Boas Práticas em Experimentação Animal:

Procedimentos em Ratos de Laboratório

DOI: 10.11606/9786587778105

Claudia Madalena Cabrera Mori

Dennis Albert Zanatto

Jilma María Alemán Laporte

São Paulo – SP

2023

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
Avenida Prof. Dr. Orlando Marques Paiva, 87 – Cidade Universitária
São Paulo – SP, Brasil
CEP: 05508-270
www.fmvz.usp.br

USP
Reitor: Prof. Dr. Carlos Gilberto Carlotti Junior
Vice-Reitor: Profa. Dra. Maria Arminda do Nascimento Arruda

FMVZ
Diretor: Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto
Vice-Diretora: Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Publicado no Brasil
pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

© Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2023

Colaboradores

Beatriz Bosquê Minozzi

Isabella Naomi Furusato

Juliana de Mello Donegá

Larissa Fonseca Monteiro

Mariana de Souza Aranha Garcia Gomes

Mariana Eugênio Ferreira

Nícolas Braga Pellagio

Nicoli Cordeiro Silva

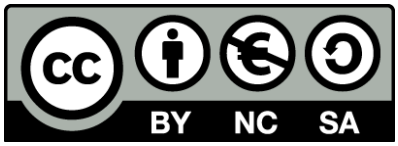
Paula Caro Ferian

Pedro Kenzo amamoto

Raquel Gomes Catozo

William Vilany

Esta obra é de acesso aberto. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e a autoria e respeitando a Licença Creative Commons indicada.



DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

Mori, Claudia Madalena Cabrera
Boas práticas em experimentação animal: procedimentos em ratos de laboratório / Claudia Madalena Cabrera Mori ; Dennis Albert Zanatto ; Jilma Maria Alemán Laporte. – São Paulo : Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, 2023.
65 p. : il. color.

ISBN: 978-65-87778-10-5
DOI: 10.11606/9786587778105

1. Animais de laboratório. 2. Ratos.3. Vias de acesso. 4. Refinamento experimental. 5. Bem-estar animal. I. Zanatto, Dennis Albert. II. Laporte, Jilma Maria Alemán. III. Título.

SF406

Ficha catalográfica elaborada por Sandra Regina Toledo, CRB-8/8146, da FMVZ.

Introdução

Este manual tem como objetivo fornecer informações e diretrizes para procedimentos experimentais envolvendo ratos de laboratório. No entanto, é fundamental destacar que este ebook não deve ser considerado um guia para a realização dessas técnicas, mas sim um recurso de revisão destinado a indivíduos com treinamento em manipulação de animais de laboratório. As técnicas aqui apresentadas devem ser estritamente seguidas de acordo com os protocolos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituição, bem como em conformidade com todas as regulamentações de biossegurança institucionais e governamentais.

É importante enfatizar que essas técnicas só devem ser executadas em instalações credenciadas, sob a supervisão de especialistas em cuidados e manejo de animais, devido aos riscos substanciais de lesões graves relacionadas a objetos perfurocortantes, agentes químicos, biológicos e outros.

As práticas e técnicas demonstradas neste e-book foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA-FMVZ), protocolo número 4245090117, e são amplamente utilizadas em estudos envolvendo ratos de laboratório.

Atividades que parecem simples, como manipular e conter animais de laboratório, podem se tornar fontes de estresse e riscos tanto para os animais quanto para indivíduos sem treinamento adequado. Além disso, a administração de substâncias e a coleta de amostras biológicas podem afetar significativamente o bem-estar dos animais. A realização inadequada dessas técnicas não apenas compromete o bem-estar dos animais, mas também pode impactar negativamente os objetivos científicos do estudo.

Por fim, a transferência segura de animais de uma gaiola para outra ou da gaiola para a área de trabalho é uma tarefa fundamental no manuseio de ratos de laboratório. As demonstrações apresentam diversos métodos para realizar essa transferência e subsequente contenção dos ratos, priorizando sua segurança e bem-estar.

Em síntese, o treinamento adequado desempenha um papel crucial em garantir o cumprimento das normas éticas e regulatórias, a segurança dos envolvidos, o bem-estar dos animais e a validade dos estudos científicos envolvendo ratos de laboratório.

Prefácio

Este compêndio é uma adaptação dos procedimentos apresentados na plataforma BPEA (Boas Práticas em Experimentação Animal), disponível em https://sites.usp.br/bpeanimal/. A plataforma BPEA oferece uma extensa coleção de vídeos demonstrativos que abrangem diversas técnicas aplicadas em animais de laboratório.

A concepção da plataforma BPEA teve origem na dissertação de mestrado intitulada "Métodos Substitutivos ao Uso de Animais Vivos no Ensino de Graduação em Medicina Veterinária: Procedimentos em Roedores de Laboratório," apresentada em 2018 pelo programa de Pós-graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (ZANATTO, 2018). Esta publicação representa uma síntese prática e acessível, derivada do comprometimento acadêmico e da pesquisa empreendidos na referida dissertação.

Ao longo deste e-book, exploraremos de maneira detalhada e elucidativa os métodos propostos na plataforma BPEA, fornecendo uma valiosa fonte de referência para profissionais, pesquisadores e estudantes envolvidos na experimentação animal e no ensino da Ciência de Animais de Laboratório.

Sumário

I Manipulação e troca de gaiola 6
II Contenção para realização de procedimentos 8
Contenção do rato pelo dorso - Técnica I 8
Contenção do rato pelo dorso - Técnica III 12
Contenção com Saco Plástico 14
Contenção com Pano 16
III Administração de substâncias 19
Administração Oral por Ingestão Voluntária 19
Via oral (gavagem) 22
Via subcutânea - Região posterior do pescoço (entre as escápulas) 24
Via subcutânea - Região lombar ou flanco 27
Via Intradérmica 30
Via intramuscular 33
Via Intraperitoneal 35
IV Técnicas de Coleta de Sangue 38
Veia lateral da cauda 38
Veia gengival 42
Veia Safena 45
Veia jugular 48
Punção Intracardíaca 51
V Técnicas Anestésicas 53
Bloqueio do nervo ciático - anestesia local do membro pélvico 53
Anexos 56
Tabela 1. Características das vias de administração e impacto no bem-estar animal 56
Tabela 2. Volumes máximos recomendados, pH e calibre da agulha segundo a via de administração em roedores de laboratório 59
Tabela 3. Volumes máximos recomendados para coleta de sangue e intervalo para recuperação 61
Tabela 4. Doses sugeridas de analgésicos para ratos 62
Bibliografia Consultada 64

I

Manipulação e troca de gaiola

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Gaiola limpa com maravalha esterilizada.

Procedimentos:

1. Colocar uma mão, de forma suave, porém firme, no dorso do animal, envolver todo o tórax, logo atrás dos membros torácicos do rato;
2. Se necessário, suspenda o rato segurando-o pela base da cauda, bem próximo ao corpo do animal;
3. Cuidadosamente, levante o rato para fora da gaiola, podendo utilizar a mão livre como apoio, e coloque-o em uma nova gaiola ou em uma superfície plana;
4. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança diversos procedimentos.

ATENÇÃO

Os ratos devem ser habituados ao manuseio antes dos procedimentos experimentais para evitar impactos indesejados na pesquisa.

Nunca segure o rato pela extremidade da cauda ou suspenda por um período prolongado, pois pode submeter o animal a estresse desnecessário e/ou possíveis lesões. Apoie o peso corporal do animal rapidamente durante o manuseio.

Manipulação do rato e troca de gaiola

Figura 1

II

Contenção para realização de procedimentos

Contenção do rato pelo dorso - Técnica I

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Gaiola limpa com maravalha esterilizada.

Procedimentos:

1. Com o rato sobre uma superfície plana, posicione a palma da mão sobre o dorso do animal (Fig. 2A);
2. Deslize suavemente o indicador e dedo médio ao redor do pescoço do animal;
3. Sob pressão firme, porém suave, imobilize o pescoço e cabeça do rato (Fig. 2B);
4. Deve-se tomar cuidado para evitar deslizes e aplicação de excesso de pressão na traqueia, localizada na porção ventral do pescoço;
5. Levante o animal e com a outra mão segure firmemente os membros pélvicos, de modo a imobilizá-los (Fig. 2C e 2D);
6. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança diversos procedimentos.

ATENÇÃO

Nunca realize o procedimento com o animal apoiado na grade da gaiola, para evitar que o rato prenda as unhas ou se machuque. Preferencialmente, realize a contenção dentro de uma gaiola limpa ou sobre uma superfície antiderrapante.

Para evitar o estresse desnecessário do animal, realize o procedimento da forma mais breve possível.

Essa técnica de contenção requer que outra pessoa realize a administração de substâncias.

Contenção do rato pelo dorso (I)	
	Figura 2A. Posição da palma da mão sobre o dorso do animal
	Figura 2B. Imobilização do pescoço e cabeça do rato
 	Figuras 2C e 2D. Imobilização do rato através dos membros pélvicos

Contenção do rato pelo dorso - Técnica II

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Gaiola limpa com maravalha esterilizada.

Procedimentos:

1. Com o rato sobre uma superfície plana, posicione a palma da mão sobre o dorso do animal;
2. Segure o animal posicionando o polegar, o indicador e o dedo médio acima dos membros torácicos (Fig. 3A);
3. Posicione os outros dedos ao redor do tórax e levante o animal (Fig. 3B);
4. Imediatamente com outra mão, segure firmemente os membros pélvicos, de modo a imobilizá-los (Fig. 3C);
5. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança diversos procedimentos.

ATENÇÃO

Nunca realize o procedimento com o animal apoiado na grade da gaiola, para evitar que o rato prenda as unhas ou se machuque. Preferencialmente, realize a contenção dentro de uma gaiola limpa ou sobre uma superfície antiderrapante.

Para evitar o estresse desnecessário do animal, realize o procedimento da forma mais breve possível.

Essa técnica de contenção requer que outra pessoa realize a administração de substâncias.

Contenção do rato pelo dorso (II)	
	Figura 3A. Posição dos dedos sobre os membros torácicos do animal
	Figura 3B. Posicionamento dos dedos restantes ao redor do tórax
	Figura 3C. Imobilização do rato através dos membros pélvicos

Contenção do rato pelo dorso - Técnica III

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Gaiola limpa com maravalha esterilizada.

Procedimentos:

1. Com o rato sobre uma superfície plana, posicione a palma da mão sobre o dorso do animal (Fig. 4A);
2. Deslize suavemente o polegar e o indicador para frente, posicionando-os na base do crânio (Fig. 4B);
3. Sob pressão firme, porém suave, segure a pele da região do pescoço e dorso, de tal forma que restrinja a movimentação da cabeça do rato e levante-o (Fig. 4C e 4D);
4. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança diversos procedimentos.

ATENÇÃO

Nunca realize o procedimento com o animal apoiado na grade da gaiola, para evitar que o rato prenda as unhas ou se machuque. Preferencialmente, realize a contenção dentro de uma gaiola limpa ou sobre uma superfície antiderrapante.

Para evitar o estresse desnecessário do animal, realize o procedimento da forma mais breve possível.

Essa técnica possibilita a administração de substâncias com ou sem o auxílio de outra pessoa.

Contenção do rato pelo dorso (III)	
	Figura 4A. Posição da palma da mão sobre o dorso do animal
	Figura 4B. Movimento de pinça com os dedos polegar e indicador
	Figuras 4C e 4D. Imobilização do rato através da restrição de movimentos de pescoço e dorso

Contenção com Saco Plástico

Materiais:

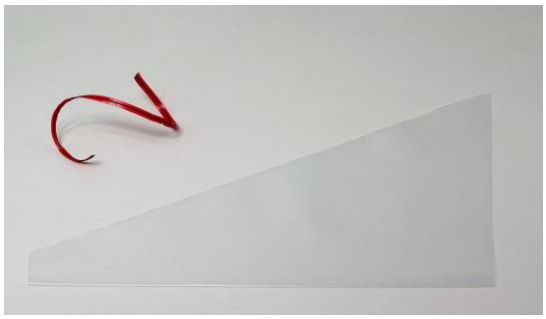
- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Saco plástico para contenção e fecho aramado ou barbante.

Procedimentos:

1. Colocar uma mão, de forma suave, porém firme, no dorso do animal, envolver todo o tórax, logo atrás dos membros torácicos do rato (Fig. 5B);
2. Posicione a cabeça do rato na abertura do saco plástico (Fig. 5C);
3. Empurre gentilmente, certificando que o animal adentre o saco plástico (Fig. 5D);
4. Feche a parte de trás com ajuda de um fecho aramado ou barbante (Fig. 5E);
5. O animal agora está contido para realização de procedimentos.

ATENÇÃO

O saco plástico para contenção deve ser em formato triangular ou cônico, com as extremidades abertas, de tamanho adequado para que o rato fique completamente contido no interior do mesmo (Fig. 5A).

Contenção do rato com saco plástico	
	**Figura 5A.** Exemplo de saco plástico
	Figura 5B. Posição da mão ao redor do dorso do animal
	Figura 5C. Posicionamento do rato antes de introduzi-lo no saco plástico
	Figura 5D. Empurrando o animal para adentrar o saco plástico
	Figura 5E. Fechamento do saco plástico

Contenção com Pano

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Pano para contenção (Fig. 6A).

Procedimentos:

1. Colocar uma mão, de forma suave, porém firme, no dorso do animal, envolver todo o tórax, logo atrás dos membros torácicos do rato;
2. Coloque o animal gentilmente no centro do pano (Fig. 6B);
3. Envolva o animal com o pano, até que fique firme (Fig. 6C);
4. O animal agora está contido para realização de procedimentos (Fig. 6D).

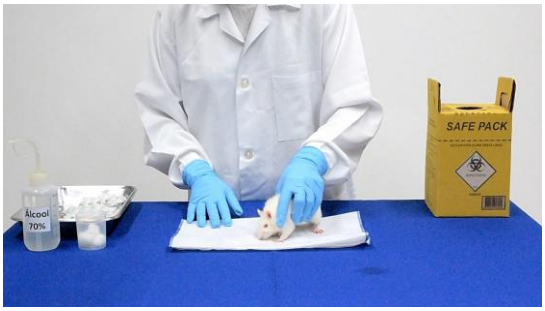
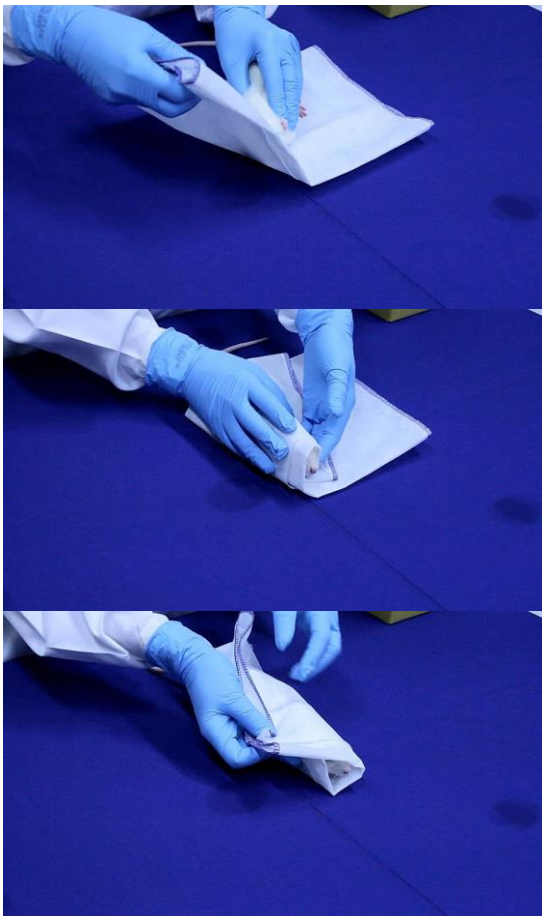
Contenção do rato com pano	
	Figura 6A. Exemplo de pano
	**Figura 6B.** Posição da mão ao redor do dorso do animal e posicionamento do rato no centro do pano
	**Figura 6C.** Ilustração das dobras para imobilização do animal

	Figura 6D. Demonstração do sucesso da imobilização

III

Administração de substâncias

Administração Oral por Ingestão Voluntária

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Placas de cultura celular de 24 poços;
- Mistura para gelatina ágar-ágar sem sabor;
- Aromatizante de bacon.

  Observação: o aromatizante pode ser substituído por caldo em pó sabor bacon ou carne, desde que contenha 0% de gordura.

Procedimentos:

A. Preparo da gelatina:

1. Dissolva 4 g de ágar-ágar e adicione o aromatizante ou o envelope de caldo em 600 ml água e leve ao fogo;
2. Ferva a mistura por cerca de 2 minutos, misturando constantemente;
3. Com auxílio de uma pipeta, distribua aproximadamente 1,5 ml da gelatina na placa de cultura celular de 24 poços;
4. Aguarde esfriar, e antes que a gelatina solidifique, dissolva a substância a ser administrada em doses individuais;
5. Leve à geladeira por aproximadamente 1 hora;
6. Para o grupo controle, prepare a gelatina da mesma forma, sem a substância que será administrada.

B. Habituação dos animais:

1. Separe cada rato em uma gaiola individual durante o oferecimento da gelatina em uma base plástica (Fig. 7A);
2. Aguarde até o animal ingerir toda a gelatina (Fig. 7B);

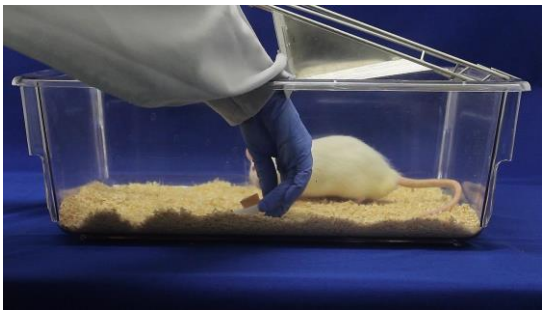
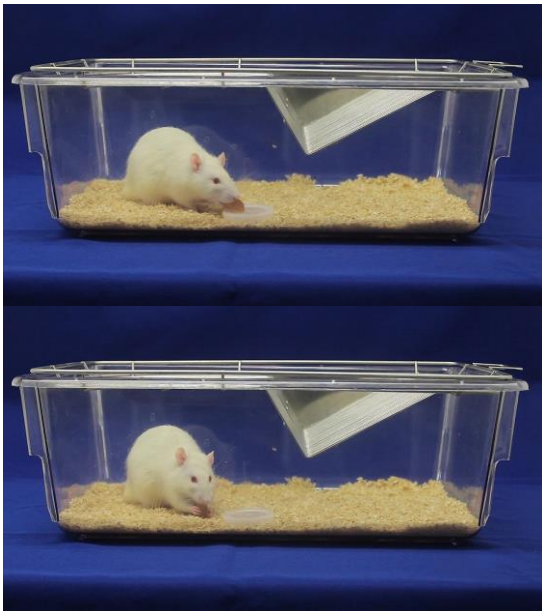
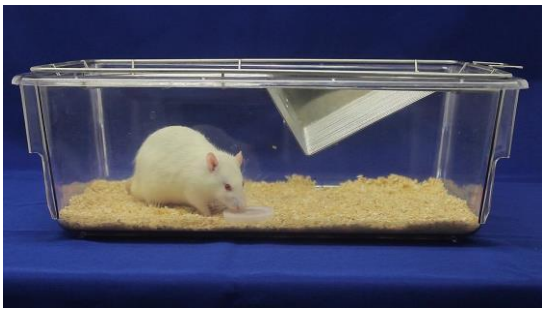
3. Repita o procedimento uma vez ao dia até que o rato consuma a gelatina em menos de 5 minutos (Fig. 7C).

C. Após o período de habituação, ofereça a gelatina com a substância conforme o protocolo de administração predefinido.

OBSERVAÇÕES

A base plástica utilizada poderá ser uma placa de petri descartável.

Em geral, a habituação ocorre em até 3 dias.

Administração oral por ingestão voluntária	
	**Figura 7A.** Oferecimento da gelatina sobre uma base plástica
	**Figura 7B.** Rato ingerindo a gelatina
	**Figura 7C.** Demonstração do sucesso na administração da gelatina

Via oral (gavagem)

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Cânula para gavagem rígida ou flexível compatível com o tamanho do animal (comprimento e calibre);
- Seringa (1 a 3 ml).

Procedimentos:

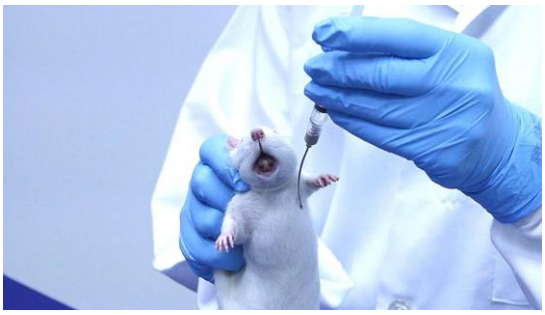
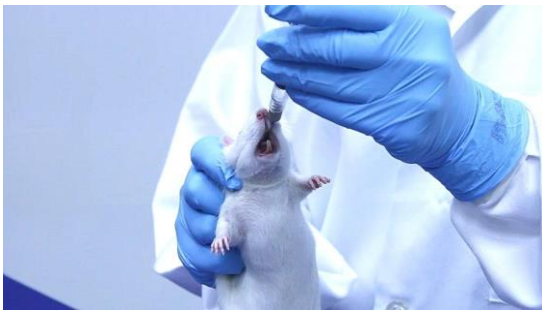
1. A cânula a ser utilizada deverá ter o comprimento adequado ao tamanho do rato, considerando a distância a partir do canto da boca até a última costela do animal (Fig. 8A);
2. Preencha a seringa com o volume de substância apropriada para a dosagem;
3. Realize a contenção do rato preferencialmente pelo dorso (Técnica de contenção III). A cabeça deve estar totalmente imobilizada para o posicionamento adequado da cânula de gavagem;
4. Introduza a ponta da cânula na lateral da boca do rato, tomando cuidado para que o rato não consiga mordê-la (Fig. 8B);
5. Deslize a ponta da cânula para o interior da cavidade oral, por cima da língua do animal, realizando um movimento delicado e contínuo, observe o movimento de deglutição do animal (Fig. 8C);
6. Deve-se observar que qualquer resistência sentida indica a colocação incorreta da cânula, ela deve escorregar facilmente pelo esôfago;
7. Uma vez que a cânula esteja devidamente posicionada, administre lentamente a substância.
8. Remova a cânula lentamente, seguindo a mesma curvatura na qual foi introduzida.
9. Observe o animal quanto a qualquer dificuldade em respirar ou sangramento pela boca ou narinas por pelo menos 5 minutos antes de devolvê-lo à sala de alojamento no biotério.

ATENÇÃO

Apenas realizar a gavagem em animais contidos sem anestesia ou sedação, devido ao maior risco de aspiração (solução inadvertidamente entrar nos pulmões).

Caso ocorram soluços ou tosses pode ser indicativo que a cânula se encontra na traqueia do animal.

As agulhas de gavagem deverão ter a ponta arredondada para evitar lesões. De forma alternativa, poderá ser utilizada uma cânula flexível.

Administração de substância por via oral pelo método de gavagem em ratos	
	**Figura 8A**. Demonstração do comprimento adequado, considerando a distância a partir do canto da boca até a última costela
	Figura 8B. Introdução da ponta da cânula na lateral da boca
	**Figura 8C**. Posicionamento da cânula no interior da cavidade oral, por cima da língua

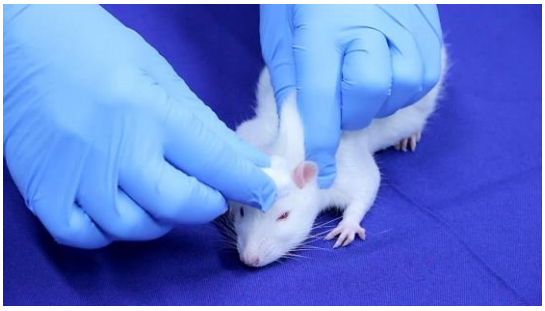
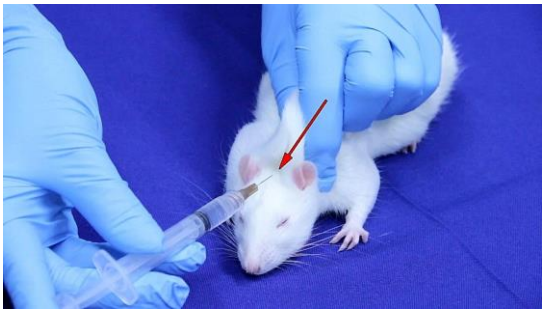
Via subcutânea - Região posterior do pescoço (entre as escápulas)

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (1 a 3 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 22 a 30 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze.

Procedimentos:

1. Preencha a seringa com o volume de substância apropriado segundo a dosagem;
2. Realize a contenção do rato;
3. Crie uma dobra de pele fazendo um movimento de pinça com o dedo polegar e indicador na região do pescoço, entre as escápulas do animal (Fig. 9A);
4. Faça a antissepsia do local de administração com álcool etílico 70% (Fig. 9B);
5. Insira a agulha na base da dobra de pele, com ângulo de aproximadamente 45 graus em relação ao corpo do animal (Fig. 9C);
6. Administre a substância em um movimento contínuo (Fig. 9D).

Administração de substância por via subcutânea pela região posterior do pescoço (entre as escápulas)	
	Figura 9A. Movimento de pinça para criar uma dobra de pele na região do pescoço
	**Figura 9B.** Antissepsia com álcool etílico 70%
	**Figura 9C.** Indicação de local e ângulo para inserção da agulha
	Figura 9D. Administração da substância

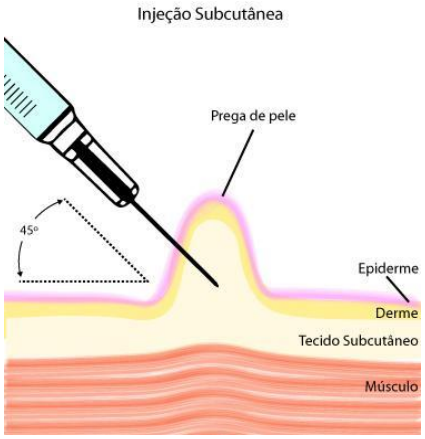


Figura 9E. Representação gráfica da via subcutânea

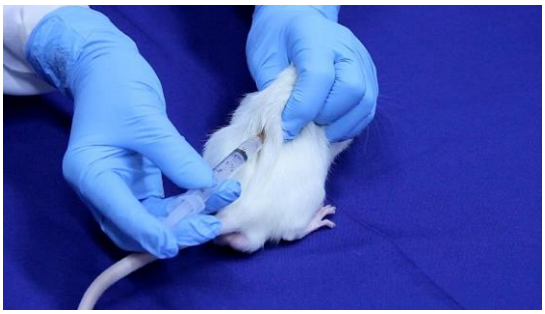
Via subcutânea - Região lombar ou flanco

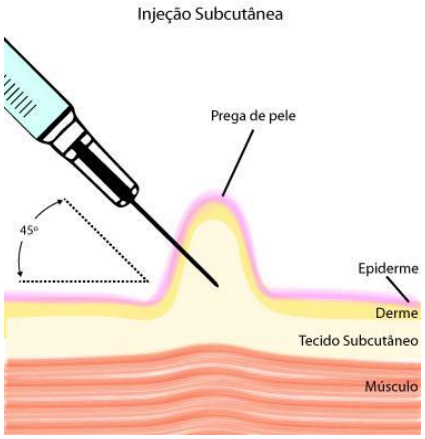
Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (1 a 3 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 22 a 30 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze.

Procedimentos:

1. Preencha a seringa com o volume de substância apropriado segundo a dosagem;
2. Realize a contenção o rato;
3. Crie uma dobra de pele fazendo um movimento de pinça com o dedo polegar e indicador na região lombar do animal (Fig. 10A);
4. Faça a antissepsia do local de administração com álcool etílico 70% (Fig. 10B);
5. Insira a agulha na base da dobra de pele, com ângulo de aproximadamente 45 graus em relação ao corpo do animal (Fig. 10C);
6. Administre a substância em um movimento contínuo (Fig. 10D).

Administração de substância por via subcutânea pela região lombar ou flanco	
	Figura 10A. Movimento de pinça para criar uma dobra de pele na região lombar
	Figura 10B. Antissepsia com álcool etílico 70%
	Figura 10 C. Indicação de local e ângulo para inserção da agulha
	**Figura 10D.** Administração da substância

	Representação gráfica da via subcutânea

Via Intradérmica

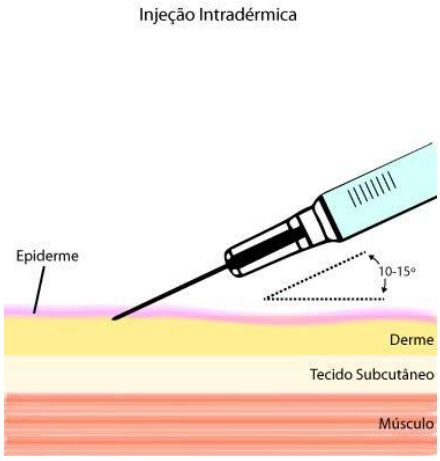
Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (1 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 25 a 30 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze;
- Máquina de tricotomia.

Procedimentos:

1. A injeção intradérmica deve ser executada com o animal anestesiado ou sedado;
2. Preencha a seringa com o volume de substância apropriado segundo a dosagem;
3. Remova os pelos e limpe a área com solução salina;
4. No local da administração, realize a antissepsia com álcool etílico 70% (Fig. 11A);
5. Insira a agulha entre as camadas da pele (epiderme e derme) no dorso do rato, com um ângulo entre 10 e 15 graus em relação ao corpo do animal (Fig. 11B);
6. Certifique o correto posicionamento da agulha puxando o êmbolo da seringa, qualquer sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento incorreto;
7. Administre a substância lentamente, com um volume máximo de 100µL por sítio de injeção, evitando assim danos teciduais (Fig. 11C);
8. A execução correta do procedimento resulta em uma pequena área circular entumecida (Fig. 11D).

Administração de substância por via intradérmica	
	Figura 11A. Antissepsia com álcool etílico 70%
	Figura 11B. Indicação de local e ângulo para inserção da agulha
	Figura 11C. Administração da substância
	Figura 11D. Demonstração de pequena área entumecida, confirmando o sucesso do procedimento

	Representação gráfica da via intradérmica

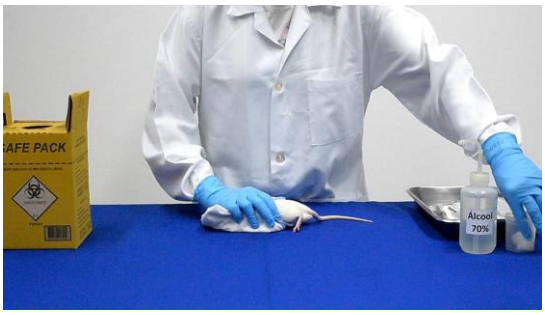
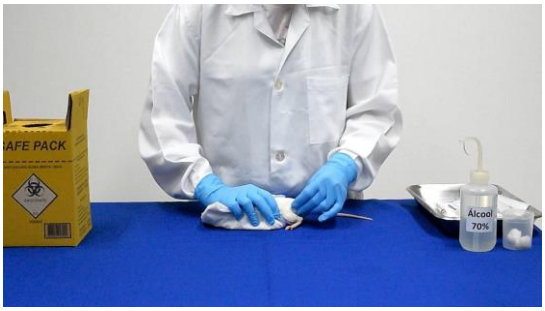
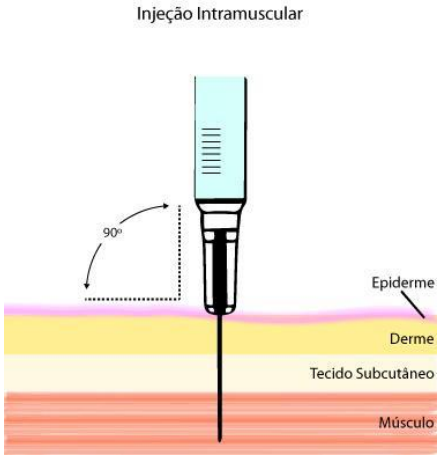
Via intramuscular

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (1 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 24 a 30 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze.

Procedimentos:

1. Preencha a seringa com o volume de substância apropriado segundo a dosagem;
2. Realize a contenção do animal, preferencialmente utilizando um pano (Fig. 12A);
3. Realize a antissepsia da área a ser administrada com álcool etílico 70% (Fig. 12B);
4. Insira a agulha nos músculos do glúteo, formando um ângulo de 90 graus em relação ao membro pélvico do rato (Fig. 12C);
5. Certifique o correto posicionamento da agulha puxando o êmbolo da seringa, qualquer sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento incorreto;
6. Administre a substância em um movimento contínuo e lento, pois injetar a substância de forma rápida pode causar trauma tecidual.

Administração de substância por via intramuscular	
	**Figura 12A**. Imobilização com pano e posicionamento do animal
	**Figura 12B**. Antissepsia com álcool etílico 70%
	Figura 12C. Indicação de local e ângulo para inserção da agulha
	Representação gráfica da via intramuscular

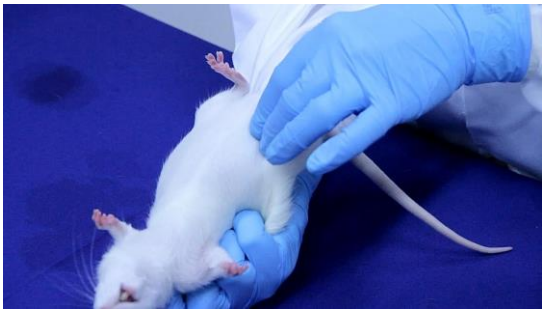
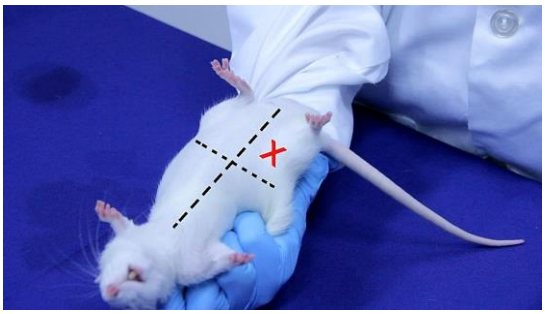
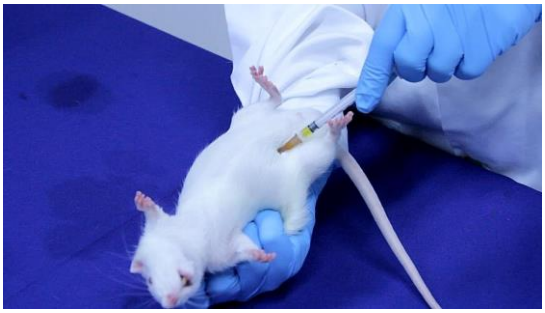
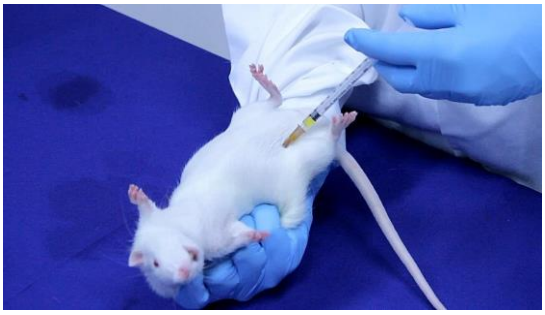
Via Intraperitoneal

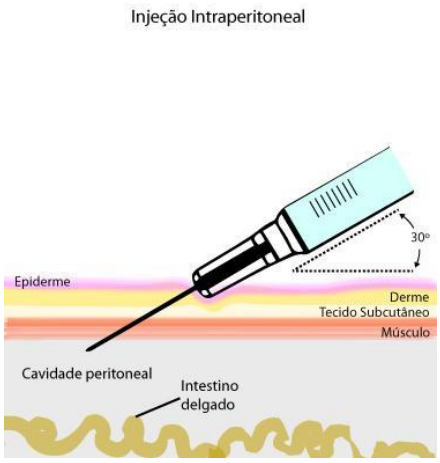
Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (1 a 3 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 22 a 30 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze.

Procedimentos:

1. Preencha a seringa com o volume de substância apropriado segundo a dosagem;
2. Realize a contenção do rato pelo dorso (Fig. 13A), inclinando-o com a cabeça voltada para baixo (Fig. 13B). Essa manobra posicionará os intestinos cranialmente, para longe da área de administração;
3. Realize a antissepsia da área a ser administrada com álcool etílico 70%;
4. Insira a agulha no quadrante inferior direito do abdômen do animal, com um ângulo de aproximadamente 30 graus em relação ao corpo do animal, até sentir que a agulha ultrapassou a parede abdominal (Fig. 13C);
5. Certifique o correto posicionamento da agulha puxando o êmbolo da seringa fazendo uma leve pressão negativa até observar um espaço de vácuo (alternativamente levante a ponta da agulha em direção da parede abdominal e observe se não há resistência no movimento). Qualquer sinal de sangue ou fluido no canhão da agulha indica posicionamento incorreto. Caso ocorra, deve-se descartar o conjunto e utilizar novos instrumentos para evitar induzir peritonite (Fig. 13D).
6. Administre a substância em um movimento contínuo empurrando lentamente o êmbolo da seringa até injetar o volume total (Fig. 13E).

Administração de substância por via intraperitoneal	
	Figura 13A. Contenção do animal pelo dorso
	**Figura 13B.** Posicionamento com a cabeça do animal voltada para baixo e antissepsia
	**Figura 13C.** Indicação de local e ângulo para inserção da agulha
	**Figura 13D.** Manobra para certificação de posicionamento correto da agulha
	**Figura 13E.** Administração da substância

	Representação gráfica da via intraperitoneal

IV

Técnicas de Coleta de Sangue

O volume total de sangue coletado dependerá das características do experimento e do tamanho do animal. Conforme a Tabela 3, é possível identificar o volume máximo recomendado para coleta de sangue e o intervalo de recuperação.

Veia lateral da cauda

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Pano ou saco plástico adequado para contenção;
- Luminária com lâmpada de luz infravermelha;
- Seringa (1 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 25 a 30 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze.

Procedimentos:

1. Realize a imobilização do rato usando pano ou saco plástico para contenção;
2. Irradie a luz infravermelha na cauda do rato até que se observe dilatação suficiente das veias laterais caudais (3 a 5 minutos), atentando-se para que não ocorra aquecimento excessivo da região, evitando lesões ao animal, manter a mão junto à cauda para percepção do calor (Fig. 14A);
3. Realize a antissepsia da cauda com álcool etílico 70% (Fig. 14B);
4. A introdução da agulha deve ser executada com o bisel voltado para cima, preferencialmente na porção distal da metade da cauda (Fig. 14C);
5. Utilizando os dedos polegar e indicador, mantenha a cauda sob pressão, para promover a dilatação da veia, insira a agulha na pele na direção cranial da veia;
6. Insira ao menos 3 mm da agulha no lúmen da veia lateral (Fig. 14D);

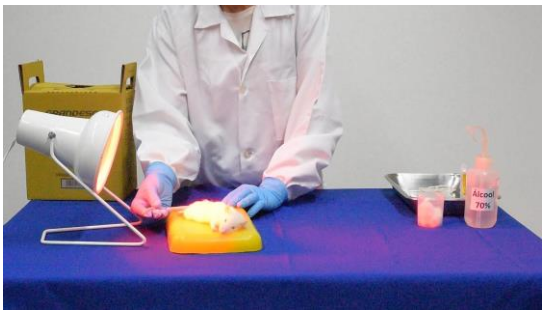
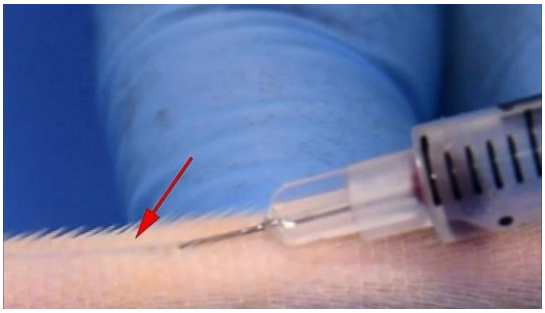
7. Puxe levemente o êmbolo da seringa e certifique a presença de sangue no canhão da agulha indicando o posicionamento correto.
8. Continue puxando o êmbolo da seringa de forma contínua e lenta, evitando assim a ruptura da veia (Fig. 14E);
9. Após a retirada da agulha, realize a hemostasia, aplicando gentilmente pressão no local da coleta, utilizando algodão ou gaze, antes de retornar o animal à gaiola (Fig. 14F).

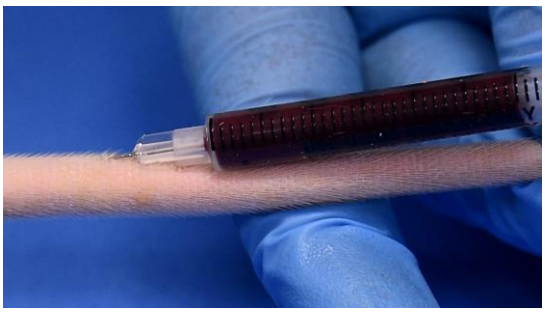
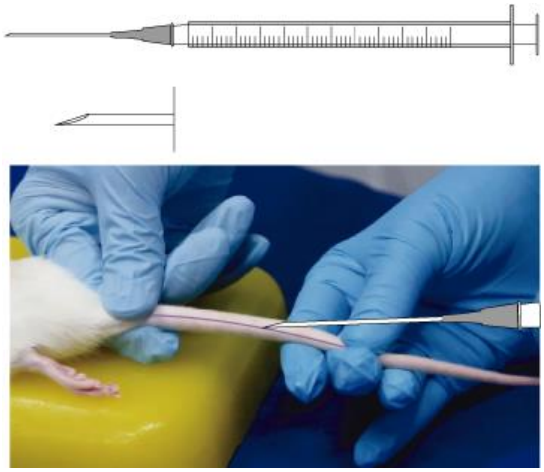
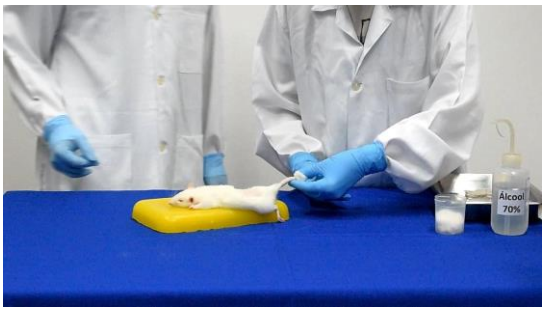
ATENÇÃO

Como alternativa à contenção física, a sedação do animal ou uso de anestesia inalatória é indicada para facilitar a execução do procedimento.

A coleta de sangue via veia lateral deve ser realizada a partir da extremidade distal, sempre na direção cranial, evitando a formação de coágulos. Caso seja necessário repetir o procedimento, esse deverá ser realizado na porção mais cranial em relação à tentativa anterior.

O procedimento pode ser feito com auxílio de outra pessoa para facilitar a contenção do animal e execução da técnica.

Coleta de sangue pela veia lateral da cauda	
	**Figura 14A.** Irradiação de luz infravermelha para dilatação das veias laterais da cauda
	Figura 14B. Antissepsia da cauda com álcool etílico 70%
	**Figura 14C.** Demonstração do local e posicionamento da introdução da agulha
	Figura 14D. Pressão da cauda para manutenção da dilatação da veia

	**Figura 14E.** Coleta de sangue de forma lenta e contínua
	**Figura 14F.** Esquema do posicionamento do bisel da agulha voltado para cima
	**Figura 14G.** Hemostasia oriunda de pressão no local da coleta

Veia gengival

Materiais:

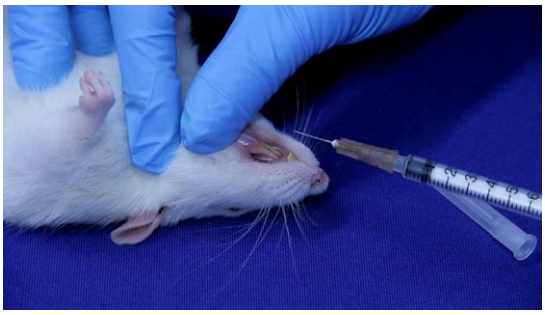
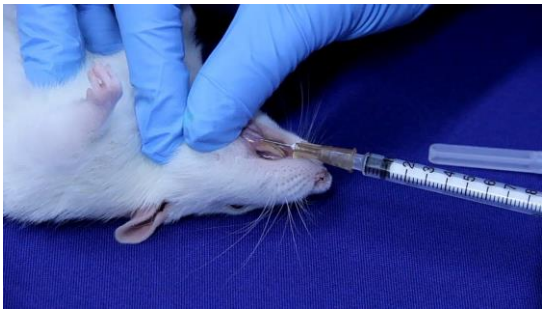
- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (1 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 26 a 30 G);
- Gaze.

Procedimentos:

1. Essa técnica deve ser realizada com o rato anestesiado;
2. Com o rato em decúbito dorsal, exponha a gengiva abaixo dos dentes incisivos inferiores, puxando pelo lábio inferior (Fig. 15A);
3. Insira aproximadamente 2 mm da agulha, com o bisel voltado para cima, formando um ângulo de 20 a 25 graus em relação aos dentes incisivos inferiores do animal (Fig. 15B);
4. Puxe levemente o êmbolo da seringa e certifique a presença de sangue no canhão da agulha indicando o posicionamento correto.
5. Continue puxando o êmbolo da seringa de forma contínua e lenta até coletar o volume desejado, evitando assim a ruptura da veia (Fig. 15C), esta técnica permite a coleta de aproximadamente 800 µL de sangue;
6. Após a retirada da agulha, realize a hemostasia, aplicando gentilmente pressão no local da coleta, utilizando a mão ou gaze, antes de retornar o animal à gaiola (Fig. 15D).

ATENÇÃO

O animal deve ser observado e mantido aquecido durante a anestesia e período de recuperação.

Coleta de sangue pela veia gengival	
	**Figura 15A.** Exposição da gengiva com o animal em decúbito dorsal
	**Figura 15B.** Demonstração do local e posicionamento da introdução da agulha
	Figura 15C. Coleta de sangue de forma lenta e contínua
	Figura 15D. Pressão da gengiva para hemostasia

	Gengiva do rato em detalhes

Veia Safena

Materiais:

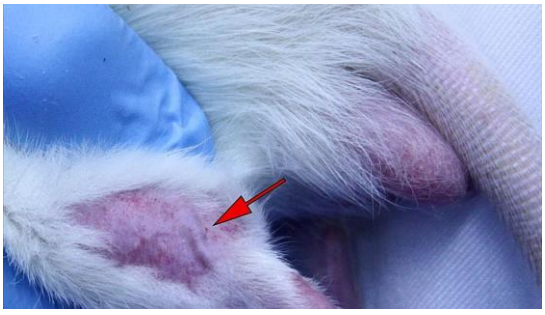
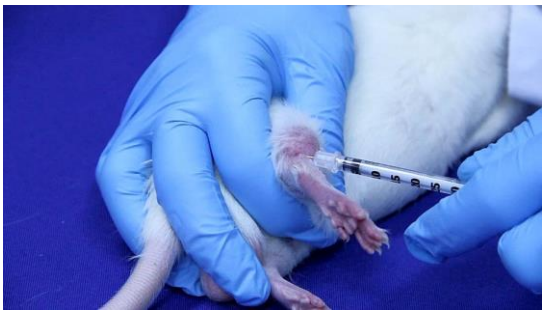
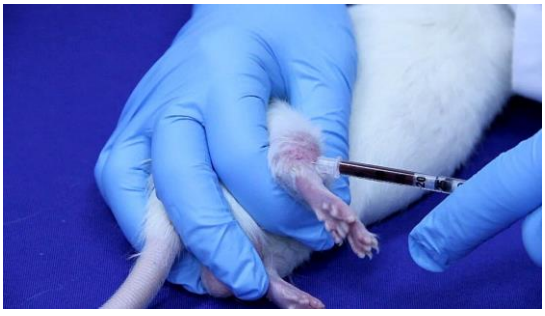
- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (1 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 26 a 30 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze;
- Máquina de cortar pelos.

Procedimentos:

1. Realize a contenção ou anestesie o rato;
2. Realize a tricotomia lateral do membro pélvico do rato e a antissepsia na região com álcool etílico 70% (Fig. 16A);
3. Pressione com os dedos a veia safena acima da articulação do joelho do animal, visando promover o ingurgitamento do vaso (Fig. 16B);
4. Insira a agulha ao menos 3 mm no lúmen da veia, formando um ângulo de aproximadamente 20 graus em relação ao membro pélvico (Fig. 16B);
5. Puxe levemente o êmbolo da seringa e certifique a presença de sangue no canhão da agulha indicando o posicionamento correto (Fig. 16C);
6. Continue puxando o êmbolo da seringa de forma contínua e lenta, evitando assim a ruptura da veia (Fig. 16D);
7. Após a retirada da agulha, realize a hemostasia, aplicando gentilmente pressão no local da coleta, utilizando algodão ou gaze, antes de retornar o animal à gaiola (Fig. 16E).

ATENÇÃO

Caso não obtenha sucesso na primeira tentativa, evite reintroduzir a agulha no vaso devido ao risco de ruptura.

Coleta de sangue pela veia safena	
	Figura 16A. Área depilada e antissepsia do local com álcool etílico 70%
	**Figura 16B.** Demonstração do local a se aplicar pressão na veia safena, acima da articulação do joelho, e do local da introdução da agulha
	**Figura 16C.** Certifique a presença de sangue no canhão da agulha
	**Figura 16D.** Coleta de sangue de forma lenta e contínua

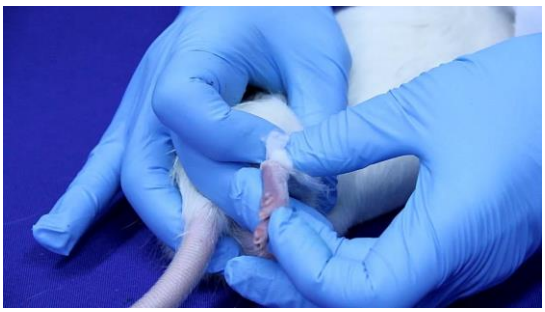


Figura 16E. Pressão no local da coleta para hemostasia

Veia jugular

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (3 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 24 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze;
- Placa de parafina para fixação do rato;
- Barbante para fixação do rato;
- Aparelho de anestesia inalatória ou anestésico injetável.

Procedimentos:

1. Essa técnica deve ser realizada com o rato anestesiado;
2. Posicione o rato em decúbito dorsal no centro da placa de parafina (Fig. 17A);
3. Amarre o rato na placa com os barbantes, de tal forma que seus membros torácicos fiquem estendidos (Fig. 17A);
4. Incline a cabeça do rato para o lado oposto ao que será introduzido a agulha (Fig. 17B);
5. Realize a antissepsia do local com álcool etílico 70% (Fig. 17B);
6. Insira a agulha lentamente na veia jugular, que está localizada superficialmente no centro do espaço entre a cabeça e o membro torácico (Fig. 17C);
7. Puxe levemente o êmbolo da seringa e certifique a presença de sangue no canhão da agulha indicando o posicionamento correto;
8. Continue puxando o êmbolo da seringa de forma contínua e lenta, evitando assim a ruptura da veia (Fig. 17D);
9. Após a retirada da agulha, realize a hemostasia, aplicando gentilmente pressão no local da coleta, utilizando algodão ou gaze, antes de retornar o animal à gaiola (Fig. 17E).

ATENÇÃO

O animal deve ser observado e mantido aquecido durante a anestesia e período de recuperação.

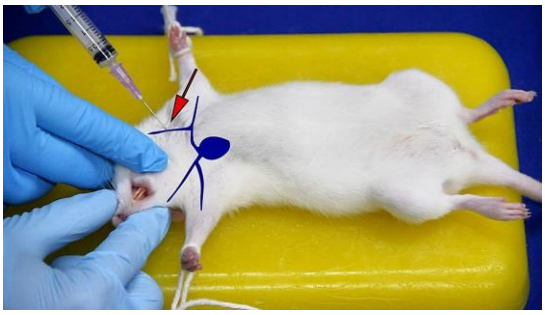
Coleta de sangue pela veia jugular	
	Figura 17A. Posicionamento do animal em decúbito dorsal e amarração com barbante
	Figura 17B. Posicionamento da cabeça do animal e antissepsia com álcool etílico 70%
	**Figura 17C.** Posicionamento da inserção da agulha na veia jugular, localizada superficialmente no centro do espaço entre a cabeça e o membro torácico
	Figura 17D. Coleta de sangue de forma lenta e contínua

Figura 17E. Pressão no local da coleta para hemostasia

Punção Intracardíaca

Materiais:

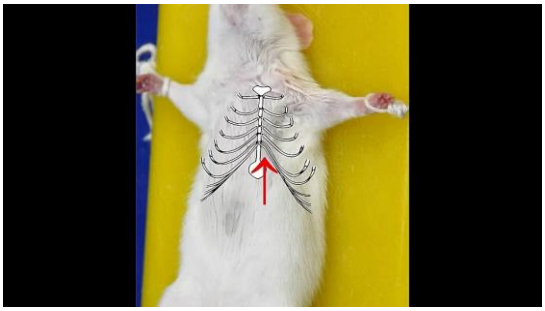
- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa (3 ml);
- Agulha hipodérmica (calibre 22 G a 24 G);
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze;
- Suporte e barbante para fixação do animal;
- Aparelho de anestesia inalatória ou anestésico injetável.

Procedimento:

1. Essa técnica deve ser realizada com o rato anestesiado;
2. Posicione o rato em decúbito dorsal no centro da placa de parafina (Fig. 18A);
3. Amarre o rato na placa com os barbantes, de tal forma que seus membros torácicos fiquem estendidos (Fig. 18A);
4. Com o rato em decúbito dorsal, realize a antissepsia do tórax do animal com álcool etílico 70% (Fig. 18A);
5. Insira a agulha no lado esquerdo da cartilagem xifóide, próximo a base do esterno, formando um ângulo entre 20 e 30 graus em relação ao corpo do animal (Fig. 18B e 18C);
6. Introduza a agulha lentamente, exercendo uma leve pressão negativa no êmbolo da seringa (o sangue deverá fluir para o canhão da agulha assim que o bisel penetrar dentro de uma das câmaras do coração). É possível sentir a pulsação quando a agulha é introduzida no coração do animal;
7. Puxe o êmbolo da seringa de forma contínua e lenta, até a finalização do fluxo sanguíneo (Fig. 18D);

ATENÇÃO

Essa técnica pode ser realizada somente com o animal anestesiado e por pessoas bem treinadas. Por ser invasivo, o procedimento é considerado terminal, ou seja, deve ser realizada a eutanásia, com o animal ainda sob anestesia.

Coleta de sangue por punção intracardíaca	
	Figura 18A. Posicionamento do animal em decúbito dorsal e amarração com barbante e antissepsia com álcool etílico 70% no local de coleta de sangue
	**Figura 18B**. Esquema do posicionamento da agulha, na base do esterno, na lateral da linha média do lado esquerdo do rato cabeça do animal
	Figura 18C. Posicionamento da inserção da agulha
	Figura 18D. Coleta de sangue de forma lenta e contínua

V

Técnicas Anestésicas

Bloqueio do nervo ciático - anestesia local do membro pélvico

Materiais:

- Luvas descartáveis para procedimentos;
- Jaleco;
- Seringa carpule com refluxo (seringa de dentista);
- Agulha gengival longa (27 G): 0,4 x 30mm;
- Blister de cloridrato de bupivacaína 0,5%;
- Álcool etílico 70%;
- Algodão ou gaze.

Procedimentos:

1. Realize a contenção do animal colocando uma mão, de forma suave, porém firme, em seu dorso (Fig. 19A);
2. Por palpação, identifica-se a patela, a epífise proximal do fêmur e a vértebras lombares como referências anatômicas;
3. Trace um triângulo imaginário unindo a epífise proximal do fêmur, primeiras vértebras caudais e coluna vertebral. A agulha deverá ser inserida na porção caudal, logo acima da epífise do fêmur e próximo ao vértice do triângulo (Fig. 19B e Fig. 19C);
4. Realize a antissepsia do local de administração com álcool etílico 70% (Fig. 19D);
5. Introduza a agulha com ângulo de aproximadamente 45 graus na posição caudal ao fêmur apontando na direção crânio-medial (Fig.19E);
6. Injete 1 ml de anestésico local (cloridrato de bupivacaína 0,5%) usando uma seringa de dentista e agulha longa ultrafina;
7. Aproximadamente dez minutos após a injeção perineural, é possível observar a interrupção do estímulo nervoso pela perda do movimento do respectivo membro pélvico. O membro oposto pode ser utilizado como controle (Fig.19F).

Procedimento de bloqueio do nervo ciático - anestesia local do membro pélvico

Figura 19A. Posicionamento e contenção do animal pelo dorso

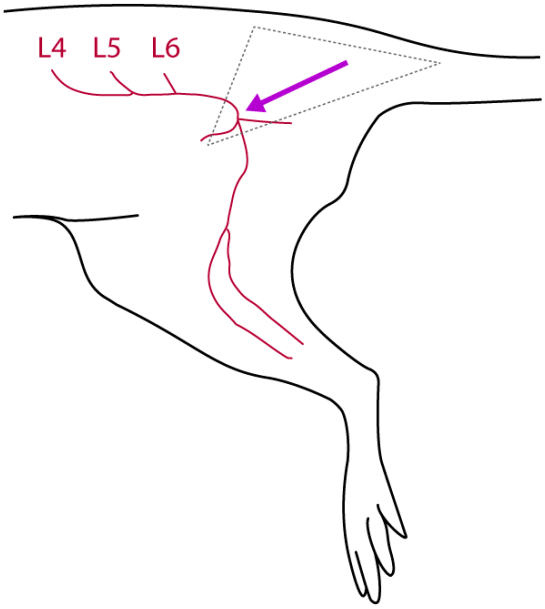


Figura 19B. Representação esquemática do nervo ciático e local de aplicação, demonstrando a posição da patela, da epífise proximal do fêmur e das vértebras lombares

Figura 19C. Fotografia demonstrando o posicionamento do nervo ciático para definir o local de aplicação.

Figura 19D. Realização de antissepsia com álcool etílico 70% no local de introdução da agulha

	Figura 19E. Posicionamento da inserção da agulha
	Figura 19F. Demonstração da interrupção do estímulo nervoso pela perda do movimento do respectivo membro pélvico

VI

Anexos

Tabela 1. Características das vias de administração e impacto no bem-estar animal

Via de administração	Frequência	Contenção	Comentários	Impacto no bem-estar
Bomba osmótica	Contínua	Anestesia para o implante, depois nenhuma	Evita múltiplas injeções.	**
Intra-articular	U	Anestesia	Pode lesionar a articulação; esterilidade é essencial; realizar apenas uma vez.	***
Intracerebral	U	Anestesia	Tecnicamente difícil em neonatos. O procedimento incorreto, volume incompatível ou propriedades da substância, ou rejeição por acúmulo da substância podem resultar em óbito.	***
Intradérmica	R	M	Deve-se alcançar uma boa técnica para garantir que a administração não seja subcutânea.	**
Intramuscular	R	M	Efeitos irritantes podem causar dor e lesão tecidual. Pode causar danos aos nervos. Evite injetar nos espaços entre as fáscias ou vasos sanguíneos. Efeitos ocasionados por grandes volumes e dano tecidual ficam ocultos. Atente-se aos adjuvantes. Considere injetar em diferentes locais para administrações sucessivas.	**
Intranasal	R	M	É difícil garantir que a dose completa seja administrada na narina. Efeitos adversos são improváveis, mas volumes excessivos podem causar asfixia.	*
Intraperitoneal	R	M	Substâncias irritantes podem causar dor e peritonite. Podem ocorrer equívocos ao administrar a substância diretamente em um órgão, porém é difícil de detectar. Indicado para apenas para pequenos roedores.	**

Intratraqueal	U	Anestesia	Pode causar óbito em equívoco técnico ou se a substância for irritante.	***
Intravaginal	R	M	Pode ser difícil reter a substância no interior da vagina.	*
Intravenosa	R	Anestesia ou contenção mecânica com auxílio de pano, tubo ou saco plástico	Necessário aquecer o animal para vasodilatação. Cuidado para evitar queimaduras na cauda. A injeção rápida pode resultar em alta concentração da substância no sistema nervoso central ou outro órgão, podendo ser fatal.	**
Oral: Alimento/Água	R	Não	A dose pode variar com a ingestão de alimentos ou água. A dosagem em alimentos causa pouco estresse, porém a baixa palatabilidade pode restringir a ingestão, possibilitando sofrimento causado pela sede. É importante conhecer o comportamento alimentar do animal.	*
Oral: Gelatina	R	Não	Fácil de administrar, porém o animal pode rejeitar substâncias não palatáveis. É importante conhecer o comportamento alimentar do animal.	*
Oral: Gavagem	R	M	O posicionamento preciso da cânula é essencial. Equívocos são raros, porém pode ocorrer óbito em pequenos roedores caso a canulação esteja incorreta.	**
Respiratória: Exposição de corpo inteiro	R	Não	É difícil medir a dose administrada, mas falhas ou problemas técnicos ou de bem-estar são raros.	*
Respiratória: Inalação apenas nasal	R	Tubos ou máscaras	Estressante devido à contenção no tubo. Treinamento e habituação dos animais são essenciais.	**
Subcutânea	R	M	Em caso de doses sucessivas, alternar o local de administração; atenção aos adjuvantes.	*
Tópica dérmica	R	M ou anestesia	Pouco utilizado em pequenos roedores. A remoção dos curativos adesivos pode ser dolorosa. Substâncias irritantes são especialmente problemáticas.	**
Tópica Ocular	R	M	Trata-se de uma técnica fácil, mas substâncias irritantes podem causar lesões oculares, que tendem a ser muito dolorosas.	*

M: contenção manual durante o período de administração; R: doses repetidas; U: dose única.

** Menor impacto: procedimento não doloroso, mínima contenção, rápido ou não invasivo;*

*** Médio impacto: procedimento pode demandar anestesia, sedação ou contenção, exigindo capacidade técnica apurada;*

**** Maior impacto: A anestesia pode ser necessária (com riscos associados), técnica incorreta pode causar morte ou lesões graves.*

Fonte:

Morton DB, Jennings M, Buckwell A, Ewbank R, Godfrey C, Holgate B, Inglis I, James R, Page C, Sharman I, Verschoyle R, Westall L, Wilson AB; Joint Working Group on Refinement. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. British Veterinary Association Animal Welfare Foundation/Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments/Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals/Universities Federation for Animal Welfare. Lab Anim. 2001 Jan;35(1):1-41. doi: 10.1258/0023677011911345. PMID: 11201285.

ZANATTO, Dennis Albert. Métodos substitutivos ao uso de animais vivos no ensino de graduação em medicina veterinária: procedimentos em roedores de laboratório. 2018. Dissertação de Doutorado. Universidade de São Paulo. doi: 10.11606/D.10.2019.tde-11062019-145628

Tabela 2. Volumes máximos recomendados, pH e calibre da agulha segundo a via de administração em roedores de laboratório

VIA DE ADMINISTRAÇÃO	pH	RATO		CAMUNDONGO		HAMSTER	
		Volumes máximos (ml)	Calibre da agulha	Volumes máximos (ml)	Calibre da agulha	Volumes máximos (ml)	Calibre da agulha
ORAL (GAVAGEM)	**2,0 – 9,0**	3,0	16 – 18 G	0,5 – 1,0	18 – 20 G	1,5	18 G
SC	**7,3 – 7,4**	5,0 – 10,0	24 – 26 G	2,0 – 3,0 *	26 G	3,0 – 4,0 *	24 – 26 G
IP	**7,3 – 7,4**	5,0 – 10,0	24 – 26 G	2,0 – 3,0	26 G	3,0 – 4,0	24 – 26 G
IM	**7,3 – 7,4**	0,3	26 G	0,05 **	30 G	0,1	26 G
IV	**4,0 – 9,0**	0,5	24 – 26 G	0,2	26 G	0,3	26 G
ID	**7,3 – 7,4**	0,05 – 0,1	30 G	0,05	30 G	0,05 – 0,1	30 G
IN	**7,3 – 7,4**	0,03 – 0,05	–	0,02	–	0,03 – 0,05	–

SC: subcutâneo; IP: intraperitoneal; IM: intramuscular; IV: intravenoso; ID: intradérmico; IN: intranasal.

** Dividir a dose em 2 a 4 locais de aplicação.*

*** Recomendada apenas em situações especificas que exigem a via IM, devido à massa muscular insuficiente no camundongo.*

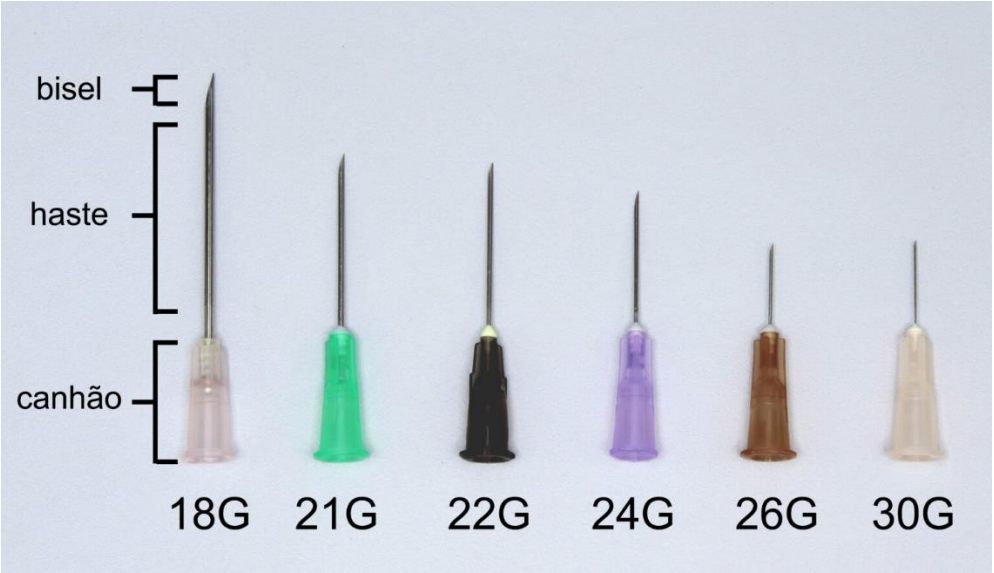


Figura 20. Imagem demonstrativa do calibre das agulhas

Fonte:

Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal JM, van de Vorstenbosch C; European Federation of Pharmaceutical Industries Association and European Centre for the Validation of Alternative Methods. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. J Appl Toxicol. 2001 Jan-Feb;21(1):15-23. doi: 10.1002/jat.727. PMID: 11180276.

Gad SC, Spainhour CB, Shoemake C, Pallman DR, Stricker-Krongrad A, Downing PA, Seals RE, Eagle LA, Polhamus K, Daly J. Tolerable Levels of Nonclinical Vehicles and Formulations Used in Studies by Multiple Routes in Multiple Species With Notes on Methods to Improve Utility. Int J Toxicol. 2016 Mar-Apr;35(2):95-178. doi: 10.1177/1091581815622442. Epub 2016 Jan 10. PMID: 26755718.

Turner PV, Pekow C, Vasbinder MA, Brabb T. Administration of substances to laboratory animals: equipment considerations, vehicle selection, and solute preparation. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2011 Sep;50(5):614-27. PMID: 22330706; PMCID: PMC3189663.

Tabela 3. Volumes máximos recomendados para coleta de sangue e intervalo para recuperação

Espécies	Volume total de sangue (ml)	Intervalo para recuperação, porcentagem e volume de sangue (ml)			
		1 semana (7,5%)	**2 semanas (10%)**	**3 semanas (15%)**	**4 semanas (20%)**
Camundongo (25 g)	1,8	0,1	0,2	0,3	0,4
Hamster (150 g)	10,0	0,75	1,0	1,5	2,0
Rato (250 g)	16,0	1,2	1,6	2,4	3,2

Fonte:

Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal JM, van de Vorstenbosch C; European Federation of Pharmaceutical Industries Association and European Centre for the Validation of Alternative Methods. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. J Appl Toxicol. 2001 Jan-Feb;21(1):15-23. doi: 10.1002/jat.727. PMID: 11180276.

Tabela 4. Doses sugeridas de analgésicos para ratos

Substância	Dose (mg/kg)	Via de administração	Intervalo de dosagem
Carprofeno	2-5	SC	12-24h
Flunixina meglumina	1-2,5	SC	12h
Ibuprofeno	20	PO	12h (máx. 72h)
	0,2mg/ml de água	PO na água de bebida	Contínuo (máx. 72h)
Cetoprofeno	5	SC	
Meloxicam	1-2	SC, PO	12h
Paracetamol	200-300	PO	
	2-4,5mg/ml de água	PO na água de bebida	contínuo
Buprenorfina	0,05	SC	4-6h
	0,3mg/ml (1 gota)	PO	4-6h
	0,5 (6-9mg/litro de água)	PO na água de bebida	contínuo
Butorfanol	1-2	SC	4h
Fentanil	0,03	IV	2h
Morfina	2,5-5	SC, IM	4h
Petidina (Meperidina)	10-20	SC, IM	2-3h
Piritramida	0,3	SC	
Tramadol	0,5mg/ml de água	PO na água de bebida	contínuo
	5	SC	aprox. 2h
Cetamina	4	IP, IM	30-60min
Metamizol	100-250	PO, SC	6h
Gabapentina	55	PO	4h

	100	IP	12h
Bupivacaína	1-2 (máx. 8)	Infiltração no tecido antes e depois da incisão. Aspersão sobre a ferida ou mucosa.	Início do efeito após 15min. Duração 4-8h.
Lidocaína	2-4 (máx. 7)	Infiltração no tecido antes e depois da incisão. Aspersão sobre a ferida ou mucosa.	Início do efeito após 5-10min. Duração aprox. 30min.
Ropivacaína	1-2 (máx. 8)	SC, tecido (infiltração, aspersão)	Início do efeito após 15min. Duração 4-8h.

SC: subcutâneo; PO: Via Oral; IV: intravenoso; IM: intramuscular; IP: intraperitoneal.

Observações: As doses dos analgésicos devem ser adaptadas à respectiva situação clínica e requisitos do protocolo experimental. Efeitos adversos e influências nos resultados dos experimentos devem ser pesquisados individualmente na literatura.

A resposta aos analgésicos pode ser influenciada por variações individuais e da linhagem; portanto, é essencial avaliar o efeito analgésico em cada indivíduo.

Fonte:

Arras M. et al. Pain management for laboratory Animals. GV-SOLAS Committee for Anaesthesia in collaboration with Working Group 4 in the TVT. 2020. https://www.gv-solas.de/wp-content/uploads/2021/08/2021-04_Pain_Management_for_laboratory_animals.pdf

Flecknell, Paul. Laboratory animal anaesthesia. Academic press, 2015. https://doi.org/10.1016/C2013-0-13494-0

VII

Bibliografia Consultada

Atcha, Z., Rourke, C., Neo, A. H., Goh, C. W., Lim, J. S., Aw, C. C., ... & Pemberton, D. J. (2010). Alternative method of oral dosing for rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, *49*(3), 335-343.

Bogdanske, J. J., Hubbard-Van Stelle, S., Riley, M. R., & Schiffman, B. M. (2011). LABORATORY RAT.

Corbett, A., McGowin, A., Sieber, S., Flannery, T., & Sibbitt, B. (2012). A method for reliable voluntary oral administration of a fixed dosage (mg/kg) of chronic daily medication to rats. *Laboratory animals*, *46*(4), 318-324.

de Oliveira, D. T., Souza-Silva, E., & Tonussi, C. R. (2009). Technical report: Gingival vein punction: a new simple technique for drug administration or blood sampling in rats and mice. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Sciences*, *36*(2), 109-113.

Dhawan, S. S., Xia, S., Tait, D. S., Bundgaard, C., Bowman, E., & Brown, V. J. (2018). Oral dosing of rodents using a palatable tablet. *Psychopharmacology*, *235*(5), 1527-1532.

Diehl, K. H., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., ... & Vorstenbosch, C. V. D. (2001). A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, *21*(1), 15-23.

Donovan, J., & Brown, P. (2006). Handling and restraint. *Current protocols in immunology*, *73*(1), 1-3.

Fitzner Toft, M., Petersen, M. H., Dragsted, N., & Hansen, A. K. (2006). The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. *Laboratory animals*, *40*(3), 261-274.

Lapchik, V. B. V., Mattaraia, V. G. D. M., & Ko, G. M. (2017). Cuidados e manejo de animais de laboratório. In *Cuidados e manejo de animais de laboratório* (pp. 760-760).

Machholz, E., Mulder, G., Ruiz, C., Corning, B. F., & Pritchett-Corning, K. R. (2012). Manual restraint and common compound administration routes in mice and rats. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (67), e2771.

Monteiro, Karin Maia. Refinamento de modelos experimentais para a diminuição do sofrimento animal e da variabilidade da resposta farmacológica = Refinement of experimental models aiming at reducing both animal suffering and variability of the pharmacological response. 2016. 1 recurso online (127 p.). Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP. Disponível em: <https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/980837 >. Acesso em: 21 set. 2023.

Morton, D. B., Jennings, M., Buckwell, A., Ewbank, R., Godfrey, C., Holgate, B., ... & Wilson, A. B. (2001). Refining procedures for the administration of substances. *Laboratory animals*, *35*(1), 1-41.

Nebendahl, K. (2000). Routes of administration. In *The laboratory rat* (pp. 463-483). Academic Press.

Neves, S. M. (2013). Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação. *São Paulo: Universidade de São Paulo*. http://www.livrosabertos.sibi.usp.br/portaldelivrosUSP/catalog/view/46/39/179-1

Parasuraman, S., Raveendran, R., & Kesavan, R. (2010). Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*, *1*(2), 87.

Sharp, P., & Villano, J. S. (2012). *The laboratory rat*. CRC press.

Sousa, A. M., Ashmawi, H. A., Costa, L. S., Posso, I. D. P., & Slullitel, A. (2012). Percutaneous sciatic nerve block with tramadol induces analgesia and motor blockade in two animal pain models. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *45*, 147-152.

Templin, J. S., Wylie, M. C., Kim, J. D., Kurgansky, K. E., Gorski, G., Kheir, J., ... & Berde, C. (2015). Neosaxitoxin in rat sciatic block: improved therapeutic index using combinations with bupivacaine, with and without epinephrine. *Anesthesiology*, *123*(4), 886-898.

Thalhammer, J. G., Vladimirova, M., Bershadsky, B., & Strichartz, G. R. (1995). Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, *82*(4), 1013-1025.

Turner, P. V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, *50*(5), 600-613.

Turner, P. V., Pekow, C., Vasbinder, M. A., & Brabb, T. (2011). Administration of substances to laboratory animals: equipment considerations, vehicle selection, and solute preparation. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, *50*(5), 614-627.

Zanatto, Dennis Albert. Métodos substitutivos ao uso de animais vivos no ensino de graduação em medicina veterinária: procedimentos em roedores de laboratório. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.

Sites:

Boas Práticas em Experimentação Animal: Procedimentos em Roedores de Laboratório. Disponível em <https://sites.usp.br/bpeanimal/>. Acesso em [09/setembro/2023].

Research Animal Training (RAT). Disponível em: <https://researchanimaltraining.com/article-categories/administration-of-substances/>. Acesso em: [04/setembro/2023].

National Centre for Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs). Disponível em: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling>. Acesso em: [04/setembro/2023].

JoVE Science Education Database. Lab Animal Research. Rodent Handling and Restraint Techniques. JoVE, Cambridge, MA, 2021. Disponível em: <https://www.jove.com/v/10221/rodent-handling-and-restraint-techniques>. Acesso em: [04/setembro/2023].

Virginia Polytechnic Institute and State University. Rodent Biomedical Research SOPs. Disponível em: <https://ouv.vt.edu/resources/standard-operating-procedures--sops-/small-animal-biomedical-research-sops.html>. Acesso em: [04/setembro/2023].

SOP: Blood Collection from the Tail Vein in Rats
SOP: Intraperitoneal Injections in the Rat
SOP: Intravenous Injections in the Rat
SOP: Oral Gavage in the Rat
SOP: Rat Blood Collection, Intracardiac
SOP: Retro-Orbital Blood Collection in the Rat
SOP: Subcutaneous Injections in the Rat