

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 18/02/2022.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO
DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Renata Haddad Pinho

**Desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma escala
para avaliar a dor aguda em coelhos (*Oryctolagus
cuniculus*).**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Anestesiologia.

Orientador: Prof. Titular Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna

**Botucatu
2020**

Renata Haddad Pinho

Desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma
escala para avaliar a dor aguda em coelhos
(*Oryctolagus cuniculus*).

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestra em Anestesiologia.

Orientador: Prof. Titular Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna

Botucatu
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Pinho, Renata Haddad.

Desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma escala para avaliar a dor aguda em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) / Renata Haddad Pinho. - Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Stelio Pacca Loureiro Luna
Capes: 50501011

1. Medição da dor. 2. Animais de laboratório. 3. Bem-estar.
4. Reprodutibilidade dos testes. 5. Coelho.

Palavras-chave: animais de laboratório; avaliação da dor; bem-estar; confiabilidade; leporinos.

“Aos animais de experimentação, cujo bem-estar e alívio da dor foram as grandes motivações para o desenvolvimento deste estudo.”

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio e compreensão desde a graduação.

À Shakira, minha grande companheira, por me lembrar todos os dias desde os tempos de “caloura” que privilégio é poder aliviar a dor de seres tão amáveis e sensíveis como os animais.

À minha família de Botucatu, meus colegas de trabalho e amigos, obrigada por tornarem minha trajetória mais tranquila e prazerosa.

À Daniela, Mariana e André pelo carinho e seriedade com que se envolveram no meu trabalho.

Ao Pedro e à Alice pela amizade, pelos ensinamentos e pela parceria. A amizade de vocês foi um grande presente da pós-graduação!

À Fabiana e aos amigos de Jaboticabal Pão, Dália, Lari, Pauline, Gabi e Tamy pelo suporte durante o desenvolvimento do projeto.

Ao professor Bruno Minto da Unesp de Jaboticabal e à sua equipe pela parceria.

Ao professor Matthew Leach da Universidade de Newcastle pela contribuição ao nosso projeto.

À Natache pela amizade e pelo exemplo profissional desde a residência. Levo um pouco dela em cada uma das minhas anestésias.

Aos funcionários da pós-graduação, sempre dispostos a nos ajudar, em especial à Tati e à Márcia por todo carinho e paciência.

Ao Diego, pela colaboração na validação de conteúdo da escala.

Aos membros da banca da qualificação e da defesa, Dra. Natache, Professora Sílvia, Professor Francisco e Dra. Daniela pela disponibilidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelos 10 meses de bolsa - Código de financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro na forma de Bolsa de Estudo no País processo nº 2018/17839-7 e Projeto Temático nº 2017/12815-0.

Ao professor Stelio, querido orientador, por todo incentivo ao meu crescimento profissional, pela chance de fazer parte de um time incrível, por todos os ensinamentos e pela oportunidade de desenvolver um projeto tão gratificante.

RESUMO

PINHO, R.H. **Desenvolvimento, validação e confiabilidade de uma escala para avaliar a dor aguda em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)**. 93p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.

Considerando-se a ampla utilização de coelhos em pesquisas que potencialmente causam dor e desconforto, a negligência no tratamento da dor e a ausência de ferramentas capazes de avaliar adequadamente a dor nesta espécie, o presente estudo objetivou desenvolver e validar uma escala de dor aguda pós-operatória em coelhos (RPBS). Cinquenta e oito coelhos foram filmados durante estudos prévios dos quais 28 foram submetidos à ostectomia parcial de rádio, 14 à ovariosalpingohisterectomia (OSH) e 16 à orquiectomia. As filmagens ocorreram nos momentos: basal (antes da cirurgia); dor (momento de maior dor esperada, após a cirurgia); analgesia (após o resgate analgésico – apenas para os animais submetidos à cirurgia ortopédica) e 24h (24 horas após a cirurgia). Elaborou-se a RPBS com base em comportamentos identificados pelo etograma dos animais submetidos à cirurgia ortopédica e descritos na literatura para coelhas submetidas à OSH. Os comportamentos foram avaliados por um comitê de especialistas (avaliação de conteúdo) e a seguir procedeu-se à avaliação dos vídeos por quatro observadores encobertos quanto aos momentos, que respondiam, após a observação dos vídeos, se eles indicariam resgate analgésico, pontuavam a RPBS e as escalas numérica (EN), descritiva simples (EDS) e analógica visual (EAV). Um mês após a primeira avaliação, os vídeos foram novamente aleatorizados e reavaliados. Após as avaliações, a escala foi refinada e validada. A RPBS foi considerada unidimensional por conter auto-valor e variância aceitáveis apenas na primeira dimensão pela análise de componentes principais. A confiabilidade intra e interobservador para a somatória da escala (ICC) foi muito boa ($>0,80$) para todos os avaliadores. A escala foi responsiva quando se comparou o momento basal ao momento dor, embora sua somatória não tenha apresentado diferença entre os momentos dor e analgesia. Por meio da correlação de Spearman, observou-se alta correlação da RPBS com a EN (0,86), EDS (0,84) e EAV (0,84) e correlação item-total adequada ($>0,3$). A consistência interna foi considerada excelente (coeficiente α de Cronbach $>0,80$). Determinou-se a pontuação ≥ 3 da somatória da escala como ponto de resgate analgésico (Youden index), com

área sob a curva $>0,90$ para todos os avaliadores, o que evidencia alta capacidade discriminatória da RPBS. As pontuações 2, 3 e 4 se apresentaram dentro da zona de incerteza diagnóstica. Classificou-se os escores como dor de baixa intensidade (1 a 4); intensidade intermediária (5 e 6) e intensidade alta (≥ 7). Concluiu-se que a escala proposta apresenta validade de conteúdo, critério e constructo, responsividade e confiabilidade para avaliar dor aguda em coelhos submetidos a cirurgias de tecidos moles e ortopédicas. O ponto de corte e a classificação das pontuações servem como balisamento para a administração de analgésicos a coelhos submetidos a procedimentos dolorosos.

Palavras-chave: avaliação da dor, animais de laboratório, bem-estar, confiabilidade, leporinos, validade.

PINHO, R.H. **Development, validation and reliability of a pain scale for assessing postoperative pain in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)**. 93p. Dissertation (MSc) – School of Medicine, São Paulo State University, Botucatu, 2020.

ABSTRACT

Considering the widespread use of rabbits in research that potentially causes pain and discomfort, neglect in the treatment of pain in laboratory animals and the absence of tools capable of adequately assessing pain in this species, the present study aimed to develop and validate a scale of acute postoperative pain in rabbits (RPBS). Footages from three previous studies were used, in which 58 rabbits were submitted to orchietomy, ovariectomy (OVH) or partial radial ostectomy, recorded at baseline (before surgery); pain (moment of greatest expected pain, after surgery); analgesia (after analgesic rescue - only for animals submitted to orthopedic surgery) and 24h post (24 hours after surgery). The RPBS was developed based on behaviours identified by the ethogram of animals submitted to orthopedic surgery and described in the literature for rabbits undergoing OVH. The behaviours were evaluated by a committee of experts (content evaluation) and then the videos were evaluated by four blinded observers who answered if there was a need for analgesic rescue and scored the proposed scale, as well as the numerical rating (NRS), the simple descriptive (SDS) and the visual analogue scales (VAS). One month after the first evaluation, the videos were again randomized and reassessed. After the evaluations, the scale was refined and validated. According to the principal component analysis, the RPBS was considered unidimensional as it contained adequate eigen-value and variance only in the first dimension. The intra- and inter-observer reliability for the sum of the scale (ICC) was excellent (> 0.80) for all evaluators. According to the Friedman test, the scale was responsive, yet its sum did not reveal any difference between the pain and analgesia moments. By means of the Spearman's correlation, there was a high correlation of RPBS with NRS (0.86), SDS (0.84) and VAS (0.84), and adequate item-total correlation (> 0.3). The internal consistency was considered excellent (Cronbach's α coefficient > 0.80). The score ≥ 3 was the cut-off for rescue analgesia with an area under the curve > 0.90 for all evaluators, demonstrating a high discriminatory capacity of such instrument. Scores 2, 3 and 4 were in the gray zone of diagnostic. Scores were classified as low-intensity pain (1 to 4), intermediate intensity (5 and 6) and high

intensity (≥ 7). It was concluded that the proposed scale presented content, criterion and construct validities, responsiveness and reliability to assess acute pain in rabbits. The cut-off for rescue analgesia and the classification of the scores serve as a basis for the administration of analgesics to rabbits submitted to painful procedures.

Keywords: animal welfare, laboratory animals, lagomorph, pain assessment, reliability, validity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama das filmagens utilizadas para elaborar o etograma e filmagens para avaliar a escala no período perioperatório de coelhos submetidos à cirurgia ortopédica.....	28
Figura 2 - Escalas utilizadas para avaliação da dor. 1 – EN, com escore 1 (sem dor) a 10 (pior dor possível); 2 - EDS com quatro níveis descritivos; 3 – EAV com escore 0mm (sem dor) à 100mm (pior dor possível).....	33
Figura 3 – Biplot da análise de componentes principais com os itens da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS).....	44
Figura 4 - Distribuição em porcentagem dos escores (0, 1 ou 2) de cada item da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS).....	46
Figura 5 - Correlação dos postos de Spearman entre somatória total da escala comportamental para avaliar a dor em coelhos (RPBS) com as escalas unidimensionais.....	50
Figura 6 - Gráfico de caixas da somatória total da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS) dos grupos ORTO, OSH-Pla e ORQ-Melox agrupados.....	51
Figura 7 - Gráfico de caixas da somatória total da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS) do grupo ORTO.....	51
Figura 8 - Curva ROC, área sob a curva e zona de incerteza diagnóstica para todos os avaliadores agrupados.....	57
Figura 9 – Dendograma criado pela análise de agrupamento não hierárquica de acordo com a somatória total da RPBS.....	60
Figura 10 – Gráfico de caixas para as três intensidades de dor (low, intermediate e high).....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Definição dos cinco grupos experimentais com base nos três estudos prévios envolvidos neste trabalho	24
Tabela 2 - Definição dos momentos de filmagem avaliados nos 5 grupos.	27
Tabela 3 - Descrição das análises e testes estatísticos para o refinamento e validação da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS).	35
Tabela 4 – Versão final da escala comportamental para avaliar a dor aguda pós-operatória em coelhos (RPBS) após o refinamento.	42
Tabela 5 – Valores de carga de cada item da escala comportamental para avaliar a dor aguda pós-operatória em coelhos (RPBS) baseada na análise de componentes principais.	44
Tabela 6 – Confiabilidade intraobservador (repetibilidade) da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS), da indicação de resgate analgésico e das escalas unidimensionais de acordo com os coeficientes kappa ponderado (kw) e de correlação intraclassa (ICC).	47
Tabela 7 - Coerência para recomendação de resgate analgésico nos momentos basal e de dor	48
Tabela 8 - Confiabilidade interobservador (reprodutibilidade) da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS), da indicação de resgate analgésico e das escalas unidimensionais de acordo com os coeficientes kappa ponderado (kw) e de correlação intraclassa (ICC).	49
Tabela 9 – Matriz de confiabilidade entre todos os observadores referente a somatória da escala comportamental para avaliar a dor em coelhos (RPBS) de acordo com o coeficiente de correlação intraclassa (ICC).	49
Tabela 10 – Responsividade de cada um dos itens, da somatória da RPBS, das escalas EN, EDS, EAV e recomendação para resgate analgésico [mediana (amplitude)] para os grupos ORTO, OSH-Pla e ORQ-Melox agrupadamente.	52
Tabela 11 - Responsividade de cada um dos itens, da somatória da RPBS, das escalas EN, EDS, EAV e recomendação para resgate analgésico [mediana (amplitude)] para o grupo ORTO isoladamente.	53
Tabela 12 - Correlação item-total (coeficiente de correlação de postos de spearman - rs) e consistência interna (α de Crombach) da escala comportamental para avaliar dor aguda em coelhos (RPBS).	54
Tabela 13 - Especificidade e sensibilidade em porcentagem de cada item da escala comportamental para avaliar a dor em coelhos (RPBS) em coelhos submetidos à cirurgias ortopédicas e tecidos moles agrupados.	55
Tabela 14 - Especificidade e sensibilidade em porcentagem de cada item da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS) em cada um dos grupos isoladamente	56

Tabela 15 – A) Especificidade, sensibilidade e índice de Youden de cada avaliador e todos os avaliadores juntos para cada escore da escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS); B) Intervalos de confiança (IC) de 95% do índice de 1.001 reamostragens e sensibilidade e especificidade > 90% para estimar a zona de incerteza diagnóstica do ponto de corte de cada avaliador e todos os avaliadores juntos de acordo com o índice de Youden.	58
Tabela 16 - Frequência e porcentagem de animais pontuados na zona de incerteza diagnóstica de acordo com a escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (RPBS).	59
Tabela 17 – Distribuição da frequência e porcentagem do número de animais em cada intensidade da dor.	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3R'S – reduzir, substituir e refinar (*replace, reduce and refinement*)
ASC – área sob a curva
CANCRs – Escala composta multidimensional para avaliar e quantificar a dor em coelhos
cm – centímetro
cm³ – centímetro cúbico
CO₂ – gás carbônico
COE – coerência
E – especificidade
EAV – escala analógica visual
EDS – escala descritiva simples
EN – escala numérica
et al – colaboradores
h – hora
IC – intervalo de confiança
ICC – coeficiente de correlação intraclasse
IM – intramuscular
IV – intravenosa
IY – índice de youden
Kg – quilograma
K_w – grau de confiabilidade kappa
L – litro
MA – todos os momentos agrupados
mg – miligrama
µg – micrograma
min – minuto
ml – mililitro
mm – milímetro
N/A – não aplicável
°C – graus celcius
O₂ – oxigênio
ORQ – orquiectomia
ORTO – ortopedia
OSH – ovariosalpingohisterectomia
R – refinamento
RbtGs – escala de dor baseada nas expressões faciais de coelhos (*Rabbit Grimace Scale*)
ROC – Curva Característica de Operação do Receptor
RPBS – Escala comportamental para avaliar a dor aguda em coelhos (*Rabbit pain behaviour scale*)
r_s – coeficiente de correlação de Spearman
S – sensibilidade
SC – subcutânea
V – validação
VO – via oral

LISTA DE SÍMBOLOS

α – alfa
= – igual
< – menor
 \leq – menor ou igual
> – maior
 \geq – maior ou igual
 \pm – mais ou menos
% – porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 <i>Negligência na avaliação e tratamento da dor em coelhos</i>	18
2.2 <i>Métodos de avaliação da dor em coelhos</i>	19
2.3 <i>Processo de validação de escalas</i>	21
3. HIPÓTESE E OBJETIVOS	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Animais e delineamento experimental	25
4.1.1 Animais submetidos à cirurgia ortopédica - Grupo Orto	25
4.1.2 Animais submetidos à ovariosalpingohisterectomia - Grupos OSH-Pla e OSH-Melox	29
4.1.3 Animais submetidos à orquiectomia – Grupos ORQ-Melox e ORQ-Multi	29
4.2 Seleção dos comportamentos e elaboração da escala	31
4.3 Avaliação dos vídeos	31
4.4 Seleção e treinamento de avaliadores	31
4.5 Avaliação oficial	32
4.6 Análise Estatística	33
4.6.1 Seleção de comportamentos (grupo ORTO) para a escala	33
4.6.2 Refinamento e validação da escala	34
5. RESULTADOS	41
6. DISCUSSÃO	62
7. CONCLUSÃO	71
8. REFERÊNCIAS	72
APÊNDICES	80

1. INTRODUÇÃO

Coelhos e roedores são ampla e mundialmente empregados como modelos experimentais em pesquisa (GREAT BRITAIN et al., 2019), sendo frequentemente submetidos à dor em procedimentos experimentais. O princípio dos 3R's de Russel & Burch (*reduce, replace and refine*) - reduzir, substituir e refinar – norteia a legislação mundial referente ao uso de animais em experimentos. Especificamente o princípio do refinamento contempla a diminuição do estresse e sofrimento dos animais, o que sugere empregar protocolos que previnam e tratem a dor (RUSSELL; BURCH, 1959). Entretanto, a realidade é outra, já que ainda se negligencia o tratamento da dor em roedores e coelhos no período pós-operatório experimental (UHLIG et al., 2015).

Além de seu emprego em pesquisas, os leporinos ganham espaço como animais de companhia (WELLBEING, 2019), condição que podem passar por situações que cursam com dor como doenças dentárias, traumas, fraturas e cirurgias reprodutivas (LANGENECKER et al., 2009). Tanto nas intervenções clínicas, como experimentais, os coelhos são susceptíveis a distúrbios da motilidade intestinal, que podem ser causados ou agravados pela dor (WENGER, 2012).

Relata-se que a incapacidade de reconhecer a dor na espécie leporina como a causa para seu subtratamento (BENATO; ROONEY; MURRELL, 2019; HAWKINS, 2002). Outro elemento que dificulta avaliar a dor é que os coelhos evitam demonstrá-la quando na presença de um observador (BENATO; ROONEY; MURRELL, 2019; PINHO et al., 2019).

O comportamento é o método não invasivo mais utilizado para reconhecer a dor em animais (FARNWORTH et al., 2011) de diversas espécies (ARRAS et al., 2007; DUNBAR et al., 2016; KEATING et al., 2012; RIALLAND et al., 2012; ROUGHAN; FLECKNELL, 2003). Todavia, para uma avaliação efetiva, a escala comportamental deve ter validade e confiabilidade (BELSHAW et al., 2015) e um ponto de corte definido para analgesia (BRONDANI et al., 2013).

De acordo com uma revisão recente demanda-se a necessidade de uma escala de dor validada para que se realize o tratamento na espécie (BENATO; ROONEY; MURRELL, 2019).

Com base nas escalas desenvolvidas para ratos e camundongos (LANGFORD et al., 2010; SOTOCINAL et al., 2011), desenvolveu-se e validou-se parcialmente uma escala facial (RbtGs) (KEATING et al., 2012) para avaliar a dor em coelhos. Elaborou-

se a ferramenta por meio de imagens fotografadas durante a realização de tatuagem nas orelhas. Entretanto, não se validou a RbtGs para avaliar a dor pós-operatória. Outro estudo associou tal ferramenta à parâmetros fisiológicos e comportamentais, para avaliar a dor clínica em coelhos de estimação (CANCERS) (BANCHI et al., 2019), porém não se definiu um ponto de corte para resgate analgésico.

Em outras espécies algumas escalas para avaliar a dor se destacam por prover evidência de validade, confiabilidade e sensibilidade (MEROLA; MILLS, 2016) e por apresentarem pontos de corte definidos, como a de gatos (BRONDANI et al., 2013) e bovinos (DE OLIVEIRA et al., 2014).

Baseando-se em metodologia similar à descrita nas espécies anteriormente citadas (BRONDANI et al., 2013; DE OLIVEIRA et al., 2014), este estudo objetivou desenvolver e validar uma escala para avaliar a dor aguda em coelhos.

7. CONCLUSÃO

Conclui-se que após o refinamento e segundo os critérios de validação, a RPBS é uma ferramenta que apresenta repetibilidade, reprodutibilidade e validade de conteúdo, critério e constructo, para avaliar a dor em coelhos submetidos a cirurgias ortopédicas e de tecidos moles. A indicação do ponto de corte para o resgate analgésico e a classificação da intensidade da dor da RPBS embasa a identificação da dor e o adequado tratamento analgésico pós-operatório em coelhos.

8. REFERÊNCIAS

AKOPOV, A. L. *et al.* Infrared fluorescent angiography during experimental trachea transplantation. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 164, n. 4, p. 519–522, 2018.

ALBIÑANA-CUNNINGHAM, J. N. *et al.* Mechanical barriers and transforming growth factor beta inhibitor on epidural fibrosis in a rabbit laminectomy model. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, London, v. 13, n. 1, p. 72, 2018.

ALTMAN, D. G. Some common problems in medical research. *In*: ALTMAN, D. G. **Practical statistics for medical research**. London: Chapman & Hall, 1991. p. 396-439.

ANIL, S. S. *et al.* Validation of a method for assessment of an acute pain in lambs. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 76, n. 3, p. 215–238, 2002.

ARRAS, M. *et al.* Assessment of post-laparotomy pain in laboratory mice by telemetric recording of heart rate and heart rate variability. **BMC Veterinary Research**, London, v. 3, p. 1–10, 2007.

BANCHI, P. *et al.* Development and validation of a multidimensional composite pain scale for Rabbit (CANCRS) in a clinical environment. **bioRxiv**, Cold Spring Harbor, ago. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1101/728543>.

BARTER, L. S.; KWIATKOWSKI, A. Thermal threshold testing for evaluation of analgesics in New Zealand white rabbits. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 52, n. 1, p. 44–47, 2013.

BELSHAW, Z. *et al.* Quality of life assessment in domestic dogs: an evidence-based rapid review. **Veterinary Journal**, London, v. 206, n. 2, p. 203–212, 2015.

BENATO, L.; ROONEY, N. J.; MURRELL, J. C. Pain and analgesia in pet rabbits within the veterinary environment: a review. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 151–162, 2019.

BOATENG, G. O. *et al.* Best practices for developing and validating scales for health, social, and behavioral research: a primer. **Frontiers in Public Health**, Lausanne, v. 6, p. 149, 2018. DOI 10.3389/fpubh.2018.00149.

BRONDANI, J. T. *et al.* Validation of the English version of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cats. **BMC Veterinary Research**, London, v. 9, p. 143, 2013.

BRONDANI, J. T.; LUNA, S.; PADOVANI, C. R. Refinement and initial validation of a multidimensional composite scale for use in assessing acute postoperative pain in cats. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 72, n. 2, p. 174–183, 2011.

COHEN, J. Weighted kappa: nominal scale agreement provision for scaled disagreement or partial credit. **Psychological Bulletin**, Washington, v. 70, n. 4, p. 213–220, 1968.

COULTER, C. A. *et al.* Reported analgesic administration to rabbits undergoing experimental surgical procedures. **BMC Veterinary Research**, London, v. 7, n. 12, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-12>.

CRONBACH, L. J. Coefficient alpha and the internal structure of tests. **Psychometrika**, New York, v. 6, p. 297–334, 1951. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02310555> 1951.

DALLA COSTA, E. *et al.* Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 3, p. e92281, 2014.

DARWIN, C. **The expression of the emotions in man and animals**. London: John Murray, 1873.

DE OLIVEIRA, F. A. *et al.* Validation of the UNESP-Botucatu unidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cattle. **BMC Veterinary Research**, London, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2014.

DEVON, H. A. *et al.* A psychometric toolbox for testing validity and reliability. **Journal of Nursing Scholarship**, Hoboken, v. 39, n. 2, p. 155–164, 2007.

DEYO, R. A.; DIEHR, P.; PATRICK, D. L. Reproducibility and responsiveness of health status measures statistics and strategies for evaluation. **Controlled Clinical Trials**, New York, v. 12, n. 4, p. 142–158, 1991. Suppl.

DI GIMINIANI, P. *et al.* The assessment of facial expressions in piglets undergoing tail docking and castration: toward the development of the Piglet Grimace Scale. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, v. 3, p. 100, 2016.

DIVINCENTI, L.; MEIRELLES, L. A. D.; WESTCOTT, R. A. Safety and clinical effectiveness of a compounded sustained-release formulation of buprenorphine for postoperative analgesia in New Zealand white rabbits.

Journal of the American Veterinary Medical Association, Ithaca, v. 248, n. 7, p. 795–801, 2016.

DUNBAR, M. L. *et al.* Validation of a behavioral ethogram for assessing postoperative pain in Guinea pigs (*Cavia porcellus*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 55, n. 1, p. 29–34, 2016.

EVANGELISTA, M. C. *et al.* Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a Feline Grimace Scale. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 1, p. 19128, 2019.

FARNWORTH, M. J. *et al.* Potential behavioural indicators of post-operative pain in male laboratory rabbits following abdominal surgery. **Animal Welfare**, South Mimms, v. 20, n. 2, p. 225–237, 2011.

FENWICK, N.; DUFFUS, S. E. G.; GRIFFIN, G. Pain management for animals used in science: Views of scientists and veterinarians in Canada. **Animals**, Basel, v. 4, n. 3, p. 494–514, 2014.

FILLINGIM, R. B. Individual differences in pain: Understanding the mosaic that makes pain personal. **Pain**, Amsterdam, v. 158, p. S11-S18, 2017. Suppl. 1. DOI 10.1097/j.pain.0000000000000775. 2017.

FINKA, L. R. *et al.* Geometric morphometrics for the study of facial expressions in non-human animals, using the domestic cat as an exemplar. **Scientific Reports**, London, v. 9, p. 9883, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46330-5>.

FISCHER, J. E.; BACHMANN, L. M.; JAESCHKE, R. A readers' guide to the interpretation of diagnostic test properties: Clinical example of sepsis. **Intensive Care Medicine**, New York, v. 29, n. 7, p. 1043–1051, 2003.

GHANMI, S. *et al.* The periosteum-like effect of fresh human amniotic membrane on bone regeneration in a rabbit critical-sized defect model. **Bone**, New York, v. 110, p. 392-404, 2018.

GREAT BRITAIN. Home Office. **Annual statistics of scientific procedures on living animals, Great Britain 2018**. London: Home Office, 2019.

HAJIAN-TILAKI, K. O. *et al.* A comparison of parametric and nonparametric approaches to ROC analysis of quantitative diagnostic tests. **Medical Decision Making**, Philadelphia, v. 17, n. 1, p. 94-102, 1997.

HAMPSHIRE, V.; ROBERTSON, S. Using the facial grimace scale to evaluate rabbit wellness in post-procedural monitoring. **Lab Animal**, New York, v. 44, n. 7, p. 259-260, 2015.

HAWKINS, P. Recognizing and assessing pain, suffering and distress in laboratory animals: a survey of current practice in the UK with recommendations. **Laboratory Animals**, London, v. 36, n. 4, p. 378-395, 2002.

JENSEN, M. P. Questionnaire validation: a brief guide for readers of the research literature. **Clinical Journal of Pain**, Hagerstown, v. 19, n. 6, p. 345-352, 2003.

JIRKOF, P. *et al.* A safe bet? Inter-laboratory variability in behaviour-based severity assessment. **Laboratory Animals**, London, v. 54, n. 1, p. 73-82, 2019.

KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, Colorado Springs, v. 23, p. 187-200, 1958.

KEATING, S. C. J. *et al.* Evaluation of EMLA cream for preventing pain during tattooing of rabbits: changes in physiological, behavioural and facial expression responses. **PLoS ONE**, San Francisco v. 7, n. 9, p. 1-11, 2012.

KILKENNY, C. *et al.* Improving bioscience research reporting: the arrive guidelines for reporting animal research. **PLoS Biology**, San Francisco, v. 8, n. 6, p. e1000412, 2010.

KIM, J. *et al.* Correlations between electrically quantified pain degree subjectively assessed visual analogue scale, and the mcgill pain questionnaire: a pilot study. **Annals of Rehabilitation Medicine**, Korea, v. 38, n. 5, p. 665-672, 2014.

KLIN, P. Psychometrics and psychology. **British Journal of Psychiatry**, London, v. 137, n. 2, p. 193, 1979.

KOHN, D. F. *et al.* Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 46, n. 2, p. 97-108, 2007.

LALKHEN, A. G.; MCCLUSKEY, A. Clinical tests: sensitivity and specificity. **Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care and Pain**, Oxford, v. 8, n. 6, p. 221-223, 2008.

LANGENECKER, M. *et al.* Vergleichende untersuchung zur krankheitsverteilung bei kaninchen, meerschweinchen, ratten und frettchen. **Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere - Heimtiere**, Stuttgart, v. 37, n. 5, p. 326-333, 2009.

LANGFORD, D. J. *et al.* Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. **Nature Methods**, New York, v. 7, n. 6, p. 447-449, 2010.

LEACH, M. C. *et al.* Behavioural effects of ovariohysterectomy and oral

administration of meloxicam in laboratory housed rabbits. **Research in Veterinary Science**, London, v. 87, n. 2, p. 336-347, 2009.

MARTIN, P.; BATESON, P. Measuring behaviour: an introductory guide, second edition. *In*: MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring behaviour**: an introductory guide. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.

MC DOWELL, I. The theoretical and technical foundations of health management. *In*: MC DOWELL, I. **Measuring health**: a guide to rating scales and questionnaires. Oxford: Oxford Scholarship, 2009. p. 10-46.

MEINTJES, R. A. An overview of the physiology of pain for the veterinarian. **Veterinary Journal**, London, v. 193, n. 2, p. 344-348, 2012.

MEROLA, I.; MILLS, D. S. Systematic review of the behavioural assessment of pain in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, London, v. 18, n. 2, p. 60-76, 2016.

MILLMAN, S. T. Behavioral responses of cattle to pain and implications for diagnosis, management, and animal welfare. **Veterinary Clinics of North America**. Food Animal Practice, Philadelphia, v. 29, n. 1, p. 47-58, 2013.

PINHO, R. H. *et al.* Influence of the presence or absence of an observer on pain assessment in rabbits submitted to orthopaedic surgery. *In*: AVA AUTUMN MEETING, 2019, Ghent. **Proceedings** [...]. Ghent: AVA, 2019. p. 120.

QUARTERONE, C. *et al.* Ovariohysterectomy requires more post-operative analgesia than orchiectomy in dogs and cats. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 58, n. 11, p. 1191-1194, 2017.

RAY, P. *et al.* Statistical evaluation of a biomarker. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 112, n. 4, p. 1023-1040, 2010.

REID, J. *et al.* Development of the short-form Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF) and derivation of an analgesic intervention score. **Animal Welfare**, South Mimms, v. 16, p. 97-104, 2007.

REIJGWART, M. L. *et al.* The composition and initial evaluation of a grimace scale in ferrets after surgical implantation of a telemetry probe. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 11, p. e0187986, 2017.

RIALLAND, P. *et al.* Validation of orthopedic postoperative pain assessment methods for dogs: a prospective, blinded, randomized, placebo-controlled study. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 11, p. 1-10, 2012.

ROUGHAN, J. V.; FLECKNELL, P. A. Evaluation of a short duration behaviour-based post-operative pain scoring system in rats. **European Journal of Pain**, London, v. 7, n. 5, p. 397-406, 2003.

RSTUDIO TEAM. **RStudio team**: integrated development for R. Boston: RStudio, Inc., 2016.

RUSSELL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. London: Methuen, 1959.

SCHNELLBACHER, R. W. *et al.* Effects of intravenous administration of lidocaine and buprenorphine on gastrointestinal tract motility and signs of pain in New Zealand white rabbits after ovariohysterectomy. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 78, n. 12, p. 1359-1371, 2017.

SCHUSTER, C. A note on the interpretation of weighted kappa and its relations to other rater agreement statistics for metric scales. **Educational and Psychological Measurement**, Durham, v. 64, n. 2, p. 243-53, 2004.

SHEVTSOV, M. A. *et al.* Evaluation of the temporary effect of physical vapor deposition silver coating on resistance to infection in transdermal skin and bone integrated pylon with deep porosity. **Journal of Biomedical Materials Research. Part B. Applied Biomaterials**, Hoboken, v. 107, n. 1, p. 1-9, 2018.

SOTOCINAL, S. G. *et al.* The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Molecular Pain**, Thousand Oaks, v. 7, p. 55, 2011.

STREINER, D. L. Starting at the beginning: an introduction to coefficient alpha and internal consistency. **Journal of Personality Assessment**, Burbank, v. 80, n. 1, p. 99-103, 2003.

STREINER, D. L.; CAIRNEY, J. Operating characteristics curves. **Springer Series in Reliability Engineering**, Springer, v. 59, n. 2, p. 187-207, 2013.

STREINER, D. L.; NORMAN, G. R. Health measurement scales. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v. 48, n. 7, p. 1430, 2016.

TAFFAREL, M. O. *et al.* Refinement and partial validation of the UNESP-Botucatu multidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in horses. **BMC Veterinary Research**, London, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2015.

TRINDADE, P. H. E. *et al.* Effect of work on body language of ranch horses in Brazil. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 15, n. 1, p. e0228130, 2020.

TUYTTENS, F. A. M. *et al.* Opinion of applied ethologists on expectation bias, blinding observers and other debiasing techniques. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 181, p. 27-33, 2016.

UHLIG, C. *et al.* Anesthesia and monitoring in small laboratory mammals used in anesthesiology, respiratory and critical care research: a systematic

review on the current reporting in top-10 impact factor ranked journals. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 8, p. 1-22, 2015.

VAN LOON, J. P. A. M.; VAN DIERENDONCK, M. C. Monitoring acute equine visceral pain with the Equine Utrecht University Scale for Composite Pain Assessment (EQUUS-COMPASS) and the Equine Utrecht University Scale for Facial Assessment of Pain (EQUUS-FAP): a scale-construction study. **Veterinary Journal**, London, v. 206, n. 3, p. 356-64, 2015.

WANG, X. *et al.* Biological and biomechanical evaluation of autologous tendon combined with ligament advanced reinforcement system artificial ligament in a rabbit model of anterior cruciate ligament reconstruction. **Orthopaedic Surgery**, Richmond, v. 10, n. 2, p. 144-51, 2018.

WELLBEING, P. A. **PDSA animal wellbeing**. Bristol, UK: PDSA, 2019.

WENGER, S. Anesthesia and analgesia in rabbits and rodents. **Journal of Exotic Pet Medicine**, New York, v. 21, n. 1, p. 7-16, 2012.

ZHANG, E. Q.; LEUNG, V. S. Y.; PANG, D. S. J. Influence of rater training on inter- and intrarater reliability when using the rat grimace scale. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 58, n. 2, p. 2-7, 2019