

CAPÍTULO 15

ESTUDO DA ETOLOGIA PARA PROMOÇÃO DO BEM-ESTAR ANIMAL EM UM BIOTÉRIO DE EXPERIMENTAÇÃO

Hyago da Silva Medeiros Elidio

Biólogo, Bioterista.

Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Jhônata Willy Rocha Coelho

Médico veterinário, Bioterista, Técnico em Saúde Pública

Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Rita de Cássia dos Passos Ferraz da Silva

Técnica em análises clínicas, Bioterista.

Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

João Gabriel Regis Sobral

Técnico em análises clínicas, Bioterista.

Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Bárbara Alves de Brito Soledade

Médica veterinária, Bioterista

Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Tânia Regina Ribeiro de Melo

Bioterista.

Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Wellington Hygino Ramos Souza

Bioterista. Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Leandro Thomaz Vilela

Biólogo, Bioterista.
Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação
Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

André Nunes de Sales

Médico veterinário, Bioterista, Responsável Técnico. Tecnologista em Saúde
Pública. Coordenador do Centro de Experimentação Animal – Instituto
Oswaldo Cruz.
Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação
Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Isabele Barbieri dos Santos

Médica veterinária, Bioterista, Responsável Técnica, Tecnologista em Saúde
Pública. Coordenadora adjunta do Centro de Experimentação Animal –
Instituto Oswaldo Cruz. Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão
Carlos Chagas – Centro de Experimentação Animal – Instituto Oswaldo Cruz
– Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

RESUMO

O uso de animais de laboratório em pesquisas na área de saúde ainda se faz necessário atualmente, por isso é de extrema importância ética que esse trabalho seja feito da forma mais refinada possível, não só devemos respeitar as normas existentes a respeito da utilização de animais em experimentação, como também precisamos buscar refinar nossos métodos de experimentação. O objetivo deste trabalho foi demonstrar que com o estudo da etologia dos animais de laboratório é possível refinar continuamente todo o manejo realizado nesse ambiente, pois à medida que observamos e aprendemos sobre o comportamento dos biomodelos, tendo em foco suas sensibilidades e necessidades, aumentamos nossa capacidade de adequar nossos métodos de refinamento do manejo para que resultem em uma melhora para o bem-estar dos animais durante todos os processos da experimentação. Foram realizadas como rotina, boas práticas para o manejo de animais de laboratório, que consistiam em: evitar gerar ruídos altos e estridentes, como risos, palmas, bater de portas e outros materiais utilizados; evitar movimentos bruscos dentro da sala que possam deixar os animais arredios; não gerar odores externos, como cigarro, perfume, etc; sempre se aproximar e realizar as contenções e manipulações físicas dos animais da forma mais tranquila possível. A etologia foi avaliada por meio de parâmetros comportamentais: higiene pessoal; apetite; atividade; agressividade; autocuidado; expressão facial; vocalização; aparência; postura; resposta ao manejo; interação social; que foram registrados em um etograma. Com o

estudo da etologia dos biomodelos utilizados em laboratórios, podemos desenvolver e refinar todo nosso manejo e técnicas de experimentação, visando sempre promover melhoras para o bem-estar desses animais, e como resultado disso obter uma melhora na qualidade dos experimentos.

Palavras-chave: Etologia. Refinamento. Manejo. Bem-estar. Experimentação animal.

INTRODUÇÃO

Por mais sensível que seja esse assunto, o uso de animais em experimentação ainda tem se mostrado necessário em pesquisas na área de saúde, devido ao fato de que muitas das vezes as doenças com que lidamos sejam causadas por diferentes microrganismos, que estão sempre em constantes mudanças dando origem a novas cepas resistentes. Vacinas e tratamentos que são desenvolvidos pela ciência com passar dos anos, fazem com que as pesquisas nas áreas de saúde, sejam sempre necessárias não só para lidar com doenças que ainda não possuam tratamentos que sejam completamente efetivos, como também para monitorar o surgimento de novas doenças e desenvolver novas formas de tratá-las (ANDRADE, 2006; CONCEA, 2023).

Na área de ciência em experimentação animal foi criado em 1959 o princípio dos 3Rs, pelos cientistas Willam Russell e Rex Burch, visando a ética e o bem-estar animal no uso de animais em pesquisas (LAPICHICK, 2009). O princípio dos 3Rs engloba os conceitos de Substituição, Redução e Refinamento (*Replacement, Reduictiom e Refinement*) no uso de animais em experimentação. Esse conceito trouxe um pensamento crítico sobre a forma desumana como a experimentação animal ocorria. Trazendo a crítica filosófica de que uma das coisas que define o conceito de humanidade é a capacidade de termos empatia não só com nossos semelhantes, mas também com outras espécies. Desde aquela época até os dias atuais as discussões dentro dos conceitos dos 3Rs foi crescendo e ganhando mais importância na ciência no uso de animais em experimentação, mas mesmo com o crescimento do desenvolvimento de métodos alternativos e de formas para diminuição no uso de animais para pesquisa voltadas a educação, ciências e saúde, o uso de animais em pesquisas ainda faz parte da nossa realidade atual. Por isso, os profissionais da área de ciências e saúde que lidam com animais de laboratório tem responsabilidade ética de realizar esse trabalho com os animais da forma mais refinada possível.

O objetivo deste trabalho foi demonstrar que com o estudo da etologia dos animais de laboratório é possível refinar continuamente todo o manejo realizado nesse ambiente, pois à medida que observamos e aprendemos sobre o comportamento dos biomodelos, tendo em foco suas sensibilidades e necessidades, aumentamos nossa capacidade de adequar

nossos métodos de refinamento do manejo para que resultem em uma melhora para o bem-estar dos animais durante todos os processos da experimentação.

METODOLOGIA

Os animais observados neste estudo (hamsters e coelhos) foram mantidos dentro de estantes ventiladas (Alesco®, Brasil), dotados de sistema de ventilação controlado (10 a 15 trocas de ar por hora), com regime de claro/escuro de 12 horas, temperatura de 21±2°C, umidade 40-60%, fornecimento de água e ração própria para espécie, tratadas com autoclavação, “ad libitum” e fornecimento de papel, feno, algodão hidrofóbico e rolo de papelão como itens de enriquecimento ambiental, no biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas do Centro de Experimentação Animal (CEA) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC)-Fiocruz.

A etologia foi avaliada por meio de parâmetros comportamentais: higiene pessoal; apetite; atividade; agressividade; autocuidado; expressão facial; vocalização; aparência; postura; resposta ao manejo; interação social; que foram registrados em um etograma.

Foram realizadas como rotina, boas práticas para o manejo de animais de laboratório, que consistam em: evitar gerar ruídos altos e estridentes, como risos, palmas, bater de portas e outros materiais utilizados; evitar movimentos bruscos dentro da sala que possam deixar os animais arredios; não gerar odores externos, como cigarro, perfume, etc; sempre se aproximar e realizar as contenções e manipulações físicas dos animais da forma mais tranquila possível.

Os procedimentos executados no presente estudo seguiram as normas de bem-estar, sendo aprovado pela Comissão de Ética em uso de Animais do Instituto Oswaldo Cruz (CEUA/IOC) de número L-009/2021.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos últimos anos tivemos a oportunidade de trabalhar com algumas linhagens de biomodelos em nosso biotério, como resultado falaremos sobre os métodos realizados por meio do estudo da etologia dos biomodelos: Coelho Nova Zelândia Albino (*Oryctolagus cuniculus*), Hamster Sírio ou Dourado (*Mesocricetus auratus*), e do camundongo (*Mus Musculus*) para refinamento do manejo.

Condicionamento do Coelho a procedimentos de experimentação.

Estudando o comportamento dos coelhos, observamos que ele é um animal ansioso e neofóbico. Devido a essas características, se for submetido a uma situação desconfortável e estressante, além do animal muitas vezes apresentar muita agressividade o que dificulta a realização de certos

procedimentos, ele também poderia sofrer algumas complicações em procedimentos simples, como em uma contenção física, com risco de fraturas na coluna vertebral ou membros (ANDRADE, 2006; LAPICHICK, 2009; CONCEA, 2023). Por isso buscamos refinar o manejo de coelhos de forma a condicioná-los por meio de interação com os técnicos, de forma a permanecerem calmos e em posição ideal durante a realização do procedimento experimental, conforme figuras 1 e 2 A e B.

Figura 1. Contenção para o condicionamento - coelho mantido erguido em decúbito ventral, com sua parte ventral e membros sobre um dos braços, enquanto o outro braço o acomoda lateralmente o animal junto ao corpo, nessa posição o profissional passa levemente a mão no dorso e na cabeça do animal.



Figuras 2 A e B. Condicionamento do animal ao contato físico - o profissional passa levemente a mão no dorso e na cabeça do animal.



Fonte: Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas do Centro de Experimentação Animal do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz.

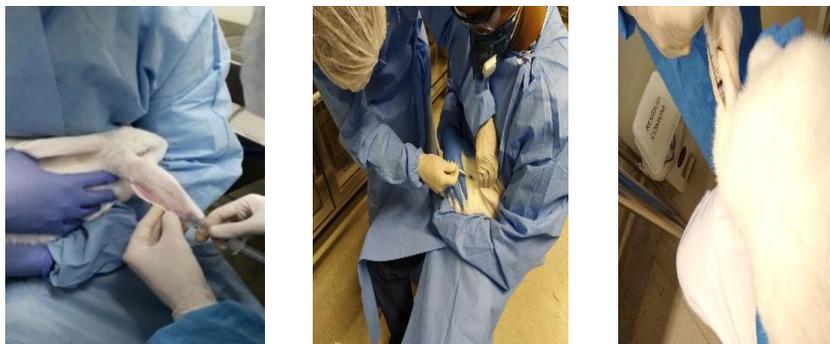
Com o condicionamento dos coelhos pelo manejo, tivemos uma melhora em seu bem-estar, pois eles se habituaram com o contato humano, não sendo necessário a utilização de métodos desconfortáveis para realizarmos a contenção nos momentos de experimentação, como no caso da gaiola de contenção (Figura 3 A) ou do método de contenção manual (Figura 3 B) que são desconfortáveis para os animais.

Figura 3 A e B. 3A. Coelho na calha de contenção. 3B: Método de contenção física manual do coelho.



Como resultado, não só conseguimos abandonar nossos antigos métodos de contenção física para realizar os procedimentos experimentais de forma mais confortável para os animais, como também tivemos mais facilidade de realizar as inoculações e coletas de sangue devido à menor resistência e agressividade por parte do animal, como podemos ver na figura 4 A, B e C.

Figura 4 A, B e C: A: Inoculação de coelhos pela via endovenosa na veia marginal da orelha. B: Inoculação de coelhos pela via subcutânea no dorso. 4C: Inoculação de coelhos pela via intramuscular na parte posterior da coxa, após o condicionamento do animal.



Desenvolvimento de capacitação para manejo experimental com hamster

Estudando comportamento do Hamster Sírio (*Mesocricetus auratus*) em vida livre, compreendemos que ele é um animal com comportamento territorial e agressivo, inclusive a fêmea da espécie costuma se destacar mais nesses dois aspectos, na natureza eles têm um hábito de vida solitário, e costumam passar a maior parte do período diurno dormindo sem suas tocas (TARAVOSH-LAHN & DELVILLE 2004, ELIDIO et. al, 2021; ASHLEY et. al, 2022). Em geral seu comportamento dificulta o manejo em um biotério de experimentação, pois, usualmente, esses animais são mantidos em grupos, eles também podem acabar sendo manipulados com certa frequência dependendo de qual experimento que estejam sendo submetidos, além disso, as interações com esses animais normalmente ocorrem durante o período diurno. Essas são algumas questões que agravam o nível de estresse sofrido por esses animais em um biotério de experimentação, o que acaba gerando mais agressividade por parte deles, entre os animais em seus grupos nas gaiolas e com os profissionais que realizam o manejo e os experimentos. Devido a esses fatos era comum aparecer em nosso biotério usuários pedindo ajuda para realizar a manipulação desses animais. O que nos levou a desenvolver uma capacitação para usuários inexperientes ou com dificuldades de manipular os animais.

A primeira parte do treinamento é ensinar ao usuário a respeito do comportamento do animal, em seguida são passadas as boas práticas para manejo de animais em laboratório, que citamos na metodologia deste trabalho, caso o usuário possua algum trauma ou receio em interagir com animal, é proporcionado para eles um momento de interação positiva, como a oferta de itens de enriquecimento alimentar para a familiarização com o animal, como podemos ver na figura 5.

Figura 5. Interação positiva - oferta de sementes de girassol.



Fonte: Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas do Centro de Experimentação Animal do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz.

Posteriormente, é iniciada a capacitação prática do treinamento onde ensinamos aos usuários como interagir com animal para iniciar a contenção, até o momento da contenção física para realização procedimentos experimentais, nessa parte nós ensinamos a forma de manejo que fomos refinando nos últimos, com objetivo de condicionar o animal a uma manipulação mais minuciosa, o que facilita os momentos de contenção para realização de procedimentos.

Quando começamos a trabalhar com hamster em nosso biotério, nos momentos de manutenção das gaiolas fazíamos a transferência de gaiolas pegando o animal pelos dedos (polegar e indicador) “como uma pinça” no dorso do hamster para suspendê-lo, procurando sempre pegar uma boa quantidade de pele, como podemos ver na figura 6.

Figura 6. Pinçamento do hamster para transporte curto entre gaiolas.



Fonte: Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas do Centro de Experimentação Animal do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz.

Com tempo adotamos o uso da contenção com as mãos em concha, aproximando as mãos tranquilamente até o animal, trazendo-o até a borda da gaiola para facilitar a contenção, fechando uma das mãos sobre a outra em volta do animal sem apertá-lo, mas mantendo os dedos firmes para que ele não escape passando entre os dedos, como podemos ver na figura 7.

Figura 7. Transporte dos animais através da contenção em forma de concha.





Fonte: Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas do Centro de Experimentação Animal do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz.

Atualmente a contenção física para troca de gaiolas que utilizamos em nosso manejo e para capacitação dos usuários, consiste em apoiar uma das mãos sobre o dorso do animal, e com a outra, passar dois dedos na região do ventre e pressionar levemente e em seguida logo suspender o animal, virando-o com ventre para cima, mantendo os dedos no ventre fazendo uma leve pressão, como podemos ver na figura 8 A, B, C, D e E.

Figura 8 A, B, C, D e E: Contenção física do hamster para a troca de gaiolas.



Com esta forma de manejo notamos uma melhora no bem-estar e a diminuição da agressividade por partes dos animais, e mesmo os mais arredios depois de um mês passando por esse manejo uma vez por semana, são condicionados a interação com profissionais (figura 9º) o que facilita também os procedimentos experimentais.

Figura 9. Animal condicionado a interação humana.



Fonte: Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas do Centro de Experimentação Animal do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz.

Refinamento do enriquecimento ambiental dos camundongos.

Camundongos são animais sociais que em vida livre e costumam se manter em grupos, por isso pensando no bem-estar deles não é indicado que eles sejam mantidos isolados em gaiolas na experimentação, o estresse gerado nessas condições pode causar diversas alterações no comportamento e no organismo do animal, o que irá influenciar diretamente na qualidade da pesquisa que estiver sendo realizada com ele. Entretanto, o camundongo é um animal que possui uma dinâmica de hierarquia dentro de seus grupos, em que geralmente um é o dominante, principalmente os machos, em uma gaiola com espaço limitado na experimentação esse comportamento natural pode acabar se tornando problemático, geralmente os grupos acabam tendo dominantes estabelecidos sem muitos problemas, mas também é comum que haja grupos em que as brigas sejam muito frequentes e muito intensas, isso acontece principalmente em grupos de machos adultos e pode gerar ferimentos graves nos animais fazendo com que sejam retirados do experimento, o que compromete diretamente nos resultados das pesquisas (ANDRADE, 2006; LAPICHICK, 2009; CONCEA, 2023). Quando retiramos os animais de suas gaiolas para passá-los para

gaiolas limpas durante nosso manejo semanal, não só geramos o estresse de retirar o animal de seu ninho e introduzi-lo em um ambiente novo, com também incentivamos uma nova disputa por dominância entre os animais grupo, por isso esse momento de exploração do grupo na nova gaiola e marcação do novo território acaba sendo um estímulo que agrava a agressividade entre indivíduos de um grupo com pouca harmonia.

Com isso percebemos na prática a importância do uso do enriquecimento ambiental, pois ele pode ser determinado como um instrumento utilizado com o objetivo de promover o bem-estar dos animais utilizados em experimentação (FISCHER, 2016). Ao adicionar novos itens de enriquecimento ambiental no momento das trocas de gaiolas, evitando repetir seguidamente um item de uma semana para outra, adicionamos um estímulo positivo em um momento crítico de interação entre os animais do grupo. Sabendo dessa importância temos nos dedicado em aumentar nosso acervo de itens para o enriquecimento ambiental dos animais de todas nossas linhagens, através da avaliação do nível de interação dos animais, ao observar as gravações contendo a interação deles com os itens de enriquecimento ambiental. E vídeos feitos após a manutenção de suas gaiolas, elaboramos um etograma para que pudéssemos listar o número de interações com os novos itens que adicionamos, tendo como base para comparação o número de interações que ocorriam com os itens de enriquecimento ambiental que já faziam parte da rotina dos animais.

Com isso não só aumentamos a variedade de itens como adotamos o consórcio de itens de enriquecimento ambiental (figura10) para proporcionar mais estímulos positivos após as trocas de gaiolas, dessa forma refinamos o nosso programa de enriquecimento ambiental, promovendo mais bem-estar para todos os grupos de camundongos e minimizamos a perda de animais gerada pelo excesso de agressividade dentro dos grupos mais problemáticos.

Figura10 A, B, C, D, E, F e G: Consórcios de itens de enriquecimento ambiental: **A:** Algodão hidrofóbico com rolo de PVC. **B:** Rolo de papelão com papel toalha. **C, D e E:** Rolo de PVC com feno. **F:** iglu com feno. **G:** Iglu com papel toalha.





Fonte: Biotério de Experimentação Animal do Pavilhão Carlos Chagas do Centro de Experimentação Animal do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz.

CONCLUSÃO

Com todos esses resultados, acreditamos que o estudo da etologia dos animais de experimentação, é uma ferramenta fundamental para promoção de bem-estar animal dentro de um biotério, pois possibilita um refinamento para o manejo e desenvolvimento de estratégias que melhoram a qualidade de todos os processos que ocorrem no manejo diário dos animais, nos procedimentos de experimentação. Ao compreendermos os comportamentos dos diferentes animais com que trabalhamos na experimentação conseguimos refinar nossos métodos, buscando atender suas sensibilidades, de forma a condicionar tanto os animais como os profissionais para que possam ter uma interação mais positiva e produtiva durante toda a experimentação.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; OLIVEIRA, Rosilene Santos de (org.). **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2006. E-book. Disponível em: SciELO Books | Animais de laboratório: criação e experimentação.

CONCELHO NACIONAL DE CONTROLE DA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais para Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica, CONCEA, 1ª edição, Brasília. 2023.

ASHLEY, J. A. G; ROSENBERG, B. A.; FRICKER, K. J. WALLACE, A.W. SEIFERT, Aubrey M. K, **Species-typical group size differentially influences social reward neural circuitry during nonreproductive social interactions**. Science, Volume 25, Issue 5, 2022, 104230, ISSN 2589-0042, <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104230>

ELIDIO HDSM, COELHO JWR, da Silva LCCP, DOS SANTOS IB. **Housing Density and Aggression in Syrian Hamsters**. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2021 Sep 1;60(5):506-509. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-21-000020. Epub 2021 Jul 23. PMID: 34301345; PMCID: PMC8603365

FISCHER ML, AGUERO WP, RODRIGUES GS, SIMAO-SILVA DP, MOSER AM. 2016. **Enriquecimento ambiental como princípio ético nas pesquisas com animais**. Revista Bioetica 24:532–541. <https://doi.org/10.1590/1983-80422016243153>.

LAPCHIK V.B.L; MATARAIA, V.M.; KO, G.M. **Cuidados e Manejos de Animais de Laboratório**. São Paulo: Atheneu Editora, 2009. Bibliografia ISBN 978-85-388-0075-0.

RUSSEL WMS, BURCH RL. 1959. The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Company.

TARAVOSH-LAHN K, DELVILLE Y. 2004. **Aggressive behavior in female golden hamsters: development and the effect of repeated social stress.** *Horm Behav* 46:428–435. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2004.03.007>.