



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**DAYVSON DANIEL ANDRADE DE MENEZES**

**PARÂMETROS AMBIENTAIS DETERMINANTES AO BEM-ESTAR DE  
ANIMAIS MANTIDOS EM UM BIOTÉRIO *SPECIFIC PATHOGEN FREE* DE  
UMA INSTITUIÇÃO PÚBLICA BRASILEIRA**

**FORTALEZA**

**2022**

DAYVSON DANIEL ANDRADE DE MENEZES

PARÂMETROS AMBIENTAIS DETERMINANTES AOBEM-ESTAR DE ANIMAIS  
MANTIDOS EM UM BIOTÉRIO *SPECIFIC PATHOGEN FREE* DE UMA  
INSTITUIÇÃO PÚBLICA BRASILEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso  
submetido à Coordenação do Curso de  
Biologia da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial para  
obtenção do título de Graduado em  
Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina  
Fonseca Lindoso Melo

Coorientador: Dr. Wesley Lyeverton  
Correia Ribeiro

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- M51p Menezes, Dayvson Daniel Andrade de.  
Parâmetros ambientais determinantes ao bem-estar de animais mantidos em um biotério specific pathogen free de uma instituição pública brasileira / Dayvson Daniel Andrade de Menezes. – 2022.  
44 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Profa. Dra. Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo.
1. Animais de laboratório. 2. Macroambiente. 3. Microambiente. I. Título.

CDD 570

---

PARÂMETROS AMBIENTAIS DETERMINANTES AOBEM-ESTAR DE ANIMAIS  
MANTIDOS EM UM BIOTÉRIO *SPECIFIC PATHOGEN FREE* DE UMA  
INSTITUIÇÃO PÚBLICA BRASILEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso  
submetido à Coordenação do Curso de  
Biologia da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial para  
obtenção do título de Graduado em  
Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina  
Fonseca Lindoso Melo

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

\_\_\_\_\_  
Dr. Wesley Lyeverton Correia Ribeiro (Coorientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela (Examinador)  
Instituto Federal da Paraíba (IFPB)

Dedico esse trabalho a Deus, que me presenteia todos os dias com a energia da vida e me dá forças e coragem para atingir os meus objetivos, ao meu avô e minha mãe, por todo cuidado e dedicação.

## **AGRADECIMENTOS**

Dedico este trabalho em primeiro lugar a Deus, que me deu saúde, sabedoria e força para superar todos os obstáculos que muitas vezes pensei não ser capaz.

A minha mãe, Jociane Andrade, e meu avô Jociê Andrade, por toda dedicação, amor e ensinamentos ao longo de todos esses anos.

A minha orientadora Dra. Ana Carolina Melo, e também ao meu coorientador Dr. Wesley Ribeiro por toda a paciência, os ensinamentos, por acreditarem em mim quando eu mesmo não acreditava, e por me incentivarem a ser melhor.

Aos colegas de turma do curso de ciências biológicas, por compartilharem comigo diversos momentos de descobertas e aprendizados ao longo deste percurso.

A toda equipe da Biotec, pelo fornecimento de dados e materiais que foram fundamentais para o desenvolvimento do trabalho, além da disponibilidade e atenção durante todo o processo.

“Todos os argumentos para provar a superioridade do homem não podem destruir este duro fato: no sofrimento, os animais são nossos iguais.” (Peter Singer)

## RESUMO

A utilização de animais em pesquisas científicas remontam aos períodos da antiguidade, mas somente nas últimas décadas se iniciaram debates relevantes acerca das condições de manutenção desses animais. Visando se adequar às normas legais, os biotérios passaram a se modernizar e começaram a surgir instalações com padrões rigorosos, com atividade regulamentada e supervisionada na tentativa de melhorar as condições de acomodação dos animais e também aumentar a confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados experimentais. Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento e discussão sobre os parâmetros ambientais determinantes ao bem-estar de animais encontrados em um biotério de uma instituição pública brasileira. A fim de se atingir este objetivo, foi realizada uma avaliação sobre os equipamentos, materiais, e métodos de manejo, com potencial interferência no bem-estar dos animais. Ademais, esses dados foram comparados à bibliografia que trata sobre o tema. Os parâmetros observados foram analisados e discutidos. As características discutidas foram divididas entre macroambiente (barreiras sanitárias; temperatura e umidade adequadas; nível de ruído; odores; iluminação; e ventilação) e microambiente (microisolador; manejo dos animais; qualidade da maravalha, água e ração; e densidade populacional de animais). Após análise desses, pode-se inferir que o biotério analisado se apresenta em acordo com as regulamentações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

**Palavras-chave:** Animais de laboratório; Macroambiente; Microambiente.



## ABSTRACT

The use of animals in scientific research dates back to antiquity, but only in the last few decades have relevant debates started about the conditions of maintenance of these animals. In order to adapt to legal norms, animal facilities began to be modernized and facilities with strict standards began to appear, with regulated and supervised activity in an attempt to improve animal accommodation conditions and also increase the reliability and reproducibility of experimental results. Thus, the objective of the present study was to carry out a survey and discussion on the environmental parameters that determine the well-being of animals found in a vivarium of a Brazilian public institution. In order to achieve this objective, an evaluation was carried out on the equipment, materials, and management methods, with potential interference in the welfare of the animals. Furthermore, these data were compared to the bibliography that deals with the subject. The observed parameters were analyzed and discussed. The characteristics discussed were divided into macroenvironment (sanitary barriers; adequate temperature and humidity; noise level; odors; lighting; and ventilation) and microenvironment (microisolator; animal management; quality of wood shavings, water and feed; and animal population density) . After analyzing these parameters, it can be inferred that the animal facility analyzed complies with the regulations of the National Council for the Control of Animal Experiments (CONCEA).

**Keywords:** Laboratory animals; Macroenvironment; microenvironment.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Corredor limpo do Biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da UFC.....	27
Figura 2	– Painel em led das <i>racks</i> ventiladas ( <i>Lab Products</i> ) utilizados para medição de temperatura e umidade.....	29
Figura 3	– Disposição das luzes na sala de alojamento de animais .....	30
Figura 4	– Entradas e saídas de ar na sala de alojamento de animais.....	31
Figura 5	– Aviso disposto no Biotério com pedido de silêncio.....	32
Figura 6	– Micro isolador utilizado para a acomodação de ratos.....	34
Figura 7	– Estação de troca utilizada no manejo dos animais.....	35
Figura 8	– Maravalha de pinus utilizada como cama.....	36
Figura 9	– Bebedouros com água autoclavada .....	37
Figura 10	– Ração peletizada e autoclave utilizada na alimentação dos animais.....	38
Figura 11	– Micro isolador utilizado para a acomodação de camundongos.....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Necessidades nutricionais de roedores.....	39
Tabela 2	– Espaço mínimo recomendado para roedores utilizados em laboratório.....	40

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1</b>	<b>Histórico da experimentação animal</b> .....	<b>8</b>
<b>2.2</b>	<b>Legislação sobre a utilização de animais em pesquisa</b> .....	<b>10</b>
<b>2.3</b>	<b>Tipos de Biotérios</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4</b>	<b>Padrão sanitário</b> .....	<b>13</b>
<b>2.4.1</b>	<i>Classificação conforme o padrão sanitário</i> .....	<b>13</b>
<b>2.5</b>	<b>Finalidade da instalação</b> .....	<b>14</b>
<b>2.5.1</b>	<i>Classificação conforme a finalidade da instalação</i> .....	<b>14</b>
<b>2.6</b>	<b>Ambientes do Biotério</b> .....	<b>15</b>
<b>2.7</b>	<b>Bem-estar</b> .....	<b>16</b>
<b>2.8</b>	<b>Enriquecimento ambiental</b> .....	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>35</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Há mais de um século os animais de laboratório, principalmente roedores, são usados como ferramenta imprescindível em pesquisas científicas. Quase todo o conhecimento produzido na área da biomedicina, como desenvolvimento de vacinas, estudos em farmacologia, toxicologia e virologia necessitam desses biomodelos para sua conclusão. A contínua evolução das ciências biológicas e biomédicas repercute também no desenvolvimento da criação e experimentação animal, tornando necessária uma constante atualização de suas técnicas, procedimentos, e principalmente, um aprimoramento no cuidado e manejo dos animais priorizando sempre o bem-estar.

Assim como o desenvolvimento das ciências com animais de laboratório, também é crescente a preocupação com o bem-estar animal, tanto por parte da comunidade científica como também pela sociedade e instituições defensoras dos animais. Nos últimos anos, a sociedade tem discutido que não é mais suficiente somente o ato de não causar dor ou demais sofrimentos aos animais, uma vez que o estresse também causa interferências que prejudicam a reprodutibilidade dos experimentos. O ideal é que os alojamentos e biotérios forneçam aos animais conforto e homeostase em um ambiente altamente controlado.

A manutenção do bem-estar de animais alojados em biotérios se torna uma tarefa difícil, uma vez que são organismos altamente complexos e todas as variáveis ao seu redor induzem respostas diferentes nesses indivíduos, então a padronização dos ambientes em que estão mantidos esses animais se torna essencial.

Com isso, o objetivo do presente trabalho foi, discutir todos os parâmetros ambientais presentes em um biotério de uma instituição pública, que são determinantes e interferem diretamente no bem-estar e homeostase dos animais.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico da experimentação animal

A utilização de animais na ciência é relatada por grandes pensadores desde a antiguidade. Filósofos como Aristóteles, Alcmaeon e Hipócrates, este considerado o pai da Medicina, realizavam vivissecção em animais com finalidade notadamente observacional e didática com o objetivo de conhecer e comparar a anatomofisiologia animal e humana, além de constatações acerca da configuração e organização dos sistemas internos dos organismos, principalmente de mamíferos (BAEDER, 2012).

Por volta de 150 d.C., Cláudio Galeno talvez tenha sido o primeiro a aplicar a vivissecção em animais com objetivo experimental, ou seja, o uso de teste e observações de variáveis a partir de alterações propositalmente induzidas nesses seres. Os experimentos de Galeno alcançaram grandes descobertas para a época, como elucidações importantes acerca do sistema circulatório e nervoso (STÜLP, 2019). Entretanto, neste período, não existiam debates relacionados à ética e ao bem-estar dos animais utilizado em pesquisa (GUIMARÃES, 2016).

Tanto os estudos de Verssallius em 1540, publicados em sua obra “*De humani corporis fabrica*”, um atlas de anatomia humana onde o autor fez contestações a respeito do trabalho de Galeno, quanto os estudos de William Harvei, em 1628, que demonstraram o funcionamento da circulação sanguínea, fizeram o uso de experimentação em cobaias e revolucionaram o método científico na época (CLUTTON, 2020). Nesse período da história, a ciência e a religião se apresentavam ainda intimamente ligadas. Principalmente no ocidente, por influência de religiões judaico-cristãs que tem na figura humana a imagem e semelhança de Deus, a natureza foi colocada a serviço do homem. Essa concepção, que perdurou por séculos e que mostra suas marcas até os dias atuais, dispensava os questionamentos éticos tanto na experimentação animal quanto nas mais diversas áreas da ciência, evidenciando o antropocentrismo e excluindo do debate a proteção dos animais (DE PONTES REGIS, 2012).

No século XVII, René Descartes formulou sua teoria sobre o modelo animal, conhecida como Teoria Mecanicista, na qual, segundo ele, os animais eram seres desprovidos de alma e, conseqüentemente, não possuíam sentimentos, dor, angústia ou sofrimento (PAIXÃO, 1999). A partir de então, a discussão sobre a ética no uso de animais em experimentos se acendia, entre os que pensavam diferente de Descartes, como Voltaire, Kant e Jeremy Bentham, este talvez tenha sido o que mais se destacou. Os

trabalhos de Bentham são citados até hoje como uma base para a proteção dos direitos dos animais. Destaca-se sua célebre frase: “O problema não consiste em saber se os animais podem raciocinar, tampouco importa se podem falar, o verdadeiro problema é: eles podem sofrer?” (BAEDER,2012).

Em 1859, a publicação da “A origem das espécies” de Charles Darwin impactou profundamente todas as áreas biomédicas. Nas ciências com animais de laboratório, o fato de todos os organismos terem um ancestral comum aproximava todos eles de maneira a considerar definitivamente a extrapolação das evidências científicas com animais para os humanos, o que impactaria em um maior uso desses biomodelos (POLITI, 2008). O fisiologista Claude Bernard defendia o uso de animais em pesquisa, como publicado em seu livro “*Introduction to the Study of Experimental Medicine*”, no qual levantou uma série de hipóteses sobre o fato de os experimentos com animais também depender de um bom delineamento e método científico, entretanto Bernard se dizia indiferente ao sofrimento causado aos animais nos métodos empregados à época (BAEDER, 2012).

O século XX foi marcado por grandes passos em direção à consolidação dos direitos dos animais. Em 1959 na Inglaterra, o zoólogo William Russel e o microbiologista Rex Burch conceituaram em sua obra, *The Principles of Humam Experimental Tecnique*, os princípios dos “3R’s” (*Reduce, Replace, Refine*), que impactou profunda e permanentemente a experimentação animal, norteando, a partir dali o uso desses biomodelos em pesquisas científicas a partir dos princípios para reduzir, refinar e substituí-los (ÁVILA FILHO, 2016). Foi, no mesmo período, que, baseado nos estudos de Kant, o filósofo Peter Singer publicou o livro *Animal Liberation*, no qual ele expôs as condições a quais os animais eram submetidos em linhas de produção de alimentos e cosméticos. O trabalho de Singer baseou-se em uma visão utilitarista em que ele considerava os animais como seres sencientes, ou seja, passíveis de impressões de dor e sofrimento, frente a isso, os seres humanos, animais conscientes, teriam o dever de protegê-los contra qualquer tipo de sofrimento em sua utilização. Em uma corrente mais radical e contrariando os pensamentos de Singer, o filósofo norte-americano Tom Regan defendia a corrente deontologista e lutava pela abolição do uso de animais na ciência. Segundo Reagan a experimentação animal é uma injustiça tal qual foi a escravidão de negros, e reformar injustiças é simplesmente prolongar a injustiça (DA SILVA, 2020).

Durante todo esse período de debates, diversas conquistas em relação ao direito dos animais foram alcançadas, como a criação da *Society for the Prevention of*

*Cruelty to Animals*, ainda em 1824 na Inglaterra, país em que também se estabeleceu, em 1876, a primeira lei que regulamentava o uso de animais em pesquisas científicas (DISNER, 2019).

Mais tarde em 1978, a União das Nações Unidas proclamou, em um evento em Bruxelas, a Declaração Universal dos Direitos dos Animais. Essa declaração considera os animais como seres sujeitos de direitos e expôs uma nova filosofia que deve ser adotada no tratamento com animais nas mais diversas áreas, considerando o valor intrínseco de cada ser vivo e propondo uma conduta de respeito à dignidade dos animais a ser adotada pelos humanos (BAEDER, 2012). Esse contexto evidenciou a necessidade de regulamentar o uso de animais em pesquisas científicas no Brasil, impondo limites a essa prática para eliminar atos de crueldade e de maus-tratos em animais utilizados em experimentação e promover o aprimoramento de aspectos metodológicos e éticos de estudos científicos (GUIMARÃES, 2016).

## 2.2 Legislação sobre utilização de animais em pesquisa

A reflexão trazida por pensadores nos últimos séculos acerca de questões éticas envolvendo animais foi, ao longo do tempo, alterando a percepção da sociedade acerca do tema. Atualmente, a ética e preocupação com o bem-estar no uso de animais nas mais diversas áreas se tornou uma exigência legal que está embasada nos debates e estudos. Registros comprovam a criação de leis que defendiam os direitos dos animais desde o século XVII, mas, de forma mais tardia, a primeira lei, que compreendia exclusivamente o uso de animais em pesquisas, foi estabelecida apenas em 1876, com o *British Cruelty to Animal Act*, na Inglaterra. Entretanto esse documento tratava apenas de animais de grande e médio porte, embora tenha influenciado a legislação de outros países, inclusive (PAIXÃO, 1999). Na América, os Estados Unidos foram pioneiros na criação do *Animal Welfare act*, em 1966, que dentre as principais contribuições legais está a obrigatoriedade de estabelecimento das comissões de ética no uso de animais (*Institutional Animal Care and Use Committee*) (DE PONTES REGIS, 2012).

No Brasil, o processo para a implementação de leis que garantem o direito dos animais ocorreu de forma semelhante, primeiramente com leis que versavam sobre maus tratos a qualquer tipo de animais, como a publicação do Código Civil de 1916, que definia animais como “bens móveis suscetíveis de movimento próprio” (GUIMARÃES, 2016). Cita-se também a promulgação do Decreto-lei 24.645/1934, que colocava todos os



animais em território brasileiro sob tutela do estado, além de definir atos como violência e abandono como maus-tratos. Esse decreto por muito tempo foi usado como diretriz no cuidado de animais na experimentação, uma vez que não existiam leis específicas na época (POLITI, 2008). Em 1941, com a promulgação da lei de contravenções penais, estabeleceu-se pena a quem promovesse atos de maus-tratos contra animais independentemente de seu uso em pesquisas e atividades acadêmicas, apesar de a lei não detalhar as demais atividades da experimentação animal, ainda sim foi considerada um marco por ser a primeira a tratar do assunto mesmo que de forma simples (GUIMARÃES,2016).

Em consequência disso, foi estabelecida a Lei Federal nº 6.638, de 1979, que tratava especificamente de práticas vivisseccionistas no Brasil. Essa Lei autorizava o uso de animais exclusivamente em instituições de ensino superior e tratava ainda do estabelecimento de biotérios e a fiscalização desses estabelecimentos, contudo os termos estabelecidos na Lei nunca foram regulamentados e com isso a mesma não foi colocada em prática (REZENDE, 2008). Foi apenas em 1998, com a criação e devida manutenção da Lei de Crimes Ambientais (Lei 9.605/1998) que se regulamentou sobre as indisciplinas e penalidades em relação aos maus tratos com animais. Essa Lei, atualmente vigente, não é específica para o uso de animais em pesquisas, mas dá grande relevância a essa atividade. Em seu artigo I é descrito que quando recursos alternativos estão disponíveis, é um crime conduzir experimentos dolorosos e cruéis em animais vivos, mesmo que para fins educacionais ou científicos (BAEDER, 2012). Contudo, até o ano de 2008, não existiam leis que tratavam especificamente do uso de animais para fins de ensino e pesquisa.

Em 2008, o Brasil dá um importante passo na área de ações vivisseccionistas no país com a criação da Lei Arouca (Lei 11.794/2008), que está principalmente embasada no princípio dos “3R’s” e busca, acima de tudo, a garantia do bem-estar dos animais. Essa Lei estabelece procedimentos para o uso de animais em ensino e pesquisa em todo o território nacional (DISNER, 2019). Dentre as contribuições da Lei Arouca, considera-se como uma das principais delas a criação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), entidade máxima que regulamenta a experimentação animal no país. Dentre as competências atribuídas ao CONCEA estão, o estabelecimento de normas relacionadas ao uso humanitário de animais para fins pedagógicos e de pesquisa científica, além da formulação de ações para o estabelecimento de centros de criação e de laboratórios de experimentação animal. O CONCEA também

se responsabiliza pelo registro de instituições que promovam atividades na área, bem como administra o cadastro de protocolos experimentais ou de ensino aplicáveis a projetos realizados ou em andamento no país. Outra importante ação implantada pela Lei Arouca foi a criação de Comissões Institucionais de Cuidado e Uso de Animais (CEUA). Estão entre as principais atribuições de uma CEUA, verificar com antecedência os procedimentos de ensino e pesquisa a serem realizados nas instituições a que estão vinculadas para avaliar se estão compatíveis com a regulamentação aplicável, bem como manter cadastro atualizado dos pesquisadores, biotérios e procedimentos realizados ou em andamento na instituição, e enviar cópia ao CONCEA (BRASIL, 2008).

Os biotérios são as instalações nas quais são produzidos e/ou mantidos os animais que serão utilizados em pesquisas. Segundo o CONCEA, essas instalações devem possuir infraestrutura adequada para garantir os requisitos ambientais e sanitários, além de prover bem-estar aos animais ali mantidos (MAJEROWICZ, 2019). Sendo assim, cumprindo com uma de suas atribuições, em 2013, o CONCEA publicou a Resolução Normativa 15 (RN15) que trata especificamente da estrutura física e ambiental básica que deve ser atendida em um biotério. Segundo a RN15, as condições de alojamento, as instalações físicas, as barreiras sanitárias, entre outras medidas, precisam ser adotadas em biotérios como condições essenciais para limitar, ao máximo, alterações fisiológicas e favorecer o bem-estar dos animais, além de serem imprescindíveis para a manutenção da sanidade e minimização da ocorrência de contaminações, uma vez que todas essas condições podem ter repercussão direta nos resultados das pesquisas (ROLIM, 2020).

### 2.3 Tipos de biotérios

A importância da regulamentação da RN15 para o desenvolvimento científico pode ser visto ao se observar como a maioria dos alojamentos de animais e as instalações onde se realizavam pesquisas no Brasil. Os ambientes não eram adequados e não existia controle de variáveis como temperatura e umidade, a ração e água fornecidas aos animais também não possuíam controle biológico, as barreiras sanitárias eram inexistentes e o controle genético e sanitário dos animais eram ineficientes, assim a reprodutibilidade das pesquisas era prejudicada (ANDRADE, 2006). Por outro lado, as adequações exigidas a partir das regulamentações do CONCEA têm como objetivos principal a manutenção e garantia do bem-estar dos animais, bem como a padronização dos ambientes visando a replicação dos experimentos por outras instituições (CEBALLOS, 2018).

A legislação define os critérios e as diretrizes básicas necessárias para a elaboração e organização das instalações para acomodação de animais, ainda assim existem condições que são específicas de acordo com o objetivo do trabalho a ser realizado. Dessa forma, os biotérios podem ser classificados de duas maneiras, uma delas está relacionada à condição de microbiota associada aos animais e às barreiras que são adotadas na organização do biotério, sendo essa denominada de classificação sanitária. A segunda classificação está relacionada à finalidade da instalação animal, ou seja, a que se destinam os animais ali mantidos (LAPCHIK; CARISSIMI, 2017).

## 2.4 Padrão sanitário

O padrão sanitário de biotérios é definido primeiramente pela microbiota associada aos animais, que podem ser bactérias, fungos, vírus e etc. essa característica se torna extremamente importante uma vez que todos esses microrganismos interferem diretamente nas pesquisas (DA SILVA, 2018). A segunda característica faz referência às barreiras sanitárias adotadas na infraestrutura, que são essenciais para eliminar contaminações por organismos indesejáveis (LAPCHIK; CARISSIMI, 2017).

### 2.4.1 Classificação conforme o padrão sanitário

#### a) Axênicos/Germ-free

O termo “axênicos”, ou “*Germ-free*” como são comumente chamados, refere-se a animais completamente livres de microbiota, e só são obtidos a partir de métodos invasivos de histerectomia. Devido à condição microbiológica desses animais, barreiras sanitárias eficientes são indispensáveis, e a sua acomodação só é possível em isoladores, equipamentos que são eficientes na manutenção da condição sanitária impedindo contaminações por diferentes formas de vida (ENCARNAÇÃO, 2014).

#### b) Gnotobióticos

A etimologia da palavra “gnotobióticos” faz referência animais com microbiota associada definida, esses animais possuem algumas formas de vida não patogênicas vivendo em seu organismo. São utilizados em estudos específicos onde é de grande

importância o conhecimento sobre microrganismos associados, com isso, assim como os axênicos, eles necessitam serem mantidos em isoladores, para que a microbiota não seja alterada ao longo de sua vida, as barreiras sanitárias também se fazem necessárias nos ambientes onde esses animais estão alojados (ANDRADE; COUTO, 2006).

c) *Specific Pathogen Free* (SPF)

Os animais livres de patógenos específicos, não possuem uma microbiota definida, mas ainda assim são livres de microrganismos patogênicos para a espécie. Estes diferem dos gnotobióticos uma vez que, apesar de não possuírem alguns organismos específicos, a sua microbiota não é definida. Devem ser alojados em ambientes com barreiras sanitárias e mantidos sob rotinas de higienização rigorosas para que seja mantido o padrão sanitário (MULLER, 2015).

d) Convencionais controlados

Essa classificação delimita animais com microbiota indefinida apesar de estarem livres da maioria dos patógenos. Como não existe restrição em relação a microrganismos associados, os animais são mantidos em biotérios com barreiras de baixa segurança, sem a necessidade de grandes cuidados com a sanidade dos animais (LAPCHIK; CARISSIMI, 2017).

e) Convencionais

Os animais não possuem microbiota definida, e pode haver ocorrência de microrganismos patogênicos e não patogênicos associados, às instalações que abrigam esses animais não apresentam barreiras sanitárias e as colônias são continuamente expostas a diversos tipos de contaminantes (ANDRADE; COUTO, 2006).

## 2.5 Finalidade da instalação

Esta segunda classificação se refere à finalidade da instalação animal e sua definição foi atribuída pelo CONCEA na Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA). Essa tipologia está condicionada

à maneira de como é realizada a utilização de animais na instituição e pode ser definida de três formas:

### *2.5.1 Classificação conforme a finalidade da instalação animal*

#### a) Biotérios de Criação

Os biotérios de criação são aqueles destinados à reprodução e manutenção de animais. Nessas instalações são mantidas as matrizes reprodutoras de diferentes espécies, além disso possuem como objetivo definir e padronizar algumas características inerentes à espécie e linhagens na prole antes que sejam destinadas à experimentação. Dentre as condições que precisam ser controladas, podemos citar algumas como a qualidade genética do animal, o manejo empregado visando torná-lo dócil, o estado de saúde, alimentação, dentre outras (ANDRADE; CARDOSO, 2006). Objetivando suprir tais necessidades, os biotérios, desde a sua concepção, precisam conter elementos que envolvam a boa gestão dos animais e da estrutura física, dentre outros (DE OLIVEIRA CARDOSO, 2001).

#### b) Biotérios de manutenção

Os biotérios de manutenção são aqueles destinados à acomodação de animais, não possuem matrizes e nem podem ser usados para procedimentos experimentais. Os animais podem advir de diversas fontes com padrão sanitário definido ou não, a depender da finalidade da instalação (ANDRADE; CARDOSO, 2006).

#### c) Biotérios de experimentação

Os biotérios de experimentação são destinados à manutenção de animais em experimentação, recebendo-os de biotérios de criação ou manutenção. Recomenda-se sempre que o prédio onde está localizado esse tipo de instalação seja edificado em local próximo aos laboratórios a fim de que se possam prevenir alterações nos resultados decorrentes de um transporte inadequado desses animais. Também pode haver a necessidade de barreiras mais eficientes de acordo com o tipo de agentes manipulados. Por exemplo, em estudos com doenças potencialmente transmissíveis aos humanos toda

a estrutura do biotério bem como o manejo desses animais deve ser feito de modo que forneça segurança aos funcionários e aos pesquisadores envolvidos (POLITI, 2008).

## 2.6 Ambientes do biotério

A padronização do ambiente de um biotério definida pela RN15, tem como objetivo a metodização na criação e manutenção dos animais, na tentativa de um aumento na replicabilidade e também confiabilidade dos estudos realizados. Todos esses padrões foram definidos na tentativa de suprir todas as necessidades e manter o bem-estar. Assim, todo o processo gerencial da instalação animal deve ser pensado de acordo com as peculiaridades da espécie que será acomodada. Ademais, todas as variáveis de macro e microambiente devem ser planejadas, como o manejo, forragem, alimentação, ventilação, temperatura, umidade, etc. Todos esses critérios visam estimular os comportamentos habituais da espécie e diminuir as reações individuais condicionadas pelo estresse (ROLIM, 2020).

O *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* divide o alojamento de animais em macro e microambiente. O microambiente é constituído por todos os fatores com os quais o animal faz contato direto, e também aqueles que delimitam o seu ambiente próximo, como a água e ração fornecidas, a temperatura e umidade no interior da gaiola, a iluminação, etc. A falta de adequação desses fatores induz respostas fisiológicas indesejáveis nos animais e pode aumentar a suscetibilidade à contaminação por microrganismos, por exemplo. O macroambiente é definido pela infraestrutura geral da instalação, bem como as barreiras sanitárias e também alguns aspectos do ambiente secundário como temperatura e umidade na sala. Uma vez controlados e devidamente adequados, esses parâmetros do macro e microambientes permitem a minimização dos estresses e seus efeitos adversos, e principalmente o conforto e qualidade de vida aos animais (NRC, 2014).

## 2.7 Bem-estar

Toda a legislação, a adequação dos ambientes de criação e experimentação, e as demais preocupações acerca do uso de animais de laboratório, tem como principal objetivo o fornecimento e manutenção do bem estar, uma vez que o biomodelo de estudo é um organismo altamente complexo e tudo que está ao seu redor pode induzir uma

variedade de respostas imprevisíveis com um potencial de interferência nos experimentos, com repercussão direta nos resultados obtidos (DE SÁ RODRIGUES, 2021). O bem-estar animal está diretamente ligado à homeostase do organismo, a qual é alcançada quando existe um equilíbrio do ambiente interno frente às constantes alterações do meio externo. Destaca-se que o bem-estar animal, assim como a sua homeostase, não é um estado padrão e estático, estando mais relacionado a uma faixa, a qual pode se alterar levemente sem grandes consequências (VIEIRA, 2013).

Não existe um consenso sobre a definição de bem-estar animal entre os pesquisadores da área. Broom e Johnson (1993) definem bem-estar como “O estado de um organismo após as suas tentativas de se ajustar ao ambiente onde ele está inserido”, outra definição também aceita é a proposta por Mellor (2009), para ele "Bem-estar animal é o estado próprio do animal em um determinado momento, representado pela somatória de todas as experiências emocionais vivenciadas pelos animais decorrentes de fatores internos ou externos aos quais eles estão sujeitos”. Mesmo sem um consenso acerca da definição, algo em comum encontrado em ambas as definições propõem que o bem-estar é condicionado principalmente pela qualidade de vida do animal e isso implica em uma boa alimentação, a harmonia com o ambiente, a possibilidade de realização de atividades específicas da espécie, dentre outras questões (CONCEA, 2018).

Um dos conceitos mais importantes estabelecidos que também é utilizado para avaliar o bem-estar animal são as Cinco Liberdades que foram propostas em 1965 pelo relatório do Comitê Brambell, um comitê criado na Inglaterra formado por diversos pesquisadores e profissionais da agricultura e pecuária do Reino Unido, e mais tarde foram revisadas e novamente publicadas como “Novas cinco liberdades” pela Comissão de Bem-Estar Animal (*Farm Animal Welfare Committee*) do Reino Unido em 2009 (BROOM, 2011). São elas: **1- Liberdade nutricional:** Os animais devem permanecer livres de sede e fome, com uma dieta que lhes ofereça nutrientes suficientes para o bom funcionamento do organismo além de plena saúde; **2- Liberdade ambiental:** O ambiente onde os animais estão inseridos deve oferecer conforto, abrigo e segurança; **3- Liberdade Sanitária:** Os animais devem ser livres de doenças e ferimentos que possam trazer desconforto ou demais consequências, um rápido diagnóstico e tratamento em casos de situações como essas é muito importante. **4- Liberdade comportamental:** Os animais devem ser livres para expressar os comportamentos naturais da espécie, com isso os alojamentos devem propiciar condições de espaço e enriquecimento que favoreçam essas atividades; e **5- Liberdade Psicológica:** Os animais devem ser mantidos livres de estresse

ou qualquer tipo sofrimento, e isso inclui principalmente sensações de medo e angústia (DE SÁ RODRIGUES, 2021).

Atualmente, os princípios legais e morais que norteiam o uso adequado de animais no ensino e na pesquisa tem como alvo a manutenção do bem-estar dos animais durante toda a sua vida. A ausência de condições ideais como as definidas pelo conceito das “Cinco liberdades”, acabam por induzir uma condição de estresse que, por sua vez, pode trazer consequências relevantes para o estudo realizado como um aumento na variabilidade dos dados, aumento na quantidade de animais utilizados para a obtenção de um resultado confiável e a diminuição da reprodutibilidade dos experimentos, por exemplo (DE SÁ RODRIGUES, 2021). Isso mostra a importância de regulação e controle de todas as condições que interagem direta ou indiretamente com os animais no ambiente em que estão alojados, como a iluminação, condições de temperatura e umidade, ruídos no ambiente, o manejo, entre outras (FRAJBLAT, 2008). Diante da complexidade de todos esses fatores, eliminar completamente todas as condições que levam ao estresse não é uma tarefa simples, mas é essencial que todos os esforços sejam feitos visando sempre os reduzir.

## 2.8 Enriquecimento Ambiental

O enriquecimento ambiental pode ser definido como uma alteração no ambiente em que o animal está inserido, na tentativa de aumentar a complexidade do alojamento e promover diferentes estímulos sensoriais, tudo isso com o objetivo de um aumento no bem-estar desses indivíduos (DA SILVA, 2018).

Yerkes (1925) talvez tenha sido o primeiro a identificar a importância do enriquecimento ambiental e social para animais mantidos em cativeiro, ele também evidenciou a importância da replicação de comportamentos naturais da espécie para a promoção do bem-estar desses indivíduos. As técnicas de enriquecimento ambiental e também o conhecimento acerca de seus benefícios tem se desenvolvido continuamente de forma paralela tanto das ciências com animais laboratório, quanto dos avanços éticos realizados na área (DE OLIVEIRA, 2018). Ambientes enriquecidos estimulam a neurogênese em roedores, que está diretamente relacionada com a aplicação de diferentes atividades exploratórias que estimulam o lado cognitivo (FISHER, 2016)

Podemos dividir os tipos de enriquecimento ambiental em cinco diferentes categorias, são elas **1) Enriquecimento físico**, que é utilizado de forma a minimizar as



restrições espaciais por meio de obstáculos e objetos que estimule a atividade dos animais, **2) Enriquecimento cognitivo**, estimula principalmente o aprendizado e é aplicado por meio de jogos e testes que estimulam a capacidade intelectual, **3) Enriquecimento alimentar**, é feito através de um manejo diferente na forma como o alimento é oferecido criando situações diferentes na rotina, **4) Enriquecimento sensorial**, está ligado a estimulação de todos os sentidos como audição, visão, tato, olfato e paladar, e por último **5) Enriquecimento social**, que estimula o contato intraespecífico dos animais alojados (DE OLIVEIRA, 2018).

A utilização de enriquecimento ambiental na manutenção do bem-estar está disseminada também na Lei Arouca (Lei 11.794/2008), a partir das resoluções aplicadas pelo CONCEA. A RN nº30, de 02 de fevereiro de 2016, que estabelece a Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais em Atividade de Ensino e Pesquisa Científica (DBCA), que demonstra a maneira correta de como deve ser realizado o manejo de forma a garantir o conforto e saúde dos animais utilizando também de EA (BRASIL, 2016a), além da RN nº33, de 18 de novembro de 2016, que baixa o capítulo "Procedimentos – Roedores e Lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica do “Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica, e faz elucidações sobre a maneira correta de aplicação do EA, os melhores a serem utilizados para roedores, etc. (BRASIL, 2016b).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar individualmente os parâmetros de microambiente e macroambiente que são determinantes ao bem-estar de animais mantidos em um biotério de uma instituição pública no Brasil.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Avaliar os efeitos e consequências de cada parâmetro aos animais;
- Comparar as atividades realizadas diretamente com os animais com as de outras instituições através de revisão de literatura;
- Definir as características básicas que devem ser encontradas em alojamentos de instalações de experimentação animal;

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em duas etapas. Na primeira fase procedeu-se uma revisão bibliográfica narrativa, tendo como base artigos científicos e demais fontes de dados consideradas relevantes que tratam sobre o ambiente de alojamento de animais em instalações de experimentação animal, a rotina de um Biotério *specific pathogen free* (SPF), e os protocolos estabelecidos para a manutenção do bem-estados biomodelos animais.

Além disso, foi realizado, entre os dias 1 de setembro de 2020 e 10 de janeiro de 2021, um acompanhamento de toda a rotina do Biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC). A partir disso foi realizado um estudo empírico dos protocolos e rotinas empregados no controle e manutenção dos animais com o enfoque no bem-estar.

Toda a fase observacional teve anuência da gestão responsável pela manutenção do equipamento avaliado.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Macroambiente

#### 5.1.1 Arquitetura e barreiras sanitárias

Barreiras sanitárias podem ser definidas como um conjunto de características que engloba a arquitetura do ambiente, equipamentos e procedimentos aplicados na manutenção da sanidade de um local restrito na tentativa de minimizar a probabilidade de infecção por organismos indesejáveis (Carissimi, 2017).

O biotério avaliado possui classificação sanitária SPF, a manutenção da classificação requer o uso de barreiras que impeçam a contaminação das áreas. As primeiras medidas foram observadas na edificação do prédio, as instalações animais estão localizadas no térreo dispensando a utilização de escadas e elevadores que podem dificultar ações de limpeza além de demandarem manutenções dispendiosas, o piso é único fornecendo uma superfície totalmente lisa assim como as paredes e teto, facilitando a higienização, as áreas de alojamento não possuem janelas e as portas possuem tamanho adequado para o transporte de grandes equipamentos FIGURA 1.

Figura 1 – Corredor limpo do Biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da UFC.



**FONTE:** Imagem do autor.

Alguns equipamentos são muito importantes na estabilização do ambiente e se enquadram como barreiras sanitárias. A autoclave de barreira utilizada no biotério,

que realiza a esterilização de materiais por vapor úmido e pressão, também liga um ambiente ao outro impedindo o transporte de contaminantes, as racks ventiladas onde as gaiolas dos animais estão dispostas fornece ar filtrado por filtros HEPA, além de recuperar o ar efluente das gaiolas diminuindo ainda mais as chances de contaminação, o *Pass-Trough* (caixa de passagem) conecta ambientes em diferentes situações de higienização e é utilizado para a passagem de materiais sem que haja contato direto entre os recintos (CARISSIMI, 2017).

Além das características na edificação e dos equipamentos utilizados, existem ainda procedimentos que são aplicados cotidianamente ainda na tentativa de manutenção do status sanitário do biotério. A rotina de higienização das áreas acontece diariamente e é realizada com produtos de desinfecção de forma escalonada, uma vez que nenhum desinfetante é totalmente eficaz, com o objetivo de eliminação de organismos potencialmente patogênicos, para o sucesso da atividade todo o processo é guiado a partir de um procedimento operacional padrão, e os encarregados pela tarefa são previamente treinados (DA SILVA, 2018). Além disso o banho seguido da paramentação com macacão estéril é o procedimento realizado sempre no momento de entrada no ambiente de alojamento de animais, impedindo novamente a entrada de agentes contaminantes nas áreas limpas do biotério.

### 5.1.2 Temperatura e umidade da sala

Segundo o CONCEA (2013) a temperatura na sala dos animais deve ser rigorosamente controlada, oscilações que ultrapassem uma faixa aceitável de até 4°C podem gerar distúrbios comportamentais além de exigirem uma maior demanda metabólica dos animais, a temperatura ideal a ser mantida deve se manter entre 20°-26°C para ratos e camundongos considerando ainda uma temperatura levemente maior no interior da gaiola. A umidade relativa do ar também é cabível de leves alterações, podendo variar entre 40% e 60% sem consequências a saúde dos animais, valores inferiores a 30% ou superiores a 70% devem trazer problemas a colônia.

As condições ideais de temperatura e umidade são mantidas a partir do sistema de ar condicionado em conjunto com as *racks* ventiladas e isoladores que fornecem o ar diretamente aos animais, além disso, os níveis de temperatura da sala são medidos pelo sistema autônomo de consulta em tempo real estabelecido em todos os ambientes do biotério, as racks ventiladas também possui sensores (FIGURA 2) que

forneem informações acerca de temperatura e umidade de seu sistema interno de ventilação que pode variar levemente em relação as medições da sala .

Figura 2 – Painel em led das *racks* ventiladas (Lab Products) utilizados para medição de temperatura e umidade.



FONTE: Imagem do autor.

### 5.1.3 Iluminação e Fotoperíodo

As condições de luminosidade em um biotério podem interferir em aspectos fisiológicos e comportamentais de diversos animais, fatores como a intensidade da luz ou um fotoperíodo inadequado são denominados potencialmente estressantes. A FIGURA 3 mostra a disposição das luzes nos ambientes de alojamento de animais, organizadas de forma que a luz atinja todos os pontos da sala, levando iluminação de igual intensidade para todas as gaiolas propiciando uma condição de bem-estar aos animais, uma boa iluminação se relaciona ainda com boas práticas de manejo além de facilitar as inspeções dos animais que são realizadas diariamente (NRC, 2014). Em sua resolução normativa nº15 o Concea desaconselha o uso de iluminação natural, mas ressalta que a iluminação artificial deve ser o mais próxima possível do natural, é aconselhável também um nível de iluminação de cerca de 325 lux, distante 1 metro do piso (CONCEA, 2013).

O fotoperíodo é considerado um importante regulador de comportamentos reprodutivos e alimentares em diferentes espécies (NRC, 2014). Um dispositivo

automático de controle de luz faz a regulação do fotoperíodo estabelecido em ciclos de 12/12 horas de claro e escuro conforme aconselha o Concea (CONCEA, 2013).

Figura 3 – Disposição das luzes na sala de alojamento de animais.



FONTE: Imagem do autor.

#### 5.1.4 Ventilação e qualidade do ar

A ventilação dos ambientes do biotério tem como principais propósitos o fornecimento adequado de oxigênio para as áreas, a remoção da carga térmica proveniente da atividade dos animais, equipamentos e pessoal no biotério, regulação no teor de umidade e temperatura, a remoção também de contaminantes gasosos no ar além da eliminação de agentes alergênicos ou potencialmente patogênicos dispersos no ar, além também de gerar um gradiente de pressão entre as áreas mais limpas e menos limpas. Vale ressaltar que a ventilação no interior da gaiola é realizada de forma individual pelas racks ventiladas e possui parâmetro diferentes dos encontrados no macroambiente. (NRC, 2014).

O biotério é equipado com um sistema central de ar condicionado denominado *Heating, Ventilation and Air Conditioning* (HVAC), o ar captado do meio externo através do sistema de captação onde passa por um filtro do tipo manta, depois é enviado através de dutos aos *fancoils*, ali o ar é resfriado por água gelada, resfriada nos *chiller*, então o ar passa por um sistema de filtragem por filtros bolsa e filtros de retenção de partículas de alta eficiência, ou, como são chamados *High Efficiency Particulate*

*Arrestance* (HEPA), para que então seja enviado a sala dos animais. Os *fancoils* das salas de animais são individuais, para evitar a transferência de odores e contaminantes entre as espécies. O sistema de ventilação acarreta uma pressão positiva nas salas, fazendo com que o ar saia pelos sistemas de exaustão e seja completamente renovado na sala várias vezes por dia. A FIGURA 4 evidencia as entradas e saídas de ar dispostas nas salas de alojamento de animais.

Figura 4 – Entradas e saídas de ar na sala de alojamento de animais.



**FONTE:** Imagem do autor.

### 5.1.5 Controle de ruídos

Roedores possuem uma audição muito mais sensível que os humanos podendo captar até frequências ultrassônicas, os potenciais prejuízos que podem ser causados induzem alterações nas respostas fisiológicas, imunológicas, além de canibalismo, diminuição no desempenho reprodutivo, etc. (LAPCHIK; CARISSIMI, 2017).

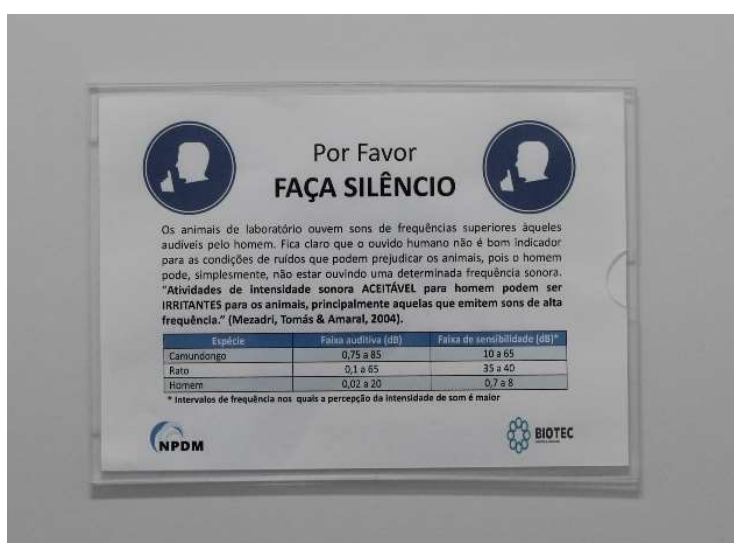
Os efeitos dos ruídos em animais de laboratório estão relacionados à sua frequência, duração, intensidade e intermitência, bem como às características particulares dos animais, como espécie e linhagem. Humanos, ratos e camundongos podem tolerar ruídos de até 85 dB, mas embora um ruído de fundo máximo de 85 dB seja aceitável, mudanças significativas foram relatadas em ratos expostos a ruídos intermitentes de



83dB. A exposição a padrões uniformes resulta em perda auditiva mais precoce, enquanto a exposição a padrões irregulares tem maior probabilidade de resultar em distúrbios devido à ativação repetida do sistema neuroendócrino (CONCEA, 2013).

A FIGURA 5 mostra um dos diversos avisos dispostos nas áreas onde os animais estão alojados e também nos corredores próximos que alertam sobre a necessidade de silêncio no ambiente, além disso todas as ações envolvendo o manejo foram desenvolvidas de forma a amenizar a intensidade e o período de exposição dos animais a esses ruídos que se forem excessivos são muito prejudiciais e podem causar transtornos que em muitas vezes são muito difíceis de serem percebidos.

Figura 5 – Aviso disposto no Biotério com pedido de silêncio.



FONTE: Imagem do autor.

O projeto arquitetônico do biotério também compõe uma das medidas adotadas a reduzir tais danos, salas destinadas a atividades que acabam sendo fontes de ruídos como a higienização e esterilização de materiais foram condicionadas longe das salas de alojamento de animais, além disso a escolha de materiais e equipamentos que foi realizada ainda na edificação considerou a potencialidade dos ruídos advindos das atividades a serem realizadas com tais equipamentos.

### 5.1.6 Controle de odores

O olfato de roedores pode ser considerado como o mais importante dos seus sentidos pela participação na organização social entre os animais. O padrão de deposição de urina nas gaiolas está condicionado a marcação de território além de se relacionar com

o reconhecimento individual e também do grupo. Sobre a disposição de animais nos recintos, sabe-se que ratos são predadores naturais de camundongos, por isso a manutenção das espécies no mesmo local ou até mesmo o manejo das duas espécies de forma seguida sem a higienização das mãos e da troca da roupa antes do manejo da próxima, provavelmente desencadeará respostas de estresse nesses animais (LAPCHIK; CARISSIMI, 2017).

O controle de odores é realizado através do sistema de ventilação e exaustão na sala pelo sistema HVAC, com a pressão positiva induzida na sala e a constante entrada e saída de ar, em cada hora são realizadas algumas trocas completas do ar disponível no recinto, impedindo assim a manutenção de odores indesejáveis e prejudiciais. O controle de odores no interior da gaiola é realizado pela rack ventilada que mantém as gaiolas no sistema *Individually Ventilated Cage (IVC)*, a ventilação é realizada individualmente em cada gaiola com algumas trocas de ar completas por hora, esse sistema tem papel fundamental na diminuição das concentrações de amônia e conseqüentemente no controle de temperatura e umidade no microambiente.

## 5.2 Microambiente

### 5.2.1 *Micro isolador*

As gaiolas para roedores como ratos e camundongos geralmente possuem fundo sólido para a acomodação do material de cama, devem ser produzidas em material autolavável, geralmente são utilizados policarbonato ou polipropileno, não devem possuir cantos vivos, do contrário os animais podem roer essas saliências na tentativa de escaparem. As gaiolas devem permitir a fácil observação dos animais e precisam ser higiênicas e de fácil limpeza, além de permitir a acomodação de água e comida, e principalmente devem fornecer aos animais espaço suficiente para a expressão de comportamentos naturais da espécie (ANDRADE; COUTO, 2006)

Em biotérios SPF, os micro isoladores substituem as gaiolas convencionais pela necessidade de manutenção do status sanitário dos animais, são totalmente isoladas e utilizadas em *racks* ventiladas que fornecem uma ventilação positiva adequada para o controle dos níveis de amônia e umidade, a exaustão é realizada pela tampa na parte superior onde também existe um filtro, esses sistemas garantem a proteção de barreiras para os animais de laboratório e a regulação sustentada de partículas transportadas pelo ar, ajudando a proteger tanto os animais quanto o pessoal.

A FIGURA 6 mostra um micro isolador utilizado para ratos, a figura evidencia a parte de trás da gaiola onde estão as entradas para a inserção do duto de ventilação que vem da *rack*, como mostrado a gaiola é feita em material transparente, facilitando a rotina de cuidados com os animais, a gaiola isola totalmente o meio interno e externo, por isso a abertura da gaiola só deve ser realizada em uma estação de troca, que possui fluxo de ar e filtragem HEPA, para que não haja contaminação.

Figura 6 – Micro isolador utilizado para a acomodação de ratos.



**FONTE:** Imagem do autor.

### 5.2.2 Manejo

O manejo dos animais refere-se a todas as atividades realizadas pelos técnicos ou pesquisadores com os mesmos, isso inclui uma simples contenção ou até mesmo atividades mais complexas como o manejo reprodutivo, manutenção das gaiolas, administração de substâncias, etc. (BARBOSA, 2017). Um manejo correto desses animais implica na diminuição dos níveis de estresse e reflete diretamente em seu bem-estar, com isso um bom treinamento do pessoal responsável pela manutenção e experimentação animal garante a qualidade e uma melhor aplicação do trabalho (NEVES, 2013).

Um biotério com padrão SPF requer ainda mais cautela no manejo dos animais, a FIGURA 7 mostra uma estação de troca que possui um fluxo de ar combinado com a ação de filtros HEPA, com isso esse sistema minimiza a exposição do trabalhador

a partículas e contaminantes, além de proteger os animais de contaminação pelo manejo e também previne contaminações cruzadas por outras gaiolas.

Figura 7 – Estação de troca utilizada no manejo dos animais.



**FONTE:** Imagem do autor.

### 5.2.3 *Material de cama*

O material de cama é utilizado no fundo das gaiolas e tem como principais funções a absorção de urina, aquecer os animais e ainda fornecer material para a construção de ninhos. Algumas características são necessárias para esse material, ele deve possuir grande capacidade de absorção, deve ser hipoalergênico, e deve ser livre de patógenos e contaminantes ou possuir a possibilidade de esterilização. Para roedores o material de cama mais difundido é a maravalha, que são raspas de madeira (ANDRADE; SANTOS, 2006). O material de cama precisa necessariamente ser periodicamente trocado para minimizar o acúmulo de amônia, o tempo para a troca vai depender de acordo com o material utilizado (DA SILVA, 2018).

A FIGURA 8 apresenta a maravalha utilizada no biotério, proveniente de raspas de Pinus ela possui capacidade de absorção de cerca de 300% e é hipoalergênica. Antes de ser utilizada a maravalha passa por um processo de autoclavagem onde é esterilizada por vapor sob pressão. Após a esterilização a maravalha é solta e aerada em uma máquina específica, para que então seja disponibilizada aos animais.

Figura 8 – Maravalha de pinus utilizada como cama.



**FONTE:** Imagem do autor.

#### 5.2.4 Água

A água constitui um importante meio de contaminação e proliferação de microrganismos, por isso a água oferecida aos animais precisa ser microbiologicamente pura e ainda filtrada, em ambientes de biotérios a água é comumente esterilizada em autoclaves (DA SILVA, 2018). Deve ser oferecida aos animais de forma *ad libitum* através de bebedouros apropriados. É muito importante a constante troca dos bebedouros, para que o meio não se torne propício ao crescimento de microrganismos, são comuns entupimentos nos bebedouros, por isso devem ser constantemente inspecionados para que não haja interrupção no fornecimento de água aos animais. (ANDRADE; SANTOS, 2006).

No biotério analisado, a água dos animais é fornecida *ad libitum*, filtrada e posteriormente autoclavada em bebedouros específicos para cada gaiola (FIGURA 9). A rotina de manutenção é realizada uma vez por semana em ratos e camundongos, e diariamente é realizada uma revisão dos bebedouros. A água oferecida aos animais passa ainda por controles microbiológicos de forma periódica.

Figura 9 – Bebedouros com água autoclavada.



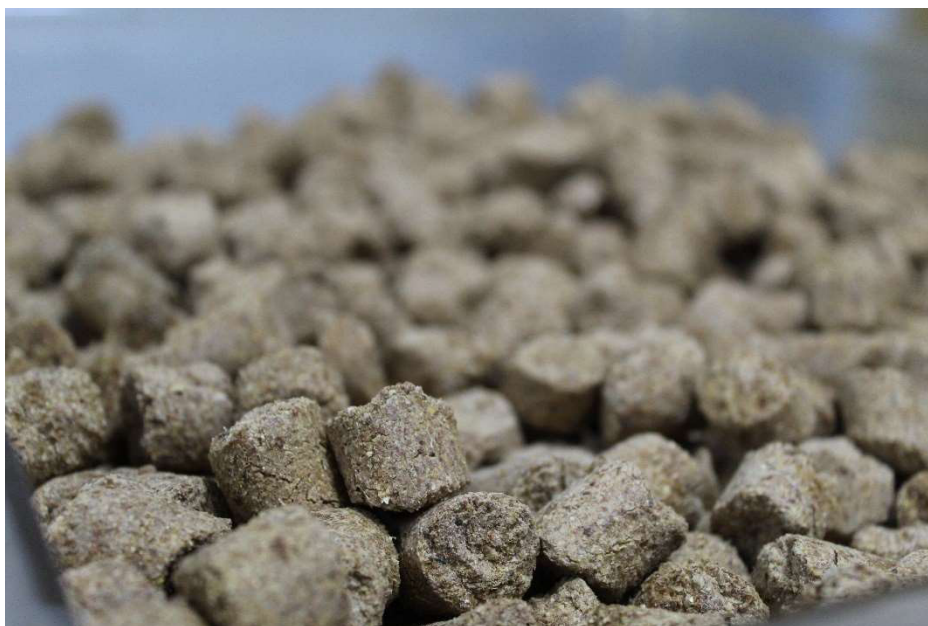
**FONTE:** Imagem do autor.

### 5.2.5 Ração

Assim como a água, a ração deve ser oferecida aos animais de forma *ad libitum*, as rações peletizadas são as mais comuns para roedores, os alimentos industrializados são mais aconselháveis por possuírem um melhor balanceamento nutricional. O método de esterilização pode ser por meio de irradiação ou autoclavagem, as rações que possivelmente passarão por autoclave precisam ter maiores níveis nutricionais, pois durante o processo acontece a perda de alguns nutrientes, e isso pode gerar deficiência nutricional nos animais. Os sacos de ração devem ser inspecionados no seu recebimento, e não devem ser estocados diretamente no chão, a umidade e iluminação do local do estoque também deve ser monitorada (DA SILVA, 2018).

A FIGURA 10 apresenta a ração peletizada utilizada no biotério. Esse insumo é acondicionado em sala própria com umidade e temperatura controladas pelo sistema de ar condicionado, os sacos são dispostos em paletes com distância para o chão e paredes até o momento da esterilização. Para o uso a ração é esterilizada em autoclave e condicionadas em caixas específicas até o momento do uso.

Figura 10 – Ração peletizada e autoclavada utilizada na alimentação dos animais.



**FONTE:** Imagem do autor.

Sobre as necessidades nutricionais que devem ser atendidas pelas rações comerciais utilizadas, o *American Institute of Nutrition* (AIN) em 1973 constituiu uma comissão com o desígnio de nomear uma dieta padrão que fosse acolhida nos estudos nutricionais experimentais com roedores de laboratório, uma vez que, as dietas utilizadas eram baseadas em cereais e ingredientes naturais que se tornavam muito variáveis, por isso a padronização dos estudos era necessária para diminuir essas variáveis afim de favorecer a padronização dos animais e experimentos. Após diversas tentativas que não obtiveram sucesso em 1989 foi elaborado um workshop no decorrer da reunião *Federation of the American Societies for Experimental Biology* (FASEB). Com o efeito do workshop e propostas, foram sugeridas novas dietas levando em consideração quatro diferenças na fase de vida dos ratos e camundongos, como: crescimento, gestação, lactação e manutenção. Na fase de crescimento, gestação e na lactação, recomendou-se utilizar a dieta AIN-93G, e para a seguinte fase de manutenção do animal adulto a dieta AIN-93M (DA ROSA TOLAZZI, 2015).

Tabela 1 – Necessidades nutricionais de roedores.

NUTRIENTES	NECESSIDADE NUTRICIONAIS	
	AIN-93G	AIN-93M
Energia total (Kcal/Kg)	3776	3601
Proteína bruta (%)	19,3	14
Fibra (%)	4,7	4,7
Cálcio (%)	0,5	0,5
Fibras (%)	0,3	0,3
Lípideos (%)	17	10

**FONTE:** Adaptado de Reeves et al. (1993).

### 5.2.6 Densidade de animais por gaiola

A densidade populacional no interior da gaiola é um importante parâmetro e deve ser levado em consideração por afetar diretamente o bem-estar dos animais, o número de organismos acondicionados juntos deve levar em consideração as dimensões da gaiola e deve permitir que os animais se locomovam livremente e executem os comportamentos naturais da espécie sem empecilhos. Uma densidade inadequada pode levar a um aumento de temperatura, umidade e também uma maior concentração de amônia no interior da gaiola, além disso podem ser relatadas alterações fisiológicas e comportamentais com um aumento de agressividade e canibalismo (DA SILVA, 2018).

Existem diversos fatores que devem ser levados em consideração no momento da definição do espaço necessário a ser utilizado no alojamento dos animais. Não se deve ter em mente apenas o peso dos animais, variáveis como a idade por exemplo também são muito importantes, uma vez que, animais jovens necessitam de muito mais espaço do que adultos, por serem mais ativos durante essa fase, além disso fêmeas em manejo de reprodução também necessitam de mais espaço, principalmente porque os animais recém-nascidos são mantidos com a mãe até o desmame. A Tabela 2 apresenta a alocação do espaço mínimo recomendado para ratos e camundongos mantidos em biotérios.



Tabela 2 – Espaço mínimo recomendado para roedores utilizados em laboratório.

<b>Animal</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Área de piso (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Altura (cm)</b>
Camundongos (em grupo)	>25	≥ 96,7	12,7
Camundongo fêmea com ninhada	-	330	12,7
Ratos (em grupo)	>500	≥ 451,5	17,8
Rato fêmea Com ninhada	-	800	17,8

**FONTE:** Adaptado de NRC (2014).

No biotério analisado para o presente estudo as gaiolas de camundongos possuem um dimensionamento de 32 cm x 22 cm x 19cm, podendo abrigar no máximo 6 animais (FIGURA 11), já as gaiolas de ratos possuem dimensionamento de 32 cm x 45cm x 19 cm, podendo abrigar no máximo 3 animais, fêmeas com filhotes ainda na fase de aleitamento de ratos e camundongos podem ultrapassar essas quantidades, após o período determinado para o desmame os filhotes são separados de acordo com os limites estabelecidos.

Figura 11 – Micro isolador utilizado para a acomodação de camundongos.



**FONTE:** Imagem do autor.

## 6 CONCLUSÃO

O bem-estar de animais de experimentação está diretamente associado aos resultados das pesquisas. Uma condição de estresse gera respostas comportamentais e fisiológicas nos indivíduos que podem repercutir nos resultados de experimentos. A manutenção do bem-estar animal pode corroborar para a redução da quantidade de biomodelos utilizados, o que seria benéfico tanto do ponto de vista organizacional, mas, sobretudo, ético.

Os fatores de macroambiente analisados, tais como a temperatura, umidade, ruídos, dentre outros, são determinantes ao bem-estar dos animais. Os parâmetros analisados no biotério objeto do presente estudo se encontram condizentes com o que foi analisado na literatura revisada, sendo assim eficientes em suas propostas de manutenção da homeostase e minimização do estresse e suas interferências nos experimentos realizados no setor.

Assim como os fatores de macroambiente, as variáveis encontradas no microambiente como a qualidade da água, ração e etc. também são determinantes ao bem-estar dos animais, esses fatores podem afetar diretamente os processos fisiológicos e comportamentais desses organismos, além de possuírem potencial para alterar a suscetibilidade dos animais à patógenos.

Os resultados mostraram que o biotério analisado apresenta diversos parâmetros macro e micro ambientais que asseguram o bem-estar dos animais mantidos naquela unidade.

## REFERENCIAS

ANDRADE, Antenor. O Bioterismo. In: \_\_\_\_\_. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. 1ª ed. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2006. P. 18-22.

ÁVILA FILHO, S. ; FERREIRA, K. ; SANTOS, T. ; RODRIGUES, R. ; SILVA, L. A. PRINCÍPIOS BIOÉTICOS E LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA E ENSINO. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, [S. l.], v. 13, n. 23, 2016. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1259>. Acesso em: 13 jan. 2022.

BAEDER, Fernando Martins; Padovani, Maria Cristina Ramos Lima; Moreno, Débora Cristina Alves; Delfino, Carina Sinclér. Percepção histórica da bioética na pesquisa com animais: possibilidades. **Bioethikos**, v. 6, n. 3, p. 313-320, 2012.

BARBOSA, R. M. **Diagnóstico das atividades e manejo de animais no biotério do CAV**. 2017. 31 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2017.

BRASIL. **Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008**. Regulamenta o inciso VII do parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2008. Disponível em: <http://bit.ly/2Ghb5ZU>. Acesso em: 21 dez. 2021.

BRASIL. **Resolução Normativa nº30, de 02 de fevereiro de 2016<sup>a</sup>**. Baixa a Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais em Atividade de Ensino e Pesquisa Científica – DBCA; revoga a Resolução Normativa nº 12, de 20 de setembro de 2013; e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2016. Disponível em:< [shorturl.at/uvV68](http://shorturl.at/uvV68)>. Acesso em 15 jan. 2022.

BRASIL. **Resolução Normativa nº33, de 18 de novembro de 2016<sup>b</sup>**. Baixa o Capítulo "Procedimentos – Roedores e Lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica" do Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2016. Disponível em:< [shorturl.at/fhpC6](http://shorturl.at/fhpC6)>. Acesso em 15 jan. 2022.

BRASIL. **Resolução Normativa nº15, de 16 de dezembro de 2013**. Baixa a Estrutura Física e Ambiente de Roedores e Lagomorfos do Guia Brasileiro de Criação e Utilização de Animais para Atividades de Ensino e Pesquisa Científica. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2013. Disponível em:< [shorturl.at/bewF2](http://shorturl.at/bewF2)>. Acesso em: 13 jan. 2022.

BROOM, D.M. Bem-estar animal. In: YAMAMOTO, M.E; VOLPATO, G.L. **Comportamento Animal**. 2. ed. Natal: Editora da UFRN, 2011. p. 457-482.

BROOM, D.M; JOHNSON, K.G. **Stress and Animal Welfare**. 1. ed. Dordrecht: Springer, 1993.

CARDOSO, Celia. Classificação de biotérios quanto à finalidade. In: ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; DE OLIVEIRA, Rosilene Santos. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. 1ª ed. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2006. P. 28-31.

CARISSIMI, Andre Silva. Desenho Arquitetônico e Tecnologias Para Alojamento. In: LAPCHIK, Valderéz Bastos Valero; MATTARAIA, Vania Gomes de Moura; KO, Gui Mi. **Cuidados e manejo de animais de laboratório**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2017. P. 49-70.

CEBALLOS, Maria Camila; SANT'ANNA, Aline Cristina. Evolução da ciência do bem-estar animal: Aspectos conceituais e metodológicos. **Rev. Acad. Cienc. Anim**, v. 16, p. 1-24, 2018.

CLUTTON, R. Eddie. An Anglocentric History of Anaesthetics and Analgesics in the Refinement of Animal Experiments. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1933, 2020.

CONCEA. **ORIENTAÇÃO TÉCNICA Nº 12/CONCEA DE 18 DE MAIO DE 2018**. Dispõe sobre parâmetros de bem-estar animal que visam a balizar as atividades de ensino ou pesquisa científica no âmbito do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2018. Disponível em: < [shorturl.at/hkAHN](http://shorturl.at/hkAHN) > Acesso em: 28 nov. 2021.

COUTO, Sebastião. Classificação dos animais de laboratório quanto ao status sanitário. In: ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; DE OLIVEIRA, Rosilene Santos. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. 1ª ed. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2006. P. 58-64.

COUTO, Sebastião. Equipamentos, materiais e insumos. In: ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; DE OLIVEIRA, Rosilene Santos. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. 1ª ed. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2006. P. 44-54.

DA SILVA, Tarinê Cortina Poeta Castilho; SALOMÃO, Kátia; NEVES, Antonella Marques. A ética animal em Peter Singer e Tom Regan em virtude da problemática dos direitos universalizáveis dos animais. **Revista Diaphonía**, v. 6, n. 1, p. 253-262, 2020.

DA SILVA, Welverson Marlon Oliveira. **GUIA DE BIOSSEGURANÇA EM INSTALAÇÃO ANIMAL (BIOTÉRIO) PARA UTILIZAÇÃO DE CAMUNDONGOS (*Mus musculus*) EM PESQUISAS BIOMÉDICAS**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência em animais de laboratório) – Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2018

DE OLIVEIRA, Gabriel Melo; BRÜCK, Miguel Ângelo; MARTINS, Thais Veronez de Andrade. **Enriquecimento Ambiental: Qual a melhor forma de utilização do Enriquecimento Ambiental para camundongos em biotério?**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2018. E-book. Disponível em: < [shorturl.at/eglyV](http://shorturl.at/eglyV) >. Acesso em 15 jan. 2022.

DE OLIVEIRA CARDOSO, Telma Abdalla. Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. **Boletim Del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa**, v. 64, n. 67, p. 3-17, 2001.

DE PONTES REGIS, Arthur Henrique; CORNELLI, Gabriele. Experimentação animal: panorama histórico e perspectivas. **Revista Bioética**, v. 20, n. 2, p. 232-243, 2012.

DA ROSA TOLAZZI, Julia; GARCIA, Rejane Doile; BEZERRA, Aline Sobreira. Nutrição experimental: conceitos, aspectos éticos e dietas experimentais. **Disciplinarum Scientia**, v. 16, n. 1, p. 147-162, 2015.

DE SÁ RODRIGUES, R; DA SILVA SORES, L; ALBUQUERQUE, W; NEVES, C; & DE MENDONÇA, I. Bem-estar animal na pesquisa científica–Revisão de literatura. **Jornal Interdisciplinar de Biociências**, v. 6, n. 1, p. 30-34, 2021.

DISNER, Geonildo Rodrigo. Métodos alternativos à experimentação animal: aspectos éticos, históricos e legais no Brasil. **Evidência**, v. 19, n. 2, p. 259-274, 2019.

ENCARNAÇÃO, Andressa. **Ocorrência de ecto e endoparasitos em ratos (rattus norvegicus) no biotério central da universidade federal do amazonas**. 2014. 32 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina veterinária) – Escola Superior Batista do Amazonas (ESBAM), Manaus, 2014.

FISCHER, Marta Luciane; AGUERO, Windy Pacheco; RODRIGUES, Gabriela Santos; SIMÃO-SILVA, Priscila; MOSER, Ana Maria. Enriquecimento ambiental como princípio ético nas pesquisas com animais. **Revista Bioética**, v. 24, n. 3, p. 532-541, 2016.

FRAJBLAT, Marcel; AMARAL, Vera L. Lângaro; RIVERA, Ekaterina A.B. Ciência em animais de laboratório. **Ciência e cultura**, v. 60, n. 2, p. 44-46, 2008.

GUIMARÃES, Mariana Vasconcelos; DA CRUZ FREIRE, José Ednésio; DE MENEZES, Lea Maria Bezerra. Use of animals in research: a brief review of legislation in Brazil. **Revista Bioética**, v. 24, n. 2, p. 217-224, 2016.

MAJEROWICZ, Joel. Planejando biotérios de roedores. **RESBCAL**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 9-23, 2019.

MELLOR, D.J; PATTERSON-KANE, E; STAFFORD, K.J. **The Sciences of Animal Welfare**. 1. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009.

MULLER, C. A; RAMOS, S; SAISSE, A. O; ALMOSNY, N. R. P. Videocâmeras em biotérios de experimentação: importante ferramenta no controle da contaminação ambiental na microbiota de camundongos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 689-697, 2015.

NEVES, Silvânia M. P; PRATES, Flávia de Moura; RODRIGUES, Livia Duarte; SANTOS, Renata Alves; FONTES, Renata Spalutto; SANTANA, Roseni de Oliveira. **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de**

**Produção e Experimentação.** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2013. Disponível em: <shorturl.at/aisBP>. Acesso em 15 jan. 2022.

PAIXÃO, Rita Leal; SCHRAMM, Fermin Roland. Ética e experimentação animal: o que está em debate?. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 15, p. 99-110, 1999.

POLITI, Flavio Augusto Sanches; MAJEROWICZ, J; CARDOSO, T.A.O; PIETRO, R. C. L. R; SALGADO, H. R. N. Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 1, p. 17-28, 2008.

RESEARCH, Intitute of Laboratory Animal (NRC). **Guia para o cuidado e uso de animais de laboratório.** 8. ed. Porto Alegre: EdiPUCRS - PUC RS, p.267, 2014.

REZENDE, Angélica Heringer de; PELUZIO, Maria do Carmo Gouveia; SABARENSE, Céphora Maria. Experimentação animal: ética e legislação brasileira. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 237-242, 2008.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee on their formulation of the AIN-76A Rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

JHONNES RAMOS ROLIM, W. **Desenvolvimento de um sistema de monitoramento dos fatores temperatura, umidade, amônia e luminosidade da sala de criação do biotério do IPEN.** 2020. 49 p. Dissertação (Mestrado em tecnologia nuclear), Instituto de Pesquisas Energeticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em:< shorturl.at/bkvTY>. Acesso em: 10 jan. 2022.

SANTOS, Belmira Ferreira. Macro e microambientes. In: ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; DE OLIVEIRA, Rosilene Santos. **Animais de laboratório: criação e experimentação.** 1ª ed. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2006. P. 54-58.

STÜLP, Camille Bertha; MANSUR, Samira Schultz. O estudo de Claudio Galeno como fonte de conhecimento da anatomia humana. **Khronos**, n. 7, p. 17-17, 2019.

VIEIRA, Camila Brados Farias. **Bem-estar na experimentação animal.** 2013. 31 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

YERKES, R.M. **Almost Human.** 1. ed. New York: Century, 1925.