaliação dos animais, foram desenvolvidas tabelas de pontuação (*escore*) para auxiliar na quantificação do comprometimento do bem-estar animal. As tabelas de pontuação (*escore*) são um sistema simples de registo que contempla uma gama de parâmetros físico-comportamentais os quais serão avaliados e relacionados a um valor que corresponde ao estado do animal. As tabelas de *escore* devem ser simples e objetivas para que facilitem a avaliação dos animais e que tenham resultados consistentes com a realidade. Devem conter parâmetros gerais de avaliação dos animais (peso, atividade motora, postura, condição de pelagem), bem como, parâmetros específicos relacionados às intervenções as quais os animais serão submetidos no protocolo experimental (ex: aspecto da cicatriz cirúrgica, tamanho tumoral, efeitos colaterais esperados para drogas ministradas aos animais). O valor de gradação dos parâmetros não deve ser complexo ou extremamente minucioso para não dificultar a avaliação do animal. Gradações de 0 a 10 tornam-se muito complexas na rotina diária de avaliação de animais, enquanto gradações extremamente reduzidas como sinais clínicos presentes ou ausentes, tornam-se demasiadamente simplista e não permitem

uma avaliação correta. Recomenda-se uma gradação com valores entre 1 e 4, sendo 1 sinais leves e 4 sinais graves, deixando os pontos intermediários para sintomatologia mediana. A Tabela 1 exemplifica um sistema de *score*, em que pode ser notada a descrição dos parâmetros, sua correlação com os sinais notados no animal e a relação com a gradação dos sinais clínicos. Ao final da avaliação do animal, os valores são somados e o resultado total é relacionado ao grau de comprometimento do bem-estar do animal. Quanto maior o valor mais comprometido está o bem-estar do animal e quanto menor o valor melhor são as características de bem-estar. É necessário então, determinar faixas de valores para caracterizar o grau de comprometimento do bem-estar do animal e determinar a faixa de valor que será acionado o ponto de intervenção, bem como o ponto final humanitário.

Tabela 1 - Sistema de parâmetros e *score* para avaliação dos animais.

Parâmetro	Score			
	1	2	3	4
Comportamento espontâneo	Andando, correndo, comendo, bebendo	Grau intermediário	Grau intermediário	Imóvel, inativo, prostrado
Postura	Postura normal parado ou em movimento	Grau intermediário	Grau intermediário	Curvado, agachado, deitado
Respiração	Movimentos regulares e confortáveis	Grau intermediário	Grau intermediário	Movimentos irregulares, respiração forçada
Condição da pelagem	Limpa e brilhante	Grau intermediário	Grau intermediário	Suja, despenteada, piloereção
Olhos	Limpo, brilhante, aberto	Grau intermediário	Grau intermediário	Fechados, presença de secreção, opaco
Condição corporal	Boa cobertura muscular	Grau intermediário	Grau intermediário	Emagrecido, Flancos murchos, abdômen distendido
Total Geral				

Para a tabela de *escore* apresentada (Tabela 1) os valores vão de 6 a 24, podendo ser estipuladas as faixas de 6 a 10 como normal (animal sem comprometimento do seu bem-estar), de 11 a 14 como bem-estar mediano, de 15 a 19 como moderado comprometimento do bem-estar e de 20 a 24 como comprometimento significativo do bem-estar do animal. Assim poderemos determinar que ações devem ser tomadas quando o animal atingir um valor próximo a 13 pontos e que o ponto final humanitário seja acionado quando o animal apresentar *escore* superior a 16. O Anexo 2 apresenta outros exemplos de tabelas de *escores* voltadas a protocolos experimentais específicos, como por exemplo o de inoculação tumoral, aplicação de drogas pela via intraperitoneal, dentre outros. No Anexo 3 é apresentado um exemplo de planilha de campo para a avaliação de animais; esta permite que 6 animais sejam avaliados por 7 dias utilizando 4 parâmetros. Dentre os parâmetros relevantes para o monitoramento de roedores de laboratório, os sinais de dor destacam-se por serem sutis, de difícil percepção, sendo evidentes apenas quando os animais já atingiram um grau grave de sofrimento. Com o intuito de facilitar a identificação destes sinais clínicos, foram desenvolvidas escalas para avaliação de dor em roedores (*Grimace scale*). No Anexo 4 apresentamos as escalas *Grimace* para ratos e camundongos, que podem ser convertidas para que o parâmetro percepção dolorosa seja utilizado nas tabelas de *escore*.

4. Conclusões

A elaboração do ponto final humanitário em um protocolo experimental é fundamental para a adequação ética do projeto de pesquisa. É um tópico obrigatório que deve ser elaborado minuciosamente por parte dos pesquisadores. Por contemplar percepções técnicas de comportamento e bem-estar animal, o Médico Veterinário da instalação animal deve ser consultado para auxiliar na elaboração, implementação e adaptação do ponto final humanitário do protocolo experimental. O ponto final humanitário deverá: (i) contemplar um conjunto de sinais clínicos e observações para avaliar o bem-estar dos animais, (ii) determinar os parâmetros e limites para iniciar as intervenções; (iii) estipular a frequência de monitoramento; (iv) desenvolver um sistema de registro e (v) direcionar as ações a serem tomadas ao ser atingido o ponto final humanitário. Neste sentido, é importante que os envolvidos com o protocolo experimental sejam treinados para compreenderem a importância do monitoramento dos animais e sejam capazes de identificar os sinais de comprometimento do bem-estar animal. Apresentamos no Anexo 5 um roteiro para elaboração do ponto final humanitário em protocolos experimentais.

5. Referências Bibliográficas

American Veterinary Medical Association Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition.

Bethany Brookshire. Female rats face sex bias too, sciencenews.org, JUNE 18, 2019 AT 8:00 AM.

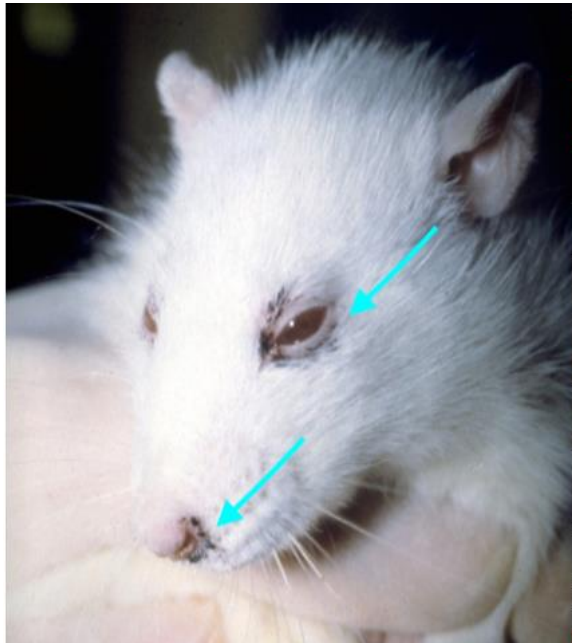
Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica: fascículo 2: roedores e lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica [recurso eletrônico]/coordenadora: Luisa Maria Gomes de Macedo Braga ; Vânia Gomes Moura Mattaraia... [et al.] – Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 2019.

Lucianne Cardoso Chumbinh, Luiz Cesar C. Pereira da Silva, Caroline Corrêa Pizzini, Wanderson Silva Batista, Fabio Souza de Oliveira, Gabriel Melo de Oliveira. Etograma de camundongos em biotério: quais são as principais atividades deste animal dentro da gaiola? RESBCAL, São Paulo, v.1 n.3, p. 255-262, jul./ago./set. 2012.

National Center for the Replacement Refinement & Reduction of Animal in Research, Welfare Assessment, EU module 5, acesso em abril de 2020.

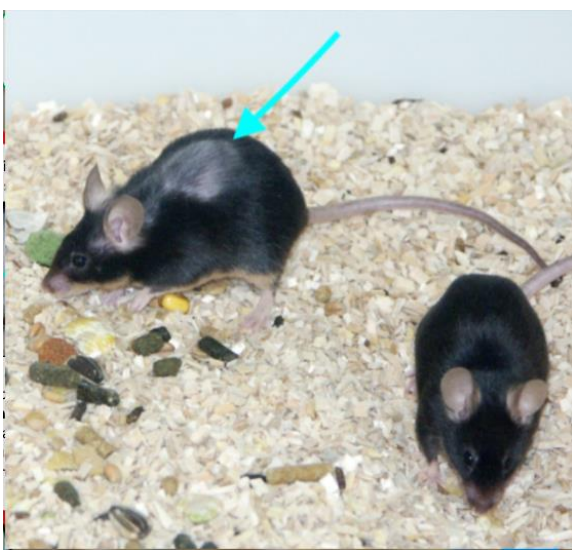
Anexo 1 - Alterações comuns encontradas em roedores de laboratório

(fonte. NC3r.org)



Descarga ocular e nasal anormais

Acúmulo de porfirina secretada pelas glândulas Harderianas, localizadas atrás dos olhos. Normalmente esta secreção é removida durante o *grooming*. Seu acúmulo sinaliza distresse.



Perda anormal de pelos

Mastigação do pelo por um companheiro de gaiola, alteração conhecida como *Barberian*. Este comportamento é sinal de enriquecimento ambiental insuficiente.



Hidrocefalia tardia

Desenvolvimento comprometido, com aumento desproporcional do crânio. Animal apresenta postura arqueada.



Tumor espontâneo

Perda local de pelo; aparentemente não causa dor ou sofrimento. Não deve ser ulcerado ou infeccionado. São comuns as neoplasias mamárias em ratas senis.



Protrusão de pênis

Lesão necrótica na extremidade do órgão, geralmente é associada a presença de cálculos renais.



Prolapso retal

Condição espontânea ou associada a diversas causas patológicas como enterites.



Ringtail

Animais criados em ambientes com baixa umidade, raro acontecimento no Brasil.

Anexo 2 - Tabelas de escore direcionadas a protocolos experimentais

(fonte NC3r.org)

Tabela de escore para experimentos com aplicação de drogas por via intraperitoneal

Parâmetro	Pontuação			
	1	2	3	4
Pelagem	Normal	Falta de limpeza	Suja	Deplorável
Elasticidade da Pele	Normal	Pouco desidratada	Desidratação Moderada	Desidratação grave
Comportamento	Normal	Letárgico	Agressivo, apático	Muito agressivo, irresponsivo
Distensão Abdominal	Normal	Pouco aumentada	Ascite	Ascite grave
Icterícia	Nenhuma	Mínima	Moderada	Grave
Peso	Normal <5%	<10%	<15%	<20%

Tabela de escore para procedimentos com inoculação tumoral

Parâmetro	Pontuação			
	1	2	3	4
Pelagem	Normal	Falta de limpeza	Suja	Deplorável
Elasticidade da Pele	Normal	Pouco desidratada	Desidratação Moderada	Desidratação grave
Comportamento	Normal	Letárgico	Agressivo, apático	Muito agressivo, irresponsivo
Tamanho Tumoral	<3mm	</=5mm	</=8mm	>/=12mm
Icterícia	Nenhuma	Mínima	Moderada	Grave
Peso	Normal <5%	<10%	<15%	<20%

Tabela de escore para experimentos com procedimentos cirúrgicos.

Parâmetro	Pontuação			
	1	2	3	4
Pelagem	Normal	Falta de limpeza	Suja	Deplorável
Elasticidade da Pele	Normal	Pouco desidratado	Desidratação Moderada	Desidratação grave
Comportamento	Normal	Letárgico	Agressivo, apático	Muito agressivo, irresponsivo
Ferida Cirúrgica	Limpa e seca	Avermelhada e umedecida	Vermelha com secreções	Purulenta
Escore corporal	Normal	Levemente Emagrecido	Moderadamente Emagrecido	Caquético
Peso	Normal <5%	<10%	<15%	<20%

Anexo 3 - Planilha para avaliação de animais a campo

Monitoramento																				
Animal ID	Data																	Score Total	EndPoint (#<_)	Observações
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4			
1 _____	1 ___/___/___																	()S ()N		
	2 ___/___/___																	()S ()N		
	3 ___/___/___																	()S ()N		
	4 ___/___/___																	()S ()N		
	5 ___/___/___																	()S ()N		
	6 ___/___/___																	()S ()N		
	7 ___/___/___																	()S ()N		
2 _____	1 ___/___/___																	()S ()N		
	2 ___/___/___																	()S ()N		
	3 ___/___/___																	()S ()N		
	4 ___/___/___																	()S ()N		
	5 ___/___/___																	()S ()N		
	6 ___/___/___																	()S ()N		
	7 ___/___/___																	()S ()N		
3 _____	1 ___/___/___																	()S ()N		
	2 ___/___/___																	()S ()N		
	3 ___/___/___																	()S ()N		
	4 ___/___/___																	()S ()N		
	5 ___/___/___																	()S ()N		
	6 ___/___/___																	()S ()N		
	7 ___/___/___																	()S ()N		
4 _____	1 ___/___/___																	()S ()N		
	2 ___/___/___																	()S ()N		
	3 ___/___/___																	()S ()N		
	4 ___/___/___																	()S ()N		
	5 ___/___/___																	()S ()N		
	6 ___/___/___																	()S ()N		
	7 ___/___/___																	()S ()N		
5 _____	1 ___/___/___																	()S ()N		
	2 ___/___/___																	()S ()N		
	3 ___/___/___																	()S ()N		
	4 ___/___/___																	()S ()N		
	5 ___/___/___																	()S ()N		
	6 ___/___/___																	()S ()N		
	7 ___/___/___																	()S ()N		
6 _____	1 ___/___/___																	()S ()N		
	2 ___/___/___																	()S ()N		
	3 ___/___/___																	()S ()N		
	4 ___/___/___																	()S ()N		
	5 ___/___/___																	()S ()N		
	6 ___/___/___																	()S ()N		
	7 ___/___/___																	()S ()N		

Anexo 4 - Escala Grimace para ratos



National Centre
for the Replacement,
Refinement & Reduction
of Animals In Research

The Rat Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in rats.

The specific facial action units shown below have been used to generate the Rat Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can be used as part of a clinical assessment.

The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening <ul style="list-style-type: none"> Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) A wrinkle may be visible around the eye 			
Nose/cheek flattening <ul style="list-style-type: none"> Flattening and elongation of the bridge of the nose Flattening of the cheeks (potentially sunken look) 			
Ear changes <ul style="list-style-type: none"> Ears curl inward and are angled forward to form a 'pointed' shape Space between the ears increases 			
Whisker change <ul style="list-style-type: none"> Whiskers stiffen and angle along the face Whiskers may 'clump' together Whiskers lose their natural 'downward' curve 			

Read the original paper:
Socoloff SB, Soga RE, Ziklum A, Tuttle AH, Murth LJ, Westopf JS, Haggblom JC, Weil P, Zhan S, Zheng S, McDougall JJ, King CD, Mogil JS. 2011. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expression. *Molecular Pain* 7:55. doi:10.1186/1745-0099-7-55

For guidance on using the Rat Grimace Scale, research papers that underpin this technique, and for grimace scales in other species, visit: www.nc3r.org.uk/grimacescales. To request copies of this poster, please email: enquiries@nc3r.org.uk. The NC3R provides a range of 3Rs resources at www.nc3r.org.uk/resources. Images kindly provided by Dr Jeffrey Mogil, McGill University.

Anexo 5 - Escala Grimace para camundongos



National Centre
for the Replacement,
Refinement & Reduction
of Animals in Research

The Mouse Grimace Scale

Research has demonstrated that changes in facial expression provide a means of assessing pain in mice.

The specific facial action units shown below have been used to generate the Mouse Grimace Scale. These action units increase in intensity in response to post-procedural pain and can be used as part of a clinical assessment.

The action units should only be used in awake animals. Each animal should be observed for a short period of time to avoid scoring brief changes in facial expression that are unrelated to the animal's welfare.

	Not present "0"	Moderately present "1"	Obviously present "2"
Orbital tightening <ul style="list-style-type: none"> Closing of the eyelid (narrowing of orbital area) A wrinkle may be visible around the eye 			
Nose bulge <ul style="list-style-type: none"> Bulging on the bridge of the nose Vertical wrinkles on the side of the nose 			
Cheek bulge <ul style="list-style-type: none"> Bulging of the cheeks 			
Ear position <ul style="list-style-type: none"> Ears rotate outwards and/or backwards, away from the face Ears may fold to form a 'pointed' shape Space between the ears increases 			
Whisker change <ul style="list-style-type: none"> Whiskers are either pulled back against the cheek, or pulled forward to 'stand on end' Whiskers may clump together Whiskers lose their natural 'downward' curve 			

Read the original paper:
Langford DJ, Behr J, Chanda ML, Clarke SC, Drummond TE, Eccles S, Glick S, Ingram J, Lawson-Ross T, Luo X, Pridgen SL, Mizumoto Y, Sorge RE, Stoophal SM, Tabei JM, Wang D, van den Meuleberg AMM, Fernald MG, Oat J, Mogil JS. 2010. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods* 7(6): 447-454.
doi:10.1038/nmeth.1436

For guidance on using the Mouse Grimace Scale, research papers that describe this technique, and for grimace scales in other species, visit www.nc3rs.org.uk/grimacescale. To request copies of this poster, please email enquiries@nc3rs.org.uk. The NC3Rs provides a range of 3Rs resources at www.nc3rs.org.uk/resources. Images kindly provided by Dr Jeffrey Mogil, McGill University.

Anexo 6 - Roteiro para elaboração de *EndPoint*

Título do projeto:					
Pesquisador Responsável:				Telefone:	
Médico Veterinário Responsável:				Telefone:	
Objetivos Específicos		-			
		-			
		-			
		-			
Data de Início do Experimento:		__/__/__	Data de Término do Experimento:		__/__/__
		Frequência de Monitoramento:			
Intervenções	Data	Procedimentos aos quais os animais serão submetidos			Intervalo
1	__/__/__	-			
2	__/__/__	-			
3	__/__/__	-			
4	__/__/__	-			
5	__/__/__	-			
6	__/__/__	-			
7	__/__/__	-			
8	__/__/__	-			
9	__/__/__	-			
10	__/__/__	-			
Tabela de Escore para Avaliação dos Animais					
Parâmetro	Escore				
	1	2	3	4	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Total					
Resultado do escore					
Faixa de valor	Comprometimento do Bem-Estar	Ações		Observações	
6-10	Normal			Manter a Frequência de observação	
11-14	Mediano			Aumentar a Frequência de observação	
15-19	Moderado			Ponto de intervenção	
20-24	Grave			EndPoint	