

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BACHARELADO EM ODONTOLOGIA**

RAYSSA MENDES CAVALCANTE

**REQUISITOS BÁSICOS PARA A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM PESQUISAS
LABORATORIAIS**

**PATOS-PB
2014**

RAYSSA MENDES CAVALCANTE

**REQUISITOS BÁSICOS PARA A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM PESQUISAS
LABORATORIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação de Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Paulo de Andrade Santos

**PATOS-PB
2014**

RAYSSA MENDES CAVALCANTE

**REQUISITOS BÁSICOS PARA A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM PESQUISAS
LABORATORIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação de Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Paulo de Andrade Santos

Aprovado em ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Paulo de Andrade Santos – Orientador
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Prof^ª. Dra. Cyntia Helena Pereira de Carvalho – 1^º Membro
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Prof^ª. Dra. Keila Martha Amorim Barroso – 2^º Membro
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Dedico este trabalho a Deus, por ser essencial em minha vida, pois a cada dificuldade Ele se faz presente, fortalecendo-me na fé, iluminando meus pensamentos para as melhores escolhas, sempre me dando força, proteção e discernimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me sonda em todos os momentos, conhece as minhas maiores necessidades, cura todas as minhas feridas, restaura todos os meus erros, dando-me oportunidade de querer e ser uma pessoa cada dia melhor. Fortalece-me nas horas mais frágeis, cuidando de mim como a menina dos seus olhos, não me desamparando um segundo sequer. Obrigada meu Senhor!

A minha amada mãe, Maria Lúcia Mendes, por ter me ensinado o que é o amor, a fé e a dignidade; obrigada por tanto cuidado, esforço e por acreditar sempre em mim.

Ao meu pai, Rivaldo Emídio Cavalcante, pelo amor, pelas sábias palavras de incentivo, sempre me mostrando o lado simples e sereno da vida.

A minha irmã, Rivianny Mendes Cavalcante, por todo o amor, apoio e companheirismo.

A Ana, uma segunda mãe, agradeço por todo o cuidado, amor e dedicação.

Aos meus avós, tios e primos, por fazerem parte da minha vida, sempre me dando tanto carinho.

Ao meu noivo, Deusdedit Filho, pessoa que se tornou essencial na minha vida, neste momento final; agradeço por toda a dedicação, por não me deixar sozinha em nenhum momento, dividindo todas as alegrias e tristezas. Você é o meu porto seguro! Hoje olho para trás e vejo como essa caminhada ficou mais fácil, mais leve com todo o seu companheirismo, amor e zelo por mim.

Aos amigos da graduação, em especial as minhas “Bac’s”, Alane Sonally, Brisa, Lucélia, Luênia, e Soyara e ao agregado Jadson, por toda a ajuda, companheirismo, risadas e lágrimas. Todos vocês se tornaram verdadeiros irmãos para mim.

As amigas de infância, Hortência, Gabriela, Heloíse e Tâmara, que sempre estão na torcida pelo meu sucesso.

A minha dupla na Clínica, Luênia Lisboa, por todo o companheirismo, paciência e disponibilidade.

Ao meu orientador, Pedro Paulo de Andrade Santos, exemplo de dedicação e compromisso pelo que faz, os agradecimentos vão muito além da excelente orientação deste trabalho. Sou grata pelas oportunidades que me foram dadas ao longo de toda a graduação, de trabalhar pela primeira vez com a pesquisa científica,

pelas monitorias, pela supervisão na produção de artigos científicos, pelo apoio, incentivo e confiança, obrigada por todos os conhecimentos transmitidos.

Aos professores que compõem a banca examinadora, Professora Cytia Helena, Professora Keila Martha e Professor Pedro Paulo, pela disponibilidade de participar e pelas futuras contribuições pessoais que irão engrandecer este trabalho.

Aos professores da graduação, por todos os ensinamentos, em especial a Rachel Rodrigues, Maria Carolina Bandeira Macena, Elizandra Silva da Penha, Rodrigo Rodrigues, Faldryene Sousa Queiroz, Cytia Helena, Tássia Cristina de Almeida Pinto Sarmiento, Rosana Rosendo, Keila Matha, Jocianelle Nunes e Julierme Rocha.

Ao Professor de Línguas Elisson Farias, por todas as orientações e pelas constantes palavras de incentivo, obrigada por ser essa pessoa maravilhosa.

Aos Professores do Colégio Nossa Senhora de Lourdes e Colégio Motiva, responsáveis pela construção da base de todo o conhecimento que me proporcionou chegar até este momento.

Aos pacientes que procuraram atendimento na Clínica Escola de Odontologia da UFCG, por toda a compreensão, paciência e respeito ao meu aprendizado.

A todos os funcionários da UFCG – Campus Patos-PB, em especial a Damião, Neuma, Patrícia, Poliana, Soró, Diana, que sempre atendem as nossas solicitações com muita disposição e bom humor.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, passaram pela minha vida e contribuíram para a formação de quem hoje sou.

“A Ele a glória, a Ele o louvor, a Ele o domínio, Ele é o senhor!” (Padre Marcelo Rossi)

RESUMO

A experimentação animal foi e continua sendo base importante para o entendimento da fisiologia e fisiopatologia devido às similaridades com os seres humanos principalmente em se tratando de roedores. O êxito neste tipo de pesquisa está diretamente relacionado às condições ideais oferecidas a esses animais, tendo em mente a preocupação de eliminar qualquer tipo de estresse, dor ou sofrimento, seguindo os Princípios Humanitários de Experimentação Animal, enfatizando o compromisso em aprimorar e modernizar técnicas com o objetivo de tornar mais eficaz o experimento, utilizando o menor número de espécimes possível. Neste trabalho de revisão, objetivamos mostrar os principais fatores e cuidados que devem ser considerados para o bom andamento da pesquisa laboratorial envolvendo animais.

Palavras-chave: Ética em pesquisa. Experimentação Animal. Modelos Animais.

ABSTRACT

Animal experimentation remains important to understand the physiology and pathophysiology due to similarities with humans especially when dealing with rodents basis. Success in this type of research is directly related to the ideal conditions offered to the animals, keeping in mind the concern to eliminate any kind of stress, pain or suffering, according to the Humanitarian Principles of Animal Experimentation, emphasizing the commitment to enhance and modernize techniques with the goal of making more effective the experiment, using the fewest possible specimens. This review article aimed to show the main factors and care that should be considered research proper conduct involving laboratory animals.

Keywords: Animal Experimentation. Animal models. Ethic in Research.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C	Antes de Cristo;
CEUA	Comissões de Ética no Uso de Animais;
CO₂	Dióxido de Carbono;
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal;
d.C	Depois de Cristo;
LCMV	Lymphocytic choriomeningitis;
TCL	Temperatura Crítica Inferior;
TCS	Temperatura Crítica Superior;
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande;
ZTN	Zona Termoneutra.

LISTA DE SÍMBOLOS

- °C Grau Celsius;
- °F Grau Fahrenheit;
- % Por Cento.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS.....	14
2.2 USO DE ANIMAIS EM PESQUISA CIENTÍFICA	15
2.3 ASPECTOS ÉTICOS.....	16
2.4 LEGISLAÇÃO.....	17
2.5 PROTOCOLO	18
2.5.1 Condições Ideais de um Biotério	18
2.5.1.1 Instalações Físicas	19
2.5.1.2 Gaiolas	20
2.5.1.3 Cama.....	21
2.5.1.4 Iluminação	21
2.5.1.5 Temperatura	22
2.5.1.6 Umidade Relativa	22
2.5.1.7 Ruídos	23
2.5.2 Manejo dos animais	23
2.5.2.1 Alimentação.....	23
2.5.2.2 Hidratação	24
2.5.2.3 Contenção Física	24
2.5.2.4 Anestesia.....	25
2.5.2.5 Eutanásia	27
2.5.2.6 Aquisição dos animais.....	27
2.5.2.7 Principais Doenças dos Camundongos, Ratos e Hamsters	28
REFERÊNCIAS	31
3 ARTIGO	33
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
ANEXO A - Normas de Submissão da Revista	55
ANEXO B - Carta Aceite.....	61

1 INTRODUÇÃO

A evolução das ciências médicas está relacionada com a utilização de animais nos trabalhos de pesquisa científica. Desta forma, os estudos através de modelos experimentais são de fundamental importância, não só em razão aos avanços que permitem o conhecimento dos mecanismos dos processos vitais, mas também pelo aperfeiçoamento dos métodos de prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006).

As discussões éticas acerca da experimentação animal surgem do conflito em ponderar o avanço da ciência em detrimento da integridade física e bem-estar do modelo biológico. Assim, os experimentos são considerados éticos quando resultam em benefício direto para a saúde humana e animal, contribuindo com novos conhecimentos sobre fisiologia e comportamento dos seres vivos, planejados de forma a evitar estresse, dor ou sofrimento desnecessário aos animais (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006).

É imprescindível seguir um protocolo ideal, uma vez que os parâmetros exigidos pelos comitês nacionais e internacionais de ética e bem-estar que normatizam as pesquisas laboratoriais no que diz respeito ao uso de animais é pré-requisito para o bom andamento das pesquisas assim como para a publicação em periódicos. Deve haver por parte do pesquisador uma grande organização, que aliada a um projeto de pesquisa bem planejado, diminui o número de espécimes utilizados, maximiza os resultados gerando um alto nível de reprodutibilidade e precisão. Assim, é de extrema importância seguir normas no que se refere à padronização da genética, à observação de condições adequadas no transporte, treinamento de técnicas em experimentação animal, gestão de informação, biossegurança, dieta, anestesia, cuidados pré e pós-operatórios, analgesia, eutanásia, bem como o ambiente no qual os animais são acondicionados, levando em consideração iluminação, temperatura, umidade e sonoridade (DAMY et al., 2010).

No Brasil, tais protocolos são norteados pela Lei 11.794, promulgada em 08 de outubro de 2008, que normatiza o uso científico de animais em pesquisas laboratoriais. A mesma instituiu a implantação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, abertura de Comissões de Ética no uso de Animais além de determinar os procedimentos e as responsabilidades para uso destes em laboratório.

Todos os protocolos envolvendo espécies classificadas como filo Chordata, subfilo Vertebrata devem ser submetidos à aprovação por esta comissão e só poderão ser iniciados após a sua autorização (MACHADO et al., 2010).

Desta forma, o objetivo deste artigo é contribuir para a literatura científica, apresentando uma revisão ampla e atualizada da literatura, com enfoque nos principais critérios exigidos pelos comitês de ética e bem-estar animal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

Grandes civilizações antigas contribuíram para o desenvolvimento intelectual no campo da saúde, a exemplo de egípcios, gregos, hebreus e islâmicos. Em muitos desses estudos eram utilizados animais, principalmente por hebreus e islâmicos, pois violar corpos humanos era uma ofensa contra suas crenças (SEELIG, 2007).

Hipócrates e Aristóteles, nos séculos IV e III a.C, desenvolveram trabalhos com a utilização de animais, baseados na patologia comparada, constatando semelhanças e diferenças de conformação e funcionamento (REZENDE; PELUZIO; SABARENSE, 2008).

Posteriormente, Galeno (131-201 d.C) ficou conhecido como um dos precursores das ciências médicas experimentais, realizando vivisseções com finalidades experimentais (RAYMUNDO; GOLDIM, 2007).

O filósofo francês René Descartes (1596-1650) influenciou cientistas do século XVII a pensar que os animais não poderiam sentir dor, por serem seres desprovidos de uma alma racional, algo inerente apenas ao homem. Assim, as investigações saíram de um campo observacional e descritivo e passaram a ser mais invasivas e experimentais (ROCHA, 2004).

A partir dos anos 1800, a utilização de animais em pesquisas científicas foi intensificada. Em contrapartida, nesta mesma época surgiram as primeiras sociedades protetoras dos animais como, por exemplo, a Sociedade para a Proteção dos Animais, criada na França em 1845 (RAYMUNDO; GOLDIM, 2007).

Houve um crescente interesse da comunidade científica internacional, a partir da década de 1970, pelo o estabelecimento de padrões bioéticos internacionais comuns. Os comitês de ética surgiram na década de 90, no intuito de padronizar as inspeções em pesquisas experimentais com animais e desde então periódicos em todo o mundo rejeitam artigos submetidos sem aprovação de comitês de ética (REZENDE; PELUZIO; SABARENSE, 2008).

2.2 USO DE ANIMAIS EM PESQUISA CIENTÍFICA

A experimentação animal possibilitou o avanço da fisiologia e da fisiopatologia, e muitas inovações incorporadas aos cuidados em saúde humana não seriam possíveis sem a utilização de modelos biológicos (REZENDE; PELUZIO; SABARENSE, 2008).

Diversos exemplos na literatura ressaltam a importância do uso de animais em pesquisas para obtenção de bons resultados, como a descoberta e o aperfeiçoamento de vacinas eficazes, como por exemplo a vacina contra a difteria maligna. Muitos autores corroboram a ideia de que o aumento na expectativa de vida humana, bem como, tratamentos de doenças cardíacas, diabetes, vacinações, entre outras situações são exemplos de benefícios conquistados por meio de modelos animais em estudos. Mais de 70% dos principais avanços biomédicos estão relacionados às experiências com animais (SEELIG, 2007).

As espécies animais utilizadas como modelos nas investigações científicas da área biomédica, devem possuir similaridades biológicas, anatômicas e fisiológicas. Estes animais devem ser gerados e mantidos em condições ideais, em um ambiente controlado, sob um rigoroso acompanhamento microbiológico, genético e sanitário (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006; DAMY et al., 2010).

Uma análise quantitativa da literatura demonstra que roedores representam 90% dos animais utilizados em experiências, sendo que destes, 64% são camundongos e 26% ratos. Coelhos representam 9% do total e outras espécies, a exemplo de macacos, cães e gatos, somam juntas 1% (ANDERSEN et al., 2004; CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006). Entre outras vantagens, os roedores apresentam tamanho e custo reduzido, fácil adaptação à diversos ambientes, excelente capacidade reprodutiva, gerações de curta duração, boa sociabilidade, linhagens geneticamente bem definidas e facilidade de cuidado e manejo (ANDERSEN et al., 2004; CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006; MEZADRI; TOMÁZ; AMARAL, 2004). O pesquisador deve atentar-se também para a padronização dos animais, uma vez que diminui o número necessário destes para atingir a finalidade da pesquisa (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006; MEZADRI; TOMÁZ; AMARAL, 2004).

2.3 ASPECTOS ÉTICOS

A ideia filosófica de que os animais, por serem desprovidos de alma racional eram incapazes de sentir dor, proposta por René Descartes, influenciou por muito tempo a comunidade científica. Porém, Charles Darwin com a teoria da evolução das espécies, estimulou a percepção de que as preocupações morais com os homens deveriam se estender aos animais, pois segundo ele o homem também é um animal. Avanços nos estudos do comportamento animal demonstraram que estes, assim como os homens, são detentores de consciência e memória, são capazes de sofrer, ter medo e sentir dor, bem como lutar pela vida. Todo esse conhecimento sobre o comportamento animal estimulou o surgimento de diversos movimentos e entidades a favor dos cuidados com os animais e antiviviseccionistas (GIRÃO; ROCHA, 2004).

Amplamente utilizado em investigações científicas, o termo bem-estar animal é notoriamente aceito em documentos oficiais e declarações públicas. Refere-se ao estado físico e emocional do animal em relação ao seu meio ambiente, envolvendo ainda conceitos como o de sofrimento, dor, ansiedade, medo, estresse, saúde, ou ainda necessidade de liberdade, felicidade, competição e controle. Condições fisiológicas a exemplo de fome, sede e libido afetam o bem-estar animal, porém deve-se entender que uma homeostasia ou completa harmonia com o ambiente, é um estado relativo, dinâmico e susceptível à diversas interferências intrínsecas ou extrínsecas, não sendo possível para humanos ou animais manter-se nesse equilíbrio por longos períodos. Processos somáticos dos organismos animais também são amplamente modificados pelo estado emocional destes (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006).

Dessa forma, os experimentos considerados éticos são aqueles que resultam em benefício direto para a saúde humana e animal, contribuindo com um maior conhecimento sobre a fisiologia e o comportamento dos seres vivos, sem deixar de lado o bem-estar animal. Os experimentos devem ser planejados para utilizar o menor número de animais, evitar estresse, dor ou sofrimento desnecessário aos mesmos, de acordo com o Princípio Humanitário de Experimentação Animal, conhecido como Princípio dos 3Rs (*Reduce, Replace e Refine*). Em que *Reduce* (redução) orienta a diminuir o número de animais usados para se obter a informação de uma amostra com maior precisão; *Replace* (substituição) determina repor ou substituir os animais por alternativas tecnológicas ou por espécies menos sensíveis, estabelecendo que qualquer método científico que empregue material sem

sensibilidade possa substituir os que utilizam animais em experimentação; e *Refine* (refinamento) que propõe o desenvolvimento de técnicas em favor da diminuição na incidência ou severidade de procedimentos desumanos aplicados àqueles animais utilizados em pesquisa (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006; FIN; RIGATTO, 2007; MACHADO et al., 2010).

Devido a todas as discussões éticas que existem em torno do uso de animais em pesquisas laboratoriais, os profissionais do meio científico estão cada vez mais inclinados ao uso de métodos alternativos que não envolvam modelos biológicos. Exemplos de alternativas para substituir animais são: o uso de modelos matemáticos, culturas de células ou tecidos, modelos sintéticos, simulações por computador e até mesmo animais que morreram por causas naturais (RAYMUNDO; GOLDIM, 2007).

A soma de informações e conhecimentos no que se refere ao uso de espécimes animais em pesquisas ainda é bastante elevada, o que torna inviável a total substituição destes modelos por métodos que não envolvam modelos biológicos (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006). A genética tem influenciado positivamente no uso de animais de laboratório em pesquisas, pois tem possibilitado uma produção cada vez maior de espécimes geneticamente modificados, que apresentam características específicas, tornando-os apropriados para o estudo de diversas patologias e fenômenos fisiológicos. Atualmente existem cerca de 10 mil linhagens de camundongos utilizadas como modelo para estudo das mais diversas doenças humanas (FRAJBLAT; AMARAL; RIVERA, 2008).

2.4 LEGISLAÇÃO

Mais do que uma questão ética, o uso de animais em experimentos científicos deve seguir a leis vigentes de cada país, as quais estão intimamente relacionadas aos valores culturais (DAMY et al., 2010). A primeira lei a regulamentar o uso de animais em pesquisa foi proposta no Reino Unido, através do *British Cruelty to Animal Act*, em 1876. A mesma está em vigor até hoje, tendo porém sofrido ampla reformulação em 1986 (RAYMUNDO; GOLDIM, 2007).

No Brasil em 1934, o Decreto Federal de nº 24.645 constituiu a primeira afirmação pública do direito ao bem-estar animal, onde foi estabelecido multa e até prisão a aqueles que cometessem atos de crueldade a qualquer animal. Abusos

efetuados com interesse científico também eram penalizados, mesmo que timidamente (REZENDE; PELUZIO; SABARENSE, 2008).

Em 2005, foi promulgada em São Paulo a Lei Estadual nº 11.977 que pela primeira vez no Brasil determinou um código de proteção aos animais. Por falta de uma legislação federal regulamentada até então, outras leis de caráter local surgiram, a exemplo da Lei Municipal 13.943, de 2004, da cidade de São Paulo, que proibia a entrega de cães e gatos recolhidos pelo Centro de Controle de Zoonoses do município às instituições e centros de pesquisa e ensino. Alguns decretos foram sancionados e posteriormente revogados na cidade do Rio de Janeiro (DAMY et al., 2010).

A regulamentação do uso de animais em pesquisas científicas só aconteceu em 8 de outubro de 2008, pela Lei de nº 11.794 e Decreto 6.899 de 15 de setembro de 2009, após 13 anos de tramitação no congresso nacional. Esta lei estabeleceu a implantação do CONCEA, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, e as CEUAS, Comissões de Ética no Uso de Animais (MACHADO et al., 2010).

A lei 11.794 exerceu avanços significativos no que se refere à orientação e regulação do uso de animais em pesquisas no Brasil, pois até então só existiam normas não específicas sobre o tema, utilizadas por extensão para regulamentação desta prática científica. Leis anteriores a exemplo da Lei 6.638 estabeleciam normas para a vivissecção de animais, porém não correspondia aos anseios e necessidades dos pesquisadores por ser imprecisa e incompleta. A nova Lei, diferentemente do que ocorria até então, abrangeu todo o território nacional, a implantação do CONCEA foi um ponto importante desta lei, que dotou este conselho de poder para credenciar instituições as quais poderiam criar e utilizar animais para fins científicos, além de normatizar o uso e cuidado destes. Instituições que desejam se credenciar no Conceca deverão constituir, previamente, Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUA (MARQUES; MORALES; PETROIANU, 2009).

2.5 PROTOCOLO

2.5.1 Condições Ideais de um Biotério

A qualidade das instalações de um Biotério reflete diretamente nos dados do estudo, pois permite que os animais possam crescer, amadurecer, reproduzir, mantendo sempre uma boa saúde, reduzindo assim as variações que podem afetar os resultados da pesquisa. Os animais devem ser alojados de maneira que facilite a expressão de comportamento típico da espécie e minimize os comportamentos induzidos pelo estresse (ESTADOS UNIDOS, 2012; ÍNDIA, 2001).

2.5.1.1 Instalações Físicas

As instalações físicas de um biotério devem ser livres de umidade, as portas à prova de ferrugem, poeira e pragas, sendo importante também colocar barreiras contra roedores nas portas de cômodos que alojam pequenos animais. Janelas não são recomendadas para instalações de pequenos animais, no entanto, em locais onde falhas no fornecimento de energia são frequentes e que não possuem geradores, pode ser necessário proporcionar uma fonte alternativa de luz e de ventilação. Paredes e tetos devem ser livres de rachaduras e infiltrações, as superfícies devem ser capazes de resistir à lavagem com detergentes, desinfetantes e ao impacto de água sob alta pressão. O piso deve ser construído em material antiderrapante, não absorvente, resistente ao desgaste de ácidos e solventes, assim como aos efeitos adversos de detergentes e desinfetantes (ÍNDIA, 2014).

Os materiais empregados na construção de um biotério devem ser selecionados para proporcionar uma eficiente higienização, os mesmos devem ser duráveis, à prova de umidade, resistentes ao fogo, sem costuras ou grandes espaços de rejunte, resistentes contra pragas e vermes. Os corredores devem ser grandes o suficiente para facilitar a circulação de pessoas, bem como de equipamentos e devem ser mantidos sempre limpos. Linhas de água, tubos de drenagem e conexões elétricas devem, preferencialmente, ser acessíveis através de painéis de serviço ou vias nos corredores, fora das salas de animais. Depósitos devem ser projetados para o estoque de alimentos, roupas de cama, gaiolas e materiais não utilizados. Um ambiente separado refrigerado é essencial para o armazenamento de resíduos de tecidos animais (ÍNDIA, 2001).

2.5.1.2 Gaiolas

As gaiolas devem proporcionar um ambiente confortável aos animais, permitindo liberdade de movimento e um local de descanso adequado a cada espécie. As mesmas devem ser projetadas de forma a evitar fugas, proporcionar fácil acesso ao alimento e água, fornecer ventilação adequada, atender às necessidades biológicas dos animais, manter os animais secos e limpos, sendo coerente com os requisitos de cada espécie. Devem ainda, permitir a interação social dentro da mesma espécie, ou entre gabinetes, assim como a observação dos animais com o mínimo de perturbação destes. Elas devem ser construídas com materiais resistentes, duráveis e projetadas para minimizar infecções cruzadas entre as unidades vizinhas. É importante a esterilização destas antes de receberem os animais. Prateleiras, acessórios e equipamentos, tais como alimentadores e dispositivos de água, devem ser lavados e desinfectados com freqüência para mantê-los limpos e livres de contaminação (ESTADOS UNIDOS, 2002).

Para facilitar a manutenção e saneamento, as gaiolas devem ter superfícies lisas e impermeáveis de modo a não atrair nem reter sujeira, assim como um número mínimo de saliências, ângulos e cantos, sem que a sujeira ou água possa acumular. Dispositivos de alimentação e bebedouros devem ser de fácil acesso para o abastecimento, mudança, limpeza e manutenção. As gaiolas devem ser mantidas em bom estado para evitar lesões aos animais, promover conforto físico, facilitar o saneamento e assistência técnica. Uma atenção especial deve ser dada para eliminar arestas e fios quebrados, mantendo o piso das gaiolas em bom estado (ESTADOS UNIDOS, 2002).

Quanto a higienização, uma boa prática é ter gaiolas extras disponíveis em todos os momentos, para que uma programação de limpeza sistemática das gaiolas possa ser mantida. Gaiolas podem ser desinfectadas por lavagem com água a uma temperatura de 82.2°C (180°F) ou mais, durante um período de tempo suficiente para assegurar a destruição de organismos patogênicos vegetativos, uma desinfecção também pode ser realizada com produtos químicos apropriados. Monitorização microbiológica periódica é útil para determinar a eficácia dos processos de desinfecção ou esterilização. Coelhos e alguns roedores, como hamsters, tem produção de urina com uma concentração elevada de proteínas e sais minerais que muitas vezes aderem às superfícies das gaiolas e necessitam de tratamento com soluções ácidas antes da lavagem. Garrafas de água, tubos, rolhas,

e equipamentos de rega, entre outros, também devem ser lavados e desinfetados em seguida com água de, pelo menos, 82.2°C (180°F) ou agentes químicos (por exemplo: hipoclorito) para destruir os organismos patogênicos (ÍNDIA, 2001).

2.5.1.3 Cama

Material de cama deve ser absorvente, livre de quaisquer substâncias que possam prejudicar os animais ou pessoas e de um tipo que não seja facilmente consumido pelos animais, o que poderia alterar os dados da pesquisa. Cedro e produtos de madeira macia não tratada podem alterar o metabolismo de um animal (por exemplo, as enzimas do fígado), o que por sua vez pode afetar imunologicamente ou outros parâmetros fisiológicos. O material de cama deve ser utilizado em quantidade suficiente e trocado tão frequentemente quanto for necessário para manter os animais limpos e secos e as salas que os animais são acomodados relativamente livre de odores. A frequência da troca depende de vários fatores, incluindo o número de animais, espécie, tipo de gaiolas e o tipo de material de cama, lembrando que o material de cama não deve entrar em contato com os tubos de água (GODARD, 2001).

Os critérios desejáveis para o material de cama de roedores são: ser esterilizável, não formar produtos deletérios como resultado da esterilização, facilmente armazenáveis, não contaminados, improvável de ser mastigados, não tóxico, não fétido, encaixável, descartável por incineração, prontamente disponível, permanecer quimicamente estável durante o uso, manifestar uniformidade no lote, otimizar o comportamento animal normal, não deletério para as gaiolas e não perigosos para quem for manipular (ESTADOS UNIDOS, 2002).

2.5.1.4 Iluminação

A luz pode afetar a fisiologia, morfologia e comportamento de vários animais. A intensidade luminosa, a duração da exposição, comprimento de onda de luz, pigmentação do animal, temperatura corporal, estado hormonal, idade, espécie, sexo, entre outros fatores, devem ser considerados quando se estabelece um nível de iluminação no ambiente do animal (ÍNDIA, 2014). Estudos em roedores e primatas têm demonstrado a importância das células ganglionares da retina, intrinsecamente fotossensíveis, para a regulação neuroendócrina, circadiano e neurocomportamentais. Estas células podem responder aos comprimentos de onda

de luz, sendo influenciadas pelo tipo de iluminação, a intensidade da luz, e comprimento de onda selecionados para certos tipos de pesquisa (Estados Unidos, 2002). Em geral, as luzes devem ser dispostas ao longo da área de alojamento de animais e devem fornecer iluminação suficiente para o bem-estar dos mesmos, permitindo boas práticas de manutenção, inspeção adequada dos animais, inclusive em baixo das gaiolas, prateleiras e deve promover condições de trabalho seguras para os profissionais (ÍNDIA, 2014).

2.5.1.5 Temperatura

A manutenção da temperatura do corpo dentro da variação circadiana normal é necessária para o bem-estar dos animais. Os animais devem ser alojados dentro de uma faixa de temperatura e umidade apropriadas a espécie, para que eles possam se adaptar com o mínimo de estresse e alteração fisiológica. O intervalo de temperatura ambiente no qual ocorre a termorregulação, sem a necessidade de aumentar a produção de calor metabólico ou ativar mecanismos de perda de calor por evaporação é chamado de zona termoneutra (ZTN) e é limitada pelas temperaturas críticas superiores e inferiores (TCL), por exemplo, o ZTN de ratos varia entre 26 °C e 34 °C (ESTADOS UNIDOS, 2011).

Algumas condições exigem temperaturas ambientais aumentadas como, por exemplo, recuperação em pós-operatório, animais recém-nascidos, roedores com fenótipos sem pêlos, répteis e anfíbios em certas fases da reprodução. A magnitude do aumento da temperatura depende de detalhes do ambiente, por vezes o aumento da temperatura se dá somente no microambiente por meio da utilização de almofadas de aquecimento para a recuperação pós-operatória ou fontes de calor radiante para répteis, em vez de aumentar a temperatura de todo cômodo. O ar condicionado é um meio eficaz de regular a temperatura de ambientes para animais de laboratório. Idealmente, o sistema deve permitir variações dentro do intervalo de 18 a 29°C (64,4 a 84.2°F) que inclui uma gama de temperaturas geralmente recomendadas para animais de laboratório comuns (ESTADOS UNIDOS, 2002).

2.5.1.6 Umidade Relativa

A umidade relativa deve ser controlada dentro de um intervalo de 30% a 70%. O ar do ambiente deve ser constantemente renovado, em geral, uma taxa de 10 a 15 trocas de ar por hora é considerado um padrão aceitável. Em climas onde é

difícil prever um nível suficiente de umidade relativado do meio ambiente, os animais devem ser cuidadosamente monitorizados para que se evitem efeitos negativos (ESTADOS UNIDOS, 2011).

2.5.1.7 Ruídos

A exposição de som pode ter efeitos variáveis sobre os animais, fontes geradoras de ruídos a exemplo de atividades humanas, animais ruidosos, equipamentos, devem ser minimizados em áreas de alojamento de animais. Ambientes devem ser projetados para acomodar os animais que fazem barulho, ao invés de recorrer a métodos de redução do ruído produzido por estes (ESTADOS UNIDOS, 2002).

2.5.2 Manejo dos animais

2.5.2.1 Alimentação

A alimentação tem grande importância nos resultados das pesquisas científicas, não somente com relação às concentrações adequadas de nutrientes, mas também dos não nutrientes. Tanto os ingredientes de origem vegetal como animal podem conter uma variedade de substâncias fisiologicamente ativas, naturais ou como resultado de contaminação. Algumas com importância em experimentação animal são: micotoxinas, nitrosaminas, pesticidas, formas orgânicas de metais pesados, saponinas e fitoestrógenos, muitas possuem propriedades carcinogênicas (DAMY et al., 2010). O alimento fornecido aos animais deve ser palatável, livre de contaminação, nutricionalmente adequado, obtidos a partir de uma fonte confiável, em quantidade suficiente para garantir o crescimento normal em animais imaturos e manutenção do peso corporal normal e reprodução em adultos e também ser livre de metais pesados, por exemplo, chumbo, arsênio, cádmio, níquel e mercúrio (ÍNDIA, 2001). As áreas em que a alimentação é transformada ou armazenada devem ser mantidas limpas e fechadas para evitar a entrada de insetos e roedores silvestres (ESTADOS UNIDOS, 2002).

Dietas específicas devem ser selecionadas com base nas necessidades de cada espécie, com especial consideração das necessidades de vitamina C por roedores e algumas espécies de primatas não humanos. Os animais devem ser

alimentados pelo menos uma vez ao dia, exceto em condições de hibernação, tratamento veterinário, jejuns pré-processuais, ou outras circunstâncias excepcionais (ESTADOS UNIDOS, 2006).

2.5.2.2 Hidratação

Água potável deve estar disponível de forma contínua ou fornecida quantas vezes forem necessárias para a saúde e bem-estar do animal, considerando a espécie, idade, condições, e os requisitos da pesquisa. A água pode ser fornecida em recipientes ou através de sistemas automáticos. Seja qual for o método utilizado, devem-se tomar cuidados para garantir que a água não fique contaminada (ÍNDIA, 2001). A monitorização periódica de contaminação microbiana da água é necessária, pode ser tratada ou purificada para eliminar contaminantes, no entanto, alguns tratamentos de água podem causar alterações fisiológicas e na microflora do animal, afetando os resultados experimentais. Dispositivos de rega tais como, tubos de beber e bebedouros automáticos, devem ser examinados rotineiramente para assegurar um correto funcionamento, permeabilidade e limpeza. Os animais, ocasionalmente, precisam ser treinados para usar os dispositivos de rega automática. Garrafas de água devem ser substituídas e higienizadas, ao invés de apenas reabastecidas (ESTADOS UNIDOS, 2002).

2.5.2.3 Contenção Física

Breve contenção física dos animais se faz necessário para a realização de exames, recolher amostras, e uma variedade de outras manipulações experimentais e clínicas, podendo ser realizadas manualmente ou com dispositivos adequados em tamanho e forma para que o animal seja mantido e operado adequadamente, minimizando a tensão e evitando lesões no animal. Porém a retenção prolongada de qualquer animal deve ser evitada a não ser que seja primordial para os objetivos da pesquisa. Sistemas menos restritivos, como o sistema de corda ou o pólo e sistema de colarinho deve ser usado quando compatível com os objetivos da pesquisa. Esses dispositivos de retenção não podem ser usados simplesmente como uma conveniência no manuseio ou para gestão de animais. Cuidados veterinários devem ser fornecidos se lesões ou doenças forem observadas. A presença de lesões, doença ou mudança de comportamento grave, deve ser tratada pelo afastamento

temporário ou permanente do animal de contenção da pesquisa (RIBEIRO; AZEVEDO, 2001).

2.5.2.4 Anestesia

A dor é um fator estressante e, se não for aliviada, pode levar a níveis inaceitáveis de estresse e angústia em animais. Por estas razões, o uso adequado de anestésicos e analgésicos em animais de pesquisa é um aspecto imperativo ético e científico (ESTADOS UNIDOS, 2012). Se um animal de laboratório é adversamente afetado pela dor ou angústia, os dados recolhidos a partir desse animal podem não ser confiáveis. Por outro lado, quando os animais são bem tratados, fornecem as respostas biológicas ou comportamentais habituais que os pesquisadores precisam examinar (ESTADOS UNIDOS, 2006).

Os cientistas devem assegurar que os procedimentos que são considerados dolorosos sejam realizados sob anestesia adequada, como recomendado para cada espécie de animal. Também deve ser assegurado que o anestésico administrado terá efeito por toda a duração do experimento e em nenhum momento o animal sentirá dor durante o experimento. Os efeitos colaterais, como salivação excessiva, convulsões, agitação e desorientação devem ser prevenidos ou controlados adequadamente (ÍNDIA, 2001).

O animal deve permanecer sob os cuidados de um profissional experiente, até que se recupere completamente da anestesia e stress pós-operatório, mantendo o animal alojado individualmente durante todo o período de recuperação (ÍNDIA, 2001). Certas manifestações comportamentais peculiares à cada espécie são utilizadas como indicadores de dor ou sofrimento, por exemplo, vocalização (nos cachorros), depressão (em todos), inapetência (em todos), respiração rápida ou difícil (nos roedores, aves, peixes), o aumento da agressão (mamíferos e aves), a aparência ou postura anormal (todos), e imobilidade (todos). No entanto, algumas espécies podem mascarar os sinais de dor. Portanto, é essencial que os profissionais responsáveis por cuidar dos animais sejam treinados para reconhecer indicadores clínicos, comportamentais, fisiológicos, bioquímicos e individuais de bem-estar (ESTADOS UNIDOS, 2006).

A seleção de analgésicos e anestésicos apropriados devem refletir o julgamento do profissional veterinário, como aquele que melhor atende aos requisitos clínicos, bem como as necessidades do protocolo de pesquisa. A escolha

depende de muitos fatores, tais como a espécie, idade, o tipo e o grau da dor, os efeitos prováveis de agentes em sistemas de órgãos específicos, a natureza e a duração da cirurgia ou do procedimento de indução, e a segurança do agente anestésico. A administração de agentes anestésicos no pré e trans-operatório aumenta a estabilidade do animal durante a cirurgia e otimiza cuidados pós-operatórios e o bem-estar, reduzindo a dor (GODARD, 2001).

O controle não farmacológico da dor pode ser eficaz e não deve ser ignorado como um dos elementos de cuidados no pós-operatório, por exemplo um local de descanso escuro, aumento da temperatura ambiente, superfície de repouso macio e um retorno à alimentação normal através do uso de alimentos altamente palatáveis, podem ajudar na recuperação do animal (ESTADOS UNIDOS, 2002).

É necessário cuidados pré-anestésicos para os animais, no caso dos roedores, devem incluir uma revisão do histórico sanitário da colônia e aspecto físico do animal. A administração parenteral do agente anestésico constitui o método mais comum em roedores. O volume da droga, o local da administração e propriedades irritantes do agente devem ser considerados. Para minimizar erros em injeções intraperitoneais, o jejum de quatro horas e o uso de agulha 20-22 são recomendados. A água não deve ser restringida (DAMY et al., 2010). Além do jejum é recomendado para animais usar pré-anestésicos, que bloqueiam a estimulação parassimpática do sistema cardio-pulmonar e reduz a secreção salivar. A atropina é mais comumente usada como agente anti-colinérgico. Os anestésicos locais são usados para bloquear o estímulo nervoso a uma área limitada, e são utilizados apenas para procedimentos rápidos e menores. Isto deve ser realizado sob supervisão de um especialista para a infiltração regional do local, bloqueios nervosos cirúrgicos, peridural e raquianestesia. Um certo número de agentes anestésicos gerais são utilizados sob a forma de inalantes, injeções intravenosas ou intramuscular, tais como barbitúricos (ESTADOS UNIDOS, 2006).

Se em algum momento durante a experiência o investigador sentir necessidade de abandonar o experimento ou que ele infligiu ferimentos irreparáveis, o animal deve ser sacrificado por um método apropriado de eutanásia (ÍNDIA, 2001).

2.5.2.5 Eutanásia

Eutanásia consiste no sacrifício do animal por métodos que induzem a inconsciência e a morte rápida. Deve estar prevista no protocolo experimental e realizada ao final do experimento por razões éticas. O procedimento deve ser realizado de forma rápida e indolor em uma atmosfera livre de medo ou ansiedade. Deve causar distúrbios fisiológicos e psicológicos mínimos, ser compatível com a finalidade do estudo, executado em um local separado das salas dos animais e livres de contaminantes ambientais (ÍNDIA, 2014).

O método de realização da eutanásia deve ser confiável, irreversível e a escolha deste dependerá da natureza do estudo, espécie e idade do animal a ser morto. Geralmente, os agentes químicos, por exemplo os barbitúricos, são preferíveis aos métodos físicos, a exemplo do deslocamento cervical, por decapitação ou pelo uso de um parafuso prisioneiro penetrante, no entanto, considerações científicas pode impedir a utilização de agentes químicos para alguns protocolos. Outros estudos são necessários para otimização dos métodos de eutanásia com CO₂ em roedores. A aceitabilidade de CO₂ como agente de eutanásia para pequenos roedores devem ser avaliada com os novos dados que se tornam disponíveis. Além disso, os roedores neonatais são resistentes aos efeitos de indução de hipoxia de CO₂ e requerem tempos de exposição mais longos ao agente (ÍNDIA, 2001).

É essencial que a eutanásia seja realizada por profissionais especializados. A morte deve ser confirmada por estes que devem ser treinados para reconhecer a cessação dos sinais vitais nas espécies que estão sendo sacrificadas. Somente após ter a garantia que o animal está morto, este será enviado para ser eliminado. Quando infectados, os cadáveres podem ser incinerados ou recolhidos por uma empresa licenciada (ESTADOS UNIDOS, 2011).

2.5.2.6 Aquisição dos animais

Os pesquisadores devem solicitar com antecedência a permissão para usar animais em experimentos científicos, quando ocorre o consentimento dos modelos biológicos o mesmo deve apresentar um plano detalhado a um comitê de revisão na instituição de como será a pesquisa utilizando os animais. Este plano de uso contém o seguinte: Justificativa para o uso de animais; as espécies e números a serem

utilizados; descrição completa da proposta de utilização dos animais; descrição das rotinas, explicando que a dor e o desconforto serão reduzidos nos procedimentos didáticos, através do uso de analgésicos, anestésicos, tranquilizantes e descrição do método de eutanásia que será utilizado (ESTADOS UNIDOS, 2006).

Todos os animais devem ser adquiridos legalmente, e a instituição de recepção deve assegurar que todos os procedimentos que envolvem a aquisição de animais serão realizados de forma legal. Antes da obtenção do animal, deve haver uma aprovação do uso de animais por comitês e o investigador principal deve confirmar que há instalações e conhecimentos suficientes para abrigar e gerenciar as espécies que estão sendo adquiridas (RIBEIRO; AZEVEDO, 2001). Fornecedores potenciais devem ser avaliados quanto a qualidade dos animais que disponibilizam. Em geral, os animais utilizados para fins científicos não devem ser obtidos a partir de lojas de animais de estimação ou distribuidores, devido a origem desconhecida e também ao potencial de causar riscos à saúde dos profissionais e aos outros animais (ESTADOS UNIDOS, 2011).

2.5.2.7 Principais Doenças dos Camundongos, Ratos e Hamsters

Animais utilizados em pesquisas científicas, quando acometidos por doenças, alteram profundamente os resultados experimentais. Atualmente é perceptível um maior refinamento na qualidade dos animais de laboratório, principalmente dos camundongos, ratos e hamsters, assim como um aumento na necessidade em prevenir, controlar e manter a saúde e o bem-estar desses animais (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

As doenças do trato respiratório estão entre as enfermidades mais comuns nos camundongos, ratos e hamsters. O Vírus Sendai, um dos principais agentes patogênicos que acometem o trato respiratório de camundongos e ratos, quando causa a infecção pela primeira vez, a doença se propaga por toda a colônia, causando assim estertores e dispnéia, gestação prolongada, morte neonatal ou pós-desmame e menor ganho de peso dos animais em crescimento. Depois de instituída a imunidade, em dois meses, a colônia volta ao normal. Em camundongos, infecção pelo vírus Sendai altera os parâmetros fisiológicos e em ratos interfere diretamente na mitogênese de células T, também afetando estudos sobre carcinogênese. A sua transmissão ocorre pelo contato direto ou por aerossóis, sendo a via de infecção o

trato nasal e o seu período de incubação é em média de 9 a 14 dias (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

A associação deste ao *Mycoplasma pulmonis* é comum em camundongos e ratos. Em se tratando de Hamsters, infecções das vias respiratórias são, com maior frequência, ocasionadas por bactérias dos gêneros *Salmonella*, *Pasteurella*, *Streptococcus*, no entanto alguns desses agentes patológicos fazem parte da microbiota natural do trato respiratório desta espécie. Pneumonia, conjuntivite, otite média e interna e encefalite, são as principais manifestações clínicas que podem ocorrer em decorrência desta infecção (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

Com alta patogenicidade o *Mycoplasma pulmonis* tem sido indicado como o principal agente causador de infecções respiratórias em ratos. Este também pode infectar Hamsters, camundongos e cobaias. A literatura demonstra alta morbidade e mortalidade dos animais infectados por este micoplasma, ocasionando interferência na interpretação dos resultados experimentais. Entre outras manifestações clínicas pode ocorrer, rinite, dejeção nasal mucosanguinolenta, pneumonia com dispneia, otite média e interna, que induz a um comportamento de andar em círculo, debilidade progressiva, podendo também infectar o trato genital das fêmeas, determinando baixa fertilidade ou mesmo a infertilidade completa (TEDESCO; BLATT; CORDOVA, 2011).

A ileíte proliferativa é uma grave infecção intestinal que acomete hamsters, ocasiona altas taxas de mortalidade entre os lactentes e caracteriza-se por uma diarreia fétida e aquosa. O quadro clínico é agravado pelo estresse do confinamento e os sintomas são, letargia, perda de apetite e de peso, supressão de comportamentos normais de higiene e irritação. A doença deve ser identificada e tratada imediatamente, pois o animal morre 48 horas após o estabelecimento dos sintomas. Apesar da etiologia não ser totalmente definida a literatura corrobora a ideia que a *Escherichia coli* está envolvida neste quadro patológico (TEDESCO; BLATT; CORDOVA, 2011).

O Vírus da Hepatite Murina ou Vírus da Hepatite do Camundongo tem este animal como seu hospedeiro natural. Os animais infectados demonstram os sinais clínicos entre o 4º e o 7º dia após a infecção e se caracterizam por manchas na região perineal, urina amarronzada, icterícia e sinais neurológicos como espasmos, incoordenação, tremores, culminando com a morte do hospedeiro. Existem casos onde ocorre uma progressiva degeneração neuronal, encefalite não supurada e

desmielinização. A susceptibilidade varia de acordo com a virulência da cepa viral, a idade, linhagem e sexo do animal, sendo as fêmeas as mais afetadas (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002). O Vírus da Sialodacrioadenite é responsável por uma severa inflamação das glândulas salivares e lacrimais, sendo a transmissão por meio do contato direto e aerossóis. Os sintomas são fotofobia, lesões oculares, edema do globo ocular e aumento do lacrimejamento, que geralmente cedem em 1 ou 2 semanas. Os linfonodos cervicais também podem ser afetados, além do timo e da mucosa do trato respiratório. Quando a glândula salivar é afetada, ocorre edema na região cervical (TEDESCO; BLATT; CORDOVA, 2011).

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, M.L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G.M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P.J.F.; MAGALHÃES, L.E.; TUFIK, S. **Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação**. 3.ed. São Paulo: UNIFESP, 2004, 167p.
- ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S.; **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. 3. ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002, 127-137p.
- CRISSIUMA, A.L.; ALMEIDA, E.C.P. Experimentação e Bem-Estar Animal – Artigo de Revisão. **Saúde & Ambiente em Revista**. Duque de Caxias. v.1, n.2, p.1-10, jul-dez, 2006.
- DAMY, S.B.; CAMARGO, R.S.; CHAMMAS, R.; FIGUEIREDO, L.F.P. Aspectos Fundamentais da Experimentação Animal – aplicações em cirurgia experimental. **Rev. Associação Médica Brasileira**. São Paulo. v. 56, n.1, p. 104-106, 2010.
- ESTADOS UNIDOS. Council for International Organization of Medical Sciences. **International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals**. 2012. 1-3p.
- ESTADOS UNIDOS. National Association for Biomedical Research. **Federal Regulation Of Biomedical Research Involving Animals**. Washington, DC, 2006. 01-06p.
- ESTADOS UNIDOS. National Institute of Health. Office of Laboratory Animal Welfare. **Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook**. 2002. 181p.
- ESTADOS UNIDOS. National Research Council. Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies. **Guide for The Care and Use of Laboratory Animals**. Washington DC, 2011. 43-124p.
- FIN, C.A.; RIGATTO, K. Utilização de Animais em Experimentação: Aspectos Éticos, Jurídicos e Metodológicos. **Revista Eletrônica da Sociedade Rio-Grandense de Bioética**. Porto Alegre. v.1, n. 4, p.04-05, Jul, 2007.
- FRAJBLAT, M.; AMARAL, V.L.L.; RIVERA, E.A.B. Ciência em animais de laboratório. **Ciencia e Cultura**. São Paulo. v.60, n.2, p. 02-05, 2008.
- GIRÃO, V.C.C.; ROCHA, F.A.C. Ética na Experimentação Animal. **A Ética e os Reumatologistas**. Fortaleza. p.10-11, 2004.
- GODARD, A.L.B.; Animais de Laboratório. **Manual de Biossegurança**. p. 329 333, dez, 2001.
- ÍNDIA. Indian Council of Medical Research. **Guidelines for use of Laboratory Animals in Medical Colleges**. New Delhi, 2001. 03-16p.
- INDIA. Ministry of Environment and Forest. Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals. **Guidelines for Laboratory Animal Facility**. Tamil Nadu, 2014. 03-20p.

MACHADO, C.J.S.; FILIPECKI, A.T.P.; TEXEIRA, M.O.; KLEIN, H.E. A regulação do uso de animais no Brasil do século XX e o processo de formação do atual regime aplicado à pesquisa biomédica. **História, Ciências, Saúde –Manguinhos**. Rio de Janeiro. v.17, n.1, p.87-105, jan-mar, 2010.

MARQUES, R.G; MORALES, M.M; PETROIANU. A Lei Brasileira para o uso científico de animais. **Acta Cirúrgica Brasileira**. São Paulo. v. 24, n.1, p. 69-74, 2009.

MEZADRI, T. J.; TOMÁZ, V.A.; AMARAL, V.L.L. **Ética, bem-estar e legislação na experimentação animal**. Animais de Laboratório, Cuidados na Iniciação Experimental. Florianópolis: UFSC, 2004, p.17-38.

RAYMUNDO, M.M.; GOLDIM, J.R. O Uso de Animais em Pesquisas Científicas. **Rev. Eletrônica SORBI**. Porto Alegre. v. 1, n. 4, p. 01-04, Jul, 2007.

REZENDE, A.H.; PELUZIO, M.C.G.; SABARENSE, C.M. Experimentação animal: ética e legislação brasileira. **Revista de Nutrição**. Campinas. v. 21, n.2 , p. 238-241, mar-abr, 2008.

RIBEIRO, L.A.; AZEVEDO, V. Animais Geneticamente Modificados (Transgênicos) e a Legislação Brasileira de Biossegurança. **Manual de Biossegurança**. p. 356-368, dez, 2001.

ROCHA, M.E. Animais, homens e sensações segundo Descartes. **Kriterion: Revista de Filosofia**. Belo Horizonte. vol.45, n.110, p.350-364, dez, 2004.

SEELIG, V.C. **Questões atuais relacionadas ao uso de modelos animais em pesquisa científica**. 2007. 41p. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Especialização de Análises Clínicas Vetrerinárias. Porto Alegre, 2007.

TEDESCO, J.T.G.T.; BLATT, S.L.; CORDOVA, C.M.M. Infecção por Mycoplasma pulmonis em Ratos Wistar Provenientes de Biotério. **Revista De Patologia Tropical**. Blumenau. v. 40, n. 4, p. 279-286, out-dez, 2011.

3 ARTIGO

REQUISITOS BÁSICOS PARA A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM PESQUISAS LABORATORIAIS

BASIC REQUIREMENTS FOR THE USE OF ANIMALS IN LABORATORY RESEARCH

Rayssa Mendes Cavalcante ¹

Pedro Paulo de Andrade Santos²

1. Aluna de iniciação científica (PIBIC) do curso de graduação em Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).
2. Professor Doutor dos Cursos de Odontologia e Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

RESUMO

A experimentação animal foi e continua sendo base importante para o entendimento da fisiologia e fisiopatologia devido às similaridades com os seres humanos principalmente em se tratando de roedores. O êxito neste tipo de pesquisa está diretamente proporcional às condições ideais oferecidas a esses animais, tendo em mente a preocupação em eliminar qualquer tipo de estresse, dor ou sofrimento, de acordo com os Princípios Humanitários de Experimentação Animal, enfatizando o compromisso em aprimorar e modernizar técnicas com o objetivo de tornar mais eficaz o experimento, utilizando o menor número de espécimes possível. Neste trabalho de revisão objetivamos mostrar os principais fatores e cuidados que devem ser considerados para o bom andamento da pesquisa laboratorial envolvendo animais.

ABSTRACT

Animal experimentation remains important to understand the physiology and pathophysiology due to similarities with humans especially when dealing with rodents basis. Success in this type of research is directly proportional to the ideal conditions offered to the animals, keeping in mind the concern to eliminate any kind of stress,

pain or suffering, according to the Humanitarian Principles of Animal Experimentation, emphasizing the commitment to enhance and modernize techniques with the goal of making more effective the experiment, using the fewest possible specimens. This review article aimed to show the main factors and care that should be considered research proper conduct involving laboratory animals.

INTRODUÇÃO

A evolução das ciências da saúde e biológicas está relacionada com a utilização de animais nos trabalhos de pesquisa científica, desta forma, os estudos através de modelos experimentais são de fundamental importância, não só em razão dos avanços que permitem o conhecimento dos mecanismos dos processos vitais, mas também pelo aperfeiçoamento dos métodos de prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças¹.

As discussões éticas acerca da experimentação animal surgem do conflito em ponderar o avanço da ciência em detrimento da integridade física e bem-estar do modelo biológico. Assim, os experimentos são considerados éticos quando resultam em benefício direto para a saúde humana e animal, contribuindo com novos conhecimentos sobre fisiologia e comportamento dos seres vivos, planejados de forma a evitar estresse, dor ou sofrimento desnecessário aos animais².

Os animais usados como modelos para o ser humano devem possuir similaridades biológicas, anatômicas e fisiológicas. Estatisticamente, os roedores são os mais utilizados em laboratórios, correspondendo a 90% de todos os animais destinados à experimentação³.

É imprescindível seguir um protocolo ideal, uma vez que parâmetros são exigidos pelos comitês nacionais e internacionais de ética e bem-estar que normatizam pesquisas laboratoriais com o uso de animais, cujo cumprimento é pré-requisito para publicação em periódicos. Deve haver por parte do pesquisador uma grande organização, que aliada a um projeto de pesquisa bem planejado, diminui o número de espécimes utilizados, maximiza os resultados gerando um alto nível de reprodutibilidade e precisão. Assim é de extrema importância seguir normas no que se refere a padronização da genética, a observação de condições adequadas no transporte, treinamento de técnicos em experimentação animal, gestão de informação, biossegurança, dieta, anestesia, cuidados pós-operatórios, analgesia,

eutanásia, e ao ambiente no qual os animais são acondicionados, levando em consideração iluminação, temperatura, umidade e sonoridade⁴.

No Brasil, tais protocolos são norteados pela Lei 11.794, promulgada em 08 de outubro de 2008, que normatiza o uso científico de animais em pesquisas laboratoriais. A mesma instituiu a implantação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, as Comissões de Ética no uso de Animais e determinou os procedimentos e as responsabilidades para uso destes em laboratório. Todos os protocolos envolvendo espécies classificadas como filo Chordata, subfilo Vertebrata devem ser submetidos à aprovação por esta comissão e só poderão ser iniciados após a sua autorização⁴.

Desta forma, o objetivo deste trabalho é apresentar uma análise circunstanciada da literatura, com enfoque nos principais protocolos exigidos pelos comitês de ética e bem-estar animal.

REVISÃO DE LITERATURA

Aspectos Históricos

Grandes civilizações antigas contribuíram para o desenvolvimento intelectual no campo da saúde, a exemplo de egípcios, gregos, hebreus e islâmicos. Em muitos desses estudos eram utilizados animais, principalmente por hebreus e islâmicos, pois violar corpos humanos era uma ofensa contra suas crenças⁵.

Hipócrates e Aristóteles nos séculos IV e III a.C., desenvolveram trabalhos com a participação de animais, baseados na patologia comparada, constatando semelhanças e diferenças de conformação e funcionamento⁶.

Posteriormente, Galeno (131-201 d.C.) ficou conhecido como um dos precursores das ciências médicas experimentais realizando vivissecções com finalidades experimentais⁷.

O filósofo francês René Descartes (1596-1650) influenciou cientistas do século XVII a pensar que os animais não poderiam sentir dor, pois eram seres desprovidos de uma alma racional, algo inerente apenas ao homem. Assim as investigações saíram de um campo observacional e descritivo e passaram a ser mais invasivas e experimentais⁸.

A partir dos anos 1800, a utilização de animais em pesquisas científicas foi intensificada. Em contrapartida, nesta mesma época surgiram as primeiras sociedades protetoras dos animais, como por exemplo, a Sociedade para a Proteção dos Animais, criada na França em 1845⁷.

Houve um crescente interesse na comunidade científica internacional a partir da década de 1970, pelo estabelecimento de padrões bioéticos internacionais comuns. Comitês de Ética surgiram na década de 90 no intuito de padronizar as inspeções em pesquisas experimentais com animais e desde então periódicos em todo o mundo rejeitam artigos submetidos sem aprovação de comitês de ética⁶.

Uso de Animais em Pesquisa Científica

A experimentação animal possibilitou o avanço da fisiologia e da fisiopatologia, e muitas inovações incorporadas aos cuidados em saúde humana não seria possível sem a utilização de modelos biológicos⁶. Diversos exemplos na literatura ressaltam a importância do uso de animais em pesquisas para obtenção de bons resultados, como a descoberta e aperfeiçoamento de vacinas eficazes, à exemplo da vacina contra a difteria maligna. Muitos autores corroboram a ideia de que o aumento da expectativa de vida humana, bem como, tratamentos de doenças cardíacas, diabetes, vacinações, entre outras situações são exemplos de benefícios conquistados por meio de modelos animais em estudos. Mais de 70% dos principais avanços biomédicos estão relacionados às experiências com animais⁵.

As espécies animais utilizadas como modelos nas investigações científicas da área biomédica, devem possuir similaridades biológicas, anatômicas e fisiológicas. Estes animais devem ser gerados e mantidos em condições ideais, em um ambiente controlado, sob um rigoroso acompanhamento microbiológico, genético e sanitário^{2,4,9}.

Uma análise quantitativa da literatura demonstra que roedores representam 90% dos animais utilizados em experiências, sendo que destes, 64% são camundongos e 26% ratos. Coelhos e cobaias representam 9% do total e outras espécies, a exemplo de macacos, cães e gatos, somam juntas 1%^{2,10}. Entre outras vantagens, os roedores apresentam tamanho e custo reduzido, fácil adaptação à diversos ambientes, excelente capacidade reprodutiva, gerações de curta duração, boa sociabilidade, linhagens geneticamente bem definidas e facilidade de cuidado e

manejo^{2,10,11}. O pesquisador deve atentar-se também para a padronização dos animais, uma vez que diminui o número necessário destes para atingir a finalidade da pesquisa^{2,11}.

Ética na Pesquisa envolvendo Animais

A ideia filosófica de que animais, por serem desprovidos de alma racional eram incapazes de sentir dor, proposta por René Descartes, influenciou por muito tempo a comunidade científica. Porém, Charles Darwin com a teoria da evolução das espécies, estimulou a percepção de que as preocupações morais com os homens deveriam se estender aos animais, pois segundo ele o homem também é um animal. Avanços nos estudos do comportamento animal demonstraram que estes, assim como os homens, são detentores de consciência e memória, são capazes de sofrer, ter medo e sentir dor, bem como lutar pela vida. Todo esse conhecimento sobre o comportamento animal estimulou o surgimento de diversos movimentos e entidades a favor dos cuidados com os animais e antiviviseccionistas¹.

Amplamente utilizado em investigações científicas, o termo bem-estar animal é notoriamente aceito em documentos oficiais e declarações públicas. Refere-se ao estado físico e emocional do animal em relação ao seu meio ambiente, envolvendo ainda conceitos como o de sofrimento, dor, ansiedade, medo, estresse, saúde, ou ainda necessidade de liberdade, felicidade, competição e controle. Condições fisiológicas a exemplo de fome, sede e libido afetam o bem-estar animal, porém deve-se entender que uma homeostasia ou completa harmonia com o ambiente, é um estado relativo, dinâmico e susceptível à diversas interferências intrínsecas ou externas, não sendo possível para humanos ou animais manter-se nesse equilíbrio por longos períodos. Processos somáticos dos organismos animais também são amplamente modificados pelo estado emocional destes².

Dessa forma, os experimentos considerados éticos são aqueles que resultam em benefício direto para a saúde humana e animal, contribuindo com um maior conhecimento sobre a fisiologia e o comportamento dos seres vivos, sem deixar de lado o bem-estar animal. Os experimentos devem ser planejados para utilizar o menor número de animais, evitar estresse, dor ou sofrimento desnecessário aos mesmos, de acordo com o Princípio Humanitário de Experimentação Animal, conhecido como Princípio dos 3Rs (Reduce, Replace e Refine), desenvolvido por

Russell e Burch. Em que Replace (substituição) determina repor ou substituir os animais por alternativas tecnológicas ou por espécies menos sensíveis, estabelecendo que qualquer método científico que empregue material sem sensibilidade possa substituir os que utilizam animais em experimentação; Reduce (redução) orienta a diminuir o número de animais usados para se obter a informação de uma amostra com maior precisão; e Refine (refinamento) que propõe o desenvolvimento de técnicas a favor da diminuição na incidência ou severidade de procedimentos desumanos aplicados àqueles animais utilizados em pesquisa^{2,9,12}.

Devido a todas as discussões éticas que existem em torno do uso de animais em pesquisas laboratoriais, os profissionais do meio científico estão cada vez mais inclinados ao uso de métodos alternativos que não envolvem modelos biológicos. Exemplos de alternativas para substituir animais são, o uso de modelos matemáticos, culturas de células ou tecidos, modelos sintéticos, simulações por computador e até mesmo animais que morreram por causas naturais⁷.

A soma maior de informações e conhecimentos no que se refere ao uso de espécimes animais em pesquisas ainda é bastante elevada, o que torna mais inviável a total substituição destes modelos por métodos que não envolvam modelos biológicos².

A genética tem influenciado positivamente o uso de animais de laboratório em pesquisas, pois tem possibilitado uma produção cada vez maior de espécimes geneticamente modificados, que apresentam características específicas, tornando-os apropriados para o estudo de diversas patologias e fenômenos fisiológicos. Atualmente existem cerca de 10 mil linhagens de camundongos utilizadas como modelo para estudo das mais diversas doenças humanas¹³.

Legislação

Mais do que uma questão ética, o uso de animais em experimentos científicos deve seguir as leis vigentes de cada país, as quais estão intimamente relacionadas aos valores culturais⁴. A primeira lei a regulamentar o uso de animais em pesquisa foi proposta no Reino Unido, através do British Cruelty to Animal Act, em 1876. A mesma está em vigor até hoje, tendo porém sofrido ampla reformulação em 1986⁷.

No Brasil em 1934, o Decreto Federal de nº 24.645 constituiu a primeira afirmação pública do direito ao bem-estar animal, quando foram estabelecidas multas e até prisão àqueles que cometessem atos de crueldade a qualquer animal. Abusos efetuados com interesse científico também eram penalizados, mesmo que timidamente⁶.

Em 2005, foi promulgada em São Paulo a Lei Estadual nº 11.977 que pela primeira vez no Brasil determinou um código de proteção aos animais. Por falta de uma legislação federal regulamentada até então, outras leis de caráter local surgiram, a exemplo da Lei Municipal 13.943, de 2004, da cidade de São Paulo, que proibia a entrega de cães e gatos recolhidos pelo Centro de Controle de Zoonoses do município às instituições e centros de pesquisa e ensino. Alguns decretos foram sancionados e posteriormente revogados na cidade do Rio de Janeiro⁴.

A regulamentação do uso de animais em pesquisas científicas só aconteceu em 8 de outubro de 2008, pela Lei de nº 11.794 e Decreto 6.899 de 15 de setembro de 2009, após 13 anos de tramitação no congresso. Esta lei estabeleceu a implantação do CONCEA, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, e as CEUAS, Comissões de Ética no Uso de Animais¹⁴.

A lei 11.794 exerceu avanços significativos no que se refere a orientação e regulação do uso de animais em pesquisas no Brasil, pois até então só existiam normas não específicas sobre o tema, utilizadas por extensão para regulamentação desta prática científica. Leis anteriores a exemplo da Lei 6.638 estabeleciam normas para a vivecção de animais, porém não correspondia aos anseios e necessidades dos pesquisadores por ser imprecisa e incompleta. A nova Lei, diferentemente do que ocorria até então, abrangeu todo o território nacional. A implantação do CONCEA foi um ponto importante desta lei, que dotou este conselho de poder para credenciar instituições as quais poderiam criar e utilizar animais para fins científicos, além de normatizar o uso e cuidado destes. Instituições que desejam se credenciar no Conceca deverão constituir, previamente, Comissões de Ética no Uso de Animais - CEUA¹⁴.

PROTOCOLO

Condições Ideais de um Biotério

A qualidade das instalações de um Biotério reflete diretamente nos dados do estudo, pois permite que os animais possam crescer, amadurecer, reproduzir, mantendo sempre uma boa saúde, reduzindo assim as variações que podem afetar os resultados da pesquisa. Os animais devem ser alojados de maneira que facilite a expressão de comportamento típico da espécie e minimize os comportamentos induzidos pelo estresse^{9,15}.

➤ **Instalações Físicas**

As instalações físicas de um biotério devem ser livres de umidade, as portas à prova de ferrugem, poeira e pragas, sendo importante também colocar barreiras contra roedores nas portas de cômodos que alojam pequenos animais. Janelas não são recomendadas para instalações de pequenos animais, no entanto, em locais onde falhas no fornecimento de energia são frequentes e que não possuem geradores, pode ser necessário proporcionar uma fonte alternativa de luz e de ventilação. Paredes e tetos devem ser livres de rachaduras e infiltrações, as superfícies devem ser capazes de resistir à lavagem com detergentes, desinfetantes e ao impacto de água sob alta pressão. O piso deve ser construído em material antiderrapante, não absorvente, resistente ao desgaste de ácidos e solventes, assim como aos efeitos adversos de detergentes e desinfetantes¹⁶.

Os materiais empregados na construção de um biotério devem ser selecionados para proporcionar uma eficiente higienização, os mesmos devem ser duráveis, à prova de umidade, resistentes ao fogo, sem costuras ou grandes espaços de rejunte, resistentes contra pragas e vermes. Os corredores devem ser grandes o suficiente para facilitar a circulação de pessoas, bem como de equipamentos e devem ser mantidos sempre limpos. Linhas de água, tubos de drenagem e conexões elétricas devem, preferencialmente, ser acessíveis através de painéis de serviço ou vias nos corredores, fora das salas de animais. Depósitos devem ser projetados para o estoque de alimentos, roupas de cama, gaiolas e materiais não utilizados. Um ambiente separado refrigerado é essencial para o armazenamento de resíduos de tecidos animais¹⁵.

➤ **Gaiolas**

As gaiolas devem proporcionar um ambiente confortável aos animais, permitindo liberdade de movimento e um local de descanso adequado a cada espécie. As mesmas devem ser projetadas de forma a evitar fugas, proporcionar fácil acesso ao alimento e água, fornecer ventilação adequada, atender às necessidades biológicas dos animais, manter os animais secos e limpos, sendo coerente com os requisitos de cada espécie. Devem ainda, permitir a interação social dentro da mesma espécie, ou entre gabinetes, assim como a observação dos animais com o mínimo de perturbação destes. Elas devem ser construídas com materiais resistentes, duráveis e projetadas para minimizar infecções cruzadas entre as unidades vizinhas. É importante a esterilização destas antes de receberem os animais. Prateleiras, acessórios e equipamentos, tais como alimentadores e dispositivos de água, devem ser lavados e desinfectados com frequência para mantê-los limpos e livres de contaminação¹⁷.

Para simplificar a manutenção e saneamento, as gaiolas devem ter superfícies lisas e impermeáveis de modo a não atrair nem reter sujeira, assim como um número mínimo de saliências, ângulos e cantos, sem que a sujeira ou água possa acumular. Dispositivos de alimentação e bebedouros devem ser de fácil acesso para o abastecimento, mudança, limpeza e manutenção. As gaiolas devem ser mantidas em bom estado para evitar lesões aos animais, promover conforto físico, facilitar o saneamento e assistência técnica. Uma atenção especial deve ser dada para eliminar arestas e fios quebrados, mantendo o piso das gaiolas em bom estado¹⁶.

Quanto à higienização, uma boa prática é ter gaiolas extras disponíveis em todos os momentos, para que uma programação de limpeza sistemática das gaiolas possa ser mantida. Gaiolas podem ser desinfectadas por lavagem com água a uma temperatura de 82.2°C (180°F) ou mais, durante um período de tempo suficiente para assegurar a destruição de organismos patogênicos vegetativos, uma desinfecção também pode ser realizada com produtos químicos apropriados. Monitorização microbiológica periódica é útil para determinar a eficácia dos processos de desinfecção ou esterilização. Coelhos e alguns roedores, como hamsters, tem produção de urina com uma concentração elevada de proteínas e sais minerais que muitas vezes aderem às superfícies das gaiolas e necessitam de

tratamento com soluções ácidas antes da lavagem. Garrafas de água, tubos, rolhas, e equipamentos de rega entre outros também devem ser lavados e desinfetados em seguida com água de, pelo menos, 82.2°C (180°F) ou agentes químicos (por exemplo: hipoclorito) para destruir os organismos patogênicos¹⁵.

➤ ***Cama***

Material de cama deve ser absorvente, livre de quaisquer substâncias que possam prejudicar os animais ou pessoas e de um tipo que não seja facilmente consumido pelos animais, o que poderia alterar os dados da pesquisa. Cedro e produtos de madeira macia não tratada podem alterar o metabolismo de um animal (por exemplo, as enzimas do fígado), o que por sua vez pode afetar imunologicamente ou outros parâmetros fisiológicos. O material de cama deve ser utilizado em quantidade suficiente e trocado tão frequentemente quanto necessário for para manter os animais limpos e secos e as salas que os animais são acomodados relativamente livre de odores. A frequência da troca depende de vários fatores, incluindo o número de animais, espécie, tipo de gaiolas e o tipo de material de cama, lembrando que o material de cama não deve entrar em contato com os tubos de água³.

Os critérios desejáveis para o material de cama de roedores são: ser esterilizável, não formar produtos deletérios como resultado da esterilização, facilmente armazenáveis, não contaminados, improvável de ser mastigados, não tóxico, não fétido, encaixável, descartável por incineração, prontamente disponível, permanecer quimicamente estável durante o uso, manifestar uniformidade no lote, otimizar o comportamento animal normal, não deletério para as gaiolas e não perigosos para quem for manipular¹⁷.

➤ ***Iluminação***

A luz pode afetar a fisiologia, morfologia e comportamento de vários animais. A intensidade luminosa, a duração da exposição, comprimento de onda de luz, pigmentação do animal, temperatura corporal, estado hormonal, idade, espécie, sexo, entre outros fatores, devem ser considerados quando se estabelece um nível de iluminação no ambiente do animal¹⁶. Estudos em roedores e primatas têm

demonstrado a importância das células ganglionares da retina, intrinsecamente fotossensíveis, para a regulação neuroendócrina, circadiano e neurocomportamentais. Estas células podem responder aos comprimentos de onda de luz, sendo influenciadas pelo tipo de iluminação, a intensidade da luz, e comprimento de onda selecionados para certos tipos de pesquisa¹⁷. Em geral, as luzes devem ser dispostas ao longo da área de alojamento de animais e devem fornecer iluminação suficiente para o bem-estar dos mesmos, permitindo boas práticas de manutenção, inspeção adequada dos animais, inclusive em baixo das gaiolas, prateleiras e deve promover condições de trabalho seguras para os profissionais¹⁶.

➤ **Temperatura**

A manutenção da temperatura do corpo dentro da variação circadiana normal é necessária para o bem-estar dos animais. Os animais devem ser alojados dentro de uma faixa de temperatura e umidade apropriadas a espécie, para que eles possam se adaptar com o mínimo de estresse e alteração fisiológica. O intervalo de temperatura ambiente no qual ocorre a termorregulação, sem a necessidade de aumentar a produção de calor metabólico ou ativar mecanismos de perda de calor por evaporação é chamado de zona termoneutra (ZTN) e é limitada pelas temperaturas críticas superiores e inferiores (TCL), por exemplo, o ZTN de ratos varia entre 26 °C e 34 °C¹⁸.

Algumas condições exigem temperaturas ambientais aumentadas como, por exemplo, recuperação em pós-operatório, animais recém-nascidos, roedores com fenótipos sem pêlos, répteis e anfíbios em certas fases da reprodução. A magnitude do aumento da temperatura depende de detalhes do ambiente, por vezes o aumento da temperatura se dá somente no microambiente por meio da utilização de almofadas de aquecimento para a recuperação pós-operatória ou fontes de calor radiante para répteis, em vez de aumentar a temperatura de todo cômodo. O ar condicionado é um meio eficaz de regular a temperatura de ambientes para animais de laboratório. Idealmente, o sistema deve permitir variações dentro do intervalo de 18 a 29°C (64,4 a 84,2°F) que inclui uma gama de temperaturas geralmente recomendadas para animais de laboratório comuns¹⁷.

➤ **Umidade Relativa**

A umidade relativa deve ser controlada dentro de um intervalo de 30% a 70%. O ar do ambiente deve ser constantemente renovado, em geral, uma taxa de 10 a 15 trocas de ar por hora é considerado um padrão aceitável. Em climas onde é difícil prever um nível suficiente de umidade relativado do meio ambiente, os animais devem ser cuidadosamente monitorizados para que se evitem efeitos negativos¹⁸.

➤ **Ruídos**

A exposição de som pode ter efeitos variáveis sobre os animais, fontes geradoras de ruídos a exemplo de atividades humanas, animais ruidosos, equipamentos, devem ser minimizados em áreas de alojamento de animais. Ambientes devem ser projetados para acomodar os animais que fazem barulho, ao invés de recorrer a métodos de redução do ruído produzido por estes¹⁷.

Manejo dos animais

➤ **Alimentação**

A alimentação tem grande importância nos resultados das pesquisas científicas, não somente com relação às concentrações adequadas de nutrientes, mas também dos não nutrientes. Tanto os ingredientes de origem vegetal como animal podem conter uma variedade de substâncias fisiologicamente ativas, naturais ou como resultado de contaminação. Algumas com importância em experimentação animal são: micotoxinas, nitrosaminas, pesticidas, formas orgânicas de metais pesados, saponinas e fitoestrógenos, muitas possuem propriedades carcinogênicas⁴. O alimento fornecido aos animais deve ser palatável, livre de contaminação, nutricionalmente adequado, obtidos a partir de uma fonte confiável, em quantidade suficiente para garantir o crescimento normal em animais imaturos e manutenção do peso corporal normal e reprodução em adultos e também ser livre de metais pesados, por exemplo, chumbo, arsênio, cádmio, níquel e mercúrio¹⁵. As áreas em que a alimentação é transformada ou armazenada devem ser mantidas limpas e fechadas para evitar a entrada de insetos e roedores silvestres¹⁷.

Dietas específicas devem ser selecionadas com base nas necessidades de cada espécie, com especial consideração das necessidades de vitamina C por roedores e algumas espécies de primatas não humanos. Os animais devem ser alimentados pelo menos uma vez ao dia, exceto em condições de hibernação, tratamento veterinário, jejuns pré-processuais, ou outras circunstâncias excepcionais¹⁹.

➤ **Hidratação**

Água potável deve estar disponível de forma contínua ou fornecida quantas vezes forem necessárias para a saúde e bem-estar do animal, considerando a espécie, idade, condições, e os requisitos da pesquisa. A água pode ser fornecida em recipientes ou através de sistemas automáticos. Seja qual for o método utilizado, devem-se tomar cuidados para garantir que a água não fique contaminada¹⁵. A monitorização periódica de contaminação microbiana da água é necessária, pode ser tratada ou purificada para eliminar contaminantes, no entanto, alguns tratamentos de água podem causar alterações fisiológicas e na microflora do animal, afetando os resultados experimentais. Dispositivos de rega tais como, tubos de beber e bebedouros automáticos, devem ser examinados rotineiramente para assegurar um correto funcionamento, permeabilidade e limpeza. Os animais, ocasionalmente, precisam ser treinados para usar os dispositivos de rega automática. Garrafas de água devem ser substituídas e higienizadas, ao invés de apenas reabastecidas¹⁷.

➤ **Contenção Física**

Breve contenção física dos animais se faz necessário para a realização de exames, recolher amostras, e uma variedade de outras manipulações experimentais e clínicas, podendo ser realizadas manualmente ou com dispositivos adequados em tamanho e forma para que o animal seja mantido e operado adequadamente, minimizando a tensão e evitando lesões no animal. Porém a retenção prolongada de qualquer animal, deve ser evitada a não ser que seja primordial para os objetivos da pesquisa. Sistemas menos restritivos, como o sistema de corda ou o pólo e sistema de colarinho deve ser usado quando compatível com os objetivos da pesquisa.

Esses dispositivos de retenção não podem ser usados simplesmente como uma conveniência no manuseio ou para gestão de animais. Cuidados veterinários devem ser fornecidos se lesões ou doenças forem observadas. A presença de lesões, doença ou mudança de comportamento grave, deve ser tratada pelo afastamento temporário ou permanente do animal de contenção da pesquisa²⁰.

➤ **Anestesia**

A dor é um fator estressante e, se não for aliviada, pode levar a níveis inaceitáveis de estresse e angústia em animais. Por estas razões, o uso adequado de anestésicos e analgésicos em animais de pesquisa é um aspecto imperativo ético e científico⁹. Se um animal de laboratório é adversamente afetado pela dor ou angústia, os dados recolhidos a partir desse animal podem não ser confiáveis. Por outro lado, quando os animais são bem tratados, fornecem as respostas biológicas ou comportamentais habituais que os pesquisadores precisam examinar¹⁹.

Os cientistas devem assegurar que os procedimentos que são considerados dolorosos sejam realizados sob anestesia adequada, como recomendado para cada espécie de animal. Também deve ser assegurado que o anestésico administrado terá efeito por toda a duração do experimento e em nenhum momento o animal sentirá dor durante o experimento. Os efeitos colaterais, como salivação excessiva, convulsões, agitação e desorientação devem ser prevenidos ou controlados adequadamente¹⁵.

O animal deve permanecer sob os cuidados de uma profissional experiente, até que se recupere completamente da anestesia e stress pós-operatório, mantendo o animal alojado individualmente durante todo o período de recuperação¹⁵. Certas manifestações comportamentais peculiares à cada espécie são utilizadas como indicadores de dor ou sofrimento, por exemplo, vocalização (nos cachorros), depressão (em todos), inapetência (em todos), respiração rápida ou difícil (nos roedores, aves, peixes), o aumento da agressão (mamíferos e aves), a aparência ou postura anormal (todos), e imobilidade (todos). No entanto, algumas espécies podem mascarar os sinais de dor. Portanto, é essencial que os profissionais responsáveis por cuidar dos animais sejam treinados para reconhecer indicadores clínicos, comportamentais, fisiológicos, bioquímicos e individuais de bem-estar¹⁹.

A seleção de analgésicos e anestésicos apropriados devem refletir o julgamento do profissional veterinário, como aquele que melhor atende aos requisitos clínicos, bem como as necessidades do protocolo de pesquisa. A escolha depende de muitos fatores, tais como a espécie, idade, o tipo e o grau da dor, os efeitos prováveis de agentes em sistemas de órgãos específicos, a natureza e a duração da cirurgia ou do procedimento de indução, e a segurança do agente anestésico³. A administração de agentes anestésicos no pré e trans-operatório aumenta a estabilidade do animal durante a cirurgia e otimiza cuidados pós-operatórios e o bem-estar, reduzindo a dor³.

O controle não farmacológico da dor pode ser eficaz e não deve ser ignorado como um dos elementos de cuidados no pós-operatório, por exemplo, um local de repouso escuro, aumento da temperatura ambiente, superfície de descanso macio e um retorno à alimentação normal através do uso de alimentos altamente palatáveis, podem ajudar na recuperação do animal¹⁷.

É necessário cuidados pré-anestésicos para os animais, no caso dos roedores, devem incluir uma revisão do histórico sanitário da colônia e aspecto físico do animal. A administração parenteral do agente anestésico constitui o método mais comum em roedores. O volume da droga, o local da administração e propriedades irritantes do agente devem ser considerados. Para minimizar erros em injeções intraperitoneais, o jejum de quatro horas e o uso de agulha 20-22 são recomendados. A água não deve ser restringida⁴. Além do jejum é recomendado para animais usar pré-anestésicos, que bloqueiam a estimulação parassimpática do sistema cardio-pulmonar e reduz a secreção salivar. A atropina é mais comumente usada como agente anti-colinérgico. Os anestésicos locais são usados para bloquear o estímulo nervoso a uma área limitada, e são utilizados apenas para procedimentos rápidos e menores. Isto deve ser realizado sob supervisão de um especialista para a infiltração regional do local, bloqueios nervosos cirúrgicos, peridural e raquianestesia. Um certo número de agentes anestésicos gerais são utilizados sob a forma de inalantes, injeções intravenosas ou intra-muscular, tais como barbitúricos¹⁹. Se em algum momento durante a experiência o investigador sentir necessidade de abandonar o experimento ou que ele infligiu ferimentos irreparáveis, o animal deve ser sacrificado por um método apropriado de eutanásia¹⁵.

➤ **Eutanásia**

Eutanásia consiste no sacrifício do animal por métodos que induzem a inconsciência e a morte rápida. Deve estar prevista no protocolo experimental e realizada ao final do experimento por razões éticas. O procedimento deve ser realizado de forma rápida e indolor em uma atmosfera livre de medo ou ansiedade. Deve causar distúrbios fisiológicos e psicológicos mínimos, ser compatível com a finalidade do estudo, executado em um local separado das salas dos animais e livres de contaminantes ambientais¹⁶.

O método de realização da eutanásia deve ser confiável, irreversível e a escolha deste dependerá da natureza do estudo, espécie e idade do animal a ser morto. Geralmente, os agentes químicos, por exemplo os barbitúricos, são preferíveis aos métodos físicos, a exemplo do deslocamento cervical, por decapitação ou pelo uso de um parafuso prisioneiro penetrante, no entanto, considerações científicas pode impedir a utilização de agentes químicos para alguns protocolos. Outros estudos são necessários para otimização dos métodos de eutanásia com CO₂ em roedores. A aceitabilidade de CO₂ como agente de eutanásia para pequenos roedores devem ser avaliada com os novos dados que se tornam disponíveis. Além disso, os roedores neonatais são resistentes aos efeitos de indução de hipoxia de CO₂ e requerem tempos de exposição mais longos ao agente¹⁵.

É essencial que a eutanásia seja realizada por profissionais especializados. A morte deve ser confirmada por estes que devem ser treinados para reconhecer a cessação dos sinais vitais nas espécies que estão sendo sacrificadas. Somente após ter a garantia que o animal está morto, este será enviado para ser eliminado. Quando infectados, os cadáveres podem ser incinerados ou recolhidos por uma empresa licenciada¹⁸.

➤ **Aquisição dos animais**

Os pesquisadores devem solicitar com antecedência a permissão para usar animais em experimentos científicos, quando ocorre o consentimento dos modelos biológicos o mesmo deve apresentar um plano detalhado a um comitê de revisão na instituição de como será a pesquisa utilizando os animais. Este plano de uso contém

o seguinte: Justificativa para o uso de animais; as espécies e números a serem utilizados; descrição completa da proposta de utilização dos animais; descrição das rotinas, explicando que a dor e o desconforto serão reduzidos nos procedimentos didáticos, através do uso de analgésicos, anestésicos, tranquilizantes e descrição do método de eutanásia que será utilizado¹⁹.

Todos os animais devem ser adquiridos legalmente, e a instituição de recepção deve assegurar que todos os procedimentos que envolvem a aquisição de animais serão realizadas de forma legal. Antes da obtenção do animal, deve haver uma aprovação do uso de animais por comitês e o investigador principal deve confirmar que há instalações e conhecimentos suficientes para abrigar e gerenciar as espécies que estão sendo adquiridas²⁰. Fornecedores potenciais devem ser avaliados quanto a qualidade dos animais que disponibilizam. Em geral, os animais utilizados para fins científicos não devem ser obtidos a partir de lojas de animais de estimação ou distribuidores, devido a origem desconhecida e também ao potencial de causar riscos à saúde dos profissionais e aos outros animais¹⁸.

➤ ***Principais Doenças dos Camundongos, Ratos e Hamsters***

Animais utilizados em pesquisas científicas, quando acometidos por doenças, alteram profundamente os resultados experimentais. Atualmente é perceptível um maior refinamento na qualidade dos animais de laboratório, principalmente dos camundongos, ratos e hamsters, assim como um aumento na necessidade em prevenir, controlar e manter a saúde e o bem-estar desses animais²¹.

As doenças do trato respiratório estão entre as enfermidades mais comuns nos camundongos, ratos e hamsters. O Vírus Sendai, um dos principais agentes patogênicos que acometem o trato respiratório de camundongos e ratos, quando causa a infecção pela primeira vez, a doença se propaga por toda a colônia, causando assim estertores e dispnéia, gestação prolongada, morte neonatal ou pós-desmame e menor ganho de peso dos animais em crescimento. Depois de instituída a imunidade, em dois meses, a colônia volta ao normal. Em camundongos, infecção pelo vírus Sendai altera os parâmetros fisiológicos e em ratos interfere diretamente na mitogênese de células T, também afetando estudos sobre carcinogênese. A sua

transmissão ocorre pelo contato direto ou por aerossóis, sendo a via de infecção o trato nasal e o seu período de incubação é em média de 9 a 14 dias²¹.

A associação deste ao *Mycoplasma pulmonis* é comum em camundongos e ratos. Em se tratando de Hamsters, infecções das vias respiratórias são, com maior frequência, ocasionadas por bactérias dos gêneros *Salmonella*, *Pasteurella*, *Streptococcuse*, no entanto alguns desses agentes patológicos fazem parte da flora natural do trato respiratório desta espécie. Pneumonia, conjuntivite, otite média e interna e encefalite, são as principais manifestações clínicas que podem ocorrer em decorrência desta infecção²¹.

Com alta patogenicidade o *Mycoplasma pulmonis* tem sido indicado como o principal agente causador de infecções respiratórias em ratos. Este também pode infectar Hamsters, camundongos e cobaias. A literatura demonstra alta morbidade e mortalidade dos animais infectados por este micoplasma, ocasionando interferência na interpretação dos resultados experimentais. Entre outras manifestações clínicas pode ocorrer, rinite, dejeção nasal mucosanguinolenta, pneumonia com dispnéia, otite média e interna, que induz a um comportamento de andar em círculo, debilidade progressiva, podendo também infectar o trato genital das fêmeas, determinando baixa fertilidade ou mesmo a infertilidade completa²².

A ileíte proliferativa é uma grave infecção intestinal que acomete hamsters, ocasiona altas taxas de mortalidade entre os lactentes e caracteriza-se por uma diarréia fétida e aquosa. O quadro clínico é agravado pelo estresse do confinamento e os sintomas são, letargia, perda de apetite e de peso, supressão de comportamentos normais de higiene e irritação. A doença deve ser identificada e tratada imediatamente, pois o animal morre 48 horas após o estabelecimento dos sintomas. Apesar da etiologia não ser totalmente definida a literatura corrobora a ideia que a *Escherichia coli* está envolvida neste quadro patológico²¹.

O Vírus da Hepatite Murina ou Vírus da Hepatite do Camundongo tem este animal como seu hospedeiro natural. Os animais infectados demonstram os sinais clínicos entre o 4º e o 7º dia após a infecção e se caracterizam por manchas na região perineal, urina amarronzada, icterícia e sinais neurológicos como espasmos, incoordenação, tremores, culminando com a morte do hospedeiro. Existem casos onde ocorre uma progressiva degeneração neuronal, encefalite não supurada e desmielinização. A susceptibilidade varia de acordo com a virulência da cepa viral, a idade, linhagem e sexo do animal, sendo as fêmeas as mais afetadas²¹. O Vírus da

Sialodacrioadenite é responsável por uma severa inflamação das glândulas salivares e lacrimais, sendo a transmissão por meio do contato direto e aerossóis. Os sintomas são fotofobia, lesões oculares, edema do globo ocular e aumento do lacrimejamento, que geralmente cedem em 1 ou 2 semanas. Os linfonodos cervicais também podem ser afetados, além do timo e da mucosa do trato respiratório. Quando a glândula salivar é afetada, ocorre edema na região cervical²².

CONCLUSÃO

Seguir um protocolo adequado é primordial para que a pesquisa científica tenha um bom êxito em seus resultados experimentais, uma vez que um animal quando exposto às condições inapropriadas altera sua resposta fisiológica quanto aos estímulos do estudo, modificando assim os resultados, prejudicando profundamente o experimento, por isso a importância de seguir com rigor todos os pontos como alimentação, hidratação, anestesia, eutanásia, técnicas cirúrgicas, bem como manter as condições ideais do biotério que irá alojar os animais submetidos ao experimento. A manutenção da saúde e bem-estar do animal também é uma questão ética, moral e legal, na qual é reprimido qualquer sofrimento do animal, para isso é indicado o uso de analgésicos, anestésicos e até mesmo no momento da eutanásia, deve ser escolhido um método rápido, livre de qualquer ansiedade ou mesmo dor.

REFERÊNCIAS:

1. Girão VCC, Rocha FAC. Ética na Experimentação Animal. A Ética e os Reumatologistas. 2004, 10-11.
2. Crissiuma AL, Almeida ECP. Experimentação e Bem-Estar Animal – Artigo de Revisão. Saúde & Ambiente em Revista. 2006, jul-dez; 1(2):01-10.
3. Godard ALB. Animais de Laboratório. Manual de Biossegurança. 2001, dez; 329-333.
4. Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LFP. Aspectos Fundamentais da Experimentação Animal – aplicações em cirurgia experimental. AssocMedBras. 2010, 56(1):104-106.

5. Seelig VC. Questões atuais relacionadas ao uso de modelos animais em pesquisa científica [trabalho de conclusão de curso]. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Especialização de Análises Clínicas Veterinárias. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.
6. Rezende AH, Peluzio MCG, Sabarense CM. Experimentação animal: ética e legislação brasileira. *Nutr.* 2008, mar-abr; 21(2):238-241.
7. Raymundo MM, Goldim JR. O Uso de Animais em Pesquisas Científicas. *Rev. Eletrônica SORBI.* 2007, Jul; 1(4):01-04.
8. Rocha ME. Animais, homens e sensações segundo Descartes. *Kriterion.* 2004, dez; 45(110):350-364.
9. CIOMS. Council for International Organization of Medical Sciences, International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. 2012, December; 1-3.
10. Andersen ML, D´Almeida V, Ko GM, et al. Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação. 2004, 167.
11. Mezadri TJ, Tomáz VA, Amaral VLL. Ética, bem-estar e legislação na experimentação animal. *Animais de Laboratorio Cuidados na Iniciação Experimental.* Florianópolis: UFSC. 2004.
12. Fin CA, Rigatto K. Utilização de Animais em Experimentação: Aspectos Éticos, Jurídicos e Metodológicos. *Revista Eletrônica da Sociedade Rio-Grandense de Bioética.* 2007, Jul; 1(4): 04-05.
13. Frajblat M, Amaral VLL, Rivera EAB. Ciência em animais de laboratório. *Cienc. Cult.* 2008, 60(2): 02-05.
14. Marques RG, Morales MM, Petroianu A. Lei Brasileira para o uso científico de animais. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2009, 24(1): 69-74.
15. ICMR, Indian Council of Medical Research. Guidelines for use of Laboratory Animals in Medical Colleges. New Delhi. 2001, 03-16.
16. INDIA, Ministry of Environment and Forest, Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals (CPCSEA). CPCSEA Guidelines for Laboratory Animal Facility. Tamil Nadu. India. 03-20, capturado no dia 05/02/2014 através do site: nvfor.nic.in/division/committee-purpose-control-and-supervision-experiments-animals-cpcsea.
17. NIH, National Institute of Health, Office of Laboratory Animal Welfare (OLAW). Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook. 2002, 01-181.
18. NRC, National Research Council. Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies. Guide for The Care and Use of Laboratory Animals. Washington DC. 2001, 43-124.

19.NABR, National Association for Biomedical Research. Federal Regulation Of Biomedical Research Involving Animals. Washington, DC. 2006, 01-06. Disponível em www.nabr.org.

20.Ribeiro LA, Azevedo V. Animais Geneticamente Modificados (Transgênicos) e a Legislação Brasileira de Biossegurança. Manual de Biossegurança. 2001, dez; 356-368.

21.Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. orgs. Animais de Laboratório: criação e experimentação. 2002, 127-137. Disponível em SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

22.Tedesco JTGT, Blatt SL, CordovaCMM. Infecção por Mycoplasma pulmonis em Ratos Wistar Provenientes de Biotério. Revista De Patologia Tropical. 2011, out-de;, 40: 279-286.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Seguir um protocolo adequado é primordial para que a pesquisa científica tenha um bom êxito em seus resultados experimentais, uma vez que um animal quando exposto às condições inapropriadas altera sua resposta fisiológica quanto aos estímulos do estudo, modificando assim os resultados, prejudicando profundamente o experimento, por isso a importância de seguir com rigor todos os pontos como alimentação, hidratação, anestesia, eutanásia, técnicas cirúrgicas, bem como manter as condições ideais do biotério que irá alojar os animais submetidos ao experimento. A manutenção da saúde e bem-estar do animal também é uma questão ética, moral e legal, na qual é reprimido qualquer sofrimento do animal, para isso é indicado o uso de analgésicos, anestésicos e até mesmo no momento da eutanásia, deve ser escolhido um método rápido, livre de qualquer ansiedade ou mesmo dor.

ANEXO A – Normas de Submissão da Revista



**ODONTOLOGIA
CLÍNICO-CIENTÍFICA**
SCIENTIFIC-CLINICAL ODONTOLOGY

Escopo e política

Divulga os avanços científicos e tecnológicos conquistados pela comunidade odontológica, respeita os indicadores de qualidade, a fim de que seja assegurada a sua aceitabilidade junto à comunidade de pesquisadores da área em nível local, regional, nacional e internacional. São Artigos Originais; Observatório (opinião qualificada sobre tópicos específicos em odontologia é a convite dos editores); Revisão; Notas de pesquisa; Relato de casos, ensaios, relatos de experiências na área de educação, saúde e, sobretudo, aspectos ético-legais e sociais da odontologia, na forma de artigos especiais, inclusive de áreas afins; Resenha; Tese; Cartas (crítica a artigo publicado em fascículos anterior da Revista, relatando observações de campo ou laboratório é máximo de 3 páginas). Após o recebimento do artigo, o mesmo é numerado e segue carta informando aos autores acerca de recebimento de artigo, que aguardem a análise; Editor encaminha o artigo para 02 pareceristas (duplo cego); Editor recebe e analisa os pareceres, em caso de discordância há o envio para um 3º revisor; Editor recebe todos os pareceres e delibera acerca de aceitação, encaminhamento para reformulação ou rejeição do artigo para publicação. A Revista busca encaminhar para reformulação até o limite máximo de três vezes o mesmo artigo, evitando a rejeição imediata. A filosofia é contribuir para o aprimoramento dos *papers*. O público alvo é constituído por cirurgiões-dentistas, acadêmicos de odontologia e de áreas correlatas.

Fontes de Financiamento

Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo. - Fornecedores de materiais ou

equipamentos, gratuitos ou com descontos, também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Conflito de interesses

Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos utilizados no estudo pelos fabricantes.

Forma e preparação de manuscritos

Os originais deverão ser digitados em espaço duplo, papel ofício (tamanho A-4), observando-se o máximo de páginas para cada categoria, sendo Artigos Originais, Revisão (20 páginas); Notas de Pesquisa, Relatos de Casos, ensaios, de experiências (15 páginas); todas as páginas deverão estar devidamente numeradas e rubricadas pelo(s) autor(es), incluindo ilustrações e tabelas. Os trabalhos deverão ser enviados ao CRO/PE, por correio ou e-mail, 02 vias do artigo, 1 com identificação dos autores e outra sem identificação, e acompanhados do CD, quando enviados por correio, usando um dos programas: MSWORD, WORD PERFECT, WORD FOR WINDOWS, e da Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais. O manuscrito deverá seguir a seguinte ordem:

A) Título (língua original) e seu correspondente em inglês. Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de título em português ou espanhol;

B) Nome do(s) autor(es) , por extenso, com as respectivas chamadas, contendo as credenciais (títulos e vínculos). Nome e endereço do autor responsável para troca de correspondência;

C) Resumo e Descritores (sinopse de até 200 palavras), com descritores

(unitermos, palavras-chaves) de identificação, de conteúdo do trabalho, no máximo de cinco. Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português ou espanhol;

D) Texto: o texto em si deverá apresentar introdução, desenvolvimento e conclusão (ou considerações finais). O exemplo a seguir deve ser utilizado para estruturação de um artigo, relato de uma pesquisa: **INTRODUÇÃO:** exposição geral do tema devendo conter os objetivos e a revisão de literatura;

DESENVOLVIMENTO: núcleo do trabalho, com exposição e demonstração do assunto, que deverá incluir a metodologia, os resultados e a discussão;

CONCLUSÃO: parte final do trabalho baseado nas evidências disponíveis e pertinentes ao objeto de estudo;

E) Sinopse ou Abstract, datilografado em inglês, com descritores em inglês;

F) Agradecimentos - contribuições de pessoas que prestaram colaboração intelectual ao trabalho, mas que não preencham os requisitos para participar de autoria. Também podem constar desta parte instituições pelo apoio econômico, pelo material ou outros;

G) As referências (máximo de 30) devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos (Ex.: Silva 1). As referências citadas somente em tabelas e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto. As referências citadas deverão ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos (<http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine/>).

*Todas as referências devem ser apresentadas de modo correto e completo. A veracidade das informações contidas na lista de referências são de responsabilidade do(s) autor(es).

*No caso de usar algum software de gerenciamento de referências bibliográficas (Ex. EndNote), o(s) autor(es) deverá(ão) converter as referências para texto.

H) Tabelas e/ ou figuras (máximo 5)

Tabelas

Devem ser apresentadas em folhas separadas, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé e não no cabeçalho ou título. Se as tabelas forem extraídas de outros trabalhos, previamente publicados, os autores devem providenciar permissão, por escrito, para a reprodução das mesmas. Esta autorização deve acompanhar os manuscritos submetidos à publicação. Quadros são identificados como Tabelas, seguindo uma única numeração em todo o texto.

Figuras

As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos etc.), citadas como figuras, devem estar desenhadas e fotografadas por profissionais. Devem ser apresentadas em folhas à parte e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. Devem ser suficientemente claras para permitir sua reprodução em 7,2 cm (largura da coluna do texto) ou 15 cm (largura da página). Não se permite que figuras representem os mesmos dados de Tabela. Se houver figuras extraídas de outros trabalhos, previamente publicados, os autores devem providenciar permissão, por escrito, para a reprodução das mesmas. Esta autorização deve acompanhar os manuscritos submetidos à publicação.

Abreviaturas e Siglas

Deve ser utilizada a forma padrão. Quando não o forem, devem ser precedidas do nome completo quando citadas pela primeira vez; quando aparecerem nas tabelas e nas figuras, devem ser acompanhadas de explicação. Não devem ser usadas no título e no resumo e seu uso no texto deve ser limitado.

Publicação de ensaios clínicos

Artigos que apresentem resultados parciais ou integrais de ensaios clínicos devem obrigatoriamente ser acompanhados do número e entidade de registro do ensaio clínico. Essa exigência está de acordo com a recomendação da BIREME/OPAS/OMS sobre o Registro de Ensaios Clínicos a serem publicados a partir de orientações da Organização Mundial da Saúde - OMS, do International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org) e do Workshop ICTPR.

*** As entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são:**

Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR) ClinicalTrials.gov
International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN)
Nederlands Trial Register (NTR)
UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR) WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP)

Envio de manuscritos

Os manuscritos devem ser encaminhados para:

Odontologia Clínico-Científica - Av. Norte Miguel Arraes de Alencar, 2930 - Rosarinho - CEP. 52041-080 Recife /PE, Brasil. Fone: (81) 3194-4900 ou através do E-mail: revista@cro-pe.org.br Este endereço de e-mail está protegido contra spambots. Você deve habilitar o JavaScript para visualizá-lo.

Fontes de Financiamento

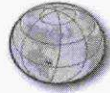
Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo. - Fornecedores de materiais ou equipamentos, gratuitos ou com descontos, também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento

para a sua realização.

Conflito de interesses

Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos utilizados no estudo pelos fabricantes.

ANEXO B- Carta Aceite

**ODONTOLOGIA
CLÍNICO-CIENTÍFICA**
SCIENTIFIC-CLINICAL ODONTOLOGY

**Prezados (a) Autores: Rayssa Mendes Cavalcante
Keila Martha Amorim Barroso
Ana Carolina Lyra de Albuquerque
Pedro Paulo de Andrade Santos**

Temos a grata satisfação de comunicar que o artigo intitulado **“REQUISITOS BÁSICOS PARA A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM PESQUISAS LABORATORIAIS”** foi aceito para publicação na Revista Odontologia Clínico-Científica.

Outrossim, reiteramos o apreço pelo envio de artigo para a publicação nesta Revista, e aguardamos o envio de artigos originais.

Atenciosamente,

Adelmo Cavalcanti Aragão Neto
Editor Científico
Odontologia Clínico-Científica
Revista do CRO-PE

