

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BERNARDO GRAÇA FATORI DEGUCHI

BEM-ESTAR DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO: QUESTÕES RELEVANTES  
AO REFINAMENTO



CURITIBA

2013

BERNARDO GRAÇA FATORI DEGUCHI

BEM-ESTAR DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO: QUESTÕES RELEVANTES  
AO REFINAMENTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Forte Maiolino Molento

CURITIBA

2013

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**



**PARECER**

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “**BEM-ESTAR DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO: QUESTÕES RELEVANTES AO REFINAMENTO**” apresentada pelo Mestrando BERNARDO GRAÇA FATORI DEGUCHI declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, que considerou o candidato apto para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 26 de março de 2013.

Professora/Dra Carla Forte Maiolino Molento  
Presidente/Orientador

Professora/Dra Rita Leal Paixão  
Membro

Professora/Dra Maria Fernanda Pioli Torres  
Membro

Aos animais que não podem escolher  
condições melhores de vida e que  
sofrem porque nós humanos  
escolhermos por eles.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Bernardo e Lina, que sempre me incentivaram em prosseguir na minha busca pelo que gosto de fazer, mesmo que para isto fosse necessário mais e mais anos de estudo (e dependência). O respeito que tenho pelas pessoas, o orgulho que tenho pela família e o carinho que tenho pelos animais são em grande parte graças ao que aprendi com eles.

À minha irmã, Thieme, com quem brigo muito, mas que agora compartilhamos de muitas experiências parecidas como professores, estudantes de mestrado e nervosinhos.

À minha irmã mais velha, Midori, que junto do Luiz trouxe ao mundo meu primeiro sobrinho Antônio Pedro. Apesar de longe a cada visita ter que reconquistá-lo é a minha alegria.

À todos os meus outros parentes, tios, tias, primos, sogro e sogra (que agora é a minha segunda mãe).

À minha amada esposa, Camila, que mereceria um capítulo inteiro de agradecimentos nesta dissertação. Obrigado por me acompanhar na pesquisa quando precisei de ajuda, por escutar, discutir e me suportar. Junto a você e aos nossos “filhos” Beto e Lua e todos os outros, sou muito mais feliz e capaz, e seremos ainda mais felizes com a Coraline.

À equipe do LABEA, que cresce e se fortalece a cada ano, em especial àqueles com quem mais convivi, Elaine Sans, Jana Hammer (a garota *bullying*), Vanessa Bones, Juliana Federici, Priscilla Tamioso, Lari Runcos (sem trema porque isso não existe mais). Ao amigo Ray Anthony, que como filósofo é muito atencioso e sempre tem conselhos que podem ser vendidos. À Hisly Stiegelmeier, que me ajudou durante todo o experimento, à Bárbara do Rosário e Shara Farias pelo grande tempo despendido colaborando com a interpretação das várias horas de vídeos e à Angélica Martina pela ajuda com as planilhas de dados. Muitas que aqui citei são as pessoas que mais convivi nos últimos anos. Fiz muitos amigos e o tempo passou rápido com muito trabalho, conversas descontraídas, piadas e provocações. Certamente sentirei saudades destes dias.

À professora Carla Molento, pela paciência e cuidado na orientação e pela oportunidade de participar deste grupo que é formado por pessoas tão conscientes que têm tanto a oferecer aos animais e à sociedade. Os dias que passei no

laboratório foram muito importantes e aprendi muito, com exemplos a seguir para a vida.

Àqueles que cederam tempo e estrutura para que parte deste projeto fosse possível em especial à Ana Guaraldo, Thaís Costa, Vanderlei Muller, Rafael Zotz, Karen Lemos, Sara de Medeira e Fernando Salles.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, à Universidade Federal do Paraná e à CAPES que possibilitaram a realização deste projeto.

A todos que direta e indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho e desejam que todos os animais sejam tratados com respeito (inclusive os humanos).

## RESUMO

Com pesquisas e legislação incipientes acerca do bem-estar animal (BEA) em animais de laboratório, a expansão de sua discussão no Brasil tende a promover avanços metodológicos e éticos na sociedade. Para que mudanças sejam realizadas é necessário conhecer e discutir as características atuais relativas às condições de BEA nos laboratórios. O objetivo deste trabalho foi identificar e diagnosticar em diferentes âmbitos fatores que podem definir o grau de bem-estar dos animais de laboratório. A pesquisa divide-se em cinco Capítulos: (1) Apresentação; (2) Percepção das equipes laboratoriais quanto a questões de bem-estar animal; (3) Diagnóstico de bem-estar em camundongos e ratos de biotérios no Estado do Paraná; (4) Enriquecimento ambiental em camundongos no período pré-natal ao desmame e no período pós-desmame e (5) Considerações finais. Os resultados do Capítulo 2 indicam que há falta de treinamento de profissionais que realizam procedimentos laboratoriais, mas que a preocupação moral em relação à utilização de seres vivos em experimentos existe. O diagnóstico de bem-estar de animais de biotérios apresentado no Capítulo 3 demonstra a necessidade de conhecer as variáveis envolvidas nas pesquisas e que a Liberdade Psicológica destes animais está severamente restrita. A investigação dos efeitos do enriquecimento ambiental em camundongos, desenvolvida no Capítulo 4, sugere a importância desta metodologia ao oferecer condições favoráveis à realização de comportamentos benéficos ao bem-estar de camundongos. Os resultados obtidos agrupam fatores que podem servir de base para melhorias para BEA de animais de laboratório.

Palavras-chave: Cinco liberdades. Diagnóstico de bem-estar. Enriquecimento ambiental. Senciência.

## **ABSTRACT**

With incipient research and legislation regarding animal welfare (AW) in laboratory animals, the expansion of its discussion in Brazil tends to promote ethical and methodological advances in society. For changes to be made is necessary to know and discuss the characteristics concerning current conditions of laboratory AW. The objective of this study was to identify and diagnose in different scopes factors that can define the welfare of laboratory animals. The study was divided into five chapters: (1) Presentation, (2) Perception of laboratory staff regarding animal welfare, (3) Welfare assessment of mice and rats captive in animal breeding facilities in the state of Paraná; (4) Environmental enrichment during the prenatal to weaning and post-weaning in mice and (5) Final Considerations. The results in Chapter 2 indicate the lack of professional training to perform laboratory procedures despite the moral concern regarding the use of living beings in research. The assessment of animal welfare in animal breeding facilities presented in Chapter 3, demonstrates the need to know the variables involved in research and that the freedom from fear and distress is severely restricted. The investigation of the effects of environmental enrichment in mice, developed in Chapter 4, suggests the importance of this methodology by providing favorable conditions to perform beneficial behaviors to mice's welfare. All data combined factors that can provide a basis for improvements of the welfare of laboratory animals.

Key-words: Environmental enrichment. Five freedoms. Sentience. Welfare assessment.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DOS 62 MEMBROS DE EQUIPES LABORATORIAIS DO BRASIL QUE RESPONDERAM AO QUESTIONÁRIO REFERENTE AO CONHECIMENTO DA CIÊNCIA DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO E BEM-ESTAR ANIMAL EM JANEIRO DE 2012.....	21
FIGURA 2 - FREQUÊNCIA DAS NOTAS APRESENTADAS PELOS PARTICIPANTES PARA CADA ANIMAL AVALIADO QUANTO AO GRAU DE SENCIÊNCIA SEGUINDO A CONCENTRAÇÃO DECRESCENTE DE FREQUÊNCIAS DA NOTA MÁXIMA.....	33
FIGURA 3 - - RESUMO DO DIAGNÓSTICO DAS CINCO LIBERDADES DO BEA DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	65
FIGURA 4 - DISTRIBUIÇÃO ALEATÓRIA DOS QUATRO TRATAMENTOS NAS 12 CAIXAS, CADA UMA CONTENDO TRÊS CAMUNDONGOS MACHOS BALB/C, MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, ou (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	79
FIGURA 5 - TRATAMENTOS TESTADOS, (A) CAIXAS SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E (B) (C) E (D) CAIXAS COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL, PREPARADAS PARA O ALOJAMENTO DE TRÊS COMUNDONGOS, PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	80
FIGURA 6 - EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NOS TESTES COMPORTAMENTAIS DE (A) CAMPO ABERTO E (B) EMERGÊNCIA, EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	82
FIGURA 7 - UTILIZAÇÃO DO MATERIAL DE NINHO OFERTADO AOS CAMUNDONGOS DOS GRUPOS (SE) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PÓS-DESMAME, E (EE) COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PÓS-DESMAME, QUE RECEBERAM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO EXPERIMENTO REALIZADO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	90

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	ANIMAIS UTILIZADOS NOS LABORATÓRIOS DE ACORDO COM 62 MEMBROS DE EQUIPES LABORATORIAIS DE 33 INSTITUIÇÕES BRASILEIRAS, JANEIRO DE 2012.....	26
TABELA 2 -	TOTAL DE ANIMAIS E PRINCIPAIS ESPÉCIES UTILIZADAS NA EXPERIMENTAÇÃO SEGUNDO ESTIMATIVAS E QUANDO DISPONÍVEIS OS DADOS OFICIAIS E A PARTICIPAÇÃO DE CADA GRUPO NA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	27
TABELA 3 -	COMPARAÇÃO QUANTO A PERCEPÇÃO DA SENCIENTIA DOS ANIMAIS INDICADOS EM ORDEM DECRESCENTE DE FREQUÊNCIAS DE NOTA MÁXIMA DADAS PELAS EQUIPES LABORATORIAIS QUE UTILIZAM ANIMAIS PARA EXPERIMENTAÇÃO NO BRASIL, 62 RESPONDENTES EM JANEIRO DE 2012.....	34
TABELA 4 -	DESCRIÇÃO SIMPLIFICADA DA FICHA UTILIZADA PARA A REALIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO DE BEM-ESTAR DE RATOS E CAMUNDONGOS DE LABORATÓRIO, CONTENDO OS ITENS VERIFICADOS DURANTE AS VISITAS BEA DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	49
TABELA 5 -	COMPOSIÇÃO E FORMAÇÃO PROFISSIONAL DAS EQUIPES LABORATORIAIS DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	51
TABELA 6 -	RESUMO DAS PRINCIPAIS ATIVIDADES SEMANAIS REALIZADAS PELAS EQUIPES LABORATORIAIS DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	52
TABELA 7 -	PROCESSOS SANITÁRIOS REALIZADOS NOS EQUIPAMENTOS UTILIZADOS PELOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	53
TABELA 8 -	PROBLEMAS SANITÁRIOS ENCONTRADOS NOS ANIMAIS DOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	56
TABELA 9 -	TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA MEDIDAS DURANTE AS VISITAS E FOTO PERÍODO UTILIZADO NA MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS COM A INDICAÇÃO DOS PARÂMETROS IDEAIS PARA RATOS E NOS ANIMAIS DOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	60
TABELA 10 -	CARACTERÍSTICAS DAS CAIXAS DE MANUTANÇÃO DOS RATOS E CAMUNDONGOS DOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	61
TABELA 11 -	PROCEDIMENTOS DE EUTANÁSIA E MÉTODO DE PREVENÇÃO À DOR REALIZADOS NOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.....	65
TABELA 12 -	ELEMENTOS DOS COMPORTAMENTOS APRESENTADOS PELOS CAMUNDONGOS QUE FORAM ANALISADOS EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM	

	ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	81
TABELA 13 -	COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	84
TABELA 14 -	COMPORTAMENTO AGONÍSTICO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	85
TABELA 15 -	COMPORTAMENTO DE AUTO-CUIDADO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	86
TABELA 16 -	PROPORÇÃO DO TEMPO GASTO COM OS ITENS DE ENRIQUECIMENTO OFERECIDOS NO EXPERIMENTO REALIZADO COM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	88
TABELA 17 -	PORCENTAGEM DO TEMPO GASTO NO EXPERIMENTO REALIZADO COM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.....	89
TABELA 18 -	TESTES COMPORTAMENTAIS DO CAMPO ABERTO E DE EMERGÊNCIA REALIZADOS RESPECTIVAMENTE DURANTE O TRIGÉSIMO QUINTO E TRIGÉSIMO OITAVO DIA APÓS O INÍCIO DO EXPERIMENTO REALIZADO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C	

MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-  
DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM  
ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM  
ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO  
PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME,  
OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM  
ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A  
AGOSTO DE 2012..... 91

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	12
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	13
<b>2</b>	<b>PERCEPÇÃO DAS EQUIPES LABORATORIAIS QUANTO A QUESTÕES DE BEM-ESTAR ANIMAL</b> .....	15
	<b>RESUMO</b> .....	15
	<b>ABSTRACT</b> .....	15
2.1	INTRODUÇÃO.....	16
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
2.4	CONCLUSÃO.....	35
	<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	36
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	36
<b>3</b>	<b>DIAGNÓSTICO DE BEM-ESTAR EM CAMUNDONGOS E RATOS DE BIOTÉRIOS NO ESTADO DO PARANÁ</b> .....	45
	<b>RESUMO</b> .....	45
	<b>ABSTRACT</b> .....	45
3.1	INTRODUÇÃO.....	46
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
3.3.1	Liberdade Nutricional.....	51
3.3.2	Liberdade Sanitária.....	52
3.3.3	Liberdade Ambiental.....	56
3.3.4	Liberdade Comportamental.....	62
3.3.5	Liberdade Psicológica.....	64
3.3.6	Diagnóstico de BEA Final.....	65
3.4	CONCLUSÃO.....	67
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67
<b>4</b>	<b>ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM CAMUNDONGOS NO PERÍODO PRÉ-NATAL AO DESMAME E NO PERÍODO PÓS-DESMAME</b> .....	76
	<b>RESUMO</b> .....	76
	<b>ABSTRACT</b> .....	76
4.1	INTRODUÇÃO.....	77
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	78
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
4.4	CONCLUSÃO.....	91
	<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	92
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	92
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	98
	<b>APÊNDICES</b> .....	99

## 1 APRESENTAÇÃO

Os estudos sobre o bem-estar animal (BEA) iniciaram-se no cenário dos animais de produção, sendo que a expansão para outras áreas foi uma consequência natural devido a abrangência da utilização dos animais pelos seres humanos. Os animais de laboratório são amplamente utilizados na experimentação e estimativas indicam que são criados 115 milhões de animais anualmente para estes propósitos (TAYLOR, 2008). Recentemente, esforços para se alcançar melhores condições de vida aos animais de laboratório vem sendo difundidos mundialmente, a partir da definição dos três Rs da experimentação, *replacement* (substituição), *reduction* (redução) e *refinement* (refinamento) (RUSSELL; BURCH, 1959). Devido às implicações morais e às consequências para a qualidade científica da experimentação animal, é importante conhecer o ambiente laboratorial para diagnosticar e promover melhoria das condições de bem-estar animal. A partir de tais motivações, esta dissertação foi delineada para verificar pontos importantes para o refinamento do manejo de animais cativos de laboratório. Para tal, foram definidas três questões a serem estudadas: o conhecimento das equipes laboratoriais quanto a questões de BEA, o diagnóstico de BEA em biotérios, e o impacto do enriquecimento ambiental sobre o bem-estar de camundongos de biotério.

As equipes laboratoriais, como agentes modificadores e de controle do ambiente, tem grande influência na qualidade de vida dos animais. O conhecimento de fatores relevantes para os animais contempla não apenas a fisiologia e comportamento, mas outros aspectos mais indiretos. Desta forma, buscou-se diagnosticar o conhecimento relativo a questões ligadas ao bem-estar animal de equipes que utilizam animais de laboratório para experimentação.

Complementando o estudo inicial acerca do conhecimento das equipes, foi realizada a verificação *in loco* do grau de BEA em animais mantidos cativos em biotérios de criação. Sendo os ratos e camundongos os principais animais utilizados na experimentação, os biotérios que trabalhavam com tais espécies foram o foco desta etapa. Assim, foram apresentados os resultados referentes às visitas realizadas em quatro biotérios de instituições de ensino do estado do Paraná. A análise foi realizada por meio de indicadores relativos às cinco liberdades de BEA, gerais e espécie-específicos para ratos e camundongos. Por meio desta pesquisa

buscou-se verificar os procedimentos-padrão, as diferenças na forma de manutenção dos animais e o grau de BEA nestes locais.

A fim de manter o alto controle do ambiente laboratorial, o acesso a recursos pelos animais é restrito. Uma das práticas de refinamento do manejo de animais é a utilização do enriquecimento ambiental (EA). A sua implementação visa melhorar as condições de vida dos animais. No entanto, ainda há carência de informações sobre formas de EA que possam ser facilmente empregadas nas condições atuais dos biotérios brasileiros e sobre suas consequências nas diferentes fases de vida dos animais. Assim, foi realizada a última etapa deste projeto com a aplicação de enriquecimento ambiental para camundongos no período pré-natal ao desmame e após o desmame. O objetivo foi verificar quais as consequências desta prática para o BEA.

A partir dos trabalhos foi produzido um resumo (APÊNCIDE A) e pôster (APÊNCIDE B) para o XII Congresso da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (SBCAL). A ficha de avaliação referente ao diagnóstico de BEA de animais de laboratório foi solicitada e utilizada durante a fiscalização de um biotério pelo Conselho Regional de Medicina Veterinária do Paraná. Devido às atividades desenvolvidas, houve o convite para realizar um mini-curso relacionado ao bem-estar de animais de laboratório, apresentado no “1º Congresso do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da UNICENTRO” na Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná (UNICENTRO), em Guarapuava-PR (APÊNCIDE C).

## REFERÊNCIAS

TAYLOR, K.; GORDON, N.; LANGLEY, G.; HIGGINS, W. Estimates for worldwide laboratory animal use in 2005. **Alternatives to Laboratory Animals – ATLA**, v. 36, p. 327-342, 2008.

RUSSELL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The Principles of Humane Experimental Technique**. London, UK: Methuen, 1959. Disponível em: <[http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane\\_exp/het-toc](http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc)>. Acesso em: 05/04/12.

[...] assinadas em três vias, enviadas uma vez, enviadas novamente, consultadas, perdidas, encontradas, submetidas a inquérito público, perdidas novamente e, finalmente enterradas em turfa macia por três meses e recicladas como acendedores de fogo.

Douglas Adams

## 2 PERCEPÇÃO DAS EQUIPES LABORATORIAIS QUANTO A QUESTÕES DE BEM-ESTAR ANIMAL

### RESUMO

As equipes laboratoriais controlam diversas características do ambiente dos animais utilizados em pesquisas. Portanto, suas atitudes têm grande influência no bem-estar animal (BEA) e nos resultados obtidos. Buscou-se nesta pesquisa verificar o conhecimento e a percepção destas equipes em relação a questões de BEA. Os dados foram coletados por meio de um questionário *on-line* composto por 22 questões abertas e 23 questões de múltipla escolha. As respostas são referentes a 62 participantes de diversas instituições de pesquisa brasileiras. Dezesesseis (25,8%) participantes não receberam treinamento para exercer suas funções nos laboratórios, sendo que 11 (17,7%) realizavam ou coordenavam procedimentos com potencial para causar dor ou morte. A ausência de treinamento pode favorecer problemas metodológicos, éticos e legais. O principal fator limitante relatado para o uso de animais em pesquisas são as questões de ética com foco nos animais (38; 61,3%). Todos os participantes declararam conhecer o significado do termo BEA; porém, a maioria dos conceitos expressos foram parciais (32; 51,6%). Estes resultados podem estar relacionados ao caráter optativo ou indisponibilidade do ensino de BEA na maioria dos cursos de graduação no Brasil. Os animais vertebrados são percebidos pelos respondentes como portadores de alto grau de consciência, semelhante à seres humanos. Espécies em contato social e afetivo com os seres humanos foram vistas como mais sencientes que outros grupos. O grande número de interessados em um projeto de enriquecimento ambiental (EA) (34; 54,8%) sugere preocupação com o BEA. Os resultados apresentados podem subsidiar a localização de pontos críticos para melhoria do BEA em laboratórios brasileiros e indicam possibilidades para melhoria no conhecimento científico de questões centrais relativas ao BEA e para iniciativas de EA.

Palavras-chave: Animais de laboratório. Biotério. Experimentação animal. Lei Arouca.

### ABSTRACT

Laboratory staff controls a series of environmental parameters affecting animals used in research. Therefore, staff attitudes have influence on animal welfare (AW) and in the researches results. The study's objective was to verify the knowledge and perception of these staffs members on AW. Data were collected through a 22 open-

questions and 23 multiple-choice questions online survey. The answers were given by 62 respondents from Brazilian institutions. Sixteen (25,8%) participants did not receive training for their functions in the laboratory, of which 11 (17.7%) performed or coordinated procedures which may induce pain or death. Lack of training can promote methodological, ethical and legal issues. The main limiting factor for the use of animals in research are the ethical issues focused on animals (38, 61.3%). All participants reported to know the meaning of AW, but most of the concepts given were not adequate (32, 51.6%). These results may be related to the unavailable or optional teaching of AW in most undergraduate courses in Brazil. The vertebrates are perceived by respondents as high sentient beings near to human beings. Species with social and affective bond with humans were seen as more sentient than other groups. There was interest in an environmental enrichment (EE) project (34, 54.8%) suggesting concern with AW. These results can subsidize the identification of critical issues on AW in Brazilian laboratories and indicate opportunities for improvement in scientific knowledge of key issues related to AW and EE initiatives.

Key-words: Laboratory animals. Animal facilities. Animal research. Arouca Law.

## 2.1 INTRODUÇÃO

A utilização de animais para pesquisas é recorrente em várias áreas do conhecimento científico. A validade e a confiabilidade de tais estudos são maximizadas quando os materiais, animais e métodos utilizados são seguros e reproduzíveis. Os animais de laboratório são influenciados por diversos parâmetros ambientais: temperatura, umidade, sons, agentes químicos, luz e outros animais, incluindo o ser humano (BAUMANS, 2010). Desta forma, conhecer as características das variáveis que influenciam na qualidade de vida dos animais é determinante para se obter resultados confiáveis.

Os efeitos do manejo e do ambiente nas funções fisiológicas e psicológicas por vezes não são percebidos, no entanto, afetam os resultados (FAITH; HUERKAMP, 2009). Há evidências indicando que as condições padrão de manutenção de animais de laboratório podem mascarar diferenças genéticas e induzir comportamentos anormais; com isto, experimentos iguais podem apresentar resultados diferentes (BOHANNON, 2002; BURN; MASON, 2008). A informação de qualidade é essencial nesse sentido, uma vez que somente é possível exercer controle de variáveis conhecidas.

O BEA é influenciado por diversos fatores ambientais e se refere à condição do animal, sendo definido por diversos indicadores comportamentais, fisiológicos e psicológicos (BROOM; JOHNSON, 1993; DUNCAN; FRASER 1997). A sua mensuração indica o grau de bem-estar em uma escala, podendo variar de alto a baixo; desta forma, o termo bem-estar não é utilizado de forma absoluta, mas quantitativa (BROOM; MOLENTO, 2004). A proposta das cinco liberdades do BEA foi inicialmente formulada para os animais de produção, mas vem sendo ampliada para outros grupos de animais. Esta proposta objetiva a melhoria no padrão das condições de BEA apresentando cinco liberdades que devem ser consideradas (FAWC, 1979). Tais liberdades foram reformuladas em 1993 e atualmente são: Liberdade de sede, fome e má-nutrição, Liberdade de dor, ferimentos e doença, Liberdade de desconforto, Liberdade para expressar comportamento natural e Liberdade de medo e distresse (FAWC, 1993).

Espera-se que haja preocupação em relação à utilização de animais de laboratório devido a suas implicações científicas e éticas. Anualmente estima-se a criação em cerca de 115,3 milhões de animais vertebrados para a experimentação em todo o mundo (TAYLOR *et al.*, 2008). Estes animais devem ser mantidos sob condições padronizadas, ideais para a utilização em pesquisas. Muitas destas condições e ambientes impostos não permitem que as necessidades comportamentais, fisiológicas e psicológicas sejam supridas. Diversos experimentos realizados em animais são relacionados à indução de doenças e ferimentos que provocam dor, restrição de alimento e testes que induzem desafios que podem levar os animais a situações de extremo sofrimento e morte.

A padronização dos métodos é, em geral, altamente controlada. No entanto, características relevantes das equipes laboratoriais que lidam com os animais de laboratório são variáveis que necessitam ser conhecidas. O objetivo deste trabalho é diagnosticar o conhecimento dos indivíduos que trabalham nos laboratórios e biotérios sobre questões básicas de bem-estar de animais de laboratório.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Conforme a resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, o projeto de pesquisa com envolvimento de seres humanos foi encaminhado e aprovado pelo

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná sob o protocolo CAAE 0175.0.0.091.000-11 (APÊNDICE D). Em respeito à dignidade humana, a pesquisa se processou após a concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE E) dos sujeitos entrevistados e as anuências das instituições às quais estão vinculados (APÊNDICE F).

Os sujeitos da pesquisa são integrantes de equipes laboratoriais e de biotérios, ocupando cargos de estagiários, técnicos, pesquisadores e coordenadores, os quais voluntariamente aceitaram participar da pesquisa. Foram enviados contatos individuais e também aos integrantes da lista eletrônica da Redusal/Biotbras, criada pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB) da UNICAMP – direcionada aos profissionais das ciências de animais de laboratório. Atualmente a referida lista eletrônica é composta por cerca de 800 inscritos do Brasil e de diversos outros países. As respostas recebidas no período de 31 de janeiro a 30 de junho de 2012 foram utilizadas para a análise e somente os sujeitos que atualmente estão desenvolvendo alguma atividade com animais de laboratório no Brasil foram incluídos na pesquisa.

O questionário foi criado em formulário do Google.docs® (APÊNDICE G). Os convidados receberam uma mensagem eletrônica que os encaminhou para o preenchimento do formulário online. Ao término do preenchimento, os dados foram enviados automaticamente a uma planilha geral de acesso exclusivo do pesquisador. O questionário completo continha 22 questões abertas e 23 questões fechadas, totalizando 45 questões. Sendo as principais questões:

- Você recebeu treinamento para exercer suas atividades? Onde?
- Em sua opinião, quais as funções das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs)?
- Os projetos em que você está vinculado participa foram submetidos a CEUA?
- Você já teve acesso a um formulário de submissão de projeto da CEUA?
- Você teria alguma crítica a fazer à CEUA?

- Realiza ou coordena algum procedimento que cause sofrimento ou morte de animais?
- Qual o destino dos animais após o término do projeto?
- Quais os animais utilizados?
- Avalie as seguintes espécies de acordo com a capacidade de possuir sentimentos (alegria, frustração e medo). Considerar 1 como incapaz de ter sentimentos e 10 totalmente capaz de ter sentimentos).  
Bebê humano recém nascido/ Peixe/ Porco/ Borboleta/ Lobo/ Frango/ Caranguejo/ Cão/ Camundongo/ Rato
- Para você há algum limite que não devemos ultrapassar quando se utiliza animais na experimentação? Qual?
- Nas questões a seguir indique se você tem conhecimento sobre os temas abaixo, em caso positivo explique sucintamente.  
Bem-estar Animal. ( )Sim. ( )Não. Explique:  
Cinco Liberdades do Bem-estar animal. ( )Sim. ( )Não. Explique:  
Enriquecimento Ambiental. ( )Sim. ( )Não. Explique:  
Lei 11.794 de outubro de 2008 ou Lei Arouca. ( )Sim. ( )Não. Explique:  
Senciência animal? ( )Sim. ( )Não. Explique.

Nas questões abertas sobre o treinamento dos participantes, o destino dos animais após o experimento, as vantagens e desvantagens do uso de animais, os procedimentos realizados nos animais, as funções das CEUAs e submissão de projetos, mais de uma resposta por indivíduo foi aceita. Os dados obtidos constituíram indicadores qualitativos e quantitativos. A pesquisa qualitativa coleta dados descritivos para retratar a perspectiva dos participantes por meio da análise dos dados feita pelo pesquisador (LÜDKE; ANDRÉ, 1986) e a quantitativa é realizada por meio de dados que podem ser mensurados e busca a compreensão de um fenômeno pela amostragem significativa da população para posterior generalização (TURATO, 2005). A integração destas duas formas busca uma compreensão mais adequada, unindo as vantagens de ambos os métodos (LANDIM *et al.*, 2006). Para as questões abertas foi utilizada a metodologia da análise de conteúdo com a leitura analítica e separação dos diferentes grupos de respostas. Esta metodologia visa analisar comparativamente as características de uma mensagem, compreender o significado de conceitos sociológicos e caracterizar a

influência social que induz a tais respostas (BARDIN, 1977). A interpretação dos dados foi realizada à luz da Teoria das Representações Sociais, buscando-se delimitar as possíveis causas dos discursos encontrados de acordo com os grupos sociais e culturais dos indivíduos (MOSCOVICI, 1978).

As respostas relativas aos conceitos apresentados sobre a senciência animal, três Rs da experimentação, BEA, cinco liberdades do BEA, EA e Lei 11.794 de outubro de 2008 (BRASIL, 2008b) foram analisadas e categorizadas em: satisfatórias, quando apresentaram a ideia central claramente; parciais, quando faltaram pontos importantes nos conceitos ou estes não estavam completamente corretos; e insatisfatórias, na ausência de resposta ou quando a resposta estava em completo desacordo com o tema.

As porcentagens são referentes ao valor total de 62 respondentes. Nos casos em que o somatório das porcentagens não atinge 100%, a parcela ausente representa a taxa de respostas ausentes na questão. Nas questões quanto à função que desempenha do laboratório, treinamento, procedimentos que causam dor ou morte, funções das CEUAs, espécies animais utilizadas, destino dos animais após a utilização, vantagens e desvantagens do uso de animais e outras formas aceitáveis da utilização de animais foram consideradas mais de uma resposta por respondente. Todas as variáveis foram submetidas à análise estatística descritiva. Nas questões sobre o grau de senciência indicado e limites para experimentação foram realizados os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney com a correção de Bonferroni para verificação da significância estatística 5%.

### 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi recebido um total de 62 questionários respondidos, provenientes de 33 instituições das regiões Norte (quatro; 6,5%), Nordeste (sete; 11,3%), Sudeste (15; 24,2%) e Sul (33; 53,2%) do Brasil (FIGURA 1), sendo 17 (27,4%) respondentes do sexo masculino e 45 (72,6%) do sexo feminino. Os participantes possuem escolaridade de nível fundamental (um; 1,6%), nível médio (sete; 11,3%), superior em Medicina Veterinária (24; 38,7%), Ciências Biológicas (21; 33,9%), Farmácia e Bioquímica (quatro; 6,5%), Psicologia (dois; 3,2%) e outros cursos de nível superior (três; 4,8%). Os cursos superiores foram realizados em instituições públicas (38;

61,3%) e particulares (16; 25,8%), nos períodos até o ano 2000 (20; 32,3%), do ano 2000 a 2008 (20; 32,3%) e de 2008 a 2012 (13; 21,0%). O vínculo atual de 51 (82,3%) respondentes é com instituições públicas. A descrição que apresentaram de seus cargos foram de coordenadores, supervisores ou diretores (13; 20,0%), médicos veterinários (quatro; 6,2%), pesquisadores (19; 29,2%), responsáveis técnicos (10; 15,4%) e técnicos (19; 29,2%).

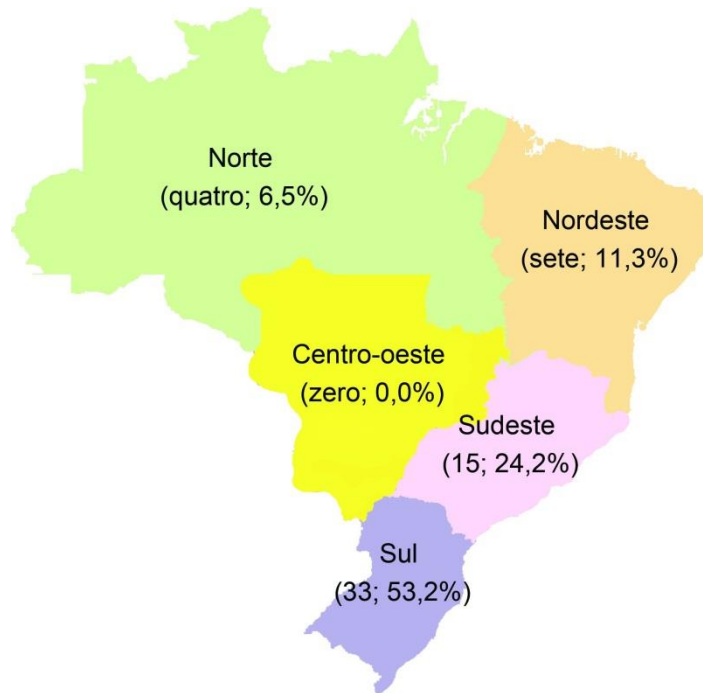


FIGURA 1 - LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DOS 62 MEMBROS DE EQUIPES LABORATORIAIS DO BRASIL QUE RESPONDERAM AO QUESTIONÁRIO REFERENTE AO CONHECIMENTO DA CIÊNCIA DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO E BEM-ESTAR ANIMAL EM JANEIRO DE 2012.

Dezesseis (25,8%) dos participantes não receberam nenhum treinamento para exercer suas funções nos laboratórios. Aqueles que realizavam ou coordenavam procedimentos que podem causar dor e morte representam 53,2% (33) dos participantes. Os procedimentos realizados são a eutanásia (47,8%; 22), a indução de doenças e ferimentos (21,7%, 10), a realização de cirurgias (10,9%; cinco), a coleta de materiais *in vivo* (10,9%; cinco) a administração de fármacos (6,5%; três) e a indução de estresse (2,2%; um). Alguns respondentes que realizavam ou coordenavam tais procedimentos e não receberam nenhum treinamento (11; 17,7%). Aqueles que receberam treinamento (46; 74,2%) realizaram-no com outros integrantes dos laboratórios (22; 32,8%), em instituições

de ensino superior no Brasil (16; 23,9%), em disciplinas da graduação, pós-graduação e sem especificação (cinco; 7,5%), na Fundação Oswaldo Cruz (quatro; 6,0%), em instituições fora do Brasil (quatro; 6,0%), na Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (três; 4,5%) e no Conselho Federal de Medicina Veterinária (dois; 3,0%). A interpretação individual sobre o significado do termo treinamento foi ampla. É possível que alguns considerem palestras e disciplinas uma forma de treinamento enquanto outros considerem apenas cursos especializados e acompanhamento no local de trabalho como formas de treinamento.

Considerando todos os participantes que afirmaram ter realizado treinamento, apenas 16,4% (11) indicaram algum curso específico com animais de laboratório. O aprendizado informal foi a principal forma de aprendizagem. Assim como outras formas de aprendizado, o treinamento formal é importante nos processos de formação do conhecimento. Todavia, na transferência informal o conhecimento adquirido varia muito para cada indivíduo, sendo mais eficiente quando estas variações de aprendizado não acarretam consequências negativas para a atividade (CWD, 1998). O treinamento dos profissionais que exercem ou exercerão práticas com os animais pode definir a eficiência de suas atribuições. Para lidar com a constante renovação do conhecimento e apresentá-las de forma correta é necessário o treinamento nas ciências de animais de laboratório e BEA e investimento na educação continuada (NEVALAINEN, 2007). Havendo um programa de treinamento formalizado constituído de cursos específicos, pode-se obter um melhor padrão dos conteúdos que são apresentados com a atualização de forma eficiente. Segundo o *Canadian Council on Animal Care* (CCAC, 1999), o propósito de qualquer programa de treinamento deve ser promover a compaixão e o respeito aos animais e, em segundo lugar, transmitir a base teórica e habilidades técnicas para realização dos procedimentos.

A maioria dos participantes indicou conhecer a Lei Arouca (46; 74,2%). Na avaliação do conhecimento da referida Lei, 45,2% (28) das declarações foram consideradas satisfatórias, 19,3% (12) foram consideradas parciais e 9,7% (seis) foram insatisfatórias. Alunos brasileiros de graduação em Ciências Biológicas, Farmácia, Medicina e Medicina Veterinária apresentaram pouco conhecimento desta lei, sendo que apenas 54,5% a conheciam, não havendo diferenças entre calouros e veteranos (DEGUCHI; MOLENTO; SOUZA, 2012). Verificou-se que os profissionais em contato direto com animais de laboratório possivelmente têm maior contato com

a legislação citada do que alunos, no entanto, há reduzida compressão da lei. não quanto à real compreensão da lei não há amplo conhecimento. Com a aprovação da referida Lei, tornou-se obrigatória a presença das CEUAs em todas as instituições que utilizam animais, assim como a submissão dos projetos com o uso animais à CEUA (BRASIL, 2008b). Dentre os respondentes, 79,0% (49) indicaram que os projetos em que participavam haviam sido submetidos a uma CEUA e 8,1% (cinco) que tal medida não foi realizada. Alguns participantes relataram não ter acesso a um formulário de submissão de projeto à CEUA (nove; 14,5%).

As funções das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs) indicadas pelos participantes foram em sua maioria condizentes com a interpretação tradicional da legislação (49; 62,8%). Entretanto, outras funções também foram indicadas (12; 15,4%), como, por exemplo, a realização de atividades educativas e de extensão à sociedade. A opinião sobre a necessidade de ações fiscalizatórias (12; 15,4%) e a promoção de melhores condições de BEA (cinco; 6,4%) também foram indicadas. Adicionalmente, nos comentários sobre as CEUAs foram expostas novamente questões relacionadas à fiscalização (11, 17,7%), críticas positivas (nove; 14,5%), críticas negativas (sete; 11,3%) e outros comentários (nove; 14,5%). A definição das funções das CEUAs segundo a legislação ainda vem sendo discutida e há divergências na sua interpretação. Diferentes funções podem ser expressas em cada comissão, pois há autonomia na interpretação das leis. Apenas um participante (1,6%) indicou que a verificação do mérito científico da pesquisa deveria ser função da CEUA. A análise do mérito científico que era uma dúvida na legislação federal foi incorporada oficialmente pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) por meio de uma resolução em 2008 (BRASIL, 2008a) e posteriormente revogada em agosto de 2012 (BRASIL, 2012). Em 2010 o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) demonstrou-se favorável à análise do mérito científico (BRASIL, 2010). A obrigatoriedade do julgamento do mérito científico possibilita uma melhor análise dos projetos, uma vez que verifica se o estudo em questão é importante para o desenvolvimento científico da sociedade.

A fiscalização é um dos pontos mais discutidos pela sociedade científica com relação a ação das CEUAs. Na legislação federal não há indicação explícita de que as CEUAs devam agir na fiscalização das pesquisas, esta função ficaria a princípio a cargo dos órgãos dos Ministérios da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento, da Saúde, da Educação, da Ciência e Tecnologia e do Meio Ambiente (BRASIL, 2008b). Entretanto, a legislação estadual exige a ação de fiscalização destas atividades pelas CEUAs nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e São Paulo (RIO DE JANEIRO, 2002; PARANÁ, 2003; SANTA CATARINA, 2003; RIO GRANDE DO SUL, 2003; SÃO PAULO, 2005). A necessidade de fiscalização e monitoramento dos projetos que foram aprovados nas CEUAs são preocupações internacionais (PICKWORTH, 2000) No entanto, a aplicabilidade de fiscalização não é um procedimento fácil devido à dinâmica das comissões que atuam geralmente como uma atividade adicional não prioritária, o que pode gerar excesso de trabalho e revisão inadequada dos projetos (SCHUPPLI; FRASER, 2007). É necessária uma discussão mais ampla sobre como monitorar a experimentação e como tal trabalho pode ser efetivado, pois com a fiscalização haverá verificação de campo dos procedimentos que estão sendo realizados nas práticas com animais na experimentação. A importância da questão é intrínseca à própria criação de todo o sistema de CEUAs, uma vez que pode comprometer a sua efetividade.

As considerações éticas relacionadas aos animais foram citadas como um dos principais limitantes ao uso de animais para experimentação (38; 61,3%). Em pesquisas semelhantes, 320 pesquisadores (33,0%) de diversos países indicaram que têm alguma preocupação ética quando animais são utilizados em pesquisas e professores e estudantes de Medicina Veterinária do Estado do Paraná Veterinária não declararam o sofrimento animal como uma desvantagem de seu uso no ensino (ZANETTI; SCHMIDT; GARCIA, 2011). Aproximadamente 320 (33,0%) pesquisadores de diversos países indicaram que têm alguma preocupação ética quando animais são utilizados em pesquisas (CRESSEY, 2011). No Paraná, professores e estudantes de Medicina Veterinária não declararam o sofrimento animal como uma desvantagem de seu uso no ensino (ZANETTI; SCHMIDT; GARCIA, 2011). Tais dados sugerem que a discussão sobre a ética no uso de animais em laboratórios de experimentação brasileiros talvez se encontre em um patamar superior em relação à outros países e em relação às práticas com fins didáticos no Brasil. A Lei Arouca pode ter sido um passo crucial para a determinação de novas preocupações éticas a partir do momento em que os limites para a experimentação são verificados pelas CEUAs durante a análise dos projetos submetidos. Adicionalmente, o crescimento da preocupação da sociedade externa à

academia com relação ao uso de animais em pesquisas, com denúncias de maus-tratos e a exposição destas notícias nas fontes de informação promovem a discussão da ética animal (AYRES, 2011; G1, 2011; PARANÁ, 2011; VEDDAS, 2011; ANDA, 2012; ALF, 2012).

As questões éticas com foco no animal não foram citadas pelo restante dos participantes, que dividiram suas opiniões entre questões de ética geral (10; 16,1%), metodologia (oito; 12,9%) e inexistência de quaisquer limites para o uso de animais (quatro; 6,5%). Muitos comentários em relação aos limites éticos demonstraram conotação referente à códigos de ética restritos a normas. Tal afirmação pode ser evidenciada pela apresentação das respostas com preocupação ética a seguir:

“O limite da ética.”

“Não utilizar mais de uma vez o mesmo animal.”

“O limite do bom senso.”

“Todos os princípios que por vezes interferirem negativamente no que rege a ética na experimentação animal é o limite a não ser ultrapassado.”

“O número amostral.”

“O limite é determinado pelas necessidades de cada pesquisa.”

Apesar de poucos indicarem que não existam limites para o uso de animais em experimentos (quatro; 6,5%) estes representam um grupo muito importante devido ao efeito que podem gerar sobre o BEA. Na inexistência de um limite podem ser realizados procedimentos em que qualquer preocupação com o animal é irrelevante. A falta de reconhecimento de um limite no uso de animais apresenta um pensamento relacionado à metodologia científica cartesiana, base da ciência contemporânea, na qual René Descartes postulou que os animais eram seres autômatos sem a capacidade de raciocinar ou vivenciar emoções (DESCARTES, 1795). Esta forma de pensamento incute a ideia que os animais sejam usados sem qualquer preocupação, não sendo dignos de consideração moral (PAIXÃO, 2001). Há evidências indicando que animais não-humanos apresentam características neuroanatômicas, neuroquímicas e neurofisiológicas que indicam estados de consciência e capacidade de exibir comportamentos intencionais, inclusive em alguns invertebrados (LOW, 2012). No entanto, ainda há resistência em aceitar a sentença dos animais. O pensamento cartesiano por ser intrínseco da metodologia científica é muito forte na academia e no ensino de ciências.

É evidente que as representações populares, legislativas e acadêmicas moldam os limites para uso de animais; no entanto, as bases éticas desta delimitação não estão claras. Tanto a presença das CEUAs quanto a mobilização

popular parecem ser determinantes dos limites na experimentação uma vez que refletem a crescente preocupação da sociedade. É importante definir que outras motivações podem influenciar as opiniões dos participantes.

As espécies de animais citadas pelos respondentes (TABELA 1) foram ratos (37,2%), camundongos (33; 35,1%), coelhos (sete; 7,4%), peixes (cinco; 5,3%), hamsters (quatro; 4,3%), cobaias (quatro; 4,3%), macacos (três; 3,2%), aves (um; 1,1%), invertebrados (um; 1,1%) e gambás (um; 1,1%).

TABELA 1 - ANIMAIS UTILIZADOS NOS LABORATÓRIOS DE ACORDO COM 62 MEMBROS DE EQUIPES LABORATORIAIS DE 33 INSTITUIÇÕES BRASILEIRAS, JANEIRO DE 2012.

Animais	Frequência	Porcentagem (%)
<b>Ratos</b>	<b>35</b>	<b>37,2</b>
<b>Camundongo</b>	<b>33</b>	<b>35,1</b>
Coelho	7	7,4
Peixes	5	5,3
Cobaia	4	4,3
Hamster	4	4,3
Macaco	3	3,2
Ave	1	1,1
Invertebrados	1	1,1
Gambá	1	1,1
<b>TOTAL</b>	<b>94</b>	<b>100,0</b>

Os resultados indicam os ratos e os camundongos como os animais mais utilizados na experimentação em comparação a todos os outros citados, seguindo a tendência mundial (BAUMANS, 2005; AINSWORTH, 2006; CE, 2010). Alguns países possuem dados oficiais sobre o número de animais utilizados na experimentação (TABELA 2). Embora existam dados oficiais há possibilidade de que estejam subestimados devido a legislação de cada país. No Brasil, tais informações não estão disponíveis. Pesquisas indicam que o Brasil utilizou cerca de 1,16 milhões de animais em 2005, localizando-se na nona posição de países quanto ao número de animais utilizados (TAYLOR *et al.*, 2008). Em 2006, em levantamento baseado em artigos científicos que continham o número de animais utilizados em 18 revistas científicas do Estado do Paraná, foram contabilizados 3.497.653 animais, sendo 216.223 vertebrados, destes 0,34% eram ratos e 76,1% peixes (SILLA *et al.*, 2010). No entanto, no estudo citado, o número de animais dos artigos publicados na área

das Ciências Agrárias representou 43,2% do total, fato relacionado a uma maior utilização de animais de produção como bovinos, aves e peixes.

TABELA 2 - TOTAL DE ANIMAIS E PRINCIPAIS ESPÉCIES UTILIZADAS NA EXPERIMENTAÇÃO SEGUNDO ESTIMATIVAS E QUANDO DISPONÍVEIS OS DADOS OFICIAIS E A PARTICIPAÇÃO DE CADA GRUPO NA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS CIENTÍFICOS.

País	Espécie	Número de animais utilizados	Metodologia	Fonte	Participação mundial em publicações*
Brasil	Total	1.169.517	Estimativa	TAYLOR <i>et al.</i> , 2008	2,7%
Austrália	Peixes	1.577.185	Dados oficiais	HUMANE RESEARCH AUSTRALIA, 2009	3,4% (Oceania)
	Camundongos	993.305			
	Ratos	91.197			
	Total	3.335.252			
Canadá	Peixes	1.416.042	Dados oficiais	CCAC, 2010	4,4%
	Camundongos	1.132.706			
	Ratos	260.900			
	Total	3.311.083			
Reino Unido	Camundongos	2.679.763	Dados oficiais	HO, 2011	7,2%
	Peixes	563.903			
	Ratos	271.535			
	Total	3.724.726			
E.U.A	Total	1.134.693**	Dados oficiais	USDA, 2011	27,7%
	Total	17.317.147	Estimativa	TAYLOR <i>et al.</i> , 2008	
União Europeia (27 países)	Camundongos	7.122.188	Dados oficiais	CE, 2010	36,5%
	Ratos	2.121.727			
	Peixes	1.087.155			
	Total	12.001.022			

\* Segundo a base dados da Thomson Reuters 2010.

\*\* Exclui: O departamento de agricultura que normatiza o uso de animais nos E.U.A não considera para os dados oficiais os seguintes animais: pássaros, ratos e camundongos utilizados em pesquisas; animais de produção, peixes e invertebrados.

A preferência pelo uso de camundongos e ratos em experimentação deve-se a vários motivos. A genética destes animais é amplamente conhecida e manipulada, apresentam tamanho corporal reduzido, ciclo de vida e reprodução curtos e proximidade taxonômica em relação seres humanos (BAUMANS, 2010; KOOLHAAS, 2010).

Em experimentos que causam dor ou morte dos animais, estudantes aceitam melhor o uso de ratos comparativamente a outros animais (PLOUS, 1996). Esta maior aceitação pode ser devido a uma menor empatia com ratos (DRISCOLL, 1995). Os peixes vêm sendo utilizados amplamente em pesquisas e são modelos

para diversas áreas de estudo (BOLIS *et al.*, 2001). Mesmo com redução de 37,9% da utilização, os peixes estão entre os três grupos mais utilizados na União Europeia (CE, 2010) e no Reino Unido (HO, 2011) (TABELA 2). O paulistinha ou *zebrafish* (*Danio rerio*) é um dos modelos animais mais difundidos na academia atualmente, são animais pequenos, de fácil manuseio, cada ciclo reprodutivo da fêmea dura 2 a 3 dias podendo conter centenas de ovos, sendo estes transparentes assim como as formas jovens (SPENCE *et al.*, 2008).

De acordo com os participantes, o destino dos animais utilizados nas pesquisas é a eutanásia (54; 85,7%), a eutanásia e subsequente utilização no ensino (três; 4,8%), encaminhamento a outro experimento (três; 4,8%), a adoção (dois; 3,2%) e o tratamento do animal após o experimento (um; 1,6%). Nos casos de adoção, os animais podem ser destinados a entidades protetoras de animais ou pessoas idôneas quando os critérios de biossegurança forem respeitados (BRASIL, 2008b). Esta é uma prática que vem ganhando adeptos; no entanto, as espécies com as quais os seres humanos têm maior compaixão – e.g. cães – são aquelas mais adotadas (BFP, 2012). O cuidado com os animais está comumente relacionado ao seu valor extrínseco – e.g. diferença relativa entre um rato de estimação, um de laboratório (WEBSTER, 2005). Tal relação pode ocasionar menor cuidado com os animais para os quais o ser humano demonstra menor empatia. A melhor forma de aumentar a cobertura da compaixão pelos animais é expandir o reconhecimento de que os animais apresentam capacidades mentais elevadas e podem vivenciar emoções (BEKOFF, 2008).

As vantagens da utilização de animais em pesquisas apontadas pelos participantes foram a contribuição para ciência e tecnologia (18; 25,7%), a representação de um organismo complexo (15; 21,4%), a extrapolação dos estudos para os seres humanos (14; 20,0%), o controle experimental (10; 14,3%), o menor tempo de estudo necessário para se obter resultados (cinco; 7,1%), maior número amostral possível (três; 4,3%), a fácil manutenção (três, 4,3%) e o baixo custo (dois; 2,9%). As desvantagens foram referentes ao sofrimento animal (20; 37,0%) e outras considerações não relacionadas ao sofrimento (32; 59,3%); segundo dois respondentes (3,7%), não havia qualquer desvantagem. A falta de percepção de que o sofrimento animal é uma desvantagem pode indicar processos anteriores de dessensibilização, ou seja, de diminuição da preocupação em relação aos animais.

A adoção de procedimentos psicologicamente desagradáveis tende à dessensibilização daqueles que realizam ou presenciam tais técnicas (TRÉZ, 2011).

A extrapolação dos dados para os seres humanos aparece como vantagem e sua impossibilidade como uma desvantagem. Ambos os casos são descritos pela literatura e formam bases tanto para a manutenção do uso de animais em pesquisas como para a substituição (EVANS, 2006; REAGAN-SHAW, 2007). Não havendo consenso na sociedade acadêmica, pois alguns estudos em animais são transferíveis aos seres humanos enquanto outros não.

Quanto a outros usos justificáveis dos animais, foram indicados o ensino (12; 18,8%), as situações para as quais não existam métodos alternativos (11; 17,2%), para qualquer uso em prol da saúde humana (nove; 14,1%), a alimentação (oito; 12,5%), a utilização de animais de tração (sete; 10,9%), em terapias com animais (cinco; 7,8%), em testes de controle de qualidade de produtos (quatro; 6,3%), para guarda e proteção (três; 4,7%), em pesquisas comportamentais (três; 4,7%) e como animal de estimação (dois; 3,1%). Nos usos relacionados à interação social com animais foi recorrente a indicação que a utilização deveria ser de forma a respeitá-los e promover o seu bem-estar. Segundo Webster (2005) isto demonstra a separação de valores entre os animais com forte vínculo social com o ser-humano e aqueles sem a mesma proximidade.

A maioria dos entrevistados indicou que conhece os 3 Rs (46; 74,2%), no entanto, há integrantes que não conhecem o termo (15; 24,2%). Há predominância de conceituação satisfatória (34; 54,8%), seguida de 12,9% (oito) parciais e 6,5% (quatro) insatisfatórias. Os 3 Rs da experimentação são amplamente difundidos na literatura científica e nas legislações relacionadas (BRASIL, 2008b; NAS, 2010; RICHMOND, 2010). Sendo uns dos princípios presentes no cotidiano da experimentação, os três Rs devem ser bem compreendidos para que sua aplicação seja contínua e corriqueira. Este princípio vem sendo aplicado e promovido desde sua idealização em 1959 e ainda assim não é conhecido por todos aqueles que fazem experimentos. Os dados indicam que, apesar de muitos terem conhecimento sobre o tema ainda é necessária a divulgação e educação das equipes sobre a premissa dos três Rs.

O EA é um tópico conhecido por grande parte dos participantes (48; 77,4%) sendo conceituado satisfatoriamente por 53,2% (33), insatisfatoriamente por 12,9% (oito) e parcialmente por 11,3% (sete). O EA é um princípio de manejo que aumenta

a qualidade de vida dos animais cativos, identificando e fornecendo estímulos para a expressão de atividades físicas e psicológicas necessárias para seu bem-estar (SHEPHERDON, 1998). Sua utilização é indicada como favorável, mas não obrigatória no manejo dos animais de laboratório (BAUMANS, 2010; NHMRC, 2008; CCAC, 1999; NAS, 2010), de forma que sua aplicação ainda não integra a rotina de muitos dos laboratórios e biotérios. Os resultados mostram interesse na participação de um projeto de EA por parte dos entrevistados (34; 69,4%). O EA, além de melhorar o grau de bem-estar, promove o comportamento natural das espécies e diminui a ocorrência de comportamentos anormais e estereotípicos (KASTELEIN; WIEPKEMA, 1989), os quais podem vir a interferir nos resultados (BOHANNON, 2002). A abertura dos respondentes para o estudo de EA pode facilitar a exposição e a discussão com a comunidade científica acerca da ampliação de sua adoção.

Os participantes indicaram saber o significado do BEA (56; 90,3%). Todavia, a maioria das conceituações foram parciais (32; 51,6%), 19,3% (12) foram insatisfatórias e 19,4% (12) foram satisfatórias. Os conceitos de BEA apresentados sugerem formação a partir do senso comum com falta aparente de subsídios da ciência do BEA, segundo os relatos:

- “Boa ou satisfatória qualidade de vida referente a saúde, felicidade e longevidade.”
- “Promover o conforto e evitar sofrimento.”
- “Garantir um meio ambiente adequado.”
- “Respeito aos limites do animal.”
- “Melhores condições possíveis para o animal submetido à pesquisa.”
- “Oferecer conforto sem estresse desnecessário.”
- “Garantir que não haverá sofrimento e crueldade.”
- “Ausência de estresse.”
- “Cuidado e respeito com os animais.”
- “Conjunto de regras que melhoram a qualidade de vida do animal.”

A percepção do BEA pode variar de acordo com o grupo estudado. Em estudos feitos com a população da Austrália o termo “bom BEA” foi indicado por metade dos participantes (n=500) como sendo a prevenção da crueldade e o tratamento humanitário dos animais, uma definição muito semelhante ao conceito apresentado pelos participantes desta pesquisa. Ainda que o conceito possua diferentes definições na literatura (BROOM; JOHNSON, 1993; DUNCAN 1993; KORTE, 2007) os pesquisadores de BEA indicam que o bem-estar não é um conceito que remeta apenas às situações positivas, e sim a um estado amplo físico, mental e comportamental. Com relação ao conhecimento do conceito das cinco

liberdades BEA, 46,8% (29) afirmaram conhecê-lo, sendo que 30,6% (19) conceituaram satisfatoriamente, 12,9% (oito) responderam de forma insatisfatória e 3,2% (dois) conceituaram parcialmente.

Disciplinas relacionadas ao BEA estão disponíveis em um terço das instituições com o curso de Medicina Veterinária no Brasil, sendo a oferta em sua maioria por meio de disciplinas de caráter optativo (MOLENTO, 2008). Apesar do ensino de BEA no Brasil estar em crescimento nas escolas de Medicina Veterinária e Zootecnia (MOLENTO, 2008) é provável que o mesmo não ocorre amplamente em cursos de Biologia, Farmácia, Medicina, Psicologia e outros que utilizam de animais. Isto ocorre devido a Ciência do BEA estar atrelada principalmente às Ciências Agrárias, portanto, esta especificidade faz com que muitas abordagens laboratoriais não considerem o BEA como um fator importante, sendo por total ou parcial falta de conhecimento do assunto. Assim, tendo em vista que apenas 38,7% (24) dos respondentes possuem formação em Ciências Agrárias a possibilidade de conhecer este assunto diminui.

A compreensão do BEA e das cinco liberdades pode proporcionar àqueles que trabalham em laboratórios uma capacidade mais refinada para perceber as condições que os animais enfrentam e, assim, promover melhoria de BEA.

Dos respondentes, 67,7% (42) indicaram conhecer do termo senciência animal. O significado da senciência animal foi corretamente exposto por 51,6% (32) dos participantes e de maneira imprecisa por 12,9% (oito).

A avaliação dos participantes sobre o grau percebido de senciência em relação às diferentes espécies de animais apresentou-se semelhante com a distribuição taxonômica dos grandes grupos animais. Sendo assim, os valores indicados foram maiores para os mamíferos e sequencialmente decrescendo nas aves, peixes e invertebrados (FIGURA 2).

Seguindo a concentração decrescente de frequências da nota máxima (TABELA 3), o grau de senciência indicado pelos respondentes ao cão, o bebê humano, o lobo, o porco, o camundongo e o rato não apresentaram diferenças significativas. O grau de senciência do frango não difere de todos citados anteriormente exceto em relação ao cão. O grau de senciência do peixe não apresentou diferenças em relação ao frango, caranguejo e borboleta. Os graus de senciência do caranguejo e da borboleta não diferiram entre si e em relação aos peixes. É possível verificar um ponto de transição da percepção da senciência a

partir dos peixes (TABELA 3). Neste ponto em diante temos mais de metade das opiniões dispersas entre as notas 1 e 9. As notas dos peixes não diferiram em relação aos animais invertebrados (caranguejo e borboleta) e às aves (frango). Esta variação indica uma possível dificuldade dos respondentes ao determinar a senciência dos peixes. Tal discrepância pode ter advindo da falta de conhecimento em relação a estes grupos. Os vertebrados, incluindo os peixes, são considerados sencientes devido às semelhanças biológicas com os organismos que podem vivenciar sentimentos (CHANDROO; YUE; MOCCIA, 2004; BRAITHWAITE; BOULCOTT, 2007). Uma das possibilidades do baixo reconhecimento da senciência para os peixes são as questões culturais que não são estritamente influenciadas pela ciência e por vezes tardam a serem atualizadas.

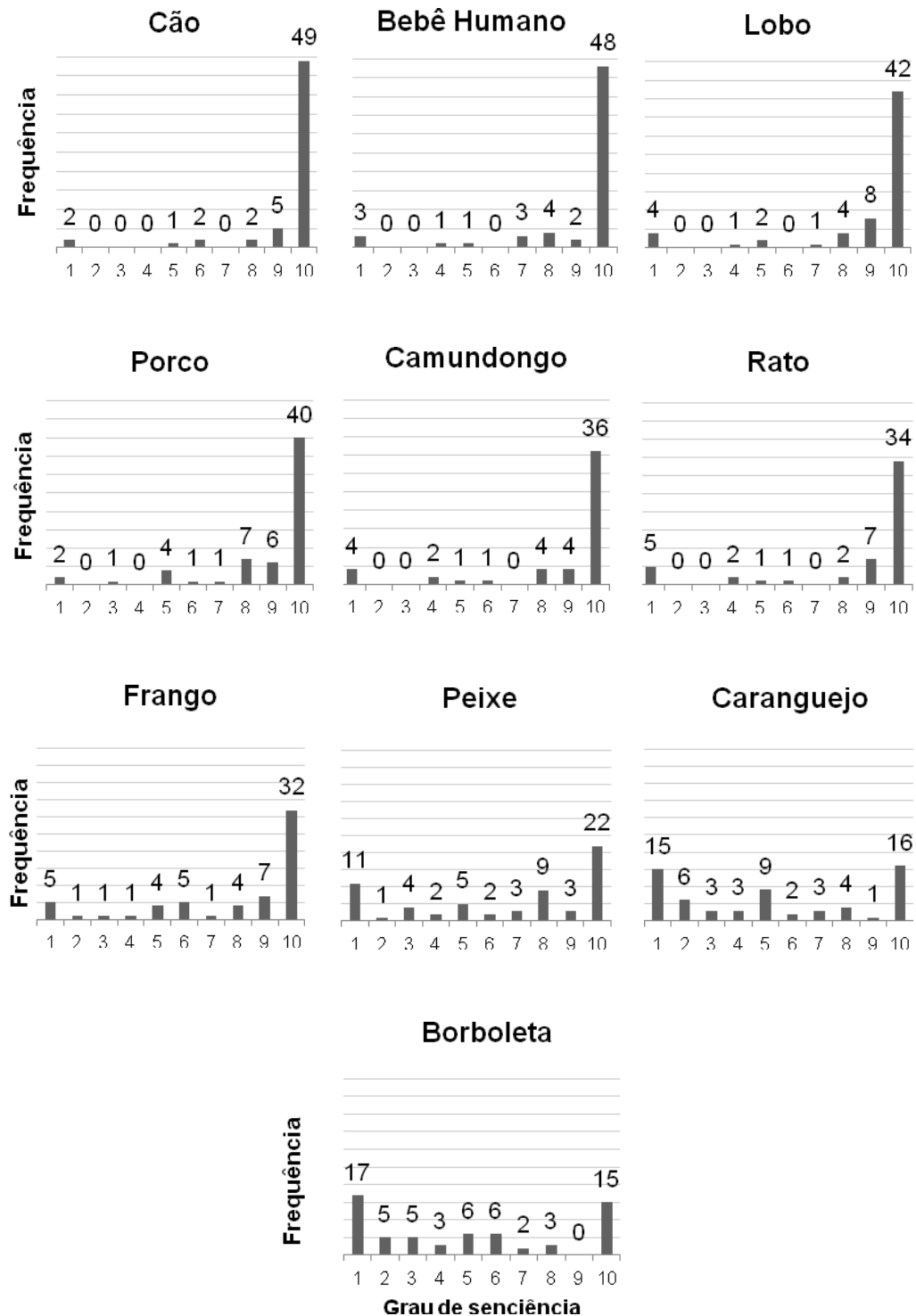


FIGURA 2 - FREQUÊNCIA DAS NOTAS APRESENTADAS PELOS PARTICIPANTES PARA CADA ANIMAL AVALIADO QUANTO AO GRAU DE SENCIÊNCIA SEGUINDO A CONCENTRAÇÃO DECRESCENTE DE FREQUÊNCIAS DA NOTA MÁXIMA.

As interpretações dos comportamentos animais comumente são realizadas de forma antropomórfica. Quaisquer formas que diferem deste comparativo, como a ausência de vocalização em situações de possível dor em peixes podem ser

interpretadas erroneamente. Adicionalmente, os estudos tardios de bem-estar e a pouca preocupação da população em geral com relação ao bem-estar destes animais diminuem a senciência percebida. As baixas notas e grande variação da senciência nas notas dos invertebrados é causada em grande parte devido as diferenças estruturais e a falta de conhecimento científico em relação ao funcionamento destas. Atualmente não se pode indicar com segurança o grau de senciência nos invertebrados em geral (MATHER, 2001), mas há indícios quanto à senciência em alguns invertebrados (ELWOOD, 2011; LOW, 2012).

TABELA 3 - COMPARAÇÃO QUANTO A PERCEPÇÃO DA SENCIÊNCIA DOS ANIMAIS INDICADOS EM ORDEM DECRESCENTE DE FREQUÊNCIAS DE NOTA MÁXIMA DADAS PELAS EQUIPES LABORATORIAIS QUE UTILIZAM ANIMAIS PARA EXPERIMENTAÇÃO NO BRASIL, 62 RESPONDENTES EM JANEIRO DE 2012.

Comparações*	Espécies animais
A	Cão
B	A Bebê humano
B	A Lobo
B	A Porco
B	A Camundongo
B	A Rato
C	B Frango
D	C Peixe
D	Caranguejo
D	Borboleta

\*Grupos com letras iguais não apresentam diferenças significativas no teste de Mann-Whitney a 0,05%, com correção de Bonferroni e grupos com letras diferentes apresentam diferenças significativas.

Os resultados indicam que as equipes laboratoriais reconhecem o alto grau de senciência de vários grupos de animais de tal forma que os consideram tão capazes de sentir quanto seres humanos imaturos. Pode-se perceber que o cão é percebido com mais alto grau de senciência pelos participantes desta pesquisa recebendo uma frequência superior de notas altas em relação à todos os outros seres vivos apresentados (TABELA 3). Segundo Driscoll (1995), alguns animais são julgados como portadores de maiores capacidades de inteligência e responsividade que os seres humanos. A proximidade social do ser humano com o cão pode fazer com que sua percepção seja influenciada por fatores emocionais. O mesmo pode ser exposto quanto aos ratos e camundongos que estão em constante contato com

as equipes laboratoriais, sendo acompanhados diariamente em suas rotinas. Além disso, o próprio fato de se estar trabalhando com seres vivos que são utilizados para compreensão de fenômenos nos seres humanos traz, intrinsecamente, a proposta da semelhança biológica.

A decisão de ainda assim utilizar animais que são reconhecidos como seres com alta capacidade cognitiva e de sentiência pode assim gerar processos de dissonância cognitiva. Estes processos ocorrem quando um indivíduo possui duas opiniões que atuam sobre um mesmo assunto e a tomada de decisão posterior é conflitante com uma destas opiniões (ROSA; SCHOLTEN; CARRILHO, 2006). Para a redução deste paradoxo é necessário que os indivíduos se informem e então decidam quais informações, crenças e paradigmas lhes são mais corretos.

## 2.4 CONCLUSÃO

O BEA é uma ciência que ainda necessita de expansão nos ambientes que envolvem a utilização de animais de laboratório, pois poucos profissionais têm conhecimento claro desta área do conhecimento. São persistentes as dúvidas sobre as funções das CEUAs, principalmente no contexto da fiscalização dos experimentos. O treinamento em relação às ciências de animais de laboratório não foi realizado por todos os participantes incluindo pessoas que realizam ou coordenam procedimentos que podem acarretar dor e morte. Tal fato pode gerar problemas metodológicos, legais e éticos. No entanto, há preocupação com o sofrimento animal, sendo tal sofrimento entendido como uma das principais desvantagens na experimentação. Com relação aos diferentes grupos animais, há percepção de mais alto grau de sentiência nas espécies que apresentam maior vínculo com os seres humanos e grande variação da percepção nos peixes e invertebrados. A aceitação dos participantes em relação a um projeto de EA e o alto conhecimento dos 3Rs da experimentação indicam uma preocupação com um melhor tratamento dos animais envolvidos. Os resultados apresentados podem subsidiar a localização de pontos críticos para melhoria do BEA em laboratórios brasileiros e indicam possibilidades para melhoria no conhecimento científico de questões centrais relativas ao BEA e para iniciativas de EA.

## AGRACEDIMENTOS

À Ana Guaraldo, criadora e moderadora das listas de discussão Biotbras, Redusal e Fessacal que colaborou com a divulgação da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE NOTÍCIAS DE DIREITOS ANIMAIS (ANDA). 2012. Disponível em: <<http://www.animalliberationfront.com>>. Acesso em: 18/04/2012.

AINSWORTH, C. Scientists share thoughts on animal research. **Nature**, London, 2006. Disponível em: <<http://www.nature.com/news/2006/061211/full/news061211-9.html>>. Acesso em: 18/04/2012.

ANIMAL LIBERATION FRONT (ALF). 2012. Disponível em: <<http://www.animalliberationfront.com>>. Acesso em: 18/04/2012.

NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Guidelines to promote the wellbeing of animals used for scientific purposes: The assessment and alleviation of pain and distress in research animals**. Canberra, National Health and Medical Research Council, 2008.

AYRES, M. MP entre com ação contra a UEM por maus-tratos a beagles. **Gazeta do Povo**. 2011. Disponível em: <<http://www.gazetadopovo.com.br/vidaecidadania/conteudo.phtml?id=1177940>>. Acesso em: 18/04/2012.

BALCOMBE, J. **The use of animals in higher education. Problems, alternatives & recommendations**. Washington, DC.: Humane Society, 2000.

BARDIN, L. **Análise de Conteúdo**. Lisboa: Edições 70, 1977.

BAUMANS, V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals. **Revue Scientifique et Technique de L'Office international Des Epizooties**, Paris, v. 24, n. 2, p. 503-514, 2005.

BAUMANS, V. The laboratory mouse. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford: Blackwell, 2010. p. 276-310.

BEAGLE FREEDOM PROJECT (BFP). 2012. Disponível em: <<http://beaglefreedomproject.org/help-out>>. Acesso: 18/04/2012.

BEKOFF, M. Increasing our compassion footprint: the animals' manifesto. **Zygon**, Hoboken, v. 43, n. 4, p.771-781, 2008.

BOHANNON, J. Can a mouse be standardised? **Science**, Washington, DC, v. 298, p. 2320-2321, 2002.

BOLIS, C. L.; PICCOLELLA, M.; VALLE, D.; RANKIN, J. C. Fish as model in pharmacological and biological research. **Pharmacological Research**, London, v. 44, p. 265-280, 2001.

BRAITHWAITE, V. A.; BOULCOTT, P. Pain perception, aversion and fear in fish. **Diseases of aquatic organisms**, Oldendorf, v. 75, p. 131-138, 2007.

BRASIL. Conselho Federal Medicina Veterinária. Resolução n. 879 de 15 de fevereiro de 2008. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 abr. 2008a.

BRASIL. Lei n. 11794, 8 de outubro de 2008. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 out. 2008b. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/imprensa/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=1&data=09/10/2008>>. Acesso em: 15/03/10.

BRASIL. Conselho Federal Medicina Veterinária. Resolução n. 1004 de 17 de agosto de 2012. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 set. 2012.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Ata da 10ª reunião extraordinária do CONCEA**. Brasília, 2010.

BROOM, D. M.; JOHNSON, K. G. **Stress and animal welfare**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1993.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.

BURN, C. C.; MASON, G. J. Effects of cage-cleaning frequency on laboratory rat reproduction, cannibalism, and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 144, p. 235-247, 2008.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (CCAC). **Guidelines on:** institutional animal user training. Ottawa: CCAC. 1999.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (CCAC). **Number of animals used in 2010 by participants in the CCAC Programs**. Ottawa: CCAC, 2010. Disponível em: <[http://www.ccac.ca/en\\_/publications/audf/stats-aud/tablei/2010](http://www.ccac.ca/en_/publications/audf/stats-aud/tablei/2010)>. Acesso em: 15/02/2012.

CENTER FOR WORKFORCE DEVELOPMENT (CWD). **The teaching Firm: where productive work and learning converge**. Newton: EDUCATION DEVELOPMENT CENTER, 1998.

CHANDROO, K. P.; YUE, S.; MOCCIA, R. D. An evaluation of current perspectives on consciousness and pain in fishes. **Fish and Fisheries**, West Sussex, v. 5, p. 281-295, 2004.

COMISSÃO EUROPEIA (CE). **Sixth Report on the Statistics on the Number of Animals used for Experimental and other Scientific Purposes in the Member States of the European Union**. Bruxelas: CE, 2010.

CRESSEY, D. Battle scars. **Nature**, London, v. 470, p. 452-453, 2011.

DAWKINS, M. S. Through animal eyes: What behaviour tells us. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 100, p. 4-10, 2006.

DEGUCHI, B. G. F.; MOLENTO, C. F. M.; SOUZA, C. E. P. Students perception on the use of animals in higher education ad Federal University of Paraná, Southern Brazil. **Alternatives To Laboratory Animals – ATLA**, Nottingham, v. 40, p. 83-90, 2012.

DESCARTES, R. **Discours de la méthode**. França: Project Gutenberg, 2006.

DRISCOLL, J. W. Attitudes toward animals: species ratings. **Society and Animals**, Leiden, v. 3, n. 2, p. 139-150, 1995.

DUNCAN, I. J. H. Welfare is to do with waht animals feel. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, Dordrecht, v. 6, n. 2, p. 8-14, 1993.

DUNCAN, I. J. K; FRASER, D. Understanding Animal Welfare. In: APPLEBY, M.; HUGHES, B. O. (Ed.). **Animal Welfare**. London, UK: CABI, 1997. p. 19-32.

ELWOOD, R. W. Pain and suffering in invertebrates? **Institute for laboratory animal research**, Oxford, v. 52, n. 2, p. 175-184, 2011.

EVANS, C. A. Extrapolation of preclinal pharmacokinetics and molecular feature analysis of “Discovery-like” moleucles to predict human pharmacokinetics. **Drug metabolismo and disposition**, Bethesda, v. 34, p. 1255-1265, 2006.

FAITH, R. E.; HUERKAMP, M. J. Environmental considerations for research animals. In: HESSLER, J. R.; LEHNER, N. D. M (Ed.). **Planing and Designing Research Animal Facilities**. San Diego, CA: Academic Press, 2009. p. 59-83.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL (FAWC). **Press Statement**. London: FAWC, 1979.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL (FAWC). **Farm Animal Welfare Council: Report on priorities for animal welfare research and development**. London: FAWC, 1993.

ATIVISTAS tentam incendiar biotério de universidade em Florianópolis. G1, 23 set. 2011. Disponível em: <<http://g1.globo.com/brasil/noticia/2011/09/ativistas-tentam-incendiar-bioterio-de-universidade-em-florianopolis.html>>. Acesso em: 18/04/2012.

HOME OFFICE (HO). **Statistics of Scientific Procedures on Living Animals**: Great Britain 2011. Londres, UK: Stationery Office , 2011.

HUMANE RESEARCH AUSTRALIA (HRA). **Statistics: animal use in research & teaching, Australia**. 2009. Disponível em: <<http://www.humaneresearch.org.au/statistics/>>. Acesso em: 15/02/2012.

KASTELEIN, R. A.; WIEPKEMA, P. R. A digging through as occupational therapy for Pacific Walrusses (*Odobenus rosmarus divergens*) in human care. **Aquatic Mammals**, Old Mystic, v. 15, n. 1, p. 9-17, 1989.

KOOLHAAS, J. M. The laboratory rat. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford: Blackwell, 2010. p. 311-326, 2010.

KORTE, S. M. A new animal welfare concept based on allostasis. **Physiology & Behavior**, Philadelphia, v. 92, p. 422-428, 2007.

LANDIM, F. L. P.; LOURINHO, L. A.; LIRA, R. C. M.; SANTOS, Z. M. S. A. Uma reflexão sobre as abordagens em pesquisa com ênfase na integração qualitativo-quantitativa. **Revista Brasileira de Promoção da Saúde**, Fortaleza, v. 19, n. 1, p. 53-58, 2006.

LOW, P. **The Cambridge Declaration On Consciousness**. In: FRANCIS CRICK MEMORIAL CONFERENCE ON CONSCIOUSNESS IN HUMAN AND NON-HUMAN ANIMALS, Cambridge, 2012.

LÜDKE, M.; ANDRÉ, M. E. D. A. **Pesquisa em educação: Abordagens qualitativas**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1986.

MATHER, J. A. Animal suffering: na invertebrate perspective. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, Philadelphia, v. 4, n. 2, p. 151-156, 2001.

MOLENTO, C. F. M. Repensanto as cinco liberdades. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CONCEITOS EM BEM-ESTAR ANIMAL, 1. 2006, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 2006.

MOLENTO, C. F. M. Ensino de Bem-estar Animal nos cursos de medicina veterinária e zootecnia. **Ciência veterinária nos trópicos**, Recife, v. 11, n. 1, p. 6-12, 2008.

MOSCOVICI, S. **A representação social da psicanálise**. Rio de Janeiro: Zahar, 1978.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS). **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. 8. ed. Washington: National Academies Press, 2010.

NEVALAINEN, T. Research, animals and welfare. Regulations, alternatives and guidelines. In: KALISTE, E (Ed.) **The welfare of laboratory animals**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, p.15-22, 2007.

PAIXAO, R. L. **Experimentação Animal: razões e emoções para uma ética**. 189 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2001.

PARANÁ. Lei no. 14.037, de 11 de março, 2003. **Diário Oficial do Estado do Paraná**, Curitiba, n. 6456, 11 mar. 2003.

PARANÁ. Ministério Público do Estado. 13 Promotoria de Justiça da Comarca de Maringá. **Inquérito Civil n. 0088.10.000351-1**, Ação civil pública ambiental em face de: Universidade Estadual de Maringá – UEM. Maringá, 2011. TOURINHO, J. L. B.

PICKWORTH, E. Should local research ethics committees monitor research they have approved? **Journal of Medical Ethics**, London, v. 26, p. 330-333, 2000.

PLOUS, S. Attitudes toward the use of animals in Psychological research and education. **American Psychologist**, Washington, DC, v. 51, n. 11, p. 1167-1180, 1996.

REAGAN-SHAW, S. Dose translation from animal to human studies revisited. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, v. 22, p. 659-661, 2007.

RICHMOND, J. The three Rs. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford, UK: Blackwell, 2010. p. 5-22.

RIO DE JANEIRO. Lei n. 3.900, de 19 de julho de 2002. **Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 19 jul. 2002.

RIO GRANDE DO SUL. Lei n. 11.915, de 21 de maio de 2003. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre**, 21 mai. 2003.

ROSA, I. V.; SCHOLTEN, M.; CARRILHO, J. P. Festinger revisitado: sacrifício e argumentação como fontes de conflito na tomada de decisão. **Análise Psicológica**, Lisboa, v. 24, n. 2, p. 167-177, 2006.

SANTA CATARINA. Lei no. 12.854, de 22 de dezembro, 2003. **Diário Oficial do Estado de Santa Catarina**, Florianópolis, 22 dez. 2003.

SÃO PAULO. Lei no. 11.977, de 25 de agosto de 2005. **Diário Oficial do Estado de São Paulo, São Paulo**, 25 ago. 2005.

SCHUPPLI, C. A.; FRASER, D. Factors influencing the effectiveness of research ethics committees. **Journal of Medical Ethics**, London, v. 33, p. 294-301, 2007.

SILLA, V. C. B.; SANS, E. C. O.; MOLENTO, C. F. M. An estimation fo the extent of animal use in research in Brasil, as determined by bibliographic sampling from journals published in the State of Paraná. **Alternatives to Laboratory Animals – ATLA**, Nottingham, v. 38, p. 29-37, 2010.

SHEPHERDSON, D. J. Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In: SHEPHERDSON, D. J.; MELLEEN, J. D.; HUTCHINS, M. (Ed.). **Second Nature: environmental enrichment for captive animals**. California: Smithsonian Books, 1998. p. 1-12.

SPENCE, R.; GERLACH, G.; LAWRENCE, C.; SMITH, C. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biological Reviews**, West Sussex, v. 83, p. 13-34, 2008.

TAYLOR, K.; GORDON, N.; LANGLEY, G.; HIGGINS, W. Estimates for worldwide laboratory animal use in 2005. **Alternatives to Laboratory Animals – ATLA**, Nottingham, v. 36, p. 327-342, 2008.

THOMSON REUTERS. New York, 2012. Disponível em: <<http://thomsonreuters.com/>>. Acesso em: 15/02/2012.

TREZ, T. A. Experimentando a desumanização: Paulo Freire e o uso didático de animais. **Revista Brasileira de Educação Científica e Tecnológica**, Ponta Grossa, v. 4, n. 2, p. 50-66, 2011.

TURATO, E. R. Métodos qualitativos e quantitativos na área da saúde: definições, diferenças e seus objetos de pesquisa. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 507-514, 2005.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Annual report animal usage by fiscal year 2010**. 2011. Disponível em: <[http://www.aphis.usda.gov/animal\\_welfare/efoia/downloads/2010\\_Animals\\_Used\\_In\\_Research.pdf](http://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/efoia/downloads/2010_Animals_Used_In_Research.pdf)>. Acesso em: 15/02/2012.

VANHONACKER, F.; VERBEKE, W.; POUCKE, E. V.; TUYTTENS, F. A. M. Do citizens and farmers interpret the concept of farm animal welfare differently? **Livestock Science**, Amsterdam, v. 116, p. 126-136, 2006.

VEDDAS. 2011. Disponível em: <<http://veddas.org.br/noticiasmenu/147-nota-sobre-o-ataque-incendiario-ao-bioterio-central-da-ufsc.html>>. Acesso em: 18/04/2012.

WEBSTER, J. **Animal welfare**: limping towards Eden. 2. ed. Oxford, UK: Blackwell. 2005.

ZANETTI, M. B. F.; SCHMIDT, E. M. S.; GARCIA, T. B. Recursos didáticos utilizados nas aulas práticas do curso de Medicina Veterinária em universidades do Estado do Paraná. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Curitiba, v. 9, p. 351-360, 2011.

Nós temos uma variedade de maneiras de perguntar aos animais o que eles desejam e também o que desejam evitar

Marion Stamp Dawkins

### **3 DIAGNÓSTICO DE BEM-ESTAR EM CAMUNDONGOS E RATOS DE BIOTÉRIOS NO ESTADO DO PARANÁ**

#### **RESUMO**

Os animais de laboratório são amplamente utilizados para contribuir para o desenvolvimento da ciência. Os ratos e camundongos estão entre os principais grupos utilizados para tal fim, sendo que os animais são principalmente provenientes de biotérios de criação. Nestes locais eles são mantidos sob estrito controle ambiental, visando diminuir a variabilidade que pode interferir em sua biologia e, conseqüentemente, nos resultados das pesquisas. É importante conhecer o grau de bem-estar desses animais, pois tal fator tem implicações diretas no comportamento ético em relação aos outros seres vivos e também quanto à segurança dos resultados obtidos. Seguindo como base a metodologia das cinco liberdades do bem-estar animal (BEA), buscou-se verificar em quatro biotérios (A, B, C e D) de instituições de ensino do Estado do Paraná o grau de BEA dos ratos e camundongos neles criados. As liberdades sanitária e psicológica foram consideradas severamente restritas e a liberdade comportamental moderadamente restrita. A liberdade nutricional foi moderadamente respeitada nos biotérios A, B e D e completamente respeitada no biotério C. A liberdade ambiental foi severamente restrita nos biotérios A e B e moderadamente restrita nos biotérios C e D. Itens de enriquecimento ambiental não são utilizados e medidas de redução da dor durante a eutanásia não são tomadas em nenhum dos biotérios visitados. A atuação principalmente nestes dois pontos pode providenciar melhorias significativas no BEA dos animais de laboratório.

Palavras-chave: Animais de laboratório. Biotério. Enriquecimento ambiental. Eutanásia.

#### **ABSTRACT**

Laboratory animals are widely used to contribute for the development of knowledge. Rats and mice are among the main groups for such purposes and these animals are bred mostly in specific animal breeding facilities. In these facilities they are kept under strict environmental control in order to decrease variability which can interfere in their biology and thus in the research's results. It is imperative to recognize the welfare of these animals, due its implications on ethical behavior towards other living beings as well as the reliability of results. Using the Five freedoms of animal welfare (AW) based methodology, we analyzed four animal breeding facilities (A, B, C and D) of educational institutions in the State of Paraná to perform a welfare assessment in rats and mice. The freedom from fear and distress and the freedom from pain, injure and disease were considered severely restricted and the freedom to express normal behavior was moderately restricted. The freedom from hunger, thirst and malnutrition was moderately respected in locations A, B and D and fully respected in C. The

freedom of discomfort was severely restricted in locations A and B and moderately restricted in C and D. Environmental enrichment items were not used and the prevention of pain during euthanasia was not performed in any of the visited locations. The intervention in these both issues can provide significant improvements in laboratory AW.

Key-words: Laboratory animals. Animal breeding facilities. Environmental enrichment. Euthanasia.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A utilização de animais em laboratórios contribui para o conhecimento, desenvolvimento de tecnologias e melhoria do bem-estar animal (BEA) e humano. Para a realização de pesquisas com validade científica é necessário que as variáveis que afetam o objeto de estudo sejam conhecidas e altamente controladas (FAITH; HUERKAMP, 2009). Desta forma, os animais que são utilizados na experimentação necessitam de rigorosos processos de controle e manutenção das condições ambientais. Cada espécie e linhagem de animais apresentam características e necessidades específicas que devem ser monitoradas para que os animais tenham boas condições de BEA. Quando o grau de BEA é baixo, pode haver a necessidade de maior número de animais devido ao aumento na variabilidade dos dados, provocando uma difícil reprodução do estudo e, conseqüentemente, diminuição da sua credibilidade (NHMRC, 2008). Ratos e camundongos estão entre as principais espécies utilizadas na experimentação (BAUMANS, 2005; CE, 2010; AINSWORTH, 2006). Tais animais são essencialmente provenientes de biotérios, nos quais são criados, mantidos e, em alguns casos, podem ser utilizados em experimentos. Os biotérios podem ser classificados em quatro diferentes níveis de acordo com o potencial risco de biossegurança (BRASIL, 2006). Em cada nível são exigidos equipamentos e procedimentos para assegurar a saúde dos seres humanos e animais e impedir possíveis interferências que os biotérios possam causar no meio ambiente fora de seus limites.

No entanto, a responsabilidade pelos animais se caracteriza por mais que preocupações metodológicas e de biossegurança. O comportamento ético é um

componente importante em todas as ações, especialmente quando outros seres vivos estão envolvidos. Segundo SINGER (1993), tal comportamento deve ser universal e aplicado de forma que as escolhas apresentem as melhores consequências para todos os envolvidos. Os vertebrados são seres capazes de vivenciar sentimentos como a dor, o prazer e o sofrimento, portanto existe um dever moral de proporcionar boas condições de vida aos referidos animais.

Estima-se que sejam utilizados 115,3 milhões de animais vertebrados anualmente para experimentação no mundo, sendo o uso no Brasil correspondente a uma parcela de 1,16 milhões de animais (TAYLOR *et al.*, 2008). Os animais utilizados podem passar por alterações genéticas e ser submetidos a procedimentos experimentais, os quais por sua vez podem gerar alto grau de dor e sofrimento. As interferências no BEA podem ser também por meio das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs) que são os órgãos reguladores de primeira instância. As CEUAs têm o poder de vetar quaisquer experimentos em desacordo com seus princípios e normas, zelando por melhores condições de vida aos animais. De forma crescente a sociedade tem apresentado demanda por melhores condições no tratamento dos animais. Tal demanda tem surtido efeitos como a proibição de testes em animais e da venda de produtos testados em animais (CE, 2003; CE, 2004; CE, 2011).

Diante do exposto, o conhecimento do grau de bem-estar dos animais em biotérios parece relevante. Uma ferramenta para a medição do BEA é a verificação das Cinco Liberdades do BEA, as quais foram criadas pelo Conselho de Bem-estar de Animais de Produção do Reino Unido (FAWC, 1993). Segundo as Cinco Liberdades, o ideal para os animais é estar em condições de: (1) liberdade de fome e sede, tendo acesso a água fresca e dieta que mantenha a saúde e vigor ou Liberdade Nutricional; (2) liberdade de desconforto, providenciando abrigo e área de descanso confortável ou Liberdade Ambiental; (3) liberdade de dor, ferimentos e doenças pela prevenção, diagnóstico rápido e tratamento ou Liberdade Sanitária; (4) liberdade para expressar comportamento natural, pelo acesso a espaço suficiente, ambiente adequado e companhia de outros indivíduos da mesma espécie quando se tratar de animais de vida em grupo ou Liberdade Comportamental; e (5) liberdade de medo e distresse, evitando sofrimento mental, ou Liberdade Psicológica.

Pouco se conhece sobre o grau de BEA dos animais de biotérios devido ao controle do fluxo de pessoas restrito a funcionários e ao caráter geral das regras às

quais os biotérios convencionais estão sujeitos. Alguns esforços são realizados para melhorar as condições do BEA por meio de estudos sobre enriquecimento ambiental em laboratórios e sua influência sobre os animais. Todavia, não se sabe qual a extensão destas práticas nos biotérios brasileiros ou se medidas que visam a melhoria do grau de BEA são tomadas nestes locais. Este trabalho teve o objetivo de verificar o grau de BEA de camundongos e ratos em biotérios de instituições de ensino do Estado do Paraná.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pela CEUA do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná sob o protocolo no. 019/2011 (APÊNDICE H) em 23 de setembro de 2011. Após contato prévio com as instituições participantes, foram realizadas visitas programadas em quatro biotérios de instituições de ensino do Estado do Paraná. Os biotérios serão identificados como A, B, C e D. As visitas foram realizadas sempre às segundas-feiras, com o objetivo de encontrar os biotérios em condições semelhantes de limpeza e conservação.

O diagnóstico foi realizado seguindo os itens de uma ficha de avaliação criada especificamente para ratos e camundongos. A base para a criação de tal ficha foram as Cinco Liberdades do BEA, os guias internacionais para cuidados de animais de laboratório (UFAW, 2010; NAS 2010), pesquisas específicas relacionadas a camundongos e ratos, e a ficha de perícia de BEA criada para outras espécies (HAMMERSCHMIDT, 2012). A partir das referidas fontes, foi estabelecida a ficha de diagnóstico de bem-estar de animais de laboratório para ratos e camundongos.

O documento foi separado em seis seções: características gerais, Liberdade Nutricional, Liberdade Ambiental, Liberdade Sanitária, Liberdade Comportamental e Liberdade Psicológica. Os detalhes de cada seção estão na TABELA 4.

Após o diagnóstico, cada liberdade foi classificada em uma das cinco categorias a seguir, em ordem de melhoria no grau de BEA: liberdade severamente restrita; liberdade restrita; liberdade intermediária; liberdade moderadamente respeitada; e liberdade completamente respeitada. Na ocorrência de qualquer liberdade severamente restrita, automaticamente a Liberdade Psicológica foi

considerada severamente restrita. Em todos os biotérios, foi considerada a descrição dos funcionários e também escolhida aleatoriamente uma sala contendo animais para a realização do diagnóstico completo e visualização de todos os indivíduos.

TABELA 4 - DESCRIÇÃO SIMPLIFICADA DA FICHA UTILIZADA PARA A REALIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO DE BEM-ESTAR DE RATOS E CAMUNDONGOS DE LABORATÓRIO, CONTENDO OS ITENS VERIFICADOS DURANTE AS VISITAS BEA DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Seção	Número de itens analisados	Descrição geral	Itens verificados
Características Gerais	7	Dados da visita	Data, local, hora, equipe, instalações, atividades desenvolvidas e animais criados.
Liberdade Nutricional	5	Itens relacionados à nutrição dos animais	Disponibilidade de alimento, itens da alimentação, como são apresentados os itens, escore corporal e itens de enriquecimento ambiental.
Liberdade Ambiental	14	Itens relacionados ao conforto dos animais	Características das gaiolas, aglomeração dos animais, cm <sup>2</sup> disponível por animal adulto, abrigo, material de leito, material de ninho, higiene da gaiola, temperatura, umidade, sons, ciclo circadiano, iluminação, disponibilidade de ambiente alternativo e itens de enriquecimento ambiental.
Liberdade Sanitária	11	Itens relacionados a dor e a saúde dos animais	Atendimento veterinário, procedimentos contra dor, condição da pelagem, condição das vibrissas, presença de ferimentos, cicatrizes, secreções, diarreia, procedimentos sanitários do local, áreas de risco e itens de enriquecimento ambiental.
Liberdade Comportamental	7	Itens relacionados aos comportamentos desenvolvidos pelos animais	Comportamentos exploratórios e sociais, material para montagem de ninho, estereotipias, contato com animais de outras espécies, contato com animais da mesma espécie, recursos ambientais e itens de enriquecimento ambiental.
Liberdade Psicológica	5	Itens relacionados ao medo e distresse	Reação à presença e contato com seres humanos, comportamento em relação à outros animais da espécie, procedimento de eutanásia, restrição de outras liberdades e itens de enriquecimento ambiental.

### 3.3 RESULTADOS DISCUSSÃO

Apesar de haver diferenças em relação às atividades diárias realizadas em cada biotério, todos os biotérios participantes estavam há pelo menos dois dias sem

realizar as atividades de limpeza e troca de material. Todos os biotérios estão localizados em áreas individuais com entrada restrita aos funcionários e pessoas autorizadas. O biotério A possuía no dia 02 de julho de 2012 uma sala com 390 ratos (WISTAR) e outra com 73 camundongos (BALB/C). No ano de 2012 foram criados e mantidos 630 ratos e 170 camundongos para a experimentação sendo seis para outra instituição. No biotério B, no dia 29 de outubro de 2012, foram mantidos 200 ratos e 50 camundongos e no ano de 2012 foram criados um total de 4000 ratos e 900 camundongos que foram utilizados por 7 instituições de pesquisa. No biotério C, no dia 05 de outubro de 2012, foram mantidos 120 ratos (WISTAR) e no ano de 2012 foram criados e mantidos 565 ratos para a experimentação. No biotério D no dia 05 de dezembro foram mantidos 87 ratos (WISTAR) e no ano de 2012 foram produzidos 350 ratos para experimentação. Quanto às salas sorteadas para o diagnóstico completo, no biotério A a sala continha 73 camundongos, no biotério B 668 camundongos, no biotério C 120 ratos e no biotério D 87 ratos.

Os animais que sofreram eutanásia e outros materiais que compõem o material de descarte do biotério, seguiam para processamento juntamente como resíduos de potencial risco biológico. No biotério C os animais que sofreram eutanásia eram encaminhados a um curso de taxidermia, para utilização em aulas práticas. Devido à grande quantidade de animais produzidos no biotério B, a desmama e a sexagem foram realizadas nas terças-feiras e nos sábados, sendo um técnico responsável por visitar o biotério e verificar se tudo estava funcionando corretamente. Nos outros biotérios, com menor demanda, não é realizado o monitoramento nos fins-de-semana, sendo desmame e sexagem realizados sem predefinição.

Foram encontradas diferentes composições das equipes dos biotérios (TABELA 5). Nos biotérios A e B, técnicos com formação no Ensino Médio eram responsáveis pela troca e realocação dos animais nas gaiolas. No biotério C, um estudante de graduação em Ciências Biológicas e outro estudante de mestrado em Ciências Biológicas, e no biotério D os responsáveis pela manutenção eram estagiários, estudantes de graduação em Ciências Biológicas. Funcionários responsáveis apenas pela limpeza periférica do biotério e que não mantinham contato direto com os animais estavam presentes nos biotérios A e B. A formação educacional dos integrantes dos biotérios é determinante para o BEA dos animais cativos. São eles os responsáveis pela manutenção dos animais e, portanto, é

imprescindível que recebam treinamento. O treinamento nos biotérios avaliados foi realizado principalmente nos locais de trabalho, praticamente sem a utilização de treinamento com carga horária externa. Receber treinamento adequado nas ciências de animais de laboratório, BEA (NEVALAINEN, 2007) e seguir o princípio dos 3 Rs (KALISTE; MERING, 2007) pode promover melhores condições de BEA no cotidiano laboratorial.

TABELA 5 - COMPOSIÇÃO E FORMAÇÃO PROFISSIONAL DAS EQUIPES LABORATORIAIS DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Biotério	Coordenação	Técnicos	Estagiários	Limpeza
A	1 (Medicina Veterinária)	1 (Ensino Médio Incompleto) 1 (Ensino Fundamental Incompleto)	-	1 (Ensino Fundamental Incompleto)
B	2 (Medicina Veterinária; Zootecnia)	4 (Ensino Médio)	-	1 (Ensino Fundamental)
C	1 (Ciências Biológicas)	-	2 (Cursando Ciências Biológicas; Cursando mestrado em Ciências Biológicas)	
D	2 (Medicina Veterinária; Ciências Biológicas)	-	2 (Cursando Ciências Biológicas)	

### 3.3.1 Liberdade Nutricional

Os camundongos e ratos recebiam água em garrafas que ficavam sobre a grade de retenção e ração peletizada à vontade, exceto no biotério C em que eram disponibilizados 50g de ração/dia para cada rato (TABELA 6). A forma padrão de manutenção nutricional em biotérios é *ad libitum*, em que os animais são livres para comer e beber o quanto sentirem necessidade. Quanto a reposição dos itens nutricionais, no biotério A são verificados nas quartas e sextas-feiras, no biotério B nas quartas-feiras, no biotério C durante todos os dias úteis e no biotério D às segundas e quintas-feiras nos animais de estoque e nas segundas, quartas e sextas-feiras nas matrizes. Apesar de haver intervalos entre as reposições, os animais não sofrem restrição alimentar. Apesar da oferta contínua de alimentos ser

relevante para o bem-estar imediato do animal, estudos indicam que a disponibilidade restrita de comida e calorias melhora diversos parâmetros biológicos que declinam com o envelhecimento (GOTO *et al.*, 2007). A restrição alimentar também diminui a incidência e severidade de doenças não-neoplásicas e neoplásicas, aumentando a longevidade dos animais (ROE *et al.*, 1995). Portanto, a dieta balanceada além de proporcionar controle nutricional pode vir a prevenir a eutanásia antecipada, uma vez que os animais apresentam redução de doenças.

TABELA 6 - RESUMO DAS PRINCIPAIS ATIVIDADES SEMANAIS REALIZADAS PELAS EQUIPES LABORATORIAIS DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Biotério	Período entre as limpezas	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
A	2 e 3 dias	T/L/R/A		R/A	T/L	R/A	
B	2 e 3 dias	T/L	L/D/S	L/R/A	T		M
C	7 dias	L/R/A	L/R/A	T/R/A	T/R/A	L/R/A	
D	2 e 3 dias 1 e 2 dias	T/L/R/A (animais de estoque e matrizes)		T/L/R/A (matrizes)	T/L/R/A (animais de estoque)	T/L/R/A* (matrizes)	

T: troca por material limpo

L: limpeza dos equipamentos

R: reposição de ração

A: reposição de água

D: desmame dos juvenis

S: separação de machos e fêmeas jovens

M: monitoramento geral do biotério

### 3.3.2 Liberdade Sanitária

No biotério A, a limpeza e a troca dos materiais eram realizadas nas segundas e quintas-feiras (TABELA 6). Após esta etapa as gaiolas eram colocadas em tanques imersas em detergente enzimático e água sanitária e seguiram para o enxágue em água corrente. As caixas, maravalha, água e garrafas não passavam pelo processo de esterilização (TABELA 7). No biotério B a troca dos materiais era realizada nas segundas e quintas-feiras e a limpeza dos equipamentos na segunda, terça e quarta-feiras (TABELA 6). As caixas foram limpas com uma solução de hipoclorito de sódio e a água sofre filtragem simples (TABELA 7). No biotério C as trocas das gaiolas são feitas durante dois dias consecutivos, nas quartas e quintas-feiras com a retirada do material de descarte e as garrafas com água são trocadas

nas sextas-feiras (TABELA 6). As gaiolas, as bancadas e o chão são limpos com desinfetante de uso veterinário e álcool 70% nas bancadas. As garrafas preenchidas com água e a maravalha são esterilizadas em autoclave nas segundas e terças-feiras seguintes (TABELA 7). No biotério D a limpeza e troca por gaiolas limpas foram realizadas nas segundas e quintas-feiras nos animais de estoque e nas segundas, quartas e sextas-feiras nas matrizes (TABELA 6). As gaiolas sujas foram colocadas em tanques com água corrente e em seguida foram esterilizadas com quaternário de amônio. As caixas, garrafas, maravalha e a água foram esterilizadas em autoclave (TABELA 7).

TABELA 7 - PROCESSOS SANITÁRIOS REALIZADOS NOS EQUIPAMENTOS UTILIZADOS PELOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Biotério	Caixas	Garrafas	Água	Maravalha
A	Detergente enzimático e Água sanitária	Água corrente	Filtragem simples	-
B	Hipoclorito de sódio	Água corrente	Filtragem simples	Estufa
C	Desinfetante	Esterilização (Autoclave)	Esterilização (Autoclave)	Esterilização (Autoclave)
D	Quaternário de amônio	Esterilização (Autoclave)	Esterilização (Autoclave)	Esterilização (Autoclave)

Nos biotérios A e B as gaiolas foram limpas com frequência de duas vezes por semana e no biotério D com frequências de duas vezes por semana nos animais de estoque e três vezes por semana nas matrizes (TABELA 6). O biotério C foi o único a realizar a limpeza uma vez por semana e somente neste local nenhum animal apresentou ferimentos, o que difere do que foi descrito na literatura que indica que a frequência de limpeza tem pouca influência na ocorrência de agressões (BURN *et al.*, 2006). Na presente pesquisa, o número reduzido de animais analisados e as características específicas de cada local, tais como, funcionários, instalações, equipamentos e manejo, podem ter influência maior na ocorrência das agressões do que apenas a frequência da limpeza. As marcas olfatórias deixadas no substrato permitem a manutenção da estabilidade social e quando estas são interrompidas há menor tolerância para com os animais que não são reconhecidos como parte do grupo podendo resultar em aumento das agressões (HURST; FANG; BERNARD, 1993). No entanto, quando as agressões não são devido a limpeza, a troca total do material é indicada para diminuir estes comportamentos (GRAY;

HURST, 1995). As gaiolas apresentaram bom estado de limpeza com poucas regiões úmidas, exceto no biotério A, que apresentou grande formação de placas compactas de sujeira e umidade excessiva no substrato e odor intenso de amônia.

Os processos sanitários utilizados pelos biotérios (TABELA 7) analisados estão em concordância com a legislação. A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) é o principal órgão responsável pelas normas às quais os biotérios brasileiros devem seguir. Os biotérios analisados estão enquadrados no nível de menor risco de biossegurança, o NB-01. Sob esta classificação são exigidas medidas sanitárias simples, como a disponibilidade de pias para a lavagem das mãos e nenhum equipamento de contenção ou isolamento específico. (BRASIL, 2006). No entanto, a manutenção destes biotérios pode seguir outras instruções de boas práticas laboratoriais formuladas nos próprios locais. Nos locais visitados, há restrição da entrada de pessoas, principalmente nas salas nas quais são mantidos os animais. Há controle de temperatura e cuidados específicos com o descarte de materiais com risco biológico. É obrigatório o uso de equipamento de proteção individual (EPI) durante a manipulação dos animais. No biotério A o EPI é composto por luvas, touca e jaleco descartáveis. No biotério B por máscara, luvas, jaleco e sapatilhas descartáveis e a aplicação de álcool nos calçados. Para melhor controle há demarcações no piso indicando que os funcionários só podem entrar naquela área munidos dos EPIs. No biotério C por luvas e máscaras descartáveis e jaleco de algodão e no biotério D por máscara, touca, macacão, luvas e sapatilhas descartáveis. Os guias para a manutenção de biotérios indicam outras medidas que devem ser tomadas para o funcionamento seguro das instalações. Dentre os principais estão a utilização de sistemas de refrigeração, restrição do fluxo de pessoas, descarte adequado dos resíduos, obrigatoriedade de equipamentos de proteção individual e coletiva e proteção por barreiras sanitárias (HOLGATE, 2010; DAMY; MATTARAIA, 2012; SOREIO *et al.*, 2012). A esterilização é realizada nos C e D e visa maior segurança biológica para os animais. O processo de esterilização geralmente é realizado em autoclaves e é imprescindível para a segurança nos biotérios (DAMY; MATTARAIA, 2012).

Devido as atividades com risco biológico, os biotérios podem receber a visita de órgãos de fiscalização sanitária. O biotério A, B e D recebem anualmente a visita da Vigilância Sanitária o biotério C não relatou a visita de órgãos fiscalizadores. Em todos os locais o atendimento veterinário é realizado sem frequência determinada,

ocorrendo em casos especiais quando há suspeita de doenças e que não sejam devido a complicações inerentes ao envelhecimento do animal. A eutanásia é o procedimento padrão quando há indícios de infecções e outros problemas com a saúde do animal, como a queda de pêlos, pêlos excessivamente eriçados ou quando são detectados ferimentos muito graves, tumores e envelhecimento do animal. O controle e a prevenção da dor por fármacos não é realizado nos animais, nem nos procedimentos de eutanásia.

A condição da pelagem dos animais apresentou alteração em três animais do biotério B, os quais apresentaram a pelagem eriçada (TABELA 8). No biotério A, um animal macho mantinha um dos olhos completamente fechado e três fêmeas apresentavam ferimentos na vulva. No biotério B, um animal estava com leves ferimentos no nariz, um estava com múltiplos ferimentos nas orelhas, nariz e vibrissas e três estavam com os pelos eriçados. No biotério C não foram encontrados animais com ferimentos e no biotério D um animal possuía ferimentos nas orelhas. Apenas no biotério D o animal ferido estava em isolamento. A inexistência de animais com problemas sanitários no biotério C pode ser consequência do número reduzido de animais por caixa. Em todos os biotérios são realizadas amostragens de fezes para o monitoramento da existência de parasitos internos. A alta densidade de lotação das caixas (TABELA 8) nos biotérios A e B podem levar a condições de aumento de doenças e morte. Os fatores ambientais e principalmente o monitoramento da saúde são determinantes no controle de problemas sanitários que causam doenças ou em casos subclínicos (NICKLAS, 2007). Diversos sinais clínicos podem ser associados a doenças, no entanto, algumas doenças infecciosas podem apresentar poucos sinais clínicos. Para o diagnóstico correto, são necessárias habilidades específicas e experiência em patologia e diversas outras áreas além de análises de parâmetros biológicos do animal (BAUMANS, 2010).

TABELA 8 - PROBLEMAS SANITÁRIOS ENCONTRADOS NOS ANIMAIS DOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Biotério	Animais com problemas sanitários	Total de animais analisados	Porcentagem (%)	Densidade (cm <sup>2</sup> /adulto)
A	1 (ferimento no olho)	73 camundongos	5,48	40
	3 (ferimento na vulva)			33
	3 (pêlo erigido)			168
B	1 (múltiplos ferimentos)	668 camundongos	0,75	252
	1 (ferimento no nariz)			168
C	0	120 ratos	0,00	660
D	1 (ferimento na orelha)*	87 ratos	1,15	660

\*animal mantido em isolamento

Os procedimentos sanitários são de extrema importância nos biotérios. A segurança dos animais criados e das pessoas que trabalham no recinto é assegurada de acordo com os procedimentos que são realizados.

### 3.3.3 Liberdade Ambiental

Em todos os locais visitados, a indicação para diminuir a interferência ambiental é reduzir a entrada nas salas onde os animais são mantidos. No biotério C, com objetivo de maior controle, as portas possuem janelas de vidro para visualização dos aparelhos de medição de temperatura e umidade que gravavam dados para posterior verificação. A redução da interferência humana promove melhores condições ambientais pela diminuição dos distúrbios que podem ser percebidos pelos animais, como odores, sons e movimentação. Estes, quando excessivos, podem interferir no BEA.

As gaiolas de manutenção são brancas e translúcidas, com dois tamanhos: de 18 cm de largura, 28 cm de comprimento e 12,5 cm altura com 504 cm<sup>2</sup> ou com 33 cm de largura, 40 cm de comprimento, 16,5 cm altura e 1320 cm<sup>2</sup>. Para impedir a saída dos animais é afixada uma grade móvel, na qual são depositados o alimento e as garrafas com água. Estas gaiolas podem prover aos animais o tamanho mínimo necessário para o conforto (CCAC 1993; NSW, 2004; KOOLHAAS, 2010; NAS, 2010) desde que a quantidade de animais por caixa seja controlada. Não existem ambientes alternativos ou outros recursos ambientais nas gaiolas. Ratos têm

preferência por ambientes nos quais haja maior disponibilidade e complexidade de recursos ambientais (DENNY, 1975). Em estudos com camundongos domésticos, a complexidade ambiental permitiu que as estruturas sociais se organizassem de forma mais adequada (GRAY; JENSEN; HURST, 2000). Ainda, nos biotérios estudados não havia abrigo para a proteção contra a luz ou outros animais. Camundongos tem alta motivação por abrigo (SHERWIN, 1996), sendo que a oferta de abrigo e material de ninho não altera a variabilidade em alguns parâmetros do sistema imune, peso e em no teste de campo aberto (BAUMANS, 2010). A oferta de locais onde estes animais possam se proteger da luz e de agressões aumenta a possibilidade de escolha pelo animal, que é um reconhecido fator de aumento de bem-estar (DAWKINS, 1990). A ausência de enriquecimento ambiental representa importante limitação para o bem-estar dos animais e suas causas devem ser investigadas, assim como itens de enriquecimento ambiental de alta viabilidade na rotina de biotérios.

Nos biotérios estudados eram utilizadas apenas luzes brancas para iluminação das salas durante o período de 12 horas. Ratos e camundongos são animais de hábitos noturnos, portanto o período de maior atividade ocorre no escuro. Desta forma, a luz branca, que indica o período diurno, promove menor atividade e maior descanso. Sem a existência de um ambiente de proteção contra a luz, estes animais podem sofrer com a intensidade luminosa durante o período de descanso (CCAC, 2003). Os roedores apresentam maior sensibilidade à luz que os seres humanos e uma intensidade de luz aparentemente confortável ao ser humano pode causar desconforto e danos, especialmente em roedores albinos (NAS, 2010) os quais são criados em todos os biotérios visitados. Apesar das evidências da luz ser danosa em ratos, este aspecto não é sempre considerado em experimentos (BURN; MASON, 2008). Camundongos e ratos são pouco sensíveis à luz ultravioleta e vermelha, portanto, abrigos de cor vermelha e translúcidos permitem que os animais protejam-se da luz branca, mantendo-os visíveis para a observação humana (BURN; MASON, 2008) e também servem de refúgio contra agressões (NSW, 2004). Tais abrigos estão disponíveis no mercado brasileiro e tem a mesma natureza dos equipamentos padrão dos biotérios, podendo ser esterilizados. Assim, embora haja possibilidade de fornecer à estes animais áreas mais seguras não foi verificado em nenhum local a sua utilização.

O substrato utilizado nos locais analisados é a maravalha de pinus que é colocada formando uma camada que forra o chão da caixa. O objetivo desta é facilitar a absorção da urina e fezes, mas também serve como leito para os animais. Não são disponibilizados outros materiais para ninho exceto a maravalha, que não é padronizada possuindo grande variação de tamanho de partícula em todos os biotérios analisados. Existem diferentes materiais que podem ser utilizados para absorver o acúmulo de fezes e urina nas gaiolas. No Brasil, a grande disponibilidade de maravalha de pinus faz com que a mesma seja utilizada pela maioria dos locais que mantêm animais cativos. A preferência pelo tipo de material utilizado como cama pode variar bastante nos roedores, não apenas em relação ao material, mas também a forma como este é apresentado (BLOM *et al.*, 1996; VAN DE WEERD *et al.*, 1997; BURN *et al.*, 2006; CCAC, 2003; ROSENBAUM; VANDEWOUDE; JOHNSON, 2009; NAS, 2010). Além disto, existem outras questões importantes como o desenvolvimento de doenças respiratórias devido ao tamanho das partículas (BURN *et al.*, 2006). Os roedores mostram grande interesse por materiais disponibilizados que sirvam de leito além da maravalha, principalmente quando são manipuláveis, como folhas de papel ou algodão (VAN DE WEERD *et al.*, 1997; VAN LOO *et al.*, 2002). Devido a menor produção de calor durante o período de descanso os animais precisam diminuir a perda de calor e isto pode ser feito diminuindo a superfície exposta a áreas mais frias de outras medidas comportamentais como curvar o corpo ou utilizar material de ninho (GASKILL, 2013).

Em todos os locais é realizado o monitoramento da umidade relativa do ar e da temperatura, com o controle da temperatura sendo mantido por aparelhos de ar condicionado. As temperaturas variaram de 21,2°C a 24,0°C e a umidade relativa do ar de 50,0% a 80,0% (TABELA 9). A temperatura e umidade ideais para ratos são de 20-25°C e 45-65% e para camundongos 22-25°C e 50-70% (CCAC, 2003; KOOLHAAS, 2010). A temperatura do microambiente é em parte controlada pelos animais, quando dispõem de material para ninho eles tem a possibilidade de organizar o ambiente de maneira que a temperatura esteja mais adequada para o seu conforto (GASKILL, 2013). Diversas linhagens de camundongos machos têm preferências por organizar os ninhos em locais de 23°C a 26°C e fêmeas em temperaturas mais quentes de até 29°C quando comparadas a temperatura de 20°C (GASKILL *et al.*, 2012). Portanto, mesmo sob as condições indicadas pela literatura, pode-se verificar que, para a formação de ninhos, os animais têm preferência por

ambientes mais quentes que aqueles nos laboratórios estudados. Medidas de enriquecimento com material de ninho podem possibilitar o melhor controle do microambiente pelos animais.

Não há monitoramento sonoro constante, tanto para sons audíveis ao ser humano (0,02 kHz – 20 kHz) quanto para ultrassons (acima de 20 kHz). No biotério 02, ocasionalmente são realizadas medições de decibéis quando algum fator externo ao biotério estiver interferindo, com subsequente acompanhamento do comportamento, taxa de sobrevivência e tamanho da prole. Roedores podem perceber frequências sonoras de 0,25 Hz a 80 kHz (KELLY; MASTERTON, 1976). O ambiente acústico nos laboratórios está associado às atividades de manutenção e o estresse potencial que podem causar é agravado pela predominância do silêncio na maior parte do tempo (MILLIGAN; SALES; KHIRNYKH, 1993). A movimentação de portas, cadeiras e gaiolas, a utilização de torneiras e aparelhos eletrônicos, além dos sons que podem ser percebidos pelos seres humanos, são também fontes de sons ultrassônicos (SALES *et al.*, 1988). Sons disruptivos causam maior perturbação que sons contínuos (INGLIS; MATHEWS; HUDSON, 2010). É necessário prestar atenção ao ambiente acústico, pois estes podem causar diversos efeitos no BEA, na fisiologia, no comportamento e também sobre o ciclo circadiano (MILLIGAN; SALES; KHIRNYKH, 1993). Assim, é preciso ter alto controle sobre tal variável, que pode interferir intensamente sobre o BEA, sendo por vezes imperceptível ao ser humano quando não há instrumentos para sua medição. Na impossibilidade de medição do referido parâmetro, a estratégia pode ser reduzir as possíveis fontes sonoras nos locais de manutenção.

Em todos os locais visitados, os filhotes são mantidos com as mães até o desmame independentemente da quantidade de animais que são mantidos juntos. Desta forma, devido ao tamanho indefinido da ninhada, pode ocorrer aglomeração excessiva e lotação inadequada. As recomendações para camundongos variam de 180 cm<sup>2</sup>/filhote mais 300 cm<sup>2</sup> para a mãe e 160-330 cm<sup>2</sup> para filhotes e mãe (CCAC, 2003; BAUMANS, 2010; NAS, 2010).

TABELA 9 - TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA MEDIDAS DURANTE AS VISITAS E FOTO PERÍODO UTILIZADO NA MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS COM A INDICAÇÃO DOS PARÂMETROS IDEAIS PARA RATOS E NOS ANIMAIS DOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Biotério	Temperatura	Umidade Relativa	Ciclo diurno-noturno
A (camundongos)	21,2°C	59,7	12h
B (camundongos)	21,8°C	80,0	12h
C (ratos)	23,0°C	55,5	12h
D (ratos)	24,0°C	50,0	12h
Ratos (ideal*)	20-25°C	45-65	12h
Camundongos (ideal*)	22-25°C	50-70	12h

\*Segundo CCAC, 2003 e KOOLHAAS, 2010.

No biotério A, os camundongos adultos são mantidos nas gaiolas maiores em grupos de até 40 animais e 33 cm<sup>2</sup>/animal, separados por sexo. Os ratos são mantidos em grupos de quatro a cinco animais adultos por caixa, com 264 a 330 cm<sup>2</sup>/animal. A sala sorteada para diagnóstico completo possuía uma caixa com 33 camundongos com disponibilidade de 40 cm<sup>2</sup>/adulto e uma caixa com 40 camundongos com densidade de lotação de 33 cm<sup>2</sup>/adulto (TABELA 10). Foi verificada aglomeração dos animais em ambas as gaiolas, com intensa disputa de espaço. O excesso de animais provocou o acúmulo acentuado de fezes e urina na maravalha, que estava compacta e com forte odor de amônia. A disponibilidade de espaço por animal sob estas condições está abaixo do recomendado (CCAC, 2003; NSW, 2004; BAUMANS, 2010; NAS, 2010), podendo caracterizar um ponto crítico de BEA. No biotério B os camundongos adultos são mantidos prioritariamente em grupos de dois (252 cm<sup>2</sup>/animal) a três (168 cm<sup>2</sup>/animal) animais (TABELA 10). Os ratos são mantidos em grupos de até cinco animais por caixa e até 264 cm<sup>2</sup>/adulto. A sala analisada continha camundongos sob a lotação de 60 cm<sup>2</sup>/adulto a 1320 cm<sup>2</sup>/adulto. Foi verificada aglomeração dos animais nas gaiolas contendo 15 e 22 animais com lotação de 60 e 88 cm<sup>2</sup>/adulto, respectivamente. Nestas duas gaiolas a disponibilidade de espaço estava inadequada para o alojamento dos animais (CCAC, 2003; NSW, 2004; BAUMANS, 2010; NAS, 2010). Nas outras lotações não foram notadas densidades inadequadas. No biotério C os ratos adultos são mantidos em grupos de dois e quatro animais por caixa com lotação de 330 e 660 cm<sup>2</sup>/adulto apenas em gaiolas de 1320 cm<sup>2</sup> (TABELA 10). Não foram verificados ruídos não contínuos, no entanto, está sendo realizada a construção de um prédio a cerca de cinco metros de distância da sala dos animais. Foi relatado pelos estagiários que no

início das obras houve diminuição no número de filhotes nascidos, porém isto não mais ocorre. O barulho de construções pode diminuir a eficiência reprodutiva, diminuindo os nascimentos e aumentando a taxa de natimortos (RASMUSSEN *et al.*, 2009). A baixa densidade de lotação não provocou grande acumulação de fezes e sujeira na maravalha das gaiolas, inclusive em caixas que estavam há cinco dias sem limpeza. No biotério D os ratos são mantidos prioritariamente em grupos de dois com lotação de 660 cm<sup>2</sup>/adulto em gaiolas de 1320 cm<sup>2</sup> e não foi verificada aglomeração de animais.

TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS DAS CAIXAS DE MANUTENÇÃO DOS CAMUNDONGOS E RATOS DOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS, EM 2012.

Biotério	Espécie	Quantidade de caixas	Animais na caixa	Espaço (cm <sup>2</sup> /adulto)	Espaço recomendado* (cm <sup>2</sup> /adulto)
A	Camundongos	1	40	33**	80-100
	Camundongos	1	33	40**	80-100
	Ratos	-	-	264-330	148-300
	Camundongos	10	1	504	330
B	Camundongos	31	2	252	38,7-80
	Camundongos	30	3	168	38,7-80
	Camundongos	25	4	126	38,7-80
	Camundongos	1	15	88	51,6-80
	Camundongos	3	20	60**	77,4-80
	Ratos	-	-	264	150-300
	Ratos	50	2	660	150-300
C	Ratos	5	4	330	150-300
	Ratos	1	1	660	330
D	Ratos	34	2	330	150-300

\* CCAC, 2003; NSW, 2004; BAUMANS, 2010; NAS, 2010.

\*\* Espaço disponível em desacordo com o indicado

Nos biotérios A e B foram encontradas lotações inadequadas, com alta aglomeração de animais. Os camundongos são proporcionalmente os animais com menor espaço recomendado por guias de manutenção de animais (HACKBARTH, 2012). Embora, como verificado neste estudo, haja variação das densidades de lotação e na maioria dos casos analisados os animais possuíam espaço superior ao recomendado.

### 3.3.4 Liberdade Comportamental

Durante as visitas observou-se que os camundongos realizavam principalmente comportamentos exploratórios de se direcionar para fora da caixa e farejar o substrato e os ratos agiam com menor agitação. Em cada sala eram mantidos apenas animais da mesma espécie, havendo contato físico, visual e olfativo intraespecíficos. Os animais de sexos opostos permanecem em contato apenas quando jovens ou quando são mantidos para formação de casais.

Nenhum comportamento estereotípico foi presenciado, mas as fêmeas de camundongos do biotério A movimentavam-se com alta frequência penduradas à grade das gaiolas. Nos casos em que há comportamentos estereotípicos, o enriquecimento ambiental pode reduzir sua ocorrência (GROSS *et al.*, 2012). A utilização de EA logo após o desmame reduz a ocorrência de estereotípias e os efeitos foram mantidos mesmo quando os animais foram mantidos sem EA (JONES; MASON; PILLAY, 2011). Para um melhor diagnóstico de estereotípias seriam necessárias mais observações dos indivíduos, visto que estes comportamentos são comumente desenvolvidos em animais de laboratório mantidos com ou sem EA (GROSS *et al.*, 2012).

Animais são mantidos isolados nos biotérios B e D, no entanto, roedores são animais de convívio social gregário (LACEY; SHERMAN, 2007) e, em isolamento, social podem desenvolver distúrbios comportamentais (ARAKAWA, 2005). Camundongos preferem a companhia de outros indivíduos ao isolamento, independente da posição hierárquica no grupo (VAN LOO *et al.*, 2004). Estar próximo de outros indivíduos permite que o grupo tenha melhores condições de regular a temperatura do microambiente (GASKILL *et al.*, 2012). Quando por algum motivo há necessidade de manter um animal em isolamento social, pode-se utilizar material de ninho para desencadear os comportamentos relacionados ao descanso aumentando a sensação de segurança (VAN LOO *et al.*, 2004) e promover o controle térmico adequado (GASKILL, 2013).

Durante as visitas foram presenciados alguns comportamentos agonísticos entre os camundongos nos biotérios A e B. Houve intensa movimentação no substrato e na grade de contenção com vocalizações de características agonísticas e movimentação agressiva. A formação dos grupos deve ser monitorada para que sejam mantidos de forma a serem estáveis. O ideal de agrupamento para

camundongos é de três indivíduos por caixa devido à diminuição nos comportamentos agressivos e melhor estabilidade social (VAN LOO; VAN ZUTPHEN; BAUMANS, 2003). Grupos de animais com estruturas sociais instáveis ou inapropriadas podem afetar negativamente o comportamento, o sistema endócrino e imune dos animais (OLSSON; WESTLUND, 2007) e aumento na ocorrência de agressões (HURST; FANG; BARNARD, 1993). Quando as agressões ocorrem após a troca de material, a simples transferência de parte da maravalha suja aumenta a agressividade em camundongos (GRAY; HURST, 1995; VAN LOO *et al.*, 2000). No entanto, quando os animais dispõem de material para ninho, a transferência de parte deste material para a caixa limpa aumenta a latência e diminui a ocorrência de comportamentos agressivos (VAN LOO *et al.*, 2000). A adoção dos itens de enriquecimento e, principalmente material para ninho, podem reduzir parâmetros comportamentais que indicam baixos níveis de BEA e melhorar a qualidade de vida dos animais.

O ambiente em que os animais foram encontrados foi considerado pobre, pois não há qualquer estrutura além da básica para a manutenção dos animais. A falta de itens no ambiente em que os animais são mantidos não permite amplo repertório comportamental. O enriquecimento ambiental é um princípio que visa melhorar a qualidade de vida de animais cativos, aumentando a amplitude e diversidade de oportunidades comportamentais provendo ambientes estimulantes e complexos (SHEPHERDSON, 1998). Sua utilização promove comportamentos exploratórios e atividades gerais (MARASHI; BARNEKOW; SACHSER, 2004). A construção de ninhos são comportamentos naturais de camundongos e ratos, sendo os objetos manipuláveis melhores para camundongos enquanto um abrigo sólido tem maior prioridade para ratos (BAUMANS *et al.*, 2007). Quando o EA faz parte da manutenção não diminui a precisão e reprodutibilidade dos estudos apresentando menor variância em testes comportamentais (WÜRBEL, 2007; BAUMANS 2010). Na presença de EA é possível que ocorra diminuição ou aumento de comportamentos agressivos entre os animais (VAN DER MEER; VAN LOO; BAUMANS, 2004) sendo a linhagem e outras condições da gaiola determinantes para as consequências comportamentais (MARASHI; BARNEKOW; SACHSER, 2004).

### 3.3.5 Liberdade Psicológica

Os animais não demonstraram comportamentos de esquiva ou agressividade anormais durante a manipulação pelos funcionários. Mostraram-se alertas com a proximidade dos seres humanos realizando comportamentos exploratórios. Nos biotérios A e B foram encontradas gaiolas com quantidade superior de animais por gaiola, e nos biotérios B e D animais foram mantidos isolados. Estes dados sugerem que pode haver sofrimento físico e psicológico nos animais.

Nos biotérios A, B e C a eutanásia é realizada em câmara de CO<sup>2</sup> e no biotério D a eutanásia é realizada por decapitação com guilhotina (TABELA 11). Em todos os casos não são administradas medicações para a prevenção da dor durante a eutanásia. Segundo a legislação brasileira, a forma recomendada é a utilização de anestesia geral prévia com barbitúricos ou outros anestésicos injetáveis ou inalatórios seguidos de procedimento para assegurar a morte. A utilização de nitrogênio, argônio, dióxido de carbono, T61 (anestésico, paralisante muscular e inibidor da respiração), deslocamento cervical e decapitação por guilhotina são aceitos sob restrição (BRASIL, 2012). Embora estes sejam os procedimentos indicados, ratos agem aversivamente na presença de argônio, monóxido de carbono e dióxido de carbono (NIEL; WEARY, 2007; MAKOWSKA *et al.*, 2009), sendo necessário buscar outras formas de eutanásia. A eutanásia por decapitação é aconselhada apenas em animais pequenos (WOLFENSOHN, 2010), no entanto, a forma de contenção deve ser considerada, pois pode causar grande estresse e medo antes da eutanásia (CCAC, 1993). Para animais jovens de 0 a 10 dias de vida, a utilização de anestésicos inalatórios não é indicada, devido a pouca sensibilidade destes animais (PRITCHETT *et al.*, 2005; PRITCHETT-CORNING, 2009). O procedimento de eutanásia é um dos principais momentos em que os animais podem vir a vivenciar dor e sofrimento quando for realizado de forma inadequada. Os procedimentos de manejo induzem mudanças significativas nos parâmetros fisiológicos, gerando medo, estresse e distresse, constituindo parte integrante da rotina laboratorial e podendo influenciar substancialmente o BEA e os resultados das pesquisas (BALCOMBE; BARNARD; SANDUSKY, 2004).

TABELA 11 - PROCEDIMENTOS DE EUTANÁSIA E MÉTODO DE PREVENÇÃO À DOR REALIZADOS NOS QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Biotério	Procedimento de eutanásia	Prevenção de dor
A	Câmara de CO <sup>2</sup>	-
B	Câmara de CO <sup>2</sup>	-
C	Câmara de CO <sup>2</sup>	-
D	Decapitação por guilhotina	-

### 3.3.6 Diagnóstico de BEA Final

A liberdade nutricional dos animais foi considerada moderadamente respeitada nos biotérios A, B e D, pois há possibilidade de excesso de alimentação (FIGURA 3). No biotério C foi indicada como completamente respeitada devido ao controle diário de alimento disponibilizado para cada animal.

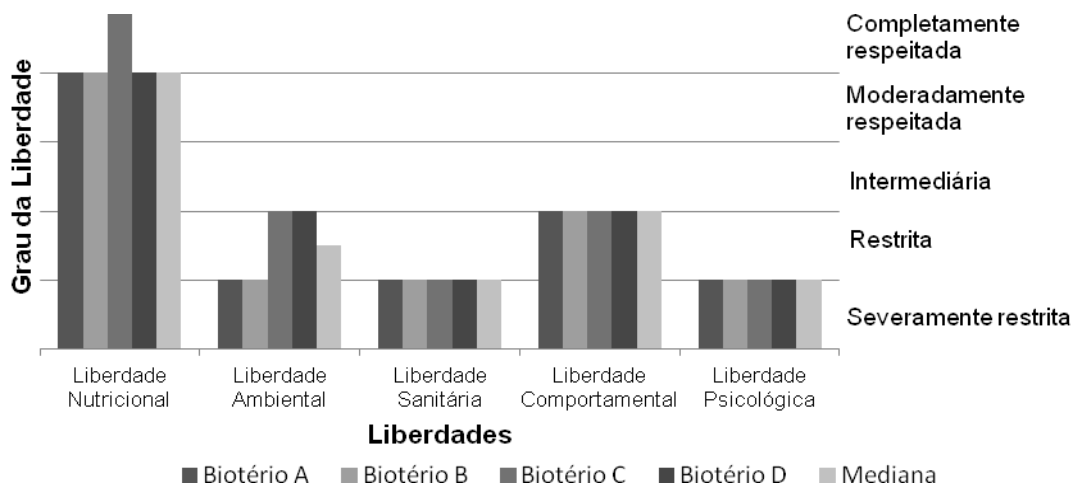


FIGURA 3 -. RESUMO DO DIAGNÓSTICO DAS CINCO LIBERDADES DO BEA DE QUATRO BIOTÉRIOS DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO DO ESTADO DO PARANÁ VISITADOS EM 2012.

Em todos os biotérios analisados a liberdade sanitária foi considerada severamente restrita (FIGURA 3). O principal fator para este resultado foi a falta do controle e tratamento da dor nos animais. Tal tratamento não é oferecido aos animais que possuem ferimentos ou indícios de doenças e também em momentos críticos como a eutanásia. Apesar dos biotérios analisados estarem nivelados nesta liberdade, a porcentagem de animais com problemas sanitários no biotério A foi maior em relação aos outros biotérios (TABELA 8). Há grande preocupação com a

diminuição do fluxo de pessoas nos biotérios e aqueles que estão em contato com os animais necessitam utilizar EPIs. Os procedimentos sanitários realizados nos biotérios A e B não incluem a esterilização por autoclave em nenhum dos equipamentos. No biotério C há esterilização das garrafas, maravalha e água, enquanto as caixas são limpas com desinfetante, enquanto no biotério D, todos os materiais básicos são esterilizados (TABELA 7). Apesar destas medidas não serem obrigatórias, quanto melhor as chances de evitar contaminações melhor será o BEA dos animais e dos funcionários.

Nos biotérios A e B a liberdade ambiental foi considerada severamente restrita e nos biotérios C e D foi considerada restrita (FIGURA 3). As principais diferenças entre A e B foram as densidades de lotação e temperaturas inadequadas (TABELAS 9 E 10). Ainda, no biotério A, foi encontrado grande acúmulo de sujeira nas caixas e no biotério B a umidade relativa do ar estava superior ao ideal. A utilização de itens de EA foi nula em todos os biotérios. Nenhum material para ninho, abrigo ou outro recurso além do substrato de maravalha foi providenciado aos animais. Esta liberdade pode sofrer alterações pela utilização de elementos já conhecidos na literatura como benéficos aos animais e sem causar problemas quanto à validade dos estudos. Providenciando abrigo e material de ninho ao ambiente é possível melhorar o grau de BEA mantendo a validade dos estudos.

A liberdade comportamental foi considerada restrita em todos os locais analisados (FIGURA 3). Diversos comportamentos são impossibilitados nos animais cativos. Os ambientes pouco complexos não permitem a realização plena dos comportamentos, como a formação de casais e do grupo social, a montagem de ninhos e ações como fuga e forrageio. Muitos comportamentos podem ser desenvolvidos pelos animais quando são disponibilizados itens de EA.

Os parâmetros da liberdade psicológica são influenciados pelas outras liberdades. Por este motivo na presença de alguma liberdade severamente restrita esta liberdade também foi considerada severamente restrita. Ainda, a grande probabilidade de sofrimento animal em todos os locais visitados decorrente, principalmente, dos procedimentos de eutanásia (TABELA 11) também colaborou para a liberdade psicológica estar severamente restrita (FIGURA 3).

As principais questões relacionadas à diminuição do BEA nos biotérios analisados foram a falta de tratamento médico, os procedimentos de eutanásia sem anestesia prévia e a falta de EA. Em decorrência dos dois primeiros os animais

podem vivenciar experiências de sofrimento, enquanto a falta de EA do ambiente diminui as possibilidades dos animais utilizarem os recursos disponíveis para se adaptarem e atingirem condições ideais de conforto. Os ambientes pouco complexos, ainda, não permitem vasto repertório comportamental. Estes são pontos críticos passíveis de atuação, com o emprego de medidas de EA para aumentar o conforto, e, principalmente, providenciando cuidados relacionados ao controle da dor e sofrimento durante a eutanásia.

### 3.4 CONCLUSÃO

Parâmetros ambientais importantes para o BEA e para a condição geral dos animais não são monitorados nos biotérios. A liberdade sanitária foi severamente restrita em todos os locais devido a inexistência de tratamento da dor ou prevenção desta no caso da eutanásia. Itens de EA não são utilizados em nenhum dos locais visitados, tais itens podem colaborar para o desenvolvimento de diversos comportamentos naturais e melhorar as condições de conforto. A presença de restrições severas em quatro liberdades promoveu restrições psicológicas aos animais. A atuação direta nos pontos críticos verificados pode ser uma ferramenta valiosa para induzir melhorias significativas no BEA de animais de laboratório no Brasil.

### REFERÊNCIAS

AINSWORTH, C. Scientists share thoughts on animal research. **Nature**, London, 2006. Disponível em: <<http://www.nature.com/news/2006/061211/full/news061211-9.html>>. Acesso em: 18/04/2012.

ARAKAWA, H. Interaction between isolation rearing and social development on exploratory behavior in male rats. **Behavioural Processes**, Amsterdam, v. 70, p. 223-234, 2005.

NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Guidelines to promote the wellbeing of animals used for scientific purposes: The**

**assessment and alleviation of pain and distress in research animals.** Camberra, ACT, AU: National Health and Medical Research Council, 2008.

BALCOMBE, J. P.; BARNARD, N. D.; SANDUSKY, C. Laboratory Routines Cause Animal Stress. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 43, n. 6, p. 42-51, 2004.

BAUMANS, V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals. **Revue scientifique et technique de L Office international Des Epizooties**, Paris, v. 24, n. 2, p. 503-514, 2005.

BAUMANS, V.; COKE, C.; GREEN, J.; MOREAU, E.; MORTON, D.; PATTERSON-KANE, E.; REINHARDT, A.; REINHARDT, V.; VAN LOO, P. L. P (Ed.). **Making lives easier for animals in research labs: Discussions by the laboratory Animal Refinement & Enrichment Forum.** Washington: Animal Welfare Institute, 2007.

BAUMANS, V. The laboratory mouse. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals.** Oxford, UK: Blackwell, 2010. p. 276-310.

BLOM, H. J. M.; VAN TINTELEN, G.; VAN VORSTENBOSCH, C. J. A. H. V.; BAUMANS, V.; BEYNEN, A. C. Preferences of mice and rats for types of bedding material. **Laboratory Animals**, London, v. 30, p. 234-244, 1996.

BRASIL. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Resolução Normativa n. 2, de 27 de novembro de 2006. **Diário oficial da União**, Brasília, DF, 28 nov. 2006.

BRASIL. Conselho Federal Medicina Veterinária. Resolução n.1000 de 11 de maio de 2012. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 maio 2012.

BURN, C. C.; PETERS, A.; DAY, M. J.; MASON, G. J. Long-term effects of cage-cleaning frequency and bedding type on laboratory rat health, welfare, and handleability: a cross-laboratory study. **Laboratory Animals**, London, v. 40, p. 353-370, 2006.

BURN, C. C.; MASON, G. J. Effects of cage-cleaning frequency on laboratory rat reproduction, cannibalism, and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 114, p. 235-247, 2008.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (CCAC). **Guide to the care and use of experimental animals**. Ottawa: CCAC, 1993.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (CCAC). **Guidelines on: laboratory animal facilities – characteristics, design and development**. Ottawa: CCAC, 2003.

DAMY, S. B.; MATTARAIA, V. G. M. Aspectos estruturais para biotérios de produção e biotérios de experimentação. In: OLIVEIRA, G. M.; MATTARAIA, V. G. M. (Ed.). **Comportamento de Camundongos em biotério**. São Paulo: SBCAL, 2012. p. 31-54.

DAWKINS, M. S. From an animal's point of view: motivation, fitness and animal welfare. **Behavioural and Brain Sciences**, Amsterdam. v. 13, n.1, p. 1-9, 1990.

DENNY, M. S. The rat's long-term preference for complexity in its environment. **Animal Learning & Behavior**, New York, v. 3, n. 3, p. 245-249, 1975.

COMISSÃO EUROPEIA (CE). **Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 february 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products**. Bruxelas: CE, 2003.

COMISSÃO EUROPEIA (CE). **Timetables for the phasin-out animal testing in the framework of the 7<sup>th</sup> amendment to the cosmetic directive**. Bruxelas: CE, 2004.

COMISSÃO EUROPEIA (CE). **Sixth Report on the Statistics on the Number of Animals used for Experimental and other Scientific Purposes in the Member States of the European Union**. Bruxelas: CE, 2010.

COMISSÃO EUROPEIA (CE). Report from the commission to the European Parliament and Council. **Report on the development, validation and legal acceptance of alternative methods to animal tests in the field of cosmetics (2009)**. Bruxelas: CE, 2011.

FAITH R, E.; HUERKAMP, M. J. Environmental considerations for research animals. In: HESSLER, J. R.; LEHNER, N. D. M. (Ed.). **Planing and Designing Research Animal Facilities**. San Diego, CA: Academic Press, 2009. p. 59-83.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL (FAWC). **Farm Animal Welfare Council: Report on priorities for animal welfare research and development**, London, UK: FAWC, 1993.

GASKILL, B. N.; GORDON, C. J.; PAJOR, E. A.; LUCAS, J. R.; DAVIS, J. K.; GARNER, J. P. Heat or insulation: behavioral titration of mouse preference for warmth or access to a nest. **PL o S ONE**, The Hague, v. 7, n. 3, p. 1-11, 2012.

GASKILL, B. N. The naked truth: breeding performance in nude mice with and without nesting material. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 143, p. 110-116, 2013.

GOTO, S.; TAKAHASHI, R.; RADAK, Z.; SHARMA, R. Beneficial biochemical outcomes of late-onset dietary restriction in rodents. **Annals of the New York Academy of Sciences**, Hoboken, v. 1100, p. 431-441, 2007.

GRAY, S.; HURST, J. L. The effects of cage cleaning on aggression within groups of male laboratory mice. **Animal Behaviour**, London, v. 49, p. 821-826, 1995.

GRAY, S.; JENSEN, S. P.; HURST, J. L. Structural complexity of territories: preference, use of space and defence in commensal house mice, *Mus domesticus*. **Animal Behaviour**, London, v. 60, p. 765-772, 2000.

GROSS, A. N.; RICHTER, S. H.; ENGEL, A. K. J.; WÜRBEL, H. Cage induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 234, n. 1, p. 61-68, 2012.

HACKBARTH, H. **Environmental improvement because not every enrichment makes sense**. In: LABORATORY ANIMAL SCIENCE BIOCONFERENCE LIVE, Altromin, 2012.

HAMMERSCHMIDT, J. **Desenvolvimento e aplicação de perícia de bem-estar animal**. 145 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

HOLGATE, B. Planning, design and construction of efficient animal facilities. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford, UK: Blackwell , 2010. p. 124-135.

HURST, J. L.; FANG, J.; BARNARD, C. J. The role of substrate odours in maintaining social tolerance between male house mice, *Mus musculus domesticus*. **Animal Behaviour**, London, v. 45, p. 997-1006, 1993.

INGLIS, I. R.; MATHEWS, F.; HUDSON, A. Wild mammals. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford, UK: Blackwell, 2010. p. 246-262.

JONES, M. A.; MASON, G.; PILLAY, N. Early environmental enrichment protects captive-born striped mice against the later development of stereotypic behaviour. **Applied animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 135, p. 138-145, 2011.

KALISTE, E.; MERING, S. The welfare of laboratory rats. In: KALISTE, E. (Ed.). **The welfare of laboratory animals**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 15-22.

KELLY, J. B., MASTERTON, B. Auditory sensitivity of the albino rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, Washington, DC, v. 91, n. 4, p. 930-936, 1976.

KOOLHAAS, J. M. The laboratory rat. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford, UK: Blackwell, 2010. p. 311-326.

LACEY, E. A.; SHERMAN, P. W. The ecology of sociality in rodents. In: WOLFF, J. O.; SHERMAN, P. W. (Ed.). **Rodents Societies: An Ecological & Evolutionary Perspective**. Chicago: University of Chicago, 2007. p. 243-254.

MARASHI, V.; BARNEKOW, A.; SACHSER, N. Effects of environmental enrichment on males of docile inbred strain of mice. **Physiology & Behavior**, Philadelphia, v. 82, p. 765-776, 2004.

MAKOWSKA, I. J.; VICKERS, L.; MANCELL, J.; WEARY, D. M. Evaluating methods of gas eutanásia for laboratory mice. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 121, p. 230-235, 2009.

MILLIGAN, S. R.; SALES, G. D.; KHIRNYKH, K. Sound levels in rooms housing laboratory animals: an uncontrolled daily variable. **Physiology & Behavior**, Philadelphia, v. 55, p. 1067-1076, 1993.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS). **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. 8. ed. Washington: National Academies, 2010.

NICKLAS, W. Infections in laboratory animals: Importance and control. In: KALISTE, E. (Ed). **The welfare of laboratory animals**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 23-37.

NEVALAINEN, T. Research, animals and welfare: Regulations, alternatives and guidelines. In: KALISTE, E. (Ed.). **The welfare of laboratory animals**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 15-22.

NIEL, L., WEARY, D. M. Rats avoid exposure to carbon dioxide and argon. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 107, p. 100-109, 2007.

NEW SOUTH WALES AGRICULTURE ANIMAL RESEARCH REVIEW PANEL (NSW). Guidelines for the Housing of Rats in Scientific Institutions. **Guideline 20**. 2004. Disponível em: <<http://www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/livestock/animal-welfare/researchteaching/factsheets/aw-fact14>>. Acesso em: 15/10/2012.

OLSSON, I. A. S.; WESTLUND, K. More than numbers matter: the effect of social factors on behavior and welfare of laboratory rodents and non-human primates. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 103, p. 229-254, 2007.

PRITCHETT, K.; CORROW, D.; STOCKWELL, J.; SMITH, A. Euthanasia of neonatal mice with carbon dioxide. **Comparative Medicine**, Memphis, v. 55, n. 3, p. 275-281, 2005.

PRITCHETT-CORNING, K. R. Euthanasia of neonatal rats with carbon dioxide. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 48, n. 1, p. 23-27, 2009.

RASMUSSEN, S.; GLICKMAN, G.; NORINSKY, R.; QUIMBY, F. W.; TOLWANI, R. J. Construction noise decreases reproductive efficiency in mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 48, n. 4, p. 363-370, 2009.

ROE, F. J. C.; LEE, P. N.; CONYBEARE, G.; KELLY, D.; MATTER, B.; PRENTICE, D.; TOBIN, G. The Biosure Study: Influence of composition of diet and food consumption on longevity, degenerative diseases and neoplasia in wistar rats studied for up to 30 months post weaning. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 33, p. 1S-100S, 1995.

ROSENBAUM, M. D.; VANDEWOUDE, S.; JOHNSON, T. E. Effects of cage-change frequency and bedding volume on mice and their environment. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 48, n. 6, p. 763-773, 2009.

SALES, G. D.; WILSON, K. L.; SPENCER, K. E. V.; MILLIGAN, S. R. Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the welfare and use of laboratory animals. **Laboratory Animals**, London, v. 22, p. 369-375, 1988.

SINGER, P. **Ética Prática**. São Paulo: Martins Fontes, 1993.

SHEPHERDSON, D. J. Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In: SHEPHERDSON, D. J.; MELLEEN, J. D.; HUTCHINS, M. (Ed.). **Second Nature: environmental enrichment for captive animals**. California: Smithsonian Books, 1998. p. 1 -12.

SHERWIN, C. M. Laboratory mice persist in gaining access to resources: a method of assessing the importance of environmental features. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 49, p. 203-214, 1996.

SOREIO, M. N. C.; BORBA, C. M.; OLIVEIRA, G. M.; PEREIRA, M. E. C. A biossegurança na experimentação animal. In: OLIVEIRA, G. M.; MATTARAIA, V. G. M. (Ed.). **Comportamento de Camundongos em biotério**. São Paulo: SBCAL, 2012. p. 123-136.

TAYLOR, K.; GORDON, N.; LANGLEY, G.; HIGGINS, W. Estimates for worldwide laboratory animal use in 2005. **Alternatives to Laboratory Animals – ATLA**, Nottingham, v. 36, p. 327-342, 2008.

UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE (UFAW). **The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals**. 8. ed. Wheathampstead: Blackwell, 2010.

VAN DER MEER, E.; VAN LOO, P. L. P.; BAUMANS, V. Short-term effects of a disturbed light-dark cycle and environmental enrichment on aggression and stress-related parameters in male mice. **Laboratory Animals**, London, v. 38, p. 376-383, 2004.

VAN DE WEERD, H. A.; VAN LOO, P. L. P.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; KOOLHAAS, J. M.; BAUMANS, V. Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. **Laboratory Animals**, London, v. 31, p. 133-143, 1997.

VAN LOO, P. L. P.; KRUITWAGEN, C. L. J. J.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; KOOLHAAS, J. M.; BAUMANS, V. Modulation of aggression in male mice. **Animal Welfare**, St Albans, v. 9, p. 281-295, 2000.

VAN LOO, P. L. P.; KRUITWAGEN, C. L. J. J.; KOOLHAAS, J. M.; VAN DE WEERD, H. A.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; BAUMANS, V. Influence of cage enrichment on aggressive behaviour and physiological parameters in male mice. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 76, p. 65-81, 2002.

VAN LOO, P. L. P.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; BAUMANS, V. Male management: coping with aggression problems in male laboratory mice. **Laboratory Animals**, London, v. 37, p. 300-313, 2003.

VAN LOO, P. L. P.; BLOM, H. J. M.; MEIJER, M. K.; BAUMANS, V. Assessment of the use of two commercially available environmental enrichments by laboratory mice by preference testing. **Laboratory Animals**, London, v. 39, p. 58-67, 2004.

WOLFENSOHN, S. Euthanasia and other fates for laboratory animals. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford, UK: Blackwell, 2010. p. 219-226.

WÜRBEL, H. Environmental enrichment does not disrupt standardization of animal experiments. **ALTEX Alternatives to Animal Experimentation**, Heidelberg, v. 24, p. 70-73, 2007.

Os camundongos são a forma de vida  
mais inteligente na Terra ao contrário do  
que os seres humanos pensam

Douglas Adams

#### 4 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM CAMUNDONGOS NO PERÍODO PRÉ-NATAL AO DESMAME E NO PERÍODO PÓS-DESMAME.

##### RESUMO

As pesquisas desenvolvidas em seres vivos não humanos são, na maioria dos casos, realizadas em ratos e camundongos. A utilização do enriquecimento ambiental (EA) visa melhorias nas condições de manejo e manutenção dos animais. O objetivo desta pesquisa foi verificar os efeitos do EA de alta viabilidade sobre indicadores comportamentais em camundongos de biotérios no período pré-natal até o desmame e no período pós-desmame. Para este estudo foram criados, na primeira etapa do projeto, 36 camundongos machos da linhagem BALB/C, 18 criados em condições de EA do pré-natal ao desmame e 18 criados sem EA. Na segunda etapa os animais foram distribuídos em quatro grupos: (SS) sem EA pré-natal-desmame/ sem EA pós-desmame; (SE) sem EA pré-natal-desmame/ com EA pós-desmame; (ES) com EA pré-natal-desmame/ sem EA pós-desmame e; (EE) com EA pré-natal-desmame/ com EA pós-desmame. Foram realizadas filmagens logo após a limpeza e o fornecimento dos itens de EA e testes comportamentais ao final do experimento. Animais com EA realizaram mais comportamentos exploratórios ( $p=0,001$ ) e menos comportamentos de auto-cuidado ( $p=0,000$ ). Animais do grupo ES desenvolveram mais comportamentos agonísticos que os animais SS ( $p=0,008$ ), SE ( $p=0,000$ ) e EE ( $p=0,000$ ). O estudo dos efeitos do EA por meio do acompanhamento da rotina mostrou-se eficaz na verificação de diferenças não evidenciadas em testes clássicos de comportamento. A implementação dos itens de EA estudados favoreceram a expressão de comportamentos que promovem mais alto grau de bem-estar para camundongos de biotério.

Palavras-chave: Enriquecimento ambiental. Bem-estar animal. Comportamento Agonístico. Exploratório. Auto-cuidado.

##### ABSTRACT

The conducted researches in non-human living beings are in most cases performed in rats and mices. The use of environmental enrichment (EE) seeks to enhance the conditions of captive animals. The objective of this research was to verify the effects of high viability EE itens on behavioral indicators in mices of animal breeding facilities during the prenatal to weaning and post-weaning periods. For this study were bred in the first stage of the project 36 male BALB/C mices, 18 under EE conditions from prenatal to weaning and 18 without EE. In the second stage the animals were divided into four groups: (SS) without prenatal-weaning EE / without postweaning EE; (SE) without prenatal-weaning EE / with post-weaning EE; (ES) with prenatal-weaning EE / without postweaning EE and (EE) with prenatal-weaning EE / with post-weaning EE. Filming was carried out immediately after cleaning and supply of the EE itens and behavioral tests were carried out in the end of the experiment. Animals with EE

performed more exploratory behaviors ( $p = 0,001$ ) and groomig behaviors ( $p = 0,000$ ). ES animals developed more agonistic behaviors than animals from SS ( $p = 0,008$ ), SE ( $p = 0,000$ ) and EE ( $p = 0,000$ ). The study of the effects of EE through routine monitoring was effective in verifying differences not evidents in classical behavior tests. The use of studied EE items improved the expression of behaviors that promote animal welfare of mices from animal breeding facilities.

Key-words: Environmental Enrichment. Animal Welfare. Animal Behavior. Behavioral tests.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

Os roedores apresentam um papel importante para humanidade. As pesquisas desenvolvidas em seres vivos não humanos são, na maioria dos casos, realizadas em ratos e camundongos (BAUMANS, 2005; CE, 2010; AINSWORTH, 2006). Ainda que seja crescente a preocupação com a substituição de seres sencientes por outras metodologias experimentais, os animais são amplamente utilizados. Desta forma, faz-se necessária a melhoria das condições de bem-estar animal (BEA) destes indivíduos que são mantidos em cativeiro para a realização de estudos experimentais.

Para que um experimento tenha validade científica, há necessidade de controle de procedimentos, materiais e animais que são utilizados (FAITH; HUERKAMP, 2009). Para tal, as condições de manutenção dos animais são padronizadas, visando manter os critérios de replicabilidade e confiança na pesquisa. Em conjunto, é necessário que o ambiente dos laboratórios acomode as necessidades comportamentais e fisiológicas destes animais (BAUMANS, 2005), satisfazendo assim, nossas obrigações éticas com os animais. A fim de melhorar a qualidade de vida dos animais cativos, pode-se utilizar o enriquecimento ambiental (EA) que visa melhorar o ambiente em que os animais são mantidos aumentando as chances de atividade e possibilitando maior amplitude comportamental (NEWBERRY, 1995). Além de oferecer um ambiente mais complexo, o EA pode promover melhores condições de BEA por proporcionando melhorias significativas em diferentes aspectos como na saúde física, psicológica e no conforto.

O EA pode trazer benefícios nas funções cognitivas, imunes, sociais e em outros indicadores (YOUNG, 2003). No entanto, é necessária atenção para verificar se há aumento na variabilidade dos dados (HACKBARTH, 2012). A presença ou ausência do EA reflete nos resultados indicando a importância de conhecer previamente a sua relação com os indicadores que serão analisados para que a pesquisa seja bem delineada. Os recursos que promovem maior motivação são prioritários quando se visa o fornecimento de estímulos (DAWKINS, 1990), assim o animal tem a possibilidade de uma melhor qualidade de vida.

O objetivo desta pesquisa foi verificar os efeitos do EA de alta viabilidade em camundongos de biotérios no período pré-natal até o desmame e no período pós-desmame sobre indicadores comportamentais selecionados, oriundos da observação da rotina dos animais, e em testes comportamentais selecionados.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado sob o protocolo no. 19/2011 pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (APÊNDICE H). Para este estudo foram utilizados 36 camundongos machos da linhagem BALB/C criados no Biotério da Universidade Positivo, em Curitiba/PR. O experimento foi realizado em uma das salas do biotério, na qual apenas esta pesquisa era desenvolvida no período do dia 2 de julho a 9 de agosto de 2012, totalizando 38 dias.

Os animais foram mantidos sob ciclo diurno/noturno de 12/12 horas com o fotoperíodo das 09:00h às 21:00h. Na primeira etapa, os animais criados foram mantidos em dois grupos distintos do período pré-natal ao desmame. Metade dos animais, 18 indivíduos, foram provenientes de ambientes com EA para ninho e os outros 18 animais foram mantidos em caixas padrão sem o EA. Os camundongos tinham 26 ou 28 dias de vida no início da segunda etapa do experimento. Nesta fase, para a formação dos grupos foram organizadas 12 caixas (C1 a C12) e quatro tratamentos: (SS) sem EA pré-natal-desmame/ sem EA pós-desmame; (SE) sem EA pré-natal-desmame/ com EA pós-desmame; (ES) com EA pré-natal-desmame/ sem EA pós-desmame e; (EE) com EA pré-natal-desmame/ com EA pós-desmame. Desta forma, a primeira letra da sigla indica a condição de ausência ou presença do

EA no período pré-natal-desmame e a segunda letra indica a condição de ausência ou presença do EA na segunda etapa do experimento. A formação de pequenos grupos com três indivíduos por caixa promove a estabilidade social, conseqüentemente diminuindo as agressões (VAN LOO; VAN ZUTPHEN; BAUMANS, 2003). Por este motivo, cada caixa foi sorteada para receber um tipo de tratamento e em cada uma foram alocados três camundongos totalizando nove animais por tratamento. Cada animal foi aleatoriamente escolhido para compor um dos quatro tratamentos e novamente sorteado para compor uma das três caixas (FIGURA 4).

Nos tratamentos sem EA os animais foram mantidos em situações padrão de manejo com a utilização da caixa, maravalha, grade de ferro e garrafas com água (FIGURA 2). Sob as condições de EA foram providenciados: (1) uma folha dupla de lenço higiênico marca Kleenex® com 14,2 cm de comprimento por 21,2 cm de largura; (2) uma folha de papel toalha da marca Neve® com 20,3 cm de comprimento por 22,3 cm de largura; (3) um tubo branco de PVC com 4,70 cm de diâmetro e 9,5 cm de comprimento, (4) um tubo marrom de PVC com 2,75 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento; e (5) fragmentos de uma ração peletizada foram escondidos sob a maravalha nos dias de troca (FIGURA 5).

C01 - SE	C02 - SS	C03 - EE	C04 - ES	C05 - SS	C06 - SE
C07 - EE	C08 - SS	C09 - EE	C10 - ES	C11 - ES	C12 - SE

FIGURA 4 - DISTRIBUIÇÃO ALEATÓRIA DOS QUATRO TRATAMENTOS NAS 12 CAIXAS, CADA UMA CONTENDO TRÊS CAMUNDONGOS MACHOS BALB/C, MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

No procedimento de limpeza dos tratamentos com EA, os papéis fornecidos na troca anterior foram parcialmente colocados na gaiola. Os itens manipuláveis foram escolhidos por apresentarem maior aceitação pelos animais (BAUMANS *et al.*,

2007; VAN LOO *et al.*, 2002; VAN DE WEERD *et al.*, 1997; VAN DE WEERD *et al.*, 1998b) e os tubos de PVC e papéis foram disponibilizados a fim de agregar a sensação de proteção e plasticidade ambiental. Seguindo as normas de funcionamento do biotério, os procedimentos de limpeza, troca de materiais, reposição de água e ração e dos itens de EA foram realizados nas segundas e quintas-feiras apenas pela equipe responsável pelo experimento.

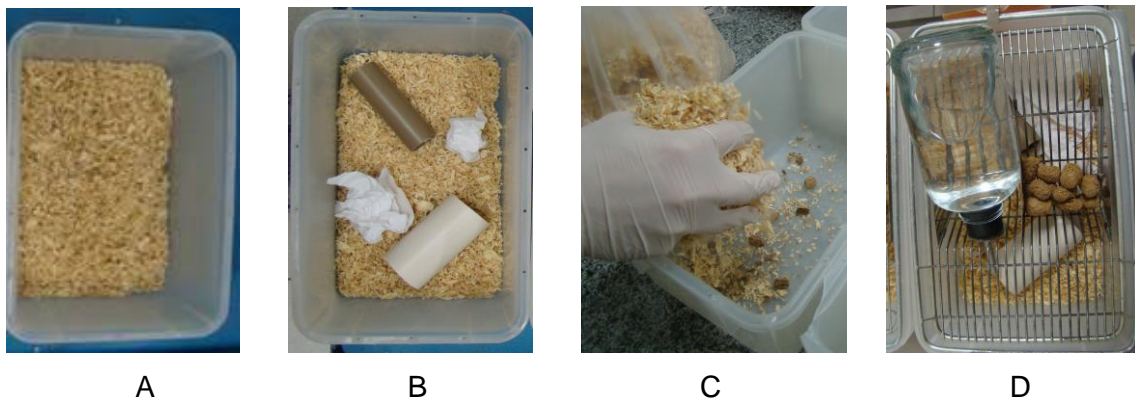


FIGURA 5 - TRATAMENTOS TESTADOS, (A) CAIXAS SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E (B) (C) E (D) CAIXAS COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL, PREPARADAS PARA O ALOJAMENTO DE TRÊS COMUNDONGOS, PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Foram coletados os dados de comportamento por meio de filmagem, imediatamente após a limpeza das caixas (9:30 – 11:00). As filmagens tiveram a duração de três minutos para cada caixa em cada dia de troca, totalizando 324 minutos. Cada vídeo foi analisado três vezes para a verificação do comportamento dos três animais, desta forma, foram analisados 972 minutos de comportamentos. Foram realizadas filmagens no dia do início do experimento (D0), após três dias (D3), sete dias (D7), dez dias (D10), quatorze dias (D14), dezessete dias (D17), vinte e um dias (D21), vinte e quatro dias (D24) e após vinte e oito dias (D28). Os dados sobre os comportamentos foram quantificados de acordo com a porcentagem em relação ao total de comportamentos realizados levando em consideração a duração do comportamento que cada animal desenvolveu na filmagem. Foram excluídos deste cálculo os comportamentos não visíveis. Embora todos os comportamentos realizados tenham sido quantificados, para a análise foram escolhidos aqueles que podem servir de indicadores do BEA relacionados, principalmente, aos instantes após a limpeza. Logo, os comportamentos exploratório, agonístico, de auto-cuidado, estereotípias e aqueles direcionados aos itens de EA (TABELA 12) foram

selecionados visto que apresentam importância após a alteração do ambiente (GRAY; HURST, 1995; BURN *et al.*, 2006; BURN; MASON, 2008; VAN LOO *et al.*, 2000; JOLLES; ROMPA-BARENDREGT; GISPEN, 1979a, JOLLES; ROMPA-BARENDREGT; GISPEN., 1979b; BRENNES; RODRÍGUEZ; FORNAGUERA, 2008; GROSS; ENGEL; WÜRBEL, 2011).

TABELA 12 - ELEMENTOS DOS COMPORTAMENTOS APRESENTADOS PELOS CAMUNDONGOS QUE FORAM ANALISADOS EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Comportamento	Descrição
Exploratório	Farejar o substrato, o ambiente interno e externo à caixa apoiado apenas nas sobre os membros pévicos, cavar e movimentar o substrato.
Agonístico	Perseguir, posições de submissão ou dominância, limpar ou farejar de forma agressiva.
Auto-cuidado	Limpeza corporal
Estereotípias	Mastigar as grades e salto-mortal.
Interação com o enriquecimento ambiental	Farejar, mastigar, subir, apoiar-se, esconder-se dentro e manipular os objetos oferecidos.

Foram realizados dois testes comportamentais. O teste de campo aberto ocorreu no 35º dia após o início do experimento. Foi preparado um campo de 50 cm x 50 cm x 50 cm com o solo subdivido em quadrantes de 10 cm e recoberto com plástico para facilitar a limpeza (FIGURA 6 – A). Os animais foram colocados individualmente para realizar o teste, que consistiu em alocar o animal no centro do campo e verificar o seu comportamento durante 2 min. Foram verificados a quantidade de quadrantes centrais, periféricos e totais visitados, as porcentagens relativas dos quadrantes centrais e periféricos visitados, o total de pulos realizados e o número de grânulos de fezes deixados pelos animais. Para a realização do teste de emergência (FIGURA 6 – B), no 38º dia após o início do experimento, foi confeccionada uma “caixa de início” protegida da luz. Os animais foram colocados dentro da caixa, a qual foi posicionada nos aparatos do teste de campo aberto. Após dois minutos de espera a porta foi aberta. O comportamento dos animais foi gravado para verificar o tempo de latência, quantas vezes o animal colocou a cabeça para

fora da caixa e o tempo que o animal demorou a colocar os quatro membros para fora da caixa.



FIGURA 6 - EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NOS TESTES COMPORTAMENTAIS DE (A) CAMPO ABERTO E (B) EMERGÊNCIA, EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Os testes comportamentais foram preparados em outra sala do biotério e cada animal foi levado individualmente, não havendo contato entre os animais que realizaram os testes e os animais que ainda iriam realizá-los. Após cada sessão os materiais utilizados foram limpos e esterilizados com álcool a 70%.

Para a análise estatística, referente aos grupos formados na segunda etapa, quando os dois grupos sem enriquecimento (SS e ES) e os dois grupos com enriquecimento (SE e EE) não apresentaram diferenças significativas foram reagrupados formando os grupos S ( $SS + ES = S$ ) e E ( $SE + EE = E$ ). Os dados para comparações entre os tratamentos foram analisados por estatística não-paramétrica com a utilização dos testes de Kruskal-Wallis seguido do teste Mann-Whitney com a correção de Bonferroni-Holm. A referida correção foi utilizada para verificar significância a 5%, sendo assim, a probabilidade (P) deve ser menor que a probabilidade calculada de Bonferroni-Holm, desta forma é reduzida a taxa de Erro do Tipo I (ABDI, 2010). As medianas apresentadas nas tabelas podem ser iguais em alguns casos, no entanto, há possibilidade de haver diferenças significativas. Os testes realizados fazem uso de postos calculados e não diretamente à mediana, assim podem ser encontradas diferenças (ABDI, 2010).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram verificadas diferenças no comportamento exploratório entre os grupos. Os animais que não receberam EA na segunda fase não apresentaram diferenças entre si, independentemente de seus tratamentos na primeira fase, assim como os grupos que receberam enriquecimento na segunda fase; portanto, todos foram reagrupados como S e E, respectivamente. O grupo S apresentou porcentagem inferior de comportamentos exploratórios em relação grupo E (TABELA 13). Abou-Ismael e colaboradores (2010), observaram em ratos que a frequência dos comportamentos exploratórios foram inferiores em animais com EA, talvez porque os animais passaram mais tempo interagindo com os materiais fornecidos. Nos testes de campo aberto, camundongos que receberam EA demonstraram comportamentos exploratórios superiores aos animais sem EA (KAZLAUCKAS *et al.*, 2011). Os camundongos apresentam características de comportamento anti-predatório e estruturas sociais complexas que são favorecidas quando estímulos exploratórios são ofertados (MENCH, 1998). O favorecimento de comportamentos exploratórios melhora potencialmente melhora as condições de BEA pela possibilidade do desenvolvimento de comportamentos naturais da espécie e estimulação psicológica.

Em todos os grupos a ocorrência de comportamentos agonísticos manteve-se em níveis aceitáveis e os animais não apresentaram ferimentos até o final do experimento. Devido à baixa ocorrência de comportamentos agonísticos, todas as medianas deste comportamento foram zero. Quando ocorrem eventos agressivos os animais podem vir a desenvolver ferimentos graves com difícil tratamento que podem vir a ser uma das causas da eutanásia em animais (NAS 2010; WOLFENSOHN, 2010; AVMA, 2013). É importante diminuir as chances de sofrer eutanásia antes do tempo, cumprindo sua função e diminuindo a necessidade de animais adicionais para a realização da pesquisa. Houve diferenças em relação ao comportamento agonístico nos diferentes tratamentos. O grupo ES apresentou porcentagem superior de comportamentos agonísticos em relação a todos os outros grupos (TABELA 14).

TABELA 13 - COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Grupo	Mediana ± DAM	Mínimo/Máximo	Teste	Comparações	Bonferroni - Holm	P
Geral	45,41%	1,25% / 94,00%	KW	SS x SE x ES x EE	-	0,002*
SS	45,28% ± 0,13%	0,68% / 78,67%	MW	SS x SE	0,017	0,046
SE	51,19% ± 5,78%	4,05% / 83,65%	MW	SS x ES	0,012	0,034
ES	37,32% ± 8,09%	1,25% / 78,68%	MW	SS x EE	0,050	0,367
EE	47,22% ± 1,81%	1,57% / 94,00%	MW	SE x ES	0,008	0,000*
S	42,55% ± 2,86%	1,25% / 78,68%	MW	SE x EE	0,025	0,359
E	48,93% ± 3,52%	1,57% / 94,00%	MW	ES x EE	0,010	0,012
			KW	S x E	-	0,001*

S = agrupamento de SS e ES

E = agrupamento de SE e EE

DAM = Desvio absoluto da mediana

KW = Teste de Kruskal – Wallis

MW = Teste de Mann – Whitney

\* Significância a 5% no respectivo teste

A presença de EA do período pré-natal ao desmame e sua subsequente cessação resultaram no aumento de comportamentos agonísticos. Animais que receberam EA podem desenvolver tanto um aumento (MARASHI *et al.*, 2003) como a redução nos níveis de comportamentos agressivos (ABOU-ISMAIL *et al.*, 2010; PIETROPAOLO *et al.*, 2004). O tipo de enriquecimento e a forma como foram fornecidos os itens de EA podem ter contribuído para os resultados. Segundo Van Loo e colaboradores (2000), a manutenção de parte do material do ninho já utilizado no momento da troca, conforme realizado neste estudo, reduz comportamentos agonísticos. Além disto, o fornecimento de apenas um abrigo rígido não manipulável aos camundongos aumenta a agressividade, ao passo que quando são fornecidos lenços de papel estes comportamentos diminuem (VAN LOO *et al.*, 2002). A maior complexidade pela provisão de vários itens permite que os animais tenham oportunidades para escapar de agressões (HURST *et al.*, 1999).

TABELA 14 - COMPORTAMENTO AGONÍSTICO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Grupo	Mínimo/Máximo	Teste	Comparações	Bonferroni – Holm	P
Geral	0,00% / 32,39%	KW	SS x SE x ES x EE	-	0,000*
SS	0,00% / 22,29%	MW	SS x SE	0,017	0,029
SE	0,00% / 14,89%	MW	SS x <u>ES</u>	0,013	0,008*
ES	0,00% / 32,39%	MW	SS x EE	0,025	0,127
EE	0,00% / 11,61%	MW	SE x <u>ES</u>	0,008	0,000*
		MW	SE x EE	0,05	0,471
		MW	<u>ES</u> x EE	0,01	0,000*

KW = Teste de Kruskal – Wallis

MW = Teste de Mann – Whitney\*

Grupos sublinhados apresentaram valores superiores

\*Significância a 5% no respectivo teste

Os comportamentos agonísticos, ainda que ocorram de forma natural na espécie, quando apresentam frequência reduzida estão associados a melhores condições de BEA. Tais comportamentos afetam o animal pelo surgimento de complicações na saúde física, ambiental e principalmente psicológica, ocasionando menores graus de BEA. O fornecimento do EA nas condições deste trabalho demonstrou-se eficaz na redução dos comportamentos agonísticos pós-limpeza da caixa, caso ofertado continuamente do período pré-natal ao desmame e no pós-desmame ou apenas no período pós-desmame. Quando o EA não foi oferecido em nenhuma destas etapas houve aumento dos comportamentos agonísticos, sendo ainda maior quando o EA foi ofertado apenas no período pré-natal ao desmame.

Foram encontradas diferenças nos comportamentos de auto-cuidado. Os grupos sem EA não apresentaram diferenças entre si assim como o grupo com enriquecimento; portanto, foram reagrupados como S e E, respectivamente. O grupo S apresentou comportamentos de auto-cuidado superiores ao grupo E (TABELA 15). A alta similaridade dos tratamentos iguais na segunda etapa do experimento indicam forte ligação deste comportamento com as condições atuais de manutenção. Ou seja, o manejo anterior sendo com ou sem EA pareceu ter menor influência sobre a sua expressão. Em roedores com EA é verificada a redução do comportamento de auto-cuidado quando analisada a rotina dos animais (ROSENFELD; WELLER, 2012;

MARASHI *et al.*, 2003). O mesmo não ocorre em testes comportamentais nos quais os animais com EA realizam mais comportamentos de auto-cuidado (VAN DE WEERD *et al.*, 1998a; PIETTROPAOLO *et al.*, 2004; BRENNES; RODRÍGUEZ; FORNAGUERA, 2008; SPARLING *et al.*, 2010; VIVINETTO; SUÁREZ; RIVAROLA, 2013). Talvez isso possa ser explicado pelo fato de que o aumento no auto-cuidado ocorre em situações de habituação a um novo estímulo ou ambiente (JOLLES; ROMPA-BARENDREGT; GISPEN, 1979b; VIVINETTO; SUÁREZ; RIVAROLA, 2013; BRENNES; RODRÍGUEZ; FORNAGUERA, 2008; AMARAL *et al.*, 2007), situação à qual todos os animais do experimento foram expostos após a limpeza. Um fator que pode ter influenciado os animais com EA foi a colocação de material de ninho já utilizado anteriormente. Tal material manteve indícios familiares do ambiente aos animais, possivelmente diminuindo fatores estressantes e por consequência reduzindo os comportamentos de habituação. O auto-cuidado excessivo também pode caracterizar estereotipias resultantes de frustrações, conflitos com outros animais ou estímulos novos (JOLLES; ROMPA-BARENDREGT; GISPEN, 1979b). No entanto, cabe ressaltar que a presença de novos itens no ambiente dos animais não é um pré-requisito para o aparecimento de auto-cuidado excessivo (JOLLES; ROMPA-BARENDREGT; GISPEN, 1979a).

TABELA 15 - COMPORTAMENTO DE AUTO-CUIDADO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Grupo	Mediana ± DAM	Mínimo/Máximo	Teste	Comparações	Bonferroni - Holm	P
Geral	6,02%	0,00% / 60,14%	KW	SS x SE x ES x EE	-	0,001*
SS	8,65% ± 2,63%	0,00% / 56,62%	MW	SS x SE	0,013	0,006*
SE	3,21% ± 2,81%	0,00% / 53,66%	MW	SS x ES	0,050	0,899
ES	7,41% ± 1,39%	0,00% / 56,58%	MW	SS x EE	0,017	0,012*
EE	3,20% ± 2,82%	0,00% / 60,14%	MW	SE x ES	0,008	0,001*
S	7,51% ± 1,49%	0,00% / 56,62%	MW	SE x EE	0,025	0,842
E	3,21% ± 2,81%	0,00% / 60,14%	MW	ES x EE	0,010	0,002*
			KW	S x E	-	0,000*

S = agrupamento de SS e ES

E = agrupamento de SE e EE

DAM = Desvio absoluto da mediana

KW = Teste de Kruskal – Wallis

MW = Teste de Mann – Whitney

\*Significância a 5% no respectivo teste

A consideração das diferenças encontradas nos resultados referentes ao auto-cuidado de animais que receberam EA a partir da visualização do comportamento no ambiente em que os animais são mantidos e em testes comportamentais são importantes para compreender as reais consequências do EA. Assim, o acompanhamento da rotina pode trazer resultados mais acurados em relação a este comportamento em situações de comparação da presença ou ausência de EA. Ainda, a utilização do comportamento de auto-cuidado parece ser um indicador das condições ambientais atuais dos animais, não constituindo um bom indicador de situações passadas.

Houve diferenças entre os grupos que receberam EA quanto ao tempo gasto nos itens EGR e EPA; para o item EPQ, não houve diferenças. No item EGR o grupo SE despendeu tempo superior ao EE, e no item EPA o grupo EE utilizou-se por mais tempo dos materiais que o grupo SE (TABELA 16). A montagem de ninhos em camundongos é, em sua maior parte, governada por fatores genéticos e o aprendizado deste comportamento tem implicações secundárias (VAN OORTMERSSSEN, 1971; LYNCH; HEGMANN, 1973). No entanto, os animais do grupo EE, que já tiveram contato com este tipo de enriquecimento do pré-natal ao desmame, gastaram mais tempo em sua manipulação, indicando possível ação fenotípica ou de aprendizado, que pode estar associada a questões de epigenia (KEVERNE; CURLEY, 2008).

Quanto à distribuição do tempo entre os diferentes itens disponibilizados como enriquecimento, houve preferência pelo EGR em relação aos outros itens e não houve diferenças entre o EPQ e EPA (TABELA 17). Os tubos foram utilizados para atingir partes mais altas com a finalidade de se alimentar, explorar o ambiente externo ou esconder-se. O tubo de maior diâmetro permitiu maior possibilidade de movimentos, ações e mais indivíduos puderam utilizar o recurso ao mesmo tempo. A proteção contra a luz e agressões também é oferecida quando há disponibilidade de um abrigo (SHERWIN, 1996; BURN; MASON, 2008; NSW, 2004). Como esperado, o EPA foi menos utilizado do que os abrigos, pois o período de observação ocorreu quando as atividades de repouso tiveram menor ocorrência. Nos períodos em que os camundongos estão em repouso, sua temperatura corporal reduz e o controle é realizado pela utilização de materiais para ninho, postura corporal encurvada e proximidade física com outros indivíduos (GASKILL, 2013). Nas observações

seguintes à disponibilização a construção de ninhos (FIGURA 7) indicou que os animais fizeram uso do EPA posteriormente. A construção de ninhos é um fator importante para roedores e está associada com a capacidade dos indivíduos de contribuir com os seus genes para as gerações seguintes (LYNCH; HEGMANN, 1973). Este é um dos itens de maior acessibilidade no cotidiano laboratorial. Se disponibilizado para os animais, eles têm maior controle sobre o microambiente e assim podem atingir melhores condições de conforto e possibilidades comportamentais, melhorando o grau de BEA.

TABELA 16 - PROPORÇÃO DO TEMPO GASTO COM OS ITENS DE ENRIQUECIMENTO OFERECIDOS NO EXPERIMENTO REALIZADO COM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Item	Grupo	Mediana ± DAM	Mínimo/Máximo	Teste	Comparações	P
EPQ	SE + EE	6,08%	0,00% / 69,70%	MW	SE x EE	0,221
	SE	7,26% ± 1,18%	0,00% / 69,70%			
	EE	5,78% ± 0,30%	0,00% / 47,01%			
EGR	SE + EE	15,46%	0,00% / 77,78%	MW	SE x EE	0,019*
	SE	18,85% ± 3,39%	0,00% / 71,54%			
	EE	12,28% ± 3,18%	0,00% / 77,78%			
EPA	SE + EE	4,86%	0,00% / 70,08%	MW	SE x EE	0,000*
	SE	1,67% ± 3,19%	0,00% / 55,26%			
	EE	10,75% ± 5,89%	0,00% / 70,08%			

EPQ = Tubo de PVC com 2,75 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento

EGR = Tubo de PVC com 4,70 cm de diâmetro e 9,5 cm de comprimento

EPA = Duas folhas de lenço de papel e uma folha de papel toalha

DAM = Desvio absoluto da mediana

MW = Teste de Mann – Whitney

\* Significância a 5% no respectivo teste

Não foi possível quantificar a interação com o EA quanto ao forrageio dos alimentos fornecidos escondidos sob a maravalha. Todavia, as atividades de aquisição de comida oferecem oportunidades importantes de forrageio, que é de alta motivação (LINDBURG, 1998), podendo ter colaborado para as diferenças encontradas entre os grupos enriquecidos e não enriquecidos, principalmente em

relação ao comportamento exploratório. Futuros trabalhos podem tentar verificar o efeito isolado desta forma de EA para camundongos em biotérios.

Boa parte do tempo foi gasto na interação com os objetos fornecidos. Os tubos promoveram vários comportamentos, podendo servir de ferramenta para alcançar a comida ou bebida, esconderijo da luz e de outros. No caso do EPA, apesar de apresentar menor uso durante as análises, sendo um item manipulável, foi possível observar evidências de sua utilização pela montagem do ninho. A utilização dos itens foi favorável, indicando aumento na expressão de comportamentos naturais e, conseqüentemente, mais alto grau de BEA.

TABELA 17 - PORCENTAGEM DO TEMPO GASTO NO EXPERIMENTO REALIZADO COM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Grupo	Mediana ± DAM	Mínimo/Máximo	Teste	Comparações	Bonferroni - Holm	P
Geral	9,18%	0,00% / 77,78%	KW	EGR x EPQ x EPA	-	0,000*
EPQ	6,08% ± 3,10%	0,00% / 69,70%	MW	EGR x EPQ	0,017	0,000*
EGR	15,46% ± 6,28%	0,00% / 77,78%	MW	EGR x EPA	0,025	0,000*
EPA	4,86% ± 4,32%	0,00% / 70,08%	MW	EPQ x EPA	0,050	0,903

EPQ = Tubo de PVC com 2,75 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento

EGR = Tubo de PVC com 4,70 cm de diâmetro e 9,5 cm de comprimento

EPA = Duas folhas de lenço de papel e uma folha de papel toalha

DAM = Desvio absoluto da mediana

KW = Teste de Kruskal - Wallis

MW = Teste de Mann - Whitney

\* Significância a 5% no respectivo teste



FIGURA 7 - UTILIZAÇÃO DO MATERIAL DE NINHO OFERTADO AOS CAMUNDONGOS DOS GRUPOS (SE) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PÓS-DESMAME, E (EE) COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PÓS-DESMAME, QUE RECEBERAM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO EXPERIMENTO REALIZADO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Foi presenciada uma ocorrência de comportamento estereotípico (morder a grade) no D28 em um dos animais do tratamento EE. Os comportamentos estereotípicos são comuns em animais de laboratório e estão presentes no cotidiano dos animais cativos em condições padrão ou com EA (GROSS *et al.*, 2012). A utilização do EA pode não prevenir o aparecimento de estereotípias (GROSS; ENGEL; WÜRBEL, 2011; GROSS *et al.*, 2012), mas a utilização do enriquecimento ambiental pós-desmame pode reduzir a sua ocorrência (JONES; MASON; PILLAY, 2011). Providenciar maior diversidade comportamental reduz a frequência, a duração e a severidade de comportamentos anormais (BAUMANS, 2005; MUEHLMANN *et al.*, 2012; GROSS *et al.*, 2012). Para o conhecimento da real prevalência de estereotípias, seriam necessárias observações das atividades dos animais durante períodos mais longos.

No teste de emergência, o tempo de latência até os animais colocarem a cabeça para fora da caixa, o tempo que levaram para colocar as quatro patas para fora da caixa e a quantidade de vezes que colocaram a cabeça para fora antes de sair, não apresentaram diferenças (TABELA 18). No teste do campo aberto a quantidade de quadrantes periféricos, quadrantes centrais, pulos, grânulos de fezes, quadrantes totais e proporção de quadrantes visitados não apresentam diferenças

entre os grupos (TABELA 18). Os resultados encontrados nesta pesquisa mostram que a observação comportamental da rotina do animal permitiu encontrar diferenças não verificadas em testes clássicos de comportamento. Assim, o acompanhamento do cotidiano pode ser uma ferramenta importante para a investigação referente ao EA e suas implicações.

TABELA 18 - TESTES COMPORTAMENTAIS DO CAMPO ABERTO E DE EMERGÊNCIA REALIZADOS RESPECTIVAMENTE DURANTE O TRIGÉSIMO QUINTO E TRIGÉSIMO OITAVO DIA APÓS O INÍCIO DO EXPERIMENTO REALIZADO EM 36 CAMUNDONGOS BALB/C MANTIDOS (SS) SEM ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (SE) SEM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, (ES) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ SEM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, OU (EE) COM ENRIQUECIMENTO PRÉ-NATAL-DESMAME/ COM ENRIQUECIMENTO PÓS-DESMAME, NO PERÍODO DE JULHO A AGOSTO DE 2012.

Teste	Comparações (SS x SE x ES x EE)	Mediana	P
CAMPO ABERTO	Quadrantes periféricos visitados	74,5	0,22
	Quadrantes centrais visitados	52,0	0,28
	Quadrantes totais visitados	127	0,12
	Proporção de quadrantes periféricos visitados	60,0%	0,66
	Proporção de quadrantes centrais visitados	39,6%	0,66
	Quantidade de pulos realizados	0	0,79
	Quantidade grânulos de fezes	0	0,25
EMERGÊNCIA	Tempo de saída da cabeça	2,46 s	0,28
	Tempo de saída do corpo	3,65 s	0,26
	Quantidade de saídas da cabeça	1	0,58

#### 4.4 CONCLUSÃO

Os itens de EA estudados parecem formas efetivas e viáveis de aumentar o BEA. Os animais que tiveram a possibilidade de usufruir dos recursos de EA despenderam maior parte do tempo com a exploração do ambiente e puderam desenvolver outros comportamentos a partir dos itens. Os comportamentos agonísticos foram reduzidos quando o EA foi ofertado continuamente do período pré-natal ao desmame e no pós-desmame ou apenas no período pós-desmame. O estudo dos efeitos do EA por meio do acompanhamento da rotina do animal mostrou-se eficaz na verificação de diferenças comportamentais não evidenciadas em testes clássicos de comportamento. A implementação dos itens de EA de alta viabilidade

estudados favorece a expressão de comportamentos que promovem mais alto grau de bem-estar para camundongos de biotério.

## AGRADECIMENTOS

A Vanete Thomaz Soccol, Thais Andrade Costa Casagrande, Vanderlei Muller e toda a equipe do Biotério da Universidade Positivo que possibilitou a realização desta etapa da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ABDI, H. Holm's Sequential Bonferroni Procedure. In: SALKIND, N. J.; DOUGHERTY, D.M; FREY, B. (Ed.). **Encyclopedia of Research Design**. Thousand Oaks, CA: Sage, 2010. p. 573-577.

ABOU-ISMAIL, U. A.; BURMAN, O. H. P.; NICOL, C. J.; MENDL, M. The effects of enhancing cage complexity on the behaviour and welfare of laboratory rats. **Behavioural Processes**, Amsterdam, v. 85, p. 172-180, 2010.

AINSWORTH, C. Scientists share thoughts on animal research. **Nature**, London, 2006. Disponível em: <<http://www.nature.com/news/2006/061211/full/news061211-9.html>>. Acesso em: 18/04/2012.

AMARAL, O. B.; VARGAS, R. S.; HANSEL, G.; IZQUIERDO, I.; SOUZA, D. O. Duration of environmental enrichment influences the magnitude and persistence of its behavioral effects on mice. **Physiology & Behavior**, Philadelphia, v. 93, p. 388-394, 2007.

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION (AVMA). **Guidelines for the Euthanasia of animals**. Schaumburg: AVMA, 2013.

BAUMANS, V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals. **Revue scientifique et technique de L Office international Des Epizooties**, Paris, v. 24, n. 2, p. 503-514, 2005.

BAUMANS, V.; COKE, C.; GREEN, J.; MOREAU, E.; MORTON, D.; PATTERSON-KANE, E.; REINHARDT, A.; REINHARDT, V.; VAN LOO, P. L. P (Ed.). **Making lives easier for animals in research labs**: discussions by the laboratory Animal Refinement & Enrichment Forum. Washington: Animal Welfare Institute, 2007.

BURN, C. C.; PETERS, A.; DAY, M. J.; MASON, G. J. Long-term effects of cage-cleaning frequency and bedding type on laboratory rat health, welfare, and handleability: a cross-laboratory study. **Laboratory Animals**, London, v. 40, p. 353-370, 2006.

BURN, C. C.; MASON, G. J. Effects of cage-cleaning frequency on laboratory rat reproduction, cannibalism, and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 114, p. 235-247, 2008.

BRENNES, J. C.; RODRÍGUEZ, O.; FORNAGUERA, J. Differential effect of environmental enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in pré-frontal cortex and ventral striatum. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Philadelphia, v. 89, p. 85-93, 2008.

COMISSÃO EUROPEIA (CE). **Sixth Report on the Statistics on the Number of Animals used for Experimental and other Scientific Purposes in the Member States of the European Union**. Bruxelas: CE, 2010.

DAWKINS, M. S. From an animal's point of view: motivation, fitness and animal welfare. **Behavioral and Brain Sciences**, Cambridge, v. 13, n. 1, p. 1-9, 1990.

FAITH, R. E.; HUERKAMP, M. J. Environmental considerations for research animals. In: HESSLER, J. R.; N.D.M. LEHNER, N. D. M. (Ed.). **Planning and Designing Research Animal Facilities**. San Diego, CA: Academic Press, 2009. p. 59-83.

GASKILL, B. N. The naked truth: breeding performance in nude mice with and without nesting material. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 143, p. 110-116, 2013.

GRAY, S.; HURST, J. L. The effects of cage cleaning on aggression within groups of male laboratory mice. **Animal Behaviour**, London, v. 49, p. 821-826, 1995.

GROSS, A. N.; ENGEL, A. K. J.; WÜRBEL, H. Simply a nest? Effects of different enrichments on stereotypic and anxiety-related behaviour in mice. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 134, p. 239-245, 2011.

GROSS, A. N.; RICHTER, S. H.; ENGEL, A. K. J.; WÜRBEL, H. Cage induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 234, n. 1, p. 61-68, 2012.

HACKBARTH, H. **Environmental improvement because not every enrichment makes sense**. In: LABORATORY ANIMAL SCIENCE BIOCONFERENCE LIVE, Altromin, 2012.

HURST, J. L.; BARNARD, C. J.; TOLLDAY, U.; NEVISON, C. M.; WEST, C. D. Housing and welfare in laboratory rats: effects of cage stocking density and behavioural predictors of welfare. **Animal Behaviour**, London, v. 58, p. 563-586, 1999.

JOLLES, J.; ROMPA-BARENDREGT, J.; GISPEN, W. H. ACTH-Induced excessive grooming in the rat: the influence of environmental and motivational factors. **Hormones and Behavior**, Maryland Heights, v. 12, p. 60-72, 1979a.

JOLLES, J.; ROMPA-BARENDREGT, J.; GISPEN, W. H. Novelty and Grooming behavior in the rat. **Behavioral and Neural Biology**, Maryland Heights. v. 25, p. 563-572, 1979b.

JONES, M. A.; MASON, G.; PILLAY, N. Early environmental enrichment protects captive-born striped mice against the later development of stereotypic behaviour. **Applied animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 135, p. 138-145, 2011.

KAZLAUCKAS, V.; PAGNUSSAT, N.; MIORANZZA, S.; KALININE, E.; NUNES, F.; PETTENUZZO, L.; SOUZA, D. O., PORTELA, L. V.; PORCIÚNCULA, L. O.; LARA, D. R. Enriched environmental effects on behavior, memory and BDNF in low and high exploratory mice. **Physiology & Behavior**, Philadelphia, v. 102, p. 475-480, 2011.

KEVERNE, E. B.; CURLEY, J. P. Epigenetics, brain evolution and behaviour. **Frontiers in Neuroendocrinology**, Maryland Heights, v. 3, p. 398-412, 2008.

LINDBURG, D. G. Enrichment of captive mammals through provisioning. In: SHEPHERDSON, D. J.; MELLEN, J. D.; HUTCHINS, M. (Ed.). **Second Nature: environmental enrichment for captive animals**. California: Smithsonian Books, 1998. p. 262-276.

LYNCH, C. B.; HEGMANN, J. P. Genetic differences influencing behavioral temperature regulation in small mammals, II genotype-environment interactions. **Behavior Genetics**, New York, v. 3, p. 145-154, 1973.

MUEHLMANN, A. M.; EDINGTON, G.; MIHALIK, A. C.; BUCHWALD, Z; KOPPUZHA, D.; KORAH, M.; LEWIS, M. H Further characterization of repetitive behavior in C58 mice: developmental trajectory and effects of environmental enrichment. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 235, p. 143-149, 2012.

MARASHI, V.; BARNEKOW, A.; OSSENDORF, E.; SACHSER, N. Effects of diferente forms of environmental enrichment on behavioral, endocrinological, and immunological parameters in male mice. **Hormones and Behavior**, Maryland Heights, v. 43, p. 281-292, 2003.

MENCH, J. A. Environmental Enrichment and the Importance of Exploratory Behavior. In: SHEPHERDSON, D. J.; MELLEEN, J. D.; HUTCHINS, M. (Ed.). **Second Nature**: environmental enrichment for captive animals. California: Smithsonian Books, 1998. p. 30-46.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS). **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. 8. ed. Washington: National Academies Press, 2010.

NEWBERRY, R. Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 44, p. 229-243, 1995.

NEW SOUTH WALES AGRICULTURE ANIMAL RESEARCH REVIEW PANEL (NSW). Guidelines for the Housing of Rats in Scientific Institutions. **Guideline 20**.

2004. Disponível em:

<<http://www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/livestock/animalwelfare/researchteaching/factsheets/aw-fact14>>. Acesso em: 15/10/2012.

PIETROPAOLO, S; BRANCHI, I.; CIRULLI, F.; CHIAROTTI, F.; ALOE, L.; ALLEVA, E. Long-term effects of the periadolescent environment on exploratory acitivity and aggressive behaviour in mice: social versus physical enrichment. **Physiology & Behavior**, Philadelphia, v. 81, p. 443-453, 2004.

ROSENFELD, A.; WELLER, A. Behavioral effects of environmental enrichment during gestation in WKY and Wistar rats. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 233, p. 245-255, 2012.

SHERWIN, C. M. Laboratory mice persist in gaining access to resources: a method of assessing the importance of environmental features. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 49, p. 203-214, 1996.

SPARLING, J. E.; MAHONEY, M.; BAKER, S.; BIELAJEW, C. The effects of gestational and postpartum environmental enrichment on the mother rat: a preliminary investigation. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 208, p. 213-223, 2010.

VAN DE WEERD, H. A.; VAN LOO, P. L. P.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; KOOLHAAS, J. M.; BAUMANS, V. Long-term behavioural and physiological effects of nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. **Physiology & Behavior**, Philadelphia, v. 62, n. 5, p. 1019-1028, 1998a

VAN DE WEERD, H. A.; VAN LOO, P. L. P.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; KOOLHAAS, J. M.; BAUMANS, V. Strength of preference for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 55, p. 369-382, 1998b.

VAN DE WEERD, H. A.; VAN LOO, P. L. P.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; KOOLHAAS, J. M.; BAUMANS, V. Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. **Laboratory Animals**, London, v. 31, p. 133-143, 1997.

VAN LOO, P. L. P.; KRUITWAGEN, C. L. J. J.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; KOOLHAAS, J. M.; BAUMANS, V. Modulation of aggression in male mice. **Animal Welfare**, St Albans, v. 9, p. 281-295, 2000.

VAN LOO, P. L. P.; KRUITWAGEN, C. L. J. J.; KOOLHAAS, J. M.; VAN DE WEERD, H. A.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; BAUMANS, V. Influence of cage enrichment on aggressive behaviour and physiological parameters in male mice. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 76, p. 65-81, 2002.

VAN LOO, P. L. P.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; BAUMANS, V. Male management: coping with aggression problems in male laboratory mice. **Laboratory Animals**, London, v. 37, p. 300-313, 2003.

VAN OORTMERSSEN, G. A. Biological significance, genetics, and evolutionary origin of variability in behaviour within and between inbred strains of mice (*Mus musculus*): a behaviour genetic study. **Behaviour**, Leiden, v. 38, p. 1-92, 1971.

VIVINETTO, A. L.; SUÁREZ, M. M.; RIVAROLA, M. A. Neurobiological effects of neonatal maternal separation and post-weaning environmental enrichment. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 240, p. 110-118, 2013.

WOLFENSOHN, S. Euthanasia and other fates for laboratory animals. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). **The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. Oxford, UK: Blackwell, 2010. p. 219-226.

YOUNG, R. Y. **Environmental Enrichment for captive animals**. Oxford, UK: Blackwell, 2003.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A verificação dos fatores pesquisados foi importante para identificar possíveis formas de intervenção que visem melhorias no bem-estar dos animais de laboratório. Pela realização do questionário obteve-se uma avaliação geral do conhecimento dos profissionais que trabalham com animais de laboratório na experimentação. Desta forma, ficou exposto que persistem dúvidas quanto às funções das CEUAs, principalmente a respeito da fiscalização das pesquisas. Muitos profissionais não receberam treinamento para desenvolver suas atividades, que incluem procedimentos que podem acarretar dor e morte. O interesse dos participantes em realizar projetos de EA e o amplo conhecimento dos 3 Rs da experimentação indicam a preocupação moral com os animais.

No diagnóstico de BEA realizado em quatro biotérios de instituições de ensino do Estado do Paraná, foram verificadas variações quanto aos procedimentos de manejo. Em nenhuma ocasião foram verificadas técnicas de manejo e prevenção da dor na eutanásia ou a utilização de EA. Estes caracterizam pontos críticos passíveis de alteração para permitir melhores condições de BEA aos animais de biotérios.

A investigação dos efeitos do EA em camundongos durante o período pré-natal-desmame e pós-desmame indicaram que a sua utilização pode reduzir a agressividade e aumentar comportamentos exploratórios. A observação da rotina apresentou-se mais sensível na percepção de diferenças entre os grupos do que os testes comportamentais clássicos.

As interferências do ambiente, que incluem o ser humano como fator adjacente definem a qualidade de vida dos animais. Assim, por meio desta pesquisa podem ser estudadas diferentes estratégias de atuação a fim de promover melhorias na qualidade das pesquisas e principalmente na vida dos animais.

**APÊNDICES**

APÊNDICE A.....	100
APÊNDICE B.....	102
APÊNDICE C.....	103
APÊNDICE D.....	104
APÊNDICE E.....	105
APÊNDICE F.....	106
APÊNDICE G.....	109
APÊNDICE H.....	112

## APÊNDICE A

Resumo apresentado no XII Congresso da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório

### Laboratory staff survey on animal welfare issues: preliminary results

Deguchi B G F<sup>1</sup>, Molento C F M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Animal Welfare Laboratory, Federal University of Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

**Introduction:** Laboratory staff, usually composed by technicians, students, and researchers, may interfere with animal welfare and the quality of scientific results. Thus, it is important to support their work and make specific knowledge available, providing a sound basis for minimum suffering and adequate care of animals. **Objectives:** To study the knowledge of laboratory staff regarding animal welfare issues. **Methods:** An e-mail was sent to a list of Brazilian institutions that probably use animals for scientific purposes, inviting the staff to participate in the project by answering a web-based survey regarding the use of animals in experimentation. The questionnaire was composed of 22 open questions and 23 multiple choice questions. The answers to open questions were categorized according to content analysis. Results were then analyzed through descriptive statistics. The project was approved by the Institutional Ethics Committee (CEP/SCS – UFPR protocol no. 1251.176.11.10)

**Results and Discussion:** The collected data refers to 19 respondents, the first participants of an ongoing research, from various institutions from South, Southeast, North and Northeast of Brazil who graduated in Biology (n=4, 21.1%), Pharmacy (n=2, 10.5%), Psychology (n=1, 5.3%) and Veterinary Medicine (n=12, 63.2%), mostly working in public institutions (n=16, 84.2%). Considering respondents that perform or coordinate procedures related to pain and death (n=12, 63.2%), some did not receive specific training (n=7, 36.8%), which can cause personal difficulties, methodological, ethical and legal issues. The main issues that would limit their use of animals are ethical matters related to the welfare of the animals (n=14, 73.7%); thus, five (26.3%) respondents did not consider this a limiting factor. All respondents declared knowing the meaning of 'animal welfare'; however, the majority of concepts given (n=18, 94.7%) was blurred. Seven respondents (36.8%) did not know the five freedoms. Such results may be related to the fact that the teaching of animal welfare is neither available nor obligatory in many university programs in Brazil. Most respondents correctly stated the meaning of sentience (n=14, 82.3%). Moreover, different degrees of sentience were given across vertebrates, and the lack of scientific evidences for invertebrate sentience was expressed by a wide range of opinions. A group revealed not knowing what environmental enrichment means (n=4, 21.1%) and one respondent (n=1, 5.3%) did not know the content of the Brazilian Law 11.794 on Animal Experimentation. The high number of respondents interested in an environmental enrichment project (n=17, 89.5%) suggests concern with animal welfare. Thus, although environmental enrichment is not common practice in laboratories yet, there seems to be a desire for change. Results may be influenced by sampling, since first respondents are probably correlated to an intrinsic interest in the issues approached. Results suggest possibilities for improvement in scientific knowledge of central concepts related to animal welfare and a positive response to environmental enrichment initiatives. More studies are needed for the planning and provision of fine-tuned support to improve the welfare of laboratory animals in Brazil.

## APÊNDICE B

Pôster apresentado no XII Congresso da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório



# LABORATORY STAFF SURVEY ON ANIMAL WELFARE ISSUES: PRELIMINARY RESULTS



Deguchi B G F<sup>1</sup>, Molento C F M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Animal Welfare Laboratory, Animal Sciences Department, Federal University of Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

**Introduction:** Laboratory staff, usually composed by technicians, students, and researchers, may interfere with animal welfare and the quality of scientific results. Thus, it is important to support their work and make specific knowledge available, providing a sound basis for minimum suffering and adequate care of animals.

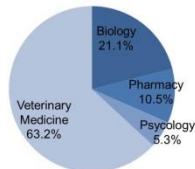
**Objectives:** To study the knowledge of laboratory staff regarding animal welfare issues.

**Methods:** An e-mail was sent to a list of Brazilian institutions that probably use animals for scientific purposes, inviting the staff to participate in the project by answering a web-based survey regarding the use of animals in experimentation. The questionnaire was composed of 22 open questions and 23 multiple choice questions. The answers to open questions were categorized according to content analysis. Results were then analyzed through descriptive statistics.

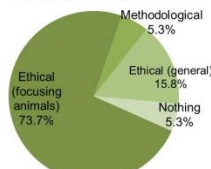
## Results

All results were obtained from 19 respondents. Respondents are from four different graduations courses (Fig. 1-A). Five respondents did not consider ethical matters as a limiting factor for the use of animals (Fig. 1-B). Most of the animal welfare concepts given were not satisfactory (Fig.1-C). Answers were divided by the respondents institutional bond (Fig. 1-D) and current distribution on the Brazilian political map (Fig.-E). Table 1 presents six closed questions related to training, procedures and animal sciences knowledge.

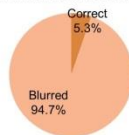
A. Graduation attended



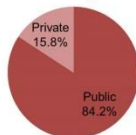
B. Matters which would limit the use of animals



C. Animal welfare concepts



D. Institution type



E. Answers by region

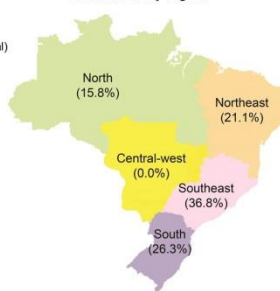


Table 1. Percentage of responses from 19 respondents to closed questions in Brazil, 2012.

Questions	Yes
Did you receive specific training for your attributions?	63.2%
Do you perform or coordinate pain and death procedures?	63.2%
Do you know the concept of animal sentience?	89.5%
Do you know the five freedoms of animal welfare?	63.2%
Do you know what environmental enrichment means?	78.9%
Do you have interest in an environmental enrichment project? *(one missing case)	94.4%

Figure 1. Percentage of responses from 19 respondents to five open questions in Brazil, 2012.

## Conclusions

- Limited knowledge in animal welfare science topics may be related to the fact that the teaching of animal welfare is neither available nor obligatory in many university programs in Brazil.
- There seems to be a desire for the practice of environmental enrichment in laboratories
- Results suggest possibilities for improvement in scientific knowledge of central concepts related to animal welfare.

Resumo: As equipes laboratoriais, formadas por técnicos, estudantes e pesquisadores, podem interferir no bem-estar animal e na qualidade dos resultados obtidos nas pesquisas. É necessário, portanto, dar apoio possibilitando o tratamento adequado dos animais de laboratório. O objetivo desta pesquisa é estudar o conhecimento das equipes laboratoriais a respeito do bem-estar animal. Diversas instituições no Brasil foram convidadas a participarem respondendo um questionário via *internet* composto por 22 questões abertas e 23 questões de múltipla escolha. As questões abertas foram categorizadas e os resultados foram analisados por estatística descritiva. Para 26,3% dos respondentes o limite do uso de animais para pesquisa não está relacionado a ética animal. Do total de participantes 63,2% coordena ou realiza procedimentos que causam dor ou morte de animais. Em temas específicos sobre bem-estar animal os respondentes apresentaram menor conhecimento do nos outros tópicos estudados.

**APÊNDICE C**

Mini-curso apresentado no “1º Congresso do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da UNICENTRO” na Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná (UNICENTRO) em Guarapuava-PR.



## Universidade Estadual do Centro-Oeste

Campus Santa Cruz: Rua Salvatore Renna, 875 - Cx. Postal 3010 - Fone (42) 3621-1000 - FAX 3621-1090 - 85015-430 - Guarapuava - PR  
 Campus CEDETEG: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03 - Fone/FAX (42) 3629-8100 - CEP 85.040-080 - GUARAPUAVA - PR  
 Campus de Irati: PR 153 - Km 07 - Riozinho - Cx. Postal, 21 - Fone (42) 3421-3000 - FAX (42) 3421-3067 - CEP 84.500-000 - IRATI - PR

# CERTIFICADO

Conferido a

***BERNARDO GRAÇA FATORI DEGUCHI***

por ter ministrado o minicurso “**Você é um homem ou um rato? Bem-estar de animais de laboratório e o que isto tem a ver com a sua pesquisa**”, com carga horária de 4 (quatro) horas, no evento de extensão: “**I Congresso do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais – I CONSEAG**”, realizado no período de 05 a 08 de novembro de 2012, no *Campus* CEDETEG, proposto pelo Setor de Ciências Agrárias e Ambientais, SEAA/G, da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, contando com o apoio da Fundação Araucária, Secretaria da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior, SETI, Faculdades Guairacá e Sindicato Rural de Guarapuava.

Guarapuava, 6 de novembro de 2012.

Professora Ana Lucia Crisostimo,  
Coordenadora do Evento

Professora Marquiana de F. Vilas Boas Gomes,  
Pró-Reitora de Extensão e Cultura

## APÊNDICE D

### Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do SCS/UFPR



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Paraná  
Setor de Ciências da Saúde  
Comitê de Ética em Pesquisa



#### PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO SCS/UFPR

<b>Nº DO PROJETO NO CEP</b>		1251.176.11.10	<b>CAAE</b>		0175.0.091.000-11
<b>TÍTULO</b> Bem estar de animais de laboratório e o conhecimento das equipes laboratoriais quanto ao uso de animais na pesquisa					
<b>PROCEDÊNCIA</b> Programa de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias					
<b>TIPO</b> <input type="checkbox"/> graduação <input type="checkbox"/> especialização <input checked="" type="checkbox"/> mestrado <input type="checkbox"/> doutorado <input type="checkbox"/> outros					
<b>TIPO DE PESQUISA</b> <input type="checkbox"/> qualitativa <input type="checkbox"/> quantitativa <input checked="" type="checkbox"/> quali-quantitativa					
<b>LOCAL</b> LABEA – SCA – UFPR e outras Instituições no Paraná que utilizam animais na pesquisa.					
<b>PERÍODO</b> Desde a aprovação pelo CEP até agosto de 2012					
<b>OBJETIVOS</b> Estudar a percepção e o conhecimento de questões de ética animal das pessoas responsáveis pela utilização de animais de laboratório e a qualidade de vida dos animais envolvidos, buscando a construção de subsídios para a reflexão ética e melhoria do grau de BEA em biotérios.					
<input checked="" type="checkbox"/> SUJEITO		<input type="checkbox"/> DOCUMENTO		<input type="checkbox"/> OUTROS	
<b>PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL</b> Bernardo Deguchi					
<b>COLABORADOR(ES)</b> Profa. Dra. Carla Forte Maiolino					
<b>TCLE</b>		<input checked="" type="checkbox"/> Atende a Res. CNS 196/96		<input type="checkbox"/> Não atende a Res. CNS 196/96	
<input type="checkbox"/> Não se aplica					
<b>ITENS DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE</b>					
Nº	<input checked="" type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> n.a	ITENS DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE	
1.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Linguagem acessível	
2.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Justificativa, objetivos (somente o geral) e procedimentos	
3.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Desconfortos e riscos	
4.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Benefícios esperados	
5.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Métodos alternativos existentes	
6.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Forma de assistência e responsável	
7.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Esclarecimentos antes e durante a pesquisa sobre a metodologia	
8.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Possibilidade de inclusão em grupo controle ou placebo	
9.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Liberdade de recusar ou retirar o consentimento sem penalização	
10.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Garantia de sigilo e privacidade	
11.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Formas de ressarcimento	
12.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Formas de indenização	
13.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Telefone, local, horário disponível e dias da semana do pesquisador responsável	
<b>OUTRAS OBSERVAÇÕES:</b> Embora o protocolo esteja bem escrito, com a documentação completa, análise mérito adequada, casuística bem descrita, existem algumas pequenas pendências que necessitam ser sanadas. Assim, na Folha de Rosto consta um N de 500, mas no desenvolver do projeto o número de sujeitos não aparece. É importante confirmar se o N será de 500. A aplicação do questionário será via email, correios, telefone ou presencialmente; consta que será feito um contato com Biotérios, CEUAs e laboratórios para verificar o interesse em participar da pesquisa. No entanto não são mencionadas as instituições que serão contatadas e tampouco há anuência dessas. Consta apenas a anuência da Coordenadora do LABEA/UFPR, orientadora do estudo. É importante elencar as Instituições que serão investigadas e anexar a anuência das mesmas. Também, é conveniente incluir no corpo do projeto e no TCLE o tempo aproximado necessário para os sujeitos responderem à pesquisa. Há necessidade de explicitar como será feita a abordagem aos sujeitos, em especial, como será tomado o consentimento informado via Web ou internet; no item Confidencialidade há necessidade de adequar a redação já que não se trata nem de pacientes nem de fichas clínicas. Vale ainda informar nos itens 2.5 e 2.6 no TCLE que sempre existem riscos de desconforto em uma entrevista e como esses poderão ser minimizados. Parecer: Pendências. SMJ é o parecer.					
<b>PARECER DO RELATOR</b>					
<input type="checkbox"/> APROVADO			<input type="checkbox"/> NÃO APROVADO		

Comitê de Ética em Pesquisa  
Setor de Ciências da Saúde/UFPR  
Rua Padre Camargo, 280 - 2º Andar  
CEP: 80060-240 - Curitiba - PR



Ministério da Educação  
Universidade Federal do Paraná  
Setor de Ciências da Saúde  
Comitê de Ética em Pesquisa



<input checked="" type="checkbox"/> PENDENTE	
Data: 26/10/2011	Assinatura:
Complementação do projeto: Em 27.01.2012	
<input checked="" type="checkbox"/> APROVADO	
<input type="checkbox"/> NÃO APROVADO	
<input type="checkbox"/> PENDENTE	
Curitiba, / /	
Presidente do CEP – SCS – UFPR: _____	
Encaminhe-se para:	
<p style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;">Comitê de Ética em Pesquisa Setor de Ciências da Saúde/UFPR Rua Padre Camargo, 280 - 2º Andar CEP: 80060-240 - Curitiba - PR</p>	

**APÊNDICE E**

Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
 SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
 DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

, de de 20 .

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Meu nome é Bernardo G.F. Deguchi e estou realizando um estudo intitulado “Bem-estar de animais de laboratório e o conhecimento das equipes laboratoriais quanto ao uso de animais na pesquisa”. O objetivo é estudar a percepção e o conhecimento de questões de ética animal das pessoas responsáveis pela utilização de animais de laboratório e a qualidade de vida dos animais envolvidos, buscando subsídios para a reflexão ética e melhoria do grau de Bem-estar animal dos animais utilizados na experimentação. Você, integrante de equipe laboratorial/biotério/comissão de ética no uso de animais (CEUAs), está sendo convidado a participar de forma voluntária e não remunerada deste estudo. O tempo de duração é de aproximadamente oito minutos não havendo riscos físicos ou psicológicos previsíveis ou benefícios diretos durante sua aplicação. A qualquer momento você poderá desistir e solicitar o termo de consentimento livre esclarecido assinado caso sinta algum desconforto ou desaprove a continuidade da pesquisa. Sua participação é fundamental para ocorrerem avanços sobre esta temática. As informações relacionadas ao estudo serão divulgadas sob forma codificada para que a confidencialidade seja mantida.

Os pesquisadores Bernardo G.F. Deguchi (mestrando em Ciências Veterinárias na Universidade Federal do Paraná; biólogo; e-mail: nani\_bd@ig.com.br; telefone: 41 3350-5788) e Carla F.M. Molento (Méd. Vet., MSc, PhD; Coordenadora do Laboratório de Bem-estar Animal da Universidade Federal do Paraná; e-mail: carlamolento@yahoo.com; telefone: 41 3350-5788) são responsáveis pela pesquisa e poderão esclarecer eventuais dúvidas.

Eu, \_\_\_\_\_, li o texto acima e compreendi a natureza do objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. Declaro que recebi as orientações sobre os riscos, benefícios e metodologias utilizadas. Fui autorizado pelo coordenador do laboratório/biotério ao qual possuo vínculo. Estou livre para interromper minha participação e autorizo os integrantes deste projeto de pesquisa a utilizar as informações contidas no questionário para subseqüente publicação quando mantido o sigilo e confidencialidade dos dados.

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do entrevistado ou  
 responsável legal

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do responsável pela  
 pesquisa

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR  
 Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

**APÊNDICE F**  
Anuências das instituições participantes



**UNICAMP**

Cidade Universitária Zeferino Vaz, 19 de janeiro de 2012

**A U T O R I Z A Ç Ã O**

Autorizo **Bernardo Graça Fatori Deguchi**, mestrando em Ciências Veterinárias na Universidade Federal do Paraná; a disponibilizar na lista eletrônica REDUSAL-**Rede de estudos sobre o uso sustentável de animais de laboratório, o convite para os membros da lista acessarem o link do questionário que faz parte do desenvolvimento do projeto** "Bem-estar de animais de laboratório e o conhecimento das equipes laboratoriais quanto ao uso de animais na pesquisa".

É importante ressaltar que a REDUSAL foi criada em 2009 para a discussão de assuntos referentes ao Decreto Lei n.º 6.899 de regulamentação da Lei n.º 11.794/2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso de animais em ensino e pesquisa científica. Os principais membros desta lista pertencem aos comitês de ética no uso de animais (CEUA).

Prof. Dra. Ana Maria Aparecida Guaraldo  
Presidente da CEUA/Unicamp  
Moderadora da lista REDUSAL

continua

## Declaração

**Pesquisador(a) Responsável :** Bernardo Graça Fatori Deguchi

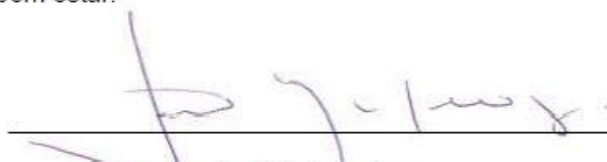
**Título da Pesquisa:** Bem-estar de animais laboratório e o conhecimento das equipes laboratoriais quanto ao uso de animais na pesquisa

**Nº CEP/SD:** 1251.176.11.10

**Nº CONEP/CAAE:** 0175.0.091.000-11

**Instituição Co-Participante:** Centro de Criação de Animais de Laboratório / Cecal  
Fundação Oswaldo Cruz / Fiocruz

Declaro ter lido e concordar com o parecer ético emitido pelo CEP da instituição proponente: Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96. Esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição co-participante do presente projeto de pesquisa, e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem estar.



**Joel Majerowicz**  
Diretor do CECAL - Fiocruz

continua

conclusão



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Direção do Setor



OFICIO N.º 043/12-GD  
Curitiba, 15 de fevereiro de 2012.

Senhora Profª Carla e Sr. Bernardo,

Considerando a documentação apresentada por Vossa Senhoria que inclui:

- a) Descrição do Projeto de Pesquisa “Bem estar de animais de laboratório e o conhecimento das equipes laboratoriais quanto ao uso de animais na pesquisa” contendo os questionários a serem aplicados aos pesquisadores/técnicos deste Setor-BL, bem como a cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que será apresentado ao pesquisador;
- b) Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde, desta Universidade para pesquisa em humanos;
- c) Declaração de confidencialidade, comprometendo a manter o caráter anônimo dos envolvidos, sejam eles pessoas físicas ou jurídicas;

Este Setor está de acordo com a realização de sua pesquisa nesta unidade, através de entrevistas com pesquisadores, servidores e funcionários – desde que concordem em participar da pesquisa.

Informamos a Vossa Senhoria que a visita no Biotério deste Setor não será possível, uma vez que o ambiente é restrito aos funcionários da unidade.

Quanto à utilização de animais experimentais, o Certificado obtido através da CEUA do Setor de Ciências Agrárias será apreciado na próxima reunião da CEUA/BIO, a ser realizada no dia 28/02/2012, esta Comissão comunicará a Vossas Senhorias sobre a apreciação.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luiz Claudio Fernandes  
Diretor do Setor

Aos senhores  
Profª CARLA FORTE MAIOLINO MOLENTO e  
BERNARDO GRAÇA FATORI DEGUCHI  
Laboratório de Bem-estar Animal – Departamento de Zootecnia  
Setor de Ciências Agrárias  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

## APÊNDICE G

Questionário aplicado às equipes laboratoriais que utilizam animais em pesquisas

1- Sexo:

2- Formação acadêmica:

( )estudante ( )formado

Curso:

Instituição:

Ano:

3- Cargo e atividade no laboratório/biotério:

4- Você recebeu treinamento para exercer esta atividade? Onde?

5- Em sua opinião, quais as funções das Comissões de Ética no uso de Animais (CEUAs)?

6- Os projetos que você participa foram submetidos a CEUA?

7- Você já teve acesso a um formulário de submissão de projeto da CEUA?

8- Com relação aos projetos submetidos a CEUA, quais destas opções já ocorreram: (mais de uma opção possível)

( )Projeto aceito em primeira instância.

( )Projeto necessitava adequações.

( )Projeto negado.

( )Projeto negado após adequações.

( )Projeto necessitava adequações que não foram realizadas e o projeto foi cancelado.

9- Você teria alguma crítica a fazer a CEUA?

10- Realiza ou coordena algum procedimento que cause sofrimento ou morte de animais?

11- Qual o destino dos animais após o término do projeto?

12- Quais os animais utilizados?

13- Você sabe o que significa senciência animal? ( )Sim. ( )Não. Explique.

continua

conclusão

14- Avalie as seguintes espécies de acordo com a capacidade de possuir sentimentos (alegria, frustração e medo). Considerar 1 como incapaz de ter sentimentos e 10 totalmente capaz de ter sentimentos).

	Incapaz de sentir...					...Totalmente capaz de sentir				
Bebê humano recém nascido	1()	2()	3()	4()	5()	6()	7()	8()	9()	10()
Peixe	1()	2()	3()	4()	5()	6()	7()	8()	9()	10()
Porco	1()	2()	3()	4()	5()	6()	7()	8()	9()	10()
Borboleta	1()	2()	3()	4()	5()	6()	7()	8()	9()	10()
Lobo	1()	2()	3()	4()	5()	6()	7()	8()	9()	10()

Frango	1( )	2( )	3( )	4( )	5( )	6( )	7( )	8( )	9( )	10( )
Caranguejo	1( )	2( )	3( )	4( )	5( )	6( )	7( )	8( )	9( )	10( )
Cão	1( )	2( )	3( )	4( )	5( )	6( )	7( )	8( )	9( )	10( )
Camundongo	1( )	2( )	3( )	4( )	5( )	6( )	7( )	8( )	9( )	10( )
Rato	1( )	2( )	3( )	4( )	5( )	6( )	7( )	8( )	9( )	10( )

15- Para você há algum limite que não devemos ultrapassar quando se utiliza animais na experimentação? Qual?

16- De modo geral, não apenas ligado à experimentação, em quais situações você concorda que o uso de animais é justificável?

Nas questões a seguir indique se você tem conhecimento sobre os temas abaixo, em caso positivo explique sucintamente

17- O 3R's da experimentação animal. ( )Sim. ( )Não. Explique:

18- Bem-estar Animal. ( )Sim. ( )Não. Explique:

19- Cinco Liberdades do Bem-estar animal. ( )Sim. ( )Não. Explique:

20- Enriquecimento Ambiental. ( )Sim. ( )Não. Explique:

21- Lei 11.794 de outubro de 2008 ou Lei Arouca. ( )Sim. ( )Não. Explique:

**APÊNDICE H**  
**Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA/UFPR**



**Universidade Federal do Paraná**  
**Setor de Ciências Agrárias**  
**Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 019/2011, referente ao projeto “Bem-estar de animais de laboratório e o conhecimento das equipes laboratoriais quanto ao uso de animais na pesquisa”, sob a responsabilidade de Bernardo Graça Fatori Deguchi, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 23 de setembro de 2011.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 019/2011, regarding the project “Laboratory animal welfare and the knowledge of laboratorial staff regarding animal use in research”, in charge of Bernardo Graça Fatori Deguch, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on September 2011.

Curitiba, 23 de setembro de 2011.

Geraldo Camilo Alberton  
Presidente

Patrick Schmidt  
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Setor de Ciências Agrárias  
Universidade Federal do Paraná.