

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

CONCEA

Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

1ª Edição
Brasília, 2023.

GUIA

Brasileiro de Produção,
Manutenção ou Utilização
de Animais em Atividades
de Ensino ou Pesquisa
Científica.

Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica

Coordenação Geral:

Marcel Frajblat (novembro/2012 a agosto/2014)

Norma Vollmer Labarthe (agosto/2014 a novembro/2015)

Marco Stephano (dezembro/2015 a agosto/2017)

Luisa Maria Gomes de Macedo Braga (agosto/2017 a 2023)

Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais para Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica

Presidente da República

Luiz Inácio Lula da Silva

Ministra de Estado da Ciência, Tecnologia e Inovação

Luciana Barbosa de Oliveira Santos

Secretário-executivo do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação

Luis Manuel Rebelo Fernandes

Coordenadora da Secretaria Executiva do Concea

Márcia dos Santos Gonçalves

MEMBROS DO CONCEA

Presidente do Conceca: Ministra de Estado da Ciência, Tecnologia e Inovação:

Luciana Barbosa de Oliveira Santos

Coordenadora do Conceca:

Kátia De Angelis (Titular e Coordenadora)

Representantes do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação:

Vânia Gomes de Moura Mattaraia (Titular)

Luísa Maria Gomes de Macedo Braga (Suplente)

Representantes do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico:

Kátia De Angelis (Titular e Coordenadora)

Maria Goreti de Almeida Oliveira (Suplente)

Representantes do Ministério da Educação:

Maria Cristina Manno (Titular)

Alessandra Gimenez Mascarenha (Suplente)

Representantes do Ministério do Meio Ambiente:

Sérgio Luiz Vieira (Titular)

Sandra Iara Furtado Costa Rodrigues (Suplente)

Representantes do Ministério da Saúde:

Mariana Emerenciano Cavalcanti de Sá (Titular)

Evandro de Oliveira Lupatini (Suplente)

Representantes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento:

Mirela Janice Eidt (Titular)

Lia Treptow Coswig (Suplente)

Representantes do Conselho de Reitores das Universidades do Brasil:

Ivan Cunha Bustamante (Titular)

Acácio Duarte Pacheco (Suplente)

Representantes da Academia Brasileira de Ciências:

Concepta Margaret McManus Pimentel (Titular)

Sônia Nair Bão (Suplente)

Representantes da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência:

Débora Rejane Fior Chadi (Titular)

Adriana Abalen Martins Dias (Suplente)

Representantes da Federação das Sociedades de Biologia Experimental:

Pedro Manoel Mendes de Moraes Vieira (Titular)

José Luiz Jivago de Paula Rôlo (Suplente)

Representantes da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório:

Murilo Vieira da Silva (Titular)

Vera Maria Peters (Suplente)

Representantes da Federação Brasileira de Indústria Farmacêutica:

Marco Antonio Stephano (Suplente)

Representantes das Sociedades Protetoras de Animais legalmente estabelecidas no País:

Cleide Falcone (Titular)

Arthur Henrique de Pontes Regis (Suplente)

Ráirys Cravo Herrera (Suplente)

SECRETARIA EXECUTIVA DO CONCEA

Coordenadora da Secretaria Executiva do Conceca:

Márcia dos Santos Gonçalves

Corpo Técnico:

Antônio Américo Barbosa Viana (Tecnologista em Ciência e Tecnologia)

Marcelo Kenji Nishida (Tecnologista em Ciência e Tecnologia)

Norma Santos Paes (Analista em Ciência e Tecnologia)

Assistentes:

Rafael Augusto de Souza Viana (Assistente em Ciência e Tecnologia)

Zélia Rodrigues Sardinha (Assistente em Ciência e Tecnologia)

Equipe de Apoio:

Silmara Silva Cavalcanti

Paulo Roberto Ferreira Costa

Renato Gonçalves da Silveira Neto

Cristiny Maciel Mendes Tavares

Karine Sales Ferreira

B823g Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.

Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica / Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. -- 1. ed. -- Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2023.

1107 p.

ISBN: 978-65-5471-037-4 (obra completa)

1. Animais de laboratório. 2. Experiência com animais. 3. Pesquisa científica. 4. Projeto de pesquisa. I. CONCEA. II. Título.

CDU 636.028



Organizadores

Dr. Antônio Américo Barbosa Viana

Dra. Kátia De Angelis

Dra. Luisa Maria Gomes de Macedo Braga



Ilustração e Diagramação

Karine Sales Ferreira

PREFÁCIO

O Concea, tendo como sua linha mestra a ética no uso de animais em ensino e pesquisa científica em nosso país e, considerando a competência que lhe é conferida pela Lei nº 11.794, qual seja a de formular e zelar pelo cumprimento das normas relativas à utilização humanitária destes animais, bem como das normas técnicas relativas às suas instalações lança a compilação do **Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica**.

O Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica foi idealizado pelo Concea em 2012 e até o presente momento contou com a coordenação do Dr. Marcel Frajblat (nov/2012-ago/2014), da Dra. Norma Labarthe (ago/2014 - nov/2015), do Dr. Marco Stephano (dez/2015 - ago/2017) e da Dra. Luisa Maria Gomes de Macedo Braga (ago/2017 - 2023). Sua elaboração teve o apoio da Secretaria Executiva e das diferentes coordenações do Concea, contando com a colaboração de notórios especialistas, cuja ampla experiência em pesquisa com animais atestam a seriedade desta publicação.

O objetivo do Guia é o de ser um documento de caráter informativo, que sirva de orientação e de consulta para cada uma das espécies que constam desta publicação. Cada capítulo abrange, de uma forma geral, temas como cuidados e manejo dos animais e suas instalações, quais os critérios obrigatórios e os recomendados para cada grupo taxonômico, na tentativa de abranger o maior número possível de espécies usadas em ensino e pesquisa científica.

Neste sentido, o Guia foi trabalhado durante mais de 10 anos, tendo o Concea publicado, inicialmente, Resoluções Normativas detalhadas para os diferentes grupos taxonômicos, cujos textos foram incorporados nessa publicação. Em uma visão mais recente, a plenária do Concea decidiu usar os conteúdos deste Guia como base para elaboração de Resoluções Normativas listando os critérios obrigatórios e recomendados para cada grupo taxonômico, e os *checklists* constantes em anexo nessas normativas. Dessa forma, o compilado do Guia complementa as informações das Resoluções Normativas publicadas pelo Concea para cada grupo taxonômico, auxiliando no credenciamento, licenciamento e fiscalização, segundo exigência da nossa Lei 11.794/08, quando assim se fizer necessário.

Com o Guia, o Concea espera ter, junto à nossa Comunidade Científica, uma maior conformidade e harmonia na execução das normas de produção, manutenção e utilização de cada espécie animal, colaborando para que tenhamos, em nosso país, atividades de ensino e pesquisa científica que consolidem o bem-estar animal e a qualidade de excelência dos dados obtidos em nossas pesquisas.

Dra. Luisa Maria Gomes de Macedo Braga
Coordenadora atual do Guia

Dra. Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera
Coordenadora do Concea (dez/2020-dez/2021)

Dra. Kátia De Angelis
Coordenadora do Concea (dez/2021-dez/2023)

SUMÁRIO

GERAL

Capítulo 1: Introdução Geral	14
Capítulo 2: Roedores e lagomorfos	68
Capítulo 3: Cães e gatos	168
Capítulo 4: Primatas não humanos	250
Capítulo 5: Peixes I - Lambari, tilápia e zebrafish	330
Capítulo 6: Peixes II - Peixes grandes	384
Capítulo 7: Anfíbios e serpentes	460
Capítulo 8: Pequenos ruminantes	522
Capítulo 9: Grandes ruminantes	566
Capítulo 10: Equídeos	656
Capítulo 11: Suínos	690
Capítulo 12: Aves	760
Capítulo 13: Estudos conduzidos com animais silvestres mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica	790
Capítulo 14: Estudos conduzidos com animais domésticos mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica	856
Capítulo 15: Anfíbios e répteis sob condições <i>ex situ</i>	882
Capítulo 16: Animais silvestres de vida livre	966

Capítulo 1

Introdução

Geral



COORDENADOR:

Bruno Lourenço Diaz Universidade Federal do Rio de Janeiro

AUTORES:

Adriano da Silva Campos Fundação Oswaldo Cruz

Bruno Lourenço Diaz Universidade Federal do Rio de Janeiro

Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera Universidade Federal de Goiás

José Mauro Granjeiro Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

Luisa Maria Gomes de Macedo Braga Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Marcel Frajblat Universidade Federal do Rio de Janeiro

Marco Antonio Stephano Universidade de São Paulo

Wothan Tavares De Lima Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Citação recomendada: CAMPOS, A.S.; DIAZ, B.L.; RIVERA, E.A.B.; GRANJEIRO, J.M.; BRAGA, L.M.G.M.B.; FRAJBLAT, M.; STEPHANO, M.A.; LIMA, W.T. (2023) Capítulo 1 - Introdução Geral. pp. 14-67. In: DIAZ, B.L. (coord.). VIANA, A.A.B.; DE ANGE-LIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução Geral	21
2. Bem-estar Animal	23
2.1. Definições: Dor, Distresse e Sofrimento	24
2.2. Efeitos do bem-estar de um animal em resultados científicos	25
3. Métodos Alternativos ao Uso de Animais	27
4. Planejamento de Novos Projetos	31
4.1. Modelos Animais	32
4.1.1. Escolhendo o animal adequado	33
4.1.2. Origem dos animais	34
4.1.3. Transporte dos animais	34
4.1.4. Aclimatação e quarentena	35
4.1.5. Alojamento e manejo	36
4.2. Biossegurança	37
4.2.1. Biossegurança em instalações animais	38
4.3. Desenho da pesquisa científica	39
4.3.1. Análise estatística	39
4.3.2. Métodos utilizados	42
4.3.3. Após a coleta de dados	42
4.4. Prevenção da dor e do distresse potencial	43
4.4.1. Estudos-piloto (CN3Rs - http://www.nc3rs.org.uk/conducting-pilot-study)	43
4.4.2. Testes toxicológicos	45
4.4.3. Graus de invasividade	48
4.4.3. Graus de Invasividade (SEÇÃO I)	48
4.4.4. Critérios de Classificação (SEÇÃO II)	49
4.4.5. Exemplos de procedimentos classificados de acordo com cada grau de invasividade (SEÇÃO III)	50
4.4.5.1. Leve	50
4.4.5.2. Moderado	51
4.4.5.3. Grave	52
4.5. Desenvolvimento de estratégias para avaliar, minimizar e monitorar dor ou distresse	53
4.5.1. Avaliação do impacto de efeitos adversos sobre o bem-estar	54
4.5.2. Definição de sinais apropriados ou critérios de monitoramento	55
4.5.3. Sinais gerais de alteração do comportamento normal	55
4.5.4. Sinais específicos de alteração do comportamento normal	56
4.5.5. Pontos finais humanitários (<i>endpoints</i>)	57
4.5.6. Procedimentos em casos de presença de sinais de comprometimento do bem-estar	58
4.5.7. Treinamento	59
4.5.8. Abordagem em equipe	59
4.5.9. Documentação da Estratégia de monitoramento	59
4.5.10. <i>Checklist</i> de monitoramento	60
4.5.11. Especificidade de um <i>checklist</i> de monitoramento	61
4.5.12. Envolvendo a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)	61

4.6. Treinamento de pessoal	61
5. Obtenção de Aprovação para Novos Protocolos de Pesquisa	63
5.1. Comissões de ética no uso de animais	63
5.2. Submetendo uma proposta à CEUA	63
5.2.1. Antes de escrever seu projeto o pesquisador deve perguntar-se:	63
5.2.2. Se for usar animais, os seguintes dados deverão constar na proposta de estudo:	64
5.2.3. Quando do procedimento: método	64
6. Referências Bibliográficas	67

INTRODUÇÃO GERAL

1. Introdução Geral

O Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais para Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica (GUIA) contempla uma das competências do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea).

A Lei Federal 11.794, que em seu capítulo II, artigo 4º, criou o Concea, representa uma mudança de paradigma no que tange o uso de animais vertebrados para ensino e pesquisa no Brasil. Como Lei Federal, gerou condições para que se estabelecesse uma política nacional para o uso de animais no ensino e na pesquisa. Neste sentido, a pertinência, bem como a análise crítica da real necessidade do uso de animais em situações experimentais, constituem bases imprescindíveis para que a sociedade como um todo, compreenda e aceite como justificável a participação de animais em procedimentos didáticos e científicos. Tarefa difícil que não se consolida sem a introdução de normas, diretrizes e guias que visem orientar a todos que utilizam animais nessas áreas.

A construção deste GUIA resulta de um trabalho do Concea em conjunto com especialistas, constituindo-se em um documento que tem por finalidade nortear pesquisadores quanto ao uso de animais para ensino e pesquisa. Deve-se ressaltar que este guia se aplica aos animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata utilizados em atividades de ensino e pesquisa, conforme prevê a Lei 11.794/08.

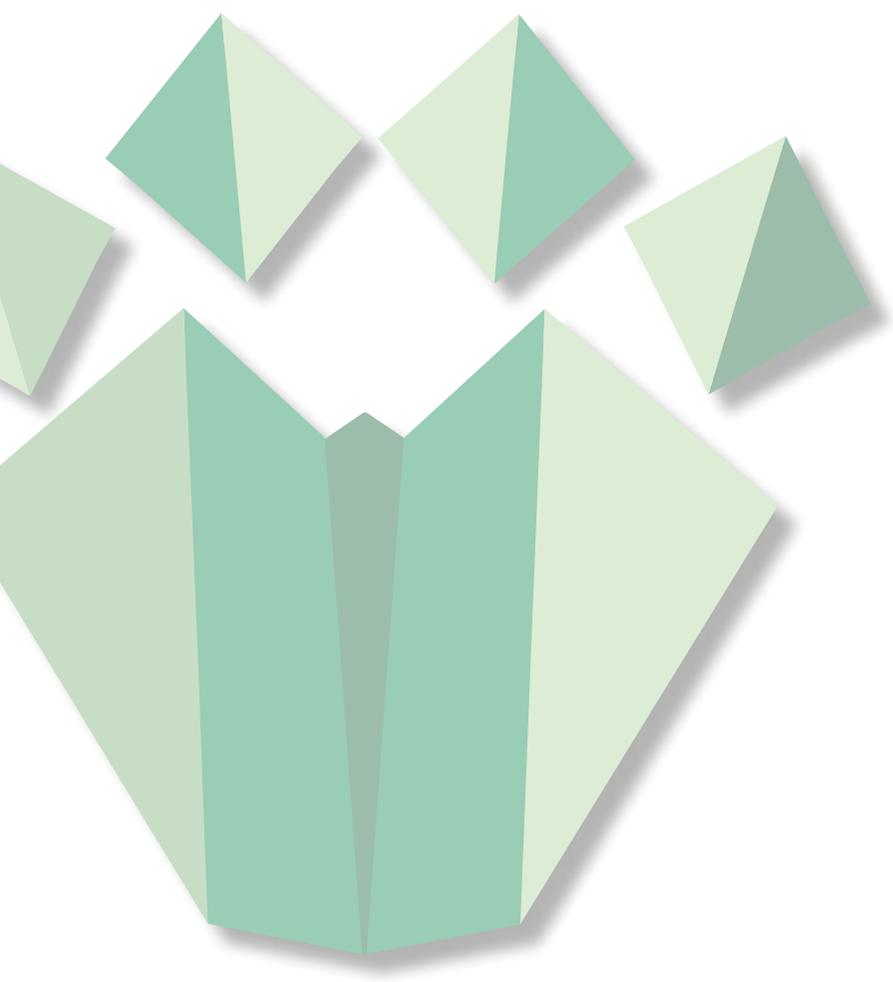
Este documento, além de considerar as particularidades e necessidades de nossas instituições de ensino, laboratórios e instalações animais, usou, a título de orientação, *Guidelines* internacionais, com o objetivo de ofertar elementos para que os usuários possam priorizar o bem-estar animal e minimizar a dor e as consequências negativas da manipulação dos animais.

Serão apresentadas formas de como identificar e reconhecer evidências de dor e distresse e a potencial relação destes com a manipulação animal. Dará aos usuários indicações de como desenvolver estratégias para minimizar situações consideradas distressantes e de como manter e incrementar o bem estar animal, além de oportunizar uma reflexão sobre a necessidade do uso de animais para atingir os objetivos de seus projetos de pesquisa.

Adicionalmente, identifica as estruturas mínimas necessárias às edificações em que os animais são criados, mantidos ou submetidos aos experimentos, bem como os equipamentos necessários para mantê-los com qualidade sanitária e bem estar.

O Guia traz orientações aos usuários para o estabelecimento de uma reflexão crítica ao uso dos animais, de uma percepção da relação custo/benefício e do valor intrínseco dos resultados pretendidos em seus projetos de pesquisa e atividades didáticas. Preenchidas estas condições é imperativo que os usuários recebam previamente ao início de suas atividades com animais, a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais, por meio do envio de formulários de proposta de uso animal (Formulário unificado para solicitação de autorização para uso de animais em ensino e/ou pesquisa; em site Concea – MCTI).

A percepção de que os animais de experimentação são seres sencientes e que seu uso pode contribuir para a geração de conhecimento, deve ser acompanhada da inserção dos pesquisadores aos conceitos dos 3Rs (“*Reduction, Refinement, Replacement*”), que no Brasil são traduzidos como Redução, Refinamento e Substituição. Vale enfatizar que o não cumprimento das orientações estabelecidas neste Guia para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa poderá incorrer em sanções administrativas, bem como, posteriormente, em sanções penais, caso sejam configurados maus-tratos.



2. Bem-estar Animal

O cuidado com animais em atividades de ensino ou pesquisa era limitado a prover manejo e alojamento adequados aos animais, com pessoas capacitadas, objetivando assim, um mínimo de variáveis em resultados de pesquisas. Atualmente persistem as mesmas exigências, todavia com especial atenção ao bem-estar dos animais. Neste sentido, o *status* atual da Ciência considera a somatória da excelência de sólidas bases científicas com o bem-estar animal.

A Lei 11.794/08 que regulamenta a utilização animal em nosso país transformou o bem-estar dos animais não só em uma questão ética e humanitária, mas também numa questão legal.

Existem várias definições de bem-estar animal e quase todas o caracterizam como um estado onde há equilíbrio físico e mental do animal com o seu ambiente. Porém, mais do que buscar definições, o objetivo de cada um deve ser o de prover condições aos animais para que suas necessidades possam ser satisfeitas e danos possam ser evitados. É importante saber reconhecer se o animal está em bem-estar ou não, para que se possa tomar providências quando necessário. Com esta premissa em mente, alguns pontos deverão ser levados em consideração pelo pesquisador ou pelo técnico ao pensar no bem-estar dos animais que serão utilizados.

É importante salientar que uma proposta de utilização de animais deve avaliar, sempre, a relação custo (sofrimento dos animais) versus benefício (resultados advindos da pesquisa ou atividade didática). Não se pode deixar de citar que o custo para o bem-estar de animais produzidos, mantidos ou usados para procedimentos científicos possui dois componentes distintos: o primeiro é o custo inerente que compreende os aspectos negativos da produção e cuidados e o segundo é o custo direto (danos) resultante dos procedimentos experimentais aplicados (Russell & Burch, 1959).

Outro aspecto a ser considerado é o de lembrar que a utilização de animais na pesquisa ou ensino sempre impactará negativamente no seu bem-estar, seja porque os animais serão expostos a manipulações diversas, a alterações genéticas ou somente por mantê-los em ambientes padronizados, que podem não preencher totalmente suas necessidades e adaptações.

A elaboração do projeto de pesquisa ou atividade didática deve levar em consideração os seguintes aspectos:

→ Estar ciente de que a dor e o sofrimento dos animais devem ser minimizados ou evitados. Este item é tão importante quanto alcançar os objetivos científicos ou didáticos;

Seguir os Princípios Éticos da utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica e os conceitos dos 3Rs;

→ Conhecer a biologia e a etologia da espécie que será utilizada. Lembrar as diferenças entre espécies e que o bem-estar possui dois componentes: o físico e o comportamental;

→ Documentação da atividade didática por meio de filmagens, gravações ou fotografias de forma a permitir sua reprodução para ilustrar práticas futuras, evitando-se a repetição desnecessária de procedimentos didáticos com animais;

→ Prover alojamento, ambiente, alimentação e controle ambiental adequados para a espécie;

→ Realizar manejo adequado para a espécie e prever que o mesmo seja executado por pessoas treinadas para esse fim, pois a intensidade de sofrimento causado pelo mau manejo e mau alojamento, muitas vezes supera o sofrimento causado pelos procedimentos experimentais;

→ Possuir equipe técnica devidamente treinada e capacitada;

→ Ter médico veterinário responsável pela saúde e bem-estar dos animais;

→ Apresentar seu projeto à Comissão de Ética no Uso de Animais pertinente antes de iniciar sua execução.

2.1. Definições: Dor, Distresse e Sofrimento

Dor, distresse e sofrimento são termos que descrevem basicamente estados humanos de percepção e experiência. Portanto, é difícil transferir estas definições para animais utilizados em atividades de ensino e pesquisa. De maneira geral, as seguintes definições podem ser atribuídas:

→ A dor pode ser definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão real ou potencial;

→ O distresse é a incapacidade de superar uma experiência estressante levando a uma ruptura do bem-estar individual;

→ O sofrimento é qualquer experiência cuja emoção ligada a ele é negativa. Geralmente está associada à dor e ao comprometimento do bem-estar.

O pessoal envolvido na utilização animal deve conhecer os conceitos de dor, distresse e sofrimento e saber

como reconhecer, avaliar, controlar e, preferencialmente, prevenir esta experiência em seus animais. Não há um consenso sobre a definição destes termos, mas para o propósito deste Guia, serão usadas as definições da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos – DBCA.

2.2. Efeitos do bem-estar de um animal em resultados científicos

A elaboração de um bom desenho experimental é essencial para o sucesso de um estudo, além de também ser um desafio quando sistemas biológicos complexos, como os animais são utilizados. O ideal é usá-los em um estado fisiológico estável e definido, de forma que a resposta à variável pesquisada não seja perturbada por fatores indesejados. Em estudos com animais, a ausência do controle destes fatores pode levar à interpretação incorreta dos dados devido a possíveis interferências nos efeitos de um tratamento. Especial atenção deve ser dada à dor e ao distresse, devido à complexidade e amplitude das respostas fisiológicas e comportamentais associadas à presença destes fatores durante a coleta e interpretação de dados. A dor e o distresse devem ser sempre minimizados de acordo com o objetivo do estudo, para que sejam evitadas alterações fisiológicas e comportamentais associadas a estes fatores.

Além dos efeitos dos procedimentos da pesquisa no seu bem-estar, os animais podem também ser expostos a uma série de fatores ambientais que causam *stress*. Entretanto, quando esses efeitos são incidentais e não fazem parte do protocolo, os fatores que causam tais alterações devem ser eliminados ou controlados, de forma a não interferirem na coleta de dados e interpretação de resultados.

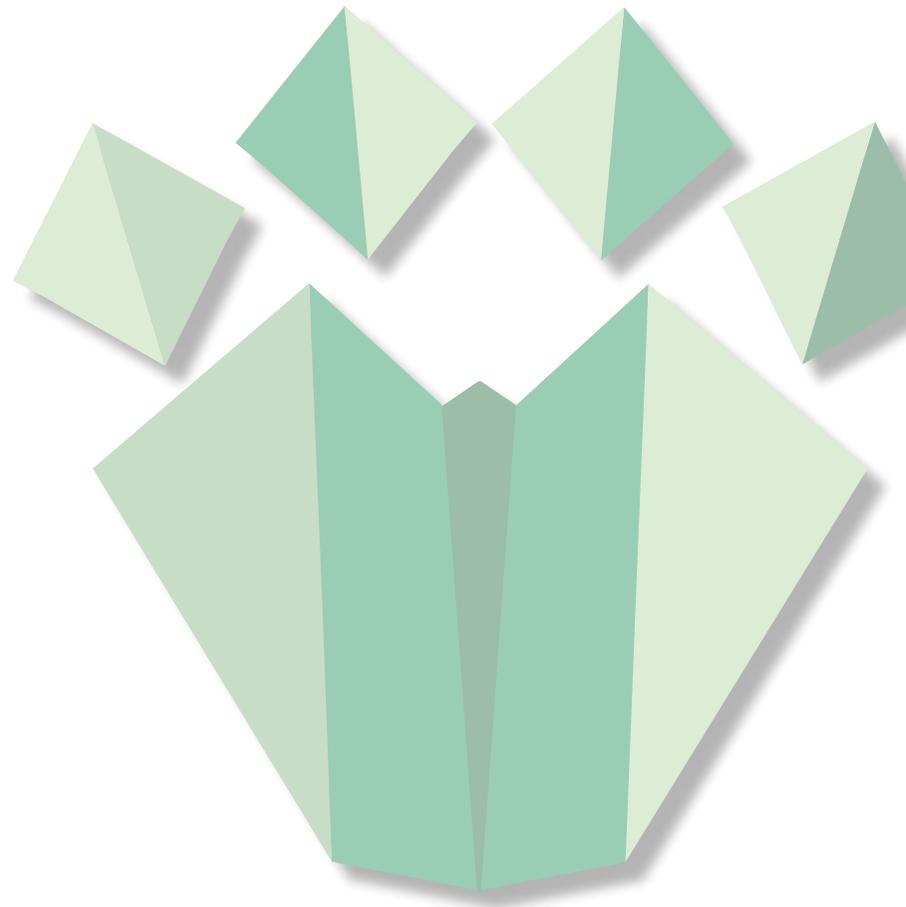
Claramente, no desenho e execução de protocolos, evitar efeitos indesejados ao bem-estar de animais envolve muito mais que a seleção de agentes anestésicos ou analgésicos adequados ou o fornecimento apropriado de água, comida, temperatura, umidade ou luz. A boa prática científica tem total interesse na preservação do bem-estar dos animais utilizados e na identificação, controle e sempre que possível, na eliminação dos fatores que possam causar respostas fisiológicas ou comportamentais associadas com estresse ou dor. Quando o estresse (ou os fatores estressantes) ou a dor fazem parte de um procedimento de pesquisa, estratégias para minimizar ou controlar esses efeitos são componentes essenciais do desenho experimental.

Se o bem-estar de um animal for comprometido, as consequências podem incluir:

- Aumento da variabilidade nos dados;
- Necessidade de um maior número de animais;

- Dificuldade na reprodutibilidade dos resultados;
- Ausência de dados;
- Credibilidade reduzida dos resultados;
- Resultados que não podem ser aplicados a outras situações;
- Resultados impublicáveis;
- Comprometimento na universalidade experimental;
- Uso desnecessário de vidas.

Qualquer resposta a um fator estressor que resulte em alterações nas medidas fisiológicas e comportamentais, por mais breve que seja, pode influenciar a confiabilidade, reprodutibilidade e interpretação dos dados.



3. Métodos Alternativos ao Uso de Animais

O uso de animais nas Ciências da Vida remonta à Grécia antiga e aos primeiros experimentos médicos. Durante séculos, médicos e pesquisadores utilizaram animais para melhorar seus conhecimentos sobre a forma como os vários órgãos e sistemas do corpo humano funcionavam, bem como para aprimorar suas habilidades cirúrgicas.

A ascensão da ciência biomédica moderna no século XIX causou um aumento no número de animais utilizados em experiências, bem como na resistência à vivisseção. A publicação do livro “*Principles of Human Experimental Technique*” pelos pesquisadores William Russel e Rex Burch em 1959 iniciou o movimento de proteção aos animais usados em pesquisa e representou um marco na discussão sobre a utilização de animais para a avaliação de toxicidade. A partir deste movimento, o princípio dos 3Rs (*Reduction, Refinement e Replacement*) para o uso de animais foi estabelecido: A redução reflete a obtenção de nível equiparável de informação com o uso de menos animais; o refinamento promove o alívio ou a minimização da dor, sofrimento ou estresse do animal; a substituição estabelece que um determinado objetivo seja alcançado sem o uso de animais vertebrados vivos. De fato, métodos alternativos podem ser definidos como qualquer método que possa ser usado para substituir, reduzir ou refinar o uso de animais na pesquisa biomédica, ensaios ou ensino.

Em 1969, a criação, no Reino Unido, do FRAME (*Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments*), órgão para promover junto à comunidade científica o conceito e o desenvolvimento de métodos alternativos foi a primeira ação em favor do princípio dos 3Rs.

Nos anos posteriores, o avanço da ciência evidenciou as diferenças metabólicas e de respostas que controlam a homeostasia tecidual entre animais não humanos e humanos. A necessidade de modelos *in vitro* mais apropriados tornou-se ainda mais evidente, iniciando-se, então, uma nova fase de abordagem toxicológica. Nas décadas seguintes os pesquisadores e defensores do bem-estar animal se uniram em torno de um objetivo comum: encontrar alternativas cientificamente validadas para os testes feitos em animais.

A política declarada das Instituições Europeias, desde a implantação do “*Animal welfare guideline*” em 1986 através da Diretiva 86/609/EC, é de estimular e desenvolver o uso de métodos alternativos ao uso de animais. Nela fica estabelecido que “uma experiência não poderá ser executada em animal se outro método cientificamente satisfatório, que não implique na utilização de um animal, seja razoável e praticamente possível”. Vários esforços foram e têm sido

efetuados para a busca de alternativas, com a criação de centros dedicados ao desenvolvimento e validação de métodos alternativos.

Em 1989 foi criado, na Alemanha, o ZEBET (*Zentralstelle zur Erfassung/Bewertung von Ersatz und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch – National Centre for Documentation and Evaluation of Alternative Methods to Animal Experiments*). Em 1991 foi criado o ECVAM (*European Centre for the Validation of Alternative Methods*) a partir da Diretiva 86/609/EC com objetivo de desenvolver e coordenar a validação de métodos alternativos ao uso de animais na Comunidade Europeia.

Em 1997 as agências governamentais dos Estados Unidos formaram o ICCVAM (*Interagency Coordinating Center for the Validation of Alternative Methods*). O ICCVAM é composto por 15 agências regulatórias e de pesquisa, dentre as quais se incluem a *Environmental Protection Agency* (EPA), a *Food and Drug Administration* (FDA) e a *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR), sendo que essas fornecem ou utilizam informações dos testes toxicológicos para o processo de avaliação do risco. O Comitê coordena, através das agências, a discussão relativa ao desenvolvimento, validação, aceitação e harmonização nacional e internacional dos ensaios toxicológicos, por intermédio do governo federal dos Estados Unidos.

Da mesma forma, outros países estabeleceram centros de validação: Em 2005, o governo japonês criou o JaCVAM (*Japanese Centre for the Validation of Alternative Methods*) e em 2012 foi estabelecido o BraCVAM (*Centro Brasileiro de Validação de Métodos Alternativos*), fruto da cooperação entre o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (DOU, Seção 3, n. 13, p. 122, 18/01/2012).

Em 2003 a sétima emenda (2003/15/EC) da diretiva de cosméticos (76/768/EEC) proibiu, nos países membros da União Européia, o teste de ingredientes de cosméticos, do produto final acabado em animais (*testing ban*) e proibiu a comercialização de produtos cosméticos acabados (ou seus ingredientes) que tenham sido testados em animais (*market ban*). O *testing ban* e o *market ban* estão em vigor desde 2009 e 2013, respectivamente.

De forma similar, a regulamentação de químicos (REACH) da Comissão Europeia, em vigor desde 2007, evita os testes em animais e prefere os testes alternativos *in vitro*. O propósito do REACH é registro, avaliação e autorização de químicos para sistematicamente avaliar os riscos para a saúde humana e ambiental de mais de 30.000 substâncias químicas que são produzidas ou importadas para Comunidade Européia num volume de mais de uma tonelada por ano. No sentido de minimizar e racionalizar o uso de animais para estudos de toxicologia, o planejamento deve incluir a

busca de informações relacionadas à molécula (pKa, pH, estrutura química, caracterização etc) que poderá determinar a indicação de vias de administração ou de exposição através de cálculos, eliminando a possibilidade de procedimentos desnecessários. Importante e relevante destaque vem sendo dado às análises *in silico* para identificação preliminar de moléculas não interessantes e evitar testes *in vivo* desnecessários.

Frente a este panorama regulatório, a União Européia, com o intuito de aumentar o desenvolvimento de métodos alternativos adotou a Diretiva 2010/63/EU que estabelece o ECVAM como laboratório de referência no âmbito da União, sendo este agora denominado UERL ECVAM (*European Union Reference Laboratory ECVAM*), responsável por coordenar e promover o desenvolvimento de métodos alternativos. A partir também desta Diretiva de 2010, os estados membros foram convocados a contribuir para esta atividade crucial identificando e indicando laboratórios nacionais qualificados, garantindo a promoção de métodos alternativos no nível Nacional.

A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) - organização intergovernamental constituída de 34 países da América do Norte, Europa e Pacífico com objetivo de coordenar e harmonizar suas políticas, debater assuntos de interesses econômicos, sociais e ambientais, e colaborar para fazer frente aos problemas internacionais - desempenha um papel fundamental na harmonização dos métodos para classificação de substâncias químicas. As diretrizes de ensaios da OCDE são uma coleção de métodos de ensaio, internacionalmente aceitos, que são utilizados por laboratórios independentes, governos e indústrias para determinar a segurança dos produtos químicos e preparações químicas, incluindo agrotóxicos e produtos químicos industriais. Eles cobrem os testes para as propriedades físico-químicas de produtos químicos (seção 1), os efeitos ambientais (seção 2), degradação e acúmulo no meio ambiente (seção 3), efeitos na saúde humana (seção 4), e outras áreas (seção 5). De especial interesse, é na seção 4 que os métodos alternativos ao uso de animais são publicados (<http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>).

Cabe ressaltar que os métodos alternativos não implicam, necessariamente, na vedação total do uso de animais. E podem ser utilizados para substituir, reduzir ou refinar o uso de animais em atividades de ensino e pesquisa. Sua aplicação visa atingir, sempre que possível, a mesma meta dos procedimentos substituídos por metodologias que: a) não utilizem animais; b) usem espécies de ordens inferiores; c) empreguem menor número de animais; d) utilizem sistemas orgânicos *ex vivos*; ou e) diminuam ou eliminem o desconforto dos animais envolvidos. No Brasil, compete ao Concea a responsabilidade de monitorar e avaliar a introdução de técnicas alternativas que substituam a utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa, conforme previsto no artigo 5º da Lei 11.794/2008.

Até o momento, o Conceia publicou 4 (quatro) Resoluções Normativas reconhecendo 41 (quarenta e um) métodos alternativos validados internacionalmente, visando a substituição parcial ou integral ao uso de animais em pesquisa, a saber: Resolução Normativa Conceia nº 18, de 24 de setembro de 2014; Resolução Normativa Conceia nº 31, de 18 de agosto de 2016; Resolução Normativa Conceia nº 45, de 22 de outubro de 2019 e Resolução Normativa Conceia nº 56, de 5 de outubro de 2022.

A aplicação específica dos métodos alternativos reconhecidos pelo Conceia, bem como a determinação de se destinar à substituição total, à substituição parcial ou à redução da utilização de animais na experimentação, encontram-se descritas no próprio método e, como tal, deverão ser seguidas, conforme especificado no artigo 4º da Resolução Normativa Conceia nº 54, de 10 de janeiro de 2022. Após o reconhecimento pelo Conceia do método alternativo, fica estabelecido o prazo de até 5 (cinco) anos como limite para a substituição obrigatória do método original pelo método alternativo.

Em 24 de fevereiro de 2023, o Conceia deu um passo à frente e publicou a Resolução Normativa Conceia nº 58, que proíbe o uso de animais em pesquisa científica e no desenvolvimento e controle da qualidade de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes que utilizem em suas formulações ingredientes ou compostos com segurança e eficácia já comprovadas. Bem como, torna obrigatório o uso de métodos alternativos reconhecidos pelo Conceia em pesquisa científica, no desenvolvimento e controle da qualidade de produtos de higiene pessoal, cosméticos ou perfumes que utilizem em suas formulações ingredientes ou compostos cuja segurança ou eficácia não tenham sido comprovadas.

A publicação dessa resolução normativa objetiva harmonizar a utilização de animais em desenvolvimento e controle produtos cosméticos, mantendo a convergência aos padrões internacionais, uma vez que os testes com animais para o desenvolvimento de cosméticos já são proibidos em várias partes do mundo.

4. Planejamento de Novos Projetos

Esta seção fornece informações para auxiliar pesquisadores e docentes a decidir se experimentos com animais são necessários para atingir os objetivos propostos. Quando o uso dos animais é justificado, existem informações para todas as etapas da condução da pesquisa ou atividade didática que os envolva. Entre elas destacam-se: a escolha correta do animal, sua origem, a forma de seu transporte e o tipo de abrigo, alimentação e ambiente; o planejamento do experimento ou atividade didática; a previsão e minimização da dor e das repercussões negativas para a saúde do animal; o treinamento de pessoal e a publicação dos dados.

Pesquisadores e docentes são responsáveis ética e legalmente por garantir que os princípios dos 3Rs sejam utilizados em seus projetos de pesquisa ou atividades didáticas. Antes de desenvolver um projeto de pesquisa que empregue animais, o pesquisador deverá considerar:

- Se o uso de animais proposto é justificado;
- O “estado da arte” (avaliar se projetos similares já foram realizados);
- Se os objetivos do projeto podem ser alcançados por meio de métodos alternativos, tais como cultura de tecidos, modelos matemáticos, métodos *in silico* etc.

Os pesquisadores e os docentes devem avaliar se os benefícios potenciais do conhecimento científico gerado se sobrepõem às consequências negativas decorrentes da manipulação do animal. As informações contidas nesta seção devem ser consideradas pelos pesquisadores e pelos docentes antes de submeterem uma proposta de uso de animais à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) pertinente. Os projetos devem considerar o menor número possível de animais (ou quantidade de tecido animal) que conduza ao máximo de informações cientificamente válidas e os métodos utilizados na manipulação devem minimizar o impacto negativo sobre os animais.

A colaboração entre pesquisadores (intra- e inter-institucional) concorre para reduzir o número de animais ou para a quantidade de tecido animal necessária para conduzir um estudo ou responder uma questão específica do projeto de pesquisa. Os pesquisadores podem também colaborar para o refinamento de metodologias, confeccionando, por exemplo, procedimentos operacionais padrão que visem ao incremento do bem-estar animal e manutenção dos padrões éticos em pesquisa.

Para projetos a serem conduzidos em mais de uma instituição, a CEUA de cada instituição deverá analisar, apro-

var e monitorar o componente do projeto a ser realizado em instalações sob sua responsabilidade.

Atividades científicas envolvendo animais devem resultar de um esforço colaborativo entre pesquisadores, especialistas em cuidado animal, equipe técnica, professores e alunos. Para este fim, todos os que trabalham com animais em atividades de ensino ou pesquisa devem ter treinamento e suporte adequados, e desta forma cuidar e utilizar animais em obediência ao Concea.

Isso garantirá que:

- A dor e o desconforto nos animais serão mínimos;
- Todo o pessoal envolvido possua o conhecimento e as habilidades necessárias ao uso de animais;
- A segurança pessoal daqueles que realizarão o estudo será mantida durante o manuseio do animal; e
- Os melhores resultados científicos serão atingidos.

O fornecimento de treinamento apropriado (específico de um determinado procedimento e espécie específica) antes do início de um projeto é responsabilidade da instituição. O treinamento deverá ser fornecido conforme a necessidade, e deve incluir aspectos técnicos e éticos em relação ao monitoramento dos animais. Além disso, as instituições de pesquisa deverão garantir que haja pessoas suficientes e com as habilidades apropriadas para os cuidados dos animais.

4.1. Modelos Animais

Os seres vivos compartilham propriedades e características. A ideia de “estudar características comuns entre as espécies a fim de compreender a função das espécies” advém, no mínimo, da época da obra *Historia Animalium*, de Aristóteles e sustenta o valor da medicina comparativa.

Descobertas fundamentais acerca da fisiologia e da fisiopatologia, adviram de estudos comparativos utilizando animais. Nesse contexto, estes organismos constituem-se em modelos ou substitutos para estudos sobre os humanos ou outros animais.

Modelos animais podem ser utilizados para investigar a fisiologia celular, tecidual de estruturas e órgãos e permitem avaliar a integração de órgãos e sistemas com o organismo ou em uma estrutura similar. Ofertam a possibilidade de compreender mecanismos subjacentes a doenças.

Na medida em que o conceito de modelo animal se aplica a toda utilização de animais para fins científicos, então, de forma geral, os mesmos critérios devem ser aplicados para a seleção e validação de um modelo animal específico. Inicialmente os pesquisadores devem definir os objetivos do projeto e determinar qual o nível do sistema biológico que é relevante para a sua condução. Por exemplo, seus estudos envolverão um tipo específico de célula, tecido, órgão ou a interação de órgãos? Tendo a percepção de qual é o sistema biológico envolvido, o pesquisador poderá então, decidir a melhor espécie ou linhagem animal que representa mais adequadamente o sistema biológico a ser investigado. A opção por um determinado modelo animal deve ter consistência científica e não ser influenciada por conveniência ou orçamento.

4.1.1. Escolhendo o animal adequado

A correta escolha do modelo animal é fundamental para o sucesso de um projeto de pesquisa. Além disso, há de se considerar a variabilidade biológica que pode interferir na qualidade dos resultados ou no rigor do procedimento experimental em detectar efeitos de tratamentos. Com isso, a geração de dados cientificamente não válidos pode acarretar no aumento do número de animais necessários para manter um nível adequado de precisão. Por outro lado a própria variabilidade biológica pode ser relevante para a pesquisa. Por causa disso, as razões para a escolha de uma determinada espécie devem estar claramente justificadas na proposta. (Ver Seção 4.4.1 da DBCA para informações sobre a seleção de animais apropriados).

Questões que devem ser consideradas na decisão do animal adequado:

→ **Espécie:** Garantir que a espécie seja a mais apropriada para o protocolo de pesquisa proposto.

→ **Raça, linhagem e variabilidade genética:** Existe variação biológica entre as raças das espécies animais. A variabilidade pode ser reduzida escolhendo apropriadamente o modelo animal.

A variabilidade genética pode reduzir a precisão dos resultados e desta forma levar ao aumento no número de animais necessários. Outros aspectos importantes são a definição genética de espécies híbridas que é de difícil controle e a dificuldade na determinação da equivalência de colônias distintas de animais.

Linhagens isogênicas possuem um fenótipo mais uniforme do que heterogênicas, permitindo a melhor detecção de respostas ao tratamento, reduzindo o número de animais necessários.

→ **Estado sanitário:** Ter controle e conhecimento sobre o estado de saúde dos animais permite melhor compreensão dos efeitos e consequências específicas da manipulação. O fornecedor deve fornecer atestados sanitários, que esclareçam ao pesquisador quanto ao estado sanitário dos animais com os quais ele estará trabalhando.

→ **Comportamento:** Garantir que o animal escolhido tenha comportamento adequado ao ambiente onde o estudo será desenvolvido. Os pesquisadores devem, sempre que possível, selecionar espécies domesticadas e animais habituados ou acostumados a humanos e ambientes antropizados.

4.1.2. Origem dos animais

A maior parte dos animais utilizados em atividades de ensino ou pesquisa é produzida especificamente para esse fim, principalmente os roedores. Por esta razão os animais de cativeiro, ao contrário de animais capturados em estado selvagem, devem ser prioritariamente utilizados. A aquisição de animais para utilização nos projetos de pesquisa ou procedimentos de ensino, quando houver no Brasil a produção da espécie/linhagem de escolha, só pode ser feita de instituições credenciadas no Concea. Nos casos da aquisição de fornecedores eventuais, garantir que os animais a serem utilizados tenham qualidade condizente com os objetivos do estudo é responsabilidade do pesquisador principal e da CEUA de sua instituição.

É imprescindível que os pesquisadores definam a origem dos animais a serem utilizados nos projetos encaminhados às CEUAs.

4.1.3. Transporte dos animais

O transporte de animais é crítico devido aos vários riscos a que estão sujeitos. Problemas diferentes podem surgir, seja no transporte externo (de um estabelecimento para outro), seja no transporte interno (dentro das unidades, entre barreiras, diferentes salas). Os pesquisadores e docentes devem estar cientes das regulamentações específicas para o transporte de animais. A troca de informações claras entre a pessoa que despacha os animais e a que os recebe é vital para minimizar o tempo de permanência dos animais em trânsito. Atenção especial deve ser dada ao transporte de animais geneticamente modificados, que deve atender às exigências da Comissão Interna de Biossegurança e,

quando necessário, da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança.

Alguns fatores que podem causar estresse aos animais são: o barulho excessivo, movimento das gaiolas de transporte e ambiente e pessoal estranhos. A extensão do estresse em um animal depende de sua espécie, sexo, idade, saúde, estágio de prenhez, número de animais viajando juntos e relações sociais. O desconforto dos animais é afetado pela duração e condição do ambiente durante o transporte e pela qualidade do cuidado dispensado ao longo da viagem.

As condições e agendamento de transporte devem ser planejados para levar em consideração extremos climáticos, necessidades específicas da espécie e contingências.

Para minimizar o desconforto durante o transporte, os pesquisadores e docentes devem:

- Utilizar contêineres seguros, confortáveis e à prova de fuga;
- Fornecer alimento e água adequados sempre que possível;
- Garantir que todo o pessoal responsável pelo manuseio e transporte tenha capacitação para reconhecer sinais de desconforto e dor e que seja capaz de atuar para mitigar;
- Assegurar que o tempo de transporte seja o mínimo possível.

4.1.4. Aclimação e quarentena

Animais são extremamente sensíveis ao novo, seja o ambiente ou alterações do mesmo; outros animais ou pessoas e estes fatores devem ser sempre considerados. Introduzir animais em um novo local, com as respectivas mudanças em sua condição de vida e de grupos sociais, produz uma resposta estressante que, embora possa ser temporária, pode levar ao distresse. Portanto, é necessário que os animais passem por um período de aclimação antes que sejam utilizados em atividades de ensino ou pesquisa. Quanto à extensão deste período, depende da espécie animal e, portanto, devem ser observadas todas as suas exigências.

Durante o período de aclimação, os animais devem ser habituados ao manuseio e à presença das pessoas que trabalharão com eles. No caso de pesquisadores este período é importante para que se familiarizem com comportamento normal dos animais. Indivíduos que não se aclimataram não deverão ser utilizados na pesquisa.

As áreas designadas para quarentena devem ser observadas com mais frequência, e todas as observações devem ser registradas para que problemas possam ser identificados e medidas possam ser tomadas para saná-los. O

tempo de duração da quarentena deverá ser apropriado para que seja assegurada a saúde dos animais que ali estão e os seus congêneres já alojados na instalação.

4.1.5. Alojamento e manejo

As condições ambientais afetam a biologia e a qualidade de vida dos animais. Para reduzir a variação nas respostas decorrentes do ambiente, os animais devem ser mantidos em local seguro, apropriado e controlado.

Os alojamentos dos animais devem ser projetados, mantidos e manejados para atender às exigências da espécie. Necessidades comportamentais de cada espécie, incluindo a disponibilidade de espaço para permitir a livre movimentação e atividade, sono, privacidade, contato com outros da mesma espécie, enriquecimento ambiental, entre outras devem ser levadas em consideração. Os pesquisadores devem tomar precauções para prevenir o acesso de pessoas não autorizadas, bem como ter planos de contingenciamento no caso de emergências, como falhas na ventilação, iluminação, aquecimento, refrigeração ou escape de indivíduos.

Se um animal apresentar um estado sanitário ou genético diferente de outros da mesma instalação, pode ser necessária a indicação de um local específico para ele. Exigências podem também ser direcionadas pelo estado reprodutivo do animal, necessidades da pesquisa ou experiência anterior.

Necessidades ambientais específicas para uma espécie, tais como iluminação, temperatura, qualidade do ar, ciclos apropriados de luz e proteção contra ruídos excessivos e vibrações, deverão ser atendidas. O acesso rápido ao alimento e à água e o fornecimento regular de acomodações limpas e livres de parasitas e patógenos também precisam ser considerados.

Animais possuem necessidades específicas de nutrientes nos diferentes estágios de suas vidas. Ao fornecerem dietas balanceadas e reconhecidas internacionalmente aos animais, os pesquisadores reduzem a variação dentro e entre estudos e assim evitam a necessidade de duplicação de experimentos, reduzem o número de animais necessários e melhoram a qualidade de sua pesquisa.

A qualidade da dieta também pode ser afetada pelas condições de armazenamento dos alimentos e a frequência de fornecimento.

4.2. Biossegurança

A biossegurança deve ser entendida como elemento de grande importância e deve integrar-se rotineiramente em qualquer atividade de ensino ou pesquisa envolvendo animais, principalmente naqueles laboratórios onde os perigos (sejam químicos, físicos ou biológicos) sejam maiores. A biossegurança é o conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, visando à saúde do homem, dos animais, do meio ambiente e a qualidade dos resultados. Biossegurança como condição de segurança deve ser alcançada através de um conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades realizadas (Diretrizes Gerais para o Trabalho em Contenção com Agentes Biológicos, 2010).

Os manuais de biossegurança tradicionalmente enfatizam o uso de Boas Práticas de Laboratório (BPL), no sentido de práticas laboratoriais seguras (não confundir com a BPL relacionada à gestão da qualidade no laboratório), a utilização apropriada dos equipamentos de proteção, instalações bem planejadas e construídas e procedimentos que visam minimizar riscos de infecção ou acidentes involuntários para trabalhadores do laboratório além de impedir a contaminação do ambiente externo. No Brasil, a legislação vigente trata exclusivamente da biossegurança com Organismo Geneticamente Modificado (OGM), entretanto existem regras de atuação profissional para organismos comuns ou não geneticamente modificados. Deve-se obedecer às condições estabelecidas pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), que atualmente define organismo como: toda entidade biológica capaz de reproduzir ou transferir material genético, inclusive vírus e outras classes que venham a ser conhecidas (Resolução Normativa Nº 2, de 27 de novembro de 2006). Por outro lado, os setores que manipulam OGMs ficam, também, obrigados por lei a requisitarem o Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) à CTNBio, conforme a Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, além de atenderem rigorosamente às RN emanadas da CTNBio na sua área de atuação, sem o quê estarão trabalhando à margem da Lei. De grande relevância é a conscientização de que a espinha dorsal da prática da biossegurança são a avaliação de risco e as auto-inspeções periódicas de biossegurança. Apesar das ferramentas disponíveis para ajudar nesta avaliação, o componente mais importante é o julgamento profissional. Portanto, tais avaliações devem ser executadas pelos indivíduos com experiência e conhecimento das características específicas dos organismos que são considerados para uso. O domínio dos equipamentos laboratoriais, dos modelos animais e dos equipamentos de contenção que podem ser utilizados, bem como das instalações disponíveis é fundamental.

4.2.1. Biossegurança em instalações animais

A biossegurança em instalações animais assume dimensão diferenciada de outras atividades, uma vez que a presença dos animais agrava o risco biológico. A flora microbiana e parasitária, a produção de alérgenos e a agressão animal são capazes de causar danos à saúde ou à vida dos profissionais envolvidos nessa atividade. A produção constante de proteínas eliminadas pela urina, secreções e descamação da pele – que são encontradas em suspensão no ar ou depositadas nos materiais e equipamentos – torna as instalações animais em ambientes propícios para o desenvolvimento de reações alérgicas nos expostos. Fora isso, agressões animais podem causar ferimentos e determinar infecções. As instalações animais onde se realizam infecções experimentais assumem papel de maior importância tendo em vista os riscos potenciais e efetivos das atividades com agentes patogênicos de diferentes classes de risco. Os riscos específicos ficam, portanto, na dependência das espécies animais envolvidas e da natureza da atividade de ensino ou pesquisa realizada. Quanto às medidas específicas de segurança com agentes perigosos, deve ser dada especial atenção aos procedimentos sobre cuidados e alojamento dos animais; armazenamento de agentes de risco e prevenção contra perigos causados por esses agentes; dosagem e administração de medicamentos; manuseio de tecidos e fluidos corporais; eliminação de excretas, cadáveres ou carcaças; e proteção pessoal. Exige-se o emprego de equipamento de segurança específico, bem como um manejo adequado, além de práticas laboratoriais seguras. Em suma, para uma segurança eficaz, é necessário pessoal treinado e que siga rigorosamente as normas de proteção contra riscos. Claro é que os indivíduos que lidam com animais em atividades de ensino ou pesquisa, em locais onde agentes infecciosos são utilizados, são expostos a riscos maiores de exposição devido à possibilidade de transmissão por mordidas, arranhões ou aerossóis. Todos os presentes nessas instalações devem utilizar (técnicos envolvidos diretamente no trabalho ou qualquer um presente nas instalações) Equipamentos de Proteção Individual - EPI. Todas as instalações devem ser adequadas e credenciadas pelo órgão competente, quando for o caso. Logo, um programa eficiente de **saúde, biossegurança e ambiente** deve concentrar seus esforços para que os riscos inerentes ao uso de animais sejam reduzidos a níveis aceitáveis. Portanto, cada instalação animal deverá desenvolver ou adotar um manual de biossegurança ou de operações que identifique os riscos e que especifique as práticas e procedimentos para minimizar ou eliminar as exposições aos perigos.

4.3. Desenho da pesquisa científica

A pesquisa científica deve ser bem planejada e contar com um planejamento adequado (desenho da pesquisa).

O desenho deve estar associado a uma análise estatística de tal forma que se aproxime do menor número de animais necessários à obtenção de resultados válidos, evitando, por conseguinte, o uso em excesso ou insuficiente de modelos. Desenhos mal elaborados produzem resultados inconclusivos, conduzem à repetição do estudo e ao aumento no número de animais.

Os pesquisadores e as CEUAs devem garantir que os objetivos e as hipóteses estejam plenamente considerados e completos antes do início de qualquer atividade envolvendo animais.

4.3.1. Análise estatística¹

Como ressaltado acima, desenhos envolvendo animais devem garantir que resultados sejam estatisticamente válidos e obtidos com o menor número possível de indivíduos. Os pesquisadores devem, sempre que possível, buscar orientação do bioestatístico de sua instituição para a elaboração do projeto a fim de que saibam, antecipadamente, como os dados serão analisados.

Outro ponto que deve ser considerado ao desenhar uma pesquisa é o tamanho da amostra. Uma amostragem muito pequena não permitirá que o efeito estudado seja detectado com algum grau de confiabilidade. Entretanto, uma amostragem muito grande leva a um uso desnecessário de animais.

Pesquisas bem concebidas e analisadas corretamente podem levar a uma redução no uso de animais e aumentar a validade científica dos resultados. Uma pesquisa bem concebida deve ser:

1 O NC3Rs (Centro Nacional para a Substituição, Refinamento e Redução de Animais para Pesquisa) é uma organização do Reino Unido que lidera a descoberta e a aplicação de novas tecnologias e estratégias para substituir, reduzir ou refinar o uso de animais para fins científicos (3Rs). Dentre suas atividades, o NC3Rs desenvolveu um roteiro para auxiliar o delineamento experimental e análise estatística. A versão original e em inglês deste roteiro pode ser encontrado no seguinte endereço eletrônico: <http://www.nc3rs.org.uk/>.

Imparcial

Quando dois ou mais grupos são comparados, os animais nos grupos devem estar em ambientes idênticos e serem semelhantes em todos os sentidos exceto pelos tratamentos aplicados. O viés pode ser minimizado por:

→ Alocação aleatória dos animais aos diferentes grupos (um processo físico é necessário, por exemplo, jogar uma moeda, a escolha de um número)

→ Assegurar que todos os procedimentos subsequentes (incluindo alojamento) sejam aplicados em uma ordem aleatória

→ Garantir que os investigadores que analisam os resultados não tenham conhecimento do tratamento recebido (duplo-cego) até a análise estatística final.

Poder de Análise Adequado (ou seja, uso de animais suficientes).

Pesquisas robustas são aquelas que têm a oportunidade máxima de detectar um efeito verdadeiro do que se estuda. O poder de análise (robustez) é obtido por:

→ Uso de um número adequado de animais (tamanho da amostra)

→ Controle da variação inter-sujeito (por exemplo, usando a randomização)

O tamanho da amostra deve ser determinado utilizando um método formal, tal como poder de análise ou usando o método da equação de recursos (ver abaixo). Embora o poder de análise seja aumentado pelo aumento do tamanho da amostra, uma pesquisa desnecessariamente grande envolverá animais em excesso e desperdiçará recursos científicos.

Variação é controlada através da atribuição aleatória de animais de genótipos similares, de peso e idade similares, que tiveram um ambiente semelhante ao longo de suas vidas. Variação devido a ritmos circadianos ou flutuações no ambiente muitas vezes podem ser reduzidos em delineamento adequado, por meio de uso de bloco randomizado ou estudos do tipo quadrados latinos (Latin Squares).

O **erro de medição** deve ser minimizado por técnica cuidadosa e boa instrumentação, mantendo o pesquisador “às cegas” quanto à alocação de tratamento.

Análise do Poder: um método de análise do poder para comparar dois grupos, por exemplo, requer as seguintes informações:

Tipo de teste estatístico a ser utilizado (por exemplo, um teste t ou o teste do qui-quadrado para comparar duas proporções)

→ Nível de significância para ser utilizado (com frequência um nível de 5%)

→ Poder estatístico exigido (geralmente 80-90%),

→ Lateralidade do teste (um teste de 2 lados é usual)

→ Tamanho do efeito de interesse biológico (ou seja, quanto de uma diferença no efeito biológico ou clínico é necessário detectar)

→ Estimativa do desvio padrão (quando se comparam as médias, deve vir de um estudo anterior)

O site StatPages.org oferece cálculos online de tamanho da amostra combinando os fatores acima.

A equação de recursos: $E = N$ (número de animais por tratamento x número de tratamentos) - T (número de tratamentos) Onde N = o número total de sujeitos (por exemplo, animais individuais ou grupos / gaiolas de animais) e T = número de combinações de tratamento, E (o tamanho da amostra) deve ser de aproximadamente entre 10 e 20.

Por exemplo, uma pesquisa comparando quatro tratamentos, utilizando seis indivíduos por tratamento, terá $N = 24$ (6×4) e $T = 4$, então $E = 24 - 4 = 20$. Isto está dentro da faixa aceitável. No entanto, pode haver boas razões para ir acima desse limite superior. Se E for 30 ou 40, a pesquisa pode ser muito grande, possivelmente desperdiçando recursos. Esta equação é mais adequada para pequenas, não-rotineiras e mais complexas experiências usando animais que provavelmente serão analisadas pelo método estatístico de variância (ANOVA).

Tenha uma ampla faixa de aplicabilidade

Muitas vezes é útil saber se resultados semelhantes são obtidos em machos e fêmeas, em diferentes linhagens, ou como resultado de dietas ou ambientes diferentes. Do mesmo modo, a resposta a um fármaco pode depender de um tratamento prévio, do efeito de outras drogas, ou da via de administração. Estes efeitos podem ser estudados de forma eficiente utilizando desenhos fatoriais.

Desenhos fatoriais: Podem ser usados para investigar o efeito de uma droga tanto em machos quanto em fêmeas sem fazer duas experiências separadas ou utilizando o dobro de animais. Simplesmente, em cada um dos dois grupos a metade dos sujeitos são fêmeas e a outra metade machos. Um estudo fatorial com poder adequado

mostrará se os dois sexos responderam da mesma forma, o que não é possível se os dois sexos forem usados em pesquisas diferentes.

Seja simples e eficiente

Pesquisas não devem ser complicadas a ponto de erros serem cometidos em sua execução, ou a análise estatística tornar-se excessivamente complicada. Estudos-piloto pequenos devem ser utilizados antes de iniciar um grande estudo para assegurar que ele é logisticamente eficiente e para dar alguma indicação preliminar de resultados prováveis. Todas as pesquisas devem ser pré-planejadas e não podem ser alteradas enquanto estiverem em andamento.

Indique a faixa de certeza

Cada pesquisa deve ser analisada estatisticamente de modo a que os resultados possam ser utilizados para o planejamento futuro. Uma análise estatística adequada deve indicar a faixa de incerteza nos resultados, ou a medida de variação, normalmente indicado por níveis de significância ou intervalos de confiança.

4.3.2. Métodos utilizados

Antes de iniciar uma pesquisa, também é importante certificar-se que os métodos utilizados foram planejados para garantir o bem-estar dos animais, e que as variáveis não controladas, o modelo escolhido e as condições de alojamento foram levados em consideração. Fatores estressantes não ligados ao estudo podem causar uma grande variação e afetar a precisão dos resultados. Outras variáveis, tais como ritmos circadianos, erros de coleta dos dados e a qualidade e validade dos reagentes precisam ser ponderadas.

4.3.3. Após a coleta de dados

As etapas finais do estudo (publicação dos resultados) também devem ser consideradas no planejamento do projeto. A metodologia, os dados e suas análises devem ser acessíveis a outros pesquisadores e desta forma podem contribuir para a redução e refinamento do uso de animais por outros grupos de pesquisa. Esta informação deve ser

apresentada de forma clara, precisa e com detalhes suficientes para permitir que ela seja entendida e replicada, incluindo:

- Os objetivos e hipóteses da pesquisa;
- Os animais utilizados (ex.: espécies, linhagens, fontes, tipos, estado sanitário);
- Condições de transporte e a duração do período de aclimação antes do início;
- Condições do alojamento do animal, da alimentação e da água;
- Os métodos estatísticos utilizados para analisar os dados obtidos.

4.4. Prevenção da dor e do distresse potencial

Todo protocolo de pesquisa deve descrever claramente os pontos finais humanitários (“endpoints”) que serão utilizados. Estes pontos finais devem ser adequados para a espécie utilizada no estudo e o monitoramento das condições deve ser feito para cada animal envolvido. Idealmente os objetivos científicos do projeto de pesquisa devem ser atingidos sem afetar negativamente o bem-estar animal. Entretanto, muitas vezes não é possível atingir os objetivos nesta condição, assim deve se considerar: os requisitos científicos do projeto; efeitos negativos previstos e/ou esperados sobre o bem-estar dos animais; cinética provável e progressão dos efeitos adversos; indicadores preditivos precoces de efeitos adversos atuais ou iminentes.

As fases de um projeto que podem ter impacto negativo sobre a qualidade de vida dos animais não são limitadas aos protocolos da pesquisa. Outras fontes potenciais de dor, estresse e distresse podem ser consideradas, tais como captura, transporte, manuseio, contenção, alojamento, ambiente social e físico, manipulação genética entre outros. A prevenção de dor e distresse requer conhecimento do comportamento normal da espécie em questão e do que pode ser esperado se o protocolo utilizado causar efeitos adversos.

4.4.1. Estudos-piloto (CN3Rs - <http://www.nc3rs.org.uk/conducting-pilot-study>)

Estudos-piloto podem ser utilizados para determinar os efeitos do protocolo de pesquisa no bem-estar dos animais. Eles são valiosos no planejamento e gerenciamento do projeto de pesquisa, pois ajudam a refinar e a reduzir o impacto adverso nos indivíduos, antes que pesquisas empregando um grande número de animais sejam realizadas.

Estudos-piloto devem ser considerados como integrantes de um projeto ou protocolo como um todo, especialmente para permitir a avaliação da viabilidade do projeto ou protocolo e a potencial inserção ao princípio dos 3Rs. Os estudos piloto devem ser avaliados pela CEUA de acordo com os critérios normais aplicados à aprovação de estudos plenos. Os resultados do estudo piloto devem ser considerados quando da análise pela CEUA do projeto pleno.

Um estudo-piloto, ou de viabilidade, é um pequeno estudo destinado a testar a logística e reunir informações antes de um estudo mais amplo, a fim de melhorar a qualidade e eficiência deste último. Ela pode revelar deficiências na concepção de um projeto de pesquisa ou protocolo, que poderão ser resolvidas antes que animais, tempo e recursos sejam utilizados em vão. Uma boa estratégia de pesquisa requer um planejamento cuidadoso e o estudo-piloto, muitas vezes, é uma parte dessa estratégia.

Um estudo-piloto é normalmente pequeno em comparação com a pesquisa principal e, portanto, pode fornecer apenas informações limitadas sobre as fontes e magnitude da variação das medidas. É improvável, por exemplo, que um estudo-piloto isoladamente possa fornecer os dados adequados sobre a variabilidade e o poder da análise que determina o número de animais a serem incluídos num estudo bem desenhado. Uma revisão sistemática da literatura, ou mesmo uma única publicação pode ser uma fonte mais adequada de informações sobre a variabilidade.

Questões logísticas que podem ser reveladas por um estudo-piloto

Um estudo-piloto pode identificar problemas logísticos. Como parte da estratégia de pesquisa os seguintes fatores podem ser resolvidos antes da pesquisa principal:

- Verifique se as instruções dadas aos pesquisadores (por exemplo, procedimentos de randomização) são compreensíveis;
- Verifique se os pesquisadores e técnicos estão suficientemente qualificados na execução dos procedimentos;
- Verifique o funcionamento dos equipamentos;
- Verifique se o animal a ser incluído pode executar uma tarefa (física ou cognitiva);
- Verifique a confiabilidade e validade dos resultados;
- Detecte se alguma tarefa é muito difícil ou muito fácil, pois isso poderá enviesar ou distorcer resultados);
- Avalie se o nível de intervenção é apropriado (por exemplo, a dose de uma droga);
- Identifique os efeitos adversos (dor, sofrimento, angústia ou dano duradouro) causados pelo procedi-

mento, bem como a eficácia das ações para mitigá-los (por exemplo, taxa de dose de analgesia e cronograma);

→ Defina antes os pontos finais humanitários.

O que fazer com os dados / informações

As informações obtidas sobre as questões logísticas devem ser incorporadas ao desenho da pesquisa principal. Como o objetivo de um estudo-piloto é avaliar a viabilidade de um estudo é muito raro apresentar mais que um resumo dos dados estatísticos. Na verdade, os dados podem ser irrelevantes se problemas com os métodos forem descobertos.

Se um estudo-piloto não leva a modificações de métodos ou procedimentos, os resultados dele podem ser incorporados na pesquisa principal. A estratégia de amostragem utilizada para selecionar os animais, e a possibilidade de mudanças ao longo do tempo devem ser cuidadosamente considerados antes de incorporar dados do estudo-piloto. Mesmo que os dados do estudo-piloto não sejam utilizados deste modo, e, mesmo que o desenho final seja muito diferente do piloto, é útil incluir informação sobre o estudo-piloto em quaisquer publicações ou relatórios provenientes da pesquisa principal, uma vez que pode contribuir para o desenho em estudos futuros.

Pode ser necessário levar a cabo um segundo estudo-piloto para avaliar a pesquisa principal ou, em alguns casos, o estudo principal pode ter que ser abandonado.

4.4.2. Testes toxicológicos

A toxicologia, segundo consenso entre as sociedades mundiais, é o estudo dos efeitos adversos de agentes químicos, físicos ou biológicos sobre organismos vivos e sobre o ecossistema, incluindo a prevenção e ou minimização desses efeitos.

Testes toxicológicos podem identificar potenciais efeitos adversos à saúde ou demonstrar a segurança de novas substâncias químicas e novos produtos, fornecendo assim a base para a salvaguarda da saúde de animais não humanos, humanos e do ambiente, estes testes são importantes para a análise de risco. Testes ecotoxicológicos podem ser exigidos pela legislação para caracterizar perigos e para avaliação de risco ambiental tanto pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), quanto pelos ministérios responsáveis pelo registro de novas moléculas para variados fins.

Autoridades reguladoras nacionais e internacionais necessitam equilibrar as preocupações entre o bem-estar

animal e a necessidade de obter informações toxicológicas. A toxicologia é um campo cada vez mais harmonizado internacionalmente e considera uma vasta gama de organizações preocupadas com o desenvolvimento e validação de testes alternativos.

Para que os estudos de segurança e risco de novos produtos para o meio ambiente, animais não humanos e para os humanos sejam considerados por agências regulatórias, é necessário que guias nacionais e os internacionalmente aceitos sejam seguidos, bem como suas recomendações. Com relação às atividades de ensino ou de pesquisa, recomenda-se que estes mesmos guias sejam seguidos sempre que possível, pois consideram os aspectos éticos, a redução do número de animais e o refinamento das técnicas.

Metodologias adotadas para avaliação do risco toxicológico

Vários protocolos internacionalmente aceitos estão disponíveis para uso em estudos toxicológicos baseados no conceito dos métodos alternativos (http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam - acessado em 14/08/2014) e alguns exemplos estão listados a seguir:

→ **Toxicidade Aguda:** Estudo da toxicidade produzida por uma substância teste quando administrada uma ou mais vezes em um período que não exceda 24 horas;

→ **Toxicidade subaguda:** Estudo da toxicidade produzida por uma substância teste quando administrada diariamente durante período não superior a um mês, os protocolos internacionais usualmente abrangem período que pode variar entre 14 ou 28 dias;

→ **Toxicidade subcrônica:** Estudo da toxicidade em que a substância teste é administrada diariamente por, pelo menos, 90 dias;

→ **Toxicidade crônica:** Estudo da toxicidade em que a substância teste é administrada diariamente por pelo menos seis meses, com exigências variáveis para diferentes espécies e para as diferentes necessidades investigativas;

→ **Irritação:** Avaliação de risco irritativo induzido por substâncias, nos olhos, pele e mucosas;

→ **Carcinogenicidade:** Avaliação do potencial de uma substância para causar o aparecimento de neoplasias malignas. Estes estudos são de longa duração, prolongando-se por quase toda a vida do animal (roedores) e diante desta situação, recomenda-se que sejam desenvolvidos somente em instalações animais com condições sanitárias e estruturais capazes de manter a vida destes animais por longos períodos, sem interferências, a não ser aquelas

previstas no protocolo aprovado pela CEUA da instituição. Existem substâncias carcinogênicas genotóxicas e outras não genotóxicas;

→ **Genotoxicidade:** Estudos que avaliam a habilidade de uma substância para induzir alterações no material genético (DNA, RNA, nucleotídeos, cromossomas). De acordo com o tipo de dano causado ao material genético, as substâncias são classificadas como: mutagênicas, clastogênicas ou aneugênicas;

→ **Reprodução:** Estudos que visam a determinação do potencial de uma substância para causar desenvolvimento anormal no período pré-natal, incluindo-se os estudos de uma ou duas gerações sequenciais. Sempre que possível deve-se optar pelos protocolos de uma geração com extensão de observações, no intuito de diminuir o número de animais incluídos nos estudos. A teratologia é uma das partes dos estudos da reprodução, que visa a determinação do potencial de uma substância para causar desenvolvimento pré-natal anormal, produzindo anomalias congênitas;

→ **Estudos ecotoxicológicos:** Avaliam o risco e a segurança de substâncias para o ecossistema.

Planejamento de protocolos com testes toxicológicos

Durante o planejamento de protocolos com testes toxicológicos é essencial observar as exigências regulatórias especificadas pelas autoridades nacionais e pelas internacionais e que estão descritas nos documentos regulatório. Estas incluem os tipos de teste, espécies-alvo, via de administração e parâmetros estatísticos de forma a se obter o máximo de informações com o mínimo de envolvimento animal e resultados aplicáveis e seguros.

O racional para estudos que visam a determinação do risco e da segurança de novas moléculas inclui o seguinte: estudos de genotoxicidade, estudo da toxicidade aguda (em substituição ao cálculo da DL50, banido pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico em 2001), estudos de toxicidade em doses repetidas (duas espécies, uma roedora e uma não roedora), estudos de toxicidade para a reprodução e para novos fármacos adicionalmente estudos de segurança farmacológica específicos. Os protocolos para conhecimento do potencial irritativo ou corrosivo para olhos, pele e mucosas devem ter sua aplicabilidade avaliada caso a caso, uma vez que se o dano é presumido, tornam-se desnecessários para substâncias ou formulações nas quais propriedades químicas ou físicas sugerem que esta forma de toxicidade é provável, por exemplo, pH acima de 11,5 ou abaixo de 2.

Ainda no sentido de minimizar e racionalizar o uso de animais para estudos de toxicologia, o planejamento deve incluir a busca de informações relacionadas a molécula (pKa, pH, estrutura química, caracterização etc) que poderá determinar através de cálculos por exemplo a indicação de vias de administração ou de exposição, eliminando

a possibilidade de procedimentos desnecessários.

4.4.3. Graus de invasividade

A finalidade dos graus de invasividade é alertar os pesquisadores, as CEUAs e a todos os envolvidos com os cuidados dos animais sobre o risco de dor ou distresse a que os animais serão submetidos durante a execução dos protocolos.

Os graus de invasividade orientam os pesquisadores, médicos veterinários, técnicos e membros das CEUAs a darem atenção especial aos protocolos que poderão causar dor ou distresse aos animais.

Esta classificação é contida na Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica e se baseia em uma aproximação preventiva segundo o nível potencial de dor e distresse que os animais possam sentir.

4.4.3. Graus de Invasividade (SEÇÃO I)

A invasividade de um procedimento será determinada pelo grau e tempo de dor, sofrimento, estresse ou dano duradouro que se espera que seja experimentado pelo animal durante o procedimento, conforme classificação abaixo:

a) Leve G1 = Procedimentos que causem dor, sofrimento ou estresse a curto prazo, e que não prejudiquem significativamente o bem-estar geral dos animais.

b) Moderado G2 = Procedimentos que causem dor, sofrimento ou estresse moderado a curto prazo, ou dor, sofrimento ou estresse leves a longo prazo, bem como procedimentos que possam alterar moderadamente o bem-estar geral dos animais.

c) Grave G3 e G4 = Procedimentos que causem dor, sofrimento ou estresse severos aos animais, ou dor, sofrimento ou estresse moderado de longa duração, bem como os procedimentos que causem danos graves ao bem-estar geral dos animais.

d) Procedimentos Terminais = Procedimentos realizados inteiramente sob anestesia geral, dos quais o animal não recuperará a consciência e será submetido à eutanásia.

4.4.4. Critérios de Classificação (SEÇÃO II)

A atribuição do grau de invasividade deve levar em conta qualquer manipulação ou intervenção de um animal em um procedimento definido. Para ser determinado o grau de invasividade, devem ser considerados os efeitos mais severos que o animal possa experimentar, mesmo após a aplicação das técnicas mais refinadas.

Para a atribuição do grau de invasividade, deve-se levar em conta o disposto no Guia Brasileiro de Criação, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica e a avaliação da Comissão de Ética no Uso de Animais.

Os fatores relacionados com o procedimento devem ser ponderados caso a caso e incluir:

- a)** Tipo de manipulação e manejo;
- b)** Natureza da dor, sofrimento, estresse ou dano duradouro causados pelo procedimento, bem como sua intensidade, duração, frequência e multiplicidade de técnicas empregadas;
- c)** Sofrimento acumulado em um procedimento;
- d)** Impossibilidade de expressar comportamentos normais.

Na seção III são apresentados alguns exemplos de procedimentos atribuídos a cada um dos graus de invasividade. Eles podem servir como referência sobre qual a classificação mais apropriada para a proposta. Entretanto, para fins de classificação final do grau de invasividade da proposta, os seguintes fatores adicionais, avaliados caso a caso, também devem ser considerados:

- a)** Espécie animal e genótipo;
- b)** Maturidade, idade e sexo do animal;
- c)** Experiência prévia do animal no que diz respeito ao procedimento;
- d)** Em procedimentos sequenciais, a severidade dos procedimentos anteriores;
- e)** Os métodos utilizados para reduzir ou eliminar a dor, o sofrimento e o estresse, incluindo o refinamento de condições de alojamento e manejo;
- f)** Pontos finais humanitários.

4.4.5. Exemplos de procedimentos classificados de acordo com cada grau de invasividade (SEÇÃO III)

4.4.5.1. Leve

- a)** Administração de anestesia, exceto com a finalidade de eutanásia;
- b)** Estudo farmacocinético sem qualquer efeito adverso esperado, no qual uma única dose será administrada e um número limitado de amostras de sangue serão coletadas (totalizando <10% do volume circulante);
- c)** Procedimentos não invasivos para obtenção de imagens, por exemplo, ressonância magnética, com sedação ou anestesia apropriadas;
- d)** Procedimentos superficiais, por exemplo, biópsias de orelha e cauda, implantação subcutânea não cirúrgica de mini bombas e transponders;
- e)** Aplicação de dispositivos de telemetria externa que causam pequenos danos ou pouca interferência na atividade e comportamento normais dos animais;
- f)** Administração de substâncias por gavagem ou pelas vias subcutâneas, intramuscular, intraperitoneal e intravenosa por meio de vasos sanguíneos superficiais, na qual a substância induz alteração leve no animal e os volumes estejam dentro dos limites apropriados para o tamanho e a espécie;
- g)** Indução de tumores, ou tumores espontâneos, que não causem nenhum efeito clínico adverso (por exemplo, pequenos nódulos não invasivos subcutâneos);
- h)** Criação e desenvolvimento de animais geneticamente modificados que resulte em um fenótipo com efeitos leves;
- i)** Fornecimento de dietas modificadas, que não atendam a todas as necessidades nutricionais dos animais podendo causar anormalidades clínicas leves dentro do período do estudo;
- j)** Uso de gaiolas metabólicas por curto prazo;
- l)** Estudos que envolvam a privação do convívio social por curto prazo de espécies sociáveis, como ratos e camundongos;
- m)** Modelos que exponham os animais a estímulos nocivos associados a dor, sofrimento ou estresse leves, e que os animais possam evitar facilmente;

n) Testes em campo aberto.

4.4.5.2. Moderado

a) Aplicação frequente de substâncias teste que produzam efeitos clínicos moderados, e retirada de amostras de sangue (> 10 % do volume circulante) em animais conscientes num intervalo de tempo sem reposição de volume;

b) Estudos de dose aguda, testes de toxicidade crônica/carcinogenicidade, com pontos finais não letais;

c) Cirurgia sob anestesia geral e analgesia adequada, associada a monitoramento pós cirúrgico, da dor, sofrimento ou comprometimento do estado geral. Exemplos incluem: toracotomia, craniotomia, laparotomia, orquiectomia, linfadenectomia, tireoidectomia, cirurgia ortopédica com imobilização e monitoramento efetivo de feridas, órgãos transplante com monitoramento efetivo da rejeição, implante cirúrgico de cateteres, ou dispositivos biomédicos (por exemplo, transmissores de telemetria, minibombas etc.);

d) Modelos de indução de tumores, ou tumores espontâneos, dos quais se espera que causem tumores moderados dor ou estresse ou interferência moderada no comportamento normal;

e) Irradiação ou quimioterapia com uma dose subletal, ou com uma dose letal, mas com reestabelecimento do sistema imunológico. Espera-se que os efeitos adversos sejam leves ou moderados e de curta duração (< 5 dias);

f) Criação de animais geneticamente alterados que se espera que resultem em um fenótipo com efeitos moderados;

g) Criação e desenvolvimento de animais geneticamente modificados através de procedimentos cirúrgicos;

h) Uso de gaiolas metabólicas com restrição moderada de movimento por um período prolongado;

i) Fornecimento de dietas modificadas que não supram todas as necessidades nutricionais dos animais e que se espera que causem anormalidades clínicas moderadas durante o estudo;

j) Retirada de alimentos por períodos prolongados.

4.4.5.3. Grave

a) Testes de toxicidade quando a morte é o ponto final, ou quando são esperadas mortes ou estados fisiopatológicos graves no decorrer do estudo. Por exemplo, os testes de toxicidade aguda em dose única (ver as diretrizes de testes da OCDE);

b) Teste de dispositivos nos quais falhas possam causar dor ou estresse severo ou morte do animal (por exemplo: dispositivos de assistência cardíaca);

c) Testes de potência vacinal caracterizados por uma deterioração persistente do estado do animal; doença progressiva que leva à morte, associada à dor, estresse ou sofrimento moderado de longa duração;

d) Irradiação ou quimioterapia com uma dose letal sem restabelecimento do sistema imune ou reconstituição associada ao aparecimento da doença do enxerto contra o hospedeiro (*graft versus host disease*);

e) Modelos com indução de tumores, ou com tumores espontâneos, nos quais se espera doença progressiva letal associada a dor, estresse ou sofrimento moderado de longa duração. Por exemplo, tumores que causam caquexia, tumores ósseos invasivos, tumores que resultam em propagação metastática, e tumores ulcerativos;

f) Intervenções cirúrgicas e outras intervenções em animais sob anestesia geral nas quais se espera no pós-operatório dor, sofrimento ou estresse cronicamente moderado, ou comprometimento grave e persistente do estado geral do animal. Por exemplo, indução de fraturas instáveis ou trauma que causem falência múltipla de órgãos;

g) Transplante de órgãos no qual a rejeição possa levar à dor, estresse ou sofrimento grave ou comprometimento da condição geral dos animais (por exemplo, xenotransplante);

h) Criação e desenvolvimento de animais com modificações genéticas que resultem em desordens graves e comprometimento severo e persistente da condição geral, por exemplo, doença de Huntington, distrofia muscular, modelos de neurite crônica recidivante;

i) Uso de gaiolas metabólicas com restrição severa de movimento por um período prolongado;

j) Isolamento completo por períodos prolongados de espécies sociais, por exemplo, ratos, camundongos, cães e primatas não-humanos;

k) Estresse de imobilização para induzir úlceras gástricas ou insuficiência cardíaca em ratos;

l) Testes de exercício ou natação forçada com esgotamento físico como ponto final.

4.5. Desenvolvimento de estratégias para avaliar, minimizar e monitorar dor ou distresse

Para cada projeto de pesquisa, o desenvolvimento de uma estratégia para avaliar, minimizar e monitorar a dor e o distresse requer decisões a respeito de:

- Sinais clínicos ou observações a serem utilizadas para avaliar o bem-estar de um animal ou sua condição clínica durante o curso do projeto;
- Sinais clínicos ou a combinação de sinais clínicos que indicarão que uma intervenção (incluindo eutanásia) é necessária;
- Ações a serem tomadas se um problema for detectado;
- Frequência de monitoramento;
- Pessoal que conduzirá o monitoramento e seu treinamento;
- Sistema para registro das observações.

Todos os aspectos de uso e manejo dos animais, incluindo a manipulação e alojamento, que possam impactar negativamente na qualidade de vida dos animais, bem como a estratégia para que esse impacto seja minimizado devem estar descritos na proposta enviada à CEUA, que deverá avaliá-los cuidadosamente.

A complexidade da resposta de um animal a estressores torna difícil guiar-se por apenas uma simples medida como indicador de dor ou distresse. Além disso, devido ao fato de os animais não poderem comunicar suas experiências diretamente aos humanos, sua dor e distresse somente podem ser avaliadas por observação de seu comportamento e fisiologia. O desafio é medir ou avaliar estes sinais e determinar quando uma resposta ao estresse se desenvolve a ponto de resultar em um efeito nocivo sobre o seu bem-estar e levá-lo ao distresse. Para minimizar a dor e distresse, estratégias práticas deverão ser desenvolvidas possibilitando prever, monitorar e avaliar esses estados.

Elementos importantes de tais estratégias incluem:

- Relevância de critérios para cada espécie de animal utilizada em um projeto de pesquisa;
- Relevância de critérios para os tipos específicos de projetos de pesquisa realizados;
- Documentação dos critérios a serem utilizados para o monitoramento do bem-estar dos animais;
- Documentação dos critérios que indicam quando uma intervenção (incluindo eutanásia) ocorrerá;

→ Uma abordagem flexível capaz de lidar com as mudanças inevitáveis e eventos inesperados durante o curso de um projeto;

→ Boa comunicação, cooperação e respeito entre todas as partes, para garantir que os problemas sejam detectados e gerenciados rápida e efetivamente;

→ Uma vez identificadas todas as fontes potenciais de dor e distresse associadas a um projeto específico, os responsáveis pelo projeto devem determinar os sinais que indicarão se o bem-estar de um animal foi comprometido; os preditores mais significativos de uma piora na condição do animal; e o momento provável do início das alterações previstas.

Baseado nessas avaliações, uma estratégia de monitoramento deve ser desenvolvida para o estudo, incluindo descrição sobre os sinais relevantes, frequência de monitoramento, momento de intervenção e pontos finais humanitários.

4.5.1. Avaliação do impacto de efeitos adversos sobre o bem-estar

Para que os efeitos adversos sobre o animal possam ser previstos e avaliados, é imprescindível que o observador esteja familiarizado com as características normais e anormais de cada uma das espécies utilizadas em seu estudo, bem como seu comportamento.

A definição de “normal” para uma espécie animal pode variar de acordo com o alojamento ou condições do ambiente, a presença ou ausência de humanos e outros estímulos. Tal definição também pode variar entre linhagens ou raças dentro da mesma espécie, e mesmo entre indivíduos dentro de uma linhagem ou raça.

Durante o período de aclimatação, os pesquisadores e tratadores de animais devem se familiarizar com a variação “normal” de comportamento de um animal específico ou grupo de animais. Avaliações por meio de marcadores fisiológicos, bioquímicos e neuroendócrinológicos também podem ser feitos durante este período para estabelecer valores de referência.

4.5.2. Definição de sinais apropriados ou critérios de monitoramento

Os sinais ou observações clínicas a serem utilizados para avaliar a condição de um animal devem ser definidos. Eles geralmente incluem sinais de doença ou anormalidade e sinais específicos associados ao procedimento realizado.

Para que sinais clínicos apropriados possam ser selecionados, é imprescindível que os pesquisadores conheçam as características normais da espécie e linhagem que utilizará. Durante o período de aclimatação, os pesquisadores devem se familiarizar com o comportamento normal de um animal específico ou grupo de animais na situação da pesquisa. Níveis normais de padrões fisiológicos como frequência respiratória, frequência cardíaca, temperatura do corpo e marcadores bioquímicos ou hormonais podem também ser estabelecidos durante este período.

A frequência de observações deve ser tal que áreas de preocupação e problemas potenciais possam ser detectados em um estágio inicial, e portanto a dor e perturbação do animal possam ser aliviadas o mais precocemente possível, antes que se tornem severas demais. Se um animal estiver num período potencialmente crítico, a frequência de observação deve aumentar. Por exemplo, em algumas infecções experimentais, observações de hora em hora podem ser necessárias para identificar o ponto no qual um desfecho selecionado foi atingido e a dor ou perturbação do animal deve ser interrompida.

4.5.3. Sinais gerais de alteração do comportamento normal

Os sinais de alteração no comportamento normal do animal devem ser identificados. Conforme destacado acima, indícios de dor e distresse variam não somente com a espécie, mas também entre linhagens ou raças dentro da mesma espécie, ou até entre indivíduos dentro de uma mesma linhagem ou raça. Sinais mais comuns para uma boa triagem podem ser:

- Mudanças na aparência física (ex.: ferimentos, postura, textura do pelo, pelo sujo de urina ou fezes);
- Mudanças no peso corporal e outras relacionadas ao consumo de alimento e água;
- Mudanças de padrões fisiológicos (ex.: frequência de respiração, frequência cardíaca, temperatura corporal);
- Mudanças no comportamento normal (ex.: inatividade, automutilação, comportamento compulsivo, movimentos repetitivos ou estereotipados);
- Mudanças nas respostas a estímulos (ex.: agressividade, excitabilidade).

Indicadores comportamentais de dor aguda podem incluir vocalização, aparência anormal, alteração na postura e no modo de andar e também isolamento.

É importante saber que, devido a muitos animais não exibirem imediatamente sinais de dor ou distresse, diversos critérios utilizados para seu monitoramento são indicadores de efeitos adversos mais significativos, e não apenas dor ou distresse suaves ou moderadas. Além disso, em muitas espécies-presa como o rato ou camundongo, sinais de dor ou distresse podem ser temporários e intercalados com comportamento normal.

4.5.4. Sinais específicos de alteração do comportamento normal

Sinais de alteração no comportamento normal relativos a um procedimento específico necessitam ser identificados em cada caso. Tanto as consequências desejadas de um determinado protocolo quanto quaisquer complicações potenciais indesejadas, necessitam ser consideradas e identificadas. Em ambas as situações, sinais específicos que sugiram o início e progresso desses efeitos adversos devem ser identificados. Por exemplo: em um modelo animal de falência renal crônica, marcadores bioquímicos de função renal seriam utilizados para reconhecer o início e avanço da doença, juntamente com marcadores clínicos de polidipsia, poliúria e perda de peso. Após cirurgia abdominal, peritonite é uma complicação possível, cujos sinais incluem febre ou vocalização como reação à palpação abdominal.

Quando os riscos de complicações de um procedimento não são conhecidos ou os sinais e duração dos efeitos em uma determinada espécie não são bem definidos, um estudo-piloto deve ser conduzido. Os dados identificarão os sinais dos efeitos pretendidos e o risco de complicações, além de ajudar no desenvolvimento de estratégias de refinamento do procedimento. Outras fontes de informação nestas situações são resultados já publicados com protocolos semelhantes, e a experiência de outros pesquisadores, veterinários e técnicos. Nestes casos, o uso do conhecimento e da experiência humana para dor e desconforto, também pode ser útil na avaliação destes elementos nos animais. Em outras palavras, deve-se perguntar o que o homem sentiria se fosse submetido ao mesmo procedimento (ou quando ele vivencia uma condição clínica igual). Esta estratégia auxilia na compreensão da importância de critérios de monitoramento.

4.5.5. Pontos finais humanitários (*endpoints*)

Protocolos de pesquisa com pontos finais cientificamente justificáveis podem levar a alterações significativas no bem-estar animal apesar da adoção de práticas de prevenção de dor e distresse e estratégias de monitoramento adequadas. Portanto, todo protocolo de pesquisa deve considerar a possibilidade de adoção de pontos finais humanitários. O encerramento de um estudo ocorre quando os objetivos científicos foram alcançados. Já o ponto final humanitário é o momento no qual o encerramento é antecipado para que a dor, desconforto ou o distresse do animal sejam evitados, aliviados ou finalizados.

Ponto final humanitário é o momento no qual a dor, desconforto ou distresse de um animal utilizado em atividade de ensino ou pesquisa é evitado, terminado, minimizado ou reduzido por ações como: **i)** adoção de tratamento para aliviar a dor, o desconforto ou o distresse; **ii)** interrupção de um procedimento doloroso; **iii)** exclusão do animal do estudo; ou **iv)** morte humanitária do animal.

Um ponto final humanitário deve permitir o alcance dos objetivos científicos do protocolo de pesquisa e ao mesmo tempo minimizar o sofrimento animal. Todo projeto de pesquisa deve conter a descrições de pontos finais apropriados para a espécie animal e procedimentos em uso.

Em protocolos que envolvem morte como desfecho provável, a escolha de um ponto final humanitário adequado é ainda mais importante para abreviar o sofrimento de animais que progredirão inexoravelmente para a morte. O uso de pontos finais humanitários contribui para o refinamento provendo uma alternativa aos pontos finais no caso de dor ou distresse grave nos animais.

O pesquisador que tem conhecimento preciso tanto dos objetivos do estudo, como do modelo proposto, deve identificar, explicar e incluir no protocolo de estudo um ponto final que seja consistente tanto do ponto de vista científico quanto humanitário. Quando estudos novos forem propostos é interessante a realização de estudo-piloto para avaliar a dor e o distresse que podem ocorrer durante o estudo.

Os pontos finais devem ser objetivos e baseados em evidências a fim de:

- Limitar sofrimentos que não tenham sido previstos;
- Evitar a antecipação da morte desnecessária de animais cujo bem-estar está menos comprometido do que se crê ou antes que o objetivo científico tenha se completado;
- Informar sobre o índice de severidade do procedimento;

→ Avaliar melhoramentos potenciais.

Ao reconhecer o ponto final humanitário as seguintes ações devem ser tomadas:

→ O animal deixa de ser um sujeito experimental;

→ Ajustar o protocolo para reduzir ou remover a causa do efeito adverso e com isto permitir que o animal se recupere;

→ Administrar tratamentos sintomáticos ou de suporte;

→ Morte humanitária do animal.

Deve-se destacar que não pode haver demora entre reconhecer e agir; o bem-estar animal não é protegido por sistemas nos quais as decisões e as ações exijam longos comunicados ou burocracia demorada.

4.5.6. Procedimentos em casos de presença de sinais de comprometimento do bem-estar

Em quaisquer circunstâncias onde a experiência de dor ou desconforto for eticamente justificada como parte do estudo, sendo estes elementos reais ou potenciais, os mesmos deverão ser minimizados ou aliviados.

A intervenção será necessária para aliviar e monitorar complicações, sejam elas previstas ou não. Quando previstas, um plano para lidar eficazmente com tal evento deve ser desenvolvido antes do início do estudo. Ao longo do curso do estudo, a frequência e tipo de complicações devem ser monitoradas e estar sujeitas a uma revisão contínua e a uma investigação detalhada, visando minimizar complicações indesejadas.

Em muitos casos, pode ser possível aliviar a dor ou desconforto sem comprometer os resultados científicos. Estratégias específicas deverão ser adotadas em cada projeto, e podem incluir um aumento na frequência de monitoramento relacionado ao início ou alteração de sintomas, provisão de terapia de apoio como fluidos, uso estratégico de analgésicos ou condições de alojamento específicas.

Ações a serem tomadas quando um sinal específico ou combinação de sinais é observado em um animal devem ser definidas. A depender da gravidade do sinal, tais ações ou intervenções poderão incluir:

→ Promover o conforto do animal fornecendo tratamentos de apoio (ex.: calor, higiene, fluidos, nutrição e necessidades sociais);

- Aumentar a frequência de acompanhamento/observação;
- Consultar um médico veterinário com experiência apropriada;
- Administrar um tratamento específico (ex.: um agente analgésico);
- Submeter o animal à morte humanitária;

Os pesquisadores precisam agir prontamente para aliviar a dor ou sofrimento, o que pode determinar a continuação ou interrupção do projeto.

4.5.7. Treinamento

Todas as pessoas responsáveis por fazer as observações dos animais devem ser competentes na avaliação da fisiologia, do comportamento e da condição geral, utilizando como referência o padrão normal destas variáveis, bem como conhecer as alterações específicas esperadas. A instituição, o grupo de pesquisa e a CEUA institucional que autorizou o estudo são responsáveis por garantir que o pessoal envolvido com o monitoramento dos animais seja capacitado. O treinamento deve ser fornecido conforme necessário, e deve englobar não apenas técnicas, mas também as responsabilidades dos pesquisadores em monitorar os animais. A preparação das equipes deve incorporar a avaliação do local de trabalho com treinamento extra e continuado, conforme necessário.

4.5.8. Abordagem em equipe

Estratégias de monitoramento devem ser realizadas com a colaboração de todos os envolvidos na supervisão dos animais utilizados no projeto de pesquisa e de todas as pessoas com experiência relevante com a espécie a ser utilizada e os procedimentos que serão realizados. Essa abordagem em equipe deve, quando possível, incluir os pesquisadores, estudantes, veterinários e técnicos. A experiência de participar da criação de estratégias de monitoramento pode ser muito útil no treinamento e formação dos alunos.

4.5.9. Documentação da Estratégia de monitoramento

A documentação precisa da estratégia de monitoramento garante que todas as pessoas envolvidas com o cui-

dado dos animais estejam cientes dos fundamentos que determinam a presença e severidade da dor e da perturbação.

Isso facilita:

- A avaliação de um animal à medida que sua condição clínica muda;
- A determinação se o momento de intervenção foi observado;
- A revisão da eficácia da estratégia de monitoramento enquanto o projeto prossegue.

4.5.10. *Checklist* de monitoramento

Um *checklist* de monitoramento deve incluir os seguintes elementos:

- Sinais gerais de anormalidade para a espécie, linhagem ou indivíduo;
- Sinais específicos de problemas que podem surgir do procedimento realizado;
- Documentação de pontos nos quais algum tipo de intervenção é necessária;
- Documentação de desfechos nos quais a morte humanitária é necessária;
- Fornecimento de detalhes de qualquer tratamento dado, para que sua eficácia seja avaliada.

Outros fatores que podem ser incluídos são detalhes de qualquer necessidade de cuidados especiais e identificação de qualquer amostra a ser colhida de um animal caso a morte se faça necessária quando os responsáveis pela coleta não estão presentes.

As descrições dos critérios de monitoramento devem ser formuladas de forma que um sinal “negativo” seja utilizado para indicar “sem problemas” e um sinal “positivo” seja utilizado para indicar que pode haver um problema real ou potencial segundo observado pelo comportamento ou com a clínica. Por exemplo, o termo “isolamento” deve ser empregado no lugar de “interação social”, e “respiração difícil” no lugar de “padrão respiratório”.

A inclusão de um campo NAD (nenhuma anormalidade detectada) no *checklist* deve ser considerada. Esse campo poderia ser utilizado por uma pessoa experiente com pouca dificuldade de avaliar se um animal ou grupo de animais não estão bem. Se um animal não estiver bem, o *checklist* detalhado deve então ser utilizado para fazer um julgamento sobre as ações a serem tomadas. O pesquisador principal do projeto deve garantir que não haja uso indevido do campo NAD por pessoas inexperientes.

4.5.11. Especificidade de um *checklist* de monitoramento

Idealmente, um *checklist* de monitoramento deve ser elaborado especificamente para cada espécie e para cada procedimento. Critérios de monitoramento diferirão de acordo com o tipo de protocolo de pesquisa, bem como entre espécies e indivíduos. Para alguns projetos, vários *checklists* de monitoramento diferentes podem ser necessários para cobrir diferentes fases do trabalho. Um *checklist* de monitoramento deve ser relevante ao procedimento. Por exemplo, um *checklist* genérico para camundongos pode ser utilizado como ponto inicial, mas não deve ser necessariamente usado para todos os projetos que utilizam camundongos.

Checklists simples podem ser desenvolvidos para uso durante períodos do projeto em que o bem-estar dos animais seja uma preocupação menor. Por exemplo, durante o período de aclimatação ou quando um animal já está recuperado de um determinado procedimento. Um *checklist* simples pode incorporar um campo NAD, enquanto o *checklist* de monitoramento mais detalhado seria utilizado se alguma anormalidade fosse detectada.

4.5.12. Envolvendo a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

A estratégia de monitoramento deve fazer parte da proposta enviada à CEUA. A CEUA pode interferir na revisão dos critérios de monitoramento e pontos de intervenção mediante consulta ao proponente. Desta forma, todos os critérios para monitoramento e ações subsequentes são acordados e documentados antes do início do projeto. A CEUA deve também envidar esforços para que todos os pesquisadores possuam a experiência ou treinamento apropriados para implementar a estratégia de monitoramento de forma efetiva.

4.6. Treinamento de pessoal

Um importante fator de contribuição para obtenção de bons resultados no cuidado e utilização de animais é a qualidade da capacitação e o comprometimento dos membros da equipe com o trabalho desenvolvido. As pessoas devem ser capacitadas para oferecer cuidado minucioso na manutenção de animais. Devem estar cientes de que a qualidade de suas ações interferirá com o bem-estar dos animais ou com os resultados de atividades de ensino ou pesquisa.

Pesquisadores, professores ou usuários de animais devem ter treinamento e experiência nos procedimentos que realizam. O conhecimento dos preceitos éticos da utilização de animais também deve ser cobrado de todos os membros da equipe. O treinamento, programas educacionais, capacitação técnica e seminários para todo o pessoal envolvido no uso de animais em atividades de ensino ou pesquisa são de responsabilidade da instituição.

5. Obtenção de Aprovação para Novos Protocolos de Pesquisa

Este capítulo define o propósito e as responsabilidades das Comissões de Ética para uso de animais (CEUAs), e o que deve ser considerado ao submeter um protocolo de pesquisa a uma CEUA.

5.1. Comissões de ética no uso de animais

→ É responsabilidade da CEUA, no âmbito de suas atribuições, cumprir e fazer cumprir o disposto na Lei 11794/08 e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais.

→ Todos os estudos que utilizam animais vertebrados não humanos devem ser aprovados e monitorados pela CEUA da instituição credenciada no Concea, que manterá os animais durante a condução do projeto de pesquisa ou procedimento de ensino. A CEUA deve garantir, em nome da instituição, que o uso de animais se dá em conformidade com a Lei nº 11.794/08 e seus dispositivos infra-legais é justificado, e que os princípios dos 3R's (Redução, Substituição e Refinamento) são seguidos. Quando a atividade for conduzida a campo, a CEUA a se responsabilizar pelo projeto e, portanto, aprova-lo, deverá ser a da instituição (credenciada no Concea) do pesquisador principal ou, quando aplicável, a do patrocinador do estudo (credenciado no Concea).

5.2. Submetendo uma proposta à CEUA

Antes de submeter uma proposta à CEUA, os pesquisadores devem considerar as questões a seguir:

5.2.1. Antes de escrever seu projeto o pesquisador deve perguntar-se:

- O uso de animais é necessário?
- Existe alternativa ao uso dos animais? Se existem citar quais e porque não vai empregá-las.
- O estudo foi planejado para produzir resultados válidos?

- É necessário um estudo-piloto?
- As espécies ou animais foram selecionados de forma apropriada?
- Há instalações, equipamentos e condições do ambiente adequadas disponíveis?
- Todo o pessoal envolvido está adequadamente treinado? Tem algum conhecimento sobre a biologia e comportamento da espécie que vai usar?
- Procurou utilizar o menor número possível de animais?
- Há estratégias para minimizar e monitorar a dor e o distresse?

5.2.2. Se for usar animais, os seguintes dados deverão constar na proposta de estudo:

- Espécie e linhagem dos animais/**inbred** ou **outbred**/idade ou peso/sexo;
- Fonte de obtenção dos mesmos;
- Período de adaptação;
- Alojamento durante a execução da pesquisa: tipo de gaiola, tipo de cama, número de animais por gaiola, ambiente (temperatura, umidade etc.);
- Se tomar providências para melhorar o ambiente dos animais especificar quais;
- Alimentação: tipo e composição, esquema de alimentação e de água.

5.2.3. Quando do procedimento: método

- A descrição dos procedimentos dependerá do propósito da pesquisa. Contudo, algumas informações serão sempre necessárias:
 - Número de animais, espécie, sexo e idade
 - Proveniência dos animais e qualquer tratamento prévio;
 - Esquema dos procedimentos, tais como hora em que serão realizados, intervalos de tomada de amostras, descrição genérica dos equipamentos utilizados. Em procedimentos dolorosos, indicar quais medidas serão adotadas para evitar ou reduzir a dor ou o sofrimento;
 - Grau de severidade;

→ No caso de morte humanitária, o método que será utilizado deverá estar descrito claramente, independente dele ser aplicado durante ou ao final do estudo. Também deverá ser indicado como serão descartadas as carcaças ou cadáveres.

Estudos adicionais ou alterações na proposta; eventos adversos ou imprevistos e a suspensão da pesquisa, deverão ser informados à CEUA para análise e decisão conforme a legislação vigente.

A solicitação à CEUA deve conter informações suficientes para que a Comissão possa avaliar a proposta com segurança .

Em resumo o projeto deve incluir, no mínimo:

- O título do projeto;
- Justificativa do projeto e para o uso de animais no projeto;
- Objetivos;
- Plano de trabalho e cronograma estimado;
- Os nomes, funções e capacitação de todo o pessoal;
- A proveniência dos animais e as licenças exigidas, uma vez que a autorização da CEUA não exclui a necessidade de outras autorizações legais cabíveis de instituições como Instituto Brasileiro de Meio Ambiente - IBAMA, Fundação do Nacional do Índio - FUNAI, Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN, Conselho de Gestão do Patrimônio Genético - CGEN, Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio e outras, no caso em que a natureza do projeto as exigir;
- Detalhes de alojamento;
- Detalhes do protocolo que será desenvolvido;
- Os benefícios potenciais do projeto;
- Uma visão geral do projeto;
- Como os princípios de Redução, Substituição e Refinamento serão aplicados;
- Como os animais serão monitorados;
- Considerações como riscos potenciais a outros animais não humanos ou humanos;
- Declaração de que o projeto segue a legislação e princípios éticos.

O quadro 1 pode ser utilizado para orientar os pesquisadores sobre questões que deverão ser consideradas ao planejar e conduzir protocolos de pesquisa. A tabela objetiva manter o bem-estar e reduzir ao mínimo a dor ou distresse dos animais durante o desenvolvimento dos projetos de pesquisa.

Quadro 1. Orientação para adesão aos princípios éticos no uso de animais e cuidados com o bem-estar animal em protocolos de pesquisa

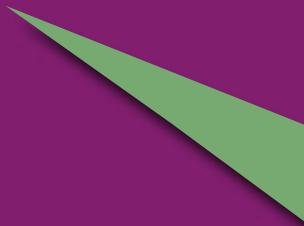
PLANEJAMENTO DO ESTUDO
Avalie se há alternativas ao uso de animais
Preveja a extensão da dor e do distresse e encontre formas de evitá-las ou de minimizá-las
Avalie a dor e o distresse antecipados individualmente versus causar menos dor em um número maior de animais
Planeje o protocolo de pesquisa para durar o menor tempo possível
Conheça a espécie a ser utilizada, o comportamento normal dela e seus sinais de dor ou distresse
Considere se as técnicas propostas são as melhores possíveis
CONDUÇÃO DO ESTUDO
Monitore os animais para verificar alterações no comportamento e sinais de dor e de distresse durante toda a duração do estudo
Forneça tratamento paliativo para a dor dos animais, ex. cuidados pré e pós-operatórios, leitos confortáveis, temperatura e umidade ambientes nas faixas de conforto para a espécie, barulho mínimo etc., incluindo anestesia ou analgesia
Submeta à morte humanitária, sem demora, qualquer animal que pareça estar sofrendo dor ou distresse imprevistos e que não possam ser prontamente aliviados
Avalie complicações imprevistas e determine se os critérios para intervenção e ponto final humanitário são adequados
TÉCNICAS DE REVISÃO E ESTRATÉGIA DE PROMOÇÃO
Continue a revisar as técnicas, procedimentos e métodos para refiná-los sempre que possível
Revise os procedimentos operacionais padrão periodicamente
Continue a revisar procedimentos voltados ao cuidado e à administração em instalações que contenham animais confinados.
Continue a revisar os procedimentos voltados para as boas práticas
RELATANDO À CEUA
Faça relatórios à CEUA conforme necessário

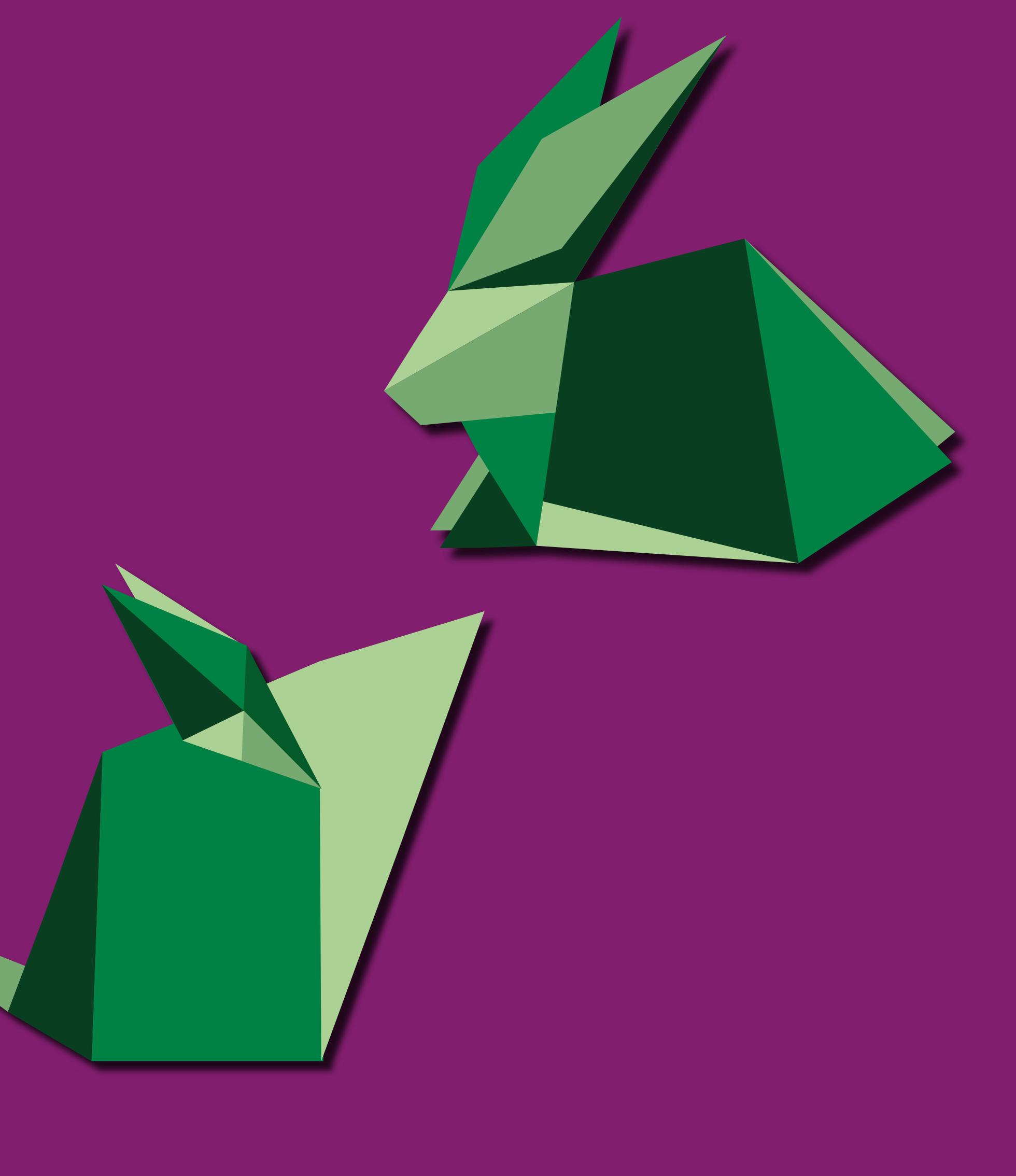
6. Referências Bibliográficas

- ALTMAN, D.G. **Practical Statistics for Medical Research**. Chapman & Hall, 1991.
- BRASIL. Portaria MCTI nº 491, de 3 de julho de 2012. **Institui a Rede Nacional de Métodos Alternativos - RENAMA e sua estrutura no âmbito do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação - MCTI, que será supervisionada por um Conselho Diretor**. Diário Oficial da União: Seção I, Brasília, DF, ano 149, n. 129, p. 19, 5 jul 2012.
- BRASIL. Resolução Normativa nº 54, de 10 de janeiro de 2022. **Dispõe sobre o reconhecimento de métodos alternativos ao uso de animais em atividades de pesquisa no Brasil e dá outras providências**. Diário Oficial da União: Seção I, Brasília, DF, ano 159, n. 11, p. 18, 17 jan 2022.
- BRASIL. Resolução Normativa nº 55, de 5 de outubro de 2022. **Atualiza o texto da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos - DBCA**. Diário Oficial da União: Seção I, Brasília, DF, ano 159, n. 192, p. 10, 7 out 2022.
- COCHRAN, W.G.; COX, G.M. **Experimental Designs**. 2nd Ed. John Wiley & Sons, 1992.
- EUROPEAN UNION. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010. **on the protection of animals used for scientific purposes**. Official Journal of the European Union: L 276, p. 33-78, 20 Oct 2010. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>. Acesso em: 24 feb. 2023.
- EUROPEAN UNION. Directive 86/609/EEC of the European Parliament and of the Council of 24 November 1986. **on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes**. Official Journal of the European Union: L 358, p. 1-28, 18 Dec 1986. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/fs/aw/aw_legislation/scientific/86-609-eec_en.pdf. Acesso em: 24 feb. 2023.
- ESKES, C; SÁ-ROCHA, V. de M.; NUNES, J.; PRESGRAVE, O.; DE CARVALHO, D.; MASSON, P.; RIVERA, E.; COECKE S.; KREYSA, J.; HARTUNG, T. Proposal for a Brazilian centre on alternative test methods. **ALTEX**, 26(4):303-6, Nov. 2009.
- FESTING, M.F., *et al.* **The design of animal experiments: reducing the use of animals in research through better experimental design**. 1st ed. London, UK: Royal Society of Medicine Press, UK, 2002.
- LANCASTER, G.A.; DODD, S.; WILLIAMSON, P.R. Design and analysis of pilot studies: recommendations for good practice. **Journal of Evaluation in Clinical Practice**, 10(2): 307-312, jun 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.2002.384.doc.x>. Acesso em: 24 feb. 2023.
- PRESGRAVE, O. A. The need for the establishment of a Brazilian Centre for the Validation of Alternative Methods (BraCVAM). **Altern. Lab. Anim.** 36(6):705-8, Dec 2008.
- RUSSEL, W.M.S.; BURCH, R.L. **The Principles of Humane Experimental Technique**. London, UK: Methuen&Co., 1959.
- RUXTON, G.D.; COLEGRAVE, N. **Experimental Design for the Life Sciences**. 2nd ed. Oxford University Press, 2006.

Capítulo 2

Roedores e lagomorfos





Estrutura Física e Ambiente de Biotérios

COORDENADORA:

Luisa Maria Gomes de Macedo Braga Consultora em Ciência de Animais de Laboratório - autônoma

AUTORES:

Joel Majerowicz Fundação Oswaldo Cruz

Luisa Maria Gomes de Macedo Braga Consultora em Ciência de Animais de Laboratório - autônoma

Luiz Augusto Correa Passos Universidade Estadual de Campinas

Rovilson Gilioli Universidade Estadual de Campinas

Citação recomendada: GUARALDO, A.M.; DIAZ, B.L.; KO, G.M.; TARICANO, I.G.; MAJEROWICZ, J.; BRAGA, L.M.G.M.; PASSOS, L.A.C.; FRAJBLAT, M.; STEPHANO, M.A.; do NASCIMENTO, N.; GILIOLI, R.; MASSIRONI, S.M.G.; LAPCHIK, V.B.V. (2023) Capítulo 2 - Roedores e lagomorfos. pp. 68-167. In: BRAGA, L.M.G.M.; MATTARAIA, V.G.M. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGE-LIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

Procedimentos

CORDENADORA:

Vânia Gomes de Moura Mattaraia Instituto Butantan

AUTORES:

Ana Maria Guaraldo Universidade Estadual de Campinas - *in memoriam*

Bruno Lourenço Diaz Universidade Federal do Rio de Janeiro

Gui Mi Ko Universidade Federal de São Paulo

Ingrid Dragan Taricano Universidade Nove de Julho

Marcel Frajblat Universidade Federal do Rio de Janeiro

Marco Antônio Stephano Universidade de São Paulo

Nanci do Nascimento Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - *in memoriam*

Rovilson Gilioli Universidade Estadual de Campinas

Silvia Maria Gomes Massironi Universidade de São Paulo

Valderez Bastos Valero Lapchik Universidade Federal de São Paulo

Wothan Tavares De Lima Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

Estrutura física e ambiente de biotérios	76
1. Introdução	77
2. Instalações	78
2.1. Localização	79
2.2. Ambientes físicos	79
2.2.1. Áreas de apoio:	80
2.2.1.1. Administrativo	80
2.2.1.2. Áreas de recepção de animais e quarentena	80
2.2.1.3. Sala de procedimentos	80
2.2.1.4. Ambientes especiais	81
2.2.1.5. Salas de descanso e copa	81
2.2.2. Áreas de serviço	81
2.2.2.1. Área de higienização	81
2.2.2.2. Vestiários	82
2.2.2.3. Corredores	82
2.2.2.4. Lavanderia	82
2.2.2.5. Sanitários	82
2.2.2.6. Salas de animais	83
2.2.2.7. Área para eutanásia	83
2.2.3. Depósitos	83
2.2.3.1. Depósito para estocagem de Insumos: ração e forragem	84
2.2.3.2. Depósito de resíduos	84
2.2.3.3. Depósito para materiais limpos	84
2.2.4. Barreiras sanitárias e de contenção	85
2.2.5. Detalhes construtivos	85
2.2.5.1. Paredes	85
2.2.5.2. Tetos	86
2.2.5.3. Pisos	86
2.2.5.4. Janelas	87
2.2.5.5. Portas	87
2.2.5.6. Fornecimento de energia elétrica e iluminação	88
2.2.6. Ambiente de biotérios	89
2.2.6.1. Ruídos	90
2.2.6.2. Vibrações	90
2.2.6.3. Iluminação	91
2.2.6.4. Temperatura e umidade	91
2.2.6.5. Ventilação, exaustão e qualidade do ar	92
2.2.6.5.1. O emprego de racks ventilados em salas de animais e biotérios de experimentação.	95
2.2.7. Alojamento	95

Procedimentos	98
1. Introdução	99
1.1. Ambientes	99
1.1.1. Instalações de manutenção	99
1.1.2. Instalações de produção	100
1.1.3. Instalações de utilização	100
1.2. Espécies	100
1.2.1. Camundongo	100
1.2.2. Rato	101
1.2.3. Cobaia	101
1.2.4. Hamster	101
1.2.5. Coelhos	102
2. Procedimentos de rotina para área de produção e manutenção de roedores e lagomorfos	103
2.1. Recinto primário e secundário	104
2.2. Procedimentos para área de produção e manutenção de roedores e lagomorfos.	105
2.2.1. Alimentação e hidratação	105
2.2.1.1. Alimento	105
2.2.1.2. Estocagem dos alimentos	107
2.2.1.3. Água	108
2.2.2. Modificação da ingestão de alimento e água	108
2.2.2.1. Restrição alimentar	109
2.2.2.2. Restrição de líquidos	109
2.2.2.3. Modificação do comportamento alimentar ou hídrico	110
2.2.3. Manejo	110
2.2.3.1. Identificação	113
2.2.4. Troca	114
2.2.5. Área de higienização	115
2.2.6. Segurança do operador	116
2.2.7. Descarte de materiais	117
2.2.8. Cuidados de fins de semana e feriados	117
2.3 Estratégias de enriquecimento ambiental	117
2.3.1. Cuidados a serem considerados como recomendação para o enriquecimento ambiental	118
2.3.2. Sugestões de enriquecimento ambiental para roedores e lagomorfos	119
2.3.2.1. Enriquecimento ambiental para roedores	119
2.3.2.1.1. Social:	119
2.3.2.1.2. Relação homem-animal:	119
2.3.2.1.3. Alimento	120
2.3.2.1.4. Ambiente físico	120
2.3.2.1.5. Estimulação olfatória	121
2.3.2.1.6. Promoção de tipos de comportamento naturais	122
2.3.1. Enriquecimento ambiental para coelhos	122
2.3.1.1. Social	122
2.3.1.2. Humano-animal	123
2.3.1.3. Alimento	123
2.3.1.4. Ambiente físico	123
2.3.1.5. Estimulação olfatória	123
2.3.1.6. Promoção de tipos de comportamento naturais:	124
3. Procedimentos de coleta de fluídos corporais, secreções e excreções	125
3.1. Procedimentos de coleta:	125
3.1.1. Urina	125

3.1.2. Secreção nasal	126
3.1.3. Secreção ocular	126
3.1.4. Material bucal	126
3.1.5. Leite	126
3.1.6. Fezes	127
3.1.7. Secreção do trato genital	127
3.1.8. Sêmen	127
3.1.9. Sangue	127
3.2. Considerações gerais para minimizar os efeitos adversos da coleta de fluidos corporais, secreções e excreções para orientar a seleção dos métodos:	128
3.3. Considerações importantes para a coleta de sangue:	129
4. Vias de administração de substâncias	131
4.1. Principais vias de administração de substâncias	131
4.1.1. Via oral (VO)	131
4.1.2. Via intravenosa (IV)	132
4.1.3. Via intraperitoneal (IP)	132
4.1.4. Via subcutânea (SC)	132
4.1.5. Via Intramuscular (IM)	133
4.2. Cuidados a serem considerados para administração de substâncias em animais:	134
5. Estudos fetais e embrionários	136
5.1. Técnicas laparoscópicas - Dor ou distresse maternal	136
5.2. Dor e perturbação fetal	137
6. Controle da dor: anestesia, analgesia e sedativos.	138
6.1. Seleção do protocolo de anestesia	138
6.3. Anestesia	139
6.3.1. Anestesia geral ou dissociativa	140
6.4. Máscara facial	140
6.5. Câmara anestésica	141
6.8. Anestesia injetável	141
6.9. Administração de anestésicos e via de predileção	141
6.9.1. Intravenosa (IV):	141
6.9.2. Intraperitoneal (IP):	142
6.9.3. Subcutânea (SC):	142
6.9.4. Intramuscular (IM):	142
6.10. Anestesia local	142
6.11. Técnicas especializadas	143
6.11.1. Anestesia reversível	143
6.11.2. Anestesia neonatal:	143
6.12. Cuidados gerais para a eficácia da anestesia	143
6.12.1. Pré-anestesia:	144
6.12.2. Jejum:	144
6.12.3. Pré-medicação:	145
6.12.4. Profundidade da anestesia	145
6.13. Monitorando o sistema respiratório	146
6.14. Monitorando o sistema cardiovascular	146
6.15. Temperatura do corpo	146
6.16. Período pós-anestésico	147
6.17. Analgesia	147
6.18. Analgesia preventiva ou protetiva	148
6.19. Analgesia multimodal	148

6.20. Monitoração da analgesia	148
7. Procedimentos cirúrgicos	150
7.1. Razões para realizar procedimentos cirúrgicos:	150
7.2. Técnica asséptica	151
7.3. Elementos de técnica asséptica	151
7.4. A intervenção cirúrgica	152
7.5. Atraso na cura na cicatrização do ferimento	153
7.6. Complicações com cateteres ou aparelhos implantados	154
7.7. Redução do risco potencial ao bem-estar do animal no procedimento cirúrgico	155
7.8. Equipe técnica	155
8. Referências bibliográficas	160
9. Critérios Mínimos para instalações de Roedores e Lagomorfos	165

ESTRUTURA FÍSICA E AMBIENTE DE BIOTÉRIOS

1. Introdução

As instalações, as condições de alojamento e o ambiente em que se encontram os animais são elementos essenciais para limitar as variações fisiológicas que podem alterar a sua saúde, seu bem estar, bem como para não interferir nas pesquisas, no desenvolvimento tecnológico e no ensino, além de propiciar a segurança das pessoas envolvidas.

Dependendo da abrangência das atividades e dos objetivos institucionais, da espécie animal e do número de animais que serão alojados, o projeto do biotério e suas necessidades particulares devem ser claramente analisados. É benéfico pensar em um projeto flexível, de fácil adaptação e, se possível, com vistas a expansões futuras.

2. Instalações

As instalações requerem áreas separadas para funções específicas, salas e equipamentos especializados e ambientes controlados.

Apesar de diferentes necessidades e muitas soluções alternativas de concepção, há orientações específicas que devem ser consideradas no projeto.

Um projeto de biotério funcional e eficiente deverá, no momento de sua concepção, considerar também a natureza dos procedimentos que serão realizados.

As instalações básicas de um biotério compreendem:

- Área administrativa;
- Área de recepção de animais / quarentena;
- Área de depósitos para: insumos, materiais limpos, equipamentos, rejeitos entre outros;
- Área de higienização;
- Salas de animais;
- Vestiários;
- Sala de procedimentos;
- Eutanásia;
- Áreas de serviços.

Para biotérios experimentais, em função da complexidade dos ensaios neles realizados, áreas adicionais poderão ser necessárias, tais como:

- Cirurgia e cuidado intensivo (UTI);
- Preparação de dietas especiais;
- Irradiação e coleta de imagens;
- Tratamento clínico e laboratório de análises entre outros;
- Sala de isolamento nos casos de uso de material biológico, químico ou físico que apresentem riscos;
- Barreiras adicionais nos casos de animais geneticamente modificados ou que necessitem um isolamento es-

pecial;

- Área para estocagem de cama e ração especiais;
- Área específica para suprimentos biológicos e farmacêuticos;
- Área para estocagem de produto biológico contaminado.

A criação de coelhos com a finalidade de abate ou companhia não segue as diretrizes deste guia.¹

2.1. Localização

A área destinada à construção de um biotério é extremamente importante. Em razão dos aspectos técnicos, as instalações deverão, sempre que possível, estar localizadas em áreas com reduzido trânsito de veículos e pessoas.

A escolha do local deverá levar em consideração o fácil acesso, favorecendo a entrega de materiais, insumos e equipamentos, bem como a remoção dos resíduos gerados no biotério.

Preferencialmente, o biotério deverá ser edificado distante de fontes poluentes, de vibrações e de laboratórios que manipulem agentes patogênicos.

2.2. Ambientes físicos

O layout das instalações físicas, das barreiras sanitárias e de contenção a serem adotadas em um biotério deverão minimizar a ocorrência de infecções e promover o bem-estar animal, além de favorecer a operacionalização da unidade. Diferentes espaços são necessários, conforme descrito abaixo:

1 Essa nota foi incluída pelo Plenário da 59ª Reunião Ordinária do Conceia.

2.2.1. Áreas de apoio:

2.2.1.1. Administrativo

Destina-se à gestão técnico-administrativa do biotério e compreende a sala de coordenação, secretaria, sala de convívio para os funcionários, sanitários, arquivos, almoxarifado de material de expediente, lavanderia e vestiários, e, sempre que possível, local para reuniões, aulas e treinamento das equipes.

É recomendável que todas as pessoas que acessem ou saiam das instalações o façam por uma área de recepção. O fluxo de pessoal deverá se feito, sempre que possível, por local distinto daquele previsto para materiais, insumos, equipamentos e descartes.

2.2.1.2. Áreas de recepção de animais e quarentena

Devem ter localizações estratégicas que possibilitem que os animais recém chegados não necessitem passar por outras áreas.

A quarentena é o espaço físico para isolamento inicial dos animais e deverá ter condições ambientais apropriadas de alojamento, onde estes possam permanecer antes de serem transferidos para as salas de criação e manutenção. Suas dimensões devem contemplar a variedade de espécies animais e as atividades de manejo inerentes a cada uma delas. Animais recém-adquiridos necessitam de adaptação ao novo ambiente, recuperação do estresse causado pelo transporte e avaliação do estado de saúde. O manejo da sala de quarentena deve ser feito de forma a evitar a mistura de espécies, linhagens e diferentes procedências.

No caso dos biotérios experimentais sem local para quarentena, recomenda-se o conhecimento prévio do estado sanitário dos animais, uma vez que, em certas situações, eles serão introduzidos diretamente nas salas.

2.2.1.3. Sala de procedimentos

Nos casos dos biotérios de experimentação, essa sala deve ser localizada próxima das salas dos animais para evitar o deslocamento destes por longas distâncias. Uma única sala pode ser utilizada para vários fins, desde que ela

seja higienizada entre os procedimentos.

2.2.1.4. Ambientes especiais

Em alguns casos há necessidade de laboratórios especializados, tais como: cirúrgicos, de cuidado intensivo, de preparação de dietas especiais, de irradiação e de coleta de imagens, de tratamento clínico, sala de isolamento, etc. A Sala para cirurgia experimental é frequentemente requerida, quando prevista, deverá ser incorporada no projeto construtivo, de forma a atender aos conceitos gerais de operacionalização do biotério.

2.2.1.5. Salas de descanso e copa

Quando existentes, devem possuir mobiliário adequado e equipamentos necessários para armazenar e aquecer alimentos - evitando-se, todavia, a preparação dos alimentos nesta sala -, de forma a permitir o conforto dos funcionários. Se possível, luz natural e visores para o exterior devem estar presentes. Pode ser usada como sala de convívio e entretenimento.

2.2.2. Áreas de serviço

2.2.2.1. Área de higienização

Esta é a área destinada à lavagem e desinfecção ou esterilização de materiais, insumos, equipamentos e suprimentos e, portanto, seu projeto deverá incorporar tanques de lavagem e autoclaves, podendo também, de acordo com as necessidades, ser previstas a instalação de tanques de imersão, caixas de passagem e equipamentos para a lavagem de gaiolas e bebedouros. A ventilação deste ambiente deve ser exclusiva, suficiente para minimizar acúmulo de odores e excesso de calor e vapor. A exaustão deverá ser projetada de tal forma que o ar não seja reintroduzido em outras áreas do biotério. Esta área deve ser projetada de modo a minimizar distresse aos animais, ao pessoal e às áreas vizinhas, pois os equipamentos e as rotinas podem causar ruídos, calor e umidade excessiva.

Portanto, é imprescindível que este espaço esteja separado, isolado e o mais distante possível das salas de animais. Em biotério de experimentação, que envolvam risco biológico, a descontaminação de materiais, resíduos e

equipamentos, deverão atender à legislação nacional incluindo a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTN-Bio), no caso animais geneticamente modificados.

2.2.2.2. Vestiários

O layout dos vestiários e o seu mobiliário deverão facilitar as boas práticas de higienização. É importante considerar, de acordo com tipo de vestiário, a disposição dos armários, o apoio para a troca de calçados, os chuveiros, duchas de ar e o local para armazenamento de produtos de higiene pessoal. Deverão ser previstos vestiários masculino e feminino. A privacidade para trocas de roupa deverá ser contemplada no projeto arquitetônico, bem como um local para o descarte das roupas e toalhas usadas durante o dia.

2.2.2.3. Corredores

O planejamento e dimensionamento dos corredores devem ser concebidos de forma a facilitar a movimentação de pessoal, materiais e equipamentos. Estes devem ser largos o suficiente, fáceis de limpar e desinfetar, pois necessitam deste manejo com bastante frequência devido ao tráfego intenso que possuem. Dimensões entre 1,90m a 2,20m de largura geralmente atendem à maioria das situações. Paredes e quinas de paredes devem ser protegidas com dispositivos em material que apresente elevada durabilidade e resistência a impactos e a processos de higienização.

2.2.2.4. Lavanderia

Não é recomendado que o vestuário utilizado nas rotinas e áreas de um biotério seja lavado pelo próprio funcionário em sua residência. Neste sentido, o uso de uma lavanderia própria possibilitará a higienização necessária, embora possa haver a opção de terceirização deste serviço.

2.2.2.5. Sanitários

Os banheiros produzem aerossóis cada vez que é dada a descarga do vaso sanitário. Associado a isso, existe a

tendência de posicionar o exaustor de ar no forro e isso poderá permitir, inadvertidamente, que ocorra uma dispersão das partículas fecais no ar, o que poderá contaminar as pessoas e as roupas limpas. Portanto, devem estar estrategicamente posicionados fora das áreas controladas e de criação.

2.2.2.6. Salas de animais

É importante no desenvolvimento do projeto construtivo considerar não somente as necessidades momentâneas, mas também demandas futuras. Na grande maioria dos biotérios, o número de animais varia de acordo com os projetos em andamento. A versatilidade das salas de animais facilitam o reagrupamento e organização, de modo a acomodar diferentes tipos e número de gaiolas, estantes, racks e equipamentos auxiliares, necessários para o alojamento de diferentes espécies animais. Além disso, salas versáteis permitem atender a uma grande variedade de projetos ao longo do ano. As salas de animais devem ser separadas por espécie. Em experimentação, sempre que possível, devem ser utilizadas para uma única linha de pesquisa. Isso permite um bom controle do ambiente e reduz a incidência de doenças. A dimensão da sala de animais deve ser definida de acordo com a espécie a ser alojada e o número de gaiolas, estantes, racks e outros equipamentos e acessórios necessários à criação ou experimentação animal. Salas de animais devem ser projetadas de modo a facilitar a limpeza e desinfecção e não devem conter pias e ralos. Caso haja a necessidade de ralos, estes devem ser sifonados.

2.2.2.7. Área para eutanásia

Esse ambiente deverá estar separado e localizado em área que não cause distúrbio aos animais alojados no biotério. O ambiente deverá possuir equipamentos e materiais necessários ao método de eutanásia definido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). A eutanásia poderá ser realizada na sala de necropsia ou na sala de procedimentos. As instalações desse ambiente devem facilitar a limpeza e a desinfecção.

2.2.3. Depósitos

Deve-se reservar um espaço adequado para o depósito de equipamentos, suprimentos, cama e lixo, com aten-

ção especial para o espaço de armazenamento de alimentos, que deve ser limpo, seco, e com controle de insetos e de outras pragas.

2.2.3.1. Depósito para estocagem de Insumos: ração e forragem

O espaço destinado a estes insumos deverá ter um fácil acesso para carga e descarga, mas, ao mesmo tempo, deve evitar que pessoas sem autorização tenham acesso a áreas restritas do biotério. Os alimentos para os animais devem ser armazenados em ambientes fechados, ventilados, com baixa umidade, de fácil higienização e desinfecção, para prevenir contaminações e preservar as propriedades nutricionais. Alimentos e forragem não devem ser armazenados diretamente no piso. O uso de estrados, estantes ou outros dispositivos, para esse fim, são recomendados e devem ser dispostos, de modo a não terem contato com paredes, o que facilita a inspeção e higienização do ambiente. Para resguardar a sanidade do ambiente, recomenda-se a criação de mecanismos que evitem a introdução direta de embalagens externas ao biotério.

2.2.3.2. Depósito de resíduos

Deve estar isolado das demais áreas do biotério e conter local para:

- Alojamento das embalagens, contendo a cama usada e resto de ração acumulados entre os períodos de coleta.
- câmara fria ou freezer para acondicionamento de carcaças de animais que deverão ser descartadas segundo a legislação vigente.
- O acesso para o exterior deverá ser facilitado, evitando-se o trânsito no biotério, de pessoas estranhas ao quadro de funcionários da Unidade.
- Um sistema de drenagem com ralo sifonado deve ser considerado neste ambiente, de forma a favorecer com eficiência a higienização e desinfecção.

2.2.3.3. Depósito para materiais limpos

Este ambiente deve armazenar insumos após higienização e desinfecção ou esterilização. Sua localização deve

ser em local controlado, dentro da área limpa do biotério, próximo às salas dos animais.

Suas dimensões são determinadas em função do quantitativo de insumos, materiais, equipamentos e das demandas das espécies animais alojadas na unidade.

2.2.4. Barreiras sanitárias e de contenção

Barreiras no contexto de biotérios consistem na combinação de sistemas físicos e procedimentos operacionais que juntos minimizam a transmissão de enfermidades, tanto do homem para o animal, como dos animais para o homem. As barreiras podem ser divididas em duas categorias: bioexclusão e biocontenção. Bioexclusão é voltada na prevenção da entrada de enfermidades e infestações, provenientes do exterior, para os animais alojados no biotério. Essas barreiras são estabelecidas para proteger o padrão sanitário dos animais. Biocontenção é voltada para prevenir o escape de agentes contaminantes dos animais alojados nos biotérios para o exterior. As barreiras de biocontenção são utilizadas em área de quarentena ou isolamento de animais com padrão sanitário desconhecido e principalmente nos biotérios de experimentação que trabalhem em experimentos nos quais os animais são intencionalmente infectados com agentes patogênicos.

De acordo com o grau de risco envolvido, as exigências e complexidades serão diferentes e deverão ser avaliadas em conformidade com a legislação vigente.

2.2.5. Detalhes construtivos

A escolha correta dos materiais a serem usados na construção de um biotério é de fundamental importância para propiciar as condições adequadas para um funcionamento eficiente e facilitar a higienização dos ambientes.

2.2.5.1. Paredes

As paredes devem ser lisas, não absorventes e resistentes à umidade e ao impacto. Não devem desenvolver rachaduras ou fissuras com facilidade. As juntas entre as paredes, pisos e tetos devem ser arredondadas. Junções que formem ângulos agudos devem ser evitadas, pois dificultam a limpeza. O mesmo deve ser observado entre as junções

com as portas e, quando apresentarem frestas, estas deverão ser vedadas para evitar a penetração e acúmulo de sujidades. Os materiais empregados nas superfícies e paredes devem ser impermeáveis e permitir a limpeza e desinfecção com detergentes e desinfetantes e resistir à água sob pressão. Recomenda-se que a instalação de dutos (de ar ou energia, entre outros) ou de quadros de distribuição elétrica não seja executada nas áreas controladas do biotério. Quando isso não for possível, estes deverão ser selados, com junções vedadas e regulares para facilitar a limpeza. As paredes do corredor são particularmente propensas a danos devido ao movimento de carrinhos e outros equipamentos e, portanto, poderá ser necessária alguma forma de proteção. Por esta razão, o uso de elementos de proteção, como grades ou guardas de canto, poderá ser considerado. Existem diferentes modelos de guardas de proteção que poderão ser empregados (plásticos, aço inox ou alumínio), desde que sejam sólidos ou selados de forma a favorecer a higienização e evitar a presença de patógenos.

2.2.5.2. Tetos

Tal como acontece com os pisos e paredes, os tetos devem ser resistentes a frequentes lavagens e desinfecções, embora o teto esteja menos sujeito ao desgaste.

Os tetos de concreto são os mais indicados por serem lisos e aceitarem pinturas. Nos casos em que forem utilizados tetos falsos, os mesmos deverão ser fabricados em material impermeável, ter uma superfície lavável, ser lisos e livres de rachaduras e as placas deverão ser fixadas e as juntas vedadas.

Em casos onde dutos e canos precisam ser instalados no espaço entre o forro e o teto, como em salas de procedimentos, o acesso no momento da manutenção e ou reparo, será realizado por inspeções estrategicamente localizadas. Quando houver a necessidade de passá-los por uma sala de animais, recomenda-se que os acessos estejam localizados nos corredores contíguos a elas, ou seja, fora das salas dos animais.

2.2.5.3. Pisos

O contrapiso das instalações deve ser de concreto. O piso considerado ideal é resistente aos produtos empregados nas rotinas de limpeza e desinfecção, bem como ao emprego de máquinas de lavar com jatos pressurizados. Deve ter material não absorvente e resistir ao impacto. O material empregado deve oferecer facilidade de reparo, ao mesmo

tempo em que deve suportar o peso e movimento dos equipamentos do biotério, de maneira que não abram fissuras, trincas ou rachaduras e também não fiquem corroídos. As juntas de dilatação devem, sempre que possível, estar localizadas na base das paredes. A qualidade do acabamento é crítico para a higiene, a limpeza e a durabilidade.

Dependendo da área ou da sua finalidade, o piso poderá ser monolítico ou ter o mínimo possível de juntas. É importante destacar que a aplicação correta dos materiais utilizados na construção do piso é fundamental para assegurar a sua qualidade e durabilidade.

2.2.5.4. Janelas

Embora a luz natural seja benéfica para os seres humanos e animais, não se recomenda o uso de janelas com acesso direto para as salas de animais de laboratório. Quando necessárias, as janelas deverão ser instaladas em corredores externos que não sejam contíguas às salas de animais, salas de técnicos, entre outros ambientes, desde que permaneçam fechadas e atendidas as questões de segurança. Janelas internas entre salas ou entre salas e corredores, muitas vezes, oferecem um maior conforto por favorecer uma maior visão e, conseqüentemente, por reduzir a sensação de claustrofobia. Também poderão ser instaladas nas salas cirúrgicas para maximizar a comunicação visual e deverão ser de material inquebrável, com uma armação metálica alinhada ou embutida nas paredes. Entretanto, não devem ser projetadas em salas de criação, uma vez que a luz que passa por elas pode interferir diretamente nas características das colônias, pois nem todas as espécies aceitam bem o espectro da luz solar, sendo que o aquecimento poderá elevar os custos do sistema de refrigeração, entre outras razões.

2.2.5.5. Portas

As portas das instalações para animais devem ser resistentes, impermeáveis e duráveis. As portas devem ser confeccionadas de modo a não terem frestas e, quando necessário, ser vedadas para evitar o acúmulo de sujidades e o abrigo de insetos. Sempre que possível, os batentes deverão ser da largura das paredes, embutidos nela e não sobrepostos. Este modelo evita a presença de bordas e o acúmulo de partículas, como poeiras. As portas devem ter dimensões que permitam a livre passagem de materiais e equipamentos. Recomenda-se uma abertura nominal de 1,00m, quando se tratar de portas simples e, no caso de portas duplas, estas deverão atender às necessidades das

instalações. Como medida de proteção, quando possível, a sua metade inferior poderá ser revestida com material resistente a impactos. Algumas portas podem necessitar de uma proteção adicional contra carrinhos de transporte. Nos casos em que a distância do chão for superior a 3,0mm, um dispositivo que vede o vão deverá ser instalado. Por questões de segurança, é aconselhada a instalação de visores nas portas para possibilitar uma visualização do ambiente interior. Para as salas de animais, sugere-se visores com dimensões de 15x20cm, sendo que estes deverão permitir um fechamento sempre que houver incidência de luz ou trânsito intenso de pessoal. Estes visores deverão ser vedados e permitir a limpeza e desinfecção. Em certas situações, como em áreas especiais, poderão ser empregados visores maiores que ajudam a tornar o espaço menos claustrofóbico. O sentido de abertura das portas deverá oferecer segurança e favorecer o trânsito de material e pessoal. Geralmente, as portas devem abrir para dentro da sala. No entanto, nos casos em que o tráfego no corredor é limitado ou as portas são abertas com pouca frequência, a opção de sentido de abertura para o corredor irá permitir uma utilização mais eficiente do espaço interno de uma sala ou de uma antessala. Portas muito próximas, tais como, em antecâmaras, poderão abrir na mesma direção ou para fora, a partir da antecâmara, nos casos em que somente uma porta é aberta de cada vez. Neste caso, para uma maior segurança, poderá ser feita a instalação de um sistema de intertravamento das portas, garantindo uma única abertura por vez. No caso de portas com fechamento automático, deve-se lembrar que a eficiência será maior quando o fechamento acontecer no mesmo sentido do fluxo de ar. Entretanto, isto não deverá ser considerado para salas de biocontenção, onde existe uma diferença de pressão entre as áreas. Neste caso, as portas deverão abrir e fechar independentemente do fluxo de ar. A maior eficiência e segurança no momento de utilização de uma porta é que deve definir o seu sentido de abertura o qual, por sua vez, poderá exigir alguns acessórios, tais como dispositivos de travamento automático, molas, ou luzes de aviso.

2.2.5.6. Fornecimento de energia elétrica e iluminação

A rede elétrica deverá ser dimensionada de modo a permitir um número apropriado de lâmpadas e tomadas, sendo estas adequadas aos diferentes tipos de equipamentos que serão instalados. O cálculo de dimensionamento de carga deverá contemplar uma margem de segurança e uma provável expansão do biotério e número de equipamentos.

Para o caso de falha no fornecimento normal de energia, deverá ser prevista a instalação de um grupo gerador dimensionado para manter em funcionamento os sistemas críticos do biotério, tais como: insuflamento e exaustão de

ar, equipamentos de alojamento de animais de laboratório, luzes de emergência, freezers e, em situações especiais, outros equipamentos estratégicos para a unidade. As luminárias, os interruptores, as tomadas e outros elementos integrantes das salas dos animais deverão ser vedados para impedir o acúmulo de sujidades, microrganismos e abrigo de insetos. Lâmpadas fluorescentes de baixo consumo são comumente empregadas. Também deverá ser previsto um sistema de fotoperíodo regulável, de forma a oferecer um ciclo de luz uniforme. O sistema instalado poderá apresentar um duplo nível de iluminação, de forma que a intensidade seja maior, nos momentos de trabalho dos técnicos, e reduzida, nos outros horários, favorecendo as espécies mais sensíveis à luz de intensidade elevada.

As lâmpadas ou luminárias devem possuir proteção para as rotinas de limpeza e desinfecção. Os interruptores e tomadas deverão ser aterradas e vedadas nas áreas com muita exposição à água, como nas salas de lavagem e outros ambientes com elevada umidade.

2.2.6. Ambiente de biotérios

O controle das variáveis ambientais dentro dos biotérios é fundamental tanto para a produção e manutenção dos animais de laboratório, quanto para a equipe de técnicos que nele trabalha e para a validação das pesquisas. O ambiente deve assegurar um padrão sanitário nas colônias, ao mesmo tempo em que promova o bem estar dos animais.

Os agentes físicos, químicos e biológicos podem influenciar no comportamento e fisiologia dos animais e modificar os resultados de uma pesquisa. Os resultados experimentais são, a princípio, válidos somente para as condições nas quais eles foram obtidos e uma comparação apenas poderá ser realizada, se toda a informação relativa às condições experimentais for disponibilizada.

Segundo o *Guide for care and use of Laboratory Animals*, 8ªed, para todos os animais terrestres, existem o Microambiente e Macroambiente: “O microambiente de um animal terrestre é o espaço físico imediatamente próximo a ele, que é o recinto primário, como a gaiola, cercado ou estábulo. Ele contém todos os recursos com os quais os animais mantêm contato direto e também delimita o ambiente próximo aos animais. O microambiente é caracterizado por muitos fatores, entre eles, iluminação, ruído, vibração, temperatura, umidade, composição gasosa e partículas do ar. O ambiente físico do recinto secundário, tal como uma sala, um celeiro, ou uma área externa, constitui o macroambiente”.

2.2.6.1. Ruídos

O ruído pode ser controlado em um biotério, a partir de um projeto arquitetônico bem elaborado, uma construção adequada, seleção criteriosa dos materiais construtivos e dos equipamentos, associada com boas práticas gerenciais. Os efeitos do ruído nos animais de laboratório estão relacionados com a sua intensidade, frequência, intermitência e duração e também dependem das características do animal, tais como: espécie, linhagem e história pregressa de exposição ao ruído durante a fase de desenvolvimento coclear. As atividades diárias dos biotérios produzem muitos sons acrescidos ao ruído de fundo provocado pelo sistema de condicionamento de ar. Ruídos excessivos e inapropriados podem ser irritantes e, algumas vezes, danosos para a saúde animal e humana, portanto, devem ser controlados. Fontes de ruídos provenientes das rotinas de apoio, tais como: da área de higienização de materiais, devem estar o mais distante possível das áreas de criação, bem como das salas de manutenção de animais em experimentação. A localização dos equipamentos de ventilação, das sirenes de alarme, da campainha para o público, dentre outros dispositivos geradores de ruídos, devem ser estrategicamente posicionados, de forma a minimizar a chegada dos sons até os animais. De alta significância são os ruídos ultrassônicos, imperceptíveis aos humanos e audíveis para diversas espécies animais. Muitas fontes de ruído em um biotério emitem ultrassom, portanto, deverão ser adotadas medidas para identificar e corrigir ou isolar essas fontes de forma a proteger os animais. Humanos, ratos e camundongos podem tolerar até 85 dB. No entanto, as cobaias são mais sensíveis aos ruídos e 60 dB é o máximo que podem tolerar, quando estes são constantes. Embora um ruído de fundo de no máximo de 85 db seja aceitável, foram relatadas alterações importantes em ratos expostos a um ruído intermitente de 83 db. A exposição a padrões uniformes pode levar a uma perda auditiva mais rápida, enquanto que a exposição a padrões irregulares está mais propensa a causar transtornos, devido a uma ativação repetida do sistema neuroendócrino.

2.2.6.2. Vibrações

As fontes de vibração podem ser várias, dentro ou fora das salas de animais e devem ser consideradas nos projetos de engenharia. A vibração externa pode surgir de um equipamento mecânico e ser transmitida pelas paredes e pisos. Um exemplo é uma aproximação das instalações com trilhos de metro ou trem ou em vias de intenso tráfego de automóveis e caminhões. Nestes casos, deve ser dada uma atenção especial ao tipo de estrutura do edifício. As

vibrações internas podem ser provenientes de equipamentos e sistemas de ventilação e, sempre que identificada a sua fonte, providências devem ser tomadas no sentido de amortecer-las com sistemas específicos. As vibrações excessivas podem induzir alterações de comportamento, padrão imunológico, bioquímico e reprodutivo em animais de laboratório.

2.2.6.3. Iluminação

A luz pode afetar a fisiologia e o comportamento de várias espécies de animais de laboratório, sendo que as três características mais importantes são o espectro, a intensidade e o fotoperíodo. A iluminação deve ser uniforme, sem brilho e proporcionar boa visibilidade. A intensidade da luz pode influenciar a agressividade e a incidência de canibalismo em roedores. Alterações graduais entre os períodos de claro e escuro podem ser necessárias como um período para a adaptação do comportamento diurno e crepuscular. Recomenda-se um nível de iluminação de cerca de 325 lux, distante 1m do piso. Esta intensidade é adequada para o cuidado com os animais e não causam sinais clínicos de retinopatia fototóxica em ratos albinos que foram empregados como referência para o estudo. Camundongos e ratos preferem gaiolas construídas com materiais que os protejam da luz, sendo que os albinos preferem áreas com intensidade menor que 25 lux.

Os animais jovens preferem uma menor intensidade luminosa quando comparados com os adultos.

Temporizadores programáveis devem ser utilizados como forma de se controlar os ciclos de luz (período claro e escuro) nas salas de animais. Mesmo em ambientes controlados, os efeitos da sazonalidade podem ser percebidos na reprodução das colônias.

De uma forma geral, a iluminação deverá ser distribuída para toda a sala, possibilitando a inspeção das gaiolas e as rotinas com os animais, ao mesmo tempo em que assegure o bem estar animal.

2.2.6.4. Temperatura e umidade

A temperatura das salas dos animais deverá ser cuidadosamente controlada e monitorada continuamente. Devem ser evitadas flutuações diárias para que não haja maior demanda nos processos metabólicos e comportamentais dos animais. As temperaturas de bulbo seco no macroambiente recomendadas são: 20-26°C para camundongo, rato, hamster, cobaia e 16-22°C para coelhos. A temperatura deve ser mantida numa faixa de variabilidade máxima de 4°C.

A maioria dos animais tolera bem a faixa entre 40 e 60% de umidade relativa do ar, começando a ter problemas quando esta chega a 30% ou quando é superior a 70%. A umidade relativa no microambiente pode ser de maior importância em animais alojados num recinto primário, no qual as condições ambientais diferem significativamente das encontradas no macroambiente (por exemplo, gaiola com filtro superior - *top filter*).

Segundo a 8ª edição do *Guide for care and use of Laboratory Animals*, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar podem ser afetadas pelo manejo e projeto do Biotério e podem variar consideravelmente entre os recintos primário (microambiente) e secundário (macroambiente), bem como no interior dos próprios recintos primários. Os fatores que contribuem para a variação de temperatura e umidade dos recintos incluem o projeto da instalação; tipo do material utilizado em sua produção; objetos de enriquecimento ambiental, tais como: abrigos e material de ninho, uso de filtros nas gaiolas (top filters), número, idade, tipo e tamanho dos animais em cada recinto; ventilação forçada dos recintos e do tipo e frequência de troca da cama. O recinto primário deve prover os recursos adequados para termorregulação dos animais (material de ninho e abrigos) para evitar o estresse térmico pelo frio, principalmente quando são utilizadas gaiolas com ventilação forçada.

Em determinadas situações, a temperatura ambiental deverá ser mais elevada, como no alojamento dos animais em recuperação pós-operatória, animais recém-nascidos, roedores com fenótipo sem pelo. A magnitude deste aumento de temperatura depende dos detalhes do alojamento, pois às vezes apenas o ajuste da temperatura no microambiente é suficiente e preferível, ao invés de aumentar a temperatura do macroambiente.

2.2.6.5. Ventilação, exaustão e qualidade do ar

A principal função da ventilação e exaustão do ar é proporcionar um aporte adequado de oxigênio e remover a carga térmica produzida pelos animais, pessoal, luzes e equipamentos; diluir e exaurir contaminantes gasosos e particulados, incluindo alérgenos e agentes patogênicos presentes no ar; controlar o teor de umidade e temperatura do ar, e, se necessário, gerar um gradiente de pressão de ar (fluxo unidirecional de ar) entre os espaços adjacentes. É importante ressaltar que a ventilação na sala de animais (macroambiente) é necessária para assegurar uma ventilação adequada no recinto primário (microambiente), que é o ar ao qual o animal está diretamente exposto. O tipo de recinto primário pode influenciar consideravelmente a diferença de ventilação entre o macro e o microambientes - por exemplo, as diferenças entre os dois ambientes podem ser menores quando os animais são alojados em gaiolas abertas do que

quando forem utilizadas gaiolas fechadas (microisoladores) sem ventilação forçada.

O padrão de distribuição, o volume e as propriedades físicas do ar fornecido para uma sala influenciam a ventilação no recinto primário dos animais e são determinantes para o microambiente. O tipo e a localização dos difusores de insuflação e exaustão do ar no recinto secundário, em relação ao número, distribuição, localização e tipo de recintos primários, podem alterar a maneira como ocorre a ventilação nos microambientes e, portanto, devem ser considerados. O uso de modelagem computacional para avaliar esses fatores em relação à carga térmica, os padrões de difusão do ar, e o movimento de partículas pode ser útil para melhor dimensionamento da ventilação no micro e no macroambiente.

A exposição direta dos animais a uma massa de ar em alta velocidade deve ser evitada, pois a velocidade do ar que os animais estão expostos altera a taxa de remoção do calor e umidade do animal. Por exemplo, o ar a 20 °C, numa velocidade de 18,3 m/min, tem um efeito de resfriamento corporal no animal de cerca de 7° C. As correntes de ar diretamente nos animais podem ser particularmente prejudiciais para neonatos homeotérmicos (pois não tem pelos e tem os mecanismos de controle da termorregulação pouco desenvolvidos) e para os mutantes sem pelo.

O fornecimento de 15 a 25 trocas de ar por hora nas salas de animais é uma recomendação aceitável para manter a qualidade do ar no macroambiente em volume constante e pode também assegurar a qualidade do ar no microambiente. Embora esta recomendação seja eficaz em diferentes tipos de instalações, ela não considera as possíveis cargas térmicas, as espécies, o tamanho e o número de animais alojados, o tipo de recinto primário e a cama; a frequência de troca da gaiola, as dimensões da sala, ou a eficiência da distribuição do ar no macroambiente e entre o macro e o microambiente. Em algumas situações, o emprego de uma maior taxa de renovação do ar pode ventilar excessivamente um macroambiente que possua poucos animais, desperdiçando energia, ou ventilar insuficientemente um microambiente que contém muitos animais, permitindo o acúmulo de calor, umidade e poluentes.

As trocas de ar nas salas dos animais devem ser feitas com 100% de renovação, não devendo haver trocas com o ar da própria sala. O uso de ar reciclado para ventilar salas de animais propicia um economia considerável de energia, mas pode oferecer riscos. Muitos patógenos dos animais podem ser transportados pelo ar ou por meio de fômites, como a poeira, de maneira que o ar reciclado captado por um sistema de condicionamento de ar (HVAC), que abastece várias salas, oferece o perigo de contaminação cruzada, devendo, portanto, ser evitado. Nos casos em que o ar de exaustão é reciclado, este deve ser filtrado, no mínimo, com filtros de eficiência ASRHAE entre 85 a 95%, para remoção dos particulados presentes no ar, antes de ser reutilizado. Dependendo da origem, da composição e da proporção de ar utilizado na reciclagem (p. ex. se contiver amônia e outros gases liberados a partir dos excrementos dos animais),

também é indicada a filtração de substâncias voláteis presentes no ar. Em áreas que necessitam filtração do ar para garantir a segurança do pessoal e dos animais (como em áreas com risco biológico) deve ser avaliada a integridade, a carga e a eficiência do sistema de filtração.

Os modernos equipamentos de aquecimento, ventilação ou condicionamento de ar (HVAC) (por exemplo, sistema de volume de ar variável - Sistema VAV) possibilitam ajustar as taxas de ventilação de acordo com a carga térmica e outras variáveis. Estes sistemas apresentam vantagens consideráveis em relação à flexibilidade e conservação de energia, mas devem sempre fornecer uma quantidade mínima de renovação de ar, como recomendado para os laboratórios em geral.

As gaiolas individualmente ventiladas (IVCs) e outros tipos de recintos primários similares, que são ventilados diretamente com o ar filtrado captado na sala ou que são ventilados de forma independente da sala, podem efetivamente atender às necessidades de ventilação dos animais, sem a necessidade de considerar a ventilação no macroambiente. Contudo, deve-se tomar cuidado com a alta velocidade do ar, conforme já mencionado anteriormente. De qualquer forma, o macroambiente deve ser suficientemente ventilado para permitir a remoção da carga térmica, partículas, odores e resíduos de gases liberados pelo recinto primário.

Os IVCs ou racks ventiladas estão gradativamente substituindo sistemas de ventilação convencionais, que se baseiam na dissipação natural dos gases. As racks ventiladas estão sendo utilizadas com mais frequência em biotérios para proteger os animais de contaminações, supri-los com uma melhor qualidade de ar, melhorar o microambiente onde estão os animais e reduzir a exposição humana aos alérgenos.

Com relação aos aspectos arquitetônicos, as racks ventiladas podem ter um impacto significativo sobre a concepção e uso do sistema de ventilação e climatização de biotérios, uma vez que existem várias maneiras nas quais estes equipamentos podem ser instalados e cada uma delas tem diferentes implicações no projeto do sistema HVAC.

As racks de pressão positiva são usadas para proteger animais mantidos no interior dos mini-isoladores (exclusão). Neste modelo, o ar da sala é aspirado, passa por uma filtragem e é conduzido até o mini-isolador, onde, após se misturar aos poluentes, é retirado da caixa. A rack de pressão negativa é usada para proteger o ambiente de fora da gaiola (macroambiente) de contaminantes e de potenciais alérgenos (inclusão). O ar retirado das gaiolas ventiladas deve ser descarregado diretamente no sistema de exaustão da sala para redução da carga térmica e para evitar a contaminação do macroambiente com amônia.

As gaiolas de isolamento com filtros e sem ventilação forçada (como as com *top filters*), utilizadas em alguns

alojamentos para roedores, restringem a ventilação. Para compensar, pode ser necessário ajustar diversas práticas de manejo, como: higiene e frequência de troca da gaiola, a escolha da cama, colocação das gaiolas em um recinto secundário mais ventilado, diminuir a densidade populacional nas gaiolas, diminuir a umidade relativa do macroambiente, para melhorar o microambiente e a dissipação de calor. Seu uso está sendo desestimulado exatamente pela dificuldade de controle do microambiente, em função da saturação rápida com produção de amônia e umidades excessivas.

2.2.6.5.1. O emprego de racks ventilados em salas de animais e biotérios de experimentação.

A introdução de sistemas de ventilação individual (IVCS) permite o alojamento de um maior número de roedores (particularmente camundongos), quando comparado com sistemas tradicionais. Para tirar o máximo proveito da biossegurança oferecida por estes sistemas, é necessário que se manipule os animais em cabines de biossegurança ou em estações de troca móveis que tenham sido fabricadas especificamente para a finalidade de troca de gaiolas.

O desenho das salas de animais, particularmente onde as unidades IVCS estão envolvidas, é, portanto, uma parte vital do processo de planejamento e desenho e deve prever o espaço para a movimentação dos equipamentos utilizados nas rotinas de cuidado com os animais e os vários grupos que trabalharão nela.

2.2.7. Alojamento

Estudos recentes avaliaram as necessidades de espaço em relação aos efeitos do alojamento, tamanho do grupo, densidade populacional e às condições de alojamento para diversas espécies e linhagens de roedores. De modo geral, vários efeitos foram relatados sobre o comportamento (como agressividade) e sobre os resultados experimentais. No entanto, é difícil comparar esses estudos, devido às diferenças no delineamento experimental e nas variáveis observadas em cada trabalho. Entre as variáveis que podem alterar a resposta dos animais mantidos em gaiolas de tamanhos ou densidades populacionais diferentes incluem a espécie, o fenótipo, a linhagem (e seu comportamento social), a idade, o sexo, a qualidade do espaço (por exemplo, disponibilidade de uso do espaço vertical), e as estruturas colocadas na gaiola, entre outros. Esses problemas são complexos e devem ser cuidadosamente considerados por ocasião do alojamento de roedores.

Abaixo, apresentamos as tabelas 1 e 2 modificadas do *Guide for Care and use of Laboratory Animal, 8ª Edition*,

para alocação do espaço mínimo recomendado para roedores e lagomorfos.

Tabela 1: Recomendações de espaço mínimo para roedores alojados em grupos*

Espécie		Peso (g)	Área/animal (cm ²)	Altura (cm) ^A	Observações
Camundongos	Em grupos ^B	<10	38,7	12,7	Animais maiores podem necessitar de maior espaço para adequado desenvolvimento.
		10 a 15	51,6	12,7	
		15 a 25	77,4	12,7	
		>25	>96,7	12,7	
	Fêmea com filhotes		300 (espaço para o grupo)	12,7	Avaliar o modo de reprodução, pois pode haver variações no número de adultos e filhotes, tamanho e idade dos animais. ^C
Ratos	Em grupos ^B	<100	109,6	17,8	Animais maiores podem necessitar de maior espaço para adequado desenvolvimento.
		100 a 200	148,35	17,8	
		200 a 300	187,05	17,8	
		300 a 400	258,0	17,8	
		400 a 500	387,0	17,8	
		>500	≥451,5	17,8	
	Fêmea com filhotes		800 (espaço para o grupo)	17,8	Avaliar o modo de reprodução, pois pode haver variações no número de adultos e filhotes, tamanho e idade dos animais. ^C
Hamster ^C	<60	64,5	15,2	Animais maiores podem necessitar de maior espaço para adequado desenvolvimento.	
	60 a 80	83,8	15,2		
	80 a 100	103,2	15,2		
	>100	≥122,5	15,2		
Cobaio ^C	<350	387,0	17,8	Animais maiores podem necessitar de maior espaço para adequado desenvolvimento.	
	350	≥651,5	17,8		

^A Distância do assoalho ao topo da gaiola.

^B Deve-se considerar as características de crescimento, tamanho do grupo e sexo dos animais; prever se haverá ganho de peso rápido, sendo preferível proporcionar um espaço maior na expectativa futura de tamanho do animal, bem como considerar que roedores jovens são muito ativos e mostram aumento da brincadeira.

^C Considerar possíveis eliminações seletivas de filhotes ou separação de ninhadas do grupo para permitir melhoramento, bem como segurança e bem estar ao grupo. O espaço deve ser suficiente para que as mães e suas respectivas ninhadas consigam se desenvolver até o desmame, sem qualquer efeito prejudicial para ambos.

Tabela 2: Recomendações de espaço mínimo para coelhos alojados em pares ou grupos*

Espécie	Peso (Kg)	Área/animal (m²)	Altura (cm)^A	Observações
Coelho	<2	0,14	40,5	Animais maiores podem necessitar de maior espaço para adequado desenvolvimento.
	2 a 4	0,28	40,5	
	4 a 5,4	0,37	40,5	
	>5,4 ^B	≥0,46	40,5	

^A Distância do assoalho ao topo da gaiola.
^B Animais maiores podem necessitar maior espaço para adequado desenvolvimento.

PROCEDIMENTOS

1. Introdução

É essencial conhecer a biologia e o comportamento da espécie, raça, linhagem com a qual se trabalha, uma vez que as necessidades básicas (físicas, emocionais ou comportamentais) a serem satisfeitas não são as mesmas para todos os animais. Conceito também aplicável aos animais geneticamente modificados, os quais podem apresentar necessidades especiais decorrentes de sua modificação genética.

Neste capítulo, trataremos das seguintes espécies de roedores: camundongo, cobaia, hamster, rato e de uma espécie de lagomorfo, coelho.

Os roedores possuem organização social complexa. Cada animal tem seu papel e a simples retirada ou adição de um animal em uma gaiola pode ter consequências consideráveis, que afetará o bem-estar de todo o grupo. Uma característica importante e que deve ser respeitada é a de serem gregários. O isolamento, portanto, causa sofrimento e diminuição nos níveis de bem-estar. Quando o isolamento for necessário (por exemplo, em casos de agressividade, doenças ou protocolos de pesquisas), deve ser cientificamente justificado. Medidas mitigatórias do impacto do isolamento sobre o bem-estar precisam ser adotadas, como permitir o contato visual, auditivo e olfatório entre os congêneres, reduzindo o estresse da separação.

1.1. Ambientes

Faz-se necessária a definição de alguns ambientes que serão citados ao longo do capítulo.

Instalação animal: Qualquer instalação na qual são produzidos, mantidos ou utilizados animais para atividades de ensino ou de pesquisa científica, adequada para atender ao bem-estar animal da espécie utilizada.

1.1.1. Instalações de manutenção

Ambientes ou locais que ofereçam condições necessárias para a manutenção do bem-estar animal, desde a sua saída da instalação de produção até o momento da destinação prevista.

1.1.2. Instalações de produção

Ambientes ou locais que ofereçam condições necessárias à manutenção do bem-estar animal, compatíveis com as atividades a serem desenvolvidas na reprodução e criação de espécies animais para fins de ensino ou de pesquisa científica.

1.1.3. Instalações de utilização

Ambientes ou locais que ofereçam condições adequadas para a realização dos protocolos requeridos nos projetos e que contemplem os cuidados necessários para a manutenção do bem-estar animal até a finalização das atividades de ensino ou da pesquisa científica.

1.2. Espécies

1.2.1. Camundongo

O camundongo de laboratório é um mamífero da família Muridae, subfamília Murinae, da ordem Rodentia e gênero *Mus*. O seu nome científico é *Mus musculus*, com múltiplas linhas, incluindo três principais subespécies, com distribuição geográfica distinta.

Em geral, os camundongos são dóceis, de fácil manuseio, ciclo de vida curto, fecundidade alta, curta gestação e tamanho pequeno.

Essas características tornam os camundongos modelos de eleição para estudo de genética, teratologia e gerontologia. Nos estudos de genética, estima-se uma similaridade dos genomas do camundongo e do homem de 70% a 90% (KO *et al.*, 2008).

1.2.2. Rato

O rato de laboratório, ou rato Norway, é a forma domesticada da espécie *Rattus norvegicus*, pertencendo à ordem Rodentia e à família Muridae. Os ratos são curiosos, inteligentes e exibem comportamentos com amplo repertório. Eles tendem a ser dóceis, mostrando agressividade somente na defesa de seus filhotes. Dentre seus comportamentos mais comuns inclui-se a posição em pé usada para explorar o ambiente, enfrentamento, uma forma de recreação entre ratos jovens e, a limpeza da pelagem. Os ratos são neofóbicos, entretanto, interagem com objetos novos colocados em seu ambiente. Os ratos têm hábitos noturnos e crepusculares, geralmente com três períodos de atividade: no início, no meio e ao final da noite. Eles se alimentam durante esses períodos fazendo de três a cinco refeições. O êxito do rato Norway em todo mundo deve-se, em parte, ao fato da espécie ser onívora

1.2.3. Cobaia

A cobaia (*Cavia porcellus*) é um roedor da família Caviidae, conhecido também como porquinho-da-índia. A espécie mais utilizada em pesquisas é a *C. porcellus*. As cobaias são animais sociáveis, tímidos, dóceis e raramente mordem ou arranham. Os adultos, frequentemente, mordem as orelhas dos jovens e os machos podem brigar violentamente, durante disputas por uma fêmea em estro, até que se estabeleça a hierarquia do grupo. Assustam-se facilmente, defecam e urinam nos comedouros e derramam sua alimentação pelo piso da gaiola. Vocalizam demonstrando prazer antes de situações gratificantes (alimentação) e ficam juntas ou em cima umas das outras durante o manejo da colônia pelo técnico. As cobaias podem ser alojadas para reprodução em pares ou haréns e os recém-nascidos apresentam-se com os olhos abertos, pavilhão auricular descolado da cabeça e caminham logo após o parto. O desmame ocorre em 2-3 semanas, mas geralmente o jovem alimenta-se com sólidos e água dentro de poucos dias após o nascimento. Em alguns países, é um animal utilizado também na alimentação humana (BUENO *et al.*, 2008).

1.2.4. Hamster

O hamster sírio ou dourado (*Mesocricetus auratus*) é o mais utilizado com fins didáticos e científicos, pertencentes à família Cricetidae (ainda que alguns taxonomistas as coloquem entre os Muridae). Diferentemente de outros

roedores usados em laboratórios, não há muitas informações sobre a biologia do hamster em vida livre. Apresentam hábitos noturnos, são curiosos e constroem tocas elaboradas com várias entradas. A fêmea, quando adulta, apresenta um porte superior ao do macho diferentemente da maioria dos roedores, em que o macho é maior que as fêmeas. Os machos não demonstram agressividade com as fêmeas, apenas com outros machos. Em cativeiro, é possível o agrupamento de indivíduos do mesmo sexo. Entretanto, para que se tenha sucesso nesse tipo de alojamento, é necessário que se formem os grupos no momento do desmame.

O hamster sírio é uma espécie sazonal, em vida livre, hibernam durante os períodos de dias curtos, com baixa luminosidade, baixas temperaturas (inferiores a 5°C) e disponibilidade escassa de recursos alimentares e de material para construção de ninho (Mori et al., 2008).

1.2.5. Coelhos

Coelhos e lebres pertencem a uma ordem distinta, a dos lagomorfos (ordem Lagomorpha). Portanto, não são roedores. O ancestral do coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) é o coelho selvagem, um mamífero da ordem Lagomorpha com uma grande capacidade de adaptação a diferentes regiões climáticas. A domesticação do coelho é, de fato, recente e não produziu ainda mudanças substanciais no comportamento quando comparado ao coelho selvagem. Apesar da grande variedade entre as raças atuais, as características comportamentais pouco mudaram, mesmo com a domesticação, ou seja, nenhum padrão comportamental foi perdido ou criado. Vários tipos de comportamento mantêm-se: o comportamento de manutenção (recursos essenciais para a sobrevivência e expressão do repertório de comportamentos normais, alimentação, água, proteção), o comportamento materno e o comportamento social. A duração, frequência e intensidade com que os animais os expressam dependem da raça, das condições ambientais e, conseqüentemente, do nível de estresse a que são submetidos. Os coelhos são animais sociáveis que, em vida livre, vivem grande parte do tempo em grupo e em contato próximo uns com os outros. As lutas não são frequentes porque a hierarquia é claramente definida, quando existe um ambiente que simule uma aproximação ao ambiente natural (Moura & Mattaraia, 2008).

2. Procedimentos de rotina para área de produção e manutenção de roedores e lagomorfos

As tarefas diárias em uma instalação de ensino ou de pesquisa científica destinadas à produção e manutenção das cinco espécies tratadas neste capítulo (camundongo, cobaia, coelho, hamster e rato) são bastante complexas e variam de acordo com a estrutura física da instalação, disponibilidade de equipamentos, necessidades fisiológicas e comportamentais de cada espécie, padrão sanitário e genético dos animais e finalidade da produção. Uma forma eficiente e segura para que se alcance a realização das tarefas reunindo todos esses interesses, com sucesso e de maneira continuada, é a implantação dos Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), documento que descreve passo a passo as etapas cronológicas sucessivas para a realização do desenvolvimento de uma cada atividade, garantindo, assim, a padronização de tarefas. Na área de produção ou manutenção de animais, é necessário um POP para cada atividade, desde as consideradas mais simples, como limpeza das gaiolas, até o sistema de acasalamento específico para linhagens transgênicas. Quando da elaboração de um POP, é importante envolver a colaboração de todos os funcionários que desempenham a atividade, inclusive o responsável técnico, possibilitando assim, que os mesmos possam também estar preparados para diagnóstico e tratamentos/modificações rápidas das não conformidades detectadas, evitando perdas nos padrões de qualidades alcançados nas atividades em geral.

Todos os equipamentos precisam ser regularmente validados e estar com as suas especificações, instruções de uso e de limpeza fixadas próximo do equipamento, em local de fácil visibilidade.

A estrutura física das instalações de produção ou manutenção de animais é idealizada com o objetivo de atender à especificidade do modelo biológico que produz ou mantém. Entretanto, há áreas básicas que estão presentes em todas as instalações. Essas áreas estão detalhadamente explicitadas no Capítulo “Estrutura Física e Ambientes para Roedores e Lagomorfos”.

Neste Capítulo, vamos descrever as atividades executadas no interior das áreas destinadas direta ou indiretamente à produção ou manutenção de camundongos, cobaias, coelhos, hamster e rato.

2.1. Recinto primário e secundário

Nas instalações destinadas à produção e manutenção de roedores e lagomorfos, utilizados para ensino ou pesquisa científica, há duas grandes áreas comumente tratadas como área de produção de animais ou área limpa e área de higienização, tradicionalmente chamada de área suja (nome considerado impróprio, uma vez que se refere a uma área restrita que guarda uma inter-relação com o que acontece na área de produção). Essa divisão fundamental entre as áreas ocorre devido às barreiras sanitárias que protegem a área limpa. Primordialmente, falamos das autoclaves de barreira (dupla porta) e de sistemas de filtração de ar.

Na área de produção, temos as salas de animais, as quais são denominadas como macroambiente ou recintos secundários. As salas de animais devem ter ambiente controlado e suas variáveis ambientais devem ser registradas diariamente. O ambiente mais próximo ao animal é denominado recinto primário, nesse caso, a gaiola é também denominada de microambiente e necessita suprir as necessidades básicas dos animais e permitindo que este desenvolva seu repertório comportamental pertinente à sua fase de desenvolvimento. A gaiola precisa ser segura para evitar a fuga dos animais, feita de material impermeável, atóxico e não apresentar pontos de risco no seu interior, como ângulos, arestas, saliências, ranhuras ou bordas que possam ferir ou machucar os animais, bem como evitar o acúmulo de sujeiras. Um detalhe que requer muita atenção no ambiente primário dos animais é o assoalho das gaiolas, que precisa permitir a movimentação natural dos animais, evitar derrapagens e lesões nas patas. Não se usam mais assoalhos gradeados, principalmente no caso de reprodutores, devido ao peso de animais maiores e seu tempo de permanência nas gaiolas. Esse tipo de piso quase sempre causa lesões nos membros posteriores de coelhos e no seu aparelho reprodutor.

É importante que o ambiente primário estimule positivamente o animal, com desafios que previnam a ansiedade, frustração e o estresse crônico, mantendo bons níveis de bem-estar e, conseqüentemente, não comprometa os índices de seu desempenho (vide item sobre enriquecimento ambiental).

O Capítulo “Estrutura Física e Ambientes para Roedores e Lagomorfos” deste Guia estabeleceu parâmetros de temperatura, umidade, luminosidade, ruído, vibração e espaço mínimo para produção ou manutenção de roedores e lagomorfos.

2.2. Procedimentos para área de produção e manutenção de roedores e lagomorfos.

São diversas as atividades realizadas em uma instalação de produção ou manutenção das espécies de animais de laboratório tratadas neste Capítulo, elas podem ocorrer diariamente, semanalmente e mensalmente, dependendo da especificidade de cada atividade. A frequência com que são realizadas depende das características de espaço, da infraestrutura e da administração de cada instituição, bem como do protocolo de pesquisa.

2.2.1. Alimentação e hidratação

2.2.1.1. Alimento

O estado nutricional do animal pode influenciar o seu crescimento, reprodução, longevidade, seu nível de bem-estar, e outros processos fisiológicos. Todas as cinco espécies (camundongo, cobaia, coelho, hamster e rato) precisam receber uma dieta palatável, que forneça as necessidades nutricionais e comportamentais adequadas à cada espécie, exceto quando o estudo exigir outro tipo de conduta e o projeto tenha sido avaliado e aprovado pela CEUA.

O alimento, para roedores e lagomorfos mantidos em ambientes, com finalidade de ensino ou pesquisa científica, são as rações comerciais produzidas a partir de alimentos naturais, ou seja, dieta de fórmula aberta, elaborada a partir de produtos agrícolas e derivados. Neste tipo de ração, pode haver uma variação na composição dos nutrientes, devido à variabilidade das plantas, época de colheita, condições do tempo, procedimento de colheita, procedimentos de estocagem, métodos de fabricação e moagem, que influenciam a composição de nutrientes dos ingredientes usados nesses tipos de dieta e conseqüentemente levando à produção de dois lotes da mesma dieta não idênticos. Essa variação nas concentrações dos nutrientes da dieta pode tornar-se uma variável não controlada capaz de afetar resultados. Outra questão refere-se ao grau de contaminação dos ingredientes naturais que ocorre naturalmente pela sua exposição a vários contaminantes ou causados pelo homem. A presença de resíduos de pesticida em baixas concentrações, que não cause problemas na saúde do animal, pode afetar os resultados da pesquisa. Por exemplo, uma concentração de chumbo de 0,5-1,0 ppm é inerente em dietas de ingredientes naturais de roedores e geralmente não é prejudicial à saúde animal, mas poderia influenciar substancialmente os resultados de estudos toxicológicos projetados para avalia-

rem compostos a serem testados que contenham chumbo.

Dietas certificadas são aquelas que foram previamente testadas para constatação de contaminantes e produzidas de acordo com as exigências de Boas Práticas de Laboratório (BPL).

Dietas purificadas são formuladas com ingredientes que foram refinados de maneira que cada ingrediente contém um único nutriente ou classe de nutriente. As concentrações de nutrientes nesse tipo de dieta são menos variáveis e mais controladas que nas dietas de ingredientes naturais.

Dietas quimicamente definidas são formuladas com os elementos quimicamente puros extraídos de ingredientes disponíveis, tais como aminoácidos, açúcar específico, triglicérides quimicamente definidas, ácidos graxos essenciais, sais inorgânicos e vitaminas puras. Uso desse tipo de alimentação fornece o grau mais alto de controle das concentrações de nutrientes da dieta. Entretanto, nem sempre são prontamente consumidas pelos roedores de laboratório e apresentam elevado custo para uso geral. As concentrações de nutrientes em dietas quimicamente definidas são teoricamente fixadas na hora da fabricação. Entretanto, a biodisponibilidade dos nutrientes pode ser alterada pela oxidação ou interação de nutrientes durante estocagem da dieta.

Os camundongos, ratos e hamsters apresentam crescimento contínuo dos incisivos e as cobaias e lagomorfos apresentam crescimento contínuo de todos os dentes (incisivos, pré-molares e molares), sendo, portanto, necessário o oferecimento de alimentos com grau de dureza que estimule e provoque o desgaste dos dentes.

Entretanto, ao se trabalhar com animais mutantes ou geneticamente modificados (OGMs), é importante considerar a composição e o tipo de apresentação dos alimentos adequados ao animal. Há mutantes que apresentam ausência ou malformação dentária. Nestes casos, um alimento pulverizado ou gelatina nutritiva permitirá corrigir este inconveniente.

Mutantes portadores de distúrbios neurológicos ou musculares graves podem morrer devido à sua incapacidade de obter o alimento do comedouro ou a água da mamadeira. Recomenda-se deixá-los a sós com uma mãe nutriz, além de colocar à disposição dos mesmos gelatina nutritiva ou alimento pastoso com alto teor energético durante as primeiras semanas de vida.

Em condições normais, alimentos não são dispostos sobre a forração da gaiola onde podem ser contaminados ou desperdiçados. Exceções são feitas à oferta de alimentos para animais que, por qualquer motivo, não consigam acessar o local destinado para a ração na gaiola de manutenção.

Os animais apresentam particularidades nas suas exigências nutricionais. As cobaias, por exemplo, são incapa-

zes de sintetizar a vitamina C (ácido ascórbico) em quantidade suficiente para satisfazer as suas necessidades diárias. Insuficiente ingestão de vitamina C pode levar à debilidade, aumento da susceptibilidade às doenças e, eventualmente, para o escorbuto. Portanto, para essa espécie, a vitamina C precisa ser disponibilizada na ração, na forma de forragem ou suplementada na água de beber.

A dominância entre roedores é bem relatada. Portanto, quando animais são mantidos em grupos, é sempre importante tomar cuidado para garantir que os subordinados tenham acesso suficiente à comida e à água. Devem ser investigadas quaisquer alterações significativas na ingestão de alimentos. O escore corporal dos animais pode ser um bom indicador para avaliar o bem-estar dos mesmos. Um baixo escore corporal sinaliza que algo não está normal, precisa ser investigado e rapidamente corrigido, podendo estar relacionado com a alimentação.

Os comedouros servem para fornecer acesso fácil ao alimento, minimizar sua contaminação com a urina e fezes, garantindo a qualidade nutricional e sua boa condição.

Sob o ponto de vista sanitário, recomenda-se irradiar ou autoclavar alimentos utilizados em áreas controladas. A autoclavagem diminui a concentração de algumas vitaminas e antioxidantes. Portanto, as dietas autoclaváveis normalmente contêm maiores concentrações de ingredientes susceptíveis ao calor para compensar as perdas induzidas pela esterilização em autoclaves.

Se forem necessários outros tipos de alimento, além da ração, estes devem ser oferecidos após rigorosa higienização, pois podem representar a entrada de algum tipo de contaminação, bem como interferir em algum procedimento pesquisa científica.

2.2.1.2. Estocagem dos alimentos

A ração deve ser armazenada em recintos, cobertos, ambientes limpos, secos, arejados, sem odores e protegidos do sol e do calor, de modo a minimizar a deterioração e a contaminação.

Dietas para animais devem ser utilizadas dentro do prazo de validade estabelecido pelo fabricante e armazenadas em instalações com as características já descritas. Dietas irradiadas, desde que mantidas nestas mesmas condições, apresentam um prazo de validade maior, mas sempre deve ser seguida a orientação do fabricante.

Os sacos de ração devem ser mantidos sobre estrados, de preferência de plástico, afastados da parede e armazenados de maneira a facilitar a utilização dos mais antigos primeiro. O local destinado para armazenar a ração

não deve alojar outros insumos. Condições precárias de armazenamento podem resultar em contaminação ou mesmo perda de nutrientes, que pode não ser facilmente detectada.

Outros cuidados devem ser tomados em relação à aquisição do alimento para os animais. Os responsáveis pela compra de ração devem ter conhecimento que não é benéfico submeter os animais a variações bruscas de alimento. Na hora de selecionar um fornecedor de ração, devem ser considerados os procedimentos de fabricação do produto, seu transporte, bem como o controle de qualidade que garanta o padrão final do alimento a ser adquirido.

2.2.1.3. Água

Água potável, fresca e limpa deve ser oferecida à vontade, exceto quando a proposta em estudo não permita e somente em situações muito excepcionais. O monitoramento da qualidade da água é um importante aspecto do programa de pesquisa, uma vez que a contaminação e composição química da água podem afetar os resultados dos estudos com animais.

Métodos disponíveis para remover tanto agentes microbianos quanto contaminação química da água incluem: autoclavagem, acidificação, cloração, osmose reversa, ultrafiltração, filtração e luz ultravioleta. Contudo, alguns destes métodos podem alterar a função imunológica e a taxa de crescimento do modelo biológico utilizado.

Preferencialmente, os bebedouros devem permitir a observação da limpeza e nível da água; suportar a esterilização e ter um formato de boca larga para permitir uma boa higienização e serem substituídos por limpos e com água fresca e não completados. O fornecimento de água aos animais quase sempre acompanha a mesma frequência de troca das gaiolas. Não se recomenda completar a água das mamadeiras, pois esta prática exige um controle muito rígido para que não se cometa contaminação cruzada.

Bebedouros automáticos são equipamentos econômicos, mas, se não forem adequadamente projetados, são difíceis de ser desinfetados e podem promover contaminação cruzada.

2.2.2. Modificação da ingestão de alimento e água

Em alguns protocolos de pesquisa, o valor nutricional da ração é modificado qualitativa ou quantitativamente; ou o período de acesso ao alimento ou à água é alterado. Compete à Comissão de Ética no Uso de Animais institucional

avaliar cada um destes protocolos e, mediante consistente justificativa científica, considerar pertinente, ou não, uma vez que estas condutas podem causar efeitos adversos à saúde e ao bem-estar dos animais.

2.2.2.1. Restrição alimentar

Animais se alimentam em busca de suas necessidades de energia e nutrientes e podem gastar boa parte do seu tempo comendo, caso não haja outros estímulos (enriquecedores ambientais) no seu ambiente. Porém, quando não há restrição de acesso, algumas espécies ou indivíduos podem comer além de suas necessidades fisiológicas. O acesso irrestrito ao alimento permite um desenvolvimento corporal normal, mas pode diminuir a longevidade, aumentar a incidência de doenças degenerativas e neoplasia e, por vezes, aumentar o risco de obesidade.

O controle da disponibilidade de alimento para o animal pode ser simulada, tendo em conta a disponibilidade variável de alimento que ocorre na natureza. Como mencionado anteriormente, a redução da ingesta pode aumentar o tempo de vida e reduzir a incidência de obesidade e algumas doenças nos animais. Por outro lado, a restrição calórica pode também estressar e reduzir a taxa de crescimento em animais jovens e perda de peso corporal nos adultos. Estes problemas poderão ser mais acentuados se o alimento for de baixa qualidade nutricional ou desbalanceado. A restrição alimentar, em conjunto com outros fatores estressantes, pode estar associada às ulcerações gástricas em ratos e à morte em camundongos, sendo, portanto, motivo de sofrimento e baixos níveis de bem-estar. É importante lembrar que, ao calcular a quantidade de alimento que será disponibilizada durante a restrição alimentar, considera-se que em torno de 40% da quantidade de consumo diário, hídrico e alimentar, dos roedores é desperdiçada e não ingerida por eles.

Períodos de privação total de alimentos (jejum) podem prejudicar a saúde e o bem-estar dos animais. A duração do jejum precisa ser justificada em um contexto científico específico da espécie, condição fisiológica e de saúde dos animais envolvidos. Para o uso científico ou didático, portanto, qualquer período de privação de alimento proposto para o animal deve ser avaliado cuidadosamente, quando submetido à apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais.

2.2.2.2. Restrição de líquidos

A ingestão de líquidos é influenciada pela sede, tipo de dieta, disponibilidade de líquido entre outros. A restrição de líquidos pode aumentar o risco de desidratação e ingestão reduzida de alimentos. Uma redução aguda de inges-

tão hídrica pode resultar, sede, secura das membranas da mucosa, produção reduzida de urina, redução de consumo alimentar, perda da elasticidade da pele, letargia, choque, colapso cardiovascular e rápida perda de peso corpóreo, mais de 15%. A desidratação é uma complicação comum que pode não ser reconhecida facilmente em seu estágio inicial sem um monitoramento cuidadoso e técnicos capacitados.

Alguns estudos restringem a ingestão de líquidos antes da anestesia ou transporte. Da mesma forma mencionada para privação de alimento, a privação hídrica precisa ser determinada dentro de um contexto científico específico, de acordo com a espécie, o estado fisiológico e de saúde do animal envolvido, o que não se justificaria para o uso do procedimento no ensino. Para o uso científico ou didático, o procedimento deve ser avaliado cuidadosamente pela Comissão de Ética no Uso de Animais.

Sintomas de controle da dor e do distresse devem ser utilizadas quando a disponibilidade de ração ou de água forem alteradas. Estes sintomas incluem o controle da desidratação, diminuição de crescimento e perda de peso. Se estas observações não fizerem parte da proposta do estudo, medidas de controle e prevenção devem ser adotadas.

2.2.2.3. Modificação do comportamento alimentar ou hídrico

Alimento ou líquido podem ser usados como recompensa, mesmo para animais bem alimentados. Muitas vezes, entretanto, os animais precisam estar com fome ou sede para trabalhar ou realizar uma tarefa para receber alimento ou água como recompensa. Ao submeter o protocolo à aprovação, caso o pesquisador precise alterar a ingestão de água e alimento, deve ser fornecida à Comissão de Ética no Uso de Animais. justificativa científica, circunstanciada. O procedimento não se aplicaria ao uso no ensino, apenas ao uso científico.

2.2.3. Manejo

O manejo dos animais em instalações destinadas à produção de roedores e lagomorfos precisa ser bem descrito em procedimentos claros e acessíveis a todos os funcionários que lidam com a produção. São várias das atividades ligadas diretamente à produção e ao manejo, apesar de serem comuns a todas as espécies (camundongo, cobaia, coelho, hamster e rato), são realizadas de forma diferenciada, seja em intervalos ou obedecendo ao ciclo biológico e comportamento específico de cada espécie. Fundamentalmente, em uma produção, estas são as principais atividades:

acasalamento, desmame, sexagem, reposição de reprodutores e a troca das gaiolas.

Conhecer profundamente as espécies com que se está trabalhando é fundamental para um bom manejo e manutenção do bem-estar animal. Os funcionários devem conhecer o comportamento e biologia dos animais para minimizar as situações de estresse e promover situações que gerem estímulos prazerosos. O manejo etológico é o que leva em consideração o comportamento dos animais, sua biologia e o controle de elementos estressores, para desempenhar as atividades ou manejo necessário com os animais e se recomenda que seja aplicado em todas as formas de manipulação e manejo.

O quadro a seguir apresenta a idade mais usual para acasalamento e desmame de camundongo, cobaia, coelho, hamster e rato.

Atividade	Idade ou Peso				
	Camundongo*	Cobaia**	Coelho***	Hamster****	Rato*****
Acasalamento	55 a 60 dias 25 a 30g	45 a 55 dias 400 a 480g	150 a 180 dias 3.5 a 4 kg	50 a 60 dias 85 a 150g	90 dias 250 a 400g
Desmame	21 dias 10 a 12g	14 dias 180 a 200g	30 a 45 dias 800 a 1000g	21 dias 35 a 40g	21 dias 45 a 50g
*Camundongo Swiss; **Cobaia Inglesa; *** Coelho New Zealand White; **** Hamster Sírio; *****Rato Wistar, todos heterogênicos.					

O padrão genético do animal pode alterar os parâmetros apresentados para peso e idade de acasalamento e desmame. Animais isogênicos (*inbred*), mutantes ou modificados, podem necessitar de condições diferenciadas de manejo. No manejo mais usual de isogênicos, já ao desmame, formam-se os casais entre irmãos, com o objetivo de facilitar o manejo e minimizar o espaço e a quantidade de gaiolas. Entretanto, há instituições que definem o manejo de desmame de isogênicos da mesma forma dos heterogênicos (*outbred*) e posteriormente juntando-os para o acasalamento. Esta prática exige mais cuidados com os dados das fichas para evitar possíveis perdas de dados.

Animais que apresentem distúrbios que acarretem limitações de aleitamento recomenda-se que contem com a ajuda de outra nutriz, como ferramenta de manejo, que garanta a sobrevivência da ninhada.

No desmame também ocorrem algumas particularidades, dependendo da espécie, ou mesmo da característica da linhagem. Em sistemas intensivos de criação de ratos e camundongos, o desmame ocorre aproximadamente aos 21 dias, (esta não pode ser uma data estanque) embora possa ser antecipado em casos onde a fêmea que aleita vai

parir uma nova ninhada e a ninhada anterior permanece na gaiola, pois não é recomendado manter as duas ninhadas na mesma gaiola.

O parâmetro idade não se aplica para todas as espécies. No caso de cobaias, o desmame pode ocorrer pelo parâmetro do peso (entre 150 a 200 gramas), já que essa espécie nasce com uma maturidade diferente das demais, ou seja, nasce com pelos, olhos abertos, andam e apresentam dentes aptos a roer imediatamente ao parto. Portanto, 21 dias de idade, torna-se um período muito longo.

No momento do desmame, os animais heterogênicos ou animais isogênicos, que serão destinados diretamente aos usuários são separados por sexo (sexagem), alojados em gaiolas distintas (machos e fêmeas), identificadas e acomodadas nas salas ou estantes de estoque de animais, onde são mantidos, aguardando sua utilização. Existem algumas particularidades, como quando os animais são destinados aos usuários antes do desmame, como nos casos de fornecimento de recém-nascidos para alimentação de outros animais ou para inoculação de amostras biológicas provenientes de animais silvestres com suspeita de serem portadores e/ou transmissores de vírus. Nesse caso, os animais lactentes são acompanhados de suas mães.

Quando do fornecimento de animais lactentes desacompanhados de suas mães, o usuário deve estar preparado para receber os lactentes e imediatamente proceder a utilização dos mesmos.

O acasalamento é uma atividade frequentemente realizada nas instalações destinadas à produção de animais. Sua realização requer um conhecimento prévio do padrão genético do animal a ser acasalado, da necessidade de reposição de reprodutores e da demanda de animais fornecido aos usuários.

O acasalamento de colônias de animais outbred deve seguir esquemas que evitem o cruzamento de indivíduos aparentados, como o esquema rotacional de Poiley ou Han rotacional. Essas colônias devem ser grandes o suficiente (mais de 100 casais ou unidades reprodutivas poligâmicas) para assegurar por muitos anos a heterozigose genética dos animais. Colônias pequenas devem utilizar métodos específicos de acasalamentos que garantam menos de 1% de consanguinidade. Mesmo nas grandes colônias essa a preocupação com a heterozigose deve existir com o passar de muitos anos.

O acasalamento de animais isogênicos acontece entre irmãos. Quando suas progênes F1 forem usadas, é importante monitorar periodicamente a autenticidade genética.

O acasalamento de animais geneticamente modificados (OGMs), requer condições especiais de manejo de suas populações. Estratégias de reprodução cuidadosamente desenhadas e assessoramento genotípico devem ocorrer

sempre, com o objetivo de minimizar a possibilidade de animais com genótipos indesejáveis. O trabalho com OGMs requer autorização da Comissão Interna de Biossegurança ou da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CT-NBio).

Os acasalamentos podem ser monogâmicos, 1 macho para 1 fêmea (1:1), poligâmico 1 macho para duas fêmeas (1:2), ou mais, sempre respeitando as recomendações de espaço. No caso de produção de cobaias, é muito usual o sistema de harém 1 macho para até 5 fêmeas, o que não é considerado errado, desde que o espaço dedicado a esse arranjo esteja dentro do estabelecido no Capítulo “Estrutura Física e Ambientes para Roedores e Lagomorfos”.

Para cobaias, utiliza-se: o método Poiley, sistema poligâmico, harém intensivo (1 macho para 5 fêmeas).

Para coelhos, aplica-se o método Poiley, sistema poligâmico temporário. Nessa espécie, o pareamento dos animais só ocorre para a cópula, quando a fêmea deve ser levada à gaiola do macho e após a cópula, removida para a sua gaiola. A proporção de machos para fêmeas deve ser mantida em torno de 1 macho para 5 fêmeas, porém, os animais são mantidos separados.

Hamsters são acasalados quase sempre em sistemas monogâmicos intensivos, devido ao comportamento mais agressivo dessas fêmeas. A poligamia não apresenta bons resultados no caso de animais outbred. Há relatos de sucesso usando poligamia com hamster inbred, mas mesmo nas linhagens com fêmeas menos agressivas, faz-se necessário a separação do macho quando da certificação da prenhez e sua volta no momento do desmame dos filhotes.

2.2.3.1. Identificação

Os registros dos animais precisam constar nas etiquetas, (cartões, fichas) fixados na gaiola. Entretanto, é recomendado complementar com outro tipo de registro, como livros ou planilhas eletrônicas, sempre atualizadas, que resumam a disponibilidade de animais na instalação de produção. O segundo registro é importante devido à constante manipulação das gaiolas e fragilidade das etiquetas, o que pode acarretar na perda das informações. Nas fichas das gaiolas dos reprodutores, recomenda-se que constem dados como: espécie, linhagem, data de nascimento, dados dos pais, sexo, data do acasalamento, data dos partos, números de nascidos, números de mortos, data de desmame e quantidade de filhotes desmamados. Animais em salas de estoque (manutenção) também necessitam de fichas com os dados de data de desmame, sala de origem, sexo e quantidade de animais por gaiola. Quando do recebimento dos animais pelos usuários, mais dados podem ser acrescentados à ficha dos animais, como: data de recebimento, nome do

pesquisador responsável pelo animal, número do protocolo que requisitou, entre outros.

Além das fichas nas gaiolas, pode-se ter vários outros tipos de informações individuais dos animais, que possam ser importantes para a gestão da instalação de produção, tais como: identificação do genótipo, para acompanhar cruzamentos, dados sobre a saúde animal, registros médicos e dados de pesquisa.

Existem vários métodos disponíveis para a identificação de roedores, incluindo marcação na orelha, brincos, tatuagens, marcação com tinta, microchips subcutâneos. Todos os métodos têm vantagens e desvantagens, a escolha do método depende do nível de exigência da proposta de estudo, da viabilidade financeira e do animal a ser identificado e da aprovação da CEUA. Entretanto, recomenda-se que, métodos como marcação na orelha e tatuagem, sejam realizados em animais com até três semanas de idade, sem anestesia e, posterior a isto, apenas com o animal anestesiado. Quando o procedimento de genotipagem estiver estabelecido, o tecido resultante da perfuração da orelha deve ser usado para esse fim. Para marcação com tinta o melhor é sempre usar tinta atóxica e sem cheiro.

2.2.4. Troca

Assim, é denominada a atividade de transferência dos animais da gaiola onde estavam (gaiola suja) para uma nova gaiola (gaiola limpa). Esta tarefa não deve ser um ato mecânico e, sim, um momento para aplicação do manejo etológico e de observação do animal, uma vez que é na troca que se podem ser percebidos alterações no estado de saúde do animal (Olsson et al., 2003).

A frequência da troca de gaiolas depende da estrutura física da instalação onde estão mantidos os animais, do material oferecido para cama, do número de animais na gaiola e do estado fisiológico desses animais. Em gaiolas abertas colocadas em ambiente com uma boa renovação de ar (10 a 20 trocas de ar por hora), em sistemas de acasalamentos poligâmicos, podem ser realizadas duas trocas por semana; nos microisoladores, com animais em acasalamentos monogâmicos e bom material de cama, a frequência pode chegar de 10 a 14 dias sem troca. Tudo depende da capacidade do sistema de trocas de ar de cada equipamento, mas o objetivo é um só: diminuir o teor de amônia dentro das gaiolas dos animais e a manutenção do seu bem-estar. Animais diabéticos ou com outras alterações fisiológicas específicas podem requerer frequência de trocas especiais.

Chamamos de cama ou forração o material usado para forrar o interior das gaiolas. Este insumo é de extrema importância, devido à sua proximidade com os animais. No Brasil, o produto mais usado para forração é a maravalha

(produto resultante da raspa de madeira), mas existe um subproduto do sabugo de milho, que reduz o acúmulo de amônia no interior das gaiolas. Como regra geral, recomenda-se uma forração macia, absorvente, atóxica, inodora e esterilizada, seja por autoclavagem seja por irradiação.

O critério para estabelecer a quantidade de forração colocada em cada gaiola precisa ser bem avaliada. Ela precisa ser suficiente para absorver os excrementos eliminados pelos animais no período entre as trocas, com o cuidado de não interferir na movimentação dos animais na gaiola, mas permitir que desenvolvam tipos específicos de comportamento, como esconder-se e confeccionar ninho.

Programas de enriquecimento ambiental devem ser bem elaborados considerando a biologia do animal, o espaço físico disponível na gaiola e permitir uma higienização, seja química ou por autoclavagem. Seu fornecimento pode acompanhar a troca das gaiolas.

2.2.5. Área de higienização

A área de higienização, também chamada área de lavagem, é o espaço onde ocorrerá a limpeza e a higienização dos insumos e equipamentos utilizados, que pelas características das atividades é imprescindível que esse espaço esteja separado, isolado e o mais distante possível das salas de animais.

As gaiolas e os bebedouros trocados na área de produção são enviados para este local, onde seguem uma sequência de processos até o seu retorno à área dos animais.

Recomenda-se estabelecer um programa de higienização com o objetivo de reduzir ou eliminar as formas vegetativas de bactérias patogênicas e oportunistas, bem como outros organismos que possam ser controlados antes da esterilização. A lavagem é mais efetiva quando realizada com água aquecida com à uma temperatura entre 75° a 85° C, acompanhada de produtos químicos, que atendam essa finalidade.

Na lavagem manual deve ser dada especial atenção às etapas de molho e enxague. A etapa de molho requer prévia remoção da cama para aumentar a eficiência do desinfetante a ser utilizado, além de uma diluição e um tempo de ação do produto adequados, que devem seguir a orientação do fabricante. A etapa de enxágue deve ser bem realizada para evitar a presença de resíduos do produto químico utilizado.

O ideal é a lavagem em máquinas que tenham auto dosador, ou seja, que regulam a quantidade de sanitizante de acordo com a quantidade de água utilizada. Após o processo de lavagem e desinfecção, recomenda-se que os re-

cintos primários (gaiolas), passem por um processo de esterilização de preferência, em autoclaves que estejam certificadas para garantir segurança.

Após a lavagem, colocar os utensílios sobre estrados plásticos para que escorram o excesso de água, antes de colocá-los nas autoclaves para esterilização. Para remoção de sujeira depositada nos bicos, usa-se o ultrassom, ou método mecânico que seja efetivo. Recomenda-se que tanto os bicos quanto as rolhas sejam lavados e esterilizados por autoclavagem, antes de retornarem aos animais.

Independentemente do processo de higienização ser automático ou manual, é imprescindível que sua eficácia seja testada. Quando automatizado, a validação do processo de higienização e a certificação do equipamento, é realizada de acordo com instruções do fabricante ou da Garantia da Qualidade envolvida no processo. Quando manual, realizar o monitoramento por meio de cultura microbiológica ou ainda por meio de sistemas de detecção de material orgânico.

Limpeza e desinfecção do ambiente secundário (salas e espaços de apoio) seguem um planejamento de limpeza para todas as áreas da instalação, ou seja, um procedimento onde se descreve como será realizada a limpeza, seu fluxo, frequência, tipos de produtos que serão usados, entre outros detalhes inerentes à particularidade da atividade exercida.

2.2.6. Segurança do operador

Os operadores que realizam as múltiplas atividades descritas neste Capítulo devem usar Equipamento de Proteção Individual (EPI) adequado ao desempenho da atividade, bem como, quando necessário, o ambiente deve contemplar Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC). O responsável pela unidade, de acordo com o PPRA (Programa de Prevenção de Riscos Ambientais - NR 9/MT ou outra que a substitua), deve requerer ao diretor institucional os EPIs e EPCs adequados a cada atividade. Esses equipamentos de proteção devem constar no respectivo POP de cada atividade ou no manual de procedimento. Salientamos que todos os operadores devem estar com carteira de imunização atualizada, conforme determinado pelo PCMSO (Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (NR 7/MT ou outra que a substitua) e PPRA.

2.2.7. Descarte de materiais

Os resíduos são classificados em função dos riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde, como também quanto à sua natureza e origem (ABNT NBR 10.004/2004 ou outra que a venha substituir). Os resíduos ainda são classificados em função de suas características específicas, cujo manejo demanda cuidados e métodos especiais de coleta, transporte e destinação final. Nesse grupo, estão compreendidos os Resíduos de Serviço e Saúde (RSS), os quais são resultantes de atividades exercidas nas atividades relacionadas com o atendimento à saúde humana ou animal, assim como estabelecimentos de ensino e pesquisa na área de saúde, entre outros. Portanto, a todo estabelecimento que gera RSS recomenda-se elaborar um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde - PGRSS, baseado nas características dos resíduos gerados e em sua classificação de acordo com os órgãos competentes, obedecendo diretrizes de manejo dos RSS. O PGRSS a ser elaborado deve ser compatível com as normas locais relativas à coleta, transporte e disposição final dos resíduos gerados nos serviços de saúde, estabelecidas pelos órgãos locais responsáveis por estas etapas.

2.2.8. Cuidados de fins de semana e feriados

Recomenda-se que haja, na Instalação animal, um programa definido para cuidados dos animais nos fins de semana e feriados, conforme a necessidade, com escala dos funcionários para atender o tratamento dos animais. São imprescindíveis os planos de contingência e de emergência compatíveis com o nível de atividade da unidade.

É recomendado que sejam previstas ações para situações, como falta de energia elétrica, falta de água principalmente para bebedouros automáticos e situações não previstas, como atentados e invasões. Telefones de contatos dos médicos veterinários, dos responsáveis pela unidade devem constar nas instalações, como também no departamento de segurança da instituição.

2.3 Estratégias de enriquecimento ambiental

Os alojamentos dos animais em cativeiro, com frequência, diferem bastante do ambiente natural, que é rico em estímulos. Atualmente, a ciência reconhece estas diferenças e incentiva a modificação destes alojamentos, com

o objetivo de atender às necessidades específicas de cada espécie, visto que os animais são seres complexos, com comportamento e fisiologia adaptados aos seus ecossistemas.

Enriquecimento ambiental é “qualquer medida que promove a expressão de tipos de comportamento naturais específicos da espécie e uma diminuição, se não o desaparecimento, de tipos de comportamento anormais. Deve ser baseado na promoção de um efeito positivo no bem-estar físico e psicológico do animal”.

2.3.1. Cuidados a serem considerados como recomendação para o enriquecimento ambiental

O enriquecimento ambiental poderá ser fornecido como parte dos cuidados de rotina dos animais, levando-se em consideração as necessidades comportamentais específicas da espécie, incluindo a disponibilidade e desenho de espaço que permita livre movimentação e atividade, sono, privacidade e contato com outros da mesma espécie.

É importante observar que espécies diferentes necessitam de diferentes ambientes sociais e, portanto, de diferentes tipos de enriquecimento ambiental. Também é importante observar que o enriquecimento ambiental deve ser realizado com cautela, pois ele pode causar danos indesejados aos animais e introduzir variabilidade capaz de interferir nos resultados da pesquisa.

Interação com o homem é importante para o bem-estar dos animais e também pode afetar os resultados. Os animais devem ser adaptados à presença humana em geral e, especificamente, aos técnicos e pesquisadores. Para evitar dor e desconforto, todo o manuseio e imobilização devem ser feitos da forma mais positiva, segura e livre de ameaças e por pessoas treinadas para este fim.

A mudança para um ambiente enriquecido deve ocorrer com cautela e ser iniciada também no âmbito administrativo, com sua inclusão de orçamento destinada a estas estratégias de promoção do bem-estar.

2.3.2. Sugestões de enriquecimento ambiental para roedores e lagomorfos

2.3.2.1. Enriquecimento ambiental para roedores

2.3.2.1.1. Social:

Ratos e camundongos são espécies altamente sociais e se comportam melhor quando alojados em pares ou em grupo. O melhor momento para a formação dos grupos é o momento do desmame.

Uma grande atenção deve ser dada aos grupos formados por camundongos machos. Quanto mais velho for o camundongo, maior a ocorrência de problemas de agressão. Devemos ter como regra que grupos de indivíduos do mesmo sexo devem ser formados antes da puberdade. A organização territorial e social apresenta diferenças entre as diferentes linhagens de camundongos. Os machos adultos da linhagem Swiss demonstram maior intolerância uns com os outros no estabelecimento de territórios e apresentam maior grau de agressividade quando comparados a outras linhagens. Adicionar ou remover um indivíduo pode afetar o bem-estar do grupo inteiro.

A Cobaia é uma espécie social e deve ser alojada em pares ou pequenos grupos de indivíduos compatíveis sempre que possível. Machos frequentemente brigam quando atingem a maturidade sexual e devem então ser separados.

Na natureza, o hamster normalmente tem um comportamento solitário e agressivo uns com os outros, marcando seus territórios por meio das glândulas odoríferas em seus flancos. Recomenda-se, quando necessário, alojar hamster em grupos do mesmo sexo, formado durante o desmame.

2.3.2.1.2. Relação homem-animal:

O manejo diário deve ser conduzido de forma sistemática para evitar ao máximo procedimentos bruscos e barulhentos que possam causar estresse. A familiarização do rato ou camundongo com o técnico que o manipula é recomendável e pode ser feito mediante contato físico do animal com o seu manuseador. Isso pode ser feito deixando o animal explorar a mão ou antebraço do técnico durante o manuseio ou no momento da retirada da tampa das gaiolas, deixar que o animal se aproxime da mão dentro da gaiola, permitindo que ele se acostume a este procedimento. Da mesma forma, é importante adaptar previamente os animais aos procedimentos que necessitem ser repetidos, como

por exemplo a pesagem em balança.

O manuseador do animal pode ser uma fonte de enriquecimento social. A implantação de reforço positivo ou agradados após o término da atividade é recomendado para todas as espécies.

2.3.2.1.3. Alimento

Roedores preferem buscar seu próprio alimento. Quando permitido pela proposta do estudo e resguardados os cuidados com problemas de contaminação, sementes podem ser espalhadas na cama, o que permite a busca pelo alimento. Outra forma de enriquecimento alimentar é espalhar sementes por cima do alimento peletizado. Algumas irão cair por entre os espaços, mas a maioria ficará presa entre os pellets.

Sempre que possível, ofereça alimentos alternativos além da ração peletizada, desde que não interfira na proposta em estudo.

Para cobaias, pode ser oferecido feno dentro da gaiola; folhas verdes podem ser dadas como um suplemento a uma ração balanceada. Esta espécie reluta em comer alimentos desconhecidos e uma mudança rápida na dieta pode causar perturbações digestivas. Portanto, introduza novos alimentos de forma gradativa. Uma vez que os animais estejam acostumados, pode-se ter uma variedade de alimentos oferecidos como agrado em forma de rodízio.

Mistura de sementes podem ser dispostas no piso da caixa alimentação de hamsters jovens. Entretanto, os animais comerão principalmente sementes de girassol e excluirão outras. Estratégias alimentares poderão ser benéficas para o bem-estar dos animais. No entanto, o controle de qualidade de tais sementes é essencial, uma vez que existe o potencial de contaminação química ou biológica. Esta prática pode ser contraindicada para animais em estudos nutricionais ou de toxicologia.

2.3.2.1.4. Ambiente físico

Ratos e camundongos são animais noturnos e buscam esconder-se da luz e buscar abrigo. O fornecimento de tubos de PVC ou outro material resistente propicia abrigo durante o dia. O fornecimento de uma folha de papel toalha é uma excelente forma de incentivar o comportamento de nidificação, típico de camundongos.

O aumento do espaço, propiciando diferentes níveis dentro da gaiola, ou o fornecimento de objetos, para os

animais escalarem ou se exercitarem, também pode ser oferecido. Quando estão se movendo, camundongos preferem ficar em contato com uma parede e longe de espaços abertos. Fornecer divisórias na gaiola pode fazer o camundongo sentir-se mais seguro.

Brinquedos de atividade, como cordas, objetos de borracha resistentes a mordidas que possam ser autoclavados podem ser introduzidos.

Uma caixa de nidificação sólida e opaca, com uma parte superior, pode ser colocada na gaiola de ratos, permitindo que eles a utilizem como plataforma.

Cobaias demonstram boa aceitação por caixas de papelão ou plástico que fornecem um abrigo escuro e escondido de outros indivíduos. Estas caixas servem como um lugar para se esconder e como um lugar seguro para o parto.

A presença de abrigos reduz a agressividade em hamsters. Estes abrigos permitem que eles se escondam uns dos outros, ajudando a minimizar encontros agressivos. Abrigos que simulem um túnel escuro é o mais desejável.

Rodas de correr podem ser oferecidas para camundongos e hamsters e os animais normalmente as utilizam extensivamente. No entanto, existem controvérsias sobre os benefícios destas rodas. Elas podem ser vistas como uma maneira de proporcionar atividade física, mas, por outro lado, pode ser considerado como um facilitador para um comportamento obsessivo, já que os animais se exercitam mais do que normalmente se exercitariam na natureza.

2.3.2.1.5. Estimulação olfatória

Marcações olfativas são muito importantes para roedores e são a base do desenvolvimento de sua organização social. A agressividade em machos é comum após a limpeza da caixa, pois a marcação do cheiro territorial é alterada.

Atenção especial deve ser dada ao fato de que ratos são predadores naturais de camundongos. Portanto, o cheiro de ratos causará uma reação de medo no camundongo. Logo, essas duas espécies não devem ser alojadas juntas.

Adicionar papel toalha após a limpeza da gaiola reduz a carga olfatória e encoraja o comportamento de nidificação.

As cobaias e os hamsters devem ser capazes de manter contato olfativo com outros animais familiares.

2.3.2.1.6. Promoção de tipos de comportamento naturais

A luz ambiente deve funcionar em ciclo dia-noite, preferencialmente com escurecimento gradual para imitar o nascer e o pôr do sol para os roedores, sendo útil nesses casos os sistemas de dimerização.

O fornecimento de materiais para nidificação tais como lenços, feno, papel toalha, tiras de papel ou algodão, pode ser incentivado. Os camundongos construirão ninhos com esses itens com entusiasmo, mas também utilizam para se abrigarem da luz ou outros estímulos estressantes.

Tipos de comportamento naturais, como cavar e criar túneis podem ser estimulados se for fornecido um substrato que tenha vários centímetros de espessura. Objetos para mastigar, tais como blocos de madeira com buracos pré-existentes, bolas de golfe ou bolinhas de madeira, blocos de madeira macia, palha ou tubos de papelão. Tubos de papelão também fornecerão abrigo e uma oportunidade para escalar.

Aos ratos pode ser oferecido abrigos com plataformas, o que possibilita uma maior complexidade estrutural no ambiente.

2.3.1. Enriquecimento ambiental para coelhos

2.3.1.1. Social

Em seu habitat, os coelhos são animais sociais e, em muitos casos, vivem em tocas de até 100 ou mais animais de várias idades. Alojamento em grupos proporciona aos animais a oportunidade de um comportamento social mais próximo do natural, incluindo uma ampla oportunidade para o exercício adequado, limpeza mútua e melhora no bem-estar geral. Coelhos alojados em grupo realizam uma higiene grupal, que é um comportamento importante e aumenta a coesão do grupo.

Os coelhos podem também ser alojados em pares com gaiolas interconectadas. Animais alojados individualmente devem ter contato visual e olfativo com outros coelhos.

2.3.1.2. Humano-animal

O homem também pode ser uma fonte de enriquecimento social. A remoção frequente da gaiola para manuseio e o contato com os cuidadores é recomendada assim como manter uma relação de carinho com os animais, manuseando-os com segurança e minimizando o estresse da contenção.

2.3.1.3. Alimento

Feno pode ser fornecido no topo da gaiola para que o coelho fique em uma posição bípede para sua obtenção. Uma variedade de suplementos alimentares, como cenoura, maçã, verduras e outros vegetais, podem ser servidas em rotação, além da ração formulada balanceada. Agrados alimentares podem ser espalhados pelo local onde os animais estão confinados, para permitir a busca por comida, sempre que a proposta em estudo e o procedimento operacional padrão permitirem.

2.3.1.4. Ambiente físico

A dimensão dos recintos de alojamento deve permitir os diversos movimentos dos animais. Plataformas ou caixas colocadas entre 20 e 30 cm acima do chão fornecem um bom abrigo escuro. Bolas e pesos de polipropileno resistentes a mordidas servem como bons brinquedos, bem como correntes de aço inoxidável suspensas com madeiras penduradas.

2.3.1.5. Estimulação olfatória

O coelho tem uma alta sensibilidade olfativa, o que é de extrema importância no comportamento social e sexual. Portanto, deve-se evitar o uso de substâncias químicas de odor forte. Os coelhos devem ser capazes de manter contato olfativo com outros animais familiares.

2.3.1.6. Promoção de tipos de comportamento naturais:

Galhos, gravetos e caixas de papelão não tóxicos devem ser fornecidos para os animais roerem. Caixas de nidificação podem ser preenchidas com feno, palha ou retalhos de papel para as fêmeas prenhes.

Tabela 7 - Estratégias de enriquecimento ambiental para espécies animais utilizados em pesquisas.

PROCEDIMENTOS GERAIS
<ul style="list-style-type: none">• Em todos os casos, limite a duração e severidade do evento.• Em caso de imobilização, verifique as Diretrizes do CONCEA• Em caso de perturbação e estresse, permita que o animal reaja e controle.• Em caso de medo ou luta, permita evitação ou escape.
IMOBILIZAÇÃO
<ul style="list-style-type: none">• O método de imobilização utilizado deve ser apropriado para a espécie e permitir que o animal descanse em uma posição natural. Por exemplo, um roedor pode ser colocado em um saco folgado, que, por sua vez, é colocado em uma caixa outubo, enquanto um primata não humano poderia sentar em uma cadeira de imobilização.• Os animais devem ser acostumados adequadamente (“condicionados comportamentalmente”) ao equipamento de imobilização.• O indicador ideal de aceitação é o movimento de entrada voluntário do animal no equipamento.
ALOJAMENTO INDIVIDUAL E EM GRUPO
<ul style="list-style-type: none">• Quando novos grupos ou pares sociais estão prestes a serem formados, pode ser possível alojar os animais com bastante proximidade para permitir a familiarização e o estabelecimento de hierarquias de dominância antes que eles tenham contato físico.• Em algumas espécies (ex.: camundongo), machos pós-pubescentes lutam e ferem outros machos. Nesses casos, os animais não devem ser alojados juntos.• Quando o alojamento individual for inevitável, os animais devem ainda ter contato visual, auditivo e olfatório. Tratadores podem ser uma fonte de enriquecimento social
DÉFICIT NEUROLÓGICO INDUZIDO
<ul style="list-style-type: none">• A necessidade científica de induzir déficits debilitantes em animais precisa ser justificada rigorosamente, e os pesquisadores necessitam demonstrar que são capazes de fornecer cuidado especial que esses animais requerem.• O número de animais com déficits neurológicos induzidos deve ser minimizado.• Mamíferos devem ser substituídos por espécies menos sencientes, não mamíferas, sempre que possível.• O protocolo de pesquisa deve ser refinado para reduzir ou eliminar dor, desconforto e mortalidade.

3. Procedimentos de coleta de fluidos corporais, secreções e excreções

Neste tópico, apresentamos as principais atividades realizadas nos projetos de pesquisas as quais devem acontecer em ambiente diferente das áreas de produção de animais, como consta no Capítulo “Estrutura Física e Ambientes para Roedores e Lagomorfos”.

Amostras biológicas (fluidos corporais, secreções e excreções) são coletadas do animal para análise de alterações bioquímicas, metabólicas, toxicológicas, imunológicas e fisiológicas. A coleta de sangue é um procedimento valioso que permite o monitoramento, de uma forma dinâmica, de diversos eventos biológicos. Seja qual for a amostra a ser coletada, deve-se levar em conta o manejo etológico para o uso da imobilização adequada, para diminuir o tempo de contenção, de coleta e de estresse. O ideal é que a amostra seja colhida de forma asséptica e todo cuidado deve ser tomado para evitar a contaminação cruzada de amostras.

3.1. Procedimentos de coleta:

3.1.1. Urina

A análise da urina permite o monitoramento da presença, ausência e concentração de drogas e outras substâncias excretadas. Essa análise pode ser quantitativa ou qualitativa. A análise quantitativa de urina permite o monitoramento de pH urinário, proteína, glicose, bilirrubina, hemoglobina, cetona, urobilinogênio, creatinina e a concentração de drogas excretadas, metabólitos e outras substâncias. A análise qualitativa de urina é geralmente usada para monitorar função renal, doença renal, avaliação de anormalidades nutricionais e/ou endócrinas e a excreção de drogas e/ou metabólitos.

A urina pode ser coletada de diversas formas: micção do animal consciente; via cateter urinário, mediante anestesia geral, cistocentese, com o uso de gaiola metabólica, entre outras.

3.1.2. Secreção nasal

Secreções nasais e amostras da conjuntiva são geralmente coletadas para análise de agentes bacterianos ou outros agentes infecciosos. Recomenda-se a colheita das amostras com um swab estéril umedecido, mantidas sob refrigeração e analisadas prontamente. Dependendo da espécie, anestesia leve pode ser necessária, ao colher secreções nasais, para minimizar o desconforto do animal e para obter amostra não contaminada.

3.1.3. Secreção ocular

Recomenda-se a colheita das amostras conjuntivais com um algodão estéril, gaze ou cotonete de dracôn, umedecido. O cotonete deve ser sempre manuseado de forma estéril, mantido em meio de cultura, refrigerado e enviado para o laboratório sem demora.

3.1.4. Material bucal

Amostras de saliva podem ser utilizadas em estudos do sistema imune secretor e do sistema digestivo, para medir cortisol de forma relativamente não invasiva e para detectar sinais de doença infecciosa. Raspagens da mucosa oral são utilizadas como uma fonte de DNA e em estudos virológicos. Dependendo da espécie, a coleta de saliva mista da cavidade oral pode ser simples e não invasiva. Pode ser necessária uma anestesia leve em alguns casos, por exemplo, quando o animal não consiga ser contido adequadamente.

3.1.5. Leite

Amostras de leite são colhidas após a limpeza e secagem da (s) teta (s), evitando-se o uso de antissépticos. As primeiras gotas de leite devem ser descartadas antes que a amostra seja coletada.

3.1.6. Fezes

Exames de fezes podem ser qualitativos ou quantitativos. Pequenos volumes são necessários para estudos qualitativos e são coletados do piso da gaiola ou diretamente do reto no animal imobilizado. O uso de gaiola metabólica é recomendado para estudos quantitativos que requerem que todas as fezes sejam coletadas ao longo de um período de tempo determinado (normalmente 24 horas).

3.1.7. Secreção do trato genital

Recomenda-se a colheita das amostras de secreções vaginais com uma gaze de algodão, um cotonete de algodão ou lavado vaginal, de modo estéril, e aplicado suavemente na região vaginal, para minimizar desconforto ao animal. Amostras para identificação da fase do ciclo estral são examinadas sob o microscópio imediatamente. Atenção especial deve ser dada ao tamanho da fêmea, o cotonete utilizado para coleta deve ter uma relação proporcional à dimensão do canal vaginal da fêmea que será usada.

3.1.8. Sêmen

Os métodos de coleta de sêmen incluem monta natural e coleta na fêmea, eletroejaculação sob anestesia e coleta após eutanásia. Os métodos são espécie-específicos e causam estresse em muitas espécies.

3.1.9. Sangue

O sangue é coletado para análise e monitoramento cuidadoso de padrões bioquímicos, metabólicos, toxicológicos, imunológicos e fisiológicos. Orientações para a coleta segura de sangue devem considerar o fato de que todas as espécies têm a mesma relação entre volume de sanguíneo e peso corporal. Animais jovens, idosos, estressados, portadores de doença cardíaca ou respiratória ou mesmo submetidos a manipulações exigem cuidadoso monitoramento, pois são mais sensíveis à perda de sangue. A técnica de contenção do animal e o procedimento de coleta podem alterar alguns padrões bioquímicos do sangue devido ao estresse. É importante habituar o animal ao executor do procedimen-

to e ao procedimento antes de sua realização. Isto pode reduzir o estresse envolvido e gerar resultados mais precisos. O treinamento do executor é fundamental para o sucesso do procedimento e faz parte do refinamento proposto pelo Princípio dos 3R's.

O volume de sangue circulante pode geralmente ser estimado em média como 55-70 mL/Kg do peso corpóreo em animais saudáveis ou 6-8% do peso corpóreo. Animais velhos e obesos podem ter uma redução de 15% no volume de sangue circulante.

O volume máximo recomendado para coleta de sangue é de 10% do volume de sangue circulante em animais saudáveis e bem nutridos, observando um período mínimo de recuperação de 3-4 semanas. A remoção de volumes maiores de sangue é perigosa para a saúde do animal pois a retirada de 15% a 20% do volume do sangue reduz o débito cardíaco e a pressão sanguínea. A remoção de 30-40% pode induzir choque hipovolêmico e ocasionar a morte. Para coletas repetidas, pode ser removido o volume máximo de 1% do sangue circulante do animal, a cada 24 horas, sendo recomendado o acompanhamento pelo hematócrito, nesses casos.

3.2. Considerações gerais para minimizar os efeitos adversos da coleta de fluidos corporais, secreções e excreções para orientar a seleção dos métodos:

Quando forem retiradas amostras de um animal consciente e o procedimento de amostragem for repetido regularmente durante uma pesquisa, o animal deve primeiramente ser aclimatado ao instrumento de imobilização (ex.: por meio de execuções simuladas).

A coleta de amostras biológicas deve ser realizada por uma equipe treinada adequadamente, utilizando métodos que gerem o mínimo de dor e de sofrimento.

Quanto mais rápido o procedimento for realizado no animal consciente, melhor será a qualidade das amostras, porque as alterações fisiológicas induzidas por estresse são minimizadas.

Deve ser considerada a utilização de sistema de recompensa ao coletar amostras de um animal consciente. Quando o procedimento de amostragem for repetido regularmente durante uma pesquisa, o sistema de recompensa pode favorecer uma associação positiva.

O treinamento do executor é fundamental para o sucesso de todos os procedimentos e faz parte do refinamento proposto pelo Princípio dos 3R's.

É importante a aplicação do manejo etológico para todos os procedimentos de manuseio dos animais.

É recomendada a assepsia ao longo da coleta e os produtos utilizados para a assepsia devem ser subsequentemente removidos para evitar a contaminação da amostra. Aplicação tópica de cremes anestésicos, quando apropriada, aliviará significativamente qualquer desconforto associado à punção venosa.

Os pesquisadores devem, antes de imobilizar o animal, preparar todos os equipamentos e materiais necessários para diminuir ao máximo o tempo de contenção.

3.3. Considerações importantes para a coleta de sangue:

- O executor da coleta deve ter capacitação adequada para realizar a atividade naquele animal;
- Não se deve puncionar um local que apresente inflamação ou hematoma;
- Sempre que possível, deve-se usar técnicas de canulação para coleta de amostras múltiplas.

Locais de coleta de sangue e recomendações para roedores e coelho estão descritos na Tabela 1A.

Tabela 1A: Recomendações de locais de coleta de sangue para roedores e coelho.

Via	Veia auricular	Amputação da cauda**	Veia caudal	Sinus retro orbital*	Veia jugular	Punção cardíaca*	Veia facial	Veia safena
Cobaia	-	-	-	-	+	Terminal	-	++
Hamster	-	-	-	+	+	Terminal	-	++
Camundongo	-	+++	++	+	-	Terminal	+++	+++
Coelho	+++	-	-	-	+	Terminal	-	+
Rato	-	-	+++	-	+	Terminal	++	++

- não recomendado; + via possível; ++ via aceitável; +++ via de preferência;* somente sob anestesia; ** Somente sob anestesia.

O método, volume e frequência da coleta devem também levar em consideração fatores associados ao bem-estar do animal. As principais consequências da coleta de sangue que podem afetar o bem-estar do animal são: perda excessiva de sangue, trombose, hematomas e inflamação do vaso.

Os efeitos da perda crônica de sangue são mais discretos que aqueles oriundos da perda de sangue aguda. Esses sinais incluem palidez das mucosas, atividade reduzida, aumento na frequência respiratória e presença de extremidades frias. A perda da massa muscular e diminuição do peso corporal também são observados nos casos de perdas crônicas.

Pequenos volumes removidos frequentemente podem causar anemia. Sempre quando possível, é recomendada a reposição de fluidos após coletas de sangue. O recomendado é a reposição de duas vezes o volume retirado por fluidos isotônicos, preferencialmente solução Ringer Lactato.

O aquecimento suave da cauda de camundongos e ratos (recomenda-se envolver a cauda com algodão embebido em água aquecida ou mergulhada em recipiente com água na temperatura adequada), reduzirá o tempo de retirada do sangue e conseqüentemente o estresse associado. Entretanto, uma imobilização inadequada prolongará o tempo de retirada de amostras, aumentará os riscos para o animal e reduzirá a qualidade das mesmas.

Quando coletas múltiplas forem necessárias, deve-se alternar o local da coleta.



4. Vias de administração de substâncias

Descrever todas as vias de administração está além do escopo deste documento. Portanto, a ênfase é dada na descrição dos procedimentos mais usuais e aos seus refinamentos.

O procedimento de administração de substâncias pode causar impacto no bem-estar do animal e na validade dos resultados. A experiência, o treinamento, a habilidade da pessoa que administra a aclimatação e o treinamento são aspectos de refinamento que devem ser considerados durante o planejamento de um projeto científico ou didático.

A via escolhida na administração de substâncias testes estabelecerá limites no volume a ser administrado e influenciará na sua biodisponibilidade. As exigências do estudo e o risco potencial aos animais serão fatores-chave na seleção da via.

Treinamento é um pré-requisito fundamental para realização de procedimentos de administração de substâncias. O pessoal que realiza esses procedimentos deve ser experiente e capacitado.

As vias de administração mais utilizadas são descritas a seguir.

4.1. Principais vias de administração de substâncias

4.1.1. Via oral (VO)

Respeitadas as propriedades físicas e químicas, as substâncias podem ser administradas pela água de beber, no alimento ou através da administração orogástrica (gavagem), na qual a substância é introduzida pela boca e depositada diretamente no estômago.

A gavagem permite a administração da dosagem exata. Uma sonda flexível de polietileno, ou uma cânula rígida de aço inoxidável com extremidade arredondada, é cuidadosamente introduzida na boca do animal, passando pelo esôfago e chegando ao estômago, onde o material é dispensado.

A gavagem é o método mais preciso dentre os procedimentos por administração oral. Porém, poderá representar um risco para o bem-estar do animal, por ser mais invasivo. Neste método, o volume da substância que pode ser administrado com segurança, bem como as dimensões do aparato de gavagem, depende do tamanho do animal. Como

referência, o volume máximo dado por gavagem é 10 mL/kg de peso corpóreo.

A administração pela água de beber ou no alimento deve ser feita com acompanhamento da ingestão desses. É possível que a substância a ser administrada modifique as propriedades organolépticas, levando à alteração no padrão de consumo de água ou ração e impactar negativamente o bem-estar animal e/ou o resultado.

4.1.2. Via intravenosa (IV)

É a via em que há a introdução da medicação diretamente na corrente sanguínea e que permite a mais rápida ação do fármaco administrado. Nas espécies em que as veias podem ser acessadas através da pele (percutaneamente), é recomendado utilizar um anestésico local, como um creme, aplicado na pele no local proposto. De acordo com as características das substâncias, elas podem ser administradas rápida ou lentamente. Nas administrações de substâncias e seus veículos por via parenteral, devem ser considerados os seguintes fatores: o volume usado, a estabilidade da formulação, pH, viscosidade, osmolaridade, capacidade de tamponamento, esterilidade e biocompatibilidade da formulação. Devem ser usados tamanhos e calibres de agulhas compatíveis com a espécie animal, considerando-se o calibre do vaso sanguíneo e a velocidade da injeção.

4.1.3. Via intraperitoneal (IP)

A via intraperitoneal é comumente usada em ratos e camundongos, mas pode ser utilizada em outras espécies. Não é necessária anestesia e a injeção é feita no quadrante abdominal inferior do lado direito do animal. Embora injeções IP pareçam seguras, há risco em puncionar o trato intestinal por dificuldade de contenção do animal. Não são indicadas para múltiplas doses e materiais irritantes podem causar peritonite.

4.1.4. Via subcutânea (SC)

A via subcutânea é comumente usada em todas as espécies. As soluções devem ter pH fisiológico e ser isotônicas. As injeções são feitas normalmente no dorso, na nuca ou flanco. O animal não necessita ser anestesiado. A absorção dessa via é lenta, especialmente para soluções oleosas. Nas administrações de doses múltiplas, recomenda-se

a alternância do local de administração.

4.1.5. Via Intramuscular (IM)

O sítio mais utilizado nesta via é o músculo bíceps femoral da coxa. Entretanto, a escolha deve considerar a possibilidade de dano às terminações nervosas. A absorção desta via é lenta. Para estudos com múltiplas doses, recomenda-se fazer uma rotação dos sítios. A administração intramuscular pode ser dolorosa porque as fibras estão obrigatoriamente sob a tensão do material injetado.

Outras vias de administração também podem ser acessadas, tais como intra-auricular, transdérmica, intradérmica, intratecal e intraocular. Quando necessária administração contínua de substâncias, pode ser feita utilizando-se implante subcutâneo, minibomba osmótica ou cateter venoso de permanência.

Tabela 1B - Métodos e vias comuns de administração de substâncias nos roedores e lagomorfos (sítio de administração, máximo de volume aceito e tamanho da agulha)

Espécies	Subcutâneo	Intramuscular	Intraperitoneal	Intravenoso
Camundongo	Dorso-cervical, 2-3 mL, Agulha com calibre <20G	Músculo quadríceps/coxa 0,05 mL, Agulha com calibre <23G	Quadrante abdominal inferior direito-2-3mL, Agulha com calibre <21G	Veia lateral da cauda, 0,2mL, Agulha com calibre <25G
Rato	Dorso-cervical 5-10mL, Agulha com calibre <20G	Quadríceps/coxa 0,3mL, Agulha com calibre <21G	Quadrante abdominal inferior direito -5-10mL, Agulha com calibre <21G	Veia lateral da cauda, sublingual, peniana, jugular (incisão), femoral (incisão).0,5mL, Agulha com calibre <23G
Hamster	Dorso-cervical, 3-4mL, Agulha com calibre <20G	Músculo quadríceps/coxa 0,1mL, Agulha com calibre <23G	Quadrante abdominal inferior direito - 3-4mL, Agulha com calibre <21G	Veia femoral ou jugular (incisão), 0,3mL, <25G
Cobaio	Dorso-cervical, 5-10mL, Agulha com calibre <20G	Músculo quadríceps/coxa 0,3mL, Agulha com calibre <21G	Quadrante abdominal inferior direito - 10-15mL, Agulha com calibre <21G	Veia da orelha, Veia safena, Veia peniana dorsal, 0,5mL, Agulha com calibre <23G
Coelho	Dorso-cervical 30-50mL, Agulha com calibre <20G	Músculo quadríceps/coxa Músculo lombar 0,5-1.0mL, Agulha com calibre <20G	Quadrante abdominal inferior direito -50-100mL, Agulha com calibre <20G	Veia marginal da orelha 1-5mL, Agulha com calibre <21G

4.2. Cuidados a serem considerados para administração de substâncias em animais:

A substância e seu solvente líquido devem ser apropriados para a via de administração, a espécie e a finalidade científica. Soluções para injeções devem ter pH próximo de 7,0 para reduzir o risco de dano ao tecido. A ordem de tolerância para uma substância com um pH na faixa entre 4,5 e 8 é: oral>IV>IM>SC. A substância deve ser solúvel em solventes biocompatíveis padronizados. Atenção deve ser dada aos tamanhos e calibres de agulhas que devem ser compatíveis com a espécie animal.

A aclimatação ao novo ambiente e treinamento para o procedimento de administração pode minimizar o distresse no animal. Recomenda-se adotar esse procedimento especialmente quando animais que não estão acostumados ao manuseio devem receber substâncias em mais de uma ocasião. Quando possível, recompensas (reforço positivo) devem ser utilizadas ao treinar os animais para cooperarem com o procedimento. Após receberem a dose, os animais devem ser monitorados para verificar efeitos adversos, dor e distresse.

Contaminação e infecção podem resultar da administração de substâncias indevidamente manipuladas: uso de agulhas e seringas não estéreis, transferência de infecção entre animais por uso comum de equipamentos ou introdução de micro-organismos ao perfurar a pele. A necessidade de preparação da pele deve ser avaliada para cada caso específico. A antisepsia da pele pode envolver o corte do pelo e uso de uma solução antisséptica. Em casos de inoculação de agentes infecciosos, proceder à antisepsia antes e após a inoculação.

Na administração por injeção, identificado o sítio de aplicação, a agulha deve ser inserida firmemente na posição correta e na profundidade exigida.

A lista de sinais de dor e distresse, específica da espécie, deve ser consultada no checklist de monitoramento previamente elaborado. Na Tabela 2, encontram-se os procedimentos para minimizar a dor e o distresse ao administrar substâncias.

Tabela 2: Procedimento para minimizar a dor e o distresse ao administrar substâncias

Administração de uma substância nova
<ul style="list-style-type: none">• Investigue vários métodos alternativos de administração, de forma a identificar a via mais adequada.• Investigue as propriedades físico-químicas da substância, tais como solubilidade, estabilidade, pH, grau de irritação e toxicidade.• Realize uma avaliação de riscos para a preparação e uso da substância: identifique riscos à qualidade de vida do animal e incorpore estratégias de refinamento para minimizar efeitos adversos.• Considere a avaliação in vitro de substâncias pouco estudadas, antes do estudo in vivo.• Realize um estudo piloto para a escolha do modelo animal, escolha da técnica, dose, via e frequência de administração corretos, bem como outros aspectos relativos às propriedades biológicas, como metabolismo e via de excreção da substância.
Volume da substância e a frequência de administração
<ul style="list-style-type: none">• Investigue o uso de um solvente/veículo que seja fisiologicamente compatível e adequado para a via de administração.• Prepare uma estratégia de monitoramento adequada para o período após a administração.• Certifique-se de que a frequência de monitoramento seja adequado para detectar.
Via de administração
<ul style="list-style-type: none">• Use uma via adequada para administrar a substância, de modo a minimizar o impacto no animal.• Para substâncias que necessitam administração frequente, dê preferência à via oral, associando-as ao alimento ou água.• Para substâncias que necessitam administração IV frequente, considere o uso de um cateter venoso de permanência.
Animal
<ul style="list-style-type: none">• Identifique a espécie, linhagem, sexo, idade, peso corporal e estado de saúde.• Aclimate o animal ao local e ao pessoal.• Treine o animal para o procedimento de manuseio e imobilização antes de iniciar estudos com administração de substâncias.
Técnica
<ul style="list-style-type: none">• Realize uma avaliação de riscos para o uso da técnica e qualquer imobilização relacionada.• Identifique riscos à qualidade de vida do animal e incorpore estratégias de refinamento para minimizar efeitos adversos.• Identifique e trate deficiências no treinamento e no uso dos equipamentos necessários para realizar a técnica.• Monitore o animal para os efeitos conhecidos ou inesperados, incluindo o impacto na qualidade de vida do animal.
Pessoal
<ul style="list-style-type: none">• Identifique o pessoal experiente e capacitado e o pessoal com deficiências no treinamento.• Elimine as deficiências no conhecimento e capacitação com treinamento e supervisão.• Identifique o pessoal com responsabilidade.
*IP = intraperitoneal; IV = intravenosa; SC = subcutânea

5. Estudos fetais e embrionários

Estudos fetais e embrionários são amplamente utilizados para conhecer a fisiologia embrionária, fetal e neonatal, bem como para validar técnicas de correção de anormalidades fetais em humanos. O conhecimento adquirido da pesquisa fetal e embrionária é utilizado para melhorar a sobrevivência, saúde e bem-estar de animais recém nascidos, bem como para a melhor compreensão da biologia do desenvolvimento. Para estudos com embriões, é necessária sua coleta de uma mãe gestante ou pelo desenvolvimento de embriões, utilizando técnicas de fertilização in vitro.

O acesso ao feto pode ser feito diretamente via uma incisão abdominal na mãe devidamente anestesiada, com a exposição de parte ou de todo o feto por meio de incisões na parede uterina. O acesso também pode ser realizado indiretamente, utilizando-se técnicas de monitoramento como ultrassom ou procedimentos radiológicos, e por técnicas laparoscópicas, estas últimas também necessitando de anestesia.

Os estudos podem envolver coleta de amostras do feto, dos anexos fetais ou do útero, além da colocação de cateteres ou instrumentos no feto ou placenta. Todos esses procedimentos exigem anestesia materna, caso não seja in vitro.

Independentemente das circunstâncias, esse tipo de procedimento requer apresentação de justificativa robusta pelo pesquisador responsável e criteriosa análise pela Comissão de Ética no Uso de Animais da instituição, pois o bem-estar do feto e da mãe devem ser considerados quando animais em gestação forem submetidos à cirurgia ou a outras intervenções.

Laparotomia com cirurgia uterina causa dor significativa na mãe e pode expor o feto a um estímulo potencialmente nocivo que deve ser levado em consideração no planejamento do procedimento.

5.1. Técnicas laparoscópicas - Dor ou distresse maternal

Deve-se assumir que tais procedimentos causarão dor em animais. Qualquer animal que passe por uma laparoscopia deve receber medicação analgésica apropriada para obter uma boa imobilização durante o procedimento e evitar a dor.

5.2. Dor e perturbação fetal

Deve se avaliar o estágio de desenvolvimento do animal e o seu nível de consciência. A intervenção cirúrgica no feto poderá causar estímulos potencialmente nocivos a ele.

Primeiramente, o sistema neural necessário para consciência deve estar formado e ativo; os estímulos devem ser capazes de provocar a transmissão de impulsos pelos nervos, desde os receptores sensoriais até o cérebro do animal, e suas estruturas cerebrais devem estar operacionalmente preparadas para converter esses impulsos em sensações percebidas. Segundo o animal precisa estar consciente para perceber sensações, já que a inconsciência anula a percepção. Terceiro, para o animal consciente sofrer e para que o seu bem-estar seja comprometido, a natureza, intensidade e/ou duração das sensações devem resultar em experiências significativamente nocivas ou aversivas.

Há evidência de efeitos a longo prazo das respostas fisiológicas a estímulos dolorosos aplicados em fetos. Essas evidências indicam a necessidade do fornecimento de alívio adequado da dor ao feto. A não ser que aparelhos implantados possam ser utilizados para medir diretamente o bem-estar do feto, qualquer sinal de dor na mãe deve ser considerado como um sinal importante de dor e desconforto potencial para o feto. O feto é mais suscetível à hipotermia durante a cirurgia e há a necessidade de preveni-la.

6. Controle da dor: anestesia, analgesia e sedativos.

É de fundamental importância uma equipe qualificada para reconhecer os sinais de dor.

A dor resulta em alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais significativas e indesejáveis ao animal e compromete os resultados de estudos científicos. Aliviar a dor de forma eficaz acelera o retorno à homeostasia após os procedimentos cirúrgicos. Em muitos casos, outras estratégias, além da farmacológica, devem ser incluídas no controle da dor, além dos cuidados pós-anestésicos específicos.

O uso de agentes anestésicos, analgésicos e sedativos deve ser adequado à espécie, apropriado para o propósito do estudo e consistente com literatura científica atual. Quaisquer procedimentos cirúrgicos devem ser realizados mediante anestesia e analgesia adequadas. O controle eficaz da dor é obrigatório quando um animal se recupera da cirurgia. As técnicas anestésicas poderão variar de acordo com o tipo de procedimento.

Para selecionar um protocolo analgésico, deve-se levar em conta que a dor e o estresse não são avaliados facilmente em animais. Desta forma, os pesquisadores devem pressupor que os animais sentem dor de forma similar aos humanos.

6.1. Seleção do protocolo de anestesia

O agente anestésico, analgésico ou sedativo selecionado deve ser seguro para o animal e para quem administra e interferir o mínimo possível no protocolo de pesquisa, conforme protocolo indicado e supervisionado por médico veterinário e previamente aprovado pela CEUA. Devem ser considerados os seguintes fatores antes da seleção do protocolo analgésico e anestésico:

- a)** Interações fisiológicas e influência nos resultados dos fármacos utilizados;
- b)** Espécie, linhagem, raça, idade e estado fisiológico do animal (ex.: prenhez, estado de saúde);
- c)** Grau de invasividade e duração da dor ou estresse, se for o caso;
- d)** Plano ou profundidade necessários da anestesia;
- e)** Se o estudo é terminal ou não;

- f)** Duração da anestesia;
- g)** Aspecto humanitário da técnica (ex.: facilidade de indução e recuperação da anestesia, efeitos adversos dos fármacos nos animais);
- h)** Métodos de administração e dosagens;
- i)** Experiência dos pesquisadores com a técnica (incluindo um médico veterinário com experiência apropriada);
- j)** Disponibilidade de técnicas de monitoração anestésica (incluindo número adequado de pessoal treinado);
- k)** Monitoração necessária durante o período de recuperação;
- l)** Segurança dos pesquisadores e
- m)** Equipamentos disponíveis.

A escolha das doses de fármacos anestésicos e analgésicos deve ser supervisionada pelo médico veterinário, em acordo com os guias e literatura científica disponível. O ajuste de doses, quando necessário, deverá ser realizado em estudos pilotos a fim de garantir a máxima uniformidade durante o ensaio experimental.

Há variações significativas na resposta a agentes anestésicos, analgésicos e sedativos, de acordo com a espécie, linhagem e sexo do animal. Também pode haver variações individuais consideráveis entre animais de mesma linhagem e sexo. Não se recomenda extrapolar os efeitos de um agente anestésico ou analgésico de uma espécie para outra, incluindo humanos.

6.3. Anestesia

Para a supressão da percepção da dor durante a realização de um procedimento, deve-se realizar anestesia local, geral ou dissociativa. Essa seção discute sobre a seleção da técnica de anestesia mais apropriada e os passos para controle da anestesia.

6.3.1. Anestesia geral ou dissociativa

A anestesia geral pode ser realizada com anestésicos injetáveis e inalatórios. A indução anestésica é o período entre o estado consciente e o estado de anestesia cirúrgica (inconsciência ou dissociação, quando se usar anestésicos dissociativos). A anestesia deve preceder o início do procedimento, se manter durante a cirúrgica até o início do período de recuperação.

A anestesia geral envolve perda de consciência e sensação dolorosa e relaxamento muscular. O grau e a necessidade de depressão da atividade reflexa, do tônus muscular e do sistema nervoso central variam com o procedimento a ser realizado. A anestesia geral com perda da consciência não garante analgesia eficaz, já que a inconsciência apenas evita a percepção de dor somente enquanto o animal está sob anestesia. Entretanto, os estímulos nocivos são transmitidos e processados pelo sistema nervoso central, durante os atos cirúrgicos, e podem desencadear hipersensibilidade central e produzir dor crônica e/ou neuropática. Portanto, embora a percepção de dor esteja ausente enquanto o animal está inconsciente, tal percepção pode estar aumentada no pós-operatório, quando não se tomam medidas antinociceptivas ou analgésicas no pré e trans-operatório. Outro ponto a se considerar é o grau de depressão do sistema nervoso central que os anestésicos ou as diferentes associações devem promover para que ocorra a insensibilidade durante o procedimento.

A Anestesia inalatória pode ser induzida por meio de máscara facial e mantida por meio de máscara facial ou tubo endotraqueal.

Para se administrar a anestesia inalatória, usa-se equipamentos anestésicos específicos, com fluxo diluente de oxigênio, com ou sem ar comprimido, para fins medicinais, e, vaporizadores, para controle da concentração do agente inalatório utilizado.

6.4. Máscara facial

As máscaras faciais são utilizadas para induzir e manter a anestesia e fornecer oxigênio suplementar para animais sob anestesia ou para aqueles que em recuperação. A indução anestésica por máscara pode ser utilizada como alternativa à indução em câmara anestésica. Quando a primeira for usada, inicia-se sem o anestésico, para que o animal se acostume a respirar com o aparato apenas com oxigênio, em seguida, aumenta-se gradualmente, a partir

de zero, a concentração do anestésico inalatório, até a concentração apropriada compatível com o plano anestésico almejado.

6.5. Câmara anestésica

Há câmaras anestésicas comercialmente disponíveis. O animal é colocado na câmara e o agente inalatório administrado com alto fluxo de oxigênio, até que o animal perca o reflexo de endireitamento postural. O animal é então retirado da câmara e entubado ou mantido com uma máscara facial para a manutenção da anestesia.

6.8. Anestesia injetável

Para informações sobre os métodos de administração de agentes anestésicos injetáveis, consultar procedimento “Administração de substâncias”.

6.9. Administração de anestésicos e via de predileção

6.9.1. Intravenosa (IV):

Após a indução IV, a anestesia pode ser mantida com anestesia inalatória ou IV contínua. Esta via apresenta como vantagem a indução rápida da anestesia e permite que a dose administrada possa ser adaptada para o animal, visando atingir e manter a profundidade desejada de anestesia. Entretanto, não podemos deixar de ressaltar que esta via requer muita experiência por parte do operador, uma perfeita imobilização do animal, para que não seja estressante ou recomenda-se a sedação prévia. A via intravenosa para administração de anestésicos em roedores (ratos e camundongos) requer experiência e deve ser utilizada apenas quando há objetivos específicos. Recomenda-se outras vias para minimizar o estresse nesses animais.

6.9.2. Intraperitoneal (IP):

Quando a via IP é utilizada, o início da ação é mais lento do que com a administração IV e o animal pode passar por uma fase de progressiva ataxia (“cambaleante”). Pode exibir excitação e hiperatividade, para, em seguida, perder a habilidade de se endireitar, e finalmente perder a consciência. A anestesia fica progressivamente mais profunda até a perda do reflexo interdigital após estímulo doloroso. A vantagem da escolha desta via é ser relativamente simples de administrar. Doses repetidas podem causar aderências abdominais e há risco considerável de injeções nos órgãos e vísceras.

6.9.3. Subcutânea (SC):

Normalmente utilizada apenas para administrar sedativos. O início da ação é mais lento quando comparado com outras vias de injeção. É relativamente simples de administrar. As desvantagens citadas para injeções IP também se somam a esta via.

6.9.4. Intramuscular (IM):

As injeções por esta via são dolorosas e devem ser evitadas sempre que possível. Volumes maiores devem ser administrados em múltiplos locais. O êmbolo deve ser retraído antes da injeção para evitar injeção IV. Sua escolha, na maioria das vezes, é por ser relativamente simples de administrar. Em animais pequenos, o volume de injeção é grande se comparado ao volume de massa muscular, o que pode resultar em dor ou desconforto. Deve-se evitar em pequenos roedores. As desvantagens citadas para injeções IP também se aplicam a esta via.

6.10. Anestesia local

A anestesia local envolve a perda de sensação em uma área delimitada como resultado do bloqueio das terminações nervosas. Utiliza-se durante um procedimento cirúrgico ou para contribuir no controle da dor durante o período pós-operatório. Para procedimentos simples cremes ou pomadas de anestésicos locais podem ser aplicados topica-

mente na pele. Colírios com anestésicos locais podem ser utilizados em exames oftalmológicos.

A anestesia local para procedimentos cirúrgicos é mais usada quando o animal já está acostumado ao manuseio e pode ser imobilizado seguramente. Os anestésicos locais podem ser infiltrados na área alvo, ou injetados por via perineural, correspondente à inervação local da área a ser anestesiada. Além das vias tópica, infiltrativa e perineural, outras vias que podem ser utilizadas incluem a epidural, intratecal ou subaracnoide e intra-articular.

A anestesia local pode ser associada aos anestésicos injetáveis ou inalatórios, para impedir a transmissão da dor (estímulo nociceptivo) oriunda do sítio cirúrgico.

6.11. Técnicas especializadas

6.11.1. Anestesia reversível

Muitos regimes de anestésias injetáveis envolvem períodos de recuperação prolongados. Durante o período de recuperação, os animais permanecem suscetíveis à hipotermia e apresentam algum grau de depressão cardiorrespiratória. Esses efeitos podem ser superados ao se utilizar antagonistas.

6.11.2. Anestesia neonatal:

A anestesia de animais recém nascidos é um desafio, dada a capacidade reduzida de biotransformação e eliminação dos fármacos. Desta forma, a resposta aos anestésicos pode diferir consideravelmente dos adultos. A recuperação prolongada pode reduzir os estoques de glicogênio hepático e resultar em hipoglicemia (baixa concentração de glicose no sangue). Outros problemas são a maior suscetibilidade à hipotermia.

6.12. Cuidados gerais para a eficácia da anestesia

O controle eficaz da dor depende dos cuidados com o animal antes da indução da anestesia, do desempenho do procedimento, da monitoração da eficácia da anestesia durante o procedimento e dos cuidados com o animal após o procedimento e recuperação.

6.12.1. Pré-anestesia:

Deve-se aclimatar o animal ao manuseio para reduzir os efeitos do estresse e a possibilidade de acidentes com o animal e o operador durante a indução. Avaliar se o animal está saudável, registrar o peso corporal, para ajudar na monitoração anestésica e no cálculo das doses. Em algumas situações, o registro de consumo de alimento e água antes do procedimento auxiliará na monitoração pós-operatória.

6.12.2. Jejum:

O período de jejum pré-anestésico é espécie-específico. Em roedores pequenos e coelhos, é geralmente desnecessário, pois o vômito durante a indução não ocorre nessas espécies. Além disso, o jejum pode resultar em depleção de reservas de glicogênio e causar hipoglicemia. Alguns autores só recomendam o jejum em coelhos em casos de cirurgia no sistema digestório. Coelhos e roedores são coprofágicos (ingerem suas próprias fezes). Portanto, medidas para prevenir a ingestão de fezes são necessárias se o estômago precisar estar vazio para o protocolo de pesquisa. Deve-se ter especial atenção com as cobaias, pois cerca de 40% de seu peso vivo é ingesta.

Ao induzir um animal e monitorar a profundidade da anestesia, deve-se estar ciente dos estágios anestésicos.

Após a indução anestésica, posicionar o animal com sua cabeça e região cervical em extensão para minimizar a obstrução das vias aéreas. Nos casos de intubação traqueal, é necessário garantir uma via aérea adequada, especialmente para procedimentos longos. Para isso, é essencial a familiaridade com a anatomia específica da espécie e com a técnica.

A hipotermia pode se desenvolver rapidamente durante a anestesia e é uma das causas mais comuns de óbito por anestesia, especialmente em animais menores, como roedores, que perdem calor rapidamente sob anestesia cirúrgica, dada a alta proporção da superfície corporal em relação ao peso. Deve-se manter a temperatura do corpo o mais próximo possível do normal, pela provisão de calor suplementar (ex.: bolsas quentes, colchões térmicos). Por outro lado, deve-se tomar cuidado para não superaquecer ou queimar o animal.

Para manter a hidratação, a infusão IV ou SC de fluidoterapia (ex.: Ringer com lactato) é especialmente importante em anestésias longas ou cirurgias invasivas. Os fluidos devem ser aquecidos para não contribuírem para a hipotermia.

Sob anestesia, os olhos dos animais frequentemente ficam abertos. Portanto, deve-se garantir que a córnea esteja protegida de ressecamento e trauma, por meio de uso de pomadas oftálmicas.

A posição do animal deve ser monitorada, para evitar compressão exacerbada de partes ou de todo o corpo. Também é importante evitar o excesso de alongamento ou imobilização dos membros, pois há risco de danos nos nervos e vasos sanguíneos. Quando possível, permitir que os membros fiquem em uma posição anatômica natural.

6.12.3. Pré-medicação:

A pré-medicação é geralmente administrada 5-30 minutos antes dos agentes anestésicos. A grande vantagem do emprego destes fármacos é a potencialização da ação dos anestésicos, obtendo-se, desta forma, plano mais adequado de anestesia, além de significativa redução da dose dos agentes anestésicos gerais.

6.12.4. Profundidade da anestesia

O controle de monitoração e as técnicas são determinadas pela espécie e tipo de procedimento. Os pesquisadores devem se familiarizar com os sinais específicos da espécie e dos estágios da anestesia. No mínimo, deve-se monitorar e registrar em fichas a profundidade da anestesia pela presença ou ausência de reflexos. Anestesia cirúrgica é obtida quando os seguintes reflexos e tônus muscular normal estão ausentes:

- a)** Reflexo postural: o animal não tenta se endireitar se colocado em decúbito dorsal;
- b)** Tônus muscular da mandíbula;
- c)** Reflexo palpebral ao toque na pálpebra;
- d)** Reflexo interdigital, quando o espaço interdigital é pinçado;
- e)** Reflexo de pinçamento da cauda: ratos e camundongos;
- f)** Tônus do esfíncter anal.

6.13. Monitorando o sistema respiratório

a) observações clínicas: monitora-se a amplitude, a frequência e o padrão da respiração (aumento na amplitude e diminuição da frequência se intensifica com o aprofundamento da anestesia);

b) monitor respiratório: alguns equipamentos podem não ser sensíveis o suficiente para detectar apnéia em espécies pequenas, como o rato ou camundongo. Entretanto, há equipamentos disponíveis comercialmente para tal;

c) oximetria do pulso: mede a saturação de oxigênio no sangue arterial;

d) capnometria: mede a concentração expiratória final de CO₂;

e) hemogasometria: pH e pressão parcial de O₂ e CO₂ no sangue, com cálculo automático da concentração de bicarbonato, CO total e déficit ou excesso de bases;

A obstrução respiratória pode ser causada por secreções, objetos externos, língua ou posições anormais do pescoço. A respiração pode ser comprometida por compressão do tórax.

6.14. Monitorando o sistema cardiovascular

a) observações clínicas: cor das membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar, sons cardíacos e frequência cardíaca, qualidade de pulso periférico;

b) eletrocardiograma;

c) pressão arterial sistêmica;

6.15. Temperatura do corpo

A temperatura do corpo pode ser monitorada por um termômetro retal, ou termômetro de infravermelho, em que se aponta o feixe de infravermelho para a cavidade bucal ou o abdômen e se obtém o registro da temperatura corporal. A habilidade do animal de regular a temperatura é reduzida até que se recupere da anestesia. Em sua forma mais branda, a hipotermia aumenta o período de recuperação anestésica e pode alterar o metabolismo. Quanto maior a hipotermia, maior a suscetibilidade do animal à sobredosagem anestésica e choque. Portanto, recomenda-se que a

temperatura ambiente da área de recuperação varie de 30-35°C para roedores pequenos. Pode se fornecer calor suplementar (ex.: lâmpadas de aquecimento, bolsas quentes, incubadora, colchão térmico), mas se deve tomar cuidado para não sobreaquecer o animal. A provisão de zonas aquecidas e não aquecidas na área de recuperação permitirá que o animal escolha sua zona preferida após a recuperação.

6.16. Período pós-anestésico

Deve-se observar os animais durante a recuperação de anestesia para garantir que:

- a)** As vias respiratórias não sejam obstruídas;
- b)** A temperatura do corpo seja mantida;
- d)** A dor pós-operatória seja adequadamente controlada.

A oxigenoterapia pós anestesia é recomendada no período de recuperação enquanto houver alteração de consciência.

Deve-se alojar individualmente os roedores pequenos e outras espécies sociais durante a recuperação, para evitar ataques de companheiros de gaiola e para prevenir a perturbação dos outros animais. No caso de cirurgia, o leito na gaiola deve ser adequado para prevenir contaminação da ferida cirúrgica.

Se os animais tiverem passado por um procedimento invasivo, uma monitoração cuidadosa, durante o período pós-operatório, é essencial para avaliar se a analgesia foi eficaz e se analgesia adicional é necessária. A dose ou frequência de administração deve ser modificada de acordo com as necessidades do animal.

6.17. Analgesia

A via oral pode ser utilizada para a administração de fármacos analgésicos em dose única ou múltiplas (ex.: tratamento analgésico contínuo fornecido via tabletes, ou em alimento, água ou gelatina). Entretanto, deve-se ter especial atenção quando da administração de agentes na água, pois vários agentes empregados para este fim possuem gosto amargo e; na maioria das vezes; o consumo adequado de água não ocorre, especialmente se o animal já estiver com

dor. Recomenda-se que a escolha pela terapia oral deve ser cuidadosamente avaliada, haja vista as limitações na absorção.

6.18. Analgesia preventiva ou protetiva

A dor pós-operatória é controlada mais prontamente quando se realiza a analgesia no pré-operatório. Isso é conhecido como analgesia preventiva ou protetiva, administrada antes da incisão e continuamente durante o tempo no qual os sinais nociceptivos são maiores. A analgesia protetiva previne o estabelecimento de sensibilização periférica e central causada por lesões incisionais e inflamatórias e cobre o período de cirurgia e o pós-operatório imediato.

6.19. Analgesia multimodal

A percepção de dor envolve uma multiplicidade de vias nociceptivas, mecanismos e sistemas transmissores. Portanto, é improvável que uma única classe de analgésicos alivie completamente a dor, independentemente da dose utilizada.

6.20. Monitoração da analgesia

Recomenda-se monitorar os animais cuidadosamente durante o pós operatório para avaliar se a analgesia foi eficaz e se analgesia adicional é necessária. Modificar a dose ou frequência de administração, de acordo com as necessidades do animal. Descreve-se, a seguir, as recomendações sobre a rotina de uso dos analgésicos, agentes a serem utilizados e a frequência de administração:

a) Procedimento relativamente pequeno (ex.: cateterização vascular): uma dose única de analgésico sistêmico é administrada. Alternativamente, pode ser apropriado, em algumas situações, injetar um anestésico local de longa duração na pele e tecidos circunjacentes.

b) Procedimentos cirúrgicos mais invasivos (ex.: laparotomia): a administração de analgésicos sistêmicos é recomendada por 72 horas.

Na escolha de anestesia dissociativa para um procedimento cirúrgico, salienta-se a importância de não se usar o anestésico dissociativo isoladamente ou apenas em associação com um sedativo uma vez que a analgesia poderá não ser efetiva para o procedimento cirúrgico.

Procedimentos e protocolos de controle da dor consistentes, planejamento detalhado de procedimentos cirúrgicos e de outros procedimentos potencialmente dolorosos, uma compreensão da biologia animal e conhecimento detalhado das ações fisiológicas e farmacológicas dos fármacos sedativos, analgésicos e anestésicos propostos para o uso nestas circunstâncias, precisam estar disponíveis antes de qualquer manipulação que possa causar dor aos animais.

7. Procedimentos cirúrgicos

Define-se procedimento cirúrgico como uma intervenção que requer acesso a um tecido vivo. No cenário científico, o tipo de procedimento dependerá do propósito científico e pode variar desde uma incisão superficial até a penetração de uma cavidade do corpo, intervenção em órgão(s) ou dissecação tecidual extensa.

7.1. Razões para realizar procedimentos cirúrgicos:

- a)** Coletar tecidos;
- b)** Realizar biópsias (incisional ou excisional);
- c)** Inserir cateteres vasculares de longa permanência (portal vascular) para permitir a coleta de sangue de animais;
- d)** Inserir cateteres para monitorar a pressão sanguínea venosa ou arterial;
- e)** Infundir substâncias e/ou fármacos;
- f)** Implantar cateteres ou aparelhos para coletar outros fluidos corporais;
- g)** Implantar eletrodos para registrar ou estimular locais específicos em estudos neurofisiológicos;
- h)** Implantar equipamentos, como sondas de telemetria para monitoração fisiológica e comportamental prolongada;
- i)** Transplantar órgãos, seja no mesmo indivíduo (autólogo), seja em indivíduos da mesma espécie (homólogo) ou em espécies diferentes (xenólogo ou heterólogo), no mesmo local (ortotópico) ou em locais diferentes (heterotópico) no animal receptor;
- j)** Desenvolver um modelo de estudo para um processo fisiológico ou patológico;
- k)** Desenvolver e avaliar novas técnicas cirúrgicas para utilização posterior em animais e humanos.

Qualquer procedimento cirúrgico recomenda-se ser acompanhado de anestesia e analgesia apropriadas para o tipo de procedimento, bem como, da espécie envolvida. Dependendo dos objetivos do estudo, ao final do procedimento cirúrgico, os animais podem recuperar a consciência ou não. No segundo caso, o animal deve sofrer eutanásia no final

do procedimento.

Quando um animal se recupera de uma intervenção cirúrgica, precauções especiais devem ser tomadas para minimizar o risco de complicações, tais como dor ou infecção no pós-operatório. A natureza dos procedimentos cirúrgicos coloca o bem-estar de um animal em risco significativo, mais frequentemente associado ao controle inadequado da dor tanto durante como após o procedimento.

7.2. Técnica asséptica

A cirurgia asséptica é definida como intervenção realizada de formas e por meios suficientemente livres de micro-organismos, para que não se desenvolvam infecções. Procedimentos assépticos devem sempre ser utilizados, principalmente, quando se objetiva conseguir resultados após o procedimento cirúrgico.

A cirurgia asséptica é definida como uma intervenção em que se realiza um conjunto de medidas (esterilização do instrumental, desinfecção do ambiente, antissepsia do campo cirúrgico e equipe), com a finalidade de evitar a contaminação/infecção em locais sem contaminação.

Por alguns anos, havia uma visão de que procedimentos assépticos não eram necessários quando procedimentos de recuperação eram realizados em roedores. Hoje se sabe que uma boa técnica cirúrgica é tão importante quanto a assepsia na prevenção de infecções trans e pós-cirúrgicas em roedores.

7.3. Elementos de técnica asséptica

- a)** Realização de procedimentos cirúrgicos em uma determinada área em que foi feita a antissepsia;
- b)** Preparação do sítio operatório para minimizar o risco de entrada de bactérias na ferida; isto normalmente envolve a remoção de cabelo, pelo ou lã nas imediações da ferida cirúrgica pretendida e a limpeza e desinfecção daquela área;
- c)** Cirurgião e assistentes cirúrgicos devem utilizar aventais cirúrgicos e luvas estéreis (apenas luvas podem ser utilizadas em intervenções cirúrgicas em roedores e a campo) para efetuar a higienização cirúrgica;
- d)** Local da intervenção cirúrgica deve estar delimitado por campos estéreis para criar um “campo” estéril adjacente; um método de cobertura dupla é utilizado para procedimentos cirúrgicos grandes da cavidade abdominal ou

torácica ou quando houver intervenção em vísceras;

e) Utilizar instrumentos e kits estéreis;

f) Somente instrumentos, campos cirúrgicos, kits e luvas estéreis devem entrar em contato com o campo operatório;

g) Superfícies estéreis devem ser mantidas secas para evitar que a umidade contamine a área cirúrgica.

Checar a saúde clínica de todos os animais alguns dias antes da intervenção cirúrgica ser executada; atenção especial para sinais de respiração ou função cardiovascular comprometidas ou de infecção intercorrente. Além disso, quando os procedimentos estiverem propensos a comprometer sua habilidade em responder a infecções (ex.: imunossupressão), observar os animais quanto a infecções subclínicas.

Os efeitos do transporte, introdução em novas instalações, novos grupos sociais e novo cuidador (técnico), sobre a resposta ao estresse (juntamente com alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais) são bem documentados. O estresse cirúrgico exacerbará essas alterações e não somente comprometerá a habilidade do animal de manter a homeostase durante o procedimento cirúrgico, mas aumentará o risco de infecções no pós-operatório ao comprometer a função imunológica. Um período de aclimação é recomendado para garantir que o animal tenha se recuperado desses estressores antes que seja marcada a intervenção cirúrgica. Este tempo pode variar com as circunstâncias, mas é recomendado um mínimo de 10-14 dias para animais criados em laboratório.

7.4. A intervenção cirúrgica

a) Perda de sangue devido a um trauma no tecido ou controle inadequado da hemorragia, resultando em perfusão e oxigenação comprometidas do tecido e, se for grave, em colapso cardiovascular;

b) Desidratação devido à perda descompensada de líquido durante o procedimento cirúrgico, que será exacerbada pela exposição e ressecamento dos tecidos, consumo restrito de fluido no pré-operatório e consumo voluntário reduzido no período pós-operatório;

c) Hipotermia devido ao comprometimento da termorregulação pelos agentes anestésicos, o que é um grande risco em pequenos roedores que possuam área de superfície extensa em relação à massa corporal e uma alta taxa metabólica;

d) Hipóxia e má perfusão tecidual (i) como consequência do decréscimo no volume de sangue, desidratação, desequilíbrio ácido base ou hipotermia, ou (ii) associada com função respiratória inadequada;

e) Distúrbios metabólicos devido à ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e mudanças associadas na função celular, com metabolismo alterado de glicose e proteína resultando em hiperglicemia e balanço nitrogenado negativo;

f) Falência cardiovascular e/ou respiratória, riscos durante procedimentos cirúrgicos e no período pós-operatório imediato, não somente devido às complicações potenciais, listadas anteriormente, mas também porque muitos agentes anestésicos possuem efeitos depressivos significativos e específicos em ambos os sistemas, um risco exacerbado por mau gerenciamento da dose anestésica;

g) Choque-hipovolêmico ou séptico.

Infecções no pós-operatório podem incluir infecção e ruptura da ferida causada por uma falha nas técnicas asépticas; ou podem ser resultado de um trauma excessivo no tecido, má homeostase, aparelhos, cateteres, os quais podem ser um receptáculo de infecção. A hipotermia e agentes anestésicos modulam a resposta imune e aumentam o risco de infecção após procedimentos cirúrgicos.

7.5. Atraso na cura na cicatrização do ferimento

a) Infecção;

b) Comprometimento da viabilidade tecidual associada a uma má perfusão tecidual ou dano excessivo ao tecido causado por (i) mau manuseio do tecido, (ii) falha em manter um suprimento de sangue adequado, ou (iii) desidratação de tecidos durante a intervenção cirúrgica;

c) Má posição de órgãos ou tecidos durante o fechamento;

d) Escolha inadequada de materiais e/ou métodos de sutura, o que impede a perfusão tecidual e pode resultar em má posição dos tecidos e um maior risco de o animal acidentalmente remover as suturas (observação: inflamação do local da ferida aumentará este risco);

e) Cura comprometida devido à função imunológica suprimida, seja como parte de uma intervenção deliberada (por exemplo, quando um animal é imunossuprimido após um transplante de órgão ou tem função imunológica suprimida devido à seleção genética ou manipulação genética), seja por associação com uma complicação periopera-

tória como hipotermia.

7.6. Complicações com cateteres ou aparelhos implantados

a) Desenvolvimento de uma infecção no local do implante onde o cateter ou aparelho é a fonte de uma infecção sistêmica ou (ii) uma infecção na pele que se desenvolve no ponto de saída de um cateter ou sonda, que pode resultar em infecção sistêmica, rastreando o cateter ou aparelho ou um túnel subcutâneo, ou (iii) a introdução sistêmica de um patógeno durante a lavagem de cateteres;

b) Vazamento de conteúdo gastrintestinal ao redor de uma fístula externa, causando supuração da pele ao redor;

c) Cateteres, eletrodos ou aparelhos implantados sendo desalojados pelo animal ou seus companheiros de gaiola, resultando em hemorragia, trauma no tecido, contaminação da cavidade abdominal por conteúdo gastrintestinal ou secreções, sepse e, possivelmente, morte, devido a um choque hemorrágico ou séptico;

d) Cazamento de conteúdo gastrintestinal, secreções pancreáticas ou bile na cavidade abdominal causando peritonite;

e) Falha de cateteres vasculares devido à trombose ou infecção;

f) Danos em órgãos como o rim devido a infarto por trombos liberados a partir do implante;

g) Bloqueio ou infecção de cateteres biliar ou pancreático, os quais, devido à natureza das secreções, resultam em colecistite e insuficiência hepática ou pancreatite aguda;

h) Tamanho, peso ou local de implante dos cateteres e aparelhos que impactam nas atividades normais de um animal e, quando implantados nas cavidades do corpo, impactam na função dos órgãos vitais.

Isolamento social pode ser necessário durante a recuperação da anestesia para prevenir agressão de outros membros de um grupo social. Entretanto, em alguns casos, o isolamento contínuo pode ser necessário, para prevenir danos ao local da incisão/cateter/instrumentos cirúrgicos ou implantes. Nestes casos, recomenda-se alojar o animal em gaiola que lhe permita o contato visual, auditivo e olfatório deve ser mantido.

Após um procedimento cirúrgico, o padrão de comportamento que indica que um animal está sentindo dor é variável dependendo da espécie e do grau de invasividade do procedimento cirúrgico.

7.7. Redução do risco potencial ao bem-estar do animal no procedimento cirúrgico

- a)** Desenvolvimento e revisão de planos de controle da dor, incluindo analgesia preventiva ou protetiva;
- b)** Seleção de agentes anestésicos e analgésicos apropriados para a espécie e o procedimento;
- c)** Monitoração da profundidade da anestesia e o controle dos efeitos adversos da anestesia;
- d)** Uso de procedimentos assépticos em todos os procedimentos de recuperação;
- e)** Competência dos envolvidos em todos os aspectos do processo, especialmente na administração e monitoração do anestésico e analgésico e desempenho dos procedimentos cirúrgicos.

7.8. Equipe técnica

Cirurgias frequentemente envolvem a utilização de técnicas novas ou a adaptação de métodos cirúrgicos que são utilizados em outras espécies. Nestas circunstâncias, quando o cirurgião não estiver familiarizado com o procedimento em uma espécie específica, com sua abordagem anatômica, com a viabilidade do procedimento novo ou recentemente proposto, para minimizar complicações cirúrgicas e para desenvolver e revisar estratégias de administração do pós-operatório, os seguintes passos são propostos:

- a)** desenvolver procedimentos desfechos todas às vezes que a dor ou o desconforto for detectado nos animais em estudo, com a finalidade de evitar sofrimento desnecessário;
- b)** realizar um estudo da anatomia topográfica, utilizando amostras de cadáver para se familiarizar com os planos e acidentes anatômicos, para avaliar a viabilidade do procedimento proposto e abordagem cirúrgica ideal e para identificar riscos cirúrgicos;
- c)** Realizar a intervenção cirúrgica como um procedimento prévio de não recuperação em um número suficiente de animais para ter confiança para lidar com o animal ao longo do período de recuperação; este passo também permitirá uma avaliação da técnica anestésica e terapias de apoio que melhor manterão a estabilidade fisiológica durante os procedimentos cirúrgicos;
- d)** Desenvolver um plano de gerenciamento do pós-operatório baseado nas consequências e riscos previstos;

- e) Conduzir um estudo piloto que permita a recuperação de um número limitado de animais;
- f) Analisar e rever os procedimentos cirúrgicos e anestésicos e planos de gerenciamento pós-operatório

e da dor.

Realizar um curso e trabalhar com um mentor experiente é recomendado para pessoas que precisam adquirir habilidades em técnicas cirúrgicas básicas. Modelos de simulação podem ser utilizados para praticar técnicas de sutura e colocação de cateteres.

Ações que reduzem ou minimizam a magnitude e duração de perturbações metabólicas associadas ao estresse cirúrgico e complicações no pós-operatório auxiliam nos objetivos de qualidade de vida animal e na promoção dos princípios de Refinamento e Redução. Um resumo de estratégias para minimizar os riscos ao animal está listado na Tabela 3.

Tabela 3: Minimizando os riscos cirúrgicos ao bem-estar animal

MAIORES RISCOS	POSSÍVEIS CAUSAS	AÇÕES CORRETIVAS
Dor	Escolha inadequada de anestésicos ou analgésicos	- Selecione agentes apropriados para a espécie e tipo de procedimento
	Controle inadequado da dor	- Desenvolva um plano de controle da dor- Monitore e avalie a eficácia
Má circulação do sangue (má perfusão tecidual) Má oxigenação	Perda de sangue	- Utilizar adequada técnica cirúrgica e controle de hemostase - Monitorar a frequência cardíaca e tempo de preenchimento capilar
		- Manter a volemia com sangue ou fluidos de reposição- Repor a perda de sangue >10% do volume de circulação
	Dose excessiva de analgésicos - depressão cardíaca	- Monitorar a profundidade da anestesia, função cardiovascular e perfusão tecidual, e ajuste a dose anestésica - Administrar estimulantes cardíacos se necessário
	Hipotermia	- Ver "Hipotermia" abaixo
	Desidratação	- Manter a hidratação com fluidos aquecidos IV ou SC (ex.: solução de Ringer lactato ou NaCl 0,9% - 10 mL/kg/h no intra-operatório; manutenção diária de 40-80 mL/kg/24h)
		- Manter os tecidos expostos umedecidos com solução salina
	Desequilíbrio ácido-base e eletrolíticos	- Ver "alterações metabólicas" abaixo
	Hipóxia devido a depressão respiratória causada por dose excessiva de anestésicos	- Monitorar a profundidade da anestesia, frequência respiratória e cor das membranas mucosas - Administrar oxigênio - Fornecer suporte respiratório mecânico - Reduzir a dose de anestesia
		- Administrar estimulante respiratório- Se a intervenção cirúrgica tiver terminado, administrar agente para reverter o anestésico, se aplicável
	Hipóxia devido a obstrução das vias aéreas	- Verificar a desobstrução das vias aéreas - Remover qualquer obstrução mecânica, como excesso de muco, sangue ou corpo estranho
		- Verificar a posição do corpo para garantir que o movimento respiratório não seja restringido ou as vias aéreas obstruídas
Hipóxia tecidual ligada a má perfusão tecidual	- Ver "Má circulação do sangue" acima	

Hipotermia	Agentes anestésicos	- Monitorar a temperatura do corpo durante a intervenção cirúrgica
	Exposição de cavidade do corpo ou tecidos ao ar frio ambiente (sério problema em animais com grande área de superfície em relação ao peso corporal e/ou alta taxa metabólica)	- Limitar a exposição a superfícies frias, especialmente quando o animal estiver anestesiado; deite o animal em material isolante e forneça fonte de calor (ex.: colchão térmico)
		durante o procedimento cirúrgico e recuperação)- manter os tecidos expostos quentes e úmidos- Colocar os animais em um ambiente quente durante a recuperação
	Uso de líquidos parenterais frios	- Administrar fluidos mornos
	Inspiração de ar/gases frios	- Umidificar e aquecer o ar inspirado, se possível
Alterações metabólicas	Estresse cirúrgico ativa o eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal, resultando em glicogenólise e hiperglicemia, e afeta o metabolismo de proteínas, levando ao balanço nitrogenado negativo	- Aclimatar os animais às instalações e ao pessoal para reduzir a ativação da resposta ao estresse- Monitorar e controlar os fatores propensos a exacerbar a resposta ao estresse da intervenção, principalmente dano ao tecido e dor
		- Fornecer suporte nutricional para minimizar a glicólise durante o ato operatório e recuperação no pós-operatório - Monitorar o consumo de água e alimento no pós-operatório
	Má perfusão tecidual e hipóxia levam a acidose e perturbações eletrolíticas	
Má recuperação	Recuperação retardada do anestésico devido a dose excessiva ou metabolismo de fármacos comprometido associado a hipotermia, perfusão tecidual reduzida e comprometimento da função do órgão	- Promover a homeostase metabólica mantendo normotermia e perfusão tecidual adequada e oxigenação - Minimizar a isquemia tecidual durante a intervenção cirúrgica
		- Minimizar a perda de sangue e desidratação - Monitorar e corrigir corrija os desequilíbrios ácido-base e eletrolíticos durante a intervenção e a recuperação
	Hipotermia	- Monitorar a profundidade da anestesia para evitar dose excessiva - Monitorar e controle complicações potenciais da anestesia, especialmente temperatura do corpo e funções cardiovascular e respiratória
	Má perfusão tecidual	- Ver "Hipotermia" acima
	Má oxigenação	- Ver "Má circulação do sangue" acima
	Desidratação	- Ver "Má oxigenação" acima
	Infecção no pós-operatório	- Ver "Desidratação" acima; também é necessário garantir hidratação adequada no período pós-operatório - monitore se líquidos parenterais são necessários
	Falha na ferida cirúrgica	- Ver "Infecção no pós-operatório" abaixo
	Auto-trauma	- Ver "Falha na ferida cirúrgica" abaixo
Estresse social	- Escolher um anestésico com propriedades de recuperação mais suaves - Melhorar a monitoração e proporcionar alívio à dor apropriado - Melhorar as condições de alojamento	

Infecção no pós-operatório	Colapso na técnica cirúrgica	- Garantir contato auditivo, visual e olfativo com outros animais
	Técnica cirúrgica inadequada	- analisar e revisar os procedimentos; implementar treinamento se necessário
	Hipotermia no perioperatório	- Ver "Hipotermia" acima
	Má perfusão tecidual	- Ver "Má circulação do sangue" acima
	Cateter ou aparelho implantado ou local de saída infectado	- Esterelização eficaz do implante; procedimentos assépticos durante a manutenção do cateter
	Doença pré-existente	- Triagem clínica antes da intervenção cirúrgica
Falha na ferida cirúrgica	Má técnica cirúrgica	- Revisar os procedimentos para garantir o manuseio atraumático do tecido, hemostase eficaz, manutenção de perfusão tecidual e métodos e materiais apropriados para fechamento da ferida
		- Garantir que técnicas assépticas sejam utilizadas para qualquer procedimento de recuperação ou na manutenção de cateteres intravasculares
	Infecção no pós-operatório	- Ver "Infecção no pós-operatório" acima

A complexidade e extensão das questões envolvidas em procedimentos cirúrgicos requerem avaliação cuidadosa para identificar riscos, desenvolver estratégias para minimizar ou gerenciar esses riscos e desenvolver um plano eficaz de controle da dor. Um estudo piloto pode ser necessário para informar este processo. O planejamento também deve incluir uma avaliação da disponibilidade e adequação de instalações e equipamentos, bem como das habilidades, conhecimento e experiência das pessoas envolvidas. Uma vez que um plano de gerenciamento foi formulado, uma análise contínua irá identificar oportunidades para refinar métodos e procedimentos.

8. Referências bibliográficas

- AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY ANESTHESIA AND ANALGESIA (ACVAA). **Guidelines and position statement**. Disponível em: <https://acvaa.org/veterinarians/guidelines/>. Acesso em: 17 mar 2023.
- AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY ANESTHESIA AND ANALGESIA (ACVAA). American College of Veterinary Anesthesiologists' Position Paper on the Treatment of Pain in Animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 213:628-630, 1998.
- BATE, M.J. (ed). **Pain and Practical Pain Therapy**, Proceedings of the ANZCCAR T/AVERT Conference, Melbourne, 2001.
- BUCHANAN, K.C.; BURGE, R.R.; RUBLE, G.R. Evaluation of injectable anaesthetics for major surgical procedures in guinea pigs. **Contemporary Topics**, 37:58-63, 1998.
- Grant, C.; Summersides, G.E.; Kuchel, T.R. A xylazine infusion regimen to provide analgesia in sheep. **Laboratory Animals**, 35:277-281, 2001.
- HARVEY-CLARK, C.J.; GILESPIE, K.; RIGGS, K.W. Transdermal fentanyl compared with parenteral buprenorphine in post-surgical pain in swine: a case study. **Laboratory Animals**, 34:386-398, 2000.
- HAWK, C.T.; LEARY, S.L.; MORRIS, T.H. **Formulary for laboratory animals**. 3rd. ed. Imes, IA: Blackwell. 2005.
- HELLYER, P.W. Treatment of pain in dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 220 (2):212-215, 2002.
- HUSBY, P.; HELTNE, J.K.; KOLLER, M.E.; BIRKELAND, S.; WESTBY, J.; FOSSE, R.; LUND, Y. Midazolam-fentanyl-isoflurane anaesthesia is suitable for haemodynamic and fluid balance studies in pigs. **Laboratory Animals**, 32:316-323, 1997.
- LASCELLES, B.D.X. Advances in the control of pain in animals. **Veterinary Annual**, 36:1-15, 1996.
- LIVINGSTON, A. Ethical issues regarding pain in animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 221 (2):229- 233, 2002.
- MACHIN, K.L. Fish, amphibian, and reptile analgesia. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, 4 (1):19-33, 2001.
- MATHEWS, K.A. Pain Assessment and general approach to management. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, 30 (4):729-755, 2000.
- MUIR, W.W.; WOOLFE, C.J. Mechanisms of pain and their therapeutic implications. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 219 (10):1346-1355, 2001.
- PHIFER, C.B.; TERRY, L.M. Use of hypothermia for general anesthesia in preweaning rodents. **Physiology and Behaviour**, 38:887-890, 1986.
- RICHARDSON, C.A.; FLECKNELL, P.A. Anaesthesia and postoperative analgesia following experimental surgery in laboratory rodents: Are we making progress? **Alternatives to Laboratory Animals (ATLA)**, 33:119-127, 2005.
- RODRIGUEZ, N.A.; COOPER, D.M.; RISDAHL, J.M. Antinociceptive activity of and clinical experience with buprenorphine in swine. **Contemporary Topics**, 40:17-20, 2001.
- ROUGHAN, J.V.; FLECKNELL, P.A. Behavioural effect of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. **Pain**, 90:65-74, 2001.
- ROUGHAN, J.V.; FLECKNELL, P.A. Buprenorphine: a reappraisal of its antinociceptive effects and therapeutic use in alleviating post-operative pain in animals. **Laboratory Animals**, 36:322-343, 2002.
- SANDERS, R.D.; PATEL, N.; HOSSAIN, M.; MA, D.; MAZE, M. Isoflurane exerts antinociceptive and hypnotic properties at all ages in Fischer rats. **British Journal of Anaesthesia**, 95:393-399, 2005.
- STETTER, M.D. Fish and amphibian anesthesia. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, 4 (1):69-82, 2001.
- STEVENS, C.W.; KLOPP, A.J.; FACELLO, J.A. Analgesic potency of mu and kappa opioids after systemic administration in amphibians. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 269:1086-1093, 1994.
- STEVENS, C.W.; MACIVER, D.N.; NEWMAN, L.C. Testing and comparison of non-opioid analgesics in amphibians. **Contemporary Topics**, 40:23-27, 2001.
- TASKER, R.A.R.; CONNELL, B.J.; ROSS, S.J.; ELSON, C.M. Development of an injectable sustained-release formulation of morphine: antinociceptive properties in rats. **Laboratory Animals**, 32:270-275, 1997.

- UNDERWOOD, W.J. Pain and distress in agricultural animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 221 (2):208-211, 2002.
- VOLKER, D.; BATE, M.; GENTLE, R.; GARG, M. Oral buprenorphine is anti-inflammatory and modulates the pathogenesis of streptococcal cell wall polymer-induced arthritis in the Lew/SNN rat. **Laboratory Animals**, 34:423-429, 2000.
- WILKINSON, A.C.; THOMAS, M.L.; MORSE, B.C. Evaluation of a transdermal fentanyl system in Yucatan miniature pigs. **Contemporary Topics**, 40:12-16, 2001.

Recursos educacionais e websites:

- BAZIN, J.E.; CONSTANTIN, J.M.; GINDRE, G. Laboratory animal anaesthesia: influence of anaesthetic protocols on experimental models. **Annales Francaises d'Anesthesie et de Reanimation**, 23:811-818, 2004.
- BENAZON, D. Hypothermia. *In*: SCURR, C.; FELDMAN, S. (eds). **Scientific Foundations of Anaesthesia**. 2nd ed. London, UK: William Heinemann Medical Books Ltd., 344-356, 1974.
- BEN-ELIYAHU, S.; SHAKHAR, G.; ROSENNE, E.; LEVISON, Y. Hypothermia in barbiturate anesthetized rats suppresses natural killer cell activity and compromises resistance to tumour metastasis. **Anesthesiology**, 91:732-740, 1999.
- BETTE, M.; SCHLIMME, S.; MUTTERS, R.; MENENDEZ, S.; HOFFMANN, S.; SCHULTZ, S. Influence of different anaesthetics on proinflammatory cytokine expression in rat spleen. **Laboratory Animals**, 38:272-279, 2004.
- BONNET, F.; MARRET, E. Influence of anaesthetic and analgesic techniques on outcomes after surgery. **British Journal of Anaesthesia**, 95:52-58, 2005.
- BRADFIELD, J.F.; SCHACHTMAN, T.R.; McLAUGHLIN, R.M.; STEFFEN, E.K. Behavioral and physiological effects of inapparent wound infection in rats. **Laboratory Animal Science**, 42:572-578, 1992.
- BROWN, M.J.; PEARSON, P.T.; TOMSON, F.N. Guidelines for animal surgery in research and teaching. **American Journal of Veterinary Research**, 54:1544-1559, 1993.
- CHINDAVIJAK, B.; BELPAIRE, F.M.; DE SMET F.; BOGAERT, M.G. Alteration of the pharmacokinetics and metabolism of propranolol and antipyrine elicited by indwelling catheters in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 246:1075-1079. Part III Surgical procedures, 1988.
- CHUANG M.S.; ORVIETO, M.; LAVEN, B.M.; GERBER, G.S.; WARDRIP, C.; RITCH, C.; SHALHAV A. Comparison of external catheters with subcutaneous vascular access ports for chronic vascular access in a porcine model. **Contemporary Topics**, 44:24-27, 2005.
- COOPER, D.M.; MCIVER, R.; BIANCO, R. The thin blue line: a review and discussion of septic technique and post procedural infection in rodents. **Contemporary Topics** 39:27-32, 2000.
- CUNLIFFE-BEAMER, T.L. Applying principles of aseptic surgery to rodents. **AWIC Newsletter**, 4 (2), 1993.
- DANNEMAN, P.J.; GRIFFITH, J.W.; BEYERS, T.M.; LANG, C.M. Renal and vascular damage associated with indwelling vascular access devices. **Laboratory Animal Science**, 38:511, 1988.
- DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand? **Brain, Behavior and Immunity**, 15:7-24, 2001.
- DENG, J.; ST.CLAIRE, M.; EVERETT, C.; RETIMAN, M.; STAR, R.A. Buprenorphine given after surgery does not alter renal ischemia/ reperfusion injury. **Comparative Medicine**, 50:628-632, 2000.
- **DOG ABDOMINAL SURROGATE FOR INSTRUCTIONAL EXERCISES (DASIE)**. Disponível em: <http://www.dasiesurgery.ca/DASIE/DASIE.html>.
- EINSTEIN, R.; BILLING, R.L.; SINGH, A.; CHIN, I. Implanted telemetry transmitters alter the noradrenergic response in vas deferens from mice. **Alternatives to Laboratory Animals**, 32:171-176, 2004.
- ELENA, G.; AMERIO, N.; FERRERO, P.; BAY, M.L.; VALENTI, J.; COLUCCI, D.; PUIG, N.R. Effects of repetitive sevoflurane anaesthesia on immune response, selected biochemical parameters and organ histology in mice. **Laboratory Animals**, 37:193-203, 2003.
- FAGIN, K.D.; SHINSAKO, J.; DALLMAN, M.F. Effects of housing and chronic annulation on plasma ACTH and corticosterone in the rat. **American Journal of Physiology**, 245: E515-E520, 1983.
- FREEMAN, A.J.; GARDNER, C.J.; DODDS, M.G. An improved method for bonding heparin to intravascular cannulae. **Journal of Pharmacological Methods**, 23:7-11, 1990.
- HAMPSHIRE, V.A.; DAVIS, J.A.; MCNICKLE, C.A.; WILLIAMS, L.; ESKILDSON, H. Retrospective comparison of rat recovery weights using inhalation and injectable anaesthetics, nutritional and fluid supplementation for right unilateral neurosurgical lesioning.

Laboratory Animals, 35:223-229, 2001.

- HAWKINS, P.; MORTON, D.B.; BEVAN, R.; HEATH, H.; KIRKWOOD, J.; PEARCE, P.; SCOTT, L.; WHELAN, G.; WEBB, A. Husbandry refinements for rats, mice, dogs and non-human primates used in telemetry procedures. Report of the Joint Working Party on Refinement. **Laboratory Animals**, 38:1-10, 2004.

- HAYES, K.E.; RAUCCI, J.A.; GADES, N.M.; TOTH, L.A. An evaluation of analgesic regimens for abdominal surgery in mice. **Contemporary Topics**, 39:18-23, 2000.

- HEAVNER, J.E. Physiological effects of anesthetics and analgesics. *In*: SMITH, A.C.; SWINDLE, M.M. (eds). **Research Animal Anesthesia, Analgesia and Surgery**. Greenbelt, MD: Scientists Centre for Animal Welfare, 41-58, 1994.

- HEINDORFF, H.; ALMDAL, T.; VILSTRUP, H. Contradictory effects of uncomplicated versus complicated abdominal surgery on the hepatic capacity for urea synthesis in rats. **Journal of Surgical Research**, 49:239-243, 1990.

- **INTERNATIONAL VETERINARY INFORMATION SERVICES (IVIS)**. Disponível em: <https://www.ivis.org/>. Acesso em: 20 mar 2023.

- JOHNSON, R.W. The concept of sickness behavior: a brief chronological account of four key discoveries. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 87:443-450, 2002.

- KIRSCH, J.H.; KLAUS, J.A.; BLIZZARD, K.K.; HURN, P.D.; MURPHY, S.J. Pain evaluation and response to buprenorphine in rats subjected to sham middle cerebral artery occlusion. **Contemporary Topics**, 41:9-14, 2002.

- KISSIN I. Preemptive analgesia. **Anesthesiology**, 93:1138-1143, 2000.

- LAPCHIK, V.B.V.; MATTARAIÁ, V.G.M.; KO, G.M. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. 1ª Edição. São Paulo, SP: Editora Atheneu, 2009.

- LASA /UFAW (Laboratory Animal Science Association and Universities Federation for Animal Welfare). **Guidelines on the Care of Laboratory Animals and their Use for Scientific Purposes**. III Surgical procedures. UFAW, Potters Bar, 1989.

- LILES, J.H.; FLECKNELL, P.A. The effects of surgical stimulus on the rat and the influence of analgesic treatment. **British Veterinary Journal**, 149:515-525, 1993.

- LOCKWOOD, L.L.; SILBERT, K.H.; LAUDENSLAGER, M.L.; WATKINS, L.R.; MAIER, S.F. Anesthesia induced modulation of in vivo antibody levels: a study of pentobarbital, chloral hydrate, methoxyflurane, halothane and ketamine/xylazine. **Anesthesia and Analgesia**, 77:769-774, 1993.

- MESSIER, C.; EMOND, S.; ETHIER, K. New techniques in stereotaxic surgery and anesthesia in the mouse. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 63:313-318, 1999.

- MILROSS, C.G.; PETERS, L.J.; HUNTER, N.R.; MASON, K.A.; TUCKER, S.L.; MILAS, L. Polarographic pO₂ measurements in mice: effect of tumor type, site of implantation and anesthesia. **Radiation Oncology Investigation**, 4:108-114, 1996.

- MORRIS, T.H. Antibiotic therapeutics in laboratory animals. **Laboratory Animals**, 29:16-36, 1995.

- MORTON, D.B.; HAWKINS, P.; BEVAN, R.; HEATH, H.; KIRKWOOD, J.; PEARCE, P.; SCOTT, L.; WHELAN, G.; WEBB, A. Refinements in telemetry procedures. Report of the Joint Working Party on Refinement. **Laboratory Animals**, 37:261-299, 2003.

- NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Australian Code of Practice for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes**, 7th edition, NHMRC, Canberra, 2004.

- NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). Part III Surgical procedures. *In*: NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Australian Code of Practice for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes**. 7th ed. Canberra: NHMRC., 2004.

- NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Guidelines on the Use of Animals for Training Surgeons and Demonstrating Surgical Equipment and Techniques**, 1997.

- NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE. **Training in Basic Biomethodology for Laboratory Mice**. 2007.

- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). Intramural Research Program. **Guidelines for Survival Rodent Surgery**. 2005. Disponível em: <http://oacu.od.nih.gov/ARAC/surguide.pdf>. Acesso em: 20 mar 2023.

- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). **Training in Survival Rodent Surgery**. 1 CD-Rom

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research**. Washington, DC: National Academic Press, 2003.

- NSW ANIMAL RESEARCH REVIEW PANEL. **Use of Animals in Post-Graduate Surgical Training** (revised). 2003.

- PAULOSE, C.S.; DAKSHINAMURTI, K. Chronic catheterisation using vascular access port in rats: blood sampling with minimal stress for plasma catecholamine determination. **Journal of Neuroscience Methods**, 22:141-146, 1987.

- PEARSON, M.L. Guidelines for prevention of intravascular-device-related infections. **Infection Control and Hospital**

Epidemiology, 17:438-473, 1996.

- POPP, M.B.; BRENNAN, M.F. Long-term vascular access in the rat: importance of asepsis. **American Journal of Physiology**, 241:H606-H612, 1981.
- OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. **Undergraduate Anesthesia Manual**. College of Veterinary Medicine, 2003.
- REMBERT, M.S.; SMITH, J.A.; HOSGOOD, G.A. A comparison of a forced-air warming system to traditional thermal support for rodent microenvironments. **Laboratory Animals**, 38:55-63, 2004.
- REYES, L.; TINWORTH, K.D.; LI, K.M.; YAU, D.F.; WATERS, J.A. Observer-blinded comparison of two non-opioid analgesics for postoperative pain in piglets. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 73:521-528, 2002.
- ROUGHAN, J.V.; FLECKNELL, P.A. Effects of surgery and analgesic administration on spontaneous behaviour in singly housed rats. **Research in Veterinary Science**, 69:283-288, 2000.
- ROUGHAN, J.V.; FLECKNELL, P.A. Evaluation of a short duration behaviour-based postoperative pain scoring system in rats. **European Journal of Pain**, 7:397-406, 2003.
- ROUGHAN, J.; FLECKNELL, P. **Pain Assessment in the Rat**. 1 Cd-Rom, 2003.
- ROWLAND, R.R.; REYES, E.; CHUHWUOCHA, R.; TOKUDA, S. Corticosteroid and immune responses of mice following mini-osmotic pump implantation. **Immunopharmacology**, 20:187-190, 1990.
- RUSSEL, W.M.S.; BURCH, R.L. **The Principles of Humane Experimental Technique**. London, UK: Methuen & Co. Limited, 1959.
- SALO, M. Effects of anaesthesia and surgery on the immune response. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, 36:201-220, 1992.
- SAMPATH, L.A.; SABORIO, D.V.; YARON, I.; MODAK, S. Safety and efficacy of an improved antiseptic catheter impregnated intraluminally with chlorhexidine. **Journal of Infusion Nursing**, 24:395-403, 2001.
- SHAFFORD, H.L.; HELLYER, P.W.; TURNER, A.S. Intraarticular lidocaine plus bupivacaine in sheep undergoing stifle arthrotomy. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia** 31:1-26, 2004.
- SHARP, J.; ZAMMIT, T.; AZAR, T.; LAWSON, D. Recovery of male rats from major abdominal surgery after treatment with various analgesics. **Contemporary Topics**, 42:22-27, 2003.
- SHERERTZ; R.J.; CARRUTH, W.A.; MAROSOK, R.D.; ESPELAND, M.A.; JOHNSON, R.A.; SOLOMON, D.D. Contribution of vascular catheter material to the pathogenesis of infection: the enhanced risk of silicone in vivo. **Journal of Biomedical Materials Research**, 29:635-645, 1995.
- SCHOFIELD, J.C.; WILLIAMS, V.M. **Analgesic Best Practice for the Use of Animals in Research and Teaching**, 2002.
- STASIAK, K.L.; MAUL, D.; FRENCH, E.; HELLYER, P.W.; VANDEWOUDE, S. Species-specific assessment of pain in laboratory animals. **Contemporary Topics**, 42:13-20, 2003.
- STEWART, L.S.A.; MARTIN, W.J. Influence of postoperative analgesics on the development of neuropathic pain in rats. **Comparative Medicine**, 53:29-36, 2003.
- THOMPSON, J.S.; BROWN, S.A.; KHURDAYAN, V.; ZEYNALZADEGAN, A.; SULLIVAN, P.G.; SCHEFF, S.W. Early effects of tribromoethanol, ketamine/xylazine, pentobarbital and isoflurane anesthesia on hepatic and lymphoid tissue in ICR mice. **Comparative Medicine**, 52:63-67, 2002.
- THORNTON, P.D.; WATERMAN-PEARSON, A.E. Quantification of pain and distress responses to castration in young lambs. **Research in Veterinary Science**, 66:107-118, 1999.
- THURMON, J.C.; BENSON, G.J. Pharmacological consideration in selection of anesthetics for animals. **Journal of the American Veterinary Association**, 191:1245-1253, 1987.
- TORNATZKY, W.; MICZEK, K.A. Long term impairment of autonomic circadian rhythms after brief intermittent social stress. **Physiology and Behavior**, 53:983-993, 1993.
- UNIVERSITY OF FLORIDA. **The Virtual Anesthesia Machine**. Disponível em: <https://vam.anest.ufl.edu/>. Acesso em: 20 mar 2023.
- van RUIVEN R.; MEIJER, G.W.; van ZUTPHEN, L.F.M.; RITSKES-HOITINGA, J. Adaptation period of laboratory animals after transport: a review. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science**, 23:185-190, 1996.
- WONG, P. **The Virtual Anaesthesia Textbook-Veterinary Anaesthesia**, 2003.
- WYATT, I.; COUTTS, C.T.; FOSTER, P.M.; DAVIES, D.T.; ELCOMBE, C.R. The effect of implantation of osmotic pumps on rat thyroid hormone and testosterone levels in the plasma, an implication for tissue 'S' phase studies. **Toxicology**, 95:51-54, 1995.

Textos Recomendados:

- BROWN, P.A.; HOOGSTRATEN-MILLER, S. Principles of aseptic rodent survival surgery. Part I & II – General training in rodent survival surgery. *In*: REUTER, J.D.; SUCHOW, M.A. (eds). **Laboratory Animal Medicine and Management, International Veterinary Information Service (IVIS)**, Ithaca, NY, 2004. <http://www.ivis.org>.
- COCCHETTO, D.M.; BJORNSSON, T.D. Methods for vascular access and collection of body fluids from the laboratory rat. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 72:465–492, 1983.
- FLECKNELL, P. **Laboratory Animal Anaesthesia**. 2nd ed. London, UK: Academic Press, 1996.
- FLECKNELL, P.; WATERMAN-PEARSON, A. **Pain Management in Animals**. London, UK: WB Saunders, 2000.
- FOLEY, P.L. Common surgical procedures in rodents. *In*: REUTER; J.D.; SUCHOW. M.A. **Laboratory Animal Medicine and Management**. Ithaca, NY: International Veterinary Information Service (IVIS), 2004. Disponível em: <https://www.ivis.org/library/laboratory-animal-medicine-and-management/common-surgical-procedures-rodents>. Acesso em: 08 out. 2021.
- GARDINER, T.W.; TOTH, L.A. Stereotactic surgery and long-term maintenance of cranial implants in research animals. **Contemporary Topics**, 38:56–63, 1999.
- GAY, W.I. (ed.) Part A: Patient care, vascular access and telemetry. *In*: GAY, W.I.; HEAVNER, J.E. **Methods of Animal Experimentation**, vol. 7: Research Surgery and Care of the Research Animal. Orlando, FL: Academic Press, 143–241, 1986.
- HARRISON, F.A. **Surgical Techniques in Experimental Farm Animals**. Oxford: Oxford University Press, 1995.
- HECKER, J.F. **The Sheep as an Experimental Animal**. San Diego, CA: Academic Press, 1985.
- KAPLAN, H.M.; TIMMONS, E.H. **The Rabbit – A Model for the Principles of Mammalian Physiology and Surgery**. New York: Academic Press. Part III Surgical procedures. 1979.
- KOHN, D.F.; WIXSON, S.K.; WHITE, W.J.; BENSON, G.J. (eds). **Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals**. San Diego, CA: American College of Laboratory Animal Medicine Series, Academic Press. 1997.
- LUMLEY, J.S.P.; GREEN, C.J.; LEAR, P.; ANGELL-JAMES, J.E. **Essentials of Experimental Surgery**. Butterworths, London, 1990.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research**. Washington, DC: National Academies Press, 2003.
- SWINDLE, M.M. **Surgery, Anesthesia and Experimental Techniques in Swine**. Ames, IW: Iowa State University Press, 1998.
- SWINDLE, M.M.; ADAMS, R.J. **Experimental Surgery and Physiology: Induced Animal Models of Human Disease**. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1988.
- SWINDLE, M.M.; NOLAN, T.; JACOBSON, A.; *et al.* Vascular access port (VAP) usage in large animal species. **Contemporary Topics**, 44:7–17, 2005.
- WAYNFORTH, H.B.; FLECKNELL, P.A. **Experimental and Surgical Technique in the Rat**, 2nd ed. London, UK: Academic Press, 1992.

9. Critérios Mínimos para instalações de Roedores e Lagomorfos

Classificação:
OB - Obrigatório
 Considera-se item OBRIGATÓRIO
R - Recomendado.
 Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

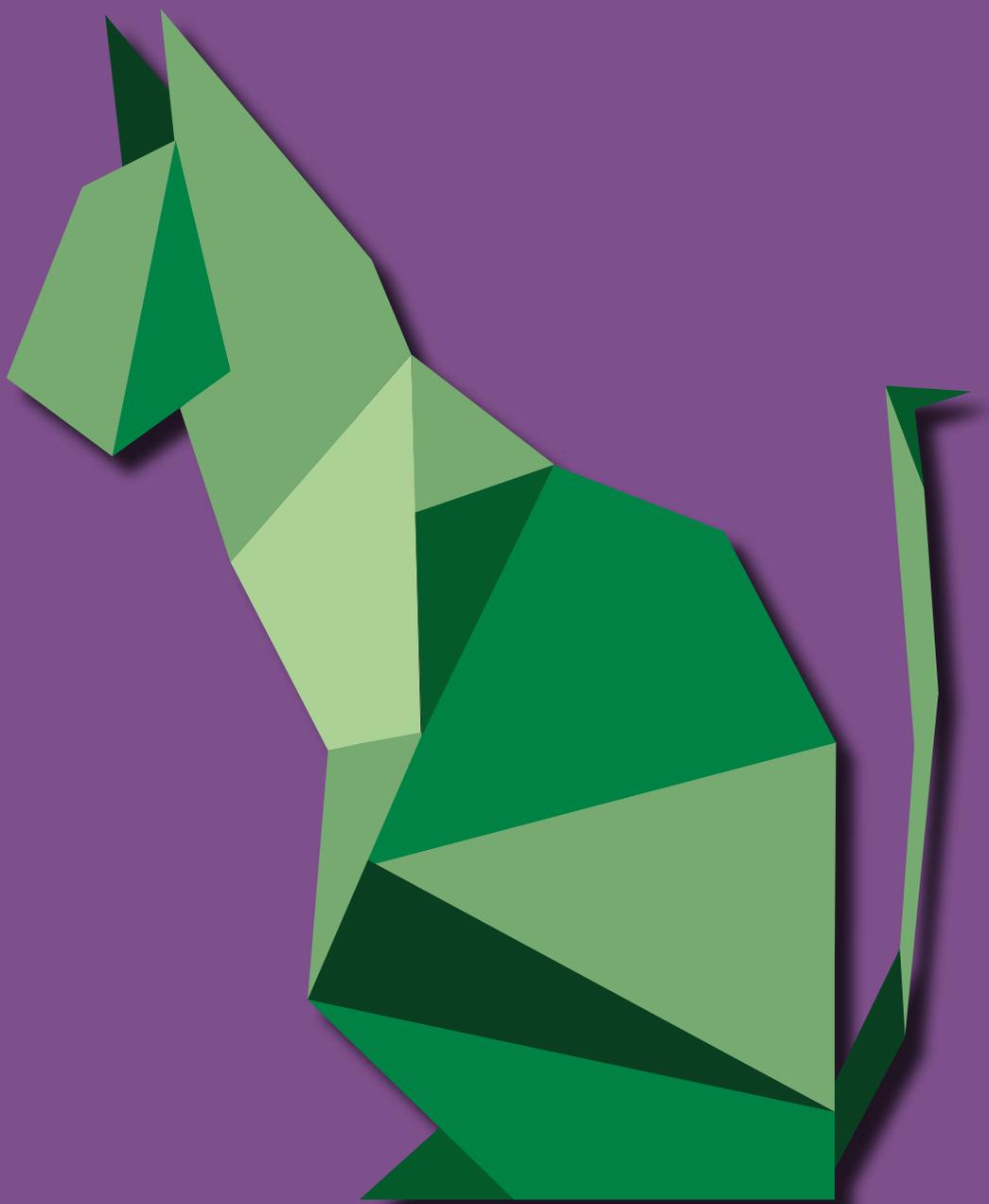
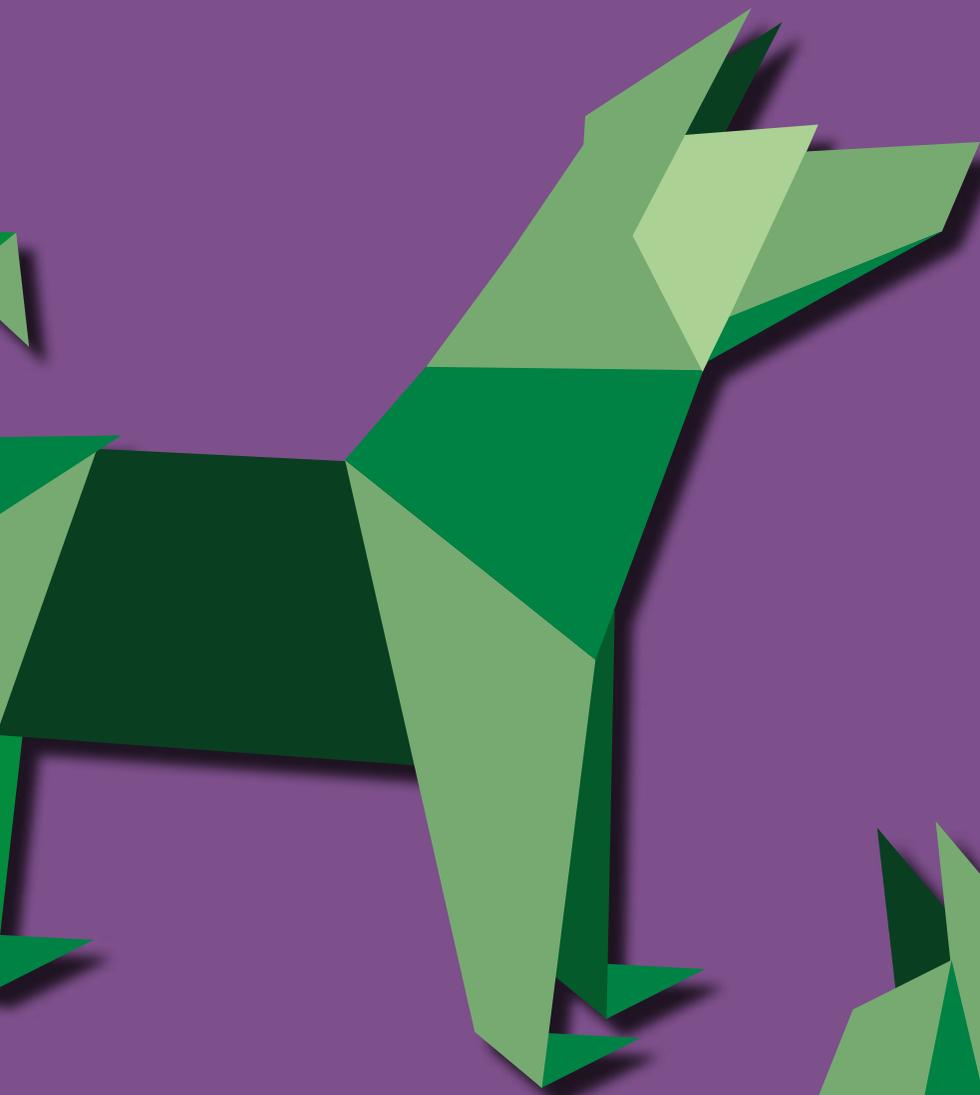
DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos da Instalação Animal	
Biotérios de criação de animais, que realizam a reprodução de animais, separados de biotérios com outras outras finalidades. Em edificação que abrigue biotérios de diferentes finalidades (criação, manutenção e utilização), as instalações de criação devem ter suas áreas físicas e rotinas com barreiras exclusivas, delimitadas e separadas dos biotérios de manutenção e de utilização.	OB
Áreas de Apoio	
Área administrativa.	R
Área de recepção de pessoal (usuários e visitantes).	R
No biotério de criação, o ingresso de animais deve ocorrer por meio da área de recepção de animais e quarentena.	OB
No biotério de manutenção ou experimentação, o ingresso de animais deve ocorrer por meio de recepção em área de quarentena, exceto com relação aos animais com estado sanitário conhecido e compatível com o biotério de manutenção ou de experimentação de destino, que poderão ser introduzidos diretamente na sala de animais.	OB
Áreas de Serviço	
Área destinada à higienização (lavagem, desinfecção ou esterilização de materiais) separada fisicamente da área de salas de animais.	OB
Sanitários localizados fora das áreas controladas em biotérios de produção.	OB
Salas de animais separadas por espécie.	OB
Vestiário.	OB
Sala destinada à eutanásia, separada das salas de animais, em biotérios de criação e manutenção.	OB
Sala destinada à eutanásia, separada das salas de procedimentos, em biotérios de experimentação.	R
Depósitos	
Local para estocagem de alimentos e forração que atendam às recomendações dos fabricantes.	OB
Alimentos e forração sem contato com o piso ou paredes.	OB
Área exclusiva para depósitos de resíduos.	OB
Local para armazenamento de produtos químicos e medicamentos.	R
Freezer para acondicionamento de carcaças.	OB
Detalhes Construtivos	
Paredes, pisos e tetos lisos, livres de rejuntas e reentrâncias, construídos com materiais que possibilitem higienização e desinfecção.	OB

Ausência de janelas com acesso direto para as salas de animais de laboratório.	OB
Grupo gerador próprio para fornecimento emergencial de energia elétrica.	R
Sistema de monitoramento remoto da ambiência das salas dos animais, na ausência de grupo gerador próprio.	OB
Sistema de iluminação com fotoperíodo regulável nas áreas controladas e salas de animais.	OB
Ambiente	
Salas de animais com ventilação, exaustão temperatura e umidade controladas, conforme as características das espécies mantidas no recinto.	OB
Monitoramento com registro das condições ambientais das salas de animais.	OB
Biossegurança	
Uso de equipamentos de proteção individual preconizados pelo nível de biossegurança da instalação.	OB
Barreiras sanitárias de bioexclusão e biocontenção preconizadas pelo nível de biossegurança da instalação.	OB
Procedimentos	
Manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) em biotérios de criação.	OB
Controle genético e sanitário.	R
Alojamento em pares ou grupos, exceto em casos autorizados pela CEUA ou em virtude de condições clínicas.	OB
Procedimentos experimentais não podem ser realizados na sala de manutenção e criação de animais.	OB
Enriquecimento Ambiental.	OB

Capítulo 3

Cães e gatos





COORDENADORES:

Antônio Felipe Paulino de Figueiredo Wouk Universidade Federal do Paraná

Ingrid Dragan Taricano Universidade Nove de Julho

Marcelo Weinstein Teixeira Universidade Federal Rural de Pernambuco

AUTORES:

Antonio Felipe Wouk Universidade Federal do Paraná

Cláudia Turra Pimpão Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Ingrid Dragan Taricano Universidade Nove de Julho

Lilian Martini Pulz Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação

Marcelo Weinstein Teixeira Universidade Federal Rural de Pernambuco

Paula Araceli Borges Leite Centro de Pesquisa em Animais do Brasil

Paulo Maiorka Universidade de São Paulo

Silvana Gorniak Universidade de São Paulo

Citação recomendada: WOUK, A.F.P.F.; PIMPÃO, C.T.; TARICANO, I.D.; PULZ, L.M.; TEIXEIRA, M.W.; LEITE, P.A.B.; MAIORKA, P.; GORNIAC, S. (2023) Capítulo 3 - Cães e gatos. pp. 168-249. In: WOUK, A.F.P.F.; TARICANO, I.G.; TEIXEIRA, M.W. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	177
1.1. Responsabilidades dos pesquisadores, dos professores e das instituições de pesquisa ou de ensino	178
1.2. Manipulação, contenção e confinamento de cães e gatos	179
1.3. Considerações sobre as necessidades comportamentais dos animais	180
1.3.1. Cães:	180
1.3.2. Gatos:	180
2. Instalações e procedimentos de manejo	182
2.1. Aspectos gerais das instalações	182
2.2. Localização	183
2.3. Ambientes físicos	183
2.3.1. Área de apoio administrativo	184
2.3.2. Sala de procedimentos clínicos	184
2.3.3. Ambientes especiais	184
2.3.4. Salas de descanso e copa para a equipe técnica	185
2.3.5. Áreas de serviço	185
2.3.5.1. Área de higienização	185
2.3.5.2. Vestiários	185
2.3.5.3. Corredores	186
2.3.5.4. Lavanderia	186
2.3.5.5. Sanitários	186
2.3.5.6. Alojamento dos animais	186
2.3.5.7. Área para eutanásia	187
2.3.5.8. Depósitos	187
2.3.5.9. Depósito de resíduos	188
2.3.5.10. Depósito para materiais limpos	188
2.3.5.11. Barreiras sanitárias e de contenção	189
2.3.5.12. Especificações técnicas das edificações	189
2.3.5.13. Fornecimento de energia elétrica e iluminação	191
2.3.6. Controle do ambiente das instalações	192
2.3.6.1. Ruídos	192
2.3.6.2. Vibrações	192
2.3.6.3. Temperatura e umidade	193
2.4. Instalações específicas para cães	193
2.4.1. Ambiente para produção de cães	195
2.4.1.1. Acesso dos funcionários e visitantes	196
2.4.1.2. Recreação dos animais	196
2.4.1.3. Descanso noturno	197
2.4.1.4. Manejo reprodutivo	197
2.4.2. Ambiente de manutenção para cães	199
2.4.3. Ambiente de utilização para cães	199
2.4.3.1. Exigências quanto ao ambiente de utilização para cães	200

2.5. Instalações específicas para gatos	200
2.5.1. Instalação de produção para gatos	203
2.5.2. Instalações de manutenção para gatos	205
2.5.2.1. Manutenção de grupos	206
2.5.3. Instalações de utilização para gatos	206
2.6. Estratégias de enriquecimento ambiental para cães e gatos	206
2.6.1. Relação social com o ser humano	207
2.6.2. Cuidados a serem considerados para o enriquecimento ambiental	207
2.6.3. Enriquecimento ambiental para cães	208
2.6.3.1. Mudança de ambiente e tempo fora de gaiolas	209
2.6.3.2. Alimento	209
2.6.3.3. Enriquecimento do ambiente físico	209
2.6.3.4. Estimulação olfatória	210
2.6.4. Enriquecimento ambiental para gatos	210
2.6.4.1. Alimento	211
2.6.4.2. Ambiente físico	211
2.6.4.3. Brinquedos	212
2.6.4.4. Estimulação olfatória	212
3. Quarentena para cães e gatos	213
3.1. Estrutura física da quarentena e cuidados com os animais	213
4. Cuidados médico-veterinários	215
4.1. Medicina preventiva	215
4.2. Cuidados pré, trans e pós-operatórios	216
4.3. Mortalidade	217
4.4. Eutanásia	217
4.5. Descarte	218
4.6. Adoção	218
5. Procedimentos em cães e gatos	219
5.1. Administração de substâncias	219
5.1.1. As vias de administração de substâncias mais utilizadas em cães e gatos são:	219
5.2. Coleta de fluidos corporais, secreções e excreções	223
5.2.1. Urina	223
5.2.2. Secreção nasal	223
5.2.3. Secreção ocular	224
5.2.4. Material bucal	224
5.2.5. Leite	224
5.2.6. Fezes	224
5.2.7. Secreção do trato genital	225
5.2.8. Sêmen	225
5.2.9. Considerações gerais para minimizar os efeitos adversos da coleta de fluidos corporais	225
5.3. Coleta de sangue	226
5.3.1. Considerações importantes para a coleta de sangue:	226
5.4. Anestesia e analgesia	227
5.4.1. Anestesia	227
5.4.2. Controle e tratamento da dor em animais de pesquisa	229
5.4.2.1. Importância do controle da dor	229
5.4.2.2. Diagnóstico da dor	229
5.4.2.3. Tratamento da dor	230
5.4.2.4. Analgésicos opióides	231
5.4.2.5. Anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)	232

5.5. Procedimentos cirúrgicos	233
5.6. Procedimento cirúrgico	234
5.6.1. Considerações sobre bem-estar animal em procedimentos cirúrgicos	235
5.6.2. Pessoal envolvido	237
5.6.3. Técnica asséptica	237
5.6.4. Prevenção e gerenciamento de complicações no perioperatório	238
5.6.5. Controle de infecções no pós-operatório	239
5.6.6. Considerações finais sobre procedimentos cirúrgicos	240
6. Procedimentos não invasivos	241
7. Referências bibliográficas	242
8. Critérios mínimos para instalações de Cães e Gatos	248

CÃES E GATOS

1. Introdução

O presente capítulo trata da produção, manutenção ou utilização de cães e gatos domésticos em instalações de instituições de ensino ou de pesquisa. A similaridade anatômica e fisiológica entre humanos e alguns vertebrados tem justificado a utilização desses animais em estudos voltados à pesquisa biomédica. Apesar disso, os animais devem ser substituídos por métodos alternativos, quando existentes.

As naturezas biológica e comportamental e as características associadas à sociabilidade fazem dos cães uma espécie que pode ser utilizada para uma variedade de aspectos da pesquisa ou do ensino. Pesquisas com cães ou gatos permitiram a compreensão da função das células nervosas e do sistema cardiovascular, e o desenvolvimento da anestesia, da insulina e de técnicas cirúrgicas importantes (e.g. cirurgias cardiovasculares e transplantes). Muitos conhecimentos oriundos de estudos nesses animais contribuíram para o avanço do conhecimento sobre a infecção e sobre os mecanismos de doenças. A pesquisa com cães ou gatos também beneficiou a saúde e o bem-estar de animais quando estes foram usados para estudar novas possibilidades terapêuticas ou aprimorar conhecimentos na espécie alvo.

Os animais utilizados em instalações de ensino ou pesquisa devem ser tratados com respeito e cuidado. Neste sentido, a aplicação dos Princípios dos 3R's (em português: Substituição, Redução e Refinamento) é a forma mais sensata de utilização de animais. Em síntese, a Substituição significa a utilização de modelo alternativo em vez de animais vivos. A Redução diz respeito à diminuição do número de animais usados para se obter uma informação. Formas de Redução incluem a diminuição do número de amostras e a utilização de técnicas estatísticas adequadas. O Refinamento remete a qualquer redução na frequência ou intensidade de procedimentos aplicados aos animais.

O uso de cães ou de gatos em atividades de ensino deve ser evitado. Sempre que existirem métodos substitutivos, estes devem ser aplicados. Existem recursos empregados por universidades de todo o mundo para sua completa substituição em muitas situações, sem prejuízo do aprendizado.

As orientações constantes neste capítulo visam assegurar que os animais alojados em instalações de pesquisa científica ou de ensino tenham boa qualidade de vida. A qualidade de vida inclui todos os aspectos de bem-estar animal, como os aspectos físicos, comportamentais e emocionais e, ainda, a prevenção de maus-tratos.

1.1. Responsabilidades dos pesquisadores, dos professores e das instituições de pesquisa ou de ensino

Todas as pessoas envolvidas na execução de projetos de pesquisa ou de protocolos de ensino que incluam cães ou gatos devem ser conhecedoras do conteúdo deste capítulo e seguir o previsto neste Guia. Para isso, treinamentos devem ser realizados a essa equipe e seus registros comprovados. Há uma responsabilidade direta de toda a equipe que deve ser solidária e responsável com o bem-estar dos animais durante o desenvolvimento dos projetos ou protocolos propostos e, ainda, com a sua destinação ao final das atividades previstas e autorizadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), pertinente.

Os coordenadores das instalações e os responsáveis técnicos devem se certificar das competências necessárias ao seu grupo de trabalho e garantir condições ideais de trabalho que permitam às boas práticas com os animais. Sempre que necessário, especialistas devem ser consultados sobre problemas complexos e sobre as soluções propostas. A responsabilidade técnica pela promoção do bem-estar está na competência do Médico-Veterinário, o qual é, em conjunto com a instituição, responsável cível e penalmente por falhas que possam existir.

A responsabilidade legal pelos animais é do pesquisador principal ou do professor responsável pelo projeto/protocolo e a responsabilidade pela saúde e bem-estar dos animais é do Responsável Técnico Médico Veterinário, com anotação de responsabilidade técnica homologada no respectivo Conselho (CRMV) de origem. A responsabilidade legal deve ser compartilhada entre o pesquisador principal e o responsável técnico.

Todos os demais pesquisadores ou professores têm a responsabilidade pessoal por todas as questões relacionadas com o bem-estar dos animais que utilizam e devem agir em conformidade com os requisitos legais. Esta responsabilidade começa quando um animal é incluído num projeto/protocolo e termina com seu destino após sua conclusão. A fim de assegurar a correta utilização dos animais incluídos nas atividades de seus projetos científicos ou protocolos didáticos, pesquisadores e professores devem garantir acompanhamento adequado de todo o pessoal envolvido no cuidado e manejo dos animais, além de supervisionar todas as atividades realizadas.

Cada membro da equipe deve estar preparado para assumir suas responsabilidades com os animais. Na indicação da espécie a ser utilizada, o pesquisador principal ou o professor responsável deve garantir que a espécie animal escolhida seja adequada para a finalidade e que não há alternativa disponível ao uso de animais. A inexistência de alternativa deve ser consubstanciada por pesquisa bibliográfica.

Cães e gatos, quando utilizados para fins didáticos ou científicos, devem, sempre que possível, ser provenientes de fornecedores credenciados no Concea. Quando os animais forem provenientes de outros fornecedores, devem atender à legislação vigente. Todos os animais alojados nas instalações credenciadas pelo Concea devem ter registro contendo a sua origem, bem como todo o histórico clínico e de utilização. Esses registros devem estar disponíveis para auditoria por parte da CEUA e entidades de fiscalização. Todos os projetos ou protocolos devem ser aprovados pela CEUA institucional.

Cães e gatos provenientes de órgãos de controle de zoonoses não podem ser utilizados quando não se enquadrarem nas exigências do parágrafo anterior, sobretudo com relação aos registros de vacinação antirrábica.

1.2. Manipulação, contenção e confinamento de cães e gatos

Os animais devem ser manipulados somente por pessoas capacitadas que utilizem métodos adequados para evitar dor ou sofrimento e promover estímulos positivos. A equipe de tratadores deve ser selecionada de forma a se buscar pessoas tranquilas e com grande entusiasmo por trabalhar diretamente com os animais. Todos deverão passar por treinamento específico envolvendo normas atualizadas, etologia básica, manejo etológico e bem-estar animal, higiene, cuidados básicos de saúde e prevenção de zoonoses, entre outros.

Antes do início das atividades os animais devem ser condicionados à rotina que seguirão durante a sua utilização. Para isso, eles deverão ser conduzidos ao local onde os procedimentos serão realizados para simular as condições do projeto/protocolo a ser seguido.

Dessa forma, se habituarão à rotina de modo a minimizar o estresse oriundo destas atividades. O treinamento utilizando técnicas de condicionamento operante com reforço positivo facilita a cooperação voluntária dos animais e é mundialmente usado e recomendado para diferentes espécies mantidas em instalações de pesquisa ou ensino. Além de reduzir o estresse dos animais, tais técnicas proporcionam a obtenção de parâmetros fisiológicos mais acurados, como frequência cardíaca, frequência respiratória e pressão arterial, por exemplo.

Quando qualquer um desses agentes químicos for usado, o animal deverá ser acompanhado individualmente até a recuperação total de sua capacidade funcional. O período de contenção deve ser o mais curto possível. Os animais devem ser acompanhados pela equipe responsável por eles e, frente à detecção de qualquer impacto negativo independente do projeto/protocolo aprovado pela CEUA, o(s) animal(is) deve(m) ser liberado(s) da contenção e outras

formas de manipulação devem ser consideradas.

1.3. Considerações sobre as necessidades comportamentais dos animais

1.3.1. Cães:

Os cães são animais sociáveis e necessitam estar em grupo. O isolamento causa estresse e distresse a esses animais. Para socialização adequada, mesmo quando os cães não estiverem sendo utilizados na pesquisa, eles precisam interagir com seu grupo por intermédio de brincadeiras e contato diário. Em todos os momentos, deve ser considerada a importância da vida social dos animais nos grupos, para evitar estressores adicionais. O contato frequente com os membros da equipe também é importante para a espécie. Cães estabelecem uma estrutura social quando em grupo, que precisa ser reconhecida pela equipe do projeto/protocolo. A equipe precisa identificar as relações e ajustar os grupos para manter o ambiente em harmonia. O número de animais por grupo depende da idade, do sexo, da raça, das condições reprodutivas, da socialização (fase de socialização ocorre entre 4 e 12 semanas de idade e o aprendizado social com a mãe e irmãos até a oitava semana), do tamanho dos recintos onde são mantidos e, ainda, da capacidade da equipe em lidar com o grupo.

A socialização com pessoas é um fator importante para os cães. Eles precisam estar acostumados ao contato para aceitarem a manipulação que se fizer necessária.

A alimentação deve ser uma preocupação constante e individualizada, conforme a idade do animal e o estado corporal (e.g. crescimento, gestação, lactação, etc.).

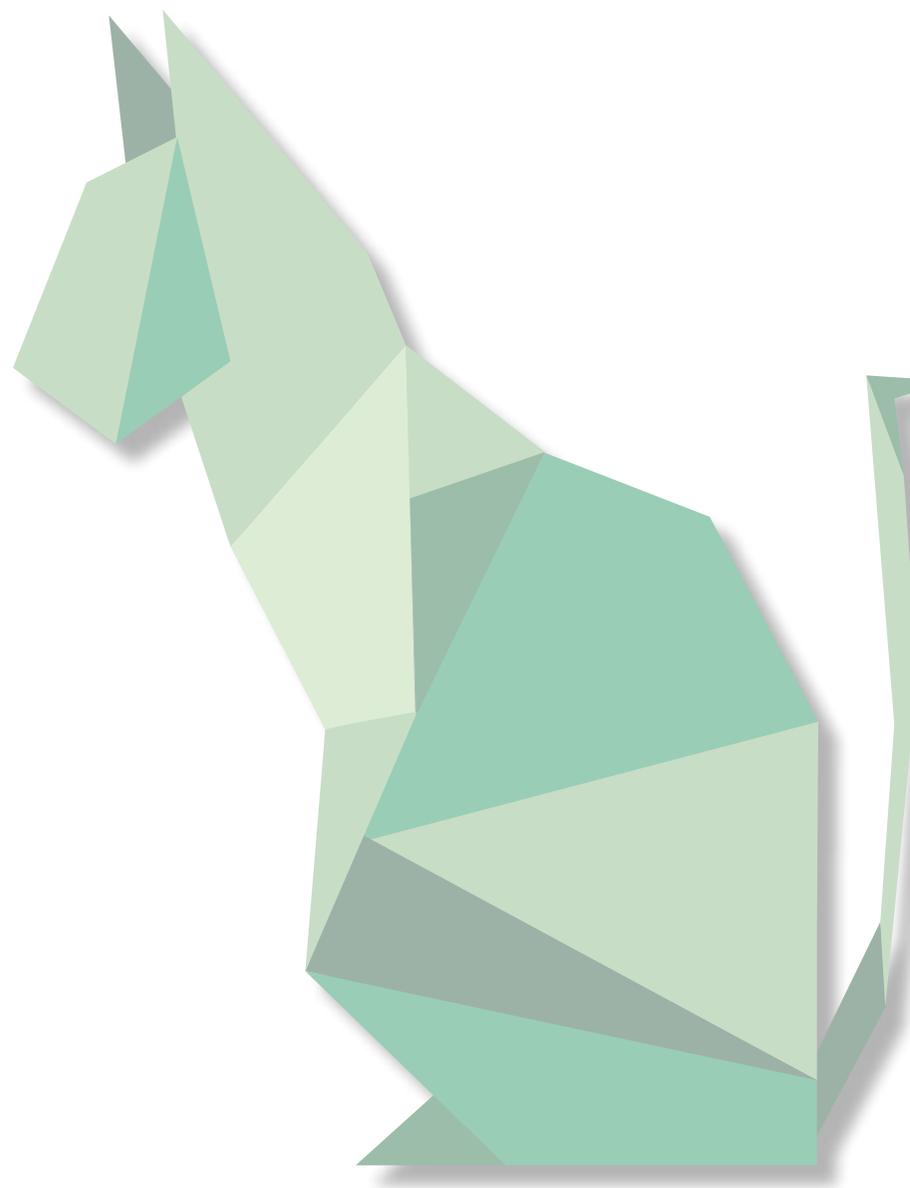
1.3.2. Gatos:

O temperamento dos gatos deve ser respeitado. Considerar e conhecer o seu temperamento é de suma importância para evitar estresse e alterações comportamentais. O manuseio errado dos animais pode predispor a agressão entre eles e com os membros da equipe. O contato diário dos funcionários com os animais pode facilitar todo o processo com os felinos devido à relação de familiaridade. O estresse contínuo pode causar imunossupressão dos animais e predispor a doenças latentes (e.g. doenças virais do trato respiratório dos gatos). A esterilização sexual dos animais é

importante por torná-los mais sociáveis e favorecer o convívio em grupos.

Diferentemente dos cães, alguns gatos jamais interagirão com os outros, preferindo ficar isolados. É importante que se conheçam os indivíduos e seus comportamentos para que se possa manter o seu bem-estar. A causa primária de distúrbios comportamentais em gatos é a frustração. Além disso, o medo e a ansiedade têm impacto no bem-estar de indivíduos dessa espécie. Programas para controle da frustração, do estresse, do medo e da ansiedade devem ser sempre instituídos. A alimentação deve ser uma preocupação constante, podendo ser individualizada ou em grupo, desde que atenda à exigência nutricional dos animais, conforme sua idade e o estado corporal (e.g. crescimento, gestação, lactação, etc.).

É obrigatória a oferta de itens de enriquecimento ambiental em quantidade, frequência e variedades adequadas. Esse tema será discutido com mais detalhes no item 2.6 “Estratégias de Enriquecimento Ambiental para Cães e Gatos” desse Capítulo.



2. Instalações e procedimentos de manejo

2.1. Aspectos gerais das instalações

As instalações requerem áreas separadas para funções específicas, salas e equipamentos especializados e, quando necessário, ambientes controlados. Variações nos requerimentos básicos poderão existir, desde que autorizadas pelo Concea, mediante consulta encaminhada pela CEUA institucional.

Apesar de diferentes necessidades e muitas soluções alternativas de concepção, há orientações específicas que devem ser consideradas no projeto. Um projeto de instalações funcional e eficiente deverá, no momento de sua concepção, considerar também a natureza dos procedimentos que serão realizados, bem como atender às exigências das instalações dos tratamentos clínicos cirúrgicos, conforme Resoluções vigentes do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) que tratem do tema.

Os requerimentos básicos das instalações compreendem:

- a)** Área administrativa (opcional);
- b)** Áreas de depósito para insumos, materiais limpos, equipamentos, rejeitos entre outros;
- c)** Vestiários (opcional);
- d)** Áreas de serviços (opcional);
- e)** Área de higienização;
- f)** Área de recepção de animais e avaliação (triagem);
- g)** Área de quarentena;
- h)** Alojamentos (canis e gatis);
- i)** Sala de procedimentos (quando for o caso).

Para instalações de utilização, em função da complexidade dos ensaios nelas realizados, áreas adicionais poderão ser necessárias, tais como:

- a)** Área de cirurgia e cuidado intensivo (UTI);

- b)** Área para preparação de dietas especiais;
- c)** Área para irradiação e coleta de imagens;
- d)** Área para tratamento clínico e laboratório de análises, entre outros;
- e)** Sala de isolamento, nos casos de utilização de material biológico, químico ou físico que apresentem riscos;
- f)** Sala de eutanásia;
- g)** Barreiras adicionais, nos casos de animais geneticamente modificados ou que necessitem de isolamento especial;
- h)** Área para estocagem de alimentos para os animais;
- i)** Área específica para suprimentos biológicos e farmacêuticos;
- j)** Área para estocagem de produto biológico contaminado (quando for o caso);
- k)** Área para necropsia e coleta de material (quando for o caso); e
- l)** Área para banhos.

2.2. Localização

A área destinada à construção das instalações é extremamente importante. Em razão dos aspectos técnicos, as instalações devem estar localizadas em áreas com reduzido trânsito de veículos e pessoas.

A escolha do local deverá levar em consideração o fácil acesso, favorecendo a entrega de materiais, insumos e equipamentos, bem como a remoção dos resíduos gerados nas instalações. As instalações deverão, ainda, ser edificadas distante de fontes poluentes, de vibrações e de laboratórios que manipulam agentes patogênicos. As áreas de alojamento de gatos devem ser isoladas acusticamente e visualmente das áreas onde houver cães.

2.3. Ambientes físicos

As instalações físicas deverão minimizar a ocorrência de infecções e garantir o bem-estar animal, além de favorecer a operacionalização da unidade. Diferentes espaços são necessários, conforme os subitens a seguir:

2.3.1. Área de apoio administrativo

Destina-se à gestão técnico-administrativa das instalações e compreende a sala de coordenação, a secretaria, a sala de convívio para os funcionários, os sanitários, os arquivos, o almoxarifado de material de expediente, a lavanderia e os vestiários, local para reuniões, aulas e treinamento das equipes.

É recomendável que todas as pessoas que acessem ou saiam das instalações o façam por uma área de recepção. O fluxo de pessoal deverá ser feito por local distinto daquele previsto para materiais, insumos, equipamentos e descartes. Na impossibilidade de um local de fluxo distinto, devem existir procedimentos que evidenciem segurança no transporte dos materiais, dos insumos e do descarte, sendo estes em horário diferenciado do fluxo de pessoas.

2.3.2. Sala de procedimentos clínicos

As instalações devem possuir ambientes específicos para atender a urgências clínico-cirúrgicas ou a atendimentos ambulatoriais, os quais devem atender ao previsto em legislação específica do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV). Nos casos em que os animais possam retornar ao ambiente de utilização, após saírem para atendimentos clínicos, sem prejuízo ao projeto ou riscos sanitários, a instituição poderá manter contrato com clínicas veterinárias externas.

Nos casos das instalações de utilização, os ambientes acima descritos devem ser localizados próximos das salas de alojamento dos animais para evitar longos deslocamentos.

2.3.3. Ambientes especiais

Em alguns casos, há necessidade de locais especializados, tais como: laboratórios de análises clínicas, sala de cuidados intensivos, de preparação de dietas especiais, de irradiação, de coleta de imagens, de tratamento clínico, sala de isolamento, entre outros. A sala para cirurgia é frequentemente necessária e, quando prevista, deverá ser incorporada no projeto construtivo, de forma a atender aos conceitos gerais de operacionalização das instalações e seguir as normas vigentes.

2.3.4. Salas de descanso e copa para a equipe técnica

Quando existentes, devem possuir mobiliário adequado e equipamentos necessários para armazenar e aquecer alimentos, evitando-se, todavia, a preparação dos alimentos nesta sala. Se possível, luz natural e visores para o exterior devem estar presentes. Pode ser usada como sala de convívio e entretenimento.

2.3.5. Áreas de serviço

2.3.5.1. Área de higienização

Esta área é destinada à lavagem e desinfecção ou esterilização de materiais, insumos, equipamentos e suprimentos e, portanto, seu projeto deverá incorporar equipamentos compatíveis. Quando da utilização de equipamentos que produzem odor, calor e vapor excessivos, a ventilação dessa área deverá ser exclusiva, suficiente para minimizar acúmulo de odores e excesso de calor e vapor. Neste caso, a exaustão deverá ser projetada de tal forma que o ar não seja reintroduzido em outras áreas das instalações.

A área deve ser projetada de modo a minimizar desconforto aos animais, ao pessoal e às áreas vizinhas, uma vez que os equipamentos e as rotinas podem causar ruídos, calor e umidade excessivos. Assim, é recomendável que o espaço seja separado, isolado e o mais distante possível dos alojamentos dos animais, quando os critérios de ruído, calor e umidade não forem atendidos. Em instalações de utilização com atividades que envolvam risco biológico ou animais geneticamente modificados, a descontaminação de materiais, resíduos e equipamentos, deverão atender à legislação nacional e as orientações da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio).

2.3.5.2. Vestiários

Os vestiários e o seu mobiliário deverão facilitar as boas práticas de higienização. É importante considerar, de acordo com o tipo de vestiário, a disposição dos armários, o apoio para a troca de calçados, os chuveiros, as duchas de ar e o local para armazenamento de produtos de higiene pessoal. A privacidade para trocas de roupas deverá ser contemplada no projeto arquitetônico, bem como um local para o descarte das roupas e toalhas usadas.

2.3.5.3. Corredores

O planejamento e o dimensionamento dos corredores devem ser concebidos de forma a facilitar a movimentação de pessoal, materiais e equipamentos. Estes devem ser largos o suficiente, fáceis de limpar e desinfetar, pois necessitam deste manejo com frequência devido ao tráfego intenso que possuem. Dimensões entre 1,90m a 2,20m de largura geralmente atendem à maioria das situações. Paredes e quinas de paredes devem ser protegidas com dispositivo em material que apresente elevada durabilidade e resistência a impacto e aos processos de higienização.

2.3.5.4. Lavanderia

Não é recomendado que o vestuário utilizado nas rotinas seja retirado da instalação pelos funcionários. Neste sentido, uma lavanderia própria poderá ser usada para a higienização adequada, embora possa haver terceirização deste serviço.

2.3.5.5. Sanitários

As instalações sanitárias devem estar estrategicamente posicionadas fora das áreas controladas ou de produção.

2.3.5.6. Alojamento dos animais

É importante, no desenvolvimento do projeto construtivo, considerar não somente as necessidades momentâneas, mas também demandas futuras. Na grande maioria das instalações, o número de animais varia de acordo com os projetos em andamento. Salas de alojamento de animais devem ser projetadas de modo a facilitar a limpeza e a desinfecção e deve haver ralos sifonados e pias na entrada ou saída do prédio de alojamentos. Os canis e gatis devem ser planejados de forma a proporcionar o alojamento com conforto, inclusive térmico, e proteção das intempéries e possuir solário. A área coberta deve ter uma passagem para a de solário permitindo a circulação do funcionário e do animal quando quiser se abrigar das intempéries. A construção deve ser planejada de forma a evitar a entrada de sol, chuva e

vento na área coberta.

O piso deve ser impermeável e resistente a desinfetantes. Deve ter inclinação adequada para escoamento da água servida, grelhas externas para retenção de resíduos grosseiros, tubulação de escoamento com calibre compatível com o volume de água escoada, caixas de filtração e sedimentação dimensionadas de acordo com normas técnicas e recomendações específicas, antes do lançamento na rede de esgoto. Caso não exista rede de esgoto, os alojamentos de animais devem dispor de fossa séptica.

As instalações devem garantir o bem-estar e segurança dos funcionários e dos animais, de acordo com as particularidades da espécie, e propiciar ao pessoal que nele trabalha condições adequadas de higiene e segurança ao desempenho de suas funções. Suas dimensões devem ser compatíveis com o tamanho dos animais a que se destina.

Devem, ainda, ser providas de dispositivos que evitem a propagação de ruídos e exalação de maus odores. As paredes devem ser impermeabilizadas com materiais de comprovada eficácia, até o teto. A estrutura deve possuir mecanismos para controle da passagem de animais da fauna sinantrópica, respeitando a determinação dos órgãos específicos.

2.3.5.7. Área para eutanásia

Esse ambiente, quando aplicável, deverá estar separado e localizado em área que não cause distúrbio aos animais alojados nas instalações. O ambiente deverá possuir equipamentos e materiais necessários ao método de eutanásia definido pelo Concea e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). Os detalhes de construção dessa área devem facilitar a limpeza e a desinfecção. O espaço destinado à realização do procedimento de eutanásia deve ser amplo o suficiente para a demanda, possuir equipamentos compatíveis (e.g. aparelho de anestesia) e ser reservado o suficiente para não permitir o contato visual, sonoro e olfativo dos animais mantidos nas instalações com aqueles a serem submetidos à eutanásia.

2.3.5.8. Depósitos

Espaços independentes e adequados devem ser reservados para o depósito de equipamentos, suprimentos e lixo, com atenção especial para o espaço de armazenamento de alimentos, que deve ser limpo, seco e com controle de

insetos e de outras pragas.

O espaço destinado aos alimentos deverá ter um fácil acesso para carga e descarga, mas, ao mesmo tempo, deve evitar que pessoas não autorizadas circulem pela área que deve ser restrita. Os alimentos para os animais devem ser armazenados em ambientes fechados, ventilados, com uso de janelas teladas, com baixa umidade, de fácil higienização e desinfecção, para prevenir contaminações e preservar as propriedades nutricionais. Alimentos não devem ser armazenados diretamente no piso. O uso de estrados, estantes ou outros dispositivos para esse fim é recomendado e devem ser dispostos de modo a não terem contato com paredes.

2.3.5.9. Depósito de resíduos

Deve estar isolado das demais áreas da instalação e conter local para:

a) Alojamento das embalagens de alimentos para os animais, restos destes e outros insumos acumulados entre os períodos de coleta; e

b) Quando aplicável, câmara fria ou freezer para acondicionamento de carcaças de animais que deverão ser descartadas segundo o Plano de Gestão de Resíduos Sólidos de Saúde elaborado de acordo com a legislação vigente.

O acesso para o exterior deverá ser facilitado, no sentido de evitar o trânsito de pessoas estranhas ao quadro de funcionários da Unidade nas instalações. Um sistema de drenagem com ralo sifonado deve ser considerado neste ambiente, de forma a favorecer com eficiência a higienização e a desinfecção. O lixo orgânico ou reciclável, bem como, o material contaminado devem ser removidos de acordo com o Plano de Gestão de Resíduos Sólidos de Saúde elaborado conforme a legislação vigente.

2.3.5.10. Depósito para materiais limpos

Este ambiente deve armazenar insumos após higienização e desinfecção ou esterilização. O depósito deve ser em local controlado, dentro da área limpa das instalações e próximo às salas de alojamento dos animais.

2.3.5.11. Barreiras sanitárias e de contenção

Barreiras, no contexto das instalações, consistem na combinação de sistemas físicos e procedimentos operacionais que, juntos, minimizam a transmissão de agentes etiológicos. As barreiras podem ser divididas em duas categorias: bioexclusão e biocontenção. Bioexclusão é voltada na prevenção da entrada de agentes etiológicos e infestações, provenientes do exterior, para os animais alojados nas instalações. Essas barreiras são estabelecidas para proteger o padrão sanitário dos animais. Biocontenção é voltada para prevenir o escape de agentes etiológicos ou contaminantes para o exterior. As barreiras de biocontenção são utilizadas em área de quarentena ou isolamento de animais com padrão sanitário desconhecido e principalmente nas instalações de utilização que trabalhem com agentes patogênicos. De acordo com o grau de risco envolvido, as exigências e complexidades serão diferentes e deverão ser avaliadas em conformidade com a legislação vigente.

2.3.5.12. Especificações técnicas das edificações

A escolha correta dos materiais a serem usados na construção das instalações é de fundamental importância para propiciar as condições adequadas para um funcionamento eficiente e facilitar a higienização dos ambientes.

Paredes: As paredes devem ser lisas, não absorventes e resistentes à umidade e ao impacto. Não devem desenvolver rachaduras ou fissuras com facilidade. As junções entre as paredes, pisos e tetos devem ser arredondadas em instalações que envolvam risco biológico ou que exijam lavagem do teto ao piso. O mesmo aspecto deve ser observado entre as junções com as portas e, quando apresentarem frestas, estas deverão ser vedadas para evitar a penetração e acúmulo de sujidades. Os materiais empregados nas superfícies e paredes devem ser impermeáveis e permitir a limpeza e desinfecção com detergentes e desinfetantes e, ainda, resistir à água sob pressão.

Recomenda-se que a instalação de dutos (de ar ou energia, entre outros) ou de quadros de distribuição elétrica não seja executada nas áreas controladas das instalações, para evitar o trânsito de pessoas externas ao serviço, durante a manutenção. Quando isso não for possível, estes deverão ser selados, com junções vedadas e regulares para facilitar a limpeza. As paredes do corredor são particularmente propensas a danos e, portanto, deverão ter alguma proteção especial. Por esta razão, o uso de elementos de proteção, como grades ou guardas de canto, deverá ser considerado. Existem diferentes modelos de guardas de proteção que poderão ser empregados (e.g. plásticos, aço inox ou

alumínio), desde que sejam sólidos ou selados de forma a favorecer a higienização.

Tetos: Quando aplicável, tal como acontece com os pisos e paredes, os tetos devem ser resistentes a frequentes lavagens e desinfecções, embora o teto esteja menos sujeito ao desgaste. Tetos de concreto resinado ou pintado são os mais indicados por serem lisos e de fácil manutenção. Para instalações onde existem riscos biológicos, os forros deverão ser fabricados em material impermeável, ter superfície lavável, ser lisos e livres de rachaduras, ser fixados e as suas juntas vedadas.

Em casos onde dutos e canos precisam ser instalados no espaço entre o forro e o teto, como em salas de procedimentos, o acesso no momento da manutenção e ou reparo deve ser realizado por espaço estrategicamente localizado.

Pisos: O contrapiso das instalações deve ser de concreto. O piso considerado ideal deve ser resistente aos produtos empregados nas rotinas de limpeza e desinfecção, bem como ao emprego de máquinas de lavar com jatos pressurizados. O piso deve possuir atrito suficiente para evitar que fique escorregadio quando molhado e a sua qualidade deve ser adequada a ambientes de alto tráfego. O material empregado deve oferecer facilidade de reparo, ao mesmo tempo em que deve suportar o peso e movimento dos equipamentos das instalações, de maneira que não abram fissuras, trincas ou rachaduras e também não fiquem corroídos. As juntas de dilatação devem, sempre que possível, estar localizadas na base das paredes. A qualidade do acabamento é importante para a higiene, a limpeza e a durabilidade.

Janelas: Sempre que possível, as janelas devem abrir, e ser instaladas de forma a permitir a penetração de luz natural no ambiente dos animais. Somente quando necessário, de acordo com a finalidade do biotério, as janelas deverão ser instaladas em corredores externos, que não sejam contíguos às salas de animais. Janelas internas entre salas ou entre salas e corredores, muitas vezes, oferecem maior conforto por favorecer uma melhor visão e, consequentemente, por reduzir a sensação de claustrofobia. Também poderão ser instaladas nas salas cirúrgicas para maximizar a comunicação visual e deverão ser de material resistente, com uma armação metálica alinhada ou embutida nas paredes.

Portas: As portas das instalações para animais devem ser resistentes, impermeáveis e duráveis. As portas

devem ser confeccionadas de modo a não terem frestas e, quando necessário, ser vedadas para evitar o acúmulo de sujidades e o abrigo de insetos. Sempre que possível, os batentes deverão ser da largura das paredes, embutidos nela e não sobrepostos. As portas devem ter dimensões que permitam a livre passagem de materiais, equipamentos e pessoas.

Recomenda-se uma abertura nominal de 1 m, quando se tratar de portas simples e, no caso de portas duplas, estas deverão atender às necessidades das instalações. Como medida de proteção, a sua metade inferior poderá ser revestida com material resistente a impactos. Algumas portas podem necessitar de uma proteção adicional contra carinhos de transporte. Nos casos em que a distância do chão for superior a 3,0 mm, recomenda-se a instalação de um dispositivo que vede o vão.

Por questões de segurança, é aconselhada a instalação de visores nas portas em áreas destinadas aos animais. Para as salas de alojamento de animais, sugerem-se visores com dimensões de 15X20 cm, sendo que estes deverão permitir um fechamento sempre que houver incidência de luz ou trânsito intenso de pessoal. Em certas situações, como em áreas especiais, poderão ser empregados visores maiores que ajudam a tornar o espaço menos claustrofóbico.

2.3.5.13. Fornecimento de energia elétrica e iluminação

A rede elétrica deverá ser dimensionada de modo a permitir um número apropriado de lâmpadas e tomadas, sendo estas adequadas aos diferentes tipos de equipamentos que serão instalados. O cálculo de dimensionamento de carga deverá contemplar uma margem de segurança e uma provável expansão das instalações e número de equipamentos. É recomendável a instalação de sistema paralelo de gerador de energia para a manutenção do funcionamento dos sistemas críticos das instalações, tais como luzes de emergência, freezers, equipamentos para conforto térmico e de umidade dos animais e, em situações especiais, outros equipamentos estratégicos para a unidade.

As luminárias, os interruptores, as tomadas e outros elementos integrantes das salas de alojamento dos animais deverão ser vedados para impedir o acúmulo de sujidades, microrganismos e abrigo de insetos. As lâmpadas ou luminárias devem possuir proteção para as rotinas de limpeza e desinfecção. Os interruptores e tomadas deverão ser aterrados e vedados nas áreas com muita exposição à água, como nas salas de lavagem e outros ambientes com elevada umidade.

2.3.6. Controle do ambiente das instalações

O controle das variáveis ambientais dentro das instalações é fundamental tanto para os animais quanto para a equipe de técnicos que nela trabalha e para a validação das pesquisas. O ambiente deve assegurar um padrão sanitário ao mesmo tempo em que promova o bem-estar dos animais. Agentes físicos, químicos e biológicos podem influenciar no comportamento e fisiologia dos animais e modificar os resultados de uma pesquisa.

2.3.6.1. Ruídos

O ruído pode ser controlado nas instalações, a partir de um projeto arquitetônico bem elaborado, uma construção adequada, seleção criteriosa dos materiais construtivos e dos equipamentos, associada com boas práticas gerenciais. Os efeitos do ruído nos animais estão relacionados com a sua intensidade, frequência, intermitência e duração. Ruídos excessivos e inapropriados podem ser irritantes e, algumas vezes, danosos para a saúde animal e humana, portanto, devem ser controlados. Deve ser respeitado o limite máximo de decibéis (dB), conforme legislação vigente, o qual deve ser considerado a partir de um ponto próximo à fonte do ruído. Mesmo ruídos abaixo desse valor máximo, devem ter frequência e duração menores possíveis.

Fontes de ruídos provenientes das rotinas de apoio, como da área de higienização de materiais, devem estar o mais distantes possíveis das áreas de alojamento dos animais, bem como das salas de procedimentos.

De alta significância são os ruídos ultrassônicos, imperceptíveis aos humanos e audíveis para os animais. Muitas fontes de ruído nas instalações emitem ultrassom, portanto, deverão ser adotadas medidas para identificar e corrigir ou isolar essas fontes de forma a proteger os animais.

2.3.6.2. Vibrações

As fontes de vibração podem ser várias, dentro ou fora do ambiente dos animais e devem ser consideradas nos projetos de engenharia. A vibração externa pode surgir de um equipamento mecânico e ser transmitida pelas paredes e pisos. Um exemplo é uma aproximação das instalações com trilhos de metrô ou trem, ou em vias de intenso tráfego de automóveis e caminhões. Nestes casos, deve ser dada uma atenção especial ao tipo de estrutura do edifício. As

vibrações excessivas podem induzir alterações de comportamento, padrão imunológico, bioquímico e reprodutivo dos animais.

2.3.6.3. Temperatura e umidade

A temperatura dos ambientes destinados aos animais deverá ser monitorada continuamente, com o intuito de promover um ambiente adequado à espécie, raça e estágio de vida do animal, tomando medidas que visem seu conforto térmico.

A temperatura ideal para cães e gatos oscila entre 20 e 25 °C, sendo os gatos mais afeitos a ambientes mais aquecidos. Flutuações diárias devem ser evitadas a fim de que não haja interferência significativa nos processos metabólicos e comportamentais e para evitar alterações na resposta fisiológica com repercussões na saúde e bem-estar dos animais. A anotação diária da temperatura deve ficar à mostra para acompanhamento e eventuais fiscalizações.

No caso de ambientes fechados, recomenda-se que a umidade relativa do ar seja mantida entre 40 e 60%. Valores acima ou abaixo desta faixa de variação têm como consequência alterações na resposta fisiológica com repercussões na saúde e bem-estar dos animais. Em ambientes abertos, deve-se criar mecanismos de sombra e proteção para manter as condições de conforto e segurança, como descrito anteriormente nos itens referentes às instalações.

2.4. Instalações específicas para cães

As instalações dos cães têm grande influência na interação entre os animais e na prevenção de distúrbios de comportamento. Eles precisam conviver proximamente para poder expressar seu comportamento natural e estabelecer uma relação de confiança entre eles e com as pessoas do serviço. Animais que mantêm contato apenas visual podem desenvolver comportamento antissocial. Os animais podem apresentar transtornos de comportamento como lambeduras excessivas e automutilação, latir excessivamente, perder o apetite, apresentar depressão e agressividade. Idealmente, os cães devem ser mantidos em grupo ou em pares.

As instalações dos canis devem permitir que os animais tenham contato visual com o ambiente externo, bem como com outros animais.

Cada recinto primário deve ter, no mínimo para cada animal: um comedouro (podendo ficar disponível so-

mente no período de alimentação), um bebedouro e local apropriado para o descanso. A área mínima coberta destinada a cada animal deve atender ao previsto na Tabela 1. A área de solário deve ter, no mínimo, a mesma metragem.

Tabela 1. Espaço mínimo coberto para cães mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica:

Peso em kg	Área de piso em m ²	Altura em m
<12	1,1	1
12-30	1,86	2
>30	2,2	2

Fontes: Canadian Veterinary Medical Association. In: Code of Practice for Canadian Kennel Operations. 2nd ed. p. 25. 2007; Miller L, Janeczko S. Canine care in the animal shelter. In: Shelter Medicine for Veterinarians and Staff. Miller L, Zawistowski S. 2nd Ed. Wiley-Blackwell. p. 135. 2013.

A construção deve prever estratégias que evitem os problemas citados anteriormente e deem aos animais oportunidade de escolhas dentro do ambiente. A presença de ambientes reservados dentro dos canis com livre escolha dos animais (e.g. mezanino) permite que os mesmos possam se isolar dos outros quando quiserem. O posicionamento dos canis com cães dominantes, no final do corredor de canis, traz mais tranquilidade ao ambiente do que em locais de maior visibilidade. A manutenção de cães de uma mesma raça juntos favorece a interação, visto apresentarem comportamento mais uniforme.

Quando em ambientes fechados, nos quais os animais sejam privados de acesso externo, devem haver trocas de ar 8 a 12 vezes por hora e ciclo de luz de 12 horas escuro/claro. As instalações devem ser específicas e adequadas aos fins a que se destinam, devendo existir a separação entre instalações de produção, manutenção e utilização. Variações em padrões estruturais só poderão existir, quando autorizadas pelo Conceca, mediante consulta encaminhada pela CEUA institucional, justificada pela finalidade da instalação em questão.

Os animais devem ser sempre identificados, sendo os meios mais utilizados: microchip aplicado por via subcutânea entre as escápulas, colar com ficha de identificação ou tatuagem na face interna do pavilhão auricular.

No interior dos canis deve haver oferta de:

- a) Comedouro de tamanho adequado e confeccionado com material resistente e atóxico;
- b) Alimento de qualidade superior e adequado para a espécie, idade, condição corpórea e fase de desenvolvimento ou atividade;

c) Água potável limpa, fresca e *ad libitum*;

d) Uma cama seca, afastada em pelo menos 5 cm do solo por animal. Tablados higienizáveis e compatíveis com o peso dos animais são recomendados;

e) Área livre para defecação longe da área de dormir, com as fezes removidas pelo menos duas vezes ao dia;

f) Oportunidade de ver e sentir o cheiro de outros cães, com a ressalva de que as fêmeas em estro devem ser alojadas longe de machos;

g) Os canis devem ser totalmente higienizados pelo menos uma vez por dia. Se a higienização total for feita apenas uma vez por dia, os dejetos (fezes e urina) deverão ser removidos sempre que necessário. Especial atenção deve ser dada para cães jovens com menos de 16 semanas de idade;

h) Canis em área externa devem fornecer sombra e abrigo do vento, do frio e da chuva e ser bem drenados (quando for o caso), de forma a não permitir que águas fiquem empoçadas; e

i) A área externa de canis com solário deve fornecer acesso livre do animal para ambas as áreas, permitindo ao animal a escolha.

As instalações devem manter atualizados planos de ação emergencial, tais como: incêndio, catástrofes naturais ou qualquer outra em que a rápida retirada dos animais seja necessária. O corpo técnico deve ser treinado para a execução do plano e a administração da instalação deve manter registros desses treinamentos.

Quando não houver risco biológico, as instalações específicas para cães devem possuir solário de livre acesso, com piso de fácil higienização. As instalações ainda devem possuir parques de piso natural (grama, terra, areia, etc.) ou outro piso de fácil higienização, que permitam que os cães sejam soltos periodicamente em grupos de afinidade se exercitem fisicamente e expressem o comportamento social natural da espécie.

2.4.1. Ambiente para produção de cães

Quando submetemos diversos animais a um determinado estudo, esperamos obter deles as respostas mais parecidas possíveis, para que possamos comparar os resultados de forma confiável. Para que os animais possam dar respostas similares, deveremos, por conseguinte, procurar controlar todas as variáveis que esses animais possam

apresentar. Assim, as instalações de produção são aquelas onde se encontram as matrizes que originam toda a produção e cujos objetivos visam a controlar e definir, antes do estudo, as seguintes características:

- a) o estado de saúde do animal;
- b) Sua carga genética;
- c) O manuseio feito com o animal de modo a torná-lo mais dócil;
- d) A alimentação empregada;
- e) O ambiente adequado;
- f) Outros fatores que possam ocasionar estresse, influenciando a resposta esperada.

Para que todos esses objetivos sejam atingidos, as instalações de produção necessitam de um ambiente adequado, pessoal capacitado e uma rotina de trabalho bem definida. O grande problema enfrentado pelas diversas instituições científicas é o alto custo que representa a construção e a manutenção desse tipo de instalação.

2.4.1.1. Acesso dos funcionários e visitantes

O acesso aos ambientes de produção, quando houver risco biológico, deve contar com barreiras, tais como: banho obrigatório, paramentação e pedilúvio. Vestimentas utilizadas nestas instalações devem preferencialmente ser lavadas no seu interior, em local próprio e destinado a este tipo de manutenção. O uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) deve ser obrigatório e controlado pela administração do setor.

2.4.1.2. Recreação dos animais

O ambiente de produção deve apresentar espaço específico para recreação, jogos e brincadeiras ao ar livre, com separação física para machos e fêmeas não castrados ou grupos. A área deve apresentar refúgio do sol e da chuva, ser confortável e segura. O enriquecimento ambiental deve considerar não somente os jogos e brincadeiras, mas também a possibilidade de exercício físico (ver detalhes no item 2.6.). A frequência de uso desta área pelos animais deve ser diária.

2.4.1.3. Descanso noturno

Os animais devem ter local apropriado para o descanso noturno, acomodados em grupos, em baias, ou isolados, dependendo das condições de manejo, com temperatura ambiente controlada, de forma a evitar flutuações que estejam fora da zona de conforto térmico (entre 20 a 25 °C). O fornecimento de água potável limpa deve ser *ad libitum* e o de alimento deve atender aos requerimentos nutricionais.

A composição dos grupos de animais nos alojamentos deve ficar a cargo do médico veterinário ou pesquisador responsável.

2.4.1.4. Manejo reprodutivo

Animais criados com a finalidade de reprodução devem ser avaliados constantemente e ter a sua puberdade identificada e registrada. O primeiro ciclo estral, que marca o início da puberdade, deve ser evitado como ponto de partida para a reprodução das fêmeas. A idade média da puberdade pode variar dependendo da raça, clima, manejo e alimentação dos animais.

Antes da realização de qualquer tipo de procedimento reprodutivo, tanto o macho quanto a fêmea devem passar por avaliação clínica e reprodutiva (exames andrológico e ginecológico) realizada pelo médico veterinário. O animal tem que estar hígido com a vacinação e vermifugação atualizadas. Deve-se descartar a presença de doenças sexualmente transmissíveis como leptospirose, brucelose, herpesvírus e tumor venéreo transmissível (TVT). Recomenda-se a exclusão de fêmeas portadoras de sarna demodécica. Além disso, animais criptorquidas e com doenças de fundo genético devem ser retirados da reprodução, uma vez que tais afecções podem ser transmitidas para a prole.

Normalmente, os machos entram na puberdade entre 7 e 8 meses de idade, enquanto nas fêmeas a idade varia de 6 a 14 meses, dependendo da raça e do porte do animal. A atividade reprodutiva pode ser estendida até os 4 a 6 anos, no macho, e 6 a 8 anos, na fêmea, ou a critério do médico veterinário. Depois disso, os animais devem ser encaminhados para adoção.

A duração do estro é em média de nove dias, podendo ser mais curto ou mais longo.

Esta variação é individual, além de poder ser diferente a cada ciclo na mesma cadela. O ciclo estral das cadelas pode ser dividido em cinco fases: o proestro (desenvolvimento folicular), estro ou cio (amadurecimento folicular e ovu-

lação), metaestro (desenvolvimento do corpo lúteo), muitas vezes não definido em cães, diestro (formação, desenvolvimento e estabelecimento do corpo lúteo) e anestro (fase de quiescência reprodutiva). A citologia vaginal é muito útil na identificação do momento ideal para acasalamento ou inseminação artificial e a cobertura ou inseminação artificial deve ser efetuada o mais próximo possível da ovulação.

A gestação nas cadelas tem duração de 58 a 64 dias, podendo variar de acordo com a idade, número de gestações ou de fetos. Em casos de confirmação da gestação (geralmente por meio de ultrassonografia), a fêmea deve entrar em programa de pré-natal e cuidados específicos até o parto.

As baias destinadas ao acasalamento dos animais devem ser isoladas do plantel alojado nas instalações de produção. As atividades realizadas com finalidade reprodutiva devem estar sob a supervisão do médico veterinário responsável, ao qual cabe, também, determinar a frequência de gestação e o tempo de vida reprodutiva da fêmea, respeitando aspectos etológicos, sanitários e escores de condição corporal.

Fêmeas gestantes devem conviver com o plantel, ter acesso às áreas externas, banho de sol, jogos e brincadeiras e participar da rotina até que o médico veterinário responsável julgue necessária a acomodação na maternidade. As fêmeas devem ser alojadas em maternidades isoladas do plantel no período pré-parto.

Quanto ao comportamento no período que antecede ao parto, a cadela procura se isolar, deixa de se alimentar, faz ninho, apresenta galactorreia e relaxamento de musculatura e vulva. Nota-se queda na temperatura corpórea pela influência da progesterona (-1 a -2°C). Esse fato é detectado em torno de 24 horas antes do trabalho de parto.

Para adequada assistência médica neste período, deve haver um ambiente adequado destinado a intervenções cirúrgicas (e.g. cirurgia cesariana), bem como com local para recuperação. O atendimento veterinário pode ser externo e terceirizado, desde que seja aprovado pela CEUA institucional. A maternidade deve ter acomodação para a permanência de mãe e filhotes para o período de amamentação (que deve ser no mínimo de 30 dias), ser confortável e possuir temperatura controlada.

Os filhotes nascem com imaturidade de termorregulação e devem ser mantidos aquecidos por sete dias, seja com a mãe ou com aquecimento artificial. Caso não haja leite materno ou esta não colabore, deve-se iniciar o aleitamento artificial imediatamente. O aleitamento em geral é a cada 2 horas ou de acordo com a inquietação da ninhada. Cuidado especial diário (desinfecção) deve ser dado ao umbigo até a sua completa cicatrização, por ser uma porta aberta para infecções. Além desses cuidados, devem-se estimular os filhotes a urinar e a defecar com o auxílio de um algodão, que deve ser levemente passado sobre a região genital e anal do filhote.

Para cada ninhada, devem ser mantidos os registros das cópulas (dia, identificação da fêmea e do macho). Deve haver registros detalhados do acompanhamento clínico da prenhez, condições de nascimento, possíveis complicações, número de nascidos na mesma ninhada, descrição física dos nascidos e peso. Os filhotes devem ter registros detalhados do desenvolvimento pós-natal até o desmame e separação da mãe, que não deve ser inferior a trinta dias. O médico veterinário responsável deve estabelecer a conduta de manejo e de imunização dos filhotes.

2.4.2. Ambiente de manutenção para cães

Entende-se por ambiente de manutenção o local em que animais são alojados no período entre a saída do ambiente de produção e sua condução ao ambiente de utilização, doação ou venda.

Os ambientes de manutenção devem atender às necessidades dos animais que permanecerem nestas acomodações. Devem ser delineados adequadamente para abrigar animais de diferentes idades e peso. Os animais devem ser alojados preferencialmente em dupla ou grupos, respeitando as relações hierárquicas estabelecidas entre eles.

2.4.3. Ambiente de utilização para cães

Para que o projeto realizado no animal tenha o resultado esperado, é necessário controlar, ao máximo, os fatores que possam interferir, direta ou indiretamente, e só permitir variar aquelas características que se quer estudar. Assim, nos ambientes de utilização, se procura padronizar o ambiente, a alimentação e o manejo de acordo com as normas estabelecidas pelo projeto. Tal como nos ambientes de produção, os de utilização devem ser especialmente projetados, contar com pessoal capacitado e com uma rotina de trabalho bem definida.

Quando se tratar de estudos de doenças potencialmente transmissíveis ao homem (zoonoses), a estrutura, bem como a rotina de trabalho, terá que oferecer barreiras à transmissão de agentes patogênicos.

Estas instalações devem possuir espaço para: recepção, aclimatação (mínimo cinco dias) e, quando for o caso, preparação dos animais para procedimentos e recuperação.

2.4.3.1. Exigências quanto ao ambiente de utilização para cães

a) Um ambiente de utilização deverá ser separado do de produção, mas a necessidade e critérios desta separação poderão variar em função das características de uso do canil. Em se tratando de estudos que envolvam doenças transmissíveis, rigorosa separação é necessária.

b) Quando se tratar de estudos com riscos de propagação de contaminação química ou biológica, os ambientes de produção deverão estar sempre em uma situação independente quanto à estrutura física, pessoal e material, em relação aos demais laboratórios da instituição e seguindo rigorosamente o Plano de Gestão de Resíduos Sólidos de saúde, a fim de provê-lo de maior segurança e menor risco de contaminações indesejáveis.

c) Qualquer animal que entrar em um ambiente de produção deverá passar por um período de quarentena. Do mesmo modo, animais que chegam aos ambientes de utilização terão de passar por um pequeno período de aclimatação antes de serem utilizados;

d) as gaiolas individuais devem ter piso que garanta a higienização e não deve propiciar ferimentos ou irritação das patas do animal;

e) aos animais alojados em gaiolas individuais deve ser garantido seu posicionamento em pé, com as quatro patas apoiadas sobre o piso da gaiola, com a cabeça em posição confortável e espaço suficiente para dar uma volta inteira em torno de seu corpo, sem pisar nas vasilhas de água ou ração, garantindo-se ainda que haja área livre para defecação distante do local onde estão as vasilhas de água ou ração e do espaço para dormir;

f) animais que forem submetidos a protocolos cirúrgicos, ao final do procedimento, devem ser acomodados em sala de recuperação, pelo tempo que for necessário, sendo o período mínimo aquele necessário à completa recuperação da anestesia. A área destinada à recuperação deve ser localizada contígua ao centro cirúrgico e a assistência de médico veterinário deve ser garantida, assim como a manutenção de analgesia durante o período pós-cirúrgico. A temperatura e a umidade relativa do ambiente devem ser controladas e mantidas na região de conforto térmico da espécie, podendo, entretanto, ser necessária a utilização de manobras de aquecimento caso haja hipotermia.

2.5. Instalações específicas para gatos

O território dos gatos é organizado em zonas distintas, de modo que o animal possa repousar, caçar, alimentar-

-se e realizar suas necessidades fisiológicas, distanciando-se de outros gatos. O território felino é rodeado por marcações urinárias e olfativas para afastar gatos estranhos e inclui:

- a) Zona principal, onde o animal despende 80% do seu tempo e pode dividir com outros gatos familiares;
- e
- b) Zona periférica, com áreas suplementares destinadas à caça e à excreção urinária e fecal. Os territórios são ligados por corredores comuns utilizados por diversos gatos, delimitados por marcações de urina e garras.

O comportamento natural de gatos que vivem em confinamento (redução do espaço) inclui:

- a) Marcação do território, roçando a face em objetos existentes no espaço habitacional;
- b) Demarcação com jatos de urina e com garras, definição das áreas de repouso e de excreção urinária e fecal; e
- c) Estabelecimento da distância necessária, subindo em prateleiras e móveis. Esse equilíbrio pode ser perturbado pela má distribuição das zonas e recursos (alimento, água, caixa de areia).

O estresse entre os animais diminui se alguns princípios forem respeitados:

- a) Área de alimentação: suprimento alimentar diário a todos os gatos, com um comedouro/animal e bebedouro mantidos limpos e em quantidade adequada;
- b) Área de repouso: criar uma área individual para cada gato (e.g. prateleiras, cestos, camas, tecidos, toalhas enroladas); e
- c) Caixa sanitária: deve ter dimensões compatíveis com o tamanho dos animais usuários. Deve ser colocada num local calmo e, se possível, com dois acessos para evitar que o animal se sinta encurralado. Recomenda-se manter pelo menos uma caixa sanitária por animal quando os animais forem alojados em grupos e devem ser limpas pelo menos uma vez ao dia, para assegurar que o odor de fezes e urina não exale para o ambiente e não afete o bem-estar dos animais, bem como a percepção destes durante uma prova de alimentação. Nos casos em que não seja possível atender a recomendação de uma caixa sanitária por animal, é importante, principalmente, que a instituição esteja comprometida com um manejo higiênico-sanitário adequado e eficiente, assegurando o bem-estar desses animais.

As instalações devem ter boa iluminação, o ambiente mantido sempre seco e com condição de contato entre os

animais. É necessário o controle de ruídos e outros distúrbios como vibrações e níveis de luminosidade, temperatura e umidade devem ser apropriados ao conforto dos gatos.

A área destinada aos gatos não deve ser muito próxima de áreas destinadas a outras espécies, devido ao estresse provocado pela visão ou audição dos animais. Um dos fatores mais importantes para o bem-estar dos animais é o treinamento específico e a familiarização da equipe com as necessidades dos animais. Os gatos são animais sociáveis e o contato com as pessoas é essencial para o seu bem-estar. Esse aspecto é especialmente importante se os animais são utilizados em experimentação, devido ao tempo de permanência e a necessidade de manipulação diária. Nestes casos, o contato regular com seres humanos os deixa mais tranquilos e dóceis. O contato é mais eficiente se realizado fora do horário de manejo do experimento em questão. Alguns animais necessitam de maior contato que outros e isso deve ser reconhecido e considerado pela equipe. Se os membros da equipe se tornam familiares, os gatos ficam mais confiantes e colaboradores na experimentação. A necessidade de contato é mais importante para os gatos jovens que foram introduzidos no grupo há pouco tempo.

Em casos de animais mantidos individualmente, a área destinada a cada gato deve ser, no mínimo, 76 cm de profundidade, 121 cm de largura e 91 cm de altura, o que permite o uso de espaço vertical, fundamental para melhorar a qualidade do ambiente para os animais.

Também permite melhor circulação do ar e conseqüente controle das doenças respiratórias felinas. As áreas de descanso, alimentação e eliminação (caixa sanitária) devem estar separadas entre si em pelo menos 60 cm de distância.

Gaiolas metabólicas de uso temporário podem ser usadas para atender ao protocolo de pesquisa e devem possuir as dimensões mínimas previstas no parágrafo anterior. A inclusão de prateleiras, arranhadores e brinquedos é importante para o enriquecimento ambiental.

O ambiente deve conter áreas suspensas, com proteção solar e para descanso. Existem vários tipos de plataformas para diversão e exercício dos gatos. Eles gostam tanto de ambientes verticais quanto de horizontais. Áreas internas e externas podem se comunicar por meio de túneis. A área externa deve prevenir fugas, transmissão de doenças e ser facilmente desinfetada. O desenho e a organização do alojamento devem considerar que gatos são animais territoriais, garantindo:

- a) Possibilidade de estabelecer distância entre os indivíduos do grupo, como previsto anteriormente;
- b) Acomodação em estruturas altas (mínimo de 1,0m) que permitam o comportamento de monitorar o

ambiente, no que se relaciona à entrada de pessoas e ao movimento dos outros animais do grupo alojados no mesmo espaço;

c) Estruturas para escalada compostas de passarelas ou prateleiras de variadas alturas com rampas que propiciem o acesso dos animais de pequeno porte aos patamares mais altos; e

d) Número compatível de áreas de descanso abertas sobre plataformas (camas) ou fechadas (caixas) baixas para que possam se isolar.

É aconselhável que almofadas e cobertas estejam disponíveis e sejam de fibra de poliéster, algodão ou atalhados, podendo ser adicionado também papelão ondulado, mas não em substituição. O desconforto para o descanso leva os animais a descansar nas caixas sanitárias, o que é indesejável.

O substrato das caixas sanitárias deve ser de material específico para gatos. Comedouros, bebedouros, camas e caixas sanitárias devem estar distantes pelo menos 60 cm, uns dos outros.

Deve-se garantir drenagem completa das águas de limpeza, não sendo aceita a condição de umidade em piso, parede ou teto, sob nenhuma hipótese. Pisos, portas, paredes, teto e grades devem ser mantidos limpos e livres de fungos.

2.5.1. Instalação de produção para gatos

O acompanhamento do trato reprodutivo deve ser o primeiro passo para o manejo reprodutivo. Animais criados com a finalidade de reprodução devem ser avaliados constantemente e ter a sua puberdade identificada e registrada. O primeiro ciclo estral (puberdade) deve ser evitado como ponto de partida para a reprodução das fêmeas. A maioria delas ainda não está morfológicamente madura neste momento e há um consenso de se iniciar a reprodução a partir do segundo episódio de cio. O primeiro cio ocorre entre cinco e nove meses de vida, mas alguns fatores podem interferir, como raça, estação do ano e condição corporal. As gatas só ovulam quando houver a cópula.

Antes da realização de qualquer tipo de procedimento reprodutivo, tanto o macho quanto a fêmea devem passar por avaliação clínica e reprodutiva (exames andrológico e ginecológico) realizada pelo médico veterinário. O animal tem que estar hígido e com a vacinação e vermifugação atualizadas. Deve-se descartar a presença de doenças sexualmente transmissíveis. Além disso, animais criptorquidas e com defeitos congênitos devem ser retirados da reprodução, uma

vez que tais afecções apresentam fundo genético e podem ser transmitidas para a prole.

O comportamento reprodutivo das gatas é poliéstrico sazonal de dias longos. Por isso, apresentam mais eficiência reprodutiva no verão (dias mais longos). Ambientes controlados podem ser uma opção no controle específico de fotoperíodo, utilizando, por exemplo, ciclo 14/12h claro/escuro, para estimulação dos ciclos reprodutivos das fêmeas.

O ciclo estral das gatas pode ser dividido em cinco fases:

a) Proestro: geralmente, essa fase não é detectada e costuma durar apenas um dia. As gatas podem esfregar a cabeça contra objetos e uma secreção mucosa pode sair da vulva. Nessa fase, os machos tentam uma aproximação, mas as fêmeas ainda não permitem a monta;

b) Estro (cio): em média, o cio tem uma duração de cinco dias, mas pode variar de dois a 19 dias. Nessa fase, as gatas mostram-se receptivas aos machos. Apresentam comportamento característico como: elevação da cauda para um dos lados e quadril elevado e costumam vocalizar um som característico que atrai os machos;

c) Interestro: quando não ocorre ovulação, o período entre um estro e outro é chamado de interestro e costuma durar em média sete dias (podendo variar entre dois e 19 dias). Nenhum sinal de reprodução é visto nessa fase;

d) Anestro: esse é a ausência de ciclo e costuma ocorrer nos meses de dias curtos, geralmente, no inverno;

e) Diestro: também conhecida por fase luteal, essa é a fase que ocorre após a ovulação (quando houve a cópula) e o hormônio predominante é a progesterona.

A citologia vaginal identifica o momento ideal para acasalamento ou inseminação artificial. Uma vez em estro, deve ser coberta ou inseminada em média a cada 48 horas, até que o quadro se modifique para o diestro.

As baias destinadas ao acasalamento dos animais devem ser isoladas de outros animais. O controle dos acasalamentos deve estar sob a supervisão do médico veterinário responsável. Cabe também ao médico veterinário determinar a frequência de gestação e o tempo de vida reprodutiva da fêmea, respeitando aspectos etológicos, sanitários e escores de condição corporal. O destino das fêmeas ao término da sua vida reprodutiva deve ser registrado, sendo a adoção o mais adequado.

O período de gestação nas gatas é em média de 58 a 62 dias. Fêmeas gestantes devem conviver com o plantel, ter acesso às áreas externas, banho de sol, jogos e brincadeiras e participar da rotina até que o médico veterinário res-

ponsável julgue necessária a acomodação na maternidade, as quais devem ser isoladas do ambiente do plantel. Para adequada assistência médica neste período, deve haver um ambiente adequado destinado a intervenções cirúrgicas (e.g. cirurgia cesariana), bem como com local para recuperação. O atendimento veterinário pode ser externo e terceirizado, desde que isso seja aprovado pela CEUA institucional. A maternidade deve ter acomodação para a permanência de mãe e filhotes para o período de amamentação (que deve ser no mínimo de 30 dias), ser confortável e possuir temperatura controlada.

2.5.2. Instalações de manutenção para gatos

Entende-se por instalação de manutenção o local em que animais são abrigados no período entre a saída da instalação de produção e sua condução à de experimentação, doação ou venda. Portanto, as instalações de manutenção para gatos podem fazer parte fisicamente das instalações de produção ou de experimentação.

Os animais provenientes das instalações de produção ou da quarentena (após aquisição) devem ser inicialmente alojados isoladamente em espaços suficientemente grandes, que permitam livre circulação e expressão de comportamento exploratório, contendo enriquecimento ambiental, água e alimento. Estas providências têm a finalidade de minimizar o estresse da transferência e prevenir conflitos entre animais de grupos sociais anteriormente distintos. Quando realojados em grupos, deve ser guardada a proporção de pelo menos 1m² de piso por animal, bem como a estrita observação de convivência social pacífica (como previsto anteriormente). Os animais podem ser transferidos para gaiolas individuais, caso a situação da pesquisa assim exija, e a dimensão das gaiolas deve ser de, no mínimo, 1m² de piso por animal quando a permanência dos animais nas gaiolas for inferior a duas semanas. Quando a pesquisa exige confinamento prolongado dos gatos, estes devem ser alojados em gaiola com no mínimo 1,5m² de piso por animal. Recomenda-se o emprego de gaiolas altas, com no mínimo 0,6m de altura e providas de prateleiras que permitam aos animais permanecerem em local elevado, distante do fundo da gaiola.

Os animais que demonstrarem dificuldades de convívio em grupo para o desenvolvimento de atividades de ensino ou de pesquisa científica deverão ser alojados individualmente, garantindo-se as metragens determinadas de alojamento e contato visual com outros animais.

2.5.2.1. Manutenção de grupos

A introdução de novos animais em um grupo deve ser feita cautelosamente e sob supervisão, sendo aconselhável que os primeiros contatos sejam breves e o novo componente esteja protegido (e.g. dentro de uma gaiola). O tempo usual para que o novo componente do grupo seja solto no alojamento é de aproximadamente duas semanas e deve ficar a critério do médico veterinário ou pesquisador responsável.

Toda a água utilizada para limpeza ou para consumo pelos animais deve ser potável, com controle de contaminação microbiológica ou química. O histórico das verificações periódicas de amostras aleatórias, segundo protocolo próprio do plano de qualidade, deve ser mantido à amostra. A água deve ser oferecida *ad libitum* em bebedouros comerciais adequados à espécie, (não expostos ao ambiente externo), com manutenção de rotina de limpeza de acordo com protocolos descritos no plano da qualidade.

2.5.3. Instalações de utilização para gatos

As instalações de utilização para gatos devem seguir as orientações gerais anteriormente descritas para os cães. Deve-se observar, ainda, que os alojamentos de confinamento e isolamento não poderão exceder o tempo absolutamente necessário para a coleta de dados, que deve ser detalhado na proposta aprovada pela CEUA, considerando-se o alto grau de estresse causado a esta espécie. As dimensões devem respeitar ao previsto na anterior.

2.6. Estratégias de enriquecimento ambiental para cães e gatos

Enriquecimento ambiental é qualquer medida que promova a expressão de comportamentos naturais específicos da espécie e diminuição, se não o desaparecimento, de comportamentos anormais e/ou estereotipados. Deve ser focado na promoção de um efeito positivo no bem-estar físico e psicológico do animal.

O propósito do enriquecimento é reduzir o estresse e melhorar o bem-estar através da estimulação física e mental, promovendo comportamentos naturais da espécie e oferecendo aos animais um maior controle do seu ambiente. Um programa eficiente de enriquecimento evita o desenvolvimento e aparição de comportamentos anormais, que comprometem a qualidade de vida dos animais. O enriquecimento deve ter a mesma importância como outros componentes

do cuidado animal, por exemplo, nutrição e cuidado veterinário, portanto, não deve ser considerado uma opção.

2.6.1. Relação social com o ser humano

Tratadores, pesquisadores e técnicos devem ser uma fonte de enriquecimento social para os animais. Funcionários das instalações, pessoal envolvido no estudo, ou mesmo, voluntários não associados ao estudo, podem passear com os cães em espaços especificamente destinados, desde que não interfiram nas atividades de ensino ou de pesquisa científica às quais os animais estejam dedicados. A entrada frequente no recinto e o contato físico com os animais são recomendados. O contato regular com um membro do grupo de pesquisa também é recomendado. Interação humano-animal é importante para o bem-estar dos animais, portanto, a manipulação deles só deve ser realizada por pessoas treinadas para este fim.

As instituições que utilizem cães e gatos devem possuir espaços separados para as espécies.

Os alojamentos dos animais diferem do ambiente natural, assim a ciência incentiva a que os alojamentos atendam às necessidades específicas de cada espécie, visto que os animais são seres complexos, com necessidades comportamentais e fisiológicas especiais.

2.6.2. Cuidados a serem considerados para o enriquecimento ambiental

O enriquecimento ambiental deve ser fornecido como parte dos cuidados de rotina dos animais. Devem ser levadas em consideração as necessidades comportamentais da espécie, incluindo a disponibilidade e desenho de espaço que permite livre movimentação e atividade, descanso, privacidade e contato com outros da mesma espécie.

Também é importante observar que o enriquecimento ambiental deve ser realizado com cautela, pois pode causar, também, danos indesejados aos animais e comprometer os resultados a serem obtidos.

É fundamental que se considere o histórico de cada animal para o oferecimento dos itens de enriquecimento ambiental. Além disso, cuidados quanto a eventual toxicidade, limpeza, fragilidade do material e manutenção devem ser considerados na escolha dos itens para evitar que os animais possam se ferir com os materiais oferecidos ou ainda favorecer a ingestão de corpos estranhos. O mesmo cuidado vale para linhas e eventuais itens que possam se tornar corpos estranhos lineares em gatos, quando ingeridos.

2.6.3. Enriquecimento ambiental para cães

O enriquecimento ambiental refere-se a fatores no ambiente de um animal que garantem uma boa qualidade de vida física e mental. O contato social é a forma predominante de enriquecimento ambiental para cães. A introdução de objetos (e.g. brinquedos) pode promover atividade física e incentivar o comportamento de novas descobertas.

Cães têm como característica passar a maior parte do dia junto com os outros animais do grupo. Portanto, sempre que possível, os cães devem ser alojados em pares ou pequenos grupos de indivíduos. Se o registro do consumo de alimento for necessário, os animais podem ser alimentados individualmente e posteriormente retornar ao seu grupo. Quando o alojamento individual for necessário, deve-se considerar a possibilidade de recintos interconectados, para que possa haver interação entre eles. Quando não for possível o contato físico entre cães em diferentes recintos, o contato visual pode ser mantido com o uso de placas de material transparente entre os recintos.

Todos os cães devem ser mantidos em recintos que proporcionem espaço suficiente para exercer seu comportamento natural e devem ter oportunidade de exercício diário. No caso dos cães mantidos em gaiolas, o exercício diário é indispensável, exceto quando o animal apresentar limitações físicas. O plano de exercício deve ser aprovado e controlado pela CEUA.

A interação entre o pessoal técnico e os animais é um elemento chave na promoção do bem-estar dos cães. Se esta socialização for iniciada com os filhotes durante o período de 4-14 semanas, haverá um impacto positivo durante toda a vida do animal. É recomendável que sejam ensinados comandos básicos aos animais, como chamada, sentar, entendimento do sim e do não. Animais expostos à interação com pessoas e que experimentem diferentes sensações serão mais confiantes e conviverão melhor com as limitações que lhe forem impostas durante a utilização em atividades de ensino ou de pesquisa científica.

A resposta positiva dos cães aos funcionários de uma instalação não se deve somente ao fato da possibilidade do fornecimento de alimentos que estes proporcionam. Esta resposta está também associada à relação dos animais com os tratadores e o carinho destes com eles. Os tratadores devem ser incentivados a passar um maior tempo com os cães, principalmente com aqueles que estiverem alojados individualmente, para prover a relação social que o animal necessita.

Cães abrigados em recintos com espaço para correr podem passar boa parte do dia deitados ou dormindo, não muito diferente dos animais alojados em recintos menores. Um aumento significativo de atividade ocorre quando

pessoas estão presentes, mesmo que esta presença seja sem o objetivo de interagir com o animal. Portanto, o enriquecimento pode ser conseguido, fornecendo ao animal uma variedade de brinquedos, plataformas e principalmente interação com o pessoal envolvido em seu cuidado.

2.6.3.1. Mudança de ambiente e tempo fora de gaiolas

Cães mantidos em gaiolas precisam de variação em seu ambiente e uma oportunidade de explorar novos ambientes e de usar todos os seus sentidos. Cães alojados em um ambiente restrito e imutável podem apresentar anormalidades comportamentais, tais como: latidos incessantes, automutilação e comportamentos repetitivos (comportamentos estereotipados), que incluem salto contínuo em gaiolas, entre outros.

O exercício diário ao ar livre deve ser planejado e realizado em espaços cercados a fim de evitar fugas e acidentes com disseminação de agentes etiológicos. Os animais devem passar várias horas em ambientes livres e em contato com outros cães. Quando a liberação do animal não está disponível ou é prejudicial ao protocolo de pesquisa, os cuidadores precisam proporcionar uma oportunidade para que os cães deixem suas baias ou gaiolas durante pelo menos 60 minutos, duas vezes por dia, mesmo que sob supervisão. O tempo que os cães passam fora de suas gaiolas, enquanto estas são limpas é importante, mas não suficiente. Reconhece-se que estas exigências não poderão ser atendidas em caso de biossegurança ou de saúde pública e quando o protocolo de pesquisa exigir o isolamento do animal dos demais. Nestes casos, possíveis compensações devem ser buscadas.

2.6.3.2. Alimento

O comportamento alimentar dos cães pode ser estimulado com o fornecimento de itens como: materiais para roer, brinquedos alimentícios, produtos comerciais próprios para cães, com o objetivo de enriquecimento alimentar.

2.6.3.3. Enriquecimento do ambiente físico

O recinto deve ter espaço mínimo de 2 metros para permitir que o cão se afaste espontaneamente do corredor de passagem. É recomendada a presença de áreas elevadas para o animal sentar e deitar, tais como plataformas.

Cães passam boa parte do dia em cima destas plataformas ou bancos. O ambiente pode ser aprimorado com a colocação de redes, rampas, tapetes de borracha, carpetes, entre outros. Sempre que possível os cães devem ter acesso a parques de luz natural com piso natural ou outro de fácil higienização.

A equipe deve estar sempre atenta a novos objetos que possam ser colocados no recinto para enriquecer o ambiente dos animais. Ao final de cada sessão com uso de brinquedos, recomenda-se removê-los do ambiente para evitar disputas por dominância em relação aos objetos. Objetos deixados no ambiente continuamente podem provocar distúrbios comportamentais, tais como possessão ou comportamento dominante e obsessivo frente ao objeto.

2.6.3.4. Estimulação olfatória

A estimulação olfatória é muito importante para os cães. Deve-se buscar mecanismos para suprir tal necessidade.

2.6.4 Enriquecimento ambiental para gatos

Gatos adultos podem ser mantidos em recintos individuais ou em grupos, desde que seja observada a ausência de brigas entre eles. Quando o alojamento em grupo for utilizado, a presença de grupos maiores permite a formação de uma hierarquia relativamente estável. Fêmeas adultas formam grupos estáveis e pacíficos mais facilmente do que machos sexualmente maduros. A comunicação entre gatos ocorre em muitos níveis, através da marcação por odores próprios (e.g. urina, fezes, glândulas faciais ou anais), vocalização e postura.

Os gatos mantidos em confinamento buscarão estímulos adicionais com o pessoal envolvido em seu cuidado. O cuidador é um dos fatores mais importantes no bem-estar do gato em colônias. Períodos de tempo que não fazem parte da rotina de alimentação e limpeza devem ser disponibilizados todos os dias para os gatos interagirem com seus cuidadores. Isso pode ocorrer na forma de conversa, carícias ou via interação com um brinquedo. A época mais importante para a socialização de um gato com seres humanos é entre duas e sete semanas de idade e deve continuar ao longo de sua vida.

Os gatos em colônias tendem a organizar suas rotinas diárias em torno das atividades do cuidador. Desta forma, é importante que seja estabelecida uma rotina de cuidado e que esta seja cumprida. Quaisquer mudanças necessitam

ser introduzidas lentamente para evitar estresse desnecessário. Gatos manuseados com carinho e com os quais se interage em tom de voz baixo todos os dias são menos tímidos ou agressivos do que aqueles que não recebem essa atenção. O contato social com seres humanos é particularmente importante para gatos individualmente alojados. O pessoal que trabalha com gatos deve ser selecionado pela calma e suavidade no trato com estes animais.

2.6.4.1. Alimento

Os gatos são carnívoros e geralmente preferem uma variedade de fontes de proteína animal. O padrão de alimentação favorito dos gatos é o de pequenas e frequentes refeições. Brinquedos ou recipientes com buracos podem ser utilizados para conter comidas secas, fornecendo uma atividade de brincadeira além da alimentação padrão.

2.6.4.2. Ambiente físico

A manutenção de gatos em um ambiente que permita exploração tridimensional e incentive uma ampla gama de comportamentos naturais promove seu bem-estar e os tornam melhores modelos para pesquisas científicas. Gatos alojados sozinhos necessitam de contato visual e olfatório com outros gatos. Em gatos alojados em grupos, o espaço mínimo necessário é determinado por suas necessidades sócio-espaciais mais do que por seu peso corporal.

Gatos são bons escaladores e se tiverem esta opção, passarão boa parte do tempo acima do nível do chão. A dimensão vertical é muito importante para os gatos e o fornecimento de rampas, plataformas e postes para escalar incentivam este comportamento.

Os gatos podem passar 14-16 horas por dia descansando e dormindo. Portanto, materiais macios devem ser fornecidos para este momento. Tapetes, caixas ou panos de diferentes tecidos podem ser fornecidos. Gatos que dormem em superfícies macias têm períodos maiores de sono profundo do que gatos que dormem em superfícies rígidas, sugerindo que eles se sentem mais seguros.

Esconder-se é um comportamento de defesa apresentado pelos gatos em resposta a situações potencialmente estressantes. Caixas fechadas devem ser fornecidas para este comportamento. Se um gato tiver opções de escolha sobre seu ambiente físico e social, ele desenvolverá formas mais eficazes de lidar com estímulos imprevistos.

2.6.4.3. Brinquedos

Os gatos têm necessidade do uso dos arranhadores com diferentes substratos e inclinações para afiar as unhas ou fazerem marcação territorial. São animais pequenos, ágeis e vivazes e os brinquedos devem ser leves e com brilho (e.g. penas, guizos, entre outros). O estímulo de predador deve ser incentivado com pequenos objetos que se movimentam e agucem o instinto da caça. Os brinquedos devem ser trocados regularmente para estimular novas brincadeiras. Pequenos objetos com texturas complexas despertam mais interesse na hora de promover uma brincadeira. A maioria dos gatos brinca sozinho, portanto, deve haver espaço suficiente para um gato brincar sem invadir o espaço do outro.

O uso de música ambiente também cumpre função de socialização, atenuando a agressividade, prevenindo os animais de serem surpreendidos por ruídos repentinos e habituando-os à voz humana. Adicionalmente, fornece grau de continuidade no ambiente.

2.6.4.4. Estimulação olfatória

O ato de coçar possibilita estimulação tátil e olfatória, pois libera odor das glândulas interdigitais. Arranhadores, tapetes de junco, pedaços de carpete e madeira devem ser fornecidos em mais de um local. Caixas com grama ou erva-dos-gatos para estimulação olfatória e para ajudar com a eliminação das bolas de pelos podem ser fornecidas.

Considerando a presença do órgão vômero-nasal nos felinos e o reflexo de Flehmen apresentado por estes animais, o oferecimento de itens de enriquecimento sensoriais olfativos pode ser interessante para permitir a expressão de comportamentos típicos dos felinos.

3. Quarentena para cães e gatos

Quando as instalações de produção, manutenção ou utilização de animais recebem-nos de outros locais, eles devem permanecer, no mínimo, 20 dias isolados dos animais que já estão na instalação, ou outro período de acordo com o estabelecido pelo médico veterinário responsável. Muitas são as patologias, incluindo zoonoses, que podem ser trazidas pelos novos indivíduos do grupo, ainda que não apresentem sinais de doença ao exame clínico no momento de sua chegada.

3.1. Estrutura física da quarentena e cuidados com os animais

As acomodações de quarentena devem assegurar o isolamento sanitário dos animais, onde não possam estabelecer contato com os demais integrantes da população, e devem atender às normas vigentes de biossegurança.

A lavagem de uniformes e outros utensílios provenientes da quarentena deve ocorrer nas mesmas instalações. A lavagem de uniformes em instalações que não ofereçam riscos biológicos pode ser realizada por serviço terceirizado. A autoclavagem pode ser feita em outro ambiente, embora seja preferível que o processo de higienização seja todo feito em suas dependências. O material esterilizado deve ser acondicionado em embalagem fechada e armazenado no interior da quarentena. Não deve ser admitido o contato de roupas ou utensílios de qualquer espécie da quarentena com aqueles de outras instalações da instituição.

A estrutura deve propiciar condições de alojamento confortável para animais em grupos ou isolados, caso haja necessidade. Nesta situação, os banhos de sol e a rotina diária de jogos e brincadeiras devem ser garantidos. Os brinquedos devem ser lavados e limpos diariamente e descartados imediatamente, quando danificados.

Animais diagnosticados com enfermidades transmissíveis devem ser alojados isoladamente, de forma a impedir o contágio de outros indivíduos. Neste caso, os procedimentos de vazão sanitário devem ser adotados e documentados, segundo os protocolos da instituição.

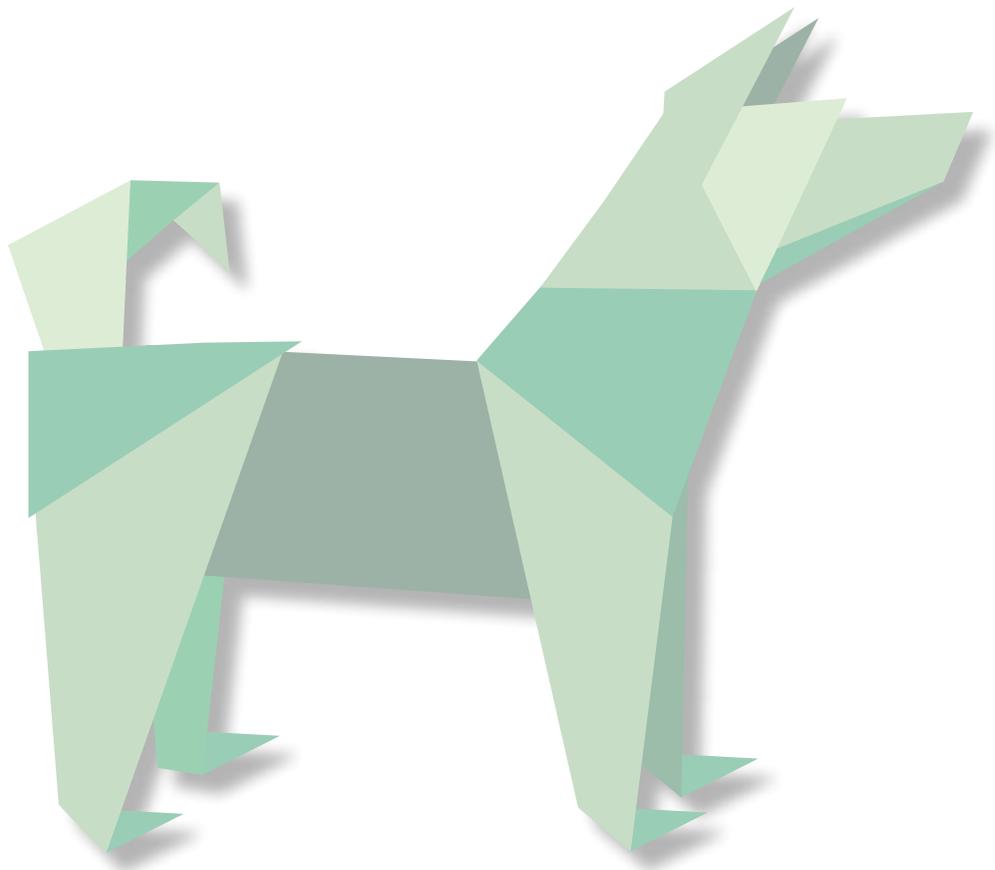
Pessoal técnico designado para o trabalho no interior da quarentena não deve circular nas instalações de produção, manutenção ou experimentação, enquanto a quarentena estiver hospedando animais vindos de outro local, ou durante os procedimentos de vazão sanitário.

A estrutura física da quarentena deve conter espaço para:

- a)** Alojamento para animais de diferentes idades e peso;
- b)** Higiene dos animais;
- c)** Alojamento de animais em grupos, respeitando as características hierárquicas estabelecidas entre eles;
- d)** Barreira sanitária;
- e)** Recreação;
- f)** Descanso noturno;
- g)** Solário.

Quando necessário, áreas adicionais tais como:

- a)** Depósito de materiais e insumos;
- b)** Lavagem e esterilização de equipamentos e suprimentos;
- c)** Armazenamento de lixo, descartes e resíduos; e
- d)** Instalações sanitárias e área de repouso dos funcionários;



4. Cuidados médico-veterinários

Os registros de saúde são necessários para cães e gatos mantidos em instalações para produção, manutenção ou utilização em atividades de ensino ou de pesquisa científica e nas instalações de quarentena. Os animais devem ser diariamente observados por funcionário capacitado e submetidos a exames clínicos e complementares a critério do médico veterinário responsável, o qual deve considerar a intensificação das avaliações para animais em utilização ou quarentena.

O serviço veterinário deve estar disponível 24h por dia, ainda que em regime de plantão, seja pela instalação que possui ambiente específico para procedimentos clínicos ou por clínicas veterinárias externas.

Os dados devem ser arquivados e ficar à disposição dos pesquisadores, da CEUA institucional ou órgãos de normatização e controle. Dependendo do protocolo a que forem submetidos, os animais podem necessitar de exames complementares para um melhor controle da situação clínica. O programa de saúde para cães e gatos, principalmente em instalações de produção, deve incluir todas as vacinas necessárias, controle adequado dos parasitos (internos e externos), banhos regulares e outros cuidados necessários para a espécie, raça (e.g. tosa dos pelos) ou condição do animal, de acordo com o disposto na Resolução CFMV nº 844/06.

4.1. Medicina preventiva

Os animais devem ser identificados preferencialmente com microchips e possuir ficha individual. Deve-se seguir rigoroso programa de imunização, incluindo:

a) Cães: cinomose, hepatite infecciosa canina, leptospirose, parvovirose, raiva e tosse dos canis; e

b) Gatos: raiva, rinotraqueíte, calicivirose, panleucopenia, leucemia felina e clamidiose;

Deve-se seguir programa de tratamento antiparasitario mensal para filhotes até 6 meses de idade e trimestral para adultos, e ainda, programa de controle de ectoparasitas mensalmente. Modificações podem ser realizadas conforme orientação do médico veterinário responsável.

Estes programas poderão sofrer alterações, dependendo do experimento proposto, ou a critério do médico veterinário responsável.

4.2. Cuidados pré, trans e pós-operatórios

Alguns cuidados devem ser providenciados antes da realização de procedimentos cirúrgicos em cães e gatos. O jejum hídrico e alimentar deve ser observado em um período que varia de acordo com a idade, estado nutricional e tipo de intervenção que se deseja. O jejum é importante principalmente antes de anestesia geral, para evitar regurgitações durante o procedimento, o que traz potenciais riscos para a saúde dos animais. Normalmente, se indica jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 6 horas para cães adultos e, jejum alimentar de 6 a 8 horas e hídrico de 2 horas, para gatos e cães muito jovens, idosos ou debilitados.

A realização de exames pré-operatórios é altamente recomendável e deve incluir avaliação cardiológica (e.g. ECG e ecocardiograma), hemograma completo, bioquímica sérica para funções hepática e renal, urinálise e outros exames necessários para avaliar o estado sanitário do animal e excluir aqueles que não possuem condições de serem utilizados em experimentos que necessitem cirurgia. A avaliação do peso e do estado de hidratação do animal, assim como dos parâmetros fisiológicos é obrigatória antes do animal ser anestesiado e realizar o procedimento cirúrgico, a fim de evitar complicações. Outros exames poderão ser requisitados pelo médico veterinário responsável, caso este considere pertinente.

É essencial que a equipe envolvida estabeleça um protocolo de assepsia na sala de preparo, incluindo o uso de roupas e paramentos cirúrgicos estéreis, a lavagem e escovação de braços e mãos com detergentes e antissépticos a base de iodopovidona, álcool isopropílico 7% ou clorexidina 4%, conforme preconizado na literatura. A preparação do animal também deve observar a manutenção da assepsia com a realização de tricotomia ampla e rígida antisepsia do campo operatório.

A escolha de um protocolo anestésico adequado ao tipo de procedimento cirúrgico e espécie também é essencial (ver item 5.4.). Todos os procedimentos devem ser realizados por um profissional médico veterinário para assegurar que somente animais em boas condições clínicas sejam utilizados experimentalmente e que se escolha o protocolo anestésico mais adequado para o caso em questão, exceto quando outras condições forem exigidas pelo protocolo experimental.

Os cuidados pós-operatórios incluem, além de analgesia (item 5.4.) e curativos, o cuidado em manter os animais próximos a outros (caso não prejudique a convalescença), para evitar o isolamento social que certamente acarretará em estresse e interferência na resposta imunológica. Cuidados para evitar autoinjúrias são importantes e, sempre que

possível, se deve utilizar colares cervicais ou roupas cirúrgicas, após os procedimentos cirúrgicos.

Após procedimentos invasivos e/ou dolorosos, deve-se dar especial atenção à analgesia e ao conforto dos animais. Os protocolos de analgesia e manejo desses animais devem ser criteriosos e seguidos à risca. Escalas de dor (e.g. Versão curta da escala composta de *Glasgow*) devem ser adotadas para o monitoramento contínuo da dor (ver item 5.4.2.). Os medicamentos e curativos prescritos pelo serviço veterinário devem ser administrados nos horários e da forma prevista. A alimentação deve ser voltada ao reforço necessário na fase de convalescência, considerando o aporte energético e proteico.

4.3. Mortalidade

Todas as mortes não previstas nos projetos devem ser registradas e avaliadas quanto à sua causa. Todos os cadáveres devem ser submetidos à avaliação pelo serviço veterinário e encaminhados para necropsia, sempre que este considerar necessário. Caso fique constatado algum problema quanto ao protocolo ou execução, as soluções para a eliminação do problema devem ser adotadas imediatamente, para evitar novas mortes.

4.4. Eutanásia

Todo o procedimento da eutanásia deve ser supervisionado pelo médico veterinário responsável, que deve garantir observância às normativas emanadas pelo Concea e CFMV, de acordo com o protocolo aprovado pela CEUA e atestar a morte dos animais.

A eutanásia em cães e gatos é aceitável:

- a)** Nos casos em que ocorram doenças ou injúrias irreversíveis;
- b)** De acordo com a proposta aprovada pela CEUA; e
- c)** Quando os níveis de dor, estresse e sofrimento indicarem a necessidade da realização do ponto final humanitário, de acordo com as resoluções normativas 25 e 30 e a diretriz de eutanásia que corresponde Resolução Normativa Concea nº 37.

4.5. Descarte

As carcaças de cães e gatos devem ser eliminadas, seguindo os padrões de biossegurança e de vigilância sanitária previstos nas legislações pertinentes em vigor no país (e.g. Resolução n. 358, de 29 de abril de 2005, CONAMA e a Lei nº 12.305 de 02/08/2010, DOU). Os resíduos da necropsia ou cadáveres devem ser acondicionados em sacos ou recipientes impermeáveis, resistentes à punctura, ruptura e vazamentos. Devem estar adequadamente acondicionados para suportar os riscos normais de carga, descarga e transporte, conforme a regulamentação em vigor. Uma vez embalados, devem ser removidos da unidade geradora até o local de tratamento ou destinação final, utilizando-se técnicas que garantam a preservação da integridade física do pessoal, da população e do meio ambiente. O traslado dos resíduos dos pontos de geração até o local de destinação final deve ser acompanhado de uma ficha de emergência, na qual constarão todos os dados da unidade geradora e as medidas a serem tomadas, caso ocorra algum acidente nessa etapa.

4.6. Adoção

Ao fim do período de utilização em atividades de ensino ou de pesquisa científica (quando a eutanásia não fizer parte do protocolo experimental), os animais devem ser encaminhados para a adoção. As instituições que utilizam cães e gatos com fins científicos devem manter um programa contínuo para adoção desses animais. Campanhas direcionadas para a adoção de animais devem ser incentivadas e parcerias com outras instituições ou entidades de proteção animal podem fortalecer esta atividade.

A instituição de ensino ou pesquisa deve prover abrigo e cuidado para animais que, após período de utilização, não foram adotados ou submetidos à eutanásia. Esses animais devem ter o mesmo cuidado daqueles previstos no período de manutenção.

5. Procedimentos em cães e gatos

5.1. Administração de substâncias

Descrever todas as vias de administração está além do escopo deste documento. Portanto, será dada ênfase na descrição dos procedimentos experimentais usuais e aos seus refinamentos. O procedimento de administração de substâncias pode causar impacto no bem-estar do animal e na validade dos resultados experimentais. A experiência, a habilidade da pessoa que administra, a aclimatação e o treinamento são aspectos de refinamento que devem ser considerados durante o planejamento de um projeto com finalidade de experimento ou de ensino. Treinamento e comprovação da habilidade são pré-requisitos fundamentais para realização de procedimentos de administração de substâncias, que devem ser supervisionados pelo médico veterinário.

A coordenação da instalação animal deve assegurar que cada técnico que realiza esses procedimentos tenha capacidade para executá-los corretamente.

5.1.1. As vias de administração de substâncias mais utilizadas em cães e gatos são:

a) Via Oral (VO)

Respeitadas as propriedades físicas e químicas, as substâncias podem ser administradas pela água de beber, no alimento ou por meio da administração direta na boca. Para animais que não aceitam estas formas de administração, podem-se utilizar mordanças e aplicadores. Deve haver cuidado especial com os gatos, pois estes têm maior facilidade de fazer falsa via de substâncias para o sistema respiratório.

b) Intravenosa (IV)

É a via em que há a introdução da medicação diretamente na corrente sanguínea e que permite a mais rápida ação do fármaco administrado. Nas administrações de substâncias e seus veículos IV, devem ser considerados os seguintes fatores: o volume usado, a estabilidade da formulação, o grau de acidez (pH), a viscosidade, a osmolaridade, a capacidade de tamponamento, a esterilidade e a biocompatibilidade da formulação. Devem ser usados tamanhos

e calibres de agulhas compatíveis com a espécie e porte do animal, considerando-se o calibre do vaso sanguíneo e a velocidade da aplicação.

c) Intraperitoneal (IP)

A via intraperitoneal é comumente usada em filhotes e neonatos de cães e gatos. Não é necessária anestesia e a aplicação é feita no quadrante abdominal inferior do lado direito do animal. Embora injeções IP pareçam seguras, há risco em puncionar órgãos abdominais por dificuldade de contenção do animal. Não são indicadas para múltiplas doses e substâncias irritantes podem causar peritonite. Portanto, substâncias com pH elevado ou baixo demais contraindicam esta via de administração.

d) Subcutânea (SC)

A via subcutânea é rotineiramente usada em todas as espécies. As soluções devem ter pH fisiológico e ser isotônicas. As aplicações são feitas normalmente no plano dorsal entre as escápulas ou no flanco. O animal não necessita ser anestesiado. A absorção dessa via é lenta, especialmente para soluções oleosas, as quais devem ser evitadas. Nas administrações de doses múltiplas ou volumosas, recomenda-se a divisão com alternância de locais de aplicação.

e) Intramuscular (IM)

O sítio mais utilizado nesta via é a parte posterior ou cranial da coxa. Entretanto, a escolha deve considerar a possibilidade de lesão às terminações nervosas. Deve-se considerar que a absorção por esta via é proporcionalmente mais rápida que a via subcutânea. Para estudos com múltiplas doses, recomenda-se fazer uma rotação dos sítios. A administração intramuscular pode ser dolorosa, também, porque as fibras musculares estão obrigatoriamente sob a tensão do material injetado.

f) Outras Vias

Outras vias de administração também podem ser utilizadas, tais como, transdérmica, intradérmica, intratecal e intraocular, entre outras. Quando necessária, a administração contínua de substâncias pode ser feita utilizando-se implante subcutâneo ou cateter venoso de permanência.

Os métodos e vias de administração de substâncias para cães e gatos estão listados no Quadro A1:

Quadro A1. Métodos e vias comuns de administração de substâncias em cães e gatos

Espécies	Subcutâneo	Intramuscular	Intraperitoneal	Intravenoso
CÃO ≤ 3 kg	Dorso-cervical, 2-3 mL, Agulha 25X7	Músculo quadríceps (coxa traseira) 0,5 a 1,0 mL, Agulha 25x6	Quadrante abdominal inferior direito 2-7 mL, Agulha 25x7	Veia jugular ou cefálica Cateter 24G
CÃO >3 ≤10 kg	Dorso-cervical, 5-10 mL, Agulha 25X7	Músculo quadríceps (coxa traseira) 0,5 a 4,0 mL, Agulha 25x7	Quadrante abdominal inferior direito 5-10mL, Agulha 25x8	Veia jugular ou cefálica Cateter 20 a 22G
CÃO >10 kg	Dorso-cervical, 5-15 mL, Agulha 25X7	Músculo quadríceps coxa traseira, 1,0 a 5,0 mL, Agulha 25x8	Quadrante abdominal inferior direito 5-20mL, Agulha 25x8	Veia jugular ou cefálica Cateter 18 a 22G
GATO ≤ 2 kg	Dorso-cervical, 0,5-1,0 mL, Agulha 25X7	Músculo quadríceps/ coxa traseira, 0,5 a 1,0 mL, Agulha 25x6	Quadrante abdominal inferior direito 2-4 mL, Agulha 25x7	Veia jugular ou cefálica Cateter 22G
GATO >2 kg	Dorso-cervical, 2-3 mL, Agulha 25X7	Músculo quadríceps/ coxa traseira, 1,0-2,0 mL, Agulha 25x6	Quadrante abdominal inferior direito-2-7 mL, Agulha 25x7	Veia jugular ou cefálica Cateter 22G

Cuidados a serem considerados para administração de substâncias em animais:

- a) A substância e seu diluente devem ser apropriados para a via de administração, a espécie e a finalidade científica;
- b) Soluções para injeções devem ter pH próximo de 7,0 para reduzir o risco de dano aos tecidos;
- c) Devem ser usados tamanhos e calibres de agulhas compatíveis com a espécie e porte do animal;
- d) A aclimação ao novo ambiente e o treinamento do animal para o procedimento de administração podem minimizar o estresse. Este procedimento deve ser adotado especialmente quando animais que não estão acostumados ao manuseio receberão substâncias, em mais de uma ocasião. Quando possível, recompensas (reforço positivo) devem ser utilizadas ao treinar os animais para cooperarem com o procedimento. O período mínimo de adaptação deve ser de cinco dias, com manipulações diárias simulando as atividades às quais os animais serão submetidos.
- e) Após receberem a dose, os animais devem ser monitorados para verificar efeitos adversos, dor e sofrimento;

f) Contaminação e infecção podem resultar da administração de substâncias indevidamente manipuladas: uso de agulhas e seringas não estéreis ou introdução de microorganismos ao perfurar a pele. A assepsia da pele deve envolver o uso de uma solução antisséptica e, no caso de administrações intravenosas, a tricotomia da região;

g) Na administração por injeção, identificado o sítio de aplicação, a agulha deve ser inserida firmemente na posição correta e na profundidade exigida; e

h) A lista de sinais de dor e distresse deve ser consultada na lista de checagem de monitoramento. O Quadro A2 serve de orientação.

Quadro A2. Procedimentos para minimizar a dor e o distresse ao administrar substâncias em cães e gatos

Administração de uma substância nova
<ul style="list-style-type: none"> - Investigar vários métodos alternativos de administração, de forma a identificar a via mais adequada. - Investigar as propriedades físico-químicas da substância, tais como: solubilidade, estabilidade, pH, grau de irritação e toxicidade. - Realizar uma avaliação de riscos para a preparação e uso da substância: identifique riscos à qualidade de vida do animal e incorpore estratégias de refinamento para minimizar efeitos adversos. - A avaliação in vitro de substâncias pouco estudadas deve rigorosamente preceder o estudo in vivo. - Realizar um estudo piloto para a escolha do modelo animal, escolha da técnica, dose, via e frequência de administração corretos, bem como outros aspectos relativos às propriedades biológicas, como metabolismo e via de excreção da substância.
Volume da substância e a frequência de administração
<ul style="list-style-type: none"> - Investigar o uso de um solvente/veículo que seja fisiologicamente compatível e adequado para a via de administração. - Preparar uma estratégia de monitoramento adequada para o período após a administração. - Certificar-se de que a frequência de monitoramento seja adequada para detectar tanto os efeitos esperados quanto os inesperados e que haja um plano para controlar a dor e o distresse do animal.
Via de administração
<ul style="list-style-type: none"> - Usar uma via adequada para administrar a substância, de modo a minimizar o impacto no animal. - Para substâncias que necessitam administração frequente, dar preferência à via oral, associando-as ao alimento ou água. - Para substâncias que necessitam administração IV frequente, considerar o uso de um cateter venoso de permanência. - Para substâncias que necessitam administração SC ou IP frequente, considerar o uso de uma minibomba osmótica ou um implante.
Animal
<ul style="list-style-type: none"> - Identificar a espécie, linhagem, sexo, idade, peso corporal e estado de saúde - Aclimatar o animal ao local e ao pessoal. - Treinar o animal para o procedimento de manuseio e imobilização antes de iniciar estudos com administração de substâncias.
Técnica
<ul style="list-style-type: none"> - Realizar uma avaliação de riscos para o uso da técnica e qualquer imobilização relacionada. - Identificar riscos à qualidade de vida do animal e incorpore estratégias de refinamento para minimizar efeitos adversos. - Identificar e tratar deficiências no treinamento e no uso dos equipamentos necessários para realizar a técnica. - Monitorar o animal para os efeitos conhecidos ou inesperados, incluindo o impacto na qualidade de vida.

Pessoal

- Identificar o pessoal experiente e capacitado e o pessoal com deficiências no treinamento.
- Eliminar as deficiências no conhecimento e capacitação com treinamento e supervisão.
- Identificar o pessoal com responsabilidade para o monitoramento animal mesmo após o expediente, nos fins de semana e feriados.

*IP = intraperitoneal; IV = intravenosa; SC = subcutânea

5.2. Coleta de fluidos corporais, secreções e excreções

Amostras biológicas, como fluidos corporais, secreções e excreções são coletadas do animal para análise de alterações bioquímicas, metabólicas, toxicológicas, imunológicas e fisiológicas. Seja qual for a amostra a ser coletada, deve-se levar em conta o bem-estar animal. O ideal é que a amostra seja colhida de forma asséptica e todo cuidado deve ser tomado para evitar a contaminação cruzada de amostras.

5.2.1. Urina

A urina pode ser coletada de diversas formas: micção espontânea; cateterismo vesical, cistocentese ou gaiola metabólica.

A análise pode ser quantitativa ou qualitativa. A análise quantitativa de urina permite o monitoramento de pH urinário, proteína, glicose, bilirrubina, hemoglobina, cetona, urobilinogênio, creatinina e a concentração de drogas excretadas, metabólitos e outras substâncias. A análise qualitativa de urina é geralmente usada para monitorar função renal, doença renal, avaliação de anormalidades nutricionais e/ou endócrinas e a excreção de drogas e/ou metabólitos.

5.2.2. Secreção nasal

As amostras devem ser colhidas com um *swab* estéril umedecido, mantidas sob refrigeração e analisadas prontamente. Secreções nasais e amostras da conjuntiva são geralmente coletadas para análise de agentes bacterianos ou outros agentes infecciosos. Dependendo da espécie, a tranquilização pode ser necessária ao coletar secreções nasais para minimizar o desconforto do animal e para obter amostra não contaminada.

5.2.3. Secreção ocular

Amostras conjuntivais devem ser colhidas com um algodão estéril, gaze ou cotonete de Dacron, umedecido. O cotonete deve ser sempre manuseado de forma estéril, mantido em meio de cultura, refrigerado e enviado para o laboratório sem demora.

5.2.4. Material bucal

Amostras de saliva podem ser utilizadas em estudos do sistema imune e do sistema digestivo, para medir cortisol, de forma relativamente não invasiva e para detectar sinais de doença infecciosa. Raspagens da mucosa oral são utilizadas como uma fonte de DNA e em estudos virológicos. Dependendo da espécie, a coleta de saliva mista da cavidade oral pode ser simples e não invasiva. Tranquilização leve pode ser necessária em alguns casos, nas hipóteses em que o animal não consiga ser contido adequadamente.

5.2.5. Leite

Amostras de leite são colhidas após a limpeza e secagem do(s) teto(s), sem o uso de antissépticos. As primeiras gotas de leite devem ser descartadas antes que a amostra seja coletada. A utilização de coletores específicos pode facilitar o processo de coleta.

5.2.6. Fezes

Exames de fezes podem ser qualitativos ou quantitativos. Pequenos volumes são necessários para estudos qualitativos e são coletados do piso da gaiola, do canil ou diretamente do reto no animal. Estudos quantitativos requerem que todas as fezes sejam coletadas ao longo de um período de tempo determinado (24 a 120 horas). Uma gaiola metabólica é o método usual.

5.2.7. Secreção do trato genital

Amostras de secreções vaginais devem ser retiradas com uma gaze de algodão, um cotonete de algodão ou Dacron ou lavado vaginal de modo estéril. Amostras para identificação da fase do ciclo estral devem ser examinadas sob o microscópio imediatamente.

5.2.8. Sêmen

Os métodos de coleta de sêmen incluem monta natural, uso de vagina artificial ou manipulação direta do pênis (cães). Alguns animais podem ser resistentes aos métodos e não devem ser mantidos no experimento.

5.2.9. Considerações gerais para minimizar os efeitos adversos da coleta de fluidos corporais

- a)** Dor e perturbação durante a coleta podem ser minimizadas, utilizando-se a técnica e materiais adequados à espécie;
- b)** Quando amostras forem retiradas de um animal consciente e o procedimento de amostragem for repetido regularmente durante uma pesquisa, o animal deve primeiramente ser aclimatado ao instrumento de imobilização (ex.: por meio de execuções simuladas);
- c)** Uma equipe treinada adequadamente, utilizando métodos que gerem o mínimo de dor, deve realizar a coleta de amostras biológicas;
- d)** A utilização de sistema de recompensa ao coletar amostras de um animal consciente deve ser considerada. Quando o procedimento de amostragem for repetido regularmente durante uma pesquisa, o sistema de recompensa pode favorecer uma associação positiva; e
- e)** O treinamento do executor é fundamental para o sucesso de todos os procedimentos e faz parte do refinamento proposto pelos 3R's.

5.3. Coleta de sangue

A coleta de sangue é uma ferramenta científica valiosa que permite o monitoramento, de uma forma dinâmica, de diversos eventos biológicos. Orientações para a coleta de sangue devem considerar o fato de que todas as espécies têm, aproximadamente, a mesma relação entre volume sanguíneo e peso corporal. Animais jovens, idosos, estressados, portadores de doença cardíaca ou respiratória ou mesmo submetidos a manipulações experimentais exigem cuidadoso monitoramento, pois são mais sensíveis à perda de sangue. A técnica de contenção do animal e o procedimento de coleta podem alterar alguns padrões bioquímicos do sangue devido ao estresse. É importante habituar o animal ao executor do procedimento e ao procedimento antes de sua realização. Isto pode reduzir o estresse envolvido e gerar resultados mais precisos.

É importante manter a assepsia ao longo da coleta e os produtos utilizados para a mesma devem ser subsequentemente removidos para evitar a contaminação da amostra.

Os pesquisadores devem, antes de imobilizar o animal, preparar todos os equipamentos e materiais necessários para diminuir ao máximo o tempo de contenção.

5.3.1. Considerações importantes para a coleta de sangue:

- a)** O executor da coleta deve ter capacitação adequada para a realização do procedimento;
- b)** O volume de sangue pode ser estimado em média como 80-100 ml/kg do peso corpóreo em animais saudáveis ou 8-10% do peso corpóreo. Animais velhos ou obesos podem ter uma redução de 15% no volume de sangue circulante;
- c)** O volume máximo para coleta de sangue é de 10% do volume total para animais saudáveis, observando-se um intervalo entre coletas mínimo de quatro semanas. A remoção de volumes maiores de sangue é danosa ao animal e só deve ser realizada quando houver autorização explícita da CEUA. A remoção de 15% a 20% do volume do sangue induz redução do débito cardíaco e da pressão sanguínea. Uma coleta de 30-40% pode induzir choque hipovolêmico e morte;
- d)** Para coletas repetidas, o volume máximo de 1% do sangue do animal pode ser removido a cada 24 horas;

e) Devem-se observar os locais corretos para a coleta de sangue, conforme a espécie animal, idade e volume necessário (Os locais de coleta estão elencados no Quadro 3).

Quadro 3. Locais de coleta de sangue e recomendações para cães e gatos.

Via	Veia jugular	Veia cefálica	Veia safena	Punção cardíaca*
Cão	+++	++	+	- (terminal)
Gato	+++	+	+	- (terminal)

+++ via de preferência; ++ via aceitável; + via possível; - não recomendado; *somente sob anestesia geral.

f) O método, volume e frequência da coleta devem também levar em consideração fatores associados ao bem-estar do animal. As principais consequências da coleta de sangue que podem afetar o bem-estar do animal são: perda excessiva de sangue, trombose, hematomas e flebite;

g) Os efeitos da perda crônica de sangue são mais discretos que aqueles oriundos da perda de sangue aguda. Perdas agudas podem causar palidez das mucosas, apatia, presença de extremidades frias, taquipneia e taquicardia. A perda da massa muscular e a diminuição do peso corporal também são observadas nos casos de perdas crônicas; e

h) Quando coletas múltiplas são necessárias, deve-se alternar o local da coleta ou manter o animal com cateter heparinizado.

5.4. Anestesia e analgesia

5.4.1. Anestesia

Os analgésicos devem ser administrados no período perioperatório para evitar a ocorrência de sensibilização do sistema nervoso central. A escolha do anestésico apropriado deve levar em consideração a espécie, idade, porte, estado nutricional e de hígidez e, principalmente, o tipo de intervenção proposta. Em geral, animais menores ou jovens requerem doses mais altas em relação a animais adultos de maior porte. Outros fatores que devem ser levados em consideração são a duração, localização e extensão da intervenção e possíveis drogas e procedimentos reversores de overdoses e complicações anestésicas. É imprescindível a participação direta do médico veterinário, sempre que for

necessária a anestesia de cães e gatos.

Agentes pré-anestésicos podem facilitar a indução anestésica do animal e auxiliar na diminuição da dose do anestésico a ser utilizado. A acepromazina, o diazepam, o midazolam ou a associação destes agentes pré-anestésicos tornam mais seguras as intervenções anestésicas nestas espécies. Analgésicos opióides podem também ser associados para promover melhor analgesia e conforto aos animais durante e após os procedimentos cirúrgicos (Quadros 4 e 5).

Para a indução e manutenção dos animais sob anestesia geral, pode-se utilizar anestésicos injetáveis ou inalatórios. Os anestésicos injetáveis são mais práticos na indução anestésica por sua rápida ação, quando aplicados por via intravenosa. Os anestésicos inalatórios são os mais seguros na manutenção anestésica e conferem um plano anestésico estável e controlável, possuindo a vantagem de serem eliminados pela via respiratória. Portanto, sempre que possível, deve-se optar pela anestesia inalatória em procedimentos cirúrgicos. No Quadro 4, encontram-se os principais agentes anestésicos e pré-anestésicos utilizados em cães e gatos.

Quadro 4. Principais agentes anestésicos e pré-anestésicos utilizados em cães e gatos

Fármaco e classificação	Ação	Dosagem média (mg/kg)	Vias	Obs.
Acepromazina	Tranquilizante	0,05 a 0,1	IM, IV	Comercializado a 0,2% e 1%.
Xilazina	Sedativo, ansiolítico, analgésico e miorelaxante central	1 a 2	IM, IV	Útil também quando associado com a cetamina.
Midazolam	Benzodiazepínico com efeito sedativo, hipnótico e amnésico	0,2 a 1	IV, IM	Potencializa o efeito dos anestésicos gerais. Apresentação: 1 e 5mg/ml. Útil em associação com tranquilizante.
Diazepam	Benzodiazepínico com ação ansiolítica e relaxante muscular.	0,2 a 1	IV, IM	Aplicação IM é dolorosa. Útil em associação com tranquilizante.
Cetamina	Anestésico dissociativo	5 a 20	IV, IM	Indicado na MPA de animais agressivos ou com dor. Isolado causa efeitos indesejáveis. Associar a relaxante muscular de ação central.
Tiopental sódico	Anestésico geral	5 a 20	IV	Uso exclusivo por via IV, ação rápida (15 a 30 segundos). Usar preferencialmente MPA antes.
Pentobarbital	Anestésico geral	15 a 30	IV, IP	Uso IP para neonatos, ação máxima em 2 a 3 min.
Propofol	Anestésico geral	4 a 10	IV	Uso exclusivo por via IV.
Atracúrio, succinilcolina, vecurônio, pancurônio, etc.	Bloqueador neuromuscular	Dosagem depende do bloqueador Escolhido	IV	Nunca utilizar isoladamente.
Halotano, isoflurano, sevoflurano	Anestésicos gerais inalatórios	1,5 CAM	Inalatória	Ideais para manutenção de anestesia geral.

5.4.2. Controle e tratamento da dor em animais de pesquisa

Para garantir o bem-estar dos animais, o controle da dor é imprescindível. O emprego de técnicas anestésicas apropriadas para a realização de procedimentos cruentos é apenas um dos passos para que se obtenha o controle da dor. Entretanto, a administração de fármacos analgésicos em todo o período perioperatório é fundamental para se assegurar analgesia e bem-estar adequados.

Deve-se considerar que a dor pode estar presente em outras situações que não envolvam a manipulação cirúrgica, como procedimentos de coleta de material, úlceras de estresse, traumas, entre outras. Desta maneira, principalmente os responsáveis pelos animais, os técnicos e os membros das CEUAs, devem estar sempre atentos para prever as situações que possam desencadear a dor e planejar o tratamento apropriado.

5.4.2.1. Importância do controle da dor

Independente dos aspectos ético e moral, a dor deve ser evitada sempre. O estímulo simpatoadrenal provocado pela dor ocasiona diferentes efeitos em vários órgãos, tais como: o coração, pulmões, o trato gastrointestinal, podendo afetar inclusive a imunidade. Assim, o animal com dor pode apresentar taquicardia, hipertensão, arritmias, diminuição da capacidade residual funcional, hipoxemia e hipercapnia, retenção urinária, íleo paralítico, úlceras, catabolismo proteico exagerado, distúrbios de coagulação entre outras alterações. Essas alterações se manifestam tanto na dor aguda quanto na dor crônica.

Nos estudos nos quais o animal deva ser avaliado por um período de tempo após o procedimento cirúrgico, a presença da dor no período pós-operatório compromete a recuperação em decorrência do catabolismo proteico exagerado, inapetência, e das demais manifestações ocasionadas pela dor. Outro aspecto a ser considerado é que as alterações causadas pela dor podem confundir o resultado de um estudo.

5.4.2.2. Diagnóstico da dor

O diagnóstico da dor pode ser particularmente difícil em alguns animais e em determinadas raças. Alguns animais são mais agitados, outros, mais amedrontados, e as respostas ao estímulo doloroso podem variar extremamen-

te nestas situações. A literatura oferece inúmeras ferramentas que nos auxiliam a identificar a dor em cães e gatos. Diferentes tabelas com pontuações que englobam a análise minuciosa do comportamento do animal, aliadas a nos trabalhos científicos alterações de parâmetros vitais e alterações posturais são utilizadas. As escalas validadas para avaliação da dor são da *University of Glasgow* (<http://www.newmetrica.com/cmpps>) em cães e da UNESP-Botucatu (<http://animalpain.com.br/pt-br/avaliacao-da-dor-em-gatos.php>) em gatos.

Para o correto tratamento da dor, é imprescindível a sua avaliação e mensuração para que o efeito do tratamento possa ser constantemente analisado e reformulado ou reajustado, quando necessário. De qualquer forma, a dor do animal deve ser considerada sempre em relação ao tipo de procedimento cirúrgico realizado ou a extensão do trauma. Em muitas ocasiões, será baseado nestas informações que o tratamento da dor será prescrito. A idade é outro fator que pode influenciar na forma como o animal demonstra ou reage à dor. Geralmente, nos extremos de idade, a manifestação da dor tende a ser mais exacerbada com os animais vocalizando e se agitando muito mais intensamente, quando comparados aos animais adultos.

Após determinar o grau de dor é realizada a escolha do melhor esquema analgésico. Entretanto, deve-se estar sempre atento ao fato que cada animal apresenta uma resposta muito individual aos agentes farmacológicos, sendo necessária a reavaliação constante do quadro doloroso e readequação de doses e medicamentos, quando necessário.

5.4.2.3. Tratamento da dor

Idealmente, os analgésicos devem ser administrados no período perioperatório, ou seja, antes, durante e após o procedimento cirúrgico, para evitar a ocorrência de sensibilização do sistema nervoso central.

O tratamento da dor pode ser realizado por meio de fármacos e também com o auxílio de intervenções não farmacológicas. Diversos fatores devem ser considerados no manejo da dor. Posicionamento cirúrgico ou promover condições confortáveis para a recuperação da anestesia (e.g. ambiente com temperatura agradável), também são pontos a serem lembrados. A fisioterapia, a aplicação de frio e calor são procedimentos que auxiliam no tratamento da dor e devem ser cogitados, pois diminuem o tempo de tratamento e a necessidade do uso de fármacos.

Além da escolha correta dos fármacos, vários aspectos importantes devem ser observados para se garantir o sucesso da terapia analgésica.

Os preceitos básicos para se garantir o sucesso da terapia analgésica, são:

- a) Planejar o protocolo de analgesia com antecedência, com base no grau de dor que o procedimento suscita;
- b) Associar diferentes classes de agentes (i.e. analgesia multimodal), sempre que possível;
- c) Prescrever os analgésicos em horários pré-estabelecidos e não apenas quando o animal apresentar dor;
- d) Reavaliar a adequação da terapia analgésica em períodos pré-estabelecidos e que coincidam com a duração de ação dos fármacos;
- e) Sempre quantificar a presença de dor ao longo de todo período pós-operatório, considerando que a experiência da dor varia de indivíduo para indivíduo;
- f) Nenhum nível de dor deve ser permitido;
- g) Para a dor aguda, considerar que o grau de dor é mais intenso nas primeiras 24 horas, sendo que as primeiras 6 horas são críticas; e
- h) Sobretudo, em relação aos animais de experimentação, nunca se deve permitir que a analgesia seja instituída apenas “se necessário”, ou seja, quando a dor já está manifesta.

5.4.2.4. Analgésicos opióides

Vários fármacos e estratégias são utilizados no controle da dor em cães e gatos, sendo os agentes opióides entre os mais eficazes. Apesar de sua eficácia no controle da dor, estes analgésicos apresentam efeitos adversos e possuem uma extensa gama de ações.

No Quadro 5 encontra-se uma descrição dos fármacos opióides mais utilizados em nosso meio em cães e gatos e suas particularidades.

Quadro 5. Principais agentes analgésicos utilizados em cães e gatos

Fármaco e classificação	Tempo de ação	Dosagem média (mg/kg)	Vias de administração	Obs.
Meperidina	1 - 4 horas	2 - 5 (cães) 2 - 6 (gatos)	SC, IM	Por via IV usar diluída e aplicar muito lentamente
Metadona	4 - 6 horas	0,1 - 0,5	SC, IM	Por via IV aplicar lentamente
Morfina	3 - 4 horas	0,1 - 1	SC, IM	Por via IV usar diluída e aplicar muito lentamente
Tramadol	6 - 8 horas	1 - 6	VO, SC, IM, IV	Não é totalmente revertido pela naloxona
Fentanil	20 - 30 minutos	2 - 5 mcg/kg	IV (bolus ou infusão contínua)	Pode ser encontrado como adesivo transdérmico e utilizado no pós operatório de procedimentos que envolvem dor moderada a intensa.
Butorfanol	3 - 4 (cães) e 1-3 (gatos)	0,05 - 0,4	SC, IV	Pode ser usado como analgésico e como antagonista de alguns opióides agonistas de receptores μ
Buprenorfina	8 - 12 horas	0,005 - 0,03	IM, IV	Não é comercializada no Brasil.
Nalbufina	6 - 8 horas	0,1 - 0,5 (cães) 0,1 (gatos)	SC, IM, IV	Pode ser usado como analgésico e como antagonista dos opióides agonistas dos receptores μ
Naloxona	30 minutos	0,4 - 1	SC, IM, IV	É antagonista de opióides

5.4.2.5. Anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)

Há diversos agentes no mercado, sendo que a escolha deve ser pautada pela possibilidade de ocorrência de efeitos adversos relacionados ou não ao tipo de procedimento, custo e duração do tratamento. É interessante ressaltar que há animais que são particularmente sensíveis aos AINEs, apresentando reações adversas, algumas vezes, com uma única aplicação. Isto, no entanto, não significa que o animal não possa receber outra medicação da mesma classe de fármacos. Outro aspecto a ser ponderado é que a incidência de efeitos adversos aumenta nos animais de idade avançada. Os AINES, em geral, são contraindicados nas situações de choque hipovolêmico, trauma craniano, hemorragias, distúrbios gastrointestinais e animais com função renal já comprometida. O uso associado a certos antibióticos, como os aminoglicosídeos, também deve ser evitado. Em seguida, encontra-se uma breve descrição dos AINES usualmente empregados na experimentação animal (Quadro 6).

Quadro 6. Principais anti-inflamatórios não esteroidais utilizados em cães e gatos

Fármaco e classificação	Doses em cães (mg/kg)	Doses em gatos (mg/kg)	Vias de administração
Cetoprofeno	1 - 2 (SID)	2 (SID) dose única	VO, SC
Flunixin meglumine	1,1 (SID) por até 3 dias	1 (SID) dose única	VO, SC, IM
Meloxicam	0,1 - 0,2 (SID)	0,1, seguido de 0,01 a 0,03 para tratamento prolongado por até seis meses	VO, SC
Carprofeno	2 (BID) 4 (SID)	4, seguido de 1,33 por até 6 dias (SID)	VO, SC
Firocoxibe	5 (SID)	1 - 3 SID (pode causar azotemia e vômito)	VO
Dipirona	25 (TID)	10 - 25 SID dose única	VO, SC, IM

SID (uma vez ao dia); BID (duas vezes ao dia); TID (três vezes ao dia).

5.5. Procedimentos cirúrgicos

Todos os procedimentos cirúrgicos devem ser realizados seguindo as normas preconizadas pelo CFMV e em instalações aprovadas pelo mesmo Conselho.

Define-se procedimento cirúrgico como uma intervenção que requer acesso a um tecido vivo. No cenário científico, o tipo de procedimento dependerá do propósito e pode variar desde uma incisão superficial até a invasão de uma cavidade do corpo, intervenção em órgão(s) ou dissecação tecidual extensa.

Os procedimentos cirúrgicos são realizados por diversas razões:

- a) Coletar amostras de tecidos (e.g. biópsia incisional ou excisional);
- b) Inserir cateteres vasculares de longa permanência para coletas seriadas;
- c) Inserir cateteres para monitorar a pressão sanguínea venosa ou arterial;
- d) Infundir substâncias e/ou fármacos;
- e) Implantar cateteres ou aparelhos para coletar outros fluidos corporais;
- f) Implantar eletrodos para registrar ou estimular locais específicos em estudos neurofisiológicos;
- g) Implantar equipamentos, como sondas de telemetria para monitoração fisiológica e comportamental prolongada;
- h) Transplantar órgãos, seja no mesmo indivíduo (autólogo), seja em indivíduos da mesma espécie (homólogo) ou em espécies diferentes (xenólogo ou heterólogo), no mesmo local (ortotópico) ou em locais diferentes (heterotópico) no animal receptor;

- i) Criar um modelo experimental para estudar um processo fisiológico ou patológico;
- j) Avaliar a segurança e eficácia de equipamentos para posterior implantação em humanos (e.g.: válvulas cardíacas e implantes ortopédicos);
- k) Desenvolver e avaliar novas técnicas cirúrgicas para uso posterior em animais e humanos;
- l) Outros.

Qualquer procedimento cirúrgico deve ser realizado sob técnicas anestésicas e analgésicas apropriadas para o tipo de procedimento e a espécie envolvida. Dependendo dos objetivos do estudo, ao final do procedimento cirúrgico, os animais podem recuperar a consciência ou não. No segundo caso, o animal deve ser submetido à eutanásia no final do procedimento.

Quando um animal se recuperar de uma intervenção cirúrgica, tomam-se, obrigatoriamente, precauções especiais para minimizar o risco de complicações, tais como: dor ou infecção no pós-operatório.

5.6. Procedimento cirúrgico

Procedimentos cirúrgicos, assim como a anestesia e os cuidados pós-operatórios, são de competência privativa do médico veterinário (Lei nº 5.517, de 1968) e devem ser conduzidos em um ambiente asséptico apropriado que possua sala de preparação do animal, sala de procedimento cirúrgico com equipamentos de suporte e ambiente de recuperação pós-operatória, a fim de garantir a segurança do procedimento e da vida do animal.

Todo procedimento cirúrgico deve ter protocolo bem definido, tendo o cuidado de mencionar os procedimentos em caso de acidentes cirúrgicos ou anestésicos. Os cães e gatos utilizados em procedimentos cirúrgicos devem passar por exames pré-operatórios que garantam seu bom estado de saúde e que indicam estar apto a ser utilizado. Após o procedimento cirúrgico, a preocupação deve ser com os cuidados pós-operatórios, que incluem a supervisão clínica de um profissional médico veterinário, a prática do alojamento individual para prevenir infecções e acidentes, o controle e registro da alimentação e ingestão de fluidos.

A manutenção dos animais em gaiolas individuais após a o procedimento cirúrgico deve durar tempo suficiente para total recuperação do animal. Após esse período, é recomendável manter os animais em pares assim que possível, não impondo a privação. A recuperação pós-cirúrgica em condições de isolamento é certamente uma situação estres-

sante para qualquer animal social.

5.6.1. Considerações sobre bem-estar animal em procedimentos cirúrgicos

A natureza dos procedimentos cirúrgicos coloca o bem-estar de um animal em risco significativo, mais frequentemente associado a um ou mais dos seguintes itens:

a) Controle inadequado da dor pode ser um problema tanto durante como após um procedimento;

b) Complicações podem ocorrer durante ou imediatamente após uma intervenção cirúrgica, especialmente:

b.1) Perda de sangue, devido a um trauma no tecido ou controle inadequado da hemorragia, resultando em perfusão e oxigenação comprometidas do tecido e, se for grave, em colapso cardiovascular;

b.2) Desidratação, devido à perda descompensada de líquido durante o procedimento cirúrgico, que será exacerbada pela exposição e ressecamento dos tecidos, consumo restrito de fluido no pré-operatório e consumo voluntário reduzido no período pós-operatório;

b.3) Hipotermia, devido ao comprometimento da termorregulação pelos agentes anestésicos, o que é um grande risco em pequenos roedores que possuam área de superfície extensa em relação à massa corporal e uma alta taxa metabólica;

b.4) Hipóxia e má perfusão tecidual, como consequência do decréscimo no volume de sangue, desidratação, desequilíbrio ácido-base ou hipotermia, ou associada com função respiratória inadequada;

b.5) Distúrbios metabólicos, devido à ativação do eixo hipotálamo- pituitária-adrenal e mudanças associadas na função celular, com metabolismo alterado de glicose e de proteína, resultando em hiperglicemia e balanço nitrogenado negativo;

b.6) Falência cardiovascular e/ou respiratória durante procedimentos cirúrgicos e no período pós-operatório imediato, causada pelos agentes anestésicos; e

b.7) Choque – hipovolêmico ou séptico.

c) Infecções no pós-operatório podem incluir infecção e deiscência da ferida cirúrgica, causadas por uma falha nas técnicas assépticas ou operatórias. A hipotermia e agentes anestésicos modulam a resposta imune e aumentam o risco de infecção após procedimentos cirúrgicos;

d) Demora na recuperação do pós-operatório pode resultar de uma dosagem excessiva ou o prolongamento dos efeitos dos agentes anestésicos e ser associada à função do órgão e metabolismo de fármacos comprometidos causados por má perfusão tecidual e hipóxia;

e) Demora na cicatrização do ferimento ou deiscência da ferida podem resultar de um ou mais dos seguintes itens:

e.1) Infecção;

e.2) Má viabilidade tecidual, associada a uma má perfusão tecidual ou dano excessivo ao tecido;

e.3) Má aposição de órgãos ou tecidos durante o fechamento;

e.4) Escolha inadequada de materiais e/ou métodos de sutura;

e.5) Cicatrização comprometida, devido à função imunológica suprimida, seja como parte de uma intervenção deliberada (e.g. imunossupressão medicamentosa), seja por ter função imunológica suprimida devido à seleção ou manipulação genética.

f) Complicações com cateteres ou aparelhos implantados são mais frequentemente devido a:

f.1) Desenvolvimento de infecção no local do implante, na pele (ponto de inserção do cateter) ou a introdução sistêmica de um patógeno durante a lavagem de cateteres;

f.2) O vazamento de conteúdo gastrointestinal ao redor de uma fístula externa causando supuração da pele ao redor;

f.3) Cateteres, eletrodos ou aparelhos implantados sendo desalojados pelo animal ou seus companheiros de gaiola, resultando em hemorragia, trauma no tecido, contaminação da cavidade abdominal por conteúdo gastrointestinal ou secreções, septicemia e, possivelmente, morte devido a choque hemorrágico ou séptico;

f.4) Vazamento de conteúdo gastrointestinal, secreções pancreáticas ou bile na cavidade abdominal causando peritonite;

f.5) Falha de cateteres vasculares devido à trombose ou infecção;

f.6) Danos em órgãos, como o rim, devido a infarto por trombos liberados a partir do implante;

f.7) Bloqueio ou infecção de cateter biliar ou pancreático, os quais, devido à natureza das secreções, resultam em colecistite e insuficiência hepática ou pancreatite aguda; e

f.8) O tamanho, peso ou local de implante dos cateteres e aparelhos que impactam nas atividades normais do animal.

g) Isolamento social pode ser necessário durante a recuperação da anestesia para prevenir agressão de outros membros de um grupo social. Entretanto, em alguns casos, o – isolamento contínuo pode ser necessário para prevenir danos ao local/cateter/instrumentos cirúrgicos ou implantes.

5.6.2. Pessoal envolvido

Procedimentos cirúrgicos frequentemente envolvem o uso de técnicas novas ou a adaptação de métodos cirúrgicos que são utilizados em outras espécies. Nestas circunstâncias, o cirurgião deve estar familiarizado com o procedimento proposto e com a espécie escolhida. Para garantir a viabilidade de um procedimento novo e para minimizar complicações cirúrgicas, o planejamento estratégico deve seguir os seguintes passos:

a) Realizar um estudo da anatomia topográfica, utilizando amostras de cadáver para se familiarizar com os planos e acidentes anatômicos, para avaliar a viabilidade do procedimento proposto e abordagem cirúrgica ideal e para identificar possíveis riscos cirúrgicos;

b) Realizar a intervenção cirúrgica como um estudo piloto de não recuperação, em um número suficiente de animais (quando for o caso). Este passo também permitirá uma avaliação da técnica anestésica e terapias de apoio que melhor manterão a estabilidade fisiológica durante os procedimentos cirúrgicos;

c) Desenvolver um plano de gerenciamento do pós-operatório, baseado nas consequências e riscos previstos;

d) Se necessário, fazer um estudo piloto com a permanência dos animais vivos após o procedimento cirúrgico, para verificação da viabilidade do procedimento proposto; e

e) Analisar e rever os procedimentos cirúrgicos e anestésicos e planos de gerenciamento pós-operatório e da dor.

5.6.3. Técnica asséptica

A cirurgia asséptica é definida como intervenção realizada de formas e por meios suficientemente livres de micro-organismos, para que não se desenvolvam infecção considerável ou supuração. Procedimentos assépticos devem ser utilizados quando se pretende recuperar um paciente de um procedimento cirúrgico.

A cirurgia asséptica é definida como uma intervenção em que se realiza um conjunto de medidas (esterilização do instrumental, desinfecção do ambiente, antissepsia do campo cirúrgico e equipe), com a finalidade de evitar contaminação/infecção em locais livres desta condição.

Os elementos de técnica asséptica envolvem:

- a)** A realização de procedimentos cirúrgicos em uma determinada área em que foi feita a antissepsia;
- b)** A preparação do sítio operatório para minimizar o risco de entrada de bactérias na ferida. Isto normalmente envolve a remoção de pêlo ou lã nas imediações da ferida cirúrgica pretendida e a limpeza e desinfecção daquela área;
- c)** O cirurgião e assistentes cirúrgicos devem utilizar aventais cirúrgicos e luvas estéreis para realizar a intervenção cirúrgica;
- d)** O local da intervenção cirúrgica deve estar delimitado por campos estéreis. Um método de cobertura dupla é utilizado para procedimentos cirúrgicos grandes da cavidade abdominal ou torácica ou quando houver intervenção em vísceras;
- e)** Somente instrumentos, campos cirúrgicos, kits e luvas estéreis devem entrar em contato com o campo operatório; e
- f)** Superfícies estéreis devem ser mantidas secas para evitar que a umidade contamine a área cirúrgica.

5.6.4. Prevenção e gerenciamento de complicações no perioperatório

Em casos envolvendo perturbações da homeostase fisiológica e metabólica, doenças clínicas ou subclínicas pré-existentes podem prejudicar as estratégias eficazes de gerenciamento. A saúde clínica de todos os animais deve ser checada alguns dias antes da intervenção cirúrgica ser executada. Deve-se dar atenção especial para sinais de respiração ou função cardiovascular comprometidas ou de infecção intercorrente. Além disso, quando os procedimentos estiverem propensos a comprometer sua habilidade em responder a infecções (e.g. imunossupressão), os animais devem ser examinados quanto a infecções subclínicas.

Os efeitos do transporte, introdução em novas instalações, novos grupos sociais e novo pessoal, sobre a resposta ao estresse (juntamente com alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais) devem ser bem documentados. O estresse cirúrgico exacerbará essas alterações e não somente comprometerá a habilidade do animal de manter

a homeostase durante o procedimento cirúrgico, mas aumentará o risco de infecções no pós-operatório, ao comprometer a função imunológica. Um período de aclimatação deve ser dado, para garantir que o animal tenha se recuperado desses estressores antes que seja marcada a intervenção cirúrgica. Este tempo irá variar com as circunstâncias, mas é recomendado um mínimo de 10-14 dias para animais criados em laboratório e pode ser de algumas semanas para espécies de criação.

5.6.5. Controle de infecções no pós-operatório

A anestesia e o procedimento cirúrgico modularão a resposta imune. Procedimentos assépticos e uma técnica cirúrgica adequada são críticos para minimizar o risco de infecções no pós-operatório. Como guia geral, o uso profilático de antibióticos não é recomendado e eles devem ser reservados para circunstâncias nas quais haja um provável colapso na técnica asséptica. Quando a terapia antibiótica é indicada, deve-se cuidar para escolher o agente apropriado e, particularmente, quando o tratamento for ineficaz ou a infecção for um problema contínuo em um procedimento ou uma instalação, devem ser realizadas culturas bacterianas e teste de sensibilidade.

Cateteres ou aparelhos implantados representam um grande risco para o desenvolvimento de infecções no pós-operatório. Este risco é maior quando cateteres ou eletrodos são exteriorizados através de uma ferida na pele, ou quando houver:

- a) Esterilização inadequada do implante;
- b) Trauma excessivo do tecido;
- c) Posição inadequada do aparelho ou implante;
- d) Reação excessiva do tecido devido a pouca compatibilidade dos materiais do implante com o leito receptor; e
- e) Quebra na técnica asséptica.

Alguns materiais utilizados em implantes podem ser mais suscetíveis ao desenvolvimento de infecções do que outros. Dados do fabricante podem ser úteis para identificar e prevenir o risco de infecção com um aparelho implantado.

É importante proteger qualquer cateter ou aparelho externo de remoção acidental. Restringir a habilidade de movimentação do animal é uma opção e pode ser necessária quando os cateteres e sondas necessitarem de conexão ao equipamento. Entretanto, em algumas circunstâncias, por exemplo, uma infusão crônica, pode ser possível fixar o

cateter de uma forma que permita que o animal se mova. Na maioria dos casos, cateteres externos, quando não estão em uso, podem ser protegidos sob um curativo adesivo ou jaqueta que permitirá ao animal movimentos normais. Entretanto, é importante proteger o curativo de objetos pontiagudos na gaiola ou de ser mastigado por outros animais.

5.6.6. Considerações finais sobre procedimentos cirúrgicos

O objetivo científico básico após qualquer procedimento cirúrgico é que o animal recupere com o mínimo de distresse seu estado psicológico. Em qualquer circunstância, minimizar as complicações do procedimento irá promover esse resultado.

Ao término de um estudo envolvendo cirurgia experimental, um exame post mortem deve ser realizado para identificar qualquer complicação cirúrgica e validar a posição e permeabilidade de cateteres e eletrodos. Isto é importante para monitorar e analisar procedimentos e identificar oportunidades para modificar técnicas.

Ações que reduzam ou minimizem a magnitude e duração de perturbações metabólicas, associadas ao estresse cirúrgico e complicações no pós-operatório, auxiliam nos objetivos de qualidade de vida animal e na promoção dos princípios de refinamento e redução.

A complexidade e extensão das questões envolvidas em procedimentos cirúrgicos requerem avaliação cuidadosa para identificar riscos, desenvolver estratégias para minimizar ou gerenciar esses riscos e desenvolver um plano eficaz de controle da dor. Um estudo piloto pode ser necessário para identificar este processo. O planejamento também deve incluir uma avaliação da disponibilidade e adequação de instalações e equipamentos, bem como das habilidades, conhecimento e experiência das pessoas envolvidas. Uma vez que um plano de gerenciamento foi formulado, uma análise contínua irá identificar oportunidades para refinar métodos e procedimentos.

6. Procedimentos não invasivos

São considerados procedimentos não invasivos aqueles que não causam estresse significativo, dor, sofrimento, nem causem alterações fisiológicas ou biológicas com repercussão na saúde do animal.

Tais procedimentos, quando reconhecidos e aprovados pela CEUA institucional, podem ser autorizados para utilização sequencial no mesmo animal, conforme definido no DBCA/CONCEA/2015: “Utilização sequencial: procedimentos envolvendo o mesmo animal, realizados em diferentes momentos do projeto, necessários para atingir o seu objetivo principal, cujo protocolo experimental foi aprovado pela CEUA, desde que não incorra em desconforto ou sofrimento para os animais e contribua para redução do número de animais utilizados”.

A utilização sequencial dos animais deve respeitar períodos máximos de utilização determinados pela CEUA institucional, a qual deve criar critérios que não permitam a exposição dos animais a períodos muito prolongados de experimentação.

São exemplos de procedimentos não invasivos:

- a) Estudos de avaliação de desempenho de alimentos e petiscos para cães e gatos, com vistas a estabelecer padrões de palatabilidade, pH urinário, digestibilidade aparente, qualidade de fezes (obtidos por métodos de coleta não invasivos);
- b) Estudos comportamentais observacionais em ambiente natural; e
- c) Estudos clínicos que, por sua natureza, se enquadrem na definição de não invasivo (e.g. coleta de fluidos corporais).

7. Referências bibliográficas

- BARLOW, S.M.; GREIG, J.B.; BRIDGES, J.W. et al. Hazard identification by methods of animal-based toxicology. **Food. Chem. Toxicol.** 40, 145-191, 2002.
- BARTON, H.A.; PASTOOR, T.P.; BAETCKE, T. et al. The Acquisition and Application of Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME) Data in Agricultural Chemical Safety Assessments. **Critical Reviews in Toxicology**, 36, 9-35, 2006.
- BAZIN, J.E.; CONSTANTIN, J.M.; GINDRE, G. Laboratory animal anaesthesia: influence of anaesthetic protocols on experimental models. **Annales Francaises d'Anesthesie et de Reanimation**, v. 23, p. 811–818, 2004.
- BEAN, E.S. Polyclonal antibodies. In: HOWARD, G.C.; BETHELL, D.R. **Basic methods in antibody production and characterization**. 1st ed. Florida: CRC Press, p. 31–50, 2000.
- BENAZON, D. Hypothermia. In: SCURR, C.; FELDMAN, S. (eds). **Scientific Foundations of Anaesthesia**. 2nd ed. London, UK: William Heinemann Medical Books Ltd, p. 344–356, 1974.
- BEN-ELIYAHU, S.; SHAKHAR, G.; ROSENNE, E.; LEVISON, Y. Hypothermia in barbiturate anesthetized rats suppresses natural killer cell activity and compromises resistance to tumour metastasis. **Anesthesiology**, 91:732–740, 1999.
- BONNET, F.; MARRET, E. Influence of anaesthetic and analgesic techniques on outcomes after surgery. **British Journal of Anaesthesia**, 95:52–58, 2005.
- BORGES, M.; MARINI FILHO, R.; LAPOSY, C.B. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory therapy. Changes on renal function of healthy dogs. **Acta Cir. Bras.**, v.28 no.12 São Paulo Dec. 2013.
- BRADFIELD, J.F.; SCHACHTMAN, T.R.; MCLAUGHLIN, R.M.; STEFFEN, E.K. Behavioral and physiological effects of inapparent wound infection in rats. **Laboratory Animal Science**, 42:572–578, 1992.
- BRASIL. LEI Nº 9.605, DE 12 DE FEVEREIRO DE 1998. **Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências**. Diário Oficial da União: Seção I, Brasília, DF, ano 136, p. 1, 13 fev 1998.
- BRONDANI, J. T.; LUNA, S.P.L.; BEIER, S.L. et al. Analgesic efficacy of perioperative use of vedaprofen, tramadol or their combination in cats undergoing ovariohysterectomy. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, p. 420-429, 2009.
- BROWN, M.J.; PEARSON, P.T.; TOMSON, F.N. Guidelines for animal surgery in research and teaching. **American Journal of Veterinary Research**, 54:1544–1559, 1993.
- BROWN, P.A.; HOOGSTRATEN-MILLER, S. Principles of aseptic rodent survival surgery. Part I & II – General training in rodent survival surgery. In: REUTER, J.D.; SUCHOW, M.A. (eds). **Laboratory Animal Medicine and Management, International Veterinary Information Service (IVIS)**, Ithaca, NY, 2004. Disponível em: <http://www.ivis.org>. Acesso em: 17 mar 2023.
- BRYCE, S.M.; SHI, J.; MICOLETT, J. et al. High Content flow cytometric micronucleus scoring method is applicable to attachment cells lines. **Environmental Molecular Mutagenesis**, 51:260-266, 2010.
- CAMPAGNOL, D.; TEIXEIRA-NETO, F.J.; PECCININI, R.G.; OLIVEIRA, F.A.; ALVAIDES, R.K.; MEDEIROS, L.Q. Comparison of the effects of epidural or intravenous methadone on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. **Vet J.**, 192(3):311–5, 2012.
- CANADIAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. In: **Code of Practice for Canadian Kennel Operations**. 2nd ed. p. 25. 2007.
- CARMICHAEL, N.G.; BARTON, H.A.; BOOBIS, A.R. et al. Agricultural Chemical Safety Assessment: A Multisector Approach to the Modernization of Human Safety Requirements. **Critical Reviews in Toxicology**, 36, 1-7, 2006.
- CARMICHAEL, N.G.; ENZMANN, H.; PATE, I.; WAECHTER, F. The Significance of Mouse Liver Tumor Formation for Carcinogenic Risk Assessment: Results and Conclusions from a Survey of Ten Years of Testing by the Agrochemical Industry. **Environ. Health Perspect.**, 105:1196-1203, 1997.
- CHHABRA, R.S.; BUCHER, J.R.; WOLFE, M.; PORTIER, C. Toxicity characterization of environmental chemicals by the US National Toxicology Programme: an overview. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, 206, 437-445, 2003.
- CHIARETTI, A; VIOLA, L.;PIERTRINI, D.; PIASTRA, M.; SAVIOLI, A; TORTOROLO, L.; CALDARELLI, M.; STOPPA, F.; DI ROCCO, C.: Preemptive analgesia with tramadol and fentanyl in pediatric neurosurgery. **Childs Nervous System**, 16, (2), 93-99, 2000.
- CHINDAVIJAK, B.; BELPAIRE, F.M.; SMET, F. et al. Alteration of the pharmacokinetics and metabolism of propranolol and

- antipyrene elicited by indwelling catheters in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 246:1075–1079. Part III Surgical procedures, 1988
- CHUANG, M.S.; ORVIETO, M.; LAVEN, B.M. et al. (2005). Comparison of external catheters with subcutaneous vascular access ports for chronic vascular access in a porcine model. **Contemporary Topics**, 44:24–27, 2005.
 - COCCHETTO, D.M.; BJORNSSON, T.D. Methods for vascular access and collection of body fluids from the laboratory rat. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 72:465–492, 1983.
 - COMBES, R.D.; GAUNT, I.; BALLS, M. **A Scientific and Animal Welfare Assessment of the OECD Health Effects Test Guidelines for the Safety Testing of Chemicals under the European Union REACH System**. *ATLA*, 32, 163-208, 2004.
 - COOPER, D.M.; MCIVER, R.; BIANCO, R. The thin blue line: a review and discussion of septic technique and post procedural infection in rodents. **Contemporary Topics**, 39:27–32, 2000.
 - COOPER, R.L.; LAMB, J.S.; BARLOW, S.M.; et al. A Tiered Approach to Life Stages Testing for Agricultural Chemical Safety Assessment. **Critical Reviews in Toxicology**, 36, 69-98, 2006.
 - CUNLIFFE-BEAMER, T.L. Applying principles of aseptic surgery to rodents. **AWIC Newsletter**, 4(2), 1993.
 - DANNEMAN, P.J.; GRIFFITH, J.W.; BEYERS, T.M.; LANG, C.M. Renal and vascular damage associated with indwelling vascular access devices. **Laboratory Animal Science**, 38:511, 1988.
 - DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand? **Brain, Behavior and Immunity**, 15:7–24, 2001.
 - DENG, J.; ST.CLAIRE, M.; EVERETT, C. et al. Buprenorphine given after surgery does not alter renal ischemia/reperfusion injury. **Comparative Medicine**, 50:628–632, 2000.
 - DERTINGER, S.D. Integration of Mutation and Chromosomal Damage Endpoints into 28-Day Repeat Dose Toxicology Studies. **Toxicological Sciences**, 115(2), 401–411, 2010.
 - DOE, J.E.; BOOBIS, A.R.; BLACKER, A.; et al. A Tiered Approach to Systemic Toxicity Testing for Agricultural Chemical Safety Assessment. **Critical Reviews in Toxicology**, 36, 37-68, 2006.
 - **DOG ABDOMINAL SURROGATE FOR INSTRUCTIONAL EXERCISES (DASIE)**. Disponível em: <http://www.dasiesurgery.ca/DASIE/DASIE.html>.
 - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific Opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment. **EFSA Journal**, 9(9):2379. [68 pp.], 2006. doi:10.2903/j.efsa.2011.
 - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Guidelines for Carcinogen Risk Assessment Risk Assessment Forum**. U.S. Washington, DC: Environmental Protection Agency, 2005.
 - EINSTEIN, R.; BILLING, R.L.; SINGH, A.; CHIN, I. Implanted telemetry transmitters alter the noradrenergic response in vas deferens from mice. **Alternatives to Laboratory Animals**, 32:171–176, 2004.
 - FAGIN, K.D.; SHINSAKO, J.; DALLMAN, M.F. Effects of housing and chronic annulation on plasma ACTH and corticosterone in the rat. **American Journal of Physiology**, 245:E515–E520, 1983.
 - FANTONI, D.T; AULER JR, J.O.C.; FUTEMA et al. Intravenous administration of hypertonic sodium chloride with dextran or isotonic sodium chloride solution for treatment of septic shock secondary to pyometra in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 215: 1283-7, 1999.
 - FLECKNELL, P. **Laboratory Animal Anaesthesia**. 2nd ed. London, UK: Academic Press, 1996.
 - FLECKNELL, P.; WATERMAN-PEARSON, A. **Pain Management in Animals**. London, UK: WB Saunders, 2000.
 - FOLEY, P.L. Common surgical procedures in rodents. In: REUTER; J.D.; SUCHOW. M.A. **Laboratory Animal Medicine and Management**. Ithaca, NY: International Veterinary Information Service (IVIS), 2004.
 - FREEMAN, A.J.; GARDNER, C.J.; DODDS, M.G. An improved method for bonding heparin to intravascular cannulae. **Journal of Pharmacological Methods**, 23:7–11, 1990.
 - GARDINER, T.W.; TOTH, L.A. Stereotactic surgery and long-term maintenance of cranial implants in research animals. **Contemporary Topics**, 38:56–63, 1999.
 - GAROFALO, N.A.; TEIXEIRA NETO, F.J.; PEREIRA, C.D.N.; et al. Cardiorespiratory and neuroendocrine changes induced by methadone in conscious and in isoflurane anaesthetised dogs. **Vet. J.**, 194(3): 398-404, 2012.
 - GAY, W.I. (ed.) Part A: Patient care, vascular access and telemetry. In: GAY, W.I.; HEAVNER, J.E. **Methods of Animal Experimentation**, vol. 7: Research Surgery and Care of the Research Animal. Orlando, FL: Academic Press, 143–241, 1986.
 - GRIFFIN, B. Feline care in the animal shelter. In: MILLER, L.; ZAWISTOWSKI, S. **Shelter Medicine for veterinarians and staff**. 2nd ed. Wiley-BlackWell. p.173. 2013.
 - GRIFFITHS, S.A.; PARKINSON, C.; MCAUSLANE, J.A.N. et al. The utility of the second rodent species in the carcinogenicity

testing of pharmaceuticals. **The Toxicologist**, 14(1):214, 1994.

- HAMADA, S.; SUTOU, S.; MORITA, T. Evaluation of the rodent micronucleus assay by a 28-day treatment protocol: Summary of the 13th Collaborative Study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Environmental Mutagen Society of Japan (JEMS)-Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). **Environ Mol. Mutagen.**;37(2):93-110, 2001.
- HAMPSHIRE, V.A.; DAVIS, J.A.; MCNICKLE, C.A.; *et al.* Retrospective comparison of rat recovery weights using inhalation and injectable anaesthetics, nutritional and fluid supplementation for right unilateral neurosurgical lesioning. **Laboratory Animals**, 35:223–229, 2001.
- HARRISON, F.A. **Surgical Techniques in Experimental Farm Animals**. Oxford: Oxford University Press, 1995.
- HAWKINS, P.; MORTON, D.B.; BEVAN, R.; *et al.* Husbandry refinements for rats, mice, dogs and non-human primates used in telemetry procedures. Report of the Joint Working Party on Refinement. **Laboratory Animals**, 38:1–10, 2004.
- HAYES, K.E.; RAUCCI, J.A.; GADES, N.M.; TOTH, L.A. An evaluation of analgesic regimens for abdominal surgery in mice. **Contemporary Topics**, 39:18–23, 2000.
- HEAVNER, J.E. Physiological effects of anesthetics and analgesics. *In*: Smith A.C.; Swindle M.M. (eds). **Research Animal Anesthesia, Analgesia and Surgery, Scientists Centre for Animal Welfare**. Washington, DC, p.41–58, 1994.
- HECKER, J.F. **The Sheep as an Experimental Animal**. San Diego, CA: Academic Press, 1985.
- HEINDORFF, H.; ALMDAL, T.; VILSTRUP, H. Contradictory effects of uncomplicated versus complicated abdominal surgery on the hepatic capacity for urea synthesis in rats. **Journal of Surgical Research**, 49:239–243, 1990.
- HELLYER, P.W.: Management of Acute and Surgical Pain. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animals)**, p.106- 114, 1997.
- FORAN, J.A. (ed.) **Principles for the Selection of Doses in Chronic Rodent Bioassays**. Washington, DC: ILSI Press, DC, 1997.
- JOHNSON, R.W. The concept of sickness behavior: a brief chronological account of four key discoveries. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 87:443–450, 2002.
- KAPLAN, H.M.; TIMMONS, E.H. **The Rabbit – A Model for the Principles of Mammalian Physiology and Surgery**. New York: Academic Press. Part III Surgical procedures. 1979.
- KIRSCH, J.H.; KLAUS, J.A.; BLIZZARD, K.K. *et al.* Pain evaluation and response to buprenorphine in rats subjected to sham middle cerebral artery occlusion. **Contemporary Topics**, 41:9–14, 2002.
- KURSTAK, E. Progress in enzyme immunoassays: production of reagents, experimental design, and interpretation. **Bull. World Health Organ.**, 63:793-811, 1985.
- (Laboratory Animal Science Association and Universities Federation for Animal Welfare) LASA /UFAW. **Guidelines on the Care of Laboratory Animals and their use for Scientific Purposes**. III Surgical procedures. Potters Bar: UFAW, 1989.
- LEENAARS, M.; HENDRIKSEN, C.F.M. Critical steps in the production of polyclonal and monoclonal antibodies: evaluation and recommendations. **ILAR. J.** 46:269-279, 2005.
- LILES, J.H.; FLECKNELL, P.A. The effects of surgical stimulus on the rat and the influence of analgesic treatment. **British Veterinary Journal**. 149:515–525, 1993.
- LOCKWOOD, L.L.; SILBERT, K.H.; LAUDENSLAGER, M.L.; *et al.* Anesthesia induced modulation of in vivo antibody 248 249 levels: a study of pentobarbital, chloral hydrate, methoxyflurane, halothane and ketamine/xylazine. **Anesthesia and Analgesia**, 77:769–774, 1993.
- LUMLEY, J.S.P.; GREEN, C.J.; LEAR, P.; ANGELL-JAMES, J.E. **Essentials of Experimental Surgery**. Butterworths: London, 1990.
- LYNCH, A.M., *et al.*, New and Emerging Technologies for Genetic Toxicity Testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, 52:205-223, 2011.
- MACGREGOR, J.T.; *et al.*, Flow Cytometric Analysis of Micronuclei in Peripheral Blood Reticulocytes: II. An Efficient Method of Monitoring Chromosomal Damage in the Rat. **Toxicological Sciences**, 94(1), 92–107, 2006.
- MACGREGOR, J.T.; WEHR, C.M.; HENIKA, P.R.; *et al.* The in vivo Erythrocyte Micronucleus Test: Measurement at Steady State Increases Assay Efficiency and Permits Integration with Toxicity Studies. **Fund. Appl. Toxicol.**, 14, 513-522, 1990.
- MARTINS, T.; KAHVEGIAN, M.A.; NOEL-MORGAN, J.; LEON-ROMÁN, M.A.; OTSUKI, D.A.; FANTONI, D.T. Comparison of the effects of tramadol, codein, and ketoprofen alone or in combination on postoperative pain and on concentrations of blood glucose, serum cortisol, and serum interleukin-6 in dogs undergoing maxillectomy or mandibulectomy. **Am. J. Vet. Res.**, 71(9):1019–26, 2010.

- MASTROCINQUE, S.; ALMEIDA, T.F.; TATARUNAS, A.C.; *et al.* Comparison of epidural and systemic tramadol for analgesia following ovariohysterectomy. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, 48(5):310-9, 2012.
- MASTROCINQUE, S.; FANTONI, D.T.A. comparison of preoperative tramadol and morphine for the control of early postoperative pain in bitches submitted to ovariosalpingohysterectomy. **Veterinary Anesthesia and Analgesia**, v.30, n.4, p.220-228, 2003.
- MATHEWS, K.A. Pain Assessment and general approach to management. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, 30 (4):729-755, 2000.
- MATHEWS, K.A.; PALEY, D.M.; FOSTER, R.A.; VALLIANT, A.E. YOUNG, S.S. A comparison of ketorolac with flunixin, butorphanol and oxymorphone in controlling postoperative pain in dogs. **Canadian Veterinary Journal**, 37:557-67, 1996.
- MEEK, E.M.; BUCHER, J.R.; COHEN, S.M.; *et al.* A Framework for Human Relevance analysis of Information on Carcinogenic Modes of Action. **Crit. Rev. Toxicol.**, 33:591-653, 2003.
- MESSIER, C.; EMOND, S.; ETHIER, K. New techniques in stereotaxic surgery and anesthesia in the mouse. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 63:313–318, 1999.
- MILLER, L.; JANEZKO, S. Canine care in the animal shelter. *In*: MILLER, L.; ZAWITSTOWSKI, S. **Shelter Medicine for Veterinarians and Staff**. 2nd. ed. Wiley-Blackwell. p. 135, 2013.
- MONTEIRO, E.R.; FIGUEROA, C.D.; CHOMA, J.C. *et al.* Effects of methadone, alone or in combination with acepromazine or xylazine, on sedation and physiologic values in dogs. **Vet. Anaesth. Analg.**, 35(6):519–27, 2008.
- MONTEIRO, E.R.; JUNIOR, A.R.; ASSIS, H.M. *et al.* Comparative study on the sedative effects of morphine, methadone, butorphanol or tramadol, in combination with acepromazine, in dogs. **Vet. Anaesth. Analg.**, 36(1):25–33, 2009.
- MORRIS, T.H. Antibiotic therapeutics in laboratory animals. **Laboratory Animals**, 29:16–36, 1995.
- MORTON, D.B.; HAWKINS, P.; BEVAN, R.; *et al.* Refinements in telemetry procedures. Report of the Joint Working Party on Refinement. **Laboratory Animals**, 37:261–299, 2003.
- NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Guidelines on the Use of Animals for Training Surgeons and Demonstrating Surgical Equipment and Techniques**. Canberra: NHMRC, 1997.
- NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). Part III Surgical procedures. *In*: NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Australian Code of Practice for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes**. 7th ed. Canberra: NHMRC., 2004.
- NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE. **Training in Basic Biotechnology for Laboratory Mice**. 2007.
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). **Intramural Research Program**. Guidelines for Survival Rodent Surgery. 2005. <http://oacu.od.nih.gov/ARAC/surguide.pdf>
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). **Training in Survival Rodent Surgery**. 1 CD-Rom
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research**. Washington, DC: National Academies Press, 2003.
- NSW AGRICULTURE. NSW Animal Research Review Panel. **Use of Animals in Post-Graduate Surgical Training** (revised), 2003.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Report of the Consultation Meeting on Sub-chronic and Chronic Toxicity/Carcinogenicity Testing**. Rome, 1995
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). Guidelines for the Testing of Chemicals. N°. 19 - Guidance Document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation. 2000.
- ONG, C.K.; LIRK, P.; SEYMOUR, R.A.; JENKINS, B.J. The efficacy of preemptive analgesia for acute postoperative pain management: a meta-analysis. **Anesth. Analg.**, 100(3): 757–73, 2005.
- OVBAY, D.H.; WILSON, D.V.; BEDNARSKI, R.M.; *et al.* Prevalence and risk factors for canine post-anesthetic aspiration pneumonia (1999-2009): a multicenter study. **Vet. Anaesth. Analg.**, 41: 127-36, 2014.
- ROUGHAN, J.; FLECKNELL, P. **Pain Assessment in the Rat**. Newcastle, UK: Newcastle University. 1 CD-ROM.
- PAULOSE, C.S.; DAKSHINAMURTI, K. Chronic catheterisation using vascular access port in rats: blood sampling with minimal stress for plasma catecholamine determination. **Journal of Neuroscience Methods**, 22:141–146, 1987.
- PEARSON, M.L. Guidelines for prevention of intravascular-device-related infections. **Infection Control and Hospital Epidemiology**. 17:438–473, 1996.
- PEKCAN, Z.; KOC, B. The post-operative analgesic effects of epidurally administered morphine and transdermal fentanyl patch after ovariohysterectomy in dogs. **Vet. Anaesth. Analg.** 37: 557-65, 2010.

- PFUHLER, S.; *et al.* **Reduction of use of animals in regulatory genotoxicity testing: Identification and implementation opportunities.** Report from an ECVAM workshop Mutation Research, 680, p.31-42, 2009.
- POPP, M.B.; BRENNAN, M.F. Long-term vascular access in the rat: importance of asepsis. **American Journal of Physiology**, 241:H606–H612, 1981.
- REMBERT, M.S.; SMITH, J.A.; HOSGOOD, G. A comparison of a forced-air warming system to traditional thermal support for rodent microenvironments. **Laboratory Animals**, 38:55–63, 2004.
- REYES, L.; TINWORTH, K.D.; LI, K.M. *et al.* Observer-blinded comparison of two non-opioid analgesics for postoperative pain in piglets. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 73:521–528, 2002.
- RHOMBERG, L.R.; BAETCKE, K.; BLANCATO, J.; *et al.* Issues in the Design and Interpretation of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies in Rodents: Approaches to Dose Selection Crit. **Rev. Toxicol.**, 37 (9) 729 – 837, 2007.
- ROTHFUSS, A.; HONMA, M.; CZICH, A. *et al.* Improvement of in vivo genotoxicity assessment: combination of acute tests and integration into standard toxicity testing. **Mutat. Res.**, 723(2):108-20, 2011.
- ROUGHAN, J.V.; FLECKNELL, P.A. Effects of surgery and analgesic administration on spontaneous behaviour in singly housed rats. **Research in Veterinary Science**, 69:283–288, 2000.
- ROUGHAN, J.V.; FLECKNELL, P.A. Evaluation of a short duration behaviour-based postoperative pain scoring system in rats. **European Journal of Pain**, 7:397–406, 2003.
- ROWLAND R.R.; REYES, E.; CHUHWUOCHA, R.; TOKUDA, S. Corticosteroid and immune responses of mice following mini-osmotic pump implantation. **Immunopharmacology**, 20:187–190, 1990.
- SALO, M. Effects of anaesthesia and surgery on the immune response. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, 36:201–220, 1992.
- SAMPATH, L.A.; SABORIO, D.V.; YARON, I.; MODAK, S. Safety and efficacy of an improved antiseptic catheter impregnated intraluminally with chlorhexidine. **Journal of Infusion Nursing**, 24:395–403, 2001.
- SHARP, J.; ZAMMIT, T.; AZAR, T.; LAWSON, D. Recovery of male rats from major abdominal surgery after treatment with various analgesics. **Contemporary Topics**, 42:22–27, 2003.
- SHERERTZ, R.J.; CARRUTH, W.A.; MAROSOK, R.D.; *et al.* Contribution of vascular catheter material to the pathogenesis of infection: the enhanced risk of silicone in vivo. **Journal of Biomedical Materials Research**, 29:635–645, 1995.
- SHI, J.; BEZABHIE, R.; SZKUDINSKA, A. Further evaluation of a flow cytometric in vitro micronucleus assay in CHO-K1 cells: a reliable platform that detects micronuclei and discriminate apoptotic bodies. **Mutagenesis**, 25: 33-40, 2010.
- STASIAK, K.L.; MAUL, D.; FRENCH, E. *et al.* Species-specific assessment of pain in laboratory animals. **Contemporary Topics**, 42:13–20, 2003.
- STEAGALL, P.V.M.; CARNICELLI, P.; TAYLOR, P.M.; *et al.* Effects of subcutaneous methadone, morphine, buprenorphine or saline on thermal and pressure thresholds in cats. **J. Vet. Pharmacol. Therap.**, 29: 531-37, 2006.
- STEWART, L.S.A.; MARTIN, W.J. Influence of postoperative analgesics on the development of neuropathic pain in rats. **Comparative Medicine**, 53:29–36, 2003.
- SWINDLE, M.M. Surgery, **Anesthesia and Experimental Techniques in Swine.** Ames, IA: Iowa State University Press, 1998.
- SWINDLE, M.M.; ADAMS, R.J. **Experimental Surgery and Physiology: Induced Animal Models of Human Disease.** Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1988.
- SWINDLE, M.M.; NOLAN, T.; JACOBSON, A.; *et al.* Vascular access port (VAP) usage in large animal species. **Contemporary Topics**, 44:7–17, 2005.
- TASAKA, A.C. Antiinflamatórios não esteroidais. *In*: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARD, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.** 4ª Ed, Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2006, p.254 a 272.
- THORNTON, P.D.; WATERMAN-PEARSON, A.E. Quantification of pain and distress responses to castration in young lambs. **Research in Veterinary Science**, 66:107–118, 1999.
- THURMON, J.C.; BENSON, G.J. Pharmacological consideration in selection of anesthetics for animals. **Journal of the American Veterinary Association**, 191:1245–1253, 1987.
- TORNATZKY, W.; MICZEK, K.A. Long term impairment of autonomic circadian rhythms after brief intermittent social stress. **Physiology and Behavior**, 53:983–993, 1993.
- TOROUS, D.; HALL, N.E.; MURANTE, F.G. *et al.* Comparative Scoring of Micronucleated Reticulocytes in Rat Peripheral Blood by Flow Cytometry and Microscopy. **Toxicol. Sci.**, 74-309-314, 2003.
- USUI, T.; GRIFFITHS, S.A.; LUMLEY, C.E. The utility of the mouse for the assessment of the carcinogenic potential of

- pharmaceuticals. *In*: D'Arcy P.O.F.; Harron, D.W.G. (eds). **Proceedings of the Third International Conference on Harmonisation**. Belfast, UK: Queen's University Press. P. 279-284, 1996.
- VALVERDE, A.; CANTWELL, S.; HERNÁNDEZ, J.; BROTHERTON, C. Effects of acepromazine on the incidence of vomiting associated with opioid administration in dogs. **Vet. Anaesth. Analg.**, 31(1):40–5, 2004.
 - VAN RUIVEN, R.; MEIJER, G.W.; VAN ZUTPHEN, L.F.M.; *et al.* Adaptation period of laboratory animals after transport: a review. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science**, 23:185–190, 1996.
 - WAYNFORTH, H.B.; FLECKNELL, P.A. **Experimental and Surgical Technique in the Rat**. 2nd ed. London, UK: Academic Press, 1992.
 - WYATT, I.; COUTTS, C.T.; FOSTER, P.M.; *et al.* The effect of implantation of osmotic pumps on rat thyroid hormone and testosterone levels in the plasma, an implication for tissue “S” studies. **Toxicology**, 95 (1-3): 51-4, 1995.

8. Critérios mínimos para instalações de Cães e Gatos

<p>Classificação:</p> <p>OB - Obrigatório Considera-se item OBRIGATÓRIO</p> <p>R - Recomendado. Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.</p>

DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Instalações e procedimentos de manejo	
Ambientes físicos para cães e gatos	
Instalações de criação, que realizam a reprodução de animais, separadas de outras instalações.	
Em edificação que abrigue instalações de diferentes finalidades (criação, manutenção e utilização), as instalações de criação devem ter suas áreas físicas e suas rotinas com barreiras exclusivas, delimitadas e separadas das instalações de manutenção e utilização.	OB
Área administrativa.	R
Área de recepção de animais e avaliação (triagem).	R
Áreas de alojamento de cães e gatos isoladas acústica e visualmente uma da outra.	OB
Sala de procedimentos clínicos.	R
Ambientes específicos considerando os procedimentos experimentais executados na instalação (salas cirúrgicas, laboratórios, etc.).	OB
Sala de descanso e copa.	R
Áreas de higienização separadas das salas de animais e com controles específicos.	OB
Vestiário.	R
Corredores com as dimensões de acordo com especificações do Concea.	R
Lavanderia própria.	R
Sanitários fora de áreas controladas em instalações de criação.	OB
Dimensionamento dos alojamentos de acordo com as especificidades dos animais.	OB
Área para eutanásia separada do alojamento dos animais.	OB
Área exclusiva para depósito de materiais.	OB
Área exclusiva para depósito de resíduos.	OB
Local para armazenamento de produtos químicos e medicamentos.	R
Freezer para acondicionamento de carcaças.	OB
Paredes, pisos e tetos em materiais que possibilitem higienização e desinfecção.	OB
Grupo gerador próprio para fornecimento emergencial de energia elétrica.	R
Luminárias e interruptores vedados ou aterrados.	R
Controle de ruídos e vibrações.	R
Controle de temperatura e umidade.	OB
Controle de trocas de ar e ciclo claro escuro em ambientes fechados.	OB
Instalações de criação com parâmetros ambientais, genéticos, sanitários e de bem-estar, controlados.	R
Área dedicada para quarentena.	OB
Manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) em instalações de produção.	R

Enriquecimento Ambiental.	OB
Instalações Específicas para Cães	
Alojamento em pares ou grupos, exceto em casos autorizados pela CEUA ou condições clínicas.	OB
Contato visual entre os animais.	OB
Recinto primário com parte do espaço coberto.	OB
Áreas definidas para recreação e descanso noturno dos animais em instalações de criação.	OB
Instalações Específicas para Gatos	
Instalações animais organizadas em zonas principais e periféricas.	OB
Baias de acasalamento isoladas de outros animais.	OB
Biossegurança	
Uso de equipamentos de proteção individual preconizados pelo nível de biossegurança da instalação.	OB
Barreiras sanitárias de bioexclusão e biocontenção preconizadas pelo nível de biossegurança da instalação.	OB

Capítulo 4

Primatas não humanos



COORDENADOR:

José Augusto Pereira Carneiro Muniz Centro Nacional de Primatas

AUTORES:

Alcides Pissinatti Instituto Estadual do Ambiente, Centro de Primatologia do Rio de Janeiro

José Augusto Pereira Carneiro Muniz Instituto Evandro Chagas

Klena Sarges Marruaz da Silva Instituto Evandro Chagas

Márcia Cristina Ribeiro Andrade Fundação Oswaldo Cruz

Citação recomendada: PISSINATTI, A.; MUNIZ, J.A.P.C.; SILVA, K.S.M.; ANDRADE, M.C.R.. (2023) Capítulo 4 - Primatas não humanos. pp. 250-329. In: MUNIZ, J.A.P.C. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	257
2. Caracterização da ordem Primates	260
2.1. Subordem Prosimii	260
2.2. Subordem Anthropeidea	260
2.2.1. Platyrrhini	260
2.2.1.1. <i>Cebuella</i> :	261
2.2.1.2. Callithrix:	261
2.2.1.3. Mico (ex-Callithrix):	262
2.2.1.4. Saguinus:	262
2.2.1.5. Leontopithecus:	262
2.2.1.6. Callimico:	262
2.2.1.7. Aotus (macaco da noite):	262
2.2.1.8. Saimiri (mico de cheiro):	263
2.2.1.9. Gêneros Cebus e Sapajus (macaco prego – capuchin):	263
2.2.1.10. Callicebus (sauá, gugigó, zogue-zogue):	263
2.2.1.11. Chiropotes:	263
2.2.1.12. Cacajao:	263
2.2.1.13. Pithecia:	264
2.2.1.14. Alouatta (guariba, bugio):	264
2.2.1.15. Lagothrix (barrigudo):	264
2.2.1.16. Oreonax (ex-Lagothrix):	264
2.2.1.17. Ateles (macaco aranha):	264
2.2.1.18. Brachyteles (muriqui):	265
2.2.2. Catarrhini	265
2.2.2.1. Cercopithecidae:	265
2.2.2.2. Colobinae	267
2.2.2.3. Hylobatidae	267
2.2.2.4. Pongidae	267
2.2.2.5. Hominidae – Homo sapiens:	268
3. Modelos de primatas utilizados em pesquisa	269
4. Instalações	274
4.1. Estrutura física dos alojamentos (macro e microambientes)	274
4.1.1. Área de produção	275
4.1.2. Área de utilização	276
4.2. Condições ambientais	278
4.3. Apoio técnico	280
4.3.1. Área de higienização	280
4.3.2. Ambulatório e centro cirúrgico	280
4.3.3. Sala de necropsia	281
4.3.4. Cozinha	282
4.3.5. Quarentena	282

4.3.6. Depósitos	284
4.4. Apoio administrativo	284
5. Procedimentos de manejo	285
5.1. Alimentação	285
5.2. Higienização	286
5.3. Contenção e treinamento por condicionamento	286
5.4. Enriquecimento ambiental	288
5.5. Medicina preventiva	290
5.5.1. Inspeção diária	290
5.5.2. Barreiras sanitárias e biossegurança	291
5.5.3. Saúde do trabalhador	296
5.5.4. Controle de doenças, diagnóstico e tratamento	297
5.5.5. Quarentena	297
5.5.6. Separação por espécies símias	302
6. Procedimentos de ensino ou pesquisa científica	303
6.1. Administração de substâncias	303
6.1.1. Via oral	304
6.1.2. Via entérica	304
6.1.3. Via intravenosa e intra-arterial	304
6.1.4. Vias subcutânea, intradérmica e intramuscular	305
6.1.5. Via epidural	305
6.1.6. Via intraperitoneal:	305
6.1.7. Via intranasal:	306
6.2. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções	306
6.3. Estudos fetais e embrionários	306
6.4. Modificação de ingestão de água e alimento	307
6.5. Estudos de cognição e memória	308
6.6. Cirurgia experimental	308
6.7. Neurociência	309
7. Cuidados veterinários	311
7.1. Cuidados pré e pós-operatórios	311
7.2. Analgesia	312
7.3. Anestesia	313
7.4. Cirurgia	315
7.5. Eutanásia	315
7.6. Necropsia	316
7.7. Destino de carcaças	317
8. Ética e bem-estar no uso de Primatas não humanos	318
9. Referências bibliográficas	321
8. Critérios mínimos para instalações de Primatas não-humanos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica	328

PRIMATAS NÃO HUMANOS MANTIDOS EM
INSTALAÇÕES DE
ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA

1. Introdução

Mundialmente a vida selvagem vem sendo alterada de modo direto ou indireto devido à ininterrupta destruição dos seus habitats, causada especialmente por ações humanas desregradas. Essas interferências estão modificando drasticamente a relação agente, vetor e hospedeiro, através de adaptações evolutivas, fato que nos últimos séculos vem se observando de modo mais acentuado (LEDERBERG *et al.*, 1992; SCHRAG & WIENER 1995; EPSTEIN 1995; HAHN *et al.*, 2000). A redução da biodiversidade planetária é motivo de preocupação geral (SCHMIDT & OSTFELDT 2001).

A evolução dos primatas iniciou-se há aproximadamente 70 milhões de anos. Desde então, diversas formas extinguiram-se e outras seguiram sua caminhada evolutiva, entre elas, a espécie humana. Esses vertebrados apresentam certas características anátomo-fisiológicas vitais que contribuíram para a sobrevivência de sua ordem zoológica (*Primates*): maior volume cerebral, visão binocular e estereoscópica.

Nos indivíduos da subordem Anthropeidea, os olhos são totalmente protegidos por forte ossatura, e o campo visual frontal permite avaliar de imediato a noção de distância nos seus deslocamentos nas árvores. A presença de cones especializados em seu aparelho visual capta as variadas cores, tornando seu mundo mais rico em referências cromáticas. O olfato não é tão desenvolvido, e somente na subordem Prosimi é mais acentuado.

São mamíferos placentários adaptados à vida arborícola, dotados de um par de glândulas localizadas no tórax. Nos primeiros meses carregam os filhotes agarrados no ventre e à medida que se desenvolvem passam a ser carregados no dorso e agarrados, até que cheguem à fase de independência materna. Apresentam habilidade no uso das mãos e dos pés. Algumas espécies apresentam maior movimentação dos braços (braquiação), além da cauda preênsil, que os auxilia no deslocamento, como por exemplo, nos Atelídeos). Os primatas não humanos (PNH) A Lei nº 11.794/08 regulamenta a criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional. Bem como cria o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, órgão normatizador que estabelece resoluções, orientações e diretrizes com o objetivo de promover uso ético dos animais, buscando a redução e quando possível a substituição, também apresentam organização em grupos familiares.

Conhecemos pouco sobre os aspectos ecológicos envolvidos com primatas em seus lugares de ocorrência. Mesmo assim novas espécies têm sido descobertas, particularmente nas últimas décadas (MITTERMEIER *et al.*,

1992; ALPERIN 1993; FERRARI & LOPES 1992; KOBAYASHI & LANGUTH 1999). A quase totalidade dos primatas não humanos está concentrada na faixa intertropical, mas a espécie humana ocupa praticamente todas as regiões da Terra (MITTERMEIER *et al.*, 1994). Informações mais atualizadas indicam a existência de 689 espécies e subespécies, mas esse número varia constantemente face às novas pesquisas e descobertas (RYLANDS 2014). Mudanças significativas ocorreram na sistemática dos Platyrrhini, principalmente baseadas em revisões de gêneros *Cebus*, *Aotus*, *Saimiri*, *Chiropotes*, *Pithecia*, *Cacajao*, *Callicebus*, segundo Hershkovitz (HERSHKOVITZ 1977, 1979, 1982, 1983, 1984, 1985, 1987 a-b, 1990; RYLANDS *et al.*, 2000; GROVES 2001; MARSH 2014; RYLANDS 2014). Esses, e outros autores, estudaram aspectos filogenéticos e taxinômicos através da morfologia (ROSENBERGER 1979, 1981; ROSENBERGER & COIMBRA-FILHO 1984; ROSENBERGER & STRIER 1989), e da genética (DUTRILLAUX 1979, SCHNEIDER *et al.*, 1991, 1993), tendo em vista caracterizá-los mais precisamente.

A demanda por primatas não humanos como modelos na pesquisa científica é real enquanto não houver métodos alternativos; porém, o objetivo deve ser atingir a completa substituição dos procedimentos em animais vivos para propósitos científicos ou educacionais, conforme recomenda a *European Commission* (2010).

Diante da impossibilidade atual da completa substituição de primatas, a atenção ao refinamento e à redução constitui uma exigência absoluta, para garantir o respeito dos Princípios dos 3Rs, de acordo com Russell e Burch (RUSSELL & BURCH 1959).

Por exemplo, *Papio cynocephalus* é utilizado em estudos de doenças virais, como a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). *Macaca mulatta*, *M. fascicularis* e *M. nemestrina* são modelos frequentes em pesquisas biomédicas (HARTMAN & STRAUSS 1961; TERRY 1976). Seres humanos também podem ser usados nas pesquisas biomédicas desde que sejam cumpridos os protocolos e princípios éticos exigidos para essas situações.

Ainda existe uma série de controvérsias envolvendo o uso de animais e de humanos em pesquisas biomédicas. A publicação de normas recentes têm contribuído para a melhoria desse tipo de intervenção. Em Medicina Veterinária a Resolução 879 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) trata do tema uso de animais no ensino ou em pesquisas e também a lei de procedimentos para o uso de animais em atividades de ensino ou de pesquisa científica (Lei nº 11794 de 08/10/2008), buscam melhor orientar o seu uso, tendo o órgão normatizador que é o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea).

O presente documento complementa, mas não substitui a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA), publicada pelo Concea. Este guia objetiva orientar a

conduta, sem eximir a autonomia das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUA) institucionais, as quais continuarão a avaliar e deliberar sobre casos específicos referentes a cada proposta.



2. Caracterização da ordem Primates

2.1. Subordem Prosimii

Muitas das espécies das 8 famílias deste táxon são de tamanho reduzido, lembrando pequenos roedores (RYLANDS; MITTERMEIER 2014). Atingem a maturidade sexual mais rapidamente do que os antropoidea, sendo na maioria formas noturnas, com alimentação insetívora ou frugívora/carnívora. O peso varia ao redor de 50g (*Microcebus*) até 10 kg em Indriidae (*Indri*).

PROSSÍMIOS:

1) Lemuridae, Indriidae, Daubentoniidae, Cheirogaleidae, Lepilemuridae – com diversas espécies encontradas em Madagascar e nas ilhas Comoro, no leste da África. O peso varia entre 0,5 a 10 kg. Os lemurídeos são representados pelos gêneros: *Lemur*, *Hapalemur*, *Cheirogaleus* e *Phaner*. Nos Indriidae temos: *Indri*, *Propithecus*, *Avahi*, em Cheirogaleidae temos *Microcebus*, em Lepilemuridae temos o gênero *Lepilemur* e em Daubentoniidae, a forma monotípica *Daubentonia*.

2) Lorisidae e Galagidae (angwantibos, loris, pottos e gálagos) – encontrados nas florestas tropicais da África e da Ásia, além de savanas úmidas. Possuem hábitos noturnos e são arborícolas. Em Loridae há *Loris* e *Potto*, nos quais há ausência de cauda ou rudimento dela. Em Galagidae há o gênero *Galago* que apresenta a cauda longa e espessa. Adultos podem pesar 0,2 a 1,5 kg nessas espécies.

3) Tarsiidae – representada por 3 espécies do gênero *Tarsius* que habitam florestas pluviais na Indonésia e nas Filipinas. Possuem hábitos noturnos, sendo primordialmente insetívoros. Os adultos pesam entre 80-170 g.

2.2. Subordem Anthropeidea

2.2.1. Platyrrhini

São encontrados no neotrópico (primatas do Novo Mundo ou neotropicais), vivendo em florestas que se esten-

dem da América Central até o norte da Argentina.

Na revisão organizada pela IUCN/SSC *Primate Specialist Group* (PSG), na Florida em 2000, reconhecem-se cinco famílias: Callitrichidae, Aotidae, Cebidae, Pitheciidae e Atelidae, tendo 18 gêneros: *Cebuella*, *Mico*, *Callithrix*, *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Saimiri*, *Cebus*, *Aotus*, *Callicebus*, *Pithecia*, *Chiropotes*, *Cacajao*, *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix*, *Oreonax* e *Brachyteles*, 110 espécies e 205 subespécies (RYLANDS *et al.*, 2000). Hoje para o Brasil, reconhecem-se 19 gêneros, 124 espécies e 145 subespécies; enquanto que para a fauna mundial de primatas considera-se 77 gêneros, 487 espécies e 689 espécies e subespécies (RYLANDS 2014). Mudanças significativas ocorrem na sistemática dos Platyrrhine (RYLANDS, MITTERMEIER, SILVA JR 2012), principalmente baseadas em revisões de gênero *Cebus*, havendo mudança de algumas espécies desse gênero para o gênero *Sapajus* (ALFARO *et al.*, 2012).

Como característica básica possuem septo nasal largo com o afastamento das fossas nasais dirigidas para o lado, além de possuírem 3 pré-molares e os polegares não oponentes (COIMBRA-FILHO 1990, MITTERMEIER & COIMBRA-FILHO 1982), garras nos calitriquídeos, unhas e a cauda preênsil em Atelidae e semi preênsil em Cebidae, são de hábitos diurnos em sua maioria, ao passo que os representantes de Aotidae habitualmente são noturnos.

Alimentação variada de itens vegetais (folhas, cascas, gomas e frutos), carne, insetos e pequenos vertebrados.

Basicamente, os calitriquídeos possuem comportamento monogâmico reproduzindo uma ou duas vezes ao ano com 2 filhotes por gestação, enquanto nas formas maiores (Aotidae, Pitheciidae e Atelidae) produzem apenas um filhote, como é o caso de *Callimico* com características intermediárias entre calitriquídeo e os demais platirrininos apresentando 3 pré-molares, 3 molares, além de reproduzir normalmente apenas um filhote.

2.2.1.1. *Cebuella*:

De pequeno porte, possui sua distribuição na Amazônia. Quando adulto seu peso pode chegar até 120 g. Constituída de 2 subespécies (*Cebuella pygmaea pygmaea* e *Cebuella pygmaea niveiventris*).

2.2.1.2. *Callithrix*:

Com 6 espécies e a maioria delas encontradas na Mata Atlântica. Uma no Cerrado (*Callithrix penicillata*) distribuindo-se em áreas na Bahia, Minas Gerais, Goiás, Sudeste do Piauí e Maranhão e norte de São Paulo. Hoje vai além,

pelo processo invasor ou devido a introduções indevidas (COIMBRA-FILHO 1990).

2.2.1.3. *Mico (ex-Callithrix)*:

Com 14 espécies no momento, distribuídas pelo ecossistema amazônico. Tem porte, e comportamento semelhante aos *Callithrix*.

2.2.1.4. *Saguinus*:

Constituída por 9 espécies e 24 subespécies. O adulto pesa entre 450 g e 500 g (RYLANDS *et al.*, 2000). Todas as formas deste gênero são amazônicas.

2.2.1.5. *Leontopithecus*:

Constituída por 4 espécies distribuídas em regiões afastadas uma das outras no ecossistema Mata Atlântica. São as maiores formas de calitriquídeo, chegando a pesar 900 g em *L. chrysopygus*.

2.2.1.6. *Callimico*:

Gênero monotípico (*Callimico goeldii*). Coloração negra e características morfofisiológicas intermediárias de Callitrichidae e de Cebidae como o parto de filho único. Ocorrência em matas do Alto Amazonas, próximo ao Rio Caquetá, Colômbia, áreas do Peru, extremo oeste do Brasil (Acre) e pela província de Pando na Bolívia.

2.2.1.7. *Aotus* (macaco da noite):

Constituída por 7 espécies e 10 subespécies. O peso dos adultos varia entre 700 g a 1.200 g (MA *et al.*, 1976).

2.2.1.8. *Saimiri* (mico de cheiro):

Constituída por 2 espécies e 10 subespécies, com 2 grupos (tipo romano e tipo gótico) (RYLANDS *et al.*, 1995).

2.2.1.9. Gêneros *Cebus* e *Sapajus* (macaco prego – capuchin):

Constituída por 1 espécie e 32 subespécies (RYLANDS *et al.* 2000). Vivem em grupo de 8 a 30 indivíduos. Gênero amplamente distribuído, cujos adultos podem pesar até 4 kg. Para Silva Jr. (SILVA JR. 2001) e Alfaro *et al.* (ALFARO *et al.*, 2012) há a separação em dois gêneros: *Sapajus* e *Cebus* para macacos prego.

2.2.1.10. *Callicebus* (sauá, gugigó, zogue-zogue):

Variam muito de coloração e são encontrados em vários ecossistemas. Constituído por 18 espécies e 5 subespécies. Os adultos pesam entre 400 a 600 g.

2.2.1.11. *Chiropotes*:

Encontrados na América do Sul, apresentam cobertura de pelos cefálicos, característicos e pelos longos no corpo esguio e em toda a extensão da cauda. Chegam a pesar até 3 kg quando adultos. Com 1 espécie e 6 subespécies.

2.2.1.12. *Cacajao*:

Ocorrência no Alto Rio Amazonas-Solimões e sudoeste da Bacia Amazônica. Apresentam diversidade e relações filogenéticas ainda controversas. Uma 1ª divisão do gênero distingue o grupo de calvos com pelagem longa colorida e face avermelhadas (*Cacajao calvus*) com quatro subespécies (*Cacajao calvus calvus*, *C.c. novaesi*, *C.c. rubicundus* e *C.c. ucayalii*) e outro grupo de cabeça escura (*Cacajao melanocephalus*) com 2 subespécies (*Cacajao melanocephalus melanocephalus* e *C. m. ouakary*) (MITTERMEIER *et al.*, 2013).

2.2.1.13. *Pithecia*:

Com pelame denso, cuja coloração varia do cinza escuro ao preto. Adultos podem pesar até 2 kg. Encontrado no norte da América do Sul (Brasil, Guianas, Colômbia, Peru, Equador, Venezuela). Constituído por 16 espécies (MARS-CH 2014).

2.2.1.14. *Alouatta* (guariba, bugio):

As espécies do táxon distribuem-se da América Central até ao sul na América do Sul (norte da Argentina). Os adultos podem pesar de 7 a 9 kg; possuem dieta rica em folhas e frutos e apresentam como principal característica o osso hioide muito desenvolvido, que forma verdadeira caixa de ressonância, propiciando vocalização característica e forte. Constituído por 4 espécies e 17 subespécies (RYLANDS *et al.*, 2000).

2.2.1.15. *Lagothrix* (barrigudo):

Musculatura bem desenvolvida sob denso pelame lanoso que varia do cinza, marrom, ao preto, de acordo com a subespécie. Os adultos podem apresentar peso que varia entre 4 a 10 kg. Encontrados na Região Amazônica. Com 2 espécies e 3 subespécies.

2.2.1.16. *Oreonax* (ex-*Lagothrix*):

Uma espécie (*Oreonax flavicauda*), encontrada no noroeste montanhoso (altitude 1.500 a 2.700 m) no Peru. Devido às características cranianas e dentárias diferentes fez-se a sua separação de *Lagothrix*. Acha-se criticamente ameaçada.

2.2.1.17. *Ateles* (macaco aranha):

Animais de grande porte; esguios; abdômen protuberante; membros longos; cauda preênsil e ausência de pole-

gar. Distribuem-se desde o México até o sul da Bolívia. Adultos pesam entre 5 a 7 kg. Constituído por 2 espécies e 14 subespécies.

2.2.1.18. *Brachyteles* (muriqui):

Maior dos símios do Novo Mundo. As duas formas existentes são exclusivamente brasileiras e habitam a região sudeste. Apresentam membros longos, especialmente os anteriores; cauda preênsil e pelame lanoso, de coloração cinza amarelado. Os machos adultos podem pesar até 15 kg e as fêmeas 11 kg (COIMBRA-FILHO *et al.*, 1993).

OBS: Para conhecimento do número das diferentes espécies e subespécies de primatas do neotrópico (Platyrrhini), consultar Rylands *et al.* (RYLANDS *et al.*, 2000). Qualquer nova espécie descrita após essa data está fora de cogitação seu uso em estudos em laboratório.

2.2.2. Catarrhini

Os Catarrhini ou primatas do Velho Mundo são constituídos pelas famílias Cercopithecidae, Hylobatidae, Pongidae e, muito próxima desta, a Hominidae (RYLANDS, MITTERMEIER 2014).

Septo nasal estreito e abertura das fossas nasais voltadas para baixo. Primatas maiores e mais evoluídos habitam florestas e áreas de savanas africanas, e no sudeste e ilhas asiáticas. Algumas espécies possuem calosidades isquiáticas, colón saculado como em Colobinae, com flexura sigmoide e ausência do apêndice cecal. Apenas *Macaca sylvanus* é encontrada no continente europeu.

2.2.2.1. Cercopithecidae:

Distribuídos nos continentes africano e asiático, e uma única espécie introduzida na Espanha (*Macaca sylvanus*). A característica fundamental é possuírem calosidades isquiáticas, colón saculado, nas formas de Colobinae com flexura sigmoide e ausência do apêndice cecal.

1) **Macaca:**

É o gênero mais conhecido devido aos numerosos experimentos científicos realizados com *Macaca mulatta* (rhesus), *M. fascicularis* e *M. nemestrina*, todas muito usadas como modelos em pesquisas biomédicas, principalmente na 2ª metade do século XX (HARTMAN & STRAUSS 1961; BOURNE 1975; TERRY 1976).

2) **Cercocebus:**

Habitam florestas tropicais africanas. São de corpo esguio, cauda e membros longos, possuindo a região orbital e supraorbital com coloração, variando do esbranquiçado ao cinza.

3) **Cercopithecus:**

Notadamente *Chlorocebus aethiops* (= *Cercopithecus aethiops* - macaco verde). Espécie muito utilizada em pesquisas, cujos machos pesam entre 3 e 6 kg, e as fêmeas cerca de 2 a 4 kg.

4) **Erythrocebus:**

Forma monotípica, com hábitos acentuadamente terrestres. Habitam a região subsariana africana. Machos atingem 15 kg e as fêmeas 7 kg.

5) **Mandrillus, Papio e Theropithecus (Mandrill, dril, babuinos e gelada):**

a) Papio: Utilizado principalmente em pesquisas sobre doenças virais (AIDS), principalmente a espécie *Papio cynocephalus*. Simios grandes e fortes, com acentuado dimorfismo sexual. Vivem em grupos de tamanho variável, alimentando-se de frutos, raízes, insetos, e até carne de pequenos vertebrados. Os machos adultos atingem 25 kg e as fêmeas de 13 a 15 kg. Os machos possuem caninos fortes e longos. As fêmeas em estro apresentam peculiar intumescência vulvar e perivulvar. Tanto o mandril (*Mandrillus sphinx*) como drill (*Mandrillus leucophaeus*), são formas florestais encontradas no oeste da África Central (de Camarões, Nigéria, Gabão e Congo). Machos apresentam acentuada coloração vermelha e azul no genital e facial. São muito ameaçadas.

b) Theropithecus (gelada): Encontrada nas regiões montanhosas (± 2.000 a 4.000 m de altitude) da Etiópia. Apresentam acentuado dimorfismo. Os machos demonstram marcante colorido na região esternal e genitais

enquanto as fêmeas são menores e de coloração cinza parda. Vivem em grupos numerosos.

2.2.2.2. Colobinae

Diversas espécies, com ocorrência nas regiões zoogeográficas Etiopiana e Oriental. Dentre outros gêneros podemos citar: *Colobus*, da África e *Nasalis*, *Presbytis*, *Pygathrix*, *Rhinopithecus*, sendo:

1) *Nasalis*:

Proboscide, vivem em matas e mangues de Bornéu. São arborícolas, e primordialmente herbívoros e frugívoros. Os machos chegam a pesar até 24 kg e as fêmeas 12 kg.

2) *Pygathrix*, *Presbytis*, *Rhinopithecus*:

Com várias espécies e subespécies encontradas no sul e no sudeste da Ásia. Estômago amplo e saculado, apropriado à dieta rica em folhas e frutos.

2.2.2.3. Hylobatidae

Hylobates (gibões) e *Symphalangus* (siamang) – habitam florestas do sudeste asiático. Os gibões são as únicas formas dos grandes macacos sem cauda, que apresentam caninos longos e calosidades isquiáticas.

2.2.2.4. Pongidae

1) *Pongo pygmaeus* (orangotango):

Encontrados em Borneo e Sumatra. São bastante vegetarianos e dependem de florestas bem preservadas. Tem pelos longos, particularmente na parte dorsal superior. Apresentam uma coloração que varia do marrom escuro ao marrom avermelhado. Possuem o saco laríngeo bem desenvolvido. Machos adultos podem pesar de 75 a 100 kg, e as fêmeas 35-40 kg.

2) *Gorilla*:

Próprios da região equatorial africana, tanto em trechos montanhosos como em lugares baixos. Os machos quando mais velhos apresentam cor cinza prateada no dorso. O peso dos machos selvagens varia entre 140 a 180 kg e as fêmeas de 70-110 kg.

3) *Pan* – chimpanzés:

Pan troglodytes, ocorrência em florestas do Senegal e a oeste do Rio Congo, sudeste do Congo/Zaire, oeste de Ruanda, Uganda Burundi e Tanzânia. É a mais usada em pesquisas, enquanto que a espécie Bonobo (*Pan paniscus*) é a menor dentre elas, encontrada em regiões do Congo/Zaire ao sul do Rio Congo.

2.2.2.5. Hominidae – *Homo sapiens*:

Apesar destes apontamentos se referirem a primatas não humanos, faz-se referência à família a qual pertencemos, porque, atualmente, conceituados cientistas situam neste táxon, também os gêneros *Gorilla*, *Pan* e *Pongo* (vide, por exemplo, Groves, *in*: WILSON & REEDER 1993).

3. Modelos de primatas utilizados em pesquisa

O uso de primatas não humanos como modelos na pesquisa biomédica deve-se à sua estreita relação filogenética com os humanos, envolvendo semelhanças comprovadas quanto a aspectos genéticos, comportamentais e diversas atividades bioquímicas. Por essas razões, têm sido utilizados para estudos comparativos em enfermidades humanas (Quadros 1 e 2). Os estudos de Johnsen (1995) relatam ampla sinopse sobre a relação entre primatas humanos e não humanos remontando ao antigo Egito, ou mesmo anteriormente. Os primatas não humanos foram utilizados como animais de estimação e muito mais tarde nos estudos anatômicos de Galeno 130-200 DC e Vesalius 1514 – 1564 citados em Cohen & Loew (COHEN & LOEW 1984); Kavannaugh (KAVANNAUGH 1984), Morris & Moris (MORRIS & MORIS 1966) e Loeb *et al.* (LOEB *et al.*, 1989).

Recentemente, a importância dos primatas como modelos nas pesquisas biomédicas foi realçada em estudos de Pasteur *et al.* (PASTEUR *et al.*, 1884 a-b) e Landsteiner & Popper (LANDSTEINER & POPPER 1908, 1909); na obtenção da eficiente vacina contra a poliomielite; na compreensão da mielite ascendente causada por mordidas de macacos, e nas viroses do trato respiratório e gástrico (Reovirus) (SALK *et al.*, 1953; SABIN & WRIGHT 1934; SABIN 1959, 1985).

Quadro 1: Primatas Platyrrinos Mais Utilizados em Pesquisas

GÊNERO	ESPÉCIES MAIS UTILIZADAS	MODELO PARA PESQUISAS
<i>Callithrix</i> (6 espécies)	<i>Callithrix jacchus</i>	Estresse fisiológico, reprodução, genética, morfologia, etologia, virologia, parasitologia, cancerologia, teratologia, produção de vacinas e células linfoblásticas.
	<i>Callithrix penicillata</i>	Oftalmologia, reprodução, malária e leishmaniose.
<i>Saguinus</i> (7 espécies e 26 subespécies)	<i>Saguinus nigricollis nigricollis</i>	Fisiologia, lesões arteriais, virologia e células linfoblásticas.
	<i>Saguinus fuscicollis fuscicollis</i>	Biologia reprodutiva e etologia.
	<i>Saguinus labiatus labiatus</i> <i>Saguinus illigeri</i> <i>Saguinus nigrifrons</i>	Virologia e fisiologia.
	<i>Saguinus oedipus</i>	Cancerologia, fisiologia, reprodução, parasitologia e células linfoblastoides.
	<i>Saguinus mistax mistax</i>	Hepatites, virologia geral e fisiologia.
<i>Leontopithecus</i> (4 espécies)	<i>Leontopithecus rosalia</i> <i>L. chrysomelas</i> <i>L. chrysopygus</i> <i>L. caissara</i>	Nutrição, manejo e reprodução. Patologias que influenciam na conservação. Não são utilizados em pesquisas biomédicas.
<i>Callimico</i> (1 espécie)	<i>Callimico goeldii</i>	Etologia, reprodução, patologia, malária, parasitologia.
<i>Aotus</i> (7 espécies e 10 subespécies)	<i>Aotus trivirgatus</i>	Malária, biologia reprodutiva, etologia, fisiologia comparada, virologia, dermatologia, glomerulonefrites, oftalmologia e parasitologia.
	<i>Aotus nigriceps</i> <i>Aotus azarai infulatus</i> <i>Aotus azarai azarai</i>	Anatomia e reprodução.
	<i>Saimiri sciureus sciureus</i> <i>Saimiri oerstidii oerstidii</i> <i>Saimiri ustus</i>	Toxicologia, farmacologia, reprodução, neurociências, oftalmologia, morfologia, neoplasias, virologia, microbiologia, parasitologia, teratologia e malária.
<i>Cebus</i> (1 espécie e 32 subespécies)	<i>Cebus apella apella</i>	Metabolismo, morfologia, etologia, odontologia, lesões arteriais, malária, toxoplasmose, esquistossomose, toxicologia, virologia, oftalmologia, aterosclerose, reprodução, neurologia e cognição, cancerologia e terapia celular.
	<i>Cebus albifrons</i>	Farmacologia, lesões arteriais, parasitologia, virologia, fisiologia, encefalopatias espongiiformes e cancerologia.
	<i>Cebus capucinus</i>	Psicofarmacologia.
<i>Alouatta</i> (4 espécies e 17 subespécies)	<i>Alouatta fusca</i>	Malária, grupos sanguíneos e virologia.
	<i>Alouatta caraya</i>	Malária, febre amarela, fisiologia e oftalmologia.
<i>Lagothrix</i> (2 espécies e 3 subespécies)	<i>Lagothrix lagotricha</i>	Lesões arteriais, hepatites, parasitologia, aterosclerose e cancerologia.
<i>Ateles</i> (4 espécies e 12 subespécies)	<i>Ateles sp.</i>	Lesões arteriais, parasitologia, herpesvirus, aterosclerose e cancerologia.

Adaptado: WHYTNEY, JR. 1976A; YOHN & HAMMOND 1977; MELENDEZ 1977; GIBBS & GAJDUSEK 1977; HILLEMANN *et al.*, 1977; TORRES *et al.*, 2010; MCCLURE 1984; Ma *et al.*, 1976; RYLANDS *et al.*, 2000.

Quadro 2: Primatas Catarrinos mais Utilizados em Atividades de Pesquisa Científica

GÊNERO	ESPÉCIES MAIS UTILIZADAS	MODELO PARA PESQUISAS
<i>Macaca</i> (17 espécies)	<i>Macaca mulatta</i> <i>Macaca fascicularis</i> <i>Macaca nemestrina</i> <i>Macaca fuscata</i>	Neurociências, doenças infecciosas diversas - testes vacinais e de drogas (ex: HIV, febre amarela, dengue, leishmaniose, etc.), desordens genéticas e reprodutivas, transplante de órgãos.
<i>Papio</i> (5 espécies)	<i>Papio anubis</i>	Estudos reprodutivos, cardiovasculares, genéticos, obesidade e transplante de órgãos.
<i>Chlorocebus</i> (1 espécie)	<i>Chlorocebus aethiops</i>	Fonte de células renais p/ cultivo celular, (estudos bioquímicos e virológicos, microbiologia, testes de drogas e vacinas contra HIV e estudos genéticos).
<i>Gorilla</i> * (1 espécie)	<i>Gorilla gorilla</i>	Estudos comportamentais, conservação, HIV/AIDS.
<i>Pan</i> * (2 espécies)	<i>Pan troglodytes</i>	Genética, estudos comportamentais, conservação, farmacologia e HIV/AIDS.
<i>Pongo</i> * (1 espécie)	<i>Pongo pygmaeus</i>	Genética, estudos comportamentais, conservação, farmacologia e HIV/AIDS.

Fontes: CARLSSON, HE; SCHAPIRO, CJ; FARAH, I; HAU, J., 2004; PRIMATE RESOURCE REFERRAL SERVICE (PRRS), 2015.

***Os gêneros de primatas não humanos hominídeos não são de utilização rotineira em pesquisas no Brasil. Em alguns países, como na Europa, o seu uso está restrito a estudos de conservação e etologia.**

PRIMATAS PARA O USO EM ATIVIDADES DE PESQUISA CIENTÍFICA

Desvantagens do modelo primata selvagem

- 1) Qualidade incerta (origem, idade, doenças que já teve).
- 2) Animais de origem conhecida e estado de saúde confiável.
- 3) Portadores de doenças com riscos para o animal / homem.
- 4) Suprimento variável.
- 5) Riscos com a extinção da espécie (depleção da população selvagem).

Vantagens do modelo primata nascido em cativeiro

- 1) Entidade biológica controlada, tornando mais confiável os resultados da pesquisa.
- 2) É também uma maneira racional e criteriosa de reduzir o saque contra os bancos genéticos naturais, já tão ameaçados por diferentes causas destrutivas, notadamente os irracionais desmatamentos e o exagerado crescimento demográfico humano, que muito vem alterando sem interrupção todos habitats naturais.

Devido a essa situação, muitos estudos foram realizados. O “National Primate Plan”, do *Interagency Primate Steering Committee* (IPSC 1980) é um dos mais importantes documentos norte-americanos que trata do suprimento de primatas não humanos em pesquisas e cujos critérios são alinhados a seguir:

- 1) Que primatas somente sejam usados em pesquisas quando não for possível a obtenção de resultados similares, empregando métodos substitutivos ou outras espécies zoológicas observando a redução, o refinamento e a substituição. Que o primata proposto seja a espécie mais apropriada ao estudo.
- 2) Que o número de indivíduos seja o menor possível e que possa garantir resultados confiáveis.
- 3) Os indivíduos não deverão ser submetidos à eutanásia no decorrer do estudo, a não ser que tal procedimento integre à pesquisa.
- 4) Sendo a eutanásia de indivíduos indispensável, que seja planejada ação positiva ulterior para aproveitamento máximo da carcaça, que poderá ser utilizada em outras investigações.

Maiores detalhes sobre esse documento podem ser obtidos junto ao “Interagency Primate Steering Committee”, Building 14G – *National Institute of Health, Bethesda, MD 2005 – USA*.

Dentre as organizações científicas que orientam os vários laboratórios do País, citam-se:

- 1) *The National Academy of Sciences*, “Institute of Laboratory animal Resources” - o qual publica guias atualizadas sobre o manejo de diversas espécies animais. Relativamente aos primatas não humanos, destacamos o “Laboratory Animal Management: Nonhuman Primates”, publicado em *Ilar News*, Vol. XXIII, nº 2-3, 1980. Essa publicação pode ser solicitada ao *Institute of Laboratory Animal Resources (Ilar), National Academy of Sciences, 2101. Constitution Avenue, N.W., Washington, D.C. 20418, EUA*.

- 2) *International Committee on Laboratory Animals (ICLA)* – Cujo boletim semestral pode ser obtido no *International Council for Laboratory Animal Science Secretariat, National Institute of Public Health, Postuttak Oslo 1, Noruega*.

- 3) *Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) Department of Veterinary Pathology, Washington, D.C. 20306, EUA.*
- 4) *Laboratory for Experimental Medicine and Surgery in Primates (LEMSIP). New York, University Medical Center, 550 First Avenue, New York 10016.*
- 5) *Primate Blood Reference Laboratory at the WHO Collaborating Centre for Primate Hematology (Laboratory for Experimental Medicine and Surgery in Primates (LEMSIP), R. R. 1 – Tuxedo, New York, 10.987), EUA.*
- 6) *NIH/WHO - Collaborating Center for References Research in Simian Viruses (Southwest Foundation for Research and Education, P.O. Box 28147, San Antonio, Texas 78.284), EUA.*
- 7) *NIH / National Primate Research Centers (NPRCs) – Acesso: http://dpcpsi.nih.gov/orip/cm/primate_resources_researchers#centers*
- 8) *Center of Disease Control (CDC), 1600 – Clifton Road, Atlanta, Georgia 30.333.*
- 9) *Veterinary Public Health Unit, World Health Organization, 1211 – Geneva 27 – Suíça*

4. Instalações

4.1. Estrutura física dos alojamentos (macro e microambientes)

De uma forma geral, independente da finalidade da produção de primatas, o alojamento (microambiente ou ambiente físico primário) deve ser composto por um recinto complexo e estimulante, que promova a boa saúde e o bem-estar psicológico e que forneça plena oportunidade de interação social, exercício e manifestação a uma variedade de comportamentos e habilidades inerentes à espécie. Segundo Webster (WEBSTER 2005), o bem-estar animal é composto por três esferas. A esfera comportamental se refere à possibilidade de o animal viver em um ambiente natural; a física se refere, por exemplo, à boa saúde e à capacidade de crescer adequadamente; e a mental envolve um senso de satisfação por parte do animal, ou pelo menos a ausência de distresse.

Os sistemas de produção destinados a atividades de ensino ou de pesquisa em primatas podem ser estabelecidos em ambientes abertos (áreas ao ar livre - *outdoor*) ou fechados (em edificações - *indoor*), onde as condições ambientais são controladas conforme as exigências da espécie símia envolvida (item 4.2). O recinto satisfatório deve fornecer aos animais um espaço suficiente para que eles mantenham seus hábitos normais de locomoção e de comportamento, permitindo: **i)** a realização das necessidades fisiológicas e comportamentais normais, incluindo micção, defecação, manutenção da temperatura corporal, movimentos normais de ajustes de postura, caminhar, alongar-se, salto, etc.; **ii)** interação social com coespecíficos e desenvolvimento de comportamentos hierárquicos dentro de cada recinto; **iii)** que permaneçam secos e limpos, e **iv)** que tenha ventilação e insolação adequadas (ANDRADE *et al.*, 2010).

Por serem animais sociáveis, os primatas devem ser alojados em pares ou em grupos de indivíduos de compatibilidades estáveis. Para a manutenção da interação social dentro de um recinto, os arranjos estruturais são muito importantes, necessitando disponibilizar poleiros, barreiras visuais, refúgios, além de projetar formas de disposição adequadas de provisão de alimentos, água e abrigo, de tal maneira que tais recursos não sejam monopolizados por animais dominantes (*Guide for the Care and use for Laboratory Animals* 2011).

Uma das características dos primatas não humanos que os diferencia dos outros mamíferos é a elevada capacidade cognitiva desses animais. Com relação a esse aspecto, existe uma percepção aguçada aos fatores externos, o que eleva sua interação com o ambiente (macroambiente ou ambiente físico secundário). Os benefícios advindos

desse processo, no entanto, são intensos, assim como os efeitos adversos em uma situação desfavorável (MOURA *et al.*, 2010).

4.1.1. Área de produção

Os prédios de produção para abrigar primatas não humanos, devem ser construídos em alvenaria e concreto, preferencialmente, e em local distante do centro urbano, em área arborizada, para que sejam minimizados os impactos climáticos, temperatura e umidade e deve-se observar a orientação norte-sul.

Quando se trata de uma produção de primatas com a finalidade científica, o planejamento e a execução de áreas utilizadas, tanto pelas pessoas como pelos animais deve levar em conta a funcionalidade, a biossegurança e o controle sanitário, de modo a minimizar as variações que podem interferir nos resultados das pesquisas procedentes de animais de qualidade e dos dados que estes podem proporcionar aos inúmeros programas de ensino e de produção de conhecimento (*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* 2011).

O recinto deve proporcionar um ambiente seguro, que não permita fugas dos animais e deve ser executado com materiais não tóxicos, duráveis, resistentes à corrosão, que suportem a higienização diária e que não sejam prejudiciais à saúde dos animais (ex: alvenaria, granitina, PVC, aço inoxidável, alumínio, etc). Deve ser arquitetado de forma a evitar acidentes variados, livres de arestas ou saliências que possam causar ferimentos aos animais e às pessoas. As superfícies devem ser impermeáveis com bordas mínimas, de modo que o acúmulo de sujeira, detritos e umidade sejam minimizados e a limpeza e desinfecção não sejam prejudicadas. Todos os compartimentos devem ser mantidos em bom estado de conservação para evitar fugas ou lesões aos animais, promover o conforto físico e facilitar o saneamento e a assistência técnica. Equipamentos oxidados que representam ameaças à saúde ou à segurança dos animais precisam ser reparados ou substituídos. Materiais menos duráveis tais como madeira, podem ser apropriados em algumas situações, tais como cercas ao ar livre, poleiros, áreas de descanso e cercas perimetrais para compartimentos primários. Entretanto, deve-se ater que artigos de madeira precisam ser substituídos periodicamente devido às dificuldades de limpeza. A pintura de superfícies de madeira com materiais não tóxicos pode melhorar a durabilidade em muitos casos (*Guide for the Care and use for Laboratory Animals* 2011).

Para primatas do Novo Mundo, recomenda-se prover, no mínimo, duas caixas de abrigo, em lados opostos do recinto, de tamanho suficiente para abrigar um grupo familiar (30 x 30 x 30 cm, com abertura de 10 x 15 cm). Isso per-

mite que os membros do grupo durmam juntos ou se afastem uns dos outros. Os abrigos devem ser construídos com uma abertura suficiente para animais poderem entrar mesmo com filhotes nas costas (BAYNE 1991).

4.1.2. Área de utilização

A construção do prédio para abrigar animais em utilização deverá obedecer rigorosamente o que é recomendado para os diversos níveis de biossegurança I, II III ou IV.

Uma vez disponibilizado para pesquisa, o alojamento dos animais utilizados, deve ser realizada em ambientes construídos sob orientação de técnicos especializados, respeitando os espaços mínimos previamente recomendados (Quadro 3) e considerando todos os aspectos estruturais que resguardem os animais e os profissionais que lidam diretamente com os mesmos, dentro das boas práticas. O espaço mínimo é baseado nas necessidades dos animais alojados em grupo, em par ou individualmente.

As salas destinadas aos primatas incluídos em estudos apresentam características estruturais semelhantes às salas destinadas às instalações experimentais de outras espécies animais de laboratório no que se refere aos materiais e detalhes físicos de acabamentos internos da construção. As portas das salas devem ser largas o bastante para facilitar a passagem de animais, gaiolas e equipamentos necessários, de materiais laváveis e resistentes e dotadas de visores (dimensões de 15x20 cm) que possam ser fechados sempre que houver necessidade. Os pisos devem ser de superfície lisa, não porosa, resistentes a agentes químicos comuns, sem fendas ou fissuras, realçar a sujeira, não refletir a luz, impermeável, resistente ao choque, durável, de fácil limpeza, pouco sonoro e, principalmente, bom condutor de eletricidade estática para evitar faíscas (ex: granitina, korodur, manta vinílica, etc). As paredes devem ser revestidas de material liso, resistente, lavável e não refletor de luz. Pintadas de cores que evitam a fadiga visual e com tintas inodoras. Da mesma forma que as paredes, o teto deve ser de material resistente, lavável, não deve conter ranhuras e não deve ser poroso, para facilitar a limpeza e impedir a retenção de microrganismos. Devem ser utilizados cantos arredondados nas paredes e no teto. Não se recomenda o uso de janelas nas salas de animais (*Guide for the Care and use for Laboratory Animals* 2011).

Em função da higienização diária das instalações, os pisos devem ser levemente inclinados (5 cm de caimento para drenagem) e dotados de ralos. Para minimizar os aumentos prolongados na umidade, o sistema de drenagem deve permitir a remoção rápida de água e secagem de superfícies As tubulações de drenagem devem ser de, pelo me-

nos, 10,2 cm de diâmetro. Os ralos devem ser mantidos tampados quando não são utilizados e devem ser sifonados, com o intuito de evitar o refluxo de gases proveniente de esgoto, vermes e outros contaminantes (GORTON & BESCH 1974).

As gaiolas individuais de metal (aço inoxidável, alumínio ou ferro) com sistemas de contenção (*ex: squeeze back* - a parede posterior da gaiola funciona como uma prensa contra o animal) são altamente desejáveis para macacos do Velho Mundo, uma vez que facilitam o manejo do animal e aumentam a segurança do pessoal de manejo. No caso de primatas de pequeno porte (Novo Mundo) com hábitos arborícolas, recomenda-se disponibilizar caixa do tipo abrigo no interior da gaiola individual (ANDRADE *et al.*, 2010). De forma ainda a favorecer o hábito natural das espécies arborícolas, os recintos devem priorizar a altura, com itens de enriquecimento ambiental (plataformas, brinquedos e poleiros) dispostos em diferentes alturas (IPS 2007).

Quadro 3: Recomendações Espaciais para Primatas não Humanos Alojados Individualmente

ANIMAIS	PESO MÁXIMO DO ANIMAL (kg)	ÁREA MÍNIMA DO PISO (m ²) ^a	ALTURA (cm)
Grupo 1	1,5	0,20	76,2
Grupo 2	3,0	0,28	76,2
Grupo 3	3,1 a 7,0	0,4	76,2
Grupo 4	7,1 a 15,0	0,56	81,3
Grupo 5	15,1 a 30,0	1,40	116,8
Grupo Apes (Chimpanzés - <i>Pan troglodytes</i>)			
Grupo 1	10,0 a 20,0	0,90	139,7
Grupo 2	20,1 a 30,0	1,35	152,4
Grupo 3 ^b	> 30	≥ 2,32	213,4

Classificação dos grupos de primatas: **Grupo 1:** *Cebuella* sp., *Callithrix* sp., *Mico* sp., *Saguinus* sp., *Leontopithecus* sp., *Aotus* sp., *Callimico goeldii*; **Grupo 2:** *Cebus* sp., *Sapajus* sp., *Saimiri* sp.; **Grupo 3:** *Alouatta* sp., *Ateles* sp. e *Chlorocebus aethiops*; **Grupo 4:** *Lagothrix* sp., *Brachytheles* sp., *Macaca* sp., *Papio anubis*, *Cercocebus* sp., *Erythrocebus* sp.; **Grupo 5:** *Papio papio*. ^aDo piso ao topo da gaiola; ^bPrimatas com peso superior 50 kg são mais eficazmente alojados em recintos permanentes de alvenaria e estrutura de metal.

OBS: Animais maiores podem precisar de mais espaço para atender aos padrões de desempenho. Animais de braços e cauda longos, incluindo as de função preênsil necessitam de alturas maiores do que outros animais do grupo. A altura da gaiola deve ser confortável o suficiente para que os animais possam ficar eretos, com os pés no chão.

Adaptado: *Kyoto University*, 2010; *Guide for the Care and use for Laboratory Animals* (2011).

Em instituições que apresentam disponibilidade para oferecer espaços maiores para os animais, os especialistas têm a opção de construir alojamentos que ultrapassem as dimensões preconizadas pelo *Guide for the Care and use for Laboratory Animals* (2011), fundamentando-se em outras referências e normativas (*European Union* 2010; CCAC 2015; IBAMA 2008; IBAMA 2015).

4.2. Condições ambientais

A manutenção da temperatura corporal dentro de variação circadiana normal é necessária para o bem-estar animal. Os animais devem ser alojados dentro de ambiente com temperatura e umidade adequadas para a espécie, para que eles possam se adaptar com o mínimo de estresse e alteração fisiológica.

Ambientes muito quentes, muito frios ou úmidos propiciam a queda de imunidade dos animais e/ou o aumento da densidade da microbiota da qual são portadores, normalmente. Os limites de temperatura devem estar relacionados ao ambiente de origem da espécie de primata. Animais oriundos de climas tropicais exigem temperaturas mais altas (entre 25-28°C), enquanto para animais de clima temperado, estes limites devem situar-se entre 22-25°C (ANDRADE *et al.*, 2010).

A umidade relativa do ar também deve ser controlada, sendo aceitável a variação entre 60% a 70%, devendo ser mantida abaixo de 80% e acima de 50% (*Guide for the Care and use for Laboratory Animals* 2011). Quanto ao odor ambiental, a amônia é um gás incolor e irritante às mucosas, sendo formado a partir da decomposição microbiana do ácido úrico eliminado pela urina dos animais. Com o intuito de evitar danos à saúde dos primatas, permite-se o limite de exposição máxima de 20 ppm de amônia nas salas dos animais (KYOTO UNIVERSITY 2010). Já o Anexo 11 da Norma Regulamentadora 15 da Portaria 3.214/78 do MTE fixa em 20 ppm/ 48 horas/ semana para os trabalhadores.

A iluminação adequada é fundamental, pois recintos muito escuros estão diretamente relacionados com a alteração de comportamento de primatas e, por outro lado, a insolação excessiva compromete a qualidade da alimentação e eleva em demasia a temperatura do ambiente, podendo acarretar desde queimaduras de sol até a desidratação dos primatas alojados, principalmente em filhotes e animais jovens. O acesso direto ao sol também pode aumentar a probabilidade do aparecimento de vetores externos no ambiente, podendo facilitar a disseminação de agentes infecciosos de transmissão vetorial aos animais mantidos em seus ambientes primários. Neste intuito, deve-se considerar que os

alojamentos sejam construídos na orientação norte-sul, para que a posição solar influencie, de forma satisfatória, no conforto térmico e conseqüente bem-estar animal.

Além disso, o material de construção dos alojamentos e de seus entornos podem contribuir na variação de temperatura, umidade e ventilação entre os macro e os microambientes. Assim, é muito importante definir o tipo de material a ser utilizado, de acordo com a região onde se localiza a área de criação/experimentação de primatas, considerando todas as variáveis climáticas predominantes do local (BESCH 1980).

No que se referem aos ruídos, os ambientes devem ser projetados para acomodar, inclusive, animais que apresentam elevados níveis de vocalizações, visto que a exposição a ruídos maior que 85dB pode ocasionar danos à saúde dos primatas, tais como aumento da pressão arterial e alterações comportamentais inerentes ao estresse decorrente da condição de confinamento (PETERSON *et al.*, 1981). O recurso de isolamento acústico nas paredes externas representa uma boa opção para evitar ruídos advindos do meio externo. O mesmo recurso de isolamento deve ser adotado nas paredes internas, que separam as salas dos animais, a fim de amenizar ruídos provocados pelos próprios animais (ex: vocalizações e quaisquer reações dos animais que podem provocar ruídos). Na medida do possível, as atividades que geram ruídos (ex: gerador de energia elétrica) devem ser realizadas em áreas separadas dos alojamentos dos animais (*Guide for the Care and use for Laboratory Animals* 2011).

O controle ambiental de salas onde os animais são mantidos para experimentação deve ser efetuado constantemente, com um planejamento de manutenção preventiva periódica por profissionais técnicos especializados, como por exemplo, a coleta trimestral de material para exame microbiológico. A manutenção das temperaturas ambientais dentro de seus índices preestabelecidos deve ser realizada com aparelho de ar condicionado central. Um sistema de exaustão com pelo menos 12 trocas de ar por hora é necessário para a manutenção da ventilação do ambiente. Dependendo do nível de biossegurança classificado de acordo com o risco biológico, são necessários filtros de precisão para reter partículas de poeira e microrganismos, a fim de evitar a poluição do ambiente externo. Todo o controle ambiental deve ser feito na parte externa da edificação. Para o controle do ritmo circadiano dos animais, recomenda-se um sistema de automação (*timer*) que mantenha, automaticamente, os animais 12 horas no claro e 12 horas no escuro. A umidade relativa do ar pode ser medida por meio de um aparelho termo higrômetro, que deve ser conferido periodicamente (*Guide for the Care and use for Laboratory Animals* 2011).

4.3. Apoio técnico

Contempla uma área de higienização, processamento de alimentos (cozinha) e depósitos, que podem estar no mesmo prédio ou em local próximo aos laboratórios de pesquisa (ex: universidades ou instituições de pesquisa). Sala de procedimentos, centro cirúrgico, sala de necropsia e área de quarentena, bem como vestiários e sanitários devem ser situados separados da área de apoio técnico sempre que possível.

4.3.1. Área de higienização

Em função dos ruídos produzidos, a área de higienização deve ser projetada distante da área de alojamento dos animais e é destinada à lavagem e desinfecção de materiais, insumos, gaiolas, equipamentos e suprimentos. Todo resíduo originado no prédio de experimentação deverá ser autoclavado e encaminhado a empresas especializadas para ser incinerado. Devem existir, tanto nos ambientes de criação, quanto nos de experimentação, Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) apropriados a cada situação.

4.3.2. Ambulatório e centro cirúrgico

O centro cirúrgico deve estar localizado em uma área que ofereça a segurança necessária às técnicas assépticas, distante de locais de grande circulação de pessoas. Recomenda-se que seja contíguo à sala de procedimentos quando a sala de preparo dos animais a serem submetidos à cirurgia for a mesma de procedimentos, facilitando a dinâmica de fluxo, de modo que o animal seja preparado e imediatamente encaminhado ao centro cirúrgico.

A sala de procedimentos é destinada ao atendimento clínico, à eutanásia e ao preparo do animal a ser submetido à intervenção cirúrgica, assim como para coletas de fluidos corporais para exames laboratoriais variados, órgãos ou tecidos dos animais, para fins de biopsias. A sala deve ser dotada de pia com torneira, de acionamento que dispensa o contato das mãos; bancada de superfície lisa, impermeável e de fácil higienização para disponibilizar materiais diversos; mesa(s) para atendimento do animal; armário(s) ou gaveteiro(s) de medicamentos, equipamentos de proteção individual (EPIs) e insumos para atendimentos clínicos.

Quanto às instalações estruturais, a sala de procedimentos e o centro cirúrgico apresentam as mesmas ca-

racterísticas descritas nas salas de animais, no tocante aos materiais e detalhes físicos de acabamentos internos da construção, bem como o sistema de drenagem (item 4.1.2) e observando as condições ambientais descritas no item 4.2.

Recomenda-se que o centro cirúrgico seja equipado com sistema de exaustão sempre que o uso de anestesia volátil for utilizado.

Visores para o exterior devem ser de vidro duplo para a entrada de iluminação natural, não permitindo a entrada de poeira e de insetos.

A iluminação é tratada legalmente através da NBR 5413/92 da Associação Brasileira de Normas técnicas (ABNT), sendo recomendados os níveis ideais de iluminação para o ambiente de trabalho. Na sala de cirurgia, o objetivo da iluminação é oferecer condições para que a técnica operatória a ser aplicada ocorra nas condições ideais, com precisão, rapidez e segurança. Devem-se levar em consideração os seguintes aspectos: **i)** eliminação de sombras e reflexos; **ii)** eliminação do excesso de calor no campo operatório; **iii)** proteção contra ocasional interrupção devido a falta de energia elétrica. Recomenda-se o uso de sistemas interligados e automáticos, para acionarem geradores reserva de imediato na eventualidade de uma interrupção do fornecimento de força para o centro cirúrgico. Devem-se prever voltagens diferenciadas com dispositivo de aterramento. Devem ser instalados também pontos para equipamentos fixos e portáteis diversos (ex: negatoscópio, foco cirúrgico, monitores etc.), conforme a necessidade. O sistema de abastecimento de oxigênio pode ser descentralizado (utilização de cilindros avulsos, transportados até o local de utilização) ou centralizado (conduzido por tubulação central até os pontos de utilização).

Ao lado da sala de cirurgia, deve-se contemplar no projeto de construção, uma sala de paramentação (antesala) destinada à área de preparo da equipe cirúrgica, onde a mesma realiza a escovação/degermação das mãos e antebraço. Esta deve ser constituída de pia provida de torneira de acionamento por pé, braço, joelho, fotoelétrico ou qualquer outro meio que não as mãos, além de escovas e antissépticos para antisepsia das mãos.

4.3.3. Sala de necropsia

A sala de necropsia deve ser dotada de pia com torneira de comando que dispense o contato das mãos; mesa própria, de aço inoxidável para garantir higienização condizente e/ou uma cabine de segurança biológica para procedimentos de necropsia, sistema de refrigeração (ar condicionado central) e de exaustão, com temperatura entre 22-

25°C, filtros de entrada e de saída de ar de acordo com o nível de biossegurança. Importante que haja uma antessala precedente à sala de necropsia, onde o profissional possa se paramentar de forma adequada para a realização do procedimento.

As instalações estruturais da sala de necropsia são semelhantes às da sala de procedimentos e do centro cirúrgico, incluindo o sistema de drenagem e as janelas previamente descritos (itens 4.1.2. e 4.3.2., respectivamente).

O projeto deve prever a instalação de autoclaves para esterilização dos resíduos gerados neste prédio.

4.3.4. Cozinha

Caso haja o trabalho de processamento de alimentos (frutas, legumes e verduras), deve-se reservar um espaço apropriado para a cozinha, dispendo de bancadas, pias, fogão e câmara de refrigeração. Assim como o centro cirúrgico, a cozinha deve estar localizada em uma área limpa, sem riscos de contaminação.

A área deve ser projetada de modo a garantir conforto e ergonomia ao técnico que vai realizar o trabalho. Neste intuito, à altura da bancada deve situar-se a altura do cotovelo do funcionário, sendo construída com espaço suficiente para joelhos e pés. Bancadas de 110 cm atendem bem a pessoas baixas, medianas e altas.

A parte externa do prédio deve ser projetada, construída e mantida para prevenir a entrada de contaminantes ou pragas, sem aberturas ou entradas não protegidas. As superfícies que entram em contato com os alimentos devem estar em condições adequadas, resistentes, de fácil higienização e manutenção. Devem ser feitas de material liso, não absorvente, não tóxico e inerte para o alimento (corian, p.ex.).

Todas as considerações supramencionadas acerca dos detalhes construtivos e condições ambientais das áreas de apoio são cabíveis ao projeto arquitetônico da cozinha do biotério de primatas.

4.3.5. Quarentena

Nos centros de produção de primatas não humanos para fins científicos, é necessário se prever um prédio destinado ao recebimento e quarentenamento dos animais, quando houver recebimento de animais. Segundo Müller e colaboradores (2010), as instalações da quarentena devem garantir o perfeito isolamento dos animais, uma rápida e eficiente higienização e desinfecção, bem como facilidade para recolhimento e destruição de cadáveres e dejetos.

A estrutura física da área de quarentena deve ser adequada para receber animais em gaiolas individuais e obedecer aos seguintes princípios gerais:

1) A quarentena deve ficar em um nível de altitude inferior ao da criação principal, para que a drenagem gravitacional da água passe primeiro pela criação principal e depois pela quarentena, diminuindo a probabilidade de que haja carregamento de agentes infecciosos pela água;

2) as instalações de quarentena devem ficar posicionadas no lado oposto ao que sopram os ventos predominantes do local, diminuindo a probabilidade de que haja dispersão eólica de agentes infecciosos;

3) o ideal é que haja uma equipe de funcionários exclusiva para atuar na quarentena; caso não seja possível, o fluxo dos funcionários deve ser organizado de tal forma que eles primeiro cuidem da limpeza da instalação principal e depois passem para a quarentena. A distância mínima de 100 m é considerada ideal, desde que contemplando as questões anteriormente mencionadas.

A estrutura física e a organização dos recintos devem ser planejadas tendo em vista a facilidade e a qualidade dos procedimentos de limpeza. De modo geral, paredes e pisos (incluindo as áreas de cambeamentos - áreas de manejo) devem ser lisos e sem reentrâncias, com vistas à segurança de locomoção de animais e pessoal. As junções das paredes entre si, com o piso e com o teto devem ser abauladas (canto morto), facilitando a remoção de sujidades desses locais. Calçadas externas circundantes dos recintos devem ter pelo menos 1 m de largura; os beirais do telhado devem ser posicionados longe das paredes.

Recomenda-se cobertura do teto com laje de concreto, tipo volterrana, que pode minimizar a temperatura interna do prédio.

4) Os animais devem ser mantidos em gaiolas individuais, com medidas condizentes com o espécime a ser quarentenado e dispostas de maneira a não permitir que haja agressões entre esses animais, evitando-se, desta forma, traumas ou mutilações.

5) As telas e grades devem ser metálicas (ferro galvanizado em pontos de solda), evitando-se as recobertas com material plástico, que pode ser roído e ingerido pelos animais. O tamanho da malha deve ser adequado para conter o espécime alojado, em geral com malha de 2 polegadas quadrada e arame variando entre 2 a 4 mm. Malhas ou grades estreitas dificultam a limpeza e a observação dos animais.

No caso da utilização de gaiolas para quarentena dos animais, estas devem seguir as orientações aqui descritas para o dimensionamento de grades e telas, bem como para o dimensionamento das distâncias entre gaiolas.

O aço inoxidável é o material apropriado para a confecção de tais gaiolas. Seu tamanho deve ser adequado para alojar com conforto o animal recém-chegado.

As gaiolas individuais com dispositivo *squeeze back* são recomendadas quando houver necessidade de realizar observações individuais, coletas de amostras fecais e de urina, bem como no caso do isolamento ou tratamento de indivíduos suspeitos de contaminação por algum agente infeccioso. Entretanto, essas gaiolas tendem a aumentar o estresse dos animais recém-chegados.

Adicionalmente, a quarentena deve prover conforto de espaço (Quadro 03), temperatura/iluminação (item 4.2), abrigo (refúgio) e nutrição.

4.3.6. Depósitos

Devem-se reservar espaços adequados para: **i)** depósitos de alimentos não perecíveis e armazenagem de produtos perecíveis, geralmente sob refrigeração controlada (ex: câmara fria); **ii)** depósito de equipamentos e materiais de reposição usados no biotério e **iii)** depósito para resíduos esterilizados, produzidos pelos animais e experimentos, até o seu descarte definitivo em local apropriado.

4.4. Apoio administrativo

Deve-se prever área para secretaria; sala de coordenação; para arquivamento de fichas individuais dos primatas e outros documentos; sala de convívio; almoxarifado de material de expediente; sala de reuniões; copa e sanitários.

5. Procedimentos de manejo

5.1. Alimentação

Uma alimentação adequada é de vital importância para que o animal expresse suas funções fisiológicas em estado de normalidade. Para balancear as dietas nos sistemas alimentares, deve-se considerar a composição nutricional dos alimentos, assim como a disponibilidade dos nutrientes (ANDRIGUETTO *et al.*, 1988), o hábito alimentar do animal em vida livre, particularidades anátomo-fisiológicas, exigências nutricionais da espécie e o tipo de ambiente no cativeiro (CARCIOFI & SAAD 2001). A partir daí selecionam-se os alimentos mais adequados. O consumo de alimentos é necessário para atender às exigências nutricionais dos animais, para que estes possam desenvolver-se e desempenhar suas funções biológicas. Com os alimentos há o suprimento de energia, proteína, vitaminas e minerais, água e fibras. Essa observação é pormenorizada quando os animais são mantidos em cativeiro, o que aumenta a necessidade de se conhecer a sua biologia, assim como as ferramentas e os conceitos da nutrição animal. Quando destinados à pesquisa científica, o biotério de experimentação requer uma estrutura com alto rigor sanitário.

Atender às exigências nutricionais dos animais é fundamental para garantir a saúde, o bem-estar, a fertilidade e a expressão do potencial genético, além de assegurar que os resultados experimentais não sejam mascarados por possíveis deficiências nutricionais. Uma consideração importante é que os primatas são incapazes de sintetizar o ácido ascórbico (vitamina C), decorrente da ausência da enzima hepática L-gulonolactona-oxidase, que catalisa a conversão da L-gulonolactona em ácido ascórbico. Em consequência, eles necessitam de vitamina C dietética diariamente para prevenção do escorbuto (MARCUS & COULSTON 1991).

Os primatas devem receber alimentos duas vezes ao dia. Uma das ofertas deve ser composta de rações comerciais peletizadas ou extrusadas apropriadas para a espécie. A outra deve conter alimentos *in natura* previamente processados e higienizados (frutas, verduras e legumes). Alimentos vivos (ex: larvas de insetos) podem ser oferecidos periodicamente como enriquecimento ambiental. Ao final de cada dia, os restos alimentares devem ser obrigatoriamente recolhidos.

Os comedouros devem ser confeccionados em materiais duráveis e de fácil higienização.

5.2. Higienização

Os resíduos de excreções e de alimentos devem ser removidos diariamente dos recintos individuais (gaiolas) ou coletivos, independente do tipo de gaiola e do tipo de manutenção do animal (criação ou experimental) (ANDRADE *et al.*, 2010).

Brinquedos e outros objetos utilizados no enriquecimento ambiental assim como fômites, também devem ser periodicamente limpos e descontaminados, dando particular atenção às caixas-ninho, quando houver (*Northern Ireland Environment Agency* 2004).

O piso das gaiolas deve ser primeiramente limpo com detergente e água para retirada das partículas maiores de sujeira e gordura. Após essa primeira limpeza, recomenda-se o uso de desinfetantes de uso veterinário, como Virkon™, e desinfetantes a base de amônio quaternário inodoro diluído para desinfecção da gaiola. Gaiolas e recintos de pequenas espécies, como calitriquídeos, podem receber forração de material de cama, como a maravalha autoclavada, e proceder a remoção da parte superior da cama, diariamente, optando pela troca de todo material de cama e lavagem semanalmente (*University of South Florida* 2014).

Recomenda-se que recintos de primatas não humanos possuam um recinto adjacente ou recintos duplos com cambejamento de um para outro para deslocamento dos animais enquanto o outro lado é higienizado. Isto evita o estresse dos animais e o contato destes com os aerossóis formados pela limpeza, além de proporcionar segurança ao tratador (ANDRADE *et al.*, 2010).

5.3. Contenção e treinamento por condicionamento

Uma contenção física segura deve ser feita quando se necessita restringir temporariamente alguns ou todos os movimentos de um animal, em casos em que não há possibilidade de condicionamento do animal, para realização de exames, coleta de amostras, administração de drogas e terapia ou manipulação. Um primata pequeno pode ser contido com a utilização de luvas de raspa de couro; no caso de primatas de médio porte, torna-se necessária a utilização de puçás de malha. A recomendação é que os animais fiquem contidos fisicamente por alguns minutos, já que os primatas são considerados um risco em potencial, devendo o profissional nunca subestimar o perigo da força e a tenacidade que tem esse animal (CHAGURI 1996).

O pessoal envolvido no manejo deverá realizar planejamento minucioso antes de tocar no animal, minimizando riscos durante o manejo. Devem ser observados os seguintes aspectos: **i)** grau de exposição prévia do animal; **ii)** sexo e idade do animal a ser manejado (em algumas espécies, as fêmeas são mais agressivas do que os machos); **iii)** condições físicas e psicológicas do animal; **iv)** treinamento prévio da técnica de contenção física eleita; **v)** conhecimento da espécie símia a ser manejada, incluindo comportamento, reações ao estresse e habilidade de defesa; **vi)** horário a ser realizado o procedimento; de preferência logo cedo pela manhã; **vii)** monitoramento do animal durante a recuperação anestésica; **viii)** ter sempre à mão fármacos e equipamentos para serem utilizados em caso de acidentes ou emergências com animais ou membros da equipe; **ix)** trabalhar com uma equipe entrosada e com divisão de atribuições para que o trabalho seja organizado e permita o máximo de informações sobre o animal.

Uma vez contido fisicamente, prossegue-se com a contenção química. O atributo da droga anestésica de eleição em primatas, é que esta seja efetiva por via intramuscular, sem acarretar qualquer lesão à musculatura e que atue rapidamente. É preciso ter conhecimento sobre a relação efetiva de segurança entre a dose anestésica temporária e a dose letal. Importante também que a droga anestésica tenha um antídoto para os casos de efeitos tóxicos. O Quadro 4 mostra os principais anestésicos utilizados na contenção química dos primatas não humanos.

Quadro 4: Principais Agentes Anestésicos Utilizados na Contenção Química de Primatas não Humanos

DROGAS	DOSAGEM
Cetamina (C) + Diazepam (D)	5 a 30 mg/kg (C) + 0,2 a 1 mg/kg(D)
Cetamina (C) + Xilazina (X)	7-10 mg/kg (C) + 0,5-0,6 mg/kg (X)
Cetamina (C) + Midazolam (M)	5 a 15 mg/kg (C) + 0,05 a 0,5mg/kg (M)
Tiletamina + Zolazepam	1-20 mg/kg*
*Dose varia com a espécie.	

Utilizando técnicas de treinamento, o uso de medidas químicas ou físicas para a contenção são significativamente reduzidas ou até eliminadas (GRAHAM *et al.*, 2011 apud REAMER *et al.*, 2014). Sabendo que taxas de glicose podem, por exemplo, serem significativamente altas quando chimpanzés são anestesiados por métodos não voluntários, técnicas que não contemplem a participação voluntária dos animais não são recomendadas (LAMBETH *et al.*, 2006 apud REAMER *et al.*, 2014). O treinamento não necessita envolver contato físico direto, podendo ser realizado através de barreiras (CIPRESTE 2014).

5.4. Enriquecimento ambiental

Todo o pessoal envolvido na utilização de primatas não humanos deve estar consciente que a manutenção do bem-estar animal é essencial quando preparar um protocolo experimental. Primatas não humanos são seres altamente sociais que possuem hábitos gregários e estão habituados a atividades que envolvem contato físico e comunicação utilizando a visão, a audição e o olfato, muito importantes para a manutenção de sua saúde. Quando houver necessidade de mantê-los individualmente, este período deve ser curto e ajustes devem ser feitos para que possam manter a interação social com outros animais (*Kyoto University 2010*).

Comparadas às condições que os animais encontram na natureza, os recintos oferecem poucas possibilidades de expressão do comportamento natural da espécie. Isso contribui para o surgimento de problemas reprodutivos (redução nas taxas de reprodução, abortos, rejeição de filhotes, alterações na ciclicidade ovariana etc), elevação dos níveis de glicocorticoides decorrentes de uma condição de estresse, surgimento de comportamentos anormais e/ou estereotipados (automutilações, coprofagia/urofagia, inatividade excessiva etc), agressões, imunossupressões e outros problemas (*Kyoto University 2010*). Recintos e gaiolas devem ser construídos de forma a permitir que os animais expressem grande parte de seus repertórios comportamentais. As dimensões vertical e horizontal podem ser exploradas utilizando prateleiras, escadas, redes, balanços e cordas. Outros tipos de enriquecimento também devem ser inseridos com o propósito de estimular os animais, tais como os quebra-cabeças alimentares, objetos cognitivos, pontos de fuga (local para o animal poder se esconder), estímulos olfativos e auditivos (música ambiente), etc. (*National Research Council 2005*).

Para calitriquídeos, a presença de ninhos e outros fômites de madeira são particularmente importantes para que eles possam roer, descansar e realizar demarcação de cheiro (*National Research Council 2005*).

Primatas não humanos de médio porte como macacos-prego, rhesus e cynomolgus necessitam de recintos com plataforma, corredores e balanços para favorecer o comportamento arborícola e a interação social entre os animais. A implantação de barreiras visuais e caixas de abrigo melhora o senso de controle e ajuda a diminuir a agressividade e o estresse dos animais. Especial atenção deve ser dada a animais senis, pois têm a capacidade de visão diminuída, podem desenvolver artrite, limitando a capacidade de pular nas plataformas e movimentar-se. Para estes primatas, o enriquecimento ambiental deve conter itens que auxiliem na manutenção da sua integridade física como pisos de espuma e borracha (*National Research Council 2005*).

Os primatas não humanos ocupam diferentes nichos dentro de seu habitat e dentre as muitas espécies a forma de obtenção do alimento mostra-se bem diferente. Os insetos e pequenos vertebrados são presas menores e são procurados e capturados em buracos na madeira, cascas, folhagens e mais raramente no solo, principalmente na serapilheira da floresta. Para calitriquídeos no ambiente de cativeiro o enriquecimento estimula muitas variáveis comportamentais capazes de promover uma melhor qualidade de vida. Assim, deve-se observar a alimentação deste grupo de primatas, pois a dieta destes inclui itens variados como exsudato de árvores (goma ou seiva), frutas, flores e brotos, néctar, insetos e pequenos vertebrados, que podem ser ofertadas na forma de enriquecimento alimentar (*National Research Council* 2005; HUBER & LEWIS 2011; COIMBRA-FILHO & MITTERMEIER 1977; ROSENBERGER 1978; RIZZINI & COIMBRA-FILHO 1981; FERRARI & MARTINS 1992). Nos saguis, com destaque para *Leontopithecus* e *Saguinus*, prevalece o comportamento de insetivoria ajudado por um olfato mais apurado, além de mãos e dedos alongados, com unhas em formas de garras que facilitam a busca de larvas ou adultos de insetos em ocos de madeira, interior de bromélias e esse comportamento e habilidades devem ser considerados quando do preparo dos recintos (RYLANDS 1989).

A introdução de objetos para distração e estimulação do desenvolvimento psicomotor dos animais também é outro recurso para enriquecimento ambiental. Uma grande variedade de objetos pode ser utilizada para esta finalidade. Itens confeccionados com PVC rígido, correntes de plástico podem ser oferecidos a *Saimiris*. Bolas plásticas com orifícios de diâmetros que possibilitem a inclusão de alimentos e a retirada destes pelos dedos são ótimos itens para primatas dos gêneros *Macaca* e *Sapajus*. Os itens que contiverem orifícios para retirada de alimento, insetos ou larvas de seu interior nunca devem apresentar diâmetro equivalente ao do dedo da espécie em questão; sendo assim os orifícios podem ser menores que o diâmetro do dedo, aumentando a complexidade do item de enriquecimento ou maior, tornando mais fácil o acesso ao alimento. Os materiais utilizados devem ser rígidos o bastante para não haver possibilidade de quebra em pequenos pedaços, evitando, assim, a ingestão ou que possam ser utilizados como objetos de risco para outros animais. Outros tipos de enriquecimento são o uso de materiais espelhados (que permitem a exploração visual indireta) e sinos de vento que possam gerar algum tipo de estímulo sonoro (*National Research Council* 2005).

Algumas espécies de primatas não humanos nadam, mergulham em busca de alimento e submergem o alimento para lavá-lo, como é o caso de *Macaca fuscata*. Em ambientes que mantêm esses animais deve-se providenciar uma pequena piscina para que esses hábitos possam ser mantidos (*Joint Working Group on Refinement* 2004).

Para os animais do gênero *Macaca* (*fuscata* e *fascicularis*), enriquecimentos cognitivos, com desafios e conse-

quências recompensadoras (MEEHAN & MENCH 2007; BUCHAMAN-SMITH 1994; UPMEYER *et al.*, 2005; HONNESS & MARIN 2006), além do enriquecimento sensorial, que utiliza vídeos ou músicas têm sido utilizado por alguns pesquisadores (WAITT *et al.*, 2008).

É importante considerar que a utilização do enriquecimento ambiental para primatas envolve um conhecimento detalhado das necessidades biológicas e etológicas de cada espécie. Cada item deve ser cuidadosamente analisado frente aos problemas apresentados pelos animais. Os itens que não forem bem sucedidos devem ser trocados e substituídos. Itens de enriquecimento móveis devem ser variados dentro de determinados períodos para que não causem desinteresse por parte dos animais.

Diariamente, deve-se fazer a observação de todos os animais, a fim de se identificar distúrbios comportamentais (estereotipia, mutilação, coprofagia, regurgitação, dentre outros) e fazer as correções possíveis, buscando o estabelecimento do bem-estar do animal (*Kyoto University* 2010).

5.5. Medicina preventiva

Consiste em um programa capaz de assegurar a saúde dos animais, minimizando o surgimento de variáveis que interfiram nos resultados dos protocolos utilizados na pesquisa. A medicina veterinária preventiva envolve uma combinação de procedimentos descritos a seguir.

5.5.1. Inspeção diária

A inspeção diária dos primatas cativos pode detectar sinais precoces de doenças, tornando-se um procedimento indispensável em um programa de medicina preventiva. É importante que todos os animais sejam vistoriados por uma equipe treinada. Ao realizar a inspeção, é necessário anotar qualquer tipo de anormalidade identificada e analisar a gravidade daquele determinado problema. Em função do instinto selvagem do animal e do estresse que, muitas vezes, ocorre devido à situação de confinamento que o cativo pode oferecer, o profissional deve avaliar de forma criteriosa se de fato é necessário capturar o animal ou não para realizar intervenções clínicas ou cirúrgicas. Uma diversidade de casos clínicos em primatas é descrita na literatura, de acordo com cada sistema do organismo (BENNETT *et al.*, 1998).

5.5.2. Barreiras sanitárias e biossegurança

Os primatas não humanos são transmissores em potencial de diversas doenças e o seu convívio com o ser humano é extremamente arriscado, visto que albergam uma série de microrganismos e são altamente suscetíveis a infecções comuns ao homem. Por serem consideradas de alto risco biológico, as medidas de biossegurança devem ser altamente rigorosas, já que o estresse do animal pode contribuir com o surgimento de diversas doenças, comprometendo todo o plantel, às pesquisas e colocando em risco a saúde dos seres humanos (ANDRADE *et al.*, 2010).

Barreiras sanitárias são necessárias nas instalações de primatas, visando impedir que agentes indesejáveis, presentes no meio ambiente, tenham acesso às áreas bioprotetidas. Compreendem vários elementos, desde os materiais usados na construção até os equipamentos mais sofisticados para filtração de ar ou esterilização de materiais. Essas barreiras devem ser definidas, considerando: tamanho do local, tipos de materiais e fluxos (de pessoal e de material). Além disso, serão mais complexas quanto maior for a exigência microbiológica do ambiente, incluindo as barreiras externas (ex: paredes externas, portas com exterior, telhado, tratamento de água, etc.), e internas (higienização corporal, pressão diferencial entre ambientes etc.), envolvendo todo um conjunto de elementos físicos, químicos, de instalações, de procedimentos de pessoal e uso de equipamentos que tendem a impedir uma contaminação. O quadro 5 exemplifica alguns tipos de barreiras normalmente empregadas (MÜLLER *et al.*, 2010).

Quadro 5: Exemplos de Barreiras Utilizadas em Instalações de Utilização de Primatas não Humanos

BARREIRAS (CLASSIFICAÇÃO)	EXEMPLO
Físicas	Autoclave, estufa de esterilização, radiação, luz ultravioleta, raios gama, filtros para ar.
Químicas	Estufa de óxido de etileno, guichê e/ou porto de passagem, tanque de imersão.
Outras Barreiras	<i>Air lock</i> , quarentena, gradiente de pressão.

Fonte: MÜLLER *et al.*, 2010.

Para desenvolver as atividades de manejo com primatas, a equipe técnica deve usar equipamentos de proteção individuais/EPIs, incluindo uniforme apropriado, botas ou sapatos de uso exclusivo no ambiente de trabalho, óculos ou

visor de proteção, touca, máscara, luvas, sapatilhas e jalecos descartáveis. Equipamentos de proteção coletiva/ECPs (ex: cabine de segurança biológica, chuveiro automático, lava-olhos, dispositivos de pipetagem, exaustor, desumidificador de ar etc.) também devem estar disponibilizados no biotério, conforme o trabalho desenvolvido no local (MÜLLER *et al.*, 2010).

A portaria do Ministério da Saúde nº 1.608, de 5 de julho de 2007, aprovou a Classificação de Risco dos Agentes Biológicos elaborada em 2006 pela Comissão de Biossegurança em Saúde (CBS), baseada na necessidade de preenchimento das lacunas existentes na normativa nacional referente à biossegurança.

Os agentes biológicos que afetam o homem, animais e plantas são distribuídos em classes de risco assim definidas:

Classe de risco 1 (baixo risco individual e para a coletividade): Inclui os agentes biológicos conhecidos por não causarem doenças em pessoas ou animais adultos saudáveis. **Exemplo:** *Lactobacillus* sp.

Classe de risco 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade): Inclui os agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente é limitado, e para os quais existem medidas terapêuticas e profiláticas eficazes. **Exemplo:** *Schistosoma mansoni*.

Classe de risco 3 (alto risco individual e moderado risco para a comunidade): Inclui os agentes biológicos que têm capacidade de transmissão por via respiratória e que causam patologias humanas ou animais, potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas de tratamento e/ou de prevenção. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa. **Exemplo:** *Bacillus anthracis*.

Classe de risco 4 (alto risco individual e para a comunidade): Inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida. Até o momento, não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por eles. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente. Esta classe inclui principalmente os vírus. **Exemplo:** vírus Ebola.

Classe de risco especial (alto risco de causar doença animal grave e de disseminação no meio ambiente): Inclui agentes biológicos de doença animal não existentes no país e que, embora não sejam obrigatoriamente patógenos de importância para o homem, podem gerar graves perdas econômicas e/ou na produção de alimentos.

Os agentes incluídos na classe especial deverão ser manipulados em área de nível de biossegurança 4 (NB-4), ou seja, de segurança máxima, enquanto ainda não circularem no país, devendo ter sua importação restrita, sujeita à prévia autorização das autoridades competentes. Caso sejam diagnosticados no território nacional, deverão ser tratados no nível de biossegurança (NB) determinado pelos critérios que norteiam a sua avaliação de risco.

Os quadros 6 a 9 demonstram os principais agentes zoonóticos (bacterianos, virais, parasitários e fúngicos) envolvidos em biotérios de criação e experimentação de primatas não humanos, apontando os respectivos níveis de biossegurança (NB), vias de transmissão e medidas profiláticas (MÜLLER *et al.*, 2010;. WEBER *et al.*, 1999; QUINN *et al.*, 1999).

Quadro 6: Principais Agentes Zoonóticos Bacterianos Envolvidos em Instalações Animais de Produção, Manutenção ou de Utilização de Primatas não Humanos

AGENTE	NB*	VIA DE TRANSMISSÃO	PROFILAXIA
<i>Salmonella</i>	2	Orofecal	Medidas higiênico-sanitárias; monitoramento sanitário e quarentena
<i>Shigella</i>			
<i>Campylobacter</i>			
<i>Yersinia</i>			
<i>Treponema</i>	2	Contato direto via hematogena ou subcutânea	Uso de EPI's
<i>Leptospira</i>	2	Contato direto/indireto com tecidos ou fluidos corpóreos	Controle de vetores, medidas higiênico-sanitárias e uso de EPI's; monitoramento sanitário e quarentena
<i>Neisseria meningitides</i>	2		Uso de EPI's
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	2		Uso de EPI's e EPC's; monitoramento sanitário e quarentena
* NB: nível de biossegurança.			

Fonte: MÜLLER *et al.* (2010).

Quadro 7: Principais Agentes Zoonóticos Virais Envolvidos em Instalações Animais de Produção, Manutenção ou de Utilização de Primatas não Humanos

AGENTE		NB*	VIA DE TRANSMISSÃO	PROFILAXIA
Filovírus	Marburg	4	Contato direto/indireto com tecidos, secreções e fluidos corporais	Uso de EPI's e EPC's; isolamento dos pacientes contaminados; monitoramento sanitário
	Ebola			
Flavivírus	FA ^a	3	Mosquitos vetores <i>Aedes</i> , <i>Haemagogus</i> e <i>Sabethes</i>	Monitorização do índice de infecção dos vetores e uso de inseticidas
	FHD ^b		Mosquitos vetores <i>Aedes aegypti</i>	Combate ao vetor e vigilância epidemiológica
Cercopithecine herpesvirus 1		3	Contato direto por meio de mordida ou perfurocortantes com tecidos e fluidos corporais	Uso de EPI's; treinamento em primeiros socorros; monitoramento sanitário
Citomegalovírus		2	Contato direto com fluidos corporais	Uso de EPI's
Picornaviridae	HAV	2	Orofecal	Uso de EPI's; medidas higiênico-sanitárias
Hepadnaviridae	HBV		Contato direto com fluidos corporais	Uso de EPI's; monitoramento sanitário
Flaviviridae	HCV		Contato direto com fluidos corporais	Uso de EPI's; monitoramento sanitário
Retrovírus	HIV/SIV	2	Contato direto com fluidos corporais	Uso de EPI's e EPC's; monitoramento sanitário
Poxvírus	<i>Yaba</i>	2	Aerossol e contato com tecidos e fluidos corporais	Uso de EPI's
	<i>Tanapox</i>			
<i>Influenza</i>		2	Aerossol	Uso de EPI's
Lyssavirus		2	Contato direto por meio de mordida ou perfurocortante contaminado, raramente por aerossol	Uso de EPI's

* NB: nível de biossegurança. ^aFA: febre amarela; ^bFHD: febre hemorrágica da dengue; ^cHAV: vírus da hepatite A; ^dHBV: vírus da hepatite B; ^eHCV: vírus da hepatite C.

Fonte: MÜLLER *et al.* (2010).

Quadro 8: Principais Agentes Zoonóticos em Instalações Animais de Produção, Manutenção ou de Utilização de Primatas não Humanos

AGENTE	NB*	VIA DE TRANSMISSÃO	PROFILAXIA
<i>Strongyloides</i>	2	Orofecal; contato direto (larva penetra na pele)	Uso de EPI's e EPC's; medidas higiênico-sanitárias; quarentena; monitoramento sanitário
<i>Ancylostoma</i>		Orofecal	Uso de EPI's e EPC's; medidas higiênico-sanitárias; quarentena; monitoramento sanitário
<i>Oesophagostomum</i>			
<i>Ascaris</i>			
<i>Trichuris</i>			
<i>Balantidium</i>			
<i>Entamoeba histolytica</i>			
<i>Giardia</i>		Vetor (mosquito)	Controle de vetores
<i>Plasmodium</i>			

* NB: nível de biossegurança.

Fontes: WEBER *et al.*, 1999; QUINN *et al.*, 1999.

Quadro 9: Principais Agentes Zoonóticos Fúngicos em Instalações Animais de Produção, Manutenção ou de Utilização de Primatas não Humanos

AGENTE	NB*	VIA DE TRANSMISSÃO	PROFILAXIA
<i>Trichophyton</i>	2	Contato direto ou por meio de utensílios contaminados	Uso de EPI's; medidas higiênico-sanitárias; monitoramento sanitário
<i>Microsporum</i>		Contato direto por meio de utensílios contaminados	Uso de EPI's e EPC's; medidas higiênico-sanitárias

* NB: nível de biossegurança.

Fontes: WEBER *et al.*, 1999; QUINN *et al.*, 1999.

5.5.3. Saúde do trabalhador

Antes de iniciar qualquer atividade em um biotério de criação ou experimentação de primatas, é obrigatório que o profissional seja submetido a uma série de exames clínicos e laboratoriais, bem como teste tuberculínico e vacinas anti-tetânica e anti-rábica. Todos os exames devem ser repetidos periodicamente, um controle que deve ser feito por uma equipe responsável pela segurança da saúde do trabalhador da instituição, atendo-se também aos possíveis acidentes de trabalho (MÜLLER *et al.*, 2010).

Ao implementar um programa de imunização, devemos nos basear em um levantamento prévio dos fatores de riscos biológicos em potencial e/ou latentes, aos quais os profissionais estejam expostos ao longo do processo de trabalho. Ao identificar tais fatores de risco e visando aprimorar a efetividade das ações de biossegurança, faz-se necessária a construção dos mapas de riscos, seguida da capacitação profissional para o franco desenvolvimento das atividades nos diferentes setores (ANDRADE *et al.*, 2010).

Os mapas de riscos possibilitam reavaliar os processos de trabalho, com base na experiência cotidiana e coletiva vivenciada, objetivando a prevenção de acidentes e doenças ocupacionais, redução de impactos ambientais, promoção da saúde do trabalhador e preservação do meio ambiente (ANDRADE *et al.*, 2010).

Uma vez que os primatas do gênero *Macaca* podem albergar naturalmente o herpesvírus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*), agente considerado letal para o homem, em instituições mantenedoras desse gênero símio, obrigatoriamente devem dispor de kits de primeiros socorros contra o referido patógeno. Os kits devem estar localizados nas principais áreas onde esses animais são manejados. Os profissionais que lidam diretamente com esses animais devem ser instruídos quanto aos riscos, efetuando limpeza imediata da pele ou mucosa afetadas por mordeduras, arranhaduras ou exposição a amostras potencialmente infectadas pelos animais. Em caso de acidente, a vítima deve lavar a lesão em água corrente por 15 minutos, esfregando a ferida com sabão e esponja, além da aplicação de iodo-povidine (PVPI a 10% equivale a 1% de iodo ativo em solução aquosa). No caso de respingos ou contato com as membranas mucosas (boca, olhos), lavar com água corrente ou soro fisiológico a 0,9%. Cada kit contempla os itens necessários para os primeiros socorros, além da instrução de seu uso, sendo o acidente imediatamente notificado ao núcleo de atendimento de saúde aos trabalhadores da instituição (COHEN *et al.*, 2002).

Em toda ocorrência de acidente envolvendo riscos biológicos, com ou sem afastamento do trabalhador deve ser emitida a comunicação de acidente de trabalho – CAT (Portaria 1.748, de 30/08/2011 - NR 32).

5.5.4. Controle de doenças, diagnóstico e tratamento

Dentro do contexto operacional, a instalação animal de primatas recebe os animais previamente preparados para a pesquisa para a qual se destinam, de acordo com os seus respectivos protocolos (ex: seleção de animais, triagem laboratorial, cirurgias, biópsias e teste tuberculínico). A partir daí, os animais são devidamente alojados e passarão por um processo de adaptação de três semanas (ou mais) antes do início de sua utilização propriamente dita.

Óbitos súbitos e sinais clínicos de doenças variadas, aparência depressiva ou qualquer outro desvio de comportamento devem ser prontamente notificados e investigados, a fim de garantir uma pronta e eficiente assistência médica veterinária. Os animais ou o grupo de animais que apresentam suspeita de doença infectocontagiosa devem ser isolados dos demais.

Os programas de monitoramento sanitário (controle de doenças, diagnósticos e tratamentos), não são unificados, podendo sofrer alterações pelo surgimento de novos possíveis patógenos e por mudanças nos protocolos de uso de primatas em pesquisas. Os diagnósticos laboratoriais oferecem suporte à equipe veterinária, direcionando a conduta médica a ser adotada em cada caso específico, incluindo: patologia macro e microscópica, hematologia e bioquímica do sangue, microbiologia, parasitologia, sorologia, biologia molecular, entre outras técnicas investigativas.

Quando uma doença ou um agente infeccioso é identificado em um animal, a escolha da terapia deve ser feita pelo veterinário em concordância com o investigador responsável pelo experimento em que o animal está sendo submetido, decidindo-se, inclusive, se o animal deve permanecer no estudo. Mediante a possibilidade de um tratamento, é preciso administrar uma terapia de modo que a mesma promova mínima interferência no processo de investigação (*Guide for the Care and use for Laboratory Animals* 2011).

5.5.5. Quarentena

De acordo com Müller e colaboradores (2010), as atividades desenvolvidas no período de quarentena são fundamentais para assegurar que qualquer plantel animal se mantenha livre de doenças introduzidas por indivíduos que venham a ser acrescentados a ele, além de garantir a segurança médica do pessoal técnico envolvido no cuidado com os animais quanto ao risco de transmissão de zoonoses. As instalações devem assegurar o alojamento dos animais a serem introduzidos por um determinado período de tempo, suficiente para que se possam executar os procedimentos

de quarentena, isto é, para que se possa analisar a saúde dos animais de forma a identificar, tratar ou mesmo eliminar os animais novos portadores de doenças infectocontagiosas transmissíveis para o plantel preexistente.

O isolamento do plantel principal deve ser de fácil higienização e perfeito atendimento das necessidades fisiológicas e comportamentais dos animais alojados, sem a probabilidade de carregamento de agentes infecciosos, através das vias de saneamento; dotado de barreiras físicas ou de distâncias preestabelecidas. A quarentena deve oferecer conforto e bem-estar aos animais com espaço apropriado, provido de abrigo e controle de temperatura, de iluminação e nutricional aos animais a serem quarentenados. O controle de vetores externos (insetos e roedores) deve ser eficiente com utilização de barreiras físicas, higiene, processos de desinsetizações e utilização de armadilhas.

Em se tratando de manejo, na época da quarentena é importante que haja funcionários exclusivos (e que estes não tenham acesso ou passem pelo restante da instalação principal). Todo o material de trabalho deve ser exclusivo deste local e os resíduos devem receber destino apropriado.

Como base para qualquer quarentena, deve ser seguida a norma do departamento de saúde animal do Ministério da Agricultura “Requisitos Zoonosológicos para Exportação de Primatas para o Brasil”.

Durante o período em que os primatas permanecerem quarentenados, o desafio da equipe de atendimento é tentar diagnosticar a presença de agentes infecciosos que possam constituir não só uma ameaça ao plantel principal de macacos, mas também ao pessoal técnico que trabalha com os primatas. Na chegada ao local de destino, os animais devem ser desembarcados e receber água e comida o mais rapidamente possível. Procedimentos noturnos ou ao entardecer devem ser evitados, mas esses procedimentos muitas vezes não podem ser adotados, em razão de circunstâncias locais. Uma boa iluminação na quarentena soluciona essa questão facilmente. Primatas são animais sociais que vivem em grupos familiares: tentar manter a estrutura familiar no envio e na chegada é altamente recomendado para diminuir a ansiedade e o estresse nos novos recintos. Mesmo quando embarcados individualmente, os grupos familiares podem ser informados em um relatório ao pessoal das novas instalações. Animais que na chegada forem identificados com sintomas clínicos evidentes, como lacerações, diarreias graves, secreções ou hemorragias nasais ou oculares profusas, dispneia grave ou apatia extrema, devem ser imediatamente isolados em recintos individuais, submetidos à coleta de material laboratorial apropriado e medicados. Após a recuperação, caso tal possa ocorrer, eles devem ser readaptados a seus grupos familiares de origem. Espécies de primatas diferentes não devem ser alojadas conjuntamente, devido ao risco de agressão e transmissão de agentes infecciosos interespecíficos.

No momento de chegada (ou quando possível), podem ser feitos os seguintes exames e coletas de material:

→ Inspeção externa, que permite a identificação de lacerações cutâneas (que facilmente escapam à observação à distância em primatas devido à cobertura da pelagem), ácaros, carrapatos e miíases, confirmação do sexo, inspeção de cavidades naturais, identificação de corpos estranhos aderidos ou enrolados ao corpo dos macacos, bem como uma avaliação odontológica completa.

→ Marcação definitiva dos animais, podendo ser feita por meio de colares, tatuagens, transponders (*microchips*) ou mesmo pelas características morfológicas individuais.

→ Palpação e ausculta cardiorrespiratória, principalmente quando há suspeita de processo mórbido em curso devido a sintomas aparentes.

→ Coleta de fezes, que pode ser individual ou em *pool* de amostras; a individualização da amostra sempre é melhor, por permitir o tratamento.

→ Coleta de sangue, para a realização de hemograma completo e separação de soro para a realização de sorologias ou rastreio de DNA/RNA de parasitas presentes nos animais por meio da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR - *Polymerase Chain Reaction*), bem como para deposição de amostras de soro em um banco de soro (soroteca).

→ *Swab* retal, para a realização de cultura bacteriológica e tentativa de isolamento de enterobactérias relevantes.

O acompanhamento diário dos animais é peça-chave em um bom procedimento de quarentena. Durante a primeira semana, isso deve ser feito duas vezes por dia, podendo-se passar a apenas uma vez por dia no restante do período. Nessa observação devem ser executados os seguintes procedimentos: contagem dos animais; identificação e remoção de animais que estejam mortos no recinto; assegurar-se de que os filhotes nos grupos estejam com suas respectivas mães e com aspecto saudável; identificação e isolamento de animais com diarreias graves; identificação e isolamento de animais com secreções ou hemorragias, sejam estas nasais, sejam oculares, auditivas, cutâneas ou de aparelho excretor; identificação e isolamento de animais apáticos ou apartados do grupo, seja por doença, aparente ou não, seja por agressão parental; observação, durante a alimentação, de que todos os animais consigam (e queiram) se alimentar propriamente.

Animais com sintomas brandos devem, sempre que possível, ser apenas observados ou, se necessário, tratados dentro de seus grupos familiares, o que diminui o estresse do isolamento. A presença de cabeamentos auxilia esse processo. Conforme mencionado, o transporte e a chegada ao novo local são eventos extremamente estressantes

para os primatas, e vários tendem a desenvolver sintomas brandos. Porém, frequentemente, após a chegada, eles se recuperam sozinhos sem necessidade de intervenção veterinária, apenas com bom alojamento e boa alimentação. É importante que o pessoal envolvido na lida diária com os animais seja adequadamente treinado, para reconhecer as diferenças de comportamento dos animais e alimentá-los de acordo com a característica de cada espécie.

Os seguintes agentes infecciosos devem obrigatoriamente fazer parte de uma rotina diagnóstica em uma quarentena de primatas:

Teste tuberculínico: Deve ser feita a aplicação intradérmica de 0,1 mL de tuberculina de mamíferos, a partir de isolados humanos, em qualquer região de pele glabra do corpo do animal, sendo a pele da pálpebra o local mais apropriado, por facilitar a observação de reações positivas.

Cultura para pesquisa de enterobactérias: A partir de *swab* retal devem ser pesquisadas, por meio de cultura, a presença de *Salmonella* sp., *Shigella* sp. e *Yersinia* sp. no trato gastrointestinal dos animais, as quais podem, em resultando positivo e a critério da equipe técnica, levar à indicação de eutanásia ou tratamento do animal.

Ecto e endoparasitas: Resultados positivos ao exame de fezes requerem o tratamento imediato dos animais e cuidado redobrado na higiene dos recintos. Os acantocéfalos apresentam extrema resistência aos vermífugos existentes. Certos biotérios recomendam a extirpação cirúrgica desses helmintos. Vale lembrar que tais helmintos são transmitidos por hospedeiros invertebrados, logo o controle de vetores nas instalações é peça importante no controle de acantocéfalos. Outros endoparasitas (tanto nematóides, cestódeos como trematódeos), após diagnóstico, devem ser tratados com fármacos adequados.

Uma inspeção dos animais após trinta dias de tratamento também deve ser feita para garantir que a infecção está eliminada.

A norma brasileira relativa à exportação de primatas para o Brasil também exige que o local de origem dos animais tenha um controle dos seguintes agentes infecciosos:

Ebola: O país de origem dos animais não deve ter apresentado nenhuma ocorrência da doença nos dois anos prévios à importação.

Febre amarela, tuberculose, doença virótica de Marburg e herpesvirose: O estabelecimento de origem não deve ter apresentado nenhum caso dessas doenças nos dois anos anteriores à importação.

Raiva, hepatite B, sarampo, síndrome da imunodeficiência símia (SIV) e febre hemorrágica dos

símios: O estabelecimento de origem não deve ter apresentado nenhum caso dessas doenças nos seis meses anteriores à importação; os animais também devem ser negativos ao diagnóstico para hepatite B.

Tuberculose: Os animais devem ter um resultado negativo ao teste intradérmico nos trinta dias anteriores à importação.

Segundo a norma do NIH 3044-1 (2003), os seguintes agentes e seus hospedeiros devem ser rastreados por meio de sorologia, cultura ou PCR. Fica a critério de cada local a decisão de tentar o diagnóstico desses agentes:

Macacos do sudeste asiático: Macacos rhesus, macacos rabo-de-porco e macacos cynomolgus – (SIV), retrovírus símio tipo 1 e 2 (SRV), rubéola, vírus símio da leucemia de células T tipo 1 (STLV-1).

Espécies africanas:

Chimpanzés: Vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da hepatite A/HAV (embora tenham suscetibilidade a outros subtipos), herpesvírus simplex (HSV-1 e HSV-2), rubéola, vírus da varicela-zóster, vírus Epstein-Barr (EBV), retrovírus símio, vírus respiratório sincicial, agente símio tipo 8.

Babuínos: SHF, agente símio tipo 8, vírus da síndrome de imunodeficiência símia, rubéola.

Macacos-patas e macacos-verdes-africanos: SHF, vírus da síndrome de imunodeficiência símia, rubéola.

Macacos mangabeis: Vírus da síndrome de imunodeficiência símia, rubéola.

Macacos galagos: Rubéola.

Espécies neotropicais: Macacos-de-cheiro, macacos-da-noite, saguis e micos: *Herpesvirus tamarinus*, *H. saimiri* e rubéola.

Devido à grande ocorrência de malária, febre amarela e *Trypanosoma cruzi* em qualquer país ao sul da América do Norte, torna-se importante também tentar diagnosticar essas infecções em primatas oriundos de importação a partir de países desse espectro de nações. Rastreios soroepidemiológicos e PCR de tecidos corporais para busca de material genético desses agentes infecciosos seriam apropriados para esse fim.

5.5.6. Separação por espécies símias

Em função da transmissão de doenças interespécies, não é recomendável alojar espécies símias diferentes juntas em um mesmo ambiente. Exemplificando, o *Hespervirus tamarinus*, que normalmente se apresenta de forma latente em *Saimiri* sp., é fatal para *Aotus* sp. e *Saguinus* sp. (Melendez *et al.*, 1966; Hunt & Melendez, 1969). O *Herpesvirus saimiri*, latente em *Saimiri sciureus* (Hunt *et al.*, 1973) pode causar linfoma em *Aotus* sp. e *Saguinus* sp. No caso da espécie humana, *Herpesvirus hominis*, latente no homem é, porém, fatal em *Aotus* sp. e *Hylobates* sp.

6. Procedimentos de ensino ou pesquisa científica

Antes da execução de qualquer procedimento, as propostas que os incluam deverão ser submetidas à análise e aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUAs) (Lei nº 11.794/2008 e Decreto 6.899/2009). Todo procedimento deve necessariamente estar detalhado no projeto aprovado, incluindo o número de animais a serem a ele submetidos e o tipo de controle de dor a ser empregado, caso o procedimento tenha potencial de gerar dor.

O uso de técnicas de reforço positivo para o condicionamento de primatas é recomendado para que os animais cooperem voluntariamente com procedimentos rotineiros ou veterinários (LAULE *et al.*, 2003). Segundo Pryor (1999), um reforço é qualquer coisa que ocorre em conjunto com uma ação, e tende a aumentar a possibilidade deste ato ocorrer novamente. O uso do condicionamento operante propicia bem-estar animal e garante a segurança dos animais e técnicos envolvidos (CIPRESTE 2014). Para isso, Cipreste recomenda que os treinadores conheçam a teoria da aprendizagem, a história natural das espécies, bem como as particularidades de cada indivíduo. O aprimoramento e prática diária das técnicas é fundamental para seu aperfeiçoamento por parte dos treinadores (BLOOMSMITH *et al.*, 2005). Animais treinados por reforços positivos têm melhores condições de bem-estar animal. O condicionamento de animais deve ser implantado no manejo de animais (PERLMAN *et al.*, 2012).

6.1. Administração de substâncias

A escolha da via de administração de substâncias a primatas não humanos deve ser realizada levando-se em consideração a segurança do animal e eficácia dos efeitos da substância a ser administrada.

Para isso, os efeitos colaterais das drogas administradas; o volume, natureza da formulação e efeitos esperados; as propriedades químicas das drogas administradas são informações importantes e que devem ser avaliadas antes e durante a administração de substâncias durante experimentos, e devem, ainda, considerar a facilidade do manejo e o bem-estar psicológico dos animais, em casos de repetição de doses.

Abaixo seguem as principais recomendações, segundo as principais vias mais utilizadas:

6.1.1. Via oral

Uma substância pode ser administrada por via oral através de gavagem ou diretamente na boca.

Os volumes máximos a serem ingeridos devem obedecer à recomendação geral para mamíferos que cita o volume máximo de 5 mL/kg PV para pequenos primatas e 15 mL/kg (DIEHL *et al.*, 2001).

Sempre que possível deve-se adicionar à substância um veículo ou alimento palatável na tentativa de condicionar o animal à ingestão e evitar o estresse causado pela ingestão forçada.

Em caso de uso de tubos nasogástricos, o procedimento deve ser feito com o animal sob sedação e devem ser utilizadas sondas nasoesofágicas pediátricas, em tamanho entre 3 a 8, dependendo da espécie de primata não humano, assim como deve ser realizada a aplicação prévia de gel de xilocaína no tubo e solução oftálmica de hidrocloridrato de proparacaína nas narinas, antes de ser introduzido no animal (*Joint Working Group on Refinement* 2004).

6.1.2. Via entérica

A via entérica é uma das vias utilizadas para administração de vacinas e medicamentos (utilizando tabletes). Para tal, recomenda-se sedação do animal a fim de diminuir o estresse causado pela administração e promoção do relaxamento do esfíncter anal, diminuindo a possibilidade de injúrias (TURNER *et al.*, 2011).

6.1.3. Via intravenosa e intra-arterial

A administração de substâncias por via intravenosa deve ser realizada preferencialmente pelas veias femoral e veia safena menor por apresentarem maior calibre em relação às demais veias dos membros. É desejável o condicionamento dos primatas não humanos à colheita sanguínea e administração de substâncias através de técnicas de reforço positivo, objetivando a apresentação voluntária do membro a ser puncionado. Nesta via, deve-se utilizar agulhas e cateteres em menor tamanho possível objetivando minimizar o trauma causado pela injeção da substância (*Joint Working Group on Refinement*, 2004; TURNER *et al.*, 2011).

Deve-se evitar ao máximo a via arterial por haver o risco de cegueira, acidente vascular cerebral, deficiências motoras permanentes e gangrena de membro causados por uma indesejável embolia.

6.1.4. Vias subcutânea, intradérmica e intramuscular

Assim como nas demais espécies animais, a escolha da via de administração de injetáveis deve levar em consideração o volume, solubilidade, concentração e tempo de absorção da substância a ser injetada. Em primatas não humanos, a injeção intradérmica é feita logo abaixo da pele (0,05-0,1 mL por sítio), enquanto que a via subcutânea é realizada, preferencialmente, nas regiões interescapular e do flanco (volume máximo de 5 mL/kg por sítio). Para administração intramuscular, o grupo muscular de escolha para administração é o de músculo dos membros, preferencialmente utilizando os músculos deltoídeos (braço), vasto externo/lateral, adutor longo (pernas). Se houver a administração repetida da substância por esta via, deve haver alternância de musculatura para evitar inflamação e necrose muscular (TURNER *et al.*, 2011).

6.1.5. Via epidural

Para efeitos rápidos de substâncias como anestésicos, contrastes para diagnóstico, em tecidos cerebrospinais ou meninge pode-se utilizar a via epidural ou subaracnoide. A técnica requer anestesia e bloqueio anestésico local observando a localização do *canus medularis*, que varia de localização de espécie a espécie, para introdução da agulha no local correto para a técnica (entre vértebras lombares L2-L4 em símios das famílias Callitrichidae e Aotidae; L7-L8 para a família Cebidae; L3-L4 para a família Cercopithecidae) (LIMA *et al.*, 2011; TURNER *et al.*, 2011).

6.1.6. Via intraperitoneal:

A administração de fármacos via intraperitoneal é uma técnica comum em roedores, mas raramente utilizada em primatas não humanos. Caso seja essencial o uso desta via, deve ser utilizada em espécies de pequeno porte onde o acesso venoso se torna mais difícil para administrar grandes volumes de fluidos repositores. A administração por esta via é mais lenta que a via intravenosa e deve-se excluir a administração de substâncias. Para aplicação de substâncias pela via intraperitoneal, o sítio de administração deve ser tricotomizado e preparado seguindo as devidas técnicas de antissepsia, o quadrante a ser escolhido é o quadrante abdominal inferior direito e o volume máximo a ser administrado é de 10mL/kg (TURNER *et al.*, 2011).

6.1.7. Via intranasal:

Quando se faz necessária a via intranasal o animal deve ser sedado a fim de minimizar o aparecimento de espirros. Os volumes a serem administrados por esta rota são menores que os administrados pelas demais vias e deve estar entre 200 a 500µL (TURNER *et al.*, 2011).

6.2. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções

A colheita de fluidos, secreções e excreções provenientes de primatas não humanos pode ser realizada com métodos invasivos e não invasivos conforme o material que se objetiva coletar.

A coleta de excreções como fezes, urina e saliva pode ser realizada sem a necessidade de métodos invasivos utilizando bandejas de coleta instaladas em gaiolas individuais (fezes e urina) ou gaiolas metabólicas, *swabs* e pipetas descartáveis (saliva) (TURNER *et al.*, 2011).

Deve-se atentar para o período máximo de manutenção do animal em gaiolas individuais e gaiolas metabólicas, o qual deve ser o máximo necessário para realização das colheitas atendendo os objetivos do estudo, não podendo exceder em 24 horas para gaiolas metabólicas e máximo 7 dias para gaiolas individuais, tomando-se o cuidado de realizar enriquecimento ambiental na gaiola no período que o animal estiver confinado (JENNINGS & PRESCOTT 2009).

Colheita de tecido cutâneo e fragmentos de órgãos devem seguir as mesmas recomendações citadas em Procedimentos Cirúrgicos, pois se trata de colheita invasiva, necessitando de preparação anestésica e cuidados pós-cirúrgicos. Para colheita de fragmentos de pele, deve-se utilizar prioritariamente um *punch* de biópsia. Biópsias de fragmentos maiores que o tamanho de tecido retirado por *punch* necessitam de sutura da pele do animal e cuidados curativos após o procedimento.

6.3. Estudos fetais e embrionários

Primatas humanos e não humanos compartilham características reprodutivas similares que não estão presentes em outros grupos de mamíferos, incluindo a menstruação, menopausa, gametogênese, fertilização, implantação embrionária uterina, desenvolvimento embrionário e fetal e manutenção da gestação. Portanto, o uso de primatas não

humanos em estudos de desenvolvimento fetal e embrionário é necessário, porém devem priorizar a investigação da toxicidade de fármacos, imunobiológicos e procedimentos que possam causar teratogênese (FUCHS *et al.*, 2013).

Assim, em estudos relacionados a este tema recomenda-se cautela em procedimentos que causem aborto ou tenham que realizar procedimentos invasivos, como, por exemplo, cirurgias exploratórias e cesarianas, levando-se em consideração todos os cuidados recomendados neste Guia em relação à utilização de insumos adequados (sondas, instrumentais, etc.), procedimentos cirúrgicos e pós-cirúrgicos, procurando minimizar a dor e o estresse nos animais utilizados.

6.4. Modificação de ingestão de água e alimento

A publicação *Food Restriction Guidelines for Nonhuman Primates in Biomedical Research* (Association of Primate Veterinarians 2010) recomenda que, antes de iniciar-se um estudo que necessite a restrição e/ou modificação na ingestão de água e alimentos, seja questionado a essencialidade e a justificativa para incluí-los como metodologia.

É comum em estudos de cognição e comportamento a prática de utilizar a restrição alimentar na fase inicial do treinamento de animais para causar reforço positivo nos animais. Esta prática deve ser aplicada pelo menor tempo possível e deve obedecer também às recomendações aqui propostas.

Quando se faz necessário modificar ou restringir alimentos e água de primatas não humanos deve-se consultar o guia para requerimento nutricional referente a este grupo de animais para conhecer a quantidade de alimentos e nutrientes necessários para manutenção da saúde do animal (*National Research Council* 2003). A dieta de cada exemplar deve ser baseada na sua necessidade diária de consumo, condição corporal, ganho de peso e idade. Não se pode oferecer menos que 85% das necessidades alimentares diárias para o animal, assim, caso necessária a restrição alimentar, esta deve ser introduzida gradualmente (5% ao mês) (APV 2010).

A periodicidade normal de oferecimento do alimento a primatas não humanos deve ser de duas vezes ao dia e de, pelo menos, 25% do consumo mínimo pela manhã.

O oferecimento de água normal a primatas não humanos deve ser *ad libitum* e taxa de fluidos de oferecimento mínimo aceitável é 80 mL/kg PV/dia e o limite mínimo aceitável em um experimento que requeira restrição de oferecimento de água é de 40 mL/kg PV/dia, devendo também ser gradual a introdução da restrição de água, observando que a ingestão de menos que 20 mL/kg PV/dia causa estresse fisiológico por desidratação aguda (APV 2010).

Deve-se também avaliar e registrar diariamente o consumo alimentar, peso e condição corporal dos animais, característica das fezes e volume urinário dos animais envolvidos no experimento e caso algum animal apresente inapetência ou algum indício clínico ou comportamental de adoecimento causado pela restrição alimentar ou de água, deve ser imediatamente retirado do experimento e tratado. Animais que perdem mais de 15% do seu peso corporal também devem ser retirados do experimento.

Para acompanhamento do peso do animal, é importante realizar a pesagem do animal logo pela manhã, sempre no mesmo horário, antes da primeira alimentação, a fim de obter o peso real do exemplar sem a influência do peso da alimentação.

Em animais que serão anestesiados para uso em procedimentos de outros tipos de pesquisas a ingestão de água pode ser removida até 3 horas antes do início do procedimento.

6.5. Estudos de cognição e memória

Primatas comumente são utilizados em estudos de cognição para auxiliar a compreensão dos mecanismos de entendimento e memória em humanos. Os objetivos de pesquisas nessa área são estabelecer uma relação entre causa e efeito entre drogas, doenças psiquiátricas, neurológicas e desordens psicológicas e o cérebro funcional, avaliando os mecanismos que influenciam no desempenho destas funções (PASSINGHAM 2006).

Alguns destes estudos são realizados concomitantemente com estudos toxicológicos e neurocientíficos. Nestes casos, deve-se atentar da mesma forma para a manutenção da saúde e bem-estar animal observando os indicativos específicos para a espécie, idade e condição de cativeiro do animal experimentado.

6.6. Cirurgia experimental

Cirurgias experimentais, assim como a anestesia e os cuidados pós-operatórios, devem ser conduzidas por uma equipe experiente e com a participação de médico(s) veterinário(s) (Lei 5.517 de 1968 do CFMV e Resoluções Normativas do Concea), em um ambiente asséptico apropriado que possua sala de preparação do animal, sala de cirurgia com equipamentos de suporte e ambiente de recuperação pós-operatória a fim de garantir a segurança do procedimento e da vida do primata não humano.

Toda cirurgia experimental deve ter protocolo bem definido, tendo o cuidado de mencionar os procedimentos em caso de acidentes cirúrgicos, anestésicos e/ou pós-operatórios.

O primata não humano utilizado em cirurgia experimental deve passar por exames pré-operatórios que garantam que este possui bom estado de saúde e está apto a ser utilizado.

Após a cirurgia, a preocupação deve ser com os cuidados pós-operatórios, que incluem a supervisão clínica de um profissional médico veterinário, a prática do alojamento individual para prevenir infecções e acidentes, o controle e registro da alimentação e ingestão de fluidos.

A manutenção de primatas não humanos em gaiolas individuais após a cirurgia deve ser realizada em tempo suficiente para total recuperação do animal. Após esse período, é recomendável manter os animais em pares assim que possível. A recuperação pós-cirúrgica em condições de isolamento é certamente uma situação estressante para qualquer animal social (VAN LOO *et al.*, 2006).

Os cuidados pré e pós-operatórios mais específicos estão descritos no Capítulo 7, item 7.1.

6.7. Neurociência

Primatas não humanos possuem o sistema nervoso e seu circuito neural mais aproximado ao sistema nervoso de humanos dentre todos os animais. Além disso, em relação à pesquisa clínica, possuem similaridades fisiológicas e comportamentais que os fazem os melhores modelos para estudo de doenças neurodegenerativas e psiquiátricas.

Cuidados redobrados devem ser tomados quando se faz necessário o acesso invasivo ao cérebro de primatas não humanos em procedimentos experimentais em neurociência. Os experimentos eletrofisiológicos com registros intracerebrais podem ser do tipo crônico ou agudo, em animais despertos ou sob anestesia.

Nos registros agudos, em animais sob anestesia, os eletrodos são retirados após o experimento (BELL *et al.*, 2006). Nos experimentos com animais acordados (registros crônicos) o sistema de registro é previamente implantado, sob anestesia geral, e o experimento de registro eletrofisiológico é feito após a recuperação cirúrgica do animal (NICOLELIS 2008).

A implantação de eletrodos e microeletrodos cerebrais (± 10 microns, eixo de 0,1-0,5mm) fixos deve ser precedida de anestesia geral profunda e o local de implantação deve ser determinado após observação em radiografia ou ressonância magnética e, preferencialmente, a implantação deve ser feita por meio de cirurgia estereotáxica (CHEN *et*

al., 2014).

Após a implantação de eletrodos fixos, os cuidados pós-operatórios devem incluir obrigatoriamente o uso de analgésicos e a manutenção do animal em gaiola individual, a fim de evitar que outro animal cause danos ao capacete de proteção (BELL *et al.*, 2006; DIVICENTI JR 2013), salvo em casos previstos por projetos específicos aprovados pela CEUA.

A infecção na área do implante é um dos problemas mais comuns após o implante. Para evitá-la deve ser realizada: assepsia com antissépticos e bacteriostáticos, como clorexidina, betadina, rifampicina e peróxido de hidrogênio; prevenção de manuseio do animal com analgésicos, sedativos, bandagens ou jaquetas; administração de antibióticos sistêmicos, remoção de tecido de granulação infectado; excisão posterior do implante e reparo local. A frequência da assepsia deve ser avaliada tomando-se em conta a limpeza dos ferimentos e o estresse gerado durante o manuseio do animal.

Lesões causadas experimentalmente em cérebros e crânios de primatas não humanos devem utilizar equipamento estereotáxico e o animal deve estar anestesiado.

Pesquisas clínicas em neurociência que utilizam primatas não humanos como modelos para doenças neurodegenerativas quimicamente ou cirurgicamente induzidos, como a Doença de Parkinson, Acidente vascular cerebral (AVC), Doença de Alzheimer, etc., devem ser acompanhados por médico veterinário que possa avaliar o grau de bem-estar e saúde dos animais utilizados objetivando manter nos experimentos somente aqueles que não estão sofrendo dor ou qualquer outro indicativo de ausência de bem-estar físico no animal experimentado.

7. Cuidados veterinários

7.1. Cuidados pré e pós-operatórios

Alguns cuidados devem ser providenciados antes da realização de cirurgias em primatas não humanos. O jejum hídrico e o jejum alimentar devem ser observados em um período que varia de acordo com a espécie e porte do primata não humano. Espécies de pequeno porte possuem um metabolismo mais acelerado e por isso necessitam de tempo menor de jejum. Recomenda-se um período de 3 horas de jejum líquido e até 8 horas de jejum sólido para espécies menores e um jejum sólido de 3 horas líquido e 12 horas de sólidos para espécies de médio porte (FASANO 2010; FISH *et al.*, 2008).

A realização de exames pré-operatórios é altamente recomendável e deve incluir hemograma completo, bioquímica sérica para funções hepática e renal, urinálise e outros exames necessários para avaliar o estado sanitário do animal e excluir aqueles que não possuem condições de serem utilizados em experimentos que necessitem cirurgia. A avaliação do peso e do estado de hidratação do animal, assim como dos parâmetros fisiológicos é obrigatória antes do animal ser anestesiado e realizar a cirurgia, a fim de evitar complicações (ABEE *et al.*, 2012).

É essencial que a equipe envolvida estabeleça um protocolo de assepsia na sala de preparo da equipe cirúrgica (Capítulo 3, item 3.3.3.), incluindo o uso de roupas e paramentos cirúrgicos estéreis, a lavagem de braços e mãos com detergentes e antissépticos à base de iodopovidona, álcool isopropílico 7% ou clorexidina 4%. A preparação do campo cirúrgico no animal também deve observar a manutenção da assepsia com a realização de tricotomia e rígida limpeza com substâncias antissépticas (ABEE *et al.*, 2012).

A escolha de um protocolo anestésico adequado ao tipo de cirurgia e espécie também é essencial (ver item 7.3). Todos os procedimentos devem ser realizados por um profissional médico veterinário para assegurar que somente animais em boas condições clínicas sejam utilizados e que a escolha correta das substâncias utilizadas na assepsia e anestesia tenha sido a mais adequada para o caso em questão.

Os cuidados pós-operatórios incluem, além de analgesia e curativos, o cuidado em manter os animais pareados em gaiolas próximas ou na mesma gaiola (caso não prejudique a convalescença do animal) sempre que possível para evitar o isolamento social que certamente acarretará em estresse e posterior interferência na resposta imunológica. A

presença de outro animal próximo promove o bem-estar psicológico e evita o desconforto físico. Porém, se o procedimento cirúrgico for a implantação de eletrodos intracranianos ou próteses aparentes, recomenda-se a manutenção dos animais um próximos aos outros, mas em distância suficiente para evitar que mexam nos curativos e artefatos do outro.

Outros cuidados específicos devem ser tomados no período pós-operatório de primatas. O refinamento na sutura nestes animais é altamente recomendável, como, por exemplo, a utilização de suturas com pontos subcuticulares ininterruptos e o uso adicional de tecidos e colas biológicas adesivas objetivando reforçar a sutura e manter a integridade da cicatriz operatória. Outra recomendação é a manutenção dos animais em gaiolas pequenas e forradas com material que impeça injúrias e hipotermia durante o retorno anestésico do animal, como colchões térmicos, nunca esquecendo que o período pós-cirúrgico é um período em que o animal apresenta incoordenação motora e instabilidade de parâmetros fisiológicos temporários; deve-se ter também a atenção em alternar a posição do animal a fim de evitar queimaduras decorrentes do colchão térmico e edemas (ATAYDE 2008; *Joint Working Group on Refinement* 2009).

7.2. Analgesia

Analgésicos devem ser utilizados sempre que a dor estiver presente ou na antecipação desta. Assim, antes, durante e após procedimentos cirúrgicos é obrigatória a administração de analgésicos para supressão da dor e manutenção do bem-estar do animal. A escolha do analgésico deve levar em consideração o tipo de cirurgia ou procedimento e o objetivo do experimento em questão, mas jamais se pode renunciar ao uso de analgésicos priorizando os resultados do experimento. Também deve ser levada em consideração a via de administração do fármaco quando administrado a primatas não humanos. O uso de analgésicos orais deve priorizar medicamentos com sabor palatável e que possam ser administrados uma vez ao dia, pois os primatas distinguem facilmente a introdução de drogas em líquidos e alimentos (MURPHY 2008).

Agentes anestésicos locais como lidocaína e bupivacaína podem ser utilizados para minimizar a dor pós-operatória quando aplicados no local da incisão cirúrgica no período pré-operatório (DIVICENTI JR 2013). Opióides são amplamente utilizados em neurocirurgias (DIVICENTI JR 2013). Antiinflamatórios esteróides podem causar interferência na resposta imunológica de animais transplantados (MÖSTL & PALME 2002). Logo, a escolha do analgésico deve tentar contemplar os objetivos da pesquisa e as necessidades do primata não humano. O Quadro 10 mostra os principais analgésicos utilizados para primatas não humanos e suas respectivas doses, vias e duração do efeito.

Quadro 10: Principais Analgésicos Utilizados em Primatas não Humanos

TERAPÊUTICA	AGENTE ANALGÉSICO	DOSE E VIA	DURAÇÃO DA AÇÃO	REFERÊNCIA
Opióides	Buprenorfina	0,01 mg/kg IM, IV 0,005 - 0,03 mg/kg IM, IV	8 - 12h 6 - 12h	Paul-Morphy, 2001 Murphy, 2008
	Butorfanol	0,1 - 0,2 mg/kg IM	3 - 4h	Paul-Morphy, 2001 Murphy, 2008
	Morfina	1 - 2 mg/kg IM, IV, SC	4h	Paul-Morphy, 2001 Murphy, 2008
Antiinflamatórios esteróides	Dexametasona	2 - 4 mg/kg IV (choque) 1 - 25 mg/kg IM	24h	Lee, Doane, 2011
Antiinflamatórios não-esteróides	Flunixin meglumine	1 mg/kg IM 0,3 a 2 mg/kg IV, SC	12h 12 - 24h	Lee, Doane, 2011 Murphy, 2008
	Cetoprofeno	2 - 5 mg/kg IV	24h	Lee, Doane, 2011 DiVicenti Jr, 2013
	Prednisisolona	2 - 5 mg/kg PO	-	Lee, Doane, 2011
	Ácido acetilsalicílico	10 - 20 mg/kg PO	8 - 12 h	Guide, 2011* Lee, Doane, 2011
	Carprofeno	2 - 4 mg/kg PO, SC, IM	12 - 24h	Paul-Morphy, 2001
	Meloxicam	0,2 mg/kg PO	24h	DiVicenti Jr, 2013
	Cloridrato de tramadol	6 mg/kg PO, IV	12h	Kelly <i>et al.</i> , 2015

* Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (2011).

7.3. Anestesia

A escolha do anestésico apropriado deve levar em consideração a ampla variação no tamanho, peso e idade do animal utilizado. Em geral, espécies menores e animais jovens requerem doses mais altas em relação a primatas maiores e adultos (Murphy, 2008). Outros fatores que devem ser levados em consideração são o estado do paciente, duração da intervenção, localização e extensão da intervenção, tipo de cirurgia e possíveis drogas e procedimentos reversores de overdoses e complicações anestésicas; conhecimentos que tornam obrigatória a participação de médico veterinário quando é necessária a anestesia do primata não humano (FASANO 2010).

Agentes pré-anestésicos podem facilitar a indução anestésica do animal e auxiliar na diminuição da dose do anestésico a ser utilizado. A acepromazina (0,5 - 1mg/kg SC, IM), o diazepam (1 mg/kg PO, IM, IV) e o midazolam (0,05 - 0,5 mg/kg IM, IV) são agentes pré-anestésicos que podem ser utilizados seguramente em primatas não humanos (MURPHY 2008).

Os anestésicos voláteis são os mais seguros e conferem um plano anestésico profundo e estável, possuindo a vantagem de podermos controlar a concentração a ser administrada durante o procedimento. Sempre que possível, deve-se optar pela anestesia inalatória em procedimentos cirúrgicos. Primatas não humanos tendem a ter um comprimento traqueal curto antes da ocorrência da bifurcação bronqueal. Isto deve ser observado quando é utilizada sonda endotraqueal para intubação e administração do anestésico e oxigenação (MURPHY 2008).

Para facilidade de consulta, segue o Quadro 11 com principais agentes anestésicos utilizados em primatas humanos segundo sua classificação.

Quadro 11: Principais Agentes Anestésicos Utilizados em Primatas Humanos

CLASSE TERAPÊUTICA	AGENTE ANALGÉSICO	DOSE E VIA	DURAÇÃO DA AÇÃO	REFERÊNCIA
Anti-colinérgicos	atropina	10-15 mg/kg PO	6h	Paul-Morphy, 2001
Anestésicos dissociativos	cetamina	5-10 mg/kg IM (rhesus e cynomolgus) 15-20 mg/kg IM (calitriquídeos) 10-30 mg/kg IM (Saimiri)	15-30 min	Paul-Morphy, 2001 Fish <i>et al.</i> , 2008
Associações	cetamina+medetomidina	2.5 mg/kg C + 0.1 mg/kg M IM (rhesus e cynomolgus)	15 min	Paul-Morphy, 2001
	cetamina+xilazina	10 mg/kg C + 0.5 mg/kg X IM 7 mg/kg C + 0.6 mg/kg X IM		Murphy, 2008 Paul-Morphy, 2001 Guide, 2011*
	tiletamina+zolazepam	10 mg/kg IM (Saimiri) 5 mg/kg IM (Callithrix)		Fish <i>et al.</i> , 2008
Anestésicos inalatórios	isoflurano	1.5-2% (rhesus e cynomolgus) 1-3% (calitriquídeos)	15 min	Paul-Morphy, 2001
	sevoflurano	2-4% (rhesus e cynomolgus)		Paul-Morphy, 2001
Barbitúricos	pentobarbital	20-30 mg/kg IV 15 mg/kg IV (primatas neotropicais)	30-60 min 6h	Fish <i>et al.</i> , 2008 Paul-Morphy, 2001
Anestésicos locais	Bupivacaína 0.5%	1 mg/kg local 2 mg/kg perineural	3-4h	Murphy, 2008 DiVicenti Jr, 2013 Gourdon, 2012

*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (2011).

7.4. Cirurgia

Mediante as noções fundamentais acerca de todos os tópicos anteriormente abordados referentes aos cuidados pré e pós-operatórios, analgesia e anestesia, o cirurgião veterinário assegura o bom desempenho nos diferentes procedimentos cirúrgicos, embasado em conhecimentos sólidos de anatomia, técnica cirúrgica e de etiopatogenia das doenças prevalentes da espécie animal envolvida.

7.5. Eutanásia

Nas instalações de utilização, a eutanásia em primatas não humanos é indicada nos casos em que doenças ou injúrias sejam irreversíveis; ao fim de sua utilização ou quando existe a possibilidade de efeitos adversos permanentes; para fornecer sangue e outras amostras para um propósito científico e quando os níveis de dor, estresse e sofrimento excedem os níveis tolerados.

A técnica de eutanásia ideal deve induzir uma rápida perda da consciência no animal, seguida por parada cardíaca e respiratória e de perda de função cerebral (AVMA 2013; MCTI 2013). Também se deve evitar a excitação do animal e levar em consideração o método apropriado à idade, à espécie envolvida e ao seu estado de saúde. O medo e o estresse psicológico têm de ser minimizados ao máximo. Além disso, o método escolhido deve ser confiável, reproduzível, irreversível, simples de administrar e seguro para o operador.

Para os primatas não humanos, a eutanásia deve ser antecedida por uma sedação (ex.: cetamina de preferência associada a um fenotiazínico ou benzodiazepínico), evitando ansiedade e estresse do animal. O único método de eutanásia recomendado para primatas é a sobredosagem de anestésico. Pentobarbital sódico injetado intravenosamente é o agente mais aceitável, na dose de 30-60 mg/kg - primeiro terço da dose total de forma lenta, segundo terço da dose total de forma rápida e restante da dose novamente de forma lenta - levando o animal à plano anestésico profundo e, posteriormente a óbito, promovendo apneia, redução de pulso palpável até a cessação dos batimentos cardíacos. Bloqueadores neuromusculares nunca devem ser usados isoladamente, pois impossibilitam o animal de respirar sem que ele tenha perdido a consciência, causando óbito por asfixia. Podem ser utilizados desde que aplicados após o animal já ter recebido anestésico e apresentar perda da consciência.

É importante levar em consideração a legislação pertinente a este procedimento, por exemplo: Diretriz de Eu-

tanásia do Concea; Resolução 1000/2012 do CFMV; e Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais, CFMV (2013).

7.6. Necropsia

A necropsia, juntamente com o histórico, sinais clínicos e testes laboratoriais, frequentemente determinam a *causa mortis*. Todos os cadáveres deverão ser submetidos a exames *post mortem* visando a obtenção do maior número de informações possível em conformidade com os protocolos experimentais estabelecidos. Além do diagnóstico, a necropsia possui um papel vital no entendimento das doenças e de suas patogêneses. Nos estudos, a necropsia é um exame primordial para a conclusão da pesquisa aliada à busca de novos achados que podem contribuir com a ciência, impulsionando potenciais descobertas para o desenvolvimento e aplicação de novas terapias e de medidas de controle racionais (STRAFUSS, 1988; BARROS, 1988; ANDRADE *et al.*, 2010).

A necropsia deve ser realizada imediatamente após a morte do animal (natural ou por eutanásia), minimizando os efeitos da autólise, que podem atrapalhar ou até impedir o diagnóstico pelos exames anatomopatológicos. No caso da impossibilidade imediata da realização da necropsia, o cadáver deve ser refrigerado por até 48 horas após a morte, pois o resfriamento retarda a atividade bacteriana e, conseqüentemente, a autólise. O congelamento da carcaça não é recomendado quando se pretende realizar exame microscópico, porque os cristais de gelo causam destruição da arquitetura celular, sendo utilizado como última opção (FELDMAN & SEELY 1988).

Todas as informações obtidas e as amostras coletadas através da necropsia devem ser descritas numa ficha apropriada, que deve acompanhar os materiais enviados para os exames laboratoriais. Uma ficha de necropsia completa de primatas deve conter os seguintes dados: espécie, idade, peso, sexo, número de identificação, procedência do animal; data e hora do óbito e da necropsia; histórico da doença; laudo, que consiste na descrição do exame externo, interno e conclusão; material coletado para exames laboratoriais, carimbo e assinatura do médico veterinário responsável pela necropsia (ANDRADE *et al.*, 2010).

Os fragmentos de tecidos são coletados, devendo conter a lesão e tecidos aparentemente normais adjacentes. Dependendo da técnica laboratorial a ser realizada conforme o protocolo experimental (ex: histopatologia, citologia, microscopia eletrônica, bacteriologia, toxicologia etc.), o material coletado é depositado em recipiente contendo meios ou reagentes diversos ou sem nenhuma solução, para congelamento. As amostras devem ser transportadas em reci-

pientes que não permitam vazamentos, à temperatura ambiente ou sob refrigeração, dentro de uma caixa de transporte para produtos biológicos (caixa térmica) (ANDRADE *et al.*, 2010).

7.7. Destino de carcaças

O descarte de carcaças é um ato que requer grande senso de responsabilidade por parte do profissional que o está executando, porque toda e qualquer carcaça, esteja ela contaminada por agentes patogênicos ou não, é considerada resíduo sólido (Resolução nº 358, de 29 de abril de 2005, CONAMA e a Lei nº 12.305 de 02/08/2010, DOU). Resíduos sólidos, por definição, são aqueles que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente devido à presença de agentes biológicos. Mais especificamente, as carcaças de animais, mortos por morte natural ou submetidos a eutanásia, devem ser destruídas o mais rápido possível, após a devida necropsia e colheita de material indicada, evitando-se assim o risco de contaminação do ambiente, por meio dos fluidos e secreções excretados pelos cadáveres, que se transformam em excelentes meios de cultura (CARDOSO 2006).

Para proceder com o descarte da carcaça, primeiramente a mesma precisa ser acondicionada em sacos e/ou recipientes impermeáveis, resistentes à punctura, ruptura e vazamentos. Os resíduos devem estar adequadamente acondicionados para suportar os riscos normais de carga, descarga e transporte, conforme a regulamentação em vigor. Além disso, os acondicionamentos (embalagens) devem ser descaracterizados e não contaminados externamente, contendo somente a etiqueta de identificação. Uma vez embalados, os resíduos devem ser removidos da unidade geradora até o local de tratamento ou destinação final, utilizando-se técnicas que garantam a preservação da integridade física do pessoal, da população e do meio ambiente. Os translados dos resíduos dos pontos de geração até o local de destinação final deve ser acompanhado de um envelope contendo uma ficha de emergência, na qual constarão todos os dados da unidade geradora e as medidas a serem tomadas, caso ocorra algum acidente nessa etapa (ANDRADE *et al.* 2010).

As carcaças devem ser tratadas pelo método de incineração, processo que modifica as características originais, com redução ou eliminação do risco de causar doenças e/ou impacto ambiental (ANDRADE *et al.*, 2010).

O descarte de materiais, insumos e água utilizada deve ser efetuado conforme a legislação vigente (Res. Conama 358/2005; RDC 306 - ANVISA).

8. Ética e bem-estar no uso de Primatas não humanos

Anteriormente à década de 80, os primatas representavam pouco interesse aos movimentos de direito dos animais. Todavia, Alex Pacheco, fundador do “People for the ethical treatment of animal (PETA)” passou a denunciar as condições e práticas utilizadas em estudos em pesquisas realizadas no *Institute for Behavioral Research Laboratory of Edward Taub*, Washington, DC, EUA, reforçado por farta documentação (JOHNSEN 1995).

Novas denúncias, agora, contra a *University of Pennsylvania’s Head Injury Laboratory*, em 1984, situou o PETA na vanguarda da defesa dos direitos animais, forçando a criação de normas e a liberação de recursos para melhorar as condições de manutenção e do bem-estar dos animais nos Centros de Pesquisas nos Estados Unidos da América.

Entretanto, em outros países, principalmente na Inglaterra, os biólogos que empregavam animais nas atividades científicas tinham conhecimento de ato de 1876 sobre a crueldade com animais. Seguiu-se em 1911-64, novo Ato de Proteção Animal, que trata da crueldade com animais fora do contexto de experimentação, tornando assim qualquer sofrimento aos animais como ato ilegal (COOPER 1981). Inegável também é o esforço que o World Animal Protection (WAP), vem promovendo em relação a esse aspecto junto às instituições públicas e privadas de ensino.

Muitas escolas de Medicina Veterinária organizaram suas comissões de ética no trato com animais. Grande incentivo para que isso ocorra, vem da Associação Mundial de Veterinária (WVA) desde 1988, em seu documento sobre o assunto, na parte de ensino veterinário.

Autores e diversas organizações (incluindo a Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório - SB-CAL) passaram a discutir e organizar legislação, visando melhorar e aperfeiçoar os estudos sobre a proteção aos animais, como os trabalhos de Johnson *et al.* (1995), UFAW (1987, 1989), IPS (1988), APA (1979), Agriculture Guide (1988), Ilar (1980), Regan (1983), Rowsell (1980), Mench & Kreger (1996), Optow (1993), Rollin (1981), Pakes (1985), Cooper (1981), PHS (1986).

Considerando todas as preocupações concernentes ao bem-estar animal, inúmeras normatizações foram elaboradas para nortear as condutas adequadas no que diz respeito ao uso racional e cuidados deste modelo em estudos relevantes em prol da saúde humana e animal. A seguir são elencadas normativas que devem ser ponderadas quando se utiliza primatas não humanos em atividades de ensino ou de pesquisa científica.

IBAMA: Exerce o controle e a supervisão do plantel de espécimes das espécies da fauna silvestre mantidas em cativeiro (Lei nº 7.735).

Comissões de ética no uso de animais (CEUAs): têm a responsabilidade de garantir que nenhum projeto de pesquisa, ensaio ou ensino seja implementado sem a aprovação prévia da Comissão, independentemente da fonte de recurso (interna ou externa à instituição do proponente). Necessitam ter autoridade para interromper qualquer procedimento que não esteja em conformidade com o protocolo apresentado para análise e licenciado por elas.

Lei nº 9.605 de 12/02/1998: Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Em seu artigo 32, menciona “§ 1º Incorre nas mesmas penas quem realiza experiência dolorosa ou cruel em animal vivo, ainda que para fins didáticos ou científicos, quando existirem recursos alternativos.

Resolução Conama nº 358 de 29/04/2005: Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências.

Lei nº 12.305 de 02/08/2010, da Presidência da República: Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos e altera a Lei nº 9.605 de 12/02/1998 e dá outras providências.

Instrução Normativa nº022 de 27/03/2012 do ICMBio: Para se trabalhar com a fauna selvagem e em cativeiro.

Lei nº 11.105 de 24/03/2005: Dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança e a fiscalização sobre o trabalho e uso de Organismos Geneticamente Modificados (OGM).

Lei nº 11.794 de 08/10/2008: Regulamenta os procedimentos para o uso científico de animais e revoga a Lei nº 6.638 de 08 de maio de 1979, dando outras providências.

Lei nº 5.517 de 23/10/1968: Dispõe sobre o exercício da profissão de Médico Veterinário.

Lei nº 9.605, DE 12/02/1998: Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente.

Resoluções Normativas do Concea.

PORTARIA nº 1.332, de 03/12/2014 (Concea): Dispõe sobre o licenciamento das atividades destinadas à produção, à manutenção ou à utilização de animais para ensino ou pesquisa científica, de que trata o art. 11 da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, realizadas em instalações de instituições públicas ou privadas previamente credenciadas no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - Concea.

Resolução nº 1000 de 11/05/2012 do CFMV: Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências.

Resolução nº 877 de 15/02/2008 do CFMV: Dispõe sobre procedimentos cirúrgicos em animais de produção, silvestres e cirurgias mutilantes em pequenos animais e dá outras providências.

Resolução nº 923 de 13/11/2009 do CFMV: Dispõe sobre procedimento e responsabilidades do Médico Veterinário e do Zootecnista em relação a biossegurança no manuseio de animais domésticos, silvestres, exóticos e de laboratório, inclusive os geneticamente modificados, bem como as suas partes, fluidos, secreções e excreções.

IN 0169 de 20/02/2008 – IBAMA: Institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro em território brasileiro, visando atender às finalidades socioculturais, de pesquisa científica, de conservação, de exposição, de manutenção, de criação, de reprodução, de comercialização, de abate e de beneficiamento de produtos e subprodutos, constantes do Cadastro Técnico Federal (CTF) de Atividades Potencialmente Poluidoras ou Utilizadoras de Recursos Naturais.

IN 07, de 30/04/15: Que institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro, e define, no âmbito do Ibama, os procedimentos autorizativos para as categorias estabelecidas.

IN 022 de 27/03/2012 – ICMBio: Estabelece os procedimentos para os Programa de Cativeiro de Espécies Ameaçadas.

9. Referências bibliográficas

- ABEE, C.R.; MAINSFIELD, K.; TARDIF, S.; MORRIS, T. **Nonhuman Primates in Biomedical Research: Biology and Management**. Academic Press, 2012. 536P.
- AGRICULTURAL GUIDE. **Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching**. 1st ed. Washington, DC: Consortium for Developing a Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching, 1988.
- ALPERIN, R. *Callithrix argentata* (Linnaeus, 1771): considerações taxonômicas e descrição de subespécie nova. **Bol. Mus. Pará, Emílio Goeldii – Ser. Zool.** v.9, n.2, p.317-328, 1993.
- ATAYDE, I.B. **Fluidoterapia aquecida no controle da hipotermia em cadelas submetidas a ovariectomia sob anestesia inalatória**. Tese (doutorado). Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2008.
- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION (AVMA). **AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition**. American Veterinary Medical Association, 2013. 102p.
- AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION (APA). **Principles for the Care and Use of Animals**. Washington, CD: Committee on Animal Research and Experimentation, APA, 1979.
- ALFARO, J.W.L.; SILVA JR, J.S.; RYLANDS, A.B. How Different Are Robust and Gracile Capuchin Monkeys? An Argument for the Use of Sapajus and Cebus. **American Journal of Primatology**, 74:273–286, 2012.
- ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2010. 472 p.
- ANDRIGUETTO, J.M.; et al. **Nutrição Animal: as bases e os fundamentos da nutrição animal – os alimentos**. 4ª ed. São Paulo, SP: Nobel, v.1, 1988.
- ANIMAL AND PLANT HEALTH INFECTION SERVICE (APHIS). Department of Agriculture – **Federal Register, Part III**, 54(49): '0913- 10954, 1989.
- ASSOCIATION OF PRIMATE VETERINARIANS (APV). **Food Restriction Guidelines for Nonhuman Primates in Biomedical Research**. 2010. Disponível em: <http://www.primatetvets.org>. Acesso: 10 mai 2014.
- ASSOCIATION OF PRIMATE VETERINARIANS (APV). **Humane Endpoint Guidelines for Nonhuman Primates in Biomedical Research**. 2010. Disponível em: <http://www.primatetvets.org>. Acesso em: 5 mai 2014.
- BARROS, C.S.L. **Guia da técnica de necropsia dos mamíferos domésticos**. Santa Maria, RS: UFSM, 1988.
- BAYNE, K., Providing environmental enrichment to captive primates. **Compendium on Cont. Educ. for the Practicing Vet**, 13(11): 1689-1695, 1991.
- BELL, J.; BLACKEMORE, C.; LUDLOW, R.; WALPORT, M. **The use of non-human primates in research**. London: The Academical of Medical Sciences, 2006.
- BENNETT, B.T.; ABEE, C.R.; HENRICKSON, R. **Nonhuman Primates in Biomedical research: diseases**. San Diego: Academic Press, 1998.
- BESCH, E.L. Environmental quality within animal facilities. **Lab. Anim. Sci.**, 30: 385-406, 1980.
- BOURNE, G. (ed.) **The rhesus monkey. Vol. I. Anatomy and physiology Vol. 2. Management, reproduction and pathology**. New York: Academic Press, 1975, 436p.
- BRASIL. RDC Nº 222, de 28 de março de 2018. **Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências**. Diário Oficial da União: Seção I, Brasília, DF, n. 61, p. 76, 29 mar 2018.
- BRASIL.. Portaria nº. 1.748, de 30 de agosto de 2011- Aprova a Norma Regulamentadora nº 32 - **Segurança e Saúde no Trabalho em Estabelecimentos de Saúde**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: Seção I, Brasília, DF, p. 143, 31 ago 2022.
- BRASIL. Resolução Normativa nº 55, de 5 de outubro de 2022. **Atualiza o texto da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos - DBCA**. Diário Oficial da União: Seção I, Brasília, DF, ano 159, n. 192, p. 10, 7 out 2022.
- BUCHAMANN-SMITH, H. Environmental Enrichment in Captive Marmosets and Tamarins. **Humane Innovations and Alternatives**, 8: 559-564, 1994.
- CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE- CCAC. **Guidelines on: laboratory animal facilities — characteristics, design and**

- development.** 108 p. 2003. Disponível em: <http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Facilities.pdf> . Acesso em: 19 janeiro de 2015.
- CARCIOFI, A.C.; SAAD, C.E.P. Nutrition and nutritional problems in wild animals. *In*: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.A. (Orgs.). **Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals.** 1st ed. Ames, Iowa State University Press, 2001, v. 1.
 - CARDOSO, C.V.P. Controle da qualidade de animais de laboratório. *In*: ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. (Orgs.) **Animais de Laboratório: criação e experimentação.** 2ª. ed. Rio de Janeiro, RJ: Editora Fiocruz, 2006.
 - CARLSSON, HE; SCHAPIRO, CJ; FARAH, I; HAU, J. Use of Primates in Research: A Global Overview. **American Journal of Primatology**, 63:225–237, 2004.
 - CENTERS FOR DISEASE CONTROL NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (CDC/NIH) 1988. *In*: RICHARDSON, J.H.; BARKLEY, W.E. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** HHS Publ. n° (CDC) 88-8395. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1988.
 - CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC), B. virus infections in humans. Michigan. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.38, p.453-454, 1989.
 - CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC). Management of persons exposed to multidrug resistant tuberculosis. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. v.41(RR-11), p.61-71, 1992.
 - CHAGURI, L.C.G. Primatas. *In*: DE LUCA, R.R.; *et al.* **Manual para Técnicos em Bioterismo.** 2ª ed. São Paulo: Comissão de Ensino COBEA, 1996.
 - CHEN, L.; LI, N.; GAO, L.; YANG, C.; FANG, W.; WANG, X.L., GAO, G.D. Improved stereotactic procedure enhances the accuracy of deep brain stimulation electrode implantation in non-human primates. **Int. J. Neurosci.**, 125(5):380-9, 2014.
 - COHEN, B.J. AND LOEW, F.M. Laboratory animal medicine historical perspectives. *In*: FOX, J.G.; COHEN, B.J.; LOEW, F.M. (Ed) **Laboratory Animal Medicine.** New York: Academic Press, p. 1-17, 1984.
 - COHEN, J.I.; DAVENPORT, D.S.; STEWART, J.A.; DEITCHMAN, S.; HILLIARD, J.K.; CHAPMAN, L.E. Recommendations for prevention of and therapy for exposure to B virus (Cercopithecine herpesvirus 1). **Clinical Infectious Diseases**, 35: 1191-1203, 2002.
 - COIMBRA-FILHO, A.F. Sistemática, Distribuição geográfica e situação atual dos símios brasileiros (Platyrrhini – Primates). **Rev. Brasil. Biol.**, v.50, n.4, p.1063-1079, 1990.
 - COIMBRA-FILHO, A.F.; MITTERMEIER, R.A. Tree-gouging exsudate-eating and the “short tusked” condition in *Callithrix* and *Cebuella*. *In*: KLEIMAN, D.G. (ed) **The biology and conservation of the Callitrichidae**, p. 105-115, 1977.
 - COIMBRA-FILHO, A.F.; PISSINATTI, A.; RYLANDS, A.B. Breeding Muriquis *Brachyteles arachnoides* in captivity: The experience of the Rio de Janeiro Primate Centre (CPRJ-FEEMA). **Dodo J. Wild. Pres. Trust**, v.29, p.66-77, 1993.
 - COOPER, M.E. The law for biologists. London, UK: Kent Paper Company Ltd., 1981, p. 24.
 - DALGARD, D.W. Herpesvirus simiae claims the life of a primate veterinarian. **J. Med. Primatol.**, v.20, p.273, 1991.
 - DIEHL, K.H. et al. A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. **J. Appl. Toxicol**, v. 21, p. 15–23, 2001.
 - DIVICENTI Jr, L. Analgesic Use in Nonhuman Primates Undergoing Neurosurgical Procedures. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*, v. 52, n. 1, p. 10-16, 2013.
 - DUTRILLAUX, B. Chromosomal evolution in primates: Tentative phylogeny from *Microcebus murinus* (*Prosimiae*) to man. **Hum. Genet.**, v.48, p.251-314, 1979.
 - EPSTEIN, P. R. Emerging Diseases and ecosystem instabilities: new threats to public health. **Am. J. Publ. Health.** 85: 168- 172, 1995.
 - EUROPEAN UNION. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010. **on the protection of animals used for scientific purposes.** Official Journal of the European Union: L 276, Tables 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, p. 30, 20 Oct 2010. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>. Acesso em: 24 fev. 2023
 - FASANO, D.M. Anestesia e controle da dor. *In*: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica.** Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ, 2010. 472 p.
 - FELDMAN, D. B.; SEELY, J. C. **Necropsy Guide: rodents and the rabbit.** Boca Raton: CRC Press, 1988.
 - FERRARI, S.F.; LOPES, M.A. A new species of marmoset, genus *Callithrix* Erxleben, 1777 (*Callitrichidae* – Primates) from western Brazilian Amazonia. **Goeldiana Zoologia**, v.12, p.1-3, 1992.
 - FERRARI, S.F.; MARTINS, E.S. Gummivory and Gut Morphology in two Sympatric *Callitrichids* (*Callithrix emiliae* and *Saguinus*

- fuscicollis weddelli*) from Western Brazilian Amazonia. **Amer. J. of Phys. Anthropol.** 88: 97-1103, 1992.
- FISH, R.E.; BROWN, M.J.; DANNEMAN, P.J.; KARAS, A.Z. **Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals.** Academic Press, 2008.
 - FUCHS, A.; BUSE, E.; WEINBAUER, G.F. Embryo fetal development studies in nonhuman primates. **Methods Mol. Biol.**, v. 947, p. 169-183, 2013.
 - GIBBS, C.J.; GAJDUSEK, C., Estudios sobre virus de encefalopatías subagudas espongiiformes utilizando primates como el único indicador disponible. *In: OPS (Organización Panamericana de Salud) Primera conferencia interamericana sobre la conservación y utilización de primates americanos no humanos en las investigaciones Biomédicas.* Lima, Peru. Washington, DC: OPS – Publ. Científica nº 317, p. 87-116, 1977.
 - GORTON, R.L.; BESCH, E.L. Air temperature and humidity response to cleaning water loads in laboratory animal storage facilities. **ASHRAE Trans.** 80: 37-52, 1974.
 - GROVES, C. **Primate taxonomy.** Washington Smithsonian Institution Press. 2001, 350p.
 - HAHN, B.H.; SHAW, G. M.; de COCK, K.M. & SHARP, P.M. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. **Science**, 287: 607-614, 2000.
 - HARTMAN, C.G. & STRAUSS, W.L. ed. **The anatomy of the rhesus monkey.** New York: Hafner Publishing Co. 1961, 383p.
 - HERSHKOVITZ, P. **Living New World Monkey (Platyrrhini) with and Introduction to Primates.** Chicago University Press, Chicago, v.I, 1977.
 - HERSHKOVITZ, P. Races of the emperor tamarin, *Saguinus imperator* Goeldi (Callitrichidae, Primates). **Primates**, v.20, n.2, p.277-287, 1979.
 - HERSHKOVITZ, P. Subspecies and geographic distribution of black-mantle tamarins *Saguinus nigricollis* Spix (Primates: Callitrichidae). **Proc. Biol. Soc. Wash.**, v.95, n.4, p.647-656, 1982.
 - HERSHKOVITZ, P. Two new species of night monkeys, genus *Aotus* (Cebidae, Platyrrhini): a preliminary report on *Aotus* taxonomy. **Am. J. Primatol.**, v.4, n.3, p.209-243, 1983.
 - HERSHKOVITZ, P. Taxonomy of squirrel monkeys, genus *Saimiri* (Cebidae, Platyrrhini): a preliminary report with description of a hitherto unnamed form. **Am. J. Primatol.**, v.4, p.209-243, 1984.
 - HERSHKOVITZ, P. A preliminary taxonomic review of the South American bearded saki monkeys genus *Chiropotes* (Cebidae, Platyrrhini), with the description of a new subspecies. **Fieldiana, Zoology. New Series**, n.27 p.iii + 46, 1985.
 - HERSHKOVITZ, P. The taxonomy of South American sakis, genus *Pithecia* (Cebidae, Platyrrhini): a preliminary report and critical review with the description of a new species and new subspecies. **Am. J. Primatol.**, v.12, p.387-468, 1987a.
 - HERSHKOVITZ, P. Uacaries, New World monkeys of the genus *Cacajao* (Cebidae, Platyrrhini): a preliminary taxonomic review with the description of a new subspecies. **Am. J. Primatol.**, v.12, p.1-53, 1987b.
 - HERSHKOVITZ, P. Titis, New World monkeys of the genus *Callicebus* (Cebidae, Platyrrhini): a preliminary taxonomic review. **Fieldiana, Zoology, New Series**, v.55, p.1-109, 1990.
 - HILLEMANN, M.R.; PROVOST, P.J.; VILLAREJOS, V.M.; BUYNACK, E.B.; MILLER, W.J.; ITTENSOHN, O.L.; WOLANSKI, B.S.; MC ALEER, W.J., 1977. La investigación de la hepatitis infecciosa (Hepatitis A) en primates no humanos. *In: OPS (Organización Panamericana de Salud) Primera conferencia interamericana sobre la conservación y utilización de primates americanos no humanos en las investigaciones Biomédicas.* Lima, Peru. Washington, DC: OPS – Publ. Científica nº 317, pp. 117-131, 1977.
 - HONESS, P.E. & MARIN, C.M. 2006. Enrichment and aggression in primates. **Neuroscience and Behavioral Reviews**, 30(3): 413- 436, 2006.
 - HUBER, H.F. & LEWIS, K.P. An assessment of gun-based environmental enrichment for captive gummivorous primates. **Zoo Biology**, 30: 71-78, 2011.
 - HUNT, R.D.; MELENDEZ, L.V. Herpesvirus infections of nonhuman primates, a review. **Lab. Anim. Care**, 19, 221-234, 1969.
 - HUNT, R.D.; BARAHONA, A.H.; KING, N.W.; FRASER, C.E.O.; GARCIA, F.G.; MELENDEZ, L.V. **Spontaneous Herpesvirus saimiri lymphoma in owl monkey.** Proceedings, VI International Symposium on Comparative Leukemia Research. Nagoya/ Ise-Shima, Japan, 1973.
 - INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES (ILAR). **Committee on care and use of Laboratory Animals.** Washington, DC: National Academic Press, v.XXIII, p.2-3, 1980.
 - INTERAGENCY PRIMATE STEERING COMMITTEE (IPSC). **National Primate Plan.** DHEW Pub. nº (NIH) 80-1520. Washington, DC: U.S. Department of Health, Education, and Welfare, p.81, 1980.

- INTERNATIONAL PRIMATOLOGICAL SOCIETY (IPS). **International Guidelines for the Acquisition, Care and Breeding of Nonhuman Primates**. Nairobi, Kenya: International Primatological Society. 1989.
- JENNINGS, M.; PRESCOTT, M.J. Refinements in husbandry, care and common procedures for non-human primates. **Laboratory Animals**, v. 43, pS1-1 a S1-47, 2009.
- JOHNSEN, D.O. History. *In*: BENNETT, B.T.; ABEE, C.R.; HENRICKSON, R. **Nonhuman Primates in Biomedical Research: Biology and Management**. San Diego, CA: Academic Press, p.1-12, 1995.
- JOHNSON, D.K.; MORIN, M.L.; BAYNE, K.A.L.; WOLFLE, T.L. Laws, Regulations and Policies. *In*: BENNETT, B.T.; ABEE, C.R.; HENRICKSON, R. **Nonhuman Primates in Biomedical Research: Biology and Management**. San Diego, CA: Academic Press, p.15-31, 1995.
- HAWKINS, P.; *et al.* Husbandry refinements for rats, mice, dogs and nonhuman primates used in telemetry procedures. **Laboratory animals**, v. 38, p. 1-10, 2004.
- JENNINGS, M.; *et al.* **Refinements in husbandry, care and common procedures for non-human primates**: Ninth report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. **Lab. Anim.**, 2009; 43(Suppl 1):S1:1–S1:47
- KALTER, S.S. National and International Services for Primate Animal Research. **J. Med. Primatol.**, v.12, p.146-154, 1983.
- KAVANNAUGH, M. A review of the international primate trade. *In*: MACK, D.; MITTERMEIER, R.A. (Ed) **The International Primate Trade Traffic**. Washington, DC: TRAFFIC (USA), The World Wildlife Fund – US Primate Program and the IUCN/SSC Primate Specialist Group, v.1, p. 49-89, 1984.
- KEELING, M.E.; FROELICH, R.E.; EDIGER, R.D. An epizootic of tuberculosis in a rhesus monkey conditioning colony. **Lab. Anim. Care**, v.19, p.629-634, 1969.
- KELLY, K.R.; PYPENDOP, B.H.; CRISTE, K.L. Pharmacokinetics of tramadol following intravenous and oral administration in male rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **J. Vet. Pharmac. Therap.**, v. 38, p. 375-382, 2015.
- KOBAYASHI, S.; LANGUTH, A.L. A new species of titi monkey, *Callicebus Thomas*, from north-eastern Brazil (Primates, *Cebidae*). **Rev. Bras. Zool.**, v.16, n.2, p.531-551, 1999.
- KYOTO UNIVERSITY. **Guidelines for Care and Use of Nonhuman Primates**. Version 3. Kyoto: Primate Research Institute, Kyoto University, 2010.
- LANDSTEINER, K.; POPPER, E. Mikroskopische Präparate von einer menschlichen und zwei Affenruche-marken. **Wiener klin. Wochenschrift**, v.21, p.1830, 1908.
- LANDSTEINER, K.; POPPER, E. Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen. **Z. Immunitäts Forsch. Exp. Ther.**, v.2, p.377-390, 1909.
- LEDERBERG, J.; SHOPE, R.E.; OAKES-Jr., S. C. **Emerging infections, microbial threats to health in the United States**. Washington, DC: Institute of Medicine National Academy Press, 1992.
- LOEB, J.M.; HENDEE, W.R.; SMITH, S.J. AND SCHWARZ, M.R. Human vs. animal rights. **J.A.M.A., J.Am. Med. Assoc.**, v.262, p.2716-2720, 1989.
- LIMA, A.R.; *et al.* **Caring about medullary anesthesia in *Saimiri sciureus*: the conus medullaris topography**. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n. 83, v. 4, p. 1339-1343, 2011.
- MA, N.S.F.; JONES, T.C.; MILLER, A.C.; MORGAN, L.M.; ADAMS, E.A. Chromosome polymorphism and banding patterns in the owl monkey (*Aotus*). **Lab. Anim. Sci.**, v.26, n.6 Part II, p.1022-1036, 1976.
- MARSH, L.K. A taxonomic revision of the saki monkeys, *Pithecia* Desmarest 1804. **Neotropical primates**, 21(1): 1-163, 2014.
- MARCUS, R.; COULSTON, A.M. Vitaminas hidrossolúveis. *In*: GILMAN, A.G.; ROEL, T.W.; NIES, A.S. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara, 1991.
- McCLURE, H.M. Nonhuman Primate models for Human Disease. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v.28, p.267-304, 1984.
- MEEHAN, C.L.; MENCH, J.A. The challenge of challenge: can problem solving opportunities enhance animal welfare? **Applied Animal Behaviour Science**, 102: 246-261, 2007.
- MELENDEZ, L.V.; HUNT, R.D.; GARCIA, F.G.; TRUM, B.F. A latent Herpes-T infection in *Saimiri sciureus* (squirrel monkey). *In*: **Fiennes some recent developments in comparative medicine**. London, UK: Academic Press, p. 393-397, London, 1966.
- MELENDEZ, L.V. Historia natural de Herpesvirus T, y Herpesvirus saimiri en monos sudamericanos. *In*: **Primera conferencia interamericana sobre la conservacion y utilizacion de primates americanos no humanos en las investigaciones Biomédicas**. Washington, DC: PAHO. Publ. Científica nº 317, p. 79-86, 1977.
- MENCH, J.A. & KREGER, M.D. Ethical and welfare issues associated with keeping wild mammals in captivity. *In*: KLEIMAN,

- D.G.; ALLEN, M.E.; THOMPSON, K.V.; LUMPKIN, S. **Wild Mammals in Captivity**. University of Chicago Press – Chicago, 1996, p. 5-15.
- MILHAUD, C.L.; KLEIN, M.J. Maladies des primates transmissibles à l'homme. **Sci. Tech. Anim. Lab.**, v.4, n.1, p.27-41, 1979.
 - MITTERMEIER, R.A.; KONSTANT, W.R.; MAST, R.B. Use of neotropical and Malgasy Primates Species in biomedical research. **Am. J. Primatol.**, v.34, p.73-80, 1994.
 - MITTERMEIER, R.A.; SCHWARZ, M.; AYRES, J.M. A new species of marmoset, genus *Callithrix*. *erxleben* 1777 (Callitrichidae – Primates) from the Rio Maues region, state of Amazonas, Central Brazilian Amazonia. **Goeldiana Zoologia**, v.14, p.1-17, 1992.
 - MORRIS, R.; MORRIS, D. **Men and Apes**. London, UK: Huchinson. 1966, 51p.
 - MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 67-64, 2002.
 - MOURA, A.M.A.; VIANA, C.F.; FASANO, D.M.; BRAVIN, J.S.; NASCIMENTO, L.W.F. Manutenção em cativeiro. *In*: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FILHO, J.F. (Orgs). **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ, p. 161-206, 2010.
 - MÜLLER, C.A.; ANDRADE, M.C.R.; GONÇALVES, M.A.B.; CALZAVARA, N.T.; SANTOS, P.R.; MONTEIRO, R.V. Biossegurança. *In*: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FILHO, J.F. (Orgs). **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ, p. 385-433, 2010.
 - MURPHY, H.W. Get a hand on your patient: primate restraint and analgesia. **NAVC Clinician's Brief: The Official Publication of the North American Veterinary Conference, Volume 5**. Orlando, FL: North American Veterinary Conference, 2008.
 - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Best practice in the accommodation and care of primates used in scientific procedures**. London: Medical Research Council, 2005. 16p.
 - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. 8th ed. Washington, DC: The National Academic Press, 220p, 2011.
 - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Nonhuman Primates: Second Revised Edition**. Washington: National Academies Press, 2003.
 - NICOLELIS, M.A.L. **Methods for Neural Ensemble Recordings**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.
 - NORTHERN IRELAND ENVIRONMENT AGENCY. **Guidance on the keeping of Small Primates: Tamarins, Capuchins, Squirrel Monkeys**. Northern Ireland: Northern Ireland Environment Agency, 2004.
 - OPTOW, S. Animal and the scope of justice. **J. Soc. Issues**, v. 49, p. 71-85, 1993.
 - PAKES, S.P. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Committee on Care and Use of Laboratory Animals of the Institute of Laboratory Animal Resources, NIH Publ. No 85-23 (revised 1985)**. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service. National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1985.
 - PALMER, A.E. B.virus, *Herpesvirus simiae*: Historical perspective. **J. Med. Primatol.**, v.16, p.99-130, 1987.
 - PASSINGHAM, R.E. The need for research on non-human primates in cognitive neuroscience. **Animal Research. Info**. 2006. Disponível em: <http://www.animalresearch.info>. Acesso: 5 mai 2014.
 - PASTEUR, L.; CHAMBERLAND, M.M.; ROUX, M.E. Physiologie experimentale – nouvelle communication sur la rage. **C.R. Hebd Seances. Acad. Sci.**, v.98, p.457-463, 1884a.
 - PASTEUR, L.; CHAMBERLAND, M.M.; ROUX, M.E. Pathologie experimentale sur la rage. **C.R. Hebd Seances. Acad. Sci.**, v.98, p.1229-1235, 1884b.
 - PETERSON, E.A.; AUGENSTEIN, J.S.; TANIS, D.C.; AUGENSTEIN, D.G. Noise raises blood pressure without impairing auditory sensitivity. **Science**, 211: 1450-1452, 1981.
 - PRIMATE RESOURCE REFERRAL SERVICE (PRRS). 2015. **Taxonomy**. Disponível em: <http://prrs.wanprc.org/>. Acesso em: 13 jun 2015.
 - PUBLIC HEALTH SERVICE (PHS). **Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals. U.S. Department of Health and Human Services**. Washington, DC, 1986.
 - QUINN, P.J. et al. (Eds). **Clinical Veterinary Microbiology**. New York: Mosby, 1999.
 - REGAN, T. **The case for animal rights**. Berkeley, CA: University of California Press. 1983.
 - RICHARDSON, J.H. & HUMPHREY, G.L. Rabies in imported nonhumam primates. **Lab. Anim. Sci.**, v.21, p.1083, 1971.
 - RIZZINI, C.T.; COIMBRA-FILHO, A.F. Lesões produzidas pelo sagui *Callithrix p. penicillata* (E. Geoffroy, 1812), em árvores do cerrado (Callitrichidae – primates). **Ver. Bras. Biol.**, 41(3): 579-583, 1981.
 - ROLLIN, B.E. **Animals right and human mortality**. New York, NY: Prometheus Books, 1981.
 - ROSENBERGER, A.L. Loss of incisor enamel in marmosets. **J. Mammalogy**, 59(1): 207-208, 1978.

- ROSENBERGER, A.L. **Phylogeny evolution and classification of New World Monkeys (Platyrrhini, primates)**. Ann Arbor, MI: University Microfilms, 1979.
- ROSENBERGER, A.L. Systematics: the higher taxa. *In*: COIMBRA-FILHO, A.; MITTERMEIER, R.A. (eds). **Ecology and behavior of neotropical primates**. Rio de Janeiro, RJ: Academia Brasileira de Ciências, v.1, p.9-27, 1981
- ROSENBERGER, A.L.; COIMBRA-FILHO, A.F. Morphology, taxonomic status and affinities of the Lion Tamarins, *Leontopithecus* (Callitrichidae – Cebidae). **Folia Primatol.**, v.42, p.149-179, 1984.
- ROSENBERGER, A.L.; STRIER, K.B. Adaptive radiation of the atelinae primates. **J. Hum. Evol.**, v.18, p.717-750, 1989.
- ROWSELL, H. The voluntary control program of the Canadian Council on Animal Care. **J. Med. Primatol.**, v.9, p.5-8, 1980.
- RUSSEL, W.M.S.; BURCH, R.L. **The Principles of Humane Experimental Technique**. London, UK: Methuen & Co. Limited, 252p., 1959.
- RYLANDS, A.B. Sympatric Brazilian Callitrichids: the Black-tufted-ear marmosets, *Callithrix kuhli*, and the Golden headed lion tamarin, *Leontopithecus chrysomelas*. **J. Hum. Evol.**, 18(7): 679-695, 1989.
- RYLANDS, A.B.; MITTERMEIER, R.A.; RODRIGUEZ LUNA, E. A species list for the New World Primates (*Platyrrhini*): Distribution by Country, Endemism, and Conservation Status according to the Mace-Land System. **Neotropical Primates**, v.3 (Suppl), p.113-160, 1995.
- RYLANDS, A.B.; SCHNEIDER, H.; LANGUTH, A.; MITTERMEIER, R.A.; GROVES, C.P.; RODRIGUEZ-LIMA, E. An assesment of the diversity of New World Primates. **Neotropical Primates**, v.8, n.2, p.61-93, 2000.
- RYLANDS, A.B. **Database on the taxonomy and threatened status of primates. Arlington, VA: IUCNSSC Primate Specialist Group 2014**. Disponível em: <https://www.iucngreatapes.org/apes-database>. Acesso em: 28 Feb. 2023.
- RYLANDS, A.B.; MITTERMEIER R.A.; SILVA Jr., J.S. Neotropical primates: taxonomy and recently described species and subspecies. **Int. Zoo Yb.**, 46:11–24, 2012.
- RYLANDS, A.B.; MITTERMEIER R.A. Primate Taxonomy: Species and Conservation. **Evolutionary Anthropology**, 23:8–10, 2014.
- SABIN, A.B. Reoviruses – a new group of respiratory and enteric viruses formerly classified as ECHO type 10 is described. **Science**, v.130, p.1387-1389, 1959.
- SABIN, A.B. Oral poliovirus vaccine. History of its development and use and current challenge to eliminate poliovirus from the world. **J. Infect. Dis.**, v.151, p.420-436, 1985.
- SABIN, A.B. and WRIGHT, A.M. Acute ascending myelitis following a monkey bite with the (isolation of a virus capable of reproducing the disease. **J. exp. Med.**, v.59, p.115-136, 1934.
- SALK, J.R.; BENNETT, B.L.; LEWIS, L.J.; WARD, E.N.; YOUNGER, J.S. **Studies in human subjects on active immunization against poliomyelitis**. 1 – A preliminary report of experiments in progress. **JAMA, J. Am. Med. Assoc.**, v.151, p.1081-1098, 1953.
- SCHNEIDER, M.P.C.; SAMPAIO, M.I.C.; SCHNEIDER, H.; PISSINATTI, A.; COIMBRA-FILHO, A.F. Variabilidade genética em três espécies da família Callitrichidae. **Revista Brasileira de Genética**, 14(3, suppl.), p.129, 1991.
- SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M.P.C.; SAMPAIO, I.; HARADA, M.L.; STANHOPE, M.; CZELUNIAK, J. and GOODMAN, M. Molecular phylogeny of the new world monkeys. *Platyrrhini*, Primates. **Mol. Phylog. Evol.**, v.2, p.225-242, 1993.
- SCHRAG, S.J. & WIENER, P. Emerging infectious diseases: what are the relative roles of ecology and evolution? **TREE**, 10: 319-324, 1995.
- SCHMIDT, K.A. & OSTFELD, R.S. Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. **Ecology**, 82: 609-619, 2001.
- SILVA Jr. **Especiação nos macacos prego e caiararas gênero *Cebus* (Erxleben, 1777) (Primates-Cebidae)**. Tese de doutorado, Rio de Janeiro, RJ. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.
- STRAFUSS, A.C. **Procedures and Basic Diagnostic Methods for Practicing Veterinarians**. Springfield, IL.: Charles C. Thomas, 1988.
- TERRY, M.W. **Macaca fascicularis: A bibliography of research**. Part I, 1970-1974. Seattle, WA: Primate Information Center, University of Washington, 138p., 1976.
- TORRES, L.B.; ARAUJO, B.H.S.; CASTRO, P.H.G.; CABRAL, F.R.; MARRUAZ, K.S.; SILVA ARAUJO, M.; SILVA, S.G.; - MUNIZ, J.A.P.; CAVALHEIRO, E.A. The use of New World Primates for Biomedical Research: A Overview of the last four decades. **Am. J. of Primatology** 72: 1055-1061, 2010.
- TURNER, P.V.; BRABB, T.; PEKOW, C.; VASBINDER, M.A. Administration of Substances to Laboratory Animals: routes of administration and factors to consider. **Journal of American Association for Laboratory Animal Science**, v. 50, n. 5, p.600-613, 2011.

- UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE (UFAW). **The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals**. 6th ed. London, UK: UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE (UFAW), 1987.
- UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE (UFAW). **Guidelines for the Recognition and Assessment of Pain in Animals**. Prepared by a Working Party of the Association of Veterinary Teachers and Research Workers. London, UK: Universities Federation for Animal Welfare, 1989.
- UPMEYER, D.; *et al.* 2005. Complex foraging enrichment encourages natural foraging behavior in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *In: International Congress of Environmental Enrichment*, New York, 2005.
- UNIVERSITY OF SOUTH FLORIDA. **Standard Operating Procedures. Nonhuman Primate Cage Changing and Pan Cleaning. USF Research and Innovation**. 2014. Disponível em: <https://www.usf.edu/research-innovation/comparative-medicine/documents/sops/s605-nhp-cage-cleaning.pdf>. Acesso em: 8 mai. 2014.
- VAN LOO, P.; SKOUMBOURDIS, E.; REINHARDT, V. Postsurgical pairing: a discussion by the Refinement & Enrichment Forum. **Animal Technology Welfare**, p. 17-19, 2006.
- WAITT, C.; HONESS, P.; BUSHMITZ, M. Creating housing to meet the behavioral needs of long-tailed macaques. **Laboratory Primate Newsletter**, v. 45, p. 1-5, 2008.
- WEBER, H.; *et al.* Health monitoring of non-human primate colonies. Recommendations of the Federation of European Laboratory Animal Science (Felasa). Working Group on Non-Human Primate Health Accepted by the Felasa Board of Management, 21 November 1998. **Laboratory Animal Science**, 33, sup. 1: S1-18, 1999.
- WEBSTER, J. **Animal welfare: Limping towards eden**. Oxford: Blackwell publishing, 283 p, 2005.
- WILSON, D.E. & REEDER, D.M. **Mammals Species of the World**. 2nd ed. Washington, DC: Smithsonian Inst. Press, 1203p., 1993.
- WHITNEY, R.A., Jr.. Important primate diseases (biohazards and zoonoses). **Cancer Res. Saf. Monogr. Series**, v.2, p.23-52, 1976a.
- WHITNEY, R.A., Jr.. International requirements for nonhuman primates in medical research. *In: PAHO. First inter-american conference on conservation and utilization of American nonhuman primates in biomedical research*. Washington, D.C.: Pan American Health Organisation, nº317, p. 243-246, 1976b.
- YOHN, D.S.; HAMMOND, J. Los primates sudamericanos y la investigación del cáncer. *In: OPAS. Primera conferencia interamericana sobre la conservación y utilización de primates americanos no humanos en las investigaciones biomédicas*. Lima, Peru: OPAS – Publ. Científica nº 317, Washington DC. p. 132-144, 1977.

8. Critérios mínimos para instalações de Primatas não-humanos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica

Classificação:
OB - Obrigatório
 Considera-se item OBRIGATÓRIO
R - Recomendado.
 Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do CONCEA.

DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos da Instalação Animal	
Áreas de Apoio	
Área administrativa.	OB
Sala de arquivos e sala de reuniões.	R
Sanitários fora de áreas controladas e das instalações animais.	OB
Cozinha em área limpa, que permita a limpeza e higienização, conforme especificações do CONCEA.	OB
Área externa da instalação com barreiras que previnam a entrada de contaminantes ou pragas.	OB
Quarentena conforme especificações do CONCEA.	OB
Calçadas circundantes dos recintos, conforme especificações do CONCEA.	R
Área de Eutanásia separada das demais áreas.	OB
Área de higienização.	OB
Depósitos	
Depósito para armazenagem de alimentos não perecíveis e perecíveis.	OB
Depósito de equipamentos e materiais.	R
Depósito para resíduos biológicos.	OB
Detalhes Construtivos/Ambiente	
Instalações animais de alvenaria e concreto com ambientes seguros, que evitem fugas.	OB
Alojamentos externos distantes de centros urbanos, em área arborizada.	R
Paredes, pisos e tetos lisos, livres de rejuntas e reentrâncias em materiais que possibilitem higienização e desinfecção.	OB
Recintos com telas que contenha a espécie alojada e que possua grades metálicas, conforme especificações do CONCEA.	OB
Gaiolas que forneçam abrigo (refúgio) e dispostas de maneira que não haja agressões entre os animais.	OB
Alojamentos internos - Áreas fechadas	
Recintos de animais com ventilação, exaustão, temperatura e umidade controladas conforme as características das espécies.	OB
Sistema de iluminação com fotoperíodo regulável nas áreas controladas e recintos de animais.	OB

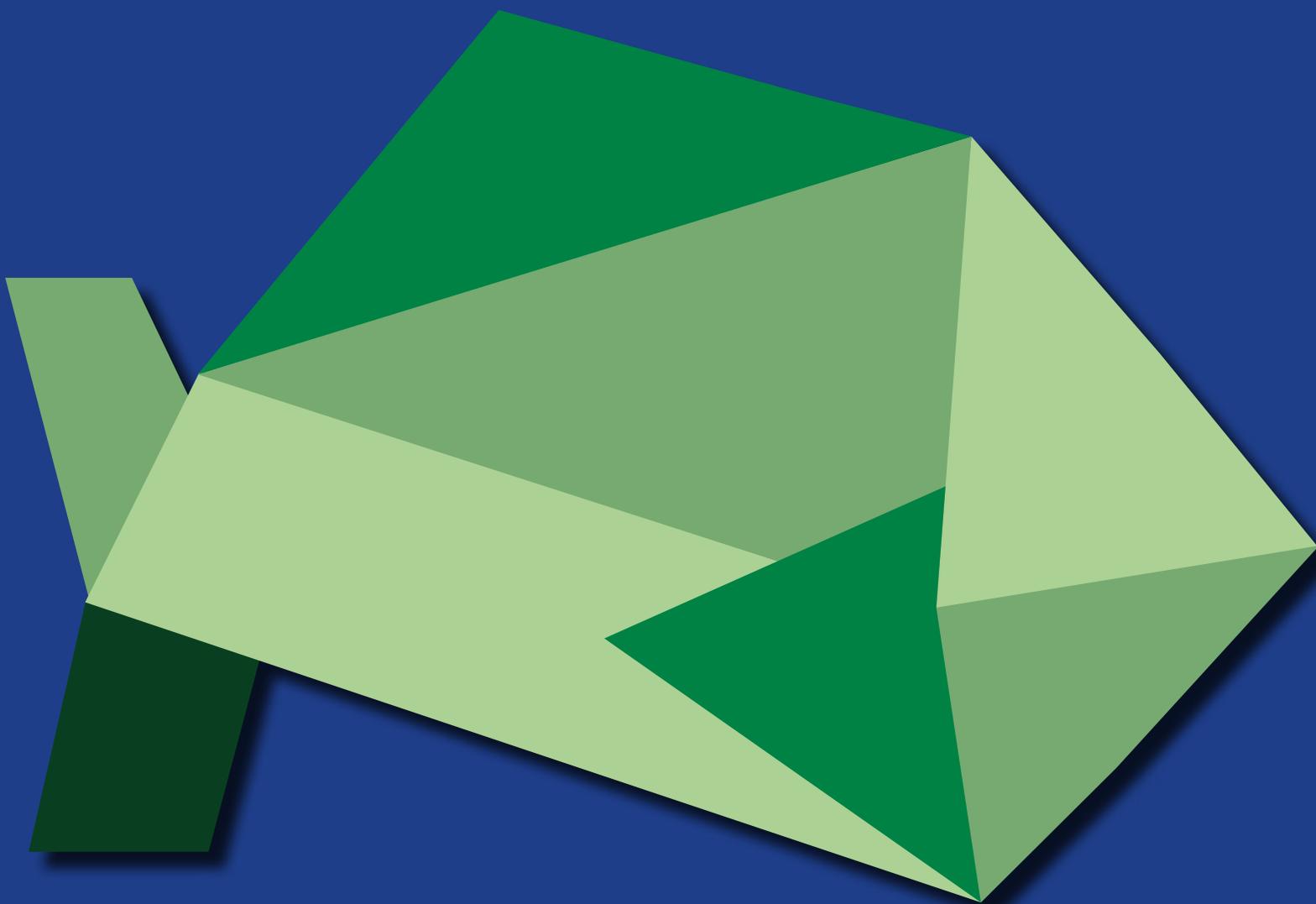
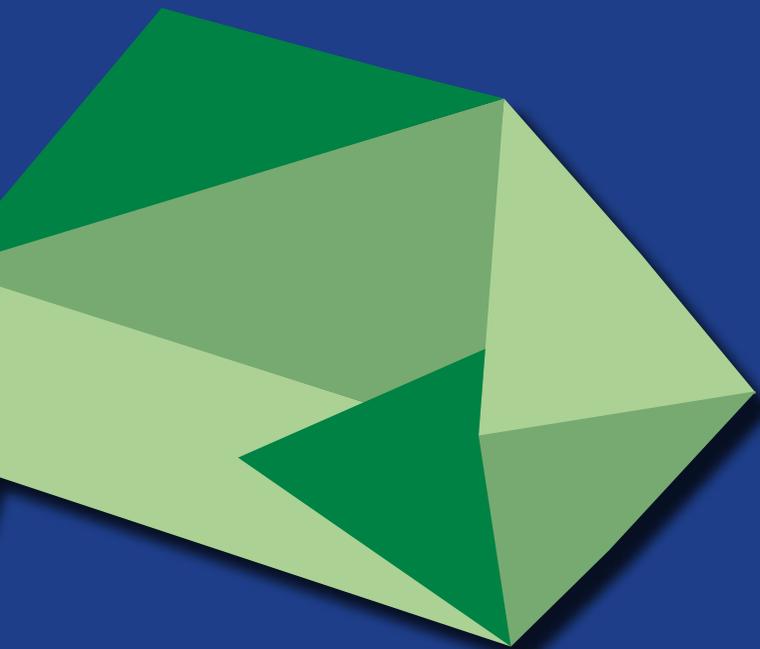
Controle de ruídos.	OB
Portas das salas de materiais laváveis e resistentes e dotadas de visores.	R
Paredes, pisos e tetos lisos, livres de rejuntas e reentrâncias em materiais que possibilitem higienização e desinfecção.	OB
Pisos que permitam a drenagem com ralos sifonados mantidos fechados.	OB
Alojamentos externos - Áreas ao ar livre	
Recintos mantidos secos e limpos.	OB
Recintos ventilados e isolados.	OB
Recinto com poleiros, barreiras visuais, refúgios, provisão de alimentos, água e abrigo, evitando monopolização de recursos por animais dominantes.	OB
Abrigos construídos com uma abertura suficiente para animais poderem entrar mesmo com filhotes nas costas.	OB
Recintos com espaço suficiente para que os animais possam realizar suas necessidades fisiológicas e comportamentais.	OB
Dimensões dos alojamentos das espécies conforme especificações do Conceia.	OB
Alojamentos dos ambientes de produção ou de manutenção compostos por recintos complexos e estimulantes.	OB
Biossegurança	
Uso de equipamentos de proteção individual preconizados pelo nível de biossegurança da instalação.	OB
Barreiras sanitárias de bioexclusão e biocontenção preconizadas pelo nível de biossegurança da instalação.	OB
Procedimentos	
Alojamento em pares ou grupos, exceto em casos autorizados pela CEUA ou condições clínicas.	OB
Enriquecimento ambiental, exceto se justificado.	OB
Registro das vacinas e medicações utilizadas nos animais.	OB
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB
Manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	OB



Capítulo 5

Peixes I:

Lambari, tilápia e zebrafish



CORDENADOR:

Lucile Maria Floeter Winter Universidade de São Paulo

AUTORES:

Caio Maximino de Oliveira Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Luciane Tourem Gressler Universidade Federal de Santa Maria

Monica Valdyrce dos Anjos Lopes Ferreira Instituto Butantan

Renata Guimarães Moreira Whitton Universidade de São Paulo

Citação recomendada: OLIVEIRA, C.M.; GRESSLER, L.T.; FERREIRA, M.V.A.L.; WHITTON, R.G.M. (2023) Capítulo 5 - Peixes I: Lambari, tilápia e zebrafish. pp. 330-383. In: WINTER, L.M.F. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	337
2. Biologia	339
2.1. Lambari	339
2.2. Tilápia	340
2.3. Zebrafish	341
3. Instalações	347
3.1. Condições ambientais gerais da sala (temperatura, luminosidade, etc)	347
3.2. Aquários, qualidade da água e higienização	347
3.3. Exigências e particularidades na manutenção de Lambaris e Zebrafish	349
3.4. Enriquecimento ambiental	350
3.5. Exigências no cativeiro por grupo	351
3.6. Transporte	353
4. Alimentação	354
5. Doenças mais comuns e cuidados	356
5.5. As principais doenças que acometem as Tilápias e os Zebrafish são:	357
5.6. Indicadores mais frequentes de estresse em Zebrafish são:	360
6. Procedimentos em atividades de ensino ou pesquisa científica	362
6.4. Administração de substâncias	363
6.5. Colheita de tecidos, fluidos, secreções, excreções e ectoparasitos.	364
6.6. Estudos embrionários e larvais	365
6.7. Modificação de ingestão de alimento	365
6.8. Cirurgia experimental	366
7. Cuidados no manejo	367
7.1. Cuidados pré e pós-operatórios	367
7.2. Analgesia	367
7.3. Anestesia	368
7.4. Cirurgia	372
7.5. Eutanásia	372
7.6. Necropsia	373
7.7. Descarte de carcaças	373
8. Referências bibliográficas	375
9. Critérios mínimos para instalações de Peixes	382

PEIXES I: LAMBARI (*ASTYANAX*)
TILÁPIA
(*TILAPIA, SAROTHERODON E*
OREOCHROMIS) E
ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

1. Introdução

Os peixes habitam uma grande variedade de ambientes aquáticos e, além disso, apresentam características como estratégias reprodutivas diversas, comportamento, dietas, tolerância a fatores abióticos e habilidades sensoriais (como emissão de som, produção e detecção de eletricidade, dentre outras). Essas características, somadas a fatores extrínsecos, como a facilidade e o custo de manutenção, estrutura compacta, dentre outras, os tornam bons modelos biológicos em estudos e abordagens experimentais em laboratório. De fato, esses animais vêm sendo considerados como modelo para estudos biomédicos desde a década de 1970 (KLONTZ 1971; UMMINGER & PANG 1979).

Considerando essa variedade biológica, um ponto importante para iniciar as pesquisas, utilizando-se peixes como modelo biológico, é a escolha da espécie a ser estudada.

Ciência de qualidade e o bem-estar animal são conceitos interligados. Por este motivo, garantir condições adequadas de manutenção, cuidado e uso dos peixes em ensino e pesquisa é essencial para gerar resultados confiáveis. Os princípios que regulam o uso de animais em pesquisa são conhecidos como os 3R das suas siglas em inglês (*Replace* Substituição, *Reduce* Redução e *Refine* Refinamento).

Qualquer planejamento que utilize peixes em pesquisa deve justificar que não existem alternativas, o cálculo estatístico dos animais a serem usados e quais serão os métodos para evitar sofrimento.

Assim, em primeiro lugar, é fundamental ter em mente que, dentro dos referenciais da ética do bem-estar animal, o peixe, como qualquer outro animal não-humano, não pode ser visto como um simples modelo. Ainda, utilizando-se o princípio soberano da precaução, cada exemplar deve ser tratado como um indivíduo senciente, com capacidade de sofrimento, o qual deve ser evitado de acordo com as bases da ética utilitarista. A ética utilitarista vem desde J. Bentham e H. Salt, na segunda metade do século 19, fornecendo as bases para propostas em defesa dos interesses dos animais não-humanos, popularizadas por P. Singer. Dentro desta vertente filosófica, o objetivo é sempre propor ações e buscar soluções que resultem na menor quantidade possível de sofrimento geral. Desde a decisão de se realizar o experimento, a definição de seus objetivos, a seleção do material e decisão quanto ao seu tamanho, o desenho experimental, incluindo tipo de instalações e condições durante manutenção e testes, e método experimental, assim como o destino posterior dos exemplares (mortos ou vivos), devem ser pautados primeiramente pelos princípios acima.

Um fator central para o estabelecimento de protocolos de manutenção e experimentação que atendam requisi-

tos mínimos de bem-estar é o conhecimento da biologia da espécie em questão, que pode ter especificidades, muitas vezes só reveladas durante o estudo, exigindo ajustes progressivos. Isto requer, por parte do experimentador, não só domínio da área do tema investigado, como também familiaridade com seu objeto de estudo e com técnicas de observação comportamental, assim como atualização permanente sobre a literatura referente à sistemática, biologia, ecologia e comportamento desses animais, já que novos estudos podem trazer contribuições relevantes para a implementação das condições de bem-estar dos indivíduos. Dada a grande diversidade acima descrita, a proposição de protocolos-padrão, baseados em um número ínfimo de espécies, é totalmente desaconselhada no contexto da ética utilitarista, na medida em que sua aplicação generalizada inevitavelmente levará ao sofrimento de um número imenso de animais, para os quais esses protocolos são inapropriados, ou mesmo incorretos.

A escolha é ainda importante para definir as instalações, como, por exemplo, água doce ou marinha. É importante a escolha de uma espécie que já apresente domínio no cultivo, com altas taxas de sobrevivência, para que os parâmetros de qualidade de água, reprodução, nutrição e sanidade sejam conhecidos. É importante também ter o conhecimento de fontes de fornecimento desses animais. Espécies com importância econômica normalmente apresentam maiores facilidades para aquisição em pisciculturas comerciais. No entanto, muitos estudos podem ser realizados com espécies cujo único acesso é o ambiente natural. Nesse caso, deve ser considerada a solicitação das licenças ambientais, para captura e manutenção (<http://www.icmbio.gov.br/sisbio>/<http://www.icmbio.gov.br/sisbio>/<http://www.icmbio.gov.br/sisbio/>), e as recomendações para se trabalhar com esses animais estão contempladas no Guia Concea Capítulo **Animais Silvestres de Vida Livre**. Em caso de experimentos com transgenia, considerar a necessidade de atender à lei de biossegurança.

Em termos objetivos, neste Capítulo, iremos abordar as espécies que são mais usadas em pesquisa ou ensino nas áreas biológicas ou biomédicas: lambari, tilápia e zebrafish. Não estão sendo considerados neste capítulo procedimentos de manutenção destas espécies em viveiros de cultivo, ou sistemas que visem a produção destas espécies.

2. Biologia

2.1. Lambari

Os lambaris pertencem à família Characidae, ordem Characiformes. O gênero *Astyanax* é o mais numeroso de toda a ordem (NELSON 2006). Nos estudos biológicos com esses animais, as espécies mais utilizadas no Brasil são *Astyanax fasciatus* (lambari-do-rabo-vermelho) e *Astyanax altiparanae* (GARUTTI & BRITSKI 2000) (lambari-do-rabo-amarelo ou tambuí). *A. fasciatus* é uma espécie que apresenta problemas taxonômicos, ainda vem sendo estudada do ponto de vista citogenético, pois representa um grupo de animais com diferentes cariótipos (PAZZA, KAVALCO *et al.*, 2007), sendo, inclusive, sugerida a existência de duas diferentes linhagens com aspectos morfológicos similares que estariam vivendo em simpatria (PANSONATO-ALVES, HILSDORF *et al.*, 2013). Além das questões taxonômicas e citogenéticas, a manutenção de indivíduos de *A. fasciatus* no laboratório apresenta dificuldades pelo seu comportamento agressivo (LANGECKER, NEUMANN *et al.*, 1995) e baixa sobrevivência (CORREIA 2008). Portanto, não será abordado neste Capítulo.

A. altiparanae é uma espécie que vem sendo utilizada intensamente como modelo experimental em várias áreas. Representantes dessa espécie apresentam a nadadeira caudal amarela, têm pequeno porte (10-15 cm de comprimento), com massa corpórea de até 60g e hábito alimentar onívoro (PORTO-FORESTI, CASTILHO-ALMEIDA *et al.*, 2010). Apresenta algumas características importantes para sua manutenção em laboratório, como facilidade de manejo, aceitação de alimentação artificial, alta prolificidade, crescimento rápido, atingindo a maturidade sexual em cerca de 4 meses de idade (PORTO-FORESTI, CASTILHO-ALMEIDA *et al.*, 2010; GONÇALVES, PARISI *et al.*, 2014). Essas características têm levado recentemente o gênero *Astyanax* a ser considerado como um ótimo modelo experimental, principalmente em estudos que abordam biologia, ecotoxicologia e fisiologia reprodutiva (GOMES, COSTA *et al.*, 2013; VIEIRA, CORREIA *et al.*, 2013 ; CHEHADE, CASSEL *et al.*, 2014; COSTA, ADOLFI *et al.*, 2014; JESUS, BRANCO *et al.*, 2014; ADOLFI, CARREIRA *et al.*, 2015; BRAMBILA-SOUZA 2015; GOMES 2015; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2015; YASUI, SENHORINI *et al.*, 2015; BETTIM, GAVAN *et al.*, 2016). O dimorfismo sexual em *Astyanax* é apenas observado durante o período reprodutivo, quando os machos apresentam aspereza da nadadeira anal.

2.2. Tilápia

A tilápia pertence à família Cichlidae e é originária de países da África e do Oriente Médio. Existem 77 espécies já descritas, pertencentes aos gêneros *Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis*, estando 22 difundidas em países de clima tropical e/ou subtropical, onde são criadas em escala experimental e/ou em produção comercial. No Brasil, a tilápia do Congo (*Tilapia rendalli*) foi a primeira espécie introduzida, em 1953, seguida pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em 1971. Tilápias são espécies que apresentam características favoráveis ao cativeiro, como adaptabilidade a condições ambientais variáveis, conversão alimentar e ganho de peso adequados, rusticidade, aclimatação ao confinamento e resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido e a doenças.

A tilápia é uma espécie tropical de hábito diurno que habita preferencialmente águas rasas de rios, lagos e canais de irrigação, doce e salobra (FISHBASE 2015). É um peixe onívoro forrageiro que se alimenta de fitoplâncton, perifíton, plantas aquáticas, pequenos invertebrados, fauna bêntica, detritos e biofilmes associados a estes, sendo a secreção de muco para captação de plâncton na cavidade bucal uma característica própria da espécie (FAO 2015). Detalhes morfológicos sobre as tilápias podem ser encontrados em (RIBEIRO 2001).

A tilápia é uma espécie ovípara que atinge a maturidade sexual ao redor dos 5-6 meses, ocorrendo desova quando a temperatura da água está em torno de 24°C. O processo reprodutivo começa quando o macho estabelece seu território, escava um ninho de 20 a 50 cm de diâmetro no substrato e passa a protegê-lo, atraindo uma fêmea e cortejando-a por horas. A fêmea madura então desova no ninho e imediatamente coleta os óvulos na cavidade bucal. O macho ejacula onde os óvulos haviam sido postos e a fêmea coleta o material para que a fertilização ocorra na cavidade bucal e se afasta do local, ficando o ninho disponível para desovas de outras fêmeas. Os ovos são incubados na cavidade bucal e as larvas são cuidadas até que o saco vitelínico seja absorvido. Dependendo da temperatura, isto ocorre ao longo de 1 a 2 semanas. As larvas são então liberadas na água, mas podem retornar à boca da fêmea na iminência de situações adversas, o que confere um alto índice de sobrevivência da progênie (em torno de 100%) (Ribeiro 2001; FAO 2015; FISHBASE 2015).

Devido ao cuidado parental ocorrer na cavidade bucal, o número de ovos por desova é menor se comparado a outras espécies de água doce, podendo uma fêmea de 600 a 1000 g produzir de 1000 a 1500 ovos. Se a temperatura se mantiver na faixa adequada para desova, a fêmea pode realizar nova desova a cada liberação das larvas da cavidade bucal ao fim do período de cuidado parental (pode desovar de 8 a 12 vezes/ano). Enquanto incuba os óvulos, a

fêmea não se alimenta por duas ou mais semanas. Quando os jovens são então liberados, a energia da fêmea passa a ser canalizada para o desenvolvimento de novos óvulos, ficando o crescimento e a deposição de gordura estagnados. Após a maturidade, as fêmeas apresentam redução drástica no crescimento, pois direcionam grande parte da energia do alimento para a produção de ovos (para cada grama de peso vivo, um a um e meio óvulos são produzidos). Então, os machos atingem o peso comercial mais cedo. Tilápias podem viver por mais de 10 anos e pesar aproximadamente 5 kg (FISHBASE 2015; RIBEIRO 2001; FAO 2015; MAPA 2007).

A reprodução da tilápia em cativeiro é feita com uma intervenção no padrão natural descrito acima, a fim de produzir indivíduos que crescem e funcionam reprodutivamente como machos. Utiliza-se a técnica de reversão sexual, para a qual recomenda-se a utilização da proporção 1 macho:7-10 fêmeas em um tanque de 10m² para o estabelecimento da territorialidade do macho (iniciando antes do macho atingir a maturidade). Os ovos são coletados da boca da fêmea e incubados artificialmente, evitando problemas como canibalismo e superpovoamento e proporcionando uma nova desova mais rapidamente. As larvas que nasceram no tanque podem ser coletadas com até 8 mm (máx. 1 semana de vida). Os jovens são então estocados a uma densidade de 3500/m², sendo iniciada a alimentação com ração contendo Hormônio α -metil-testosterona., a qual deve ser oferecida de 2-4 vezes/dia nas horas mais claras do dia, sendo a taxa de alimentação corrigida a cada 2 dias, conforme o tamanho. A uma temperatura de 25 a 28°C, o processo de inversão sexual deve durar de 25 a 30 dias, atingindo um comprimento médio de 24 mm. Devem ser eliminados os animais \leq 14mm (porcentagem de inversão entre 97-100%) (RIBEIRO 2001). A eliminação dos animais deve seguir as normas para eutanásia de peixes, conforme as Diretrizes da Prática de Eutanásia do Concea e o Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

As diferenças entre os gêneros residem principalmente no comportamento reprodutivo. *Tilapia* realiza desova em ninhos no substrato no fundo da coluna d'água, onde os ovos se desenvolvem e eclodem. *Sarotherodon* e *Oreochromis* também desovam em ninhos escavados no substrato, mas os ovos são fertilizados e incubados na boca da fêmea. Atualmente, há uma grande variedade de intercruzamentos, dificultando a diferenciação através de hábitos comportamentais (RIBEIRO 2001).

2.3. Zebrafish

Danio rerio é um peixe da família Cyprinidae, Ordem Cypriniformes. É conhecido popularmente como paulisti-

nha, peixe zebra ou pela comunidade científica como “zebrafish”. Peixe tropical, originário dos principais rios da Índia, Bangladesh e Nepal, é comumente encontrado em águas rasas, paradas ou de baixa movimentação, com vegetação aquática submersa e lodo. O zebrafish é uma espécie gregária, normalmente encontrada em cardumes de 5 a 20 indivíduos. Normalmente, formam cardumes de sexos misturados, comportamento esse inato e hereditário. Embora sejam animais sociais, podem apresentar comportamento agonista, especialmente quando acasalam e durante o estabelecimento de hierarquias de dominância, que ocorrem dentro e entre os sexos (LAWRENCE 2007).

Vivem em águas que podem sofrer grandes variações de temperatura (16-38°C) e pH (5.9-8.5). Alimentam-se de uma ampla variedade de zooplâncton e insetos e, em menor proporção, de algas, detritos e outros materiais orgânicos. É um peixe de hábito tipicamente diurno, mostrando os maiores níveis de atividade durante as primeiras horas da manhã, a qual tende a apresentar uma significativa redução ao final da tarde. Dormem frequentemente, embora não exclusivamente, durante a noite. Esse padrão circadiano de atividade influi nos processos fisiológicos, bioquímicos e comportamentais no animal, padrão esse que deve ser levado em consideração nos biotérios de criação.

O zebrafish é classificado como um peixe ósseo. Seu esqueleto axial inclui coluna vertebral e nadadeiras ímpares. Possuem corpos esguios e alongados, com uma cabeça curta, narina protuberante e uma boca inclinada e voltada para cima. A mandíbula superior possui uma saliência (protrusão) que possibilita a abertura da boca e ajuda na sucção de alimentos. A característica mais marcante do peixe zebra é o seu padrão de listras azuis e brancas ao longo do corpo e da nadadeira anal e caudal (Figura 1).

Figura 1: Zebrafish com seu característico padrão de listras azuis e brancas ao longo do corpo.

Foto: Camila Carvalho



Passa pelos estágios larval, juvenil (Figura 2) e adulto. Aspectos importantes destes estágios estão contidos na Tabela 1. No estágio larval, já apresenta órgãos importantes e por esta razão muitas pesquisas científicas são realizadas neste estágio de vida do animal. Outra importante característica é a presença da linha lateral que consiste em células ciliadas sensoriais, conhecidas como neuromastos. Estão embutidas na pele em linhas que percorrem o comprimento dos dois lados do corpo. A linha lateral é envolvida em uma variedade de comportamentos, incluindo formação de cardumes, fuga de predadores e reprodução. As principais características dos sistemas do peixe zebra estão mencionadas na Tabela 2.

Figura 2: (A) Estágios embrionários o Zebrafish

Foto: Mônica Lopes Ferreira



Tabela 1: Características dos estágios embrionários do Zebrafish

Estágio (dias)	Comprimento (mm)	Descrição
Lavar Jovem (3)	3,5	Nada livremente, posicionamento vertical
Larva (14)	6	Bexiga natatória cheia, procura de alimento, crescimento
Juvenil (30)	10	Nadadeiras e padrão de pigmentação dos adultos
Adulto jovem (90)	20	Reprodução
Adulto (100)	40 - 50	Final da vida

Em condições apropriadas, o zebrafish se reproduz continuamente durante a maturidade sexual. Sua grande fertilidade é uma de suas principais características. A liberação de feromônios pelo macho induz a ovulação da fêmea.

A fêmea, por sua vez, induz o comportamento de acasalamento no macho através da liberação de feromônios durante a ovulação. Por esta razão, é importante manter machos e fêmeas juntos compartilhando a mesma água antes do acasalamento. Também é muito importante diferenciar machos de fêmeas. Machos são geralmente mais delgados e escuros que as fêmeas. Além disso, estes apresentam tubérculos nos raios da nadadeira peitoral. As fêmeas são muito mais desenvolvidas e atingem a maturidade sexual antes dos machos. Elas tendem a ser maiores e com suas cores um pouco mais suaves. No corpo da fêmea, predomina o branco prateado e, no macho, o amarelo ouro (SPENCE, GERLACH *et al.*, 2008).

A reprodução é influenciada por fotoperíodo e ocorre normalmente antes do amanhecer, a desova começa nas primeiras horas do dia. Em condições adequadas, o peixe zebra se reproduz continuamente durante a maturidade sexual. As fêmeas podem se reproduzir diariamente, embora seja recomendado um intervalo de descanso. Este intervalo pode variar de dias a semanas, dependendo do protocolo adotado. Outro fator que deve ser levado em consideração é a existência de fêmeas dominantes, o que pode inibir a desova de fêmeas consideradas subordinadas. Uma maneira de contornar este possível problema é evitar manter os mesmos grupos de fêmeas no mesmo aquário por extensos períodos de tempo.

Tabela 2: Principais Sistemas do Zebrafish

Sistemas	Características
Tegumentar	Pele coberta por escamas ciclóides que funcionam como barreira de proteção física.
Esquelético	Esqueleto complexo compreendendo cartilagem e osso.
Gastrointestinal	Inclui boca, faringe, esôfago, intestinos e abertura anal. Possui um par de dentes e papilas gustativas.
Respiratório	As brânquias são as responsáveis pelas trocas gasosas, balanço osmótico, excreção de compostos nitrogenados e manutenção do balanço ácido-básico.
Urogenital	O rim é o principal órgão responsável pela hematopoiese. O peixe macho possui um par de testículos e a fêmea possui ovários contendo oócitos.
Cardiovascular	O coração é o órgão predominante na fase embrionária do zebrafish. Coração com átrio e ventrículo, seios venoso e bulbo arterial.
Nervoso e Sensorial	Possui órgãos sensoriais especializados: olho, sistema olfativo e ouvido. A linha lateral é um sistema sensorial que permite que o animal detecte e responda a variações de movimento na água.

A eficácia do protocolo de acasalamento irá determinar a quantidade de produção de ovos viáveis. Diferentes protocolos podem ser utilizados para a reprodução do zebrafish em biotérios. Um dos principais e mais utilizados em

biotérios por se mostrar bastante prático e eficaz é a realização do acasalamento em locais separados dos aquários onde os animais vivem. Estes sistemas, comercializados por diferentes empresas, possuem fundo gradeado que se encaixa em recipientes maiores preenchidos de água. Quando ocorre o acasalamento, os ovos passam pelo fundo gradeado e se depositam na parte inferior do recipiente, ficando assim protegidos do canibalismo. Estes sistemas também possibilitam que os ovos sejam facilmente retirados. O tamanho do sistema determinará a quantidade de peixes que podem ser colocados para acasalamento e o cuidado com a manipulação dos embriões após a desova determinará o sucesso da criação.

Os animais exibem rituais de acasalamento antes e durante a desova. Os machos competem pelas fêmeas, estabelecendo e defendendo território. Durante a cômte, nadam em círculos para que as fêmeas os percebam. No momento da desova, nadam paralelo com as fêmeas, provocando a liberação dos óvulos e simultaneamente liberando o esperma para que ocorra a fecundação. Os embriões devem ser retirados do sistema de acasalamento o mais rápido possível, evitando possíveis contaminações (Figura 3). Em seguida, devem ser de maneira cuidadosa lavados com água limpa e transferidos para placas de Petri preenchidas com água. Um meio de evitar contaminação é utilizar azul de metileno (0,00003%) dissolvido em água. Após 12 ou 24 horas, os embriões não-viáveis são facilmente identificados por sua aparência esbranquiçada e devem ser imediatamente retirados. Os ovos vão permanecer em recipientes de incubação até que as larvas eclodam e inflem a bexiga natatória. Os ovos do zebrafish eclodem de 2-3 dias pós-fertilização (dpf). Após esses procedimentos, os ovos ficam em repouso, em recipientes de incubação, até que as larvas eclodam e inflem as bexigas natatórias (WESTERFIELD 2007).

Figura 3: Ritual de acasalamento e embriões

Foto: Camila Carvalho



3. Instalações

3.1. Condições ambientais gerais da sala (temperatura, luminosidade, etc)

As condições da sala dependem muito do objetivo do trabalho. No entanto, de uma forma geral, a sala deve ter controle de temperatura de forma a facilitar a manutenção da temperatura da água (com aquecedores ou *chillers*). Considerando-se que o fotoperíodo não seja uma variável a ser analisada, recomenda-se o fotoperíodo natural (12 horas de luz) ou um sistema de iluminação com fotoperíodo ajustado (14h claro: 10h escuro), mas pode-se alterar o fotoperíodo em casos excepcionais quando justificado para os objetivos do experimento.

A sala dos aquários deve apresentar um sistema de abastecimento de água, que pode ser da rede de tratamento. No entanto, deve ser previsto um reservatório de armazenamento de água para que esta possa ser mantida ao menos 12-24 horas antes do abastecimento dos aquários, com a finalidade de volatilizar o cloro da água. É ideal que este reservatório esteja localizado acima do nível dos aquários, de forma que os mesmos possam ser abastecidos por gravidade. Caso contrário, deve ser prevista a instalação de uma bomba, dimensionada de acordo com as necessidades de renovação e abastecimento de água dos aquários. Outra opção que pode ser utilizada é a remoção do cloro livre na água através da adição de produtos químicos comerciais específicos para tal fim ou pela utilização de filtros decolorizadores.

3.2. Aquários, qualidade da água e higienização

A água é o meio ambiente no qual os peixes vivem, sendo cruciais os cuidados com parâmetros que irão determinar o bem-estar do animal. Segundo Kinkelin *et al.* (KINKELIN, MICHEL *et al.*, 1991), o meio ambiente contém bactérias e fungos geradores de alterações mórbidas (cuja etiologia é diagnosticada por técnicas laboratoriais) e classificados como bioagressores oportunistas (*Aeromonas*, *Saprolegnia*, etc). Os fungos do gênero *Saprolegnia* oportunizam o surgimento de dinoflagelados secretores de toxinas (SARIG 1971), principalmente em países quentes e às vezes em países temperados na estação quente. Estes bioagressores, num ambiente em equilíbrio, permanecem inativos para os peixes, porém em qualquer efeito que leve ao desequilíbrio, deixam de ser oportunistas para serem patogênicos. O

estado de patogênico é caracterizado nos peixes pelo surgimento de alterações do comportamento (sinais clínicos) e/ou presença de lesões que podem levar a perda no rendimento ou gerar mortalidade. Essas manifestações podem ser devidas a causas de ordem física, química ou biológica, que atuam isoladamente ou associadas, porém comprometem as funções fisiológicas do animal. As causas físicas estão constituídas pelas propriedades físicas da água, tais como: temperatura, material em suspensão (MES) e oxigênio dissolvido. As causas químicas são principalmente as propriedades da água e a composição desta (pH, alcalinidade, conteúdo em gases dissolvidos, materiais nitrogenados, toxinas segregadas por algas ou por diversos contaminantes tais como cloretos, sulfatos, mercúrio, ácidos, pesticidas, clorofenóis, detergentes, hidrocarbonetos, etc., e ainda podem ser considerado um fator de ordem químico a alimentação, na modalidade qualitativa e quantitativa, que pode prejudicar a qualidade da água). Como causa de ordem biológica destacam-se as bactérias, fungos, vírus e parasitos.

Na zona térmica, cada espécie tem um intervalo de temperatura dentro do qual se consegue um ótimo rendimento zootécnico. Zoologicamente se encontram peixes entre 2,5°C e 44°C. Os ciprinídeos das zonas norte americanas sofrem variações que vão desde 2 a 44°C (LOWE & HEATH 1969). Segundo Kinkelin *et al.*, (KINKELIN, MICHEL *et al.*, 1991), do ponto de vista zootécnico e médico é necessário considerar especialmente 2 funções: crescimento e a imunidade. Portanto, para considerar o bem-estar do peixe é importante considerar o fator temperatura, pois a vida nas zonas de temperaturas supra ótimas resulta energeticamente cara e, nas zonas infra ótimas para uma espécie, a cinética das respostas imunitárias é mais lenta que o ótimo fisiológico. Segundo este mesmo autor, o papel do estresse está bem definido experimentalmente e esta reação se produz em numerosas situações, caracterizadas pela presença de componentes do meio ambiente desfavoráveis à fisiologia dos peixes. Acredita-se que toda a patologia decorrente do meio ambiente é sempre consequência desta patogenia: estresse e o efeito direto eventual da causa mórbida.

De uma forma geral, o manejo da água está diretamente relacionado à biomassa do aquário, temperatura da água e qualidade do alimento. As variáveis que devem ser monitoradas nos aquários e seus respectivos parâmetros são indicados na Tabela 3, dentro dos limites desejáveis para cada espécie abordada neste capítulo.

Tabela 3: Principais parâmetros e variáveis necessários ao bem-estar em aquários, segundo a espécie de peixe.

	LAMBARI	TILÁPIA	ZEBRAFISH
Oxigênio Dissolvido	> 4 mg/L	> 4 mg/L	≈7,8 mg/L
Amônia	< 0,1 mg/L	< 0,20 mg/L	<0,002 mg/L
pH	6,5 - 8,0	6,0 - 8,5	7,0 - 8,0
Temperatura	24 - 28°C	24-32°C	24 - 28°C

Em relação ao nível de nitrito, na manutenção de Zebrafish, a concentração não pode exceder 0,5 partes por milhão. Portanto, deve-se prover meios que garantam a concentração menor que 0,5 partes por milhão.

3.3. Exigências e particularidades na manutenção de Lambaris e Zebrafish

Não existe um tamanho ou volume padrão de aquários para a manutenção de indivíduos de *A. altiparanae*. Deve-se levar em conta a densidade de manutenção destes animais que não pode passar de 0,5-2g/L. Nas densidades mais elevadas, é recomendada a troca de água a cada 24 ou no máximo 48 horas de experimento, sendo que esta troca pode ser total ou parcial. Na troca parcial, pode-se chegar até 70% de renovação da água do aquário e, na necessidade de troca total, os animais são geralmente mudados de aquários. A manipulação do ambiente e dos indivíduos deve ser realizada com base na avaliação contínua da qualidade da água conforme a tabela 3. Esta prática visa a redução do estresse osmótico e térmico entre outros. Podem ser estabelecidos ainda sistemas de recirculação de água.

A reprodução do lambari deve ser estimulada artificialmente com hormônios ou preparações hormonais. Os reprodutores devem ser selecionados com base em características de maturidade e, em seguida, preparações hormonais, como extrato hipofisário (método mais utilizado), devem ser administradas em duas doses. Uma primeira dose de 0,5mg/kg pode ser administrada em animais dos dois sexos. Após 12 horas da primeira dose, as fêmeas recebem uma segunda aplicação de extrato hipofisário na dose de 2,5mg/kg. A extrusão dos gametas ocorre com cerca de 160 horas-grau.

Ainda em relação à manutenção, o zebrafish é um peixe gregário que pode ser alocado em densidade de 5 peixes adultos/L em aquários que tenham aeração, biofiltro, renovação de 70%/dia, boa qualidade da água e bom regime de alimentação. Em aquários sem biofiltro, uma boa relação de densidade para esta espécie é 1-2 animal/L (REED & JENNINGS 2011).

3.4. Enriquecimento ambiental

A simples presença de substrato mantém a hierarquia social e estimula o comportamento sexual em machos territorialistas de tilápia de Moçambique, já que estes constroem ninhos com o material disponível para atrair as fêmeas. A possibilidade de manter este hábito natural auxilia na promoção do bem-estar da espécie mantida em aquários e instalações de piscicultura, aumentando a diversidade comportamental e a exploração ambiental, diminuindo, assim, a inatividade (GALHARDO, ALMEIDA *et al.*, 2009; GALHARDO, CORREIA *et al.*, 2008).

Dessa forma, enriquecimento ambiental deve ser obrigatório, a não ser em casos excepcionais que comprometam de forma evidente os resultados da pesquisa experimental.

Peixes utilizados em laboratórios de pesquisa geralmente são mantidos em locais que comprometem seu bem-estar e, por consequência, o resultado dos testes aos quais são submetidos. Contudo, o enriquecimento ambiental pode tornar a manutenção destes animais cativos mais confortável, sendo o ambiente modificado em prol da melhor qualidade de vida e da maior satisfação das suas necessidades fisiológicas, incluindo aspectos comportamentais, reprodutivos, etc (BATISTA 2010); (DELICIO, BARRETO *et al.*, 2006; BRYDGES & BRAITHWAITE 2009; PIATO & ROSEMBERG 2014).

Um estudo evidenciou que tilápias apresentam preferência por ambientes enriquecidos com abrigo e cascalho em detrimento de ambientes vazios (DELICIO, BARRETO *et al.*, 2006). O efeito estimulatório do enriquecimento ambiental no aprendizado e na memória da tilápia, com relação ao local e período em que o alimento estaria disponível, foi avaliado (BATISTA 2010). A investigação utilizou cascalho, vegetação, abrigos de PVC e pedaços de tijolos e madeira como itens de enriquecimento ambiental e constatou a existência de interação entre este e a melhora na memória e aprendizado, embora os peixes não tenham atingido a meta específica proposta pelo estudo. Em contrapartida, um estudo similar observou o comportamento de associação entre local e período de alimentação em tilápias (DELICIO & BARRETO 2008). Em peixes zebra, a utilização de plantas artificiais como enriquecimento ambiental aumentou a proliferação celular no telencéfalo (VON KROGH, SORENSEN *et al.*, 2010) e diminuiu comportamentos tipo-ansiedade em testes padronizados (COLLYMORE, TOLWANI *et al.*, 2015).

Apesar dos benefícios, ambientes enriquecidos nem sempre aumentam o bem-estar de peixes territoriais, visto que machos de tilápia do Nilo apresentaram maior agressividade em territórios enriquecidos pela maior quantidade de material a ser defendido (BARRETO, CARVALHO *et al.*, 2011), e zebrafish criados em ambiente enriquecido apre-

sentam níveis maiores de cortisol corporal (VON KROGH, SORENSEN *et al.*, 2010). Contudo, esta pode ser uma resposta espécie-específica. Em ambiente enriquecido, a tilápia do Congo apresentou uma diminuição na latência para iniciar a luta, mas a frequência de ataques foi menor e a hierarquia de dominância menos explícita em comparação aos animais mantidos em ambiente não-enriquecido (TORREZANI 2012). Isto pode ser explicado pela hipótese da barreira visual; um ambiente mais enriquecido impede a visualização entre os indivíduos, diminuindo a sinalização (alteração da pigmentação corporal) entre os mesmos e o número de interações agressivas (IMRE, GRANT *et al.*, 2002).

Diferentes cores podem influenciar no comportamento social e fisiologia da tilápia. Quando cinco tratamentos de cores (preto, branco, verde, azul e marrom) foram testados na espécie, constatou-se que o preto e o verde diminuem os confrontos agonísticos e os níveis de cortisol, enquanto o azul e o marrom estimulam as interações agonísticas e a resposta ao estresse e aumentam a atividade locomotora. Houve alta frequência de confrontos agonísticos nos animais mantidos no ambiente branco, porém, com redução do padrão de ameaça e manutenção da locomoção normal (MERIGHI, PEREIRA-DA-SILVA *et al.*, 2004). No entanto, um estudo anterior verificou que a cor azul previne o estresse em tilápias (VOLPATO & BARRETO 2001). A cor azul também desempenhou um papel positivo na reprodução da espécie (VOLPATO, DUARTE *et al.*, 2004). Houve maior frequência e intensidade reprodutiva nos peixes expostos à luz de cor azul do que à de cor branca, além de que os machos expostos a primeira removeram mais substrato e construíram ninhos maiores. Com relação à intensidade luminosa, esta possui um efeito cumulativo ao longo do tempo sobre a agressividade das tilápias. Além disso, um maior número de interações agonísticas ocorre na luz de maior intensidade, mas a hierarquia dos peixes (alfa, beta e gama) não é desestabilizada (CARVALHO, MENDONÇA *et al.*, 2013).

3.5. Exigências no cativeiro por grupo

A tilápia demonstra alta resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido, podendo viver sob anóxia por algumas horas, uma vez que regula o consumo de O_2 à medida que os níveis na água vão baixando. Contudo, sua manutenção em ambientes com escassez de oxigênio dissolvido a torna mais susceptível a doenças e reduz seu desempenho. Na faixa de temperatura de 26-35°C, o nível crítico de O_2 é de 20 - 10% da saturação (KUBITZA 2000a). Segundo Macêdo (2004), a tilápia vive em 1,2mg/L O_2 .

Em zebrafish, a temperatura relativamente alta de manutenção, a densidade de animais nos aquários e a alta frequência de alimentação típica de instalações de alta atividade criam a necessidade de níveis de oxigênio dissolvido

próximos da saturação (~7,8 mg/L em 28°C) (LAWRENCE 2007).

O pH adequado para a manutenção da tilápia em aquários está entre 6 e 8,5, ocorrendo alta mortalidade abaixo de 4,5 e acima de 10,5.

O pH do habitat natural do zebrafish varia entre 7,9 e 8,2, semelhante ao ideal para a promoção da saúde do biofilme e da estabilidade da qualidade da água (LAWRENCE 2007).

A LC_{50} de amônia depende da espécie de tilápia, do tamanho, do tempo de exposição e da pré-exposição ou adaptação a níveis sub-letais de amônia. Níveis de amônia não-ionizada acima de 0,20 mg/L geralmente comprometem o crescimento e a conversão alimentar da tilápia, além de baixar a resistência a doenças e a tolerância ao manejo (KUBITZA 2000a).

Os extremos inferior e superior de temperatura para a tilápia são 12 e 42°C, sendo a faixa de preferência para um melhor crescimento de 24 a 32°C. A tilápia apresenta conforto térmico na faixa de 27 a 32°C. Em baixas temperaturas, há redução no consumo de alimento, crescimento mais lento, menor resistência a doenças e maior predisposição à mortalidade durante o manejo (KUBITZA 2000a).

A tolerância das tilápias à salinidade é determinada por fatores como a estratégia de adaptação, a idade, a prévia exposição de ovos e pós-larvas e principalmente o tamanho. As salinidades ao redor de 10-12 g/kg são consideradas isosmóticas para as tilápias, sendo a faixa onde há o menor gasto de energia com a osmorregulação e assim o crescimento é favorecido (KUBITZA 2000a).

Zebrafish é relativamente resistente a variações em salinidade, ainda que alterações súbitas podem levar a estresse osmótico. Embriões na fase pós-gastrulação são mais tolerantes a aumentos na salinidade do que animais mais jovens. Na ausência de estudos experimentais sobre o tema, a manutenção destes animais em condições de salinidade recomendadas para outras espécies de peixes de água doce (i.e., 0,25-0,75 ppt) é recomendada (LAWRENCE 2007).

Em relação à dureza da água, há considerável variação entre instalações laboratoriais devido a características próprias, incluindo origem da água (rede de tratamento, destilador ou osmose reversa), adição de sais de cálcio e magnésio, tamponamento com bicarbonato, etc. Via de regra, valores de dureza entre 75-200 mg/L $CaCO_3$ são considerados adequados para peixes de água doce (WURTS 2002).

3.6. Transporte

Para o transporte de animais, inicialmente sugere-se um período de jejum de 24 horas para que o trato digestório seja esvaziado. O transporte pode ser realizado em caixas especializadas para transporte de peixes, com suprimento de oxigênio. Recomenda-se acrescentar NaCl (0,1 a 0,3%) na água, de forma a reduzir o estresse no transporte. Fármacos sedativos ou anestésicos, tais como benzocaína, metanosulfonato de tricaína (MS-222) podem ser usados. Pode-se também utilizar o óleo de cravo. Deve haver monitoramento constante do bem-estar dos animais durante o transporte, desde os primeiros preparativos. No caso de transporte em saco plástico, apenas 2/3 do volume deve estar preenchido com água e 1/3 deve ser preenchido com oxigênio. A temperatura deve também estar dentro dos limites acima colocados, caso contrário, deve haver renovação parcial ou total da água. Recomenda-se que o transporte dos animais seja realizado nos momentos de menor temperatura do dia (início da manhã ou final da tarde) e, de preferência, em veículos com ar condicionado. Além disso, antes de iniciar os experimentos, é recomendado que os animais passem por um período de quarentena.

4. Alimentação

Os requerimentos nutricionais das espécies devem ser estabelecidos e essa informação deve ser aplicada de maneira adequada para que se promova máximo crescimento, sobrevivência, reprodução e atividade imune dos animais. Em caráter de recomendação, mas não de obrigatoriedade, são sugeridos os protocolos abaixo.

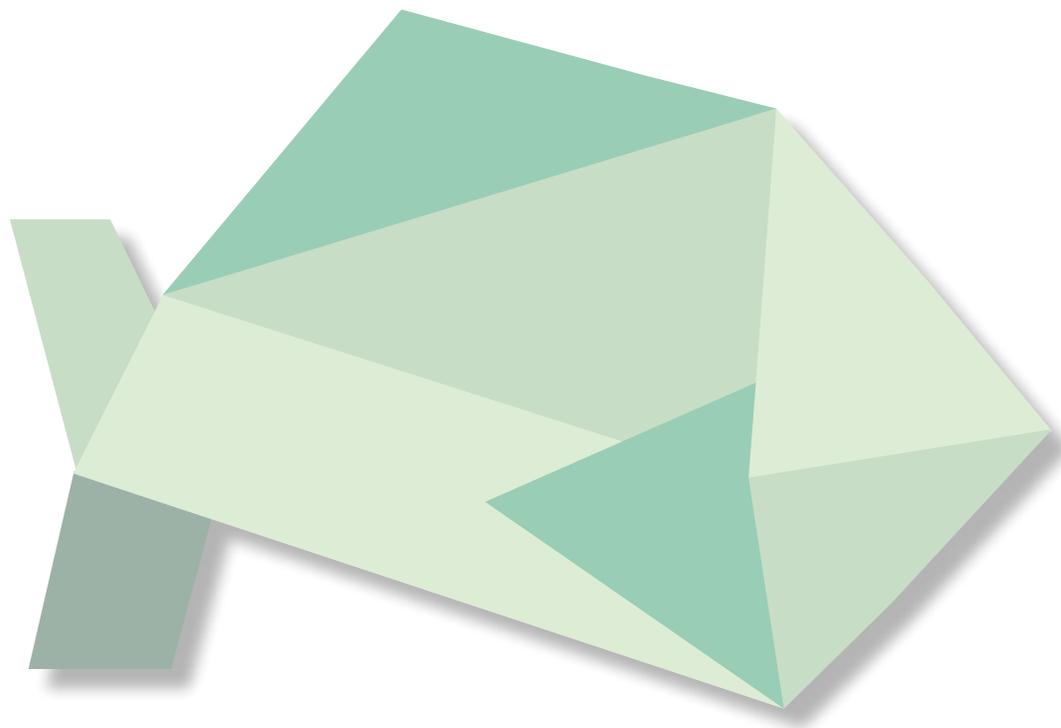
A. altiparanae tem hábito alimentar onívoro e aceita rações comerciais. A ração fornecida vai depender da fase do ciclo de vida que estes animais se encontram. Para as larvas devem ser fornecidas rações em pó ou trituradas, com teor de proteína de 30-36% de proteína bruta, com frequência de alimentação que pode variar de 4-6 vezes ao dia, sempre no período diurno. Na fase de juvenil, a frequência alimentar pode ser reduzida para 2 vezes ao dia, assim como o teor de proteína da ração que pode ser de 28-32%. Animais adultos podem ser mantidos com rações de 25-30% de proteína bruta, com frequência alimentar de apenas 1 vez ao dia.

A quantidade de alimento ofertado vai depender dos objetivos do experimento, assim como da possibilidade/necessidade de renovação de água. A definição da quantidade e frequência de alimento varia com os parâmetros de qualidade de água abaixo descritos.

A tilápia aceita alimentação artificial facilmente, seja farelada, peletizada ou extrusada. Por ocupar um baixo nível trófico na cadeia alimentar do ambiente aquático, possui grande capacidade de produzir proteína de alta qualidade através de fontes alternativas de proteína. O manejo alimentar e nutricional da tilápia depende de variáveis inerentes à dieta, como a frequência, a apresentação, a quantidade e a qualidade da mesma, em função da biomassa do tanque, da idade e do estado fisiológico e sanitário dos peixes, do sistema de cultivo, dos parâmetros de qualidade da água e da presença de plâncton. De forma geral, em aquários, deve ser oferecida duas vezes ao dia de forma manual, especialmente se for extrusada (flutuante) (RIBEIRO 2001).

De maneira geral, os peixes zebra podem se alimentar de alimentos vivos que incluem várias espécies de zooplâncton, como Artêmias, rotíferos e Paramecium spp e alimentos processados. Todas compartilham características favoráveis, como facilidade de cultivo, perfil nutricional balanceado, alta digestibilidade, atratividade e aceitabilidade. É importante ressaltar que dietas com alimentos processados podem ser utilizadas para substituir as dietas com alimentos vivos. Isto ocorre na maioria das vezes, uma vez que representam uma diminuição de custos e permitem um maior controle sobre o estado nutricional dos animais e reduz o risco de introdução de patógenos ou toxinas via dieta. Estes

podem ser usados como fonte exclusiva após a fase larval, se for nutricionalmente balanceado, palatável, estável e de boa digestibilidade. É essencial que dietas processadas sejam estocadas e administradas corretamente, lembrando que a vida útil de um alimento processado não passa de três meses, quando mantido em local seco e ventilado. É importante lembrar que alimentos processados devem ser ofertados secos e não hidratados previamente (MARKOVICH, RIZZUTO *et al.*, 2007; WESTERFIELD 2007; LAWRENCE 2007).



5. Doenças mais comuns e cuidados

A manutenção da qualidade da água, manejo alimentar e experimental dos lambaris são os principais pontos a serem considerados para que não se instalem doenças nos indivíduos. As doenças ocorrem principalmente em situações nas quais a concentração de oxigênio dissolvido é mantida abaixo do limite mínimo desejável, a concentração de amônia mantida acima do limite máximo, sobras de alimentos são mantidas nos aquários, além de biomassas excessivas. Recomenda-se ainda que os utensílios utilizados nos aquários (como redes, puçás, termostatos, aeradores, dentre outros) sejam limitados a cada aquário, para que as doenças não sejam transmitidas entre animais de diferentes aquários (PORTO-FORESTI, CASTILHO-ALMEIDA *et al.*, 2010).

Variações na temperatura da água são as principais causas do surgimento de fungos, como a *Saprolegna*, e protozoários, como *Ichthyophthirius multifiliis*, que surgem quando a temperatura na água está abaixo de 20°C. Um ectoparasita muito comum em lambaris é a *Lernaea* sp. De uma forma geral, medidas profiláticas como abastecimento com água não contaminada, desinfecção dos peixes transferidos para nova localidade e sua quarentena na chegada são sugeridas. Muitos tratamentos com medicamentos já foram desenvolvidos e estes só podem ser utilizados com registro no MAPA com a orientação de um médico veterinário. Em caso de alteração de comportamento dos animais, deve-se ajustar a temperatura na zona de conforto térmico dependendo de cada espécie, diminuir o arraçoamento assim como o manuseio dos animais (PORTO-FORESTI, CASTILHO-ALMEIDA *et al.*, 2010).

A globalização da tilapiacultura promoveu a disseminação de agentes patogênicos, sendo hoje diagnosticadas no Brasil doenças que há pouco tempo não representavam entraves à produção de tilápias. Como para os demais peixes, as doenças que acometem as tilápias podem ser prevenidas com a manutenção de um ambiente dentro dos parâmetros de qualidade exigidos para a espécie e a realização de boas práticas de manejo. O fato dos peixes compartilharem a mesma água, principalmente os que são criados em sistemas, onde a água recircula, possibilita que patógenos possam ser facilmente introduzidos através da chegada de novos peixes, que podem apresentar estado de saúde indefinido, atingindo assim todos os demais animais. Por este motivo, é de extrema importância o período de quarentena. Neste período, animais recém-adquiridos permanecem em observação antes de serem introduzidos ao sistema.

Alterações em fatores ambientais, nutricionais, genéticos e sanitários podem causar alterações no ambiente de

cultivo que tornam as tilápias menos resistentes a certos patógenos comumente encontrados na água, porém, sem determinar doença nos peixes (PAVANELLI, EIRAS *et al.*, 2002; KUBITZA 2008; ROBERTS 2012). Portanto, o método profilático é o mais indicado, a fim de se evitar a ocorrência de surtos no ambiente de cultivo, devendo-se: manter a qualidade da água, observando variáveis como temperatura, oxigênio dissolvido, pH e teor de amônia; evitar o acúmulo de matéria orgânica; oferecer dieta na qualidade e quantidade adequadas às exigências nutricionais da fase de desenvolvimento; evitar manuseio grosseiro, prevenindo a perda de escamas e o aparecimento de lesões; minimizar estressores físicos e fisiológicos (transporte, biometria, etc.); utilizar a densidade de estocagem condizente; realizar quarentena antes da introdução de animais no plantel e adquiri-los de fornecedores idôneos (i.e., portadores de licença ambiental, de acordo com a Resolução CONAMA vigente). Separar unidades de produção (berçário, crescimento, etc.); realizar inspeção sanitária de rotina por pessoal técnico especializado (inspeção externa e interna e exames laboratoriais sob a responsabilidade de um médico veterinário); atentar para alterações comportamentais; retirar peixes mortos ou moribundos dos tanques, pois podem servir como reservatório de agentes infecciosos; dar o correto descarte às carcaças; desinfetar o material de uso rotineiro (redes, puçás, etc.); restringir o uso de antibióticos apenas à ocorrência de surtos, para evitar o desenvolvimento de resistência; controlar infestações por parasitas, que podem ser vetores de doenças; e controlar a população de outros animais nas proximidades dos tanques, uma vez que podem servir como vetores de doenças ou hospedeiros intermediários de parasitas (PAVANELLI, EIRAS *et al.*, 2002; KUBITZA 2008; FIGUEIREDO, CASTRO *et al.*, 2009; PÁDUA, FILHO *et al.*, 2012; ROBERTS, 2012; KUBITZA, CAMPOS *et al.*, 2013).

5.5. As principais doenças que acometem as Tilápias e os Zebrafish são:

Septicemia móvel por *Aeromonas* (SMA): É a doença bacteriana mais comum em peixes de água doce e pode ser causada por diversas espécies, sendo *A. hydrophilla*, *A. caviae* e *A. sobria* as mais patogênicas. Em tilápias, ocorre com maior frequência em temperaturas baixas ou amenas devido à resposta imune diminuída, mas a elevação da temperatura acima de 30°C também predispõe à ocorrência de surtos. A enfermidade provoca septicemia, podendo também ocorrer na forma de doença ulcerativa. Os sinais clínicos mais frequentes são anorexia, anemia (palidez das brânquias e mucosas), letargia, perda de equilíbrio, queda de escamas, úlceras disseminadas pelo corpo, erosão e hemorragia nas nadadeiras, ascite e exoftalmia (KUBITZA 2000b; PAVANELLI, EIRAS *et al.*, 2002; COSTA 2003; FIGUEIREDO, CASTRO *et al.*, 2008; ROBERTS 2012). Em zebrafish, os principais sinais clínicos são eritema

na base das nadadeiras ventrais e na nadadeira dorsal, associadas a infecções bacterianas da bexiga natatória. No entanto, septicemias Gram-negativas também podem produzir esses sinais clínicos e o diagnóstico final só pode ser determinado a partir do exame histopatológico da bexiga natatória (KENT, SPITSBERGEN *et al.*, 2015). Marcadores genéticos específicos também podem ser amplificados por PCR, podendo, por vezes, ser detectados na água (SINGH, CHAUDHARY *et al.*, 2013).

Vibriose: Causada por bactérias do gênero *Vibrio*, em especial *V. anguillarum*. Os sinais clínicos são semelhantes aos da SMA, por isso, se faz necessário o diagnóstico diferencial por meio de isolamento em amostras de órgãos ou sangue e técnicas bioquímicas e moleculares (KUBITZA 2000b; FIGUEIREDO, CASTRO *et al.*, 2008).

Columnariose (Deterioração das nadadeiras; Deterioração das brânquias): Doença bacteriana causada por *Flavobacterium columnare*. Os sinais clínicos incluem nadadeiras e brânquias irregulares ou corroídas, lesões esbranquiçadas ou cinzas no corpo e boca e lesões profundas na cabeça, podendo haver exposição da musculatura e ossos do crânio (KUBITZA 2000B; FIGUEIREDO 2007; ROBERTS 2012). As bactérias podem ser cultivadas, a partir de homogenatos do tecido afetado, em meio de cultura para *Cytophaga* (KENT, SPITSBERGEN *et al.*, 2015).

Edwardsiellose: Doença bacteriana causada pelas espécies *Edwardsiella tarda* e *Edwardsiella ictaluri*, que possuem caráter zoonótico. Ocorrem lesões cutâneas na cabeça, musculatura e cauda, podendo haver exposição da musculatura com presença de abscessos com tecido necrótico, bolhas gasosas e mau odor (BARAÚNA 2008; ROBERTS 2012). Como manifestação típica das septicemias Gram-negativas em peixes, causa alta mortalidade e eritema difuso nos animais sobreviventes. Em zebrafish, o diagnóstico pode ser obtido através de secções coradas com hematoxilina e eosina, revelando alterações necróticas no prosencéfalo, nervos e narinas (KENT, SPITSBERGEN *et al.*, 2015). O diagnóstico confirmatório pode ser obtido por cultura em ágar sangue ou ágar infusão de cérebro e coração (BHI) e identificação bioquímica da bactéria. A amplificação de uma sequência específica de rDNA (AF310622) pode auxiliar no diagnóstico molecular (KENT, SPITSBERGEN *et al.*, 2015).

Estreptococose (Doença da natação espiralada): Doença bacteriana causada por *Streptococcus iniae*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. ictaluri* e *Enterococcus* sp que provoca alta mortalidade. Os peixes apresentam natação em forma de espiral (rodopios), perda de equilíbrio, letargia, hiperpigmentação do corpo, aspecto corporal curvado em forma de 'S', exoftalmia, opacidade e hemorragia ocular, ascite e hemorragia opercular difusa. Pode causar septicemia, sendo o cérebro o principal órgão afetado determinando encefalite (KUBITZA 2000b; FIGUEIREDO, Mian *et al.*, 2007; MIAN, GODOY *et al.*, 2009).

Microesporidiose neural: Doença fúngica causada por parasitos intracelulares (*Pseudoloma neurophilia*) de ciclo de vida complexo, transmitido por canibalismo ou por transmissão vertical. Associada à emaciação severa e curvatura espinhal, mas esses sinais não são específicos para a doença. O sítio primário da infecção é o sistema nervoso central e raízes nervosas; os esporos podem ser visualizados em cortes histológicos de rotina, mas sua detecção é facilitada por coloração de Gram (KENT, SPITSBERGEN *et al.*, 2015). O parasito pode se alojar em estruturas importantes no controle do comportamento defensivo, sendo altamente relevante para pesquisadores que estudam variáveis comportamentais em zebrafish (SPAGNOLI, XUE *et al.*, 2015). Testes moleculares para *P. neurophilia* por PCR são altamente específicos e sensíveis (KENT, SPITSBERGEN *et al.*, 2015). Em sistemas de recirculação, a utilização de esterilizadores ultravioleta (30.000-50.000 $\mu\text{Wsec/cm}^2$) é necessária para eliminar o parasito (KENT, SPITSBERGEN *et al.*, 2015).

Granuloma visceral das tilápias: Doença bacteriana causada por *Francisella* sp. Os sinais clínicos não específicos incluem anorexia, letargia, natação errática e exoftalmia. As brânquias apresentam granulomas brancos, sendo o mesmo aspecto visto internamente no baço, rins, gônadas e coração (KUBITZA 2008; COLQUHOUN & DUODU 2011).

Saprolegiose: Infecção causada por fungos da família Saprolegniaceae, com destaque para os gêneros *Saprolegnia*, *Achlya* e *Dictyuchus*. A espécie *S. parasitica* é um dos fungos parasitos mais frequentes em peixes. Áreas despigmentadas, necrosadas e cobertas por material, que lembram tufo de algodão ao longo do corpo, são os sinais mais específicos da doença, além de lesões musculares, infecção branquial que pode levar à asfixia, letargia. Casos crônicos, desencadeados por estresse ambiental, não apresentam gravidade em si, mas sim por infecções bacterianas secundárias que podem se desenvolver (KUBITZA 2000b).

Doença epiteliocística: Cistos na pele e no epitélio branquial causados por organismos dos grupos *Rickettsia* e *Chlamydia*. Pode ocorrer de forma assintomática, sendo o número de cistos insuficiente para determinar a patologia (LIMA, MACHADO *et al.*, 2001).

Ictiofitiríase (Doença dos pontos brancos): Doença causada pelo protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*. Pontos brancos visíveis a olho nu aparecem nas brânquias, nadadeiras e pele, juntamente com excessiva produção de muco. As lesões podem favorecer o estabelecimento de infecção bacteriana ou fúngica secundária e, se ocorrerem de forma severa nas brânquias, podem dificultar a ventilação (KUBITZA 2000b).

Outros protozoários ectoparasitas: Pequenas quantidades são geralmente encontradas em tilápias

aparentemente saudáveis, determinando grandes infestações quando há variação brusca nas condições de cultivo que determinam desequilíbrio na relação peixe-parasito-ambiente (manejo excessivo, desbalanço nutricional, alta densidade de estocagem, alta carga orgânica, etc). Ocorrem na superfície do corpo, nadadeiras, cavidade bucal, olhos, tecido subcutâneo e brânquias. Os peixes apresentam prurido, aumento na produção de muco, letargia e boquejamento na superfície d'água devido à ventilação dificultada por grande infestação no epitélio branquial. **Exemplos:** *Trichodina compacta*, *Trichodina magna*, *Piscinoodinium pillulare*, *Epistylis sp.*, *Cichlidogyrus halli*, *Cichlidogyrus thurstonae*, *Cichlidogyrus sp.*, *Scutogyrus longicornis*, *Chilodonella sp.*, *Piscinoodinium sp.*, *Ichthyobodo* e *Amyloodinium sp.* (KUBITZA 2000b; ZAGO, FRANCESCHINI *et al.*, 2014).

Monogeneas: *Dactylogyrus sp.* e *Gyrodactylus sp.* apresentam o mesmo quadro de protozoários ectoparasitas.

Crustáceos parasitas: Os microcrustáceos *Lernaea cyprinacea*, *Ergasilus sp.* (“larvas das brânquias”), *Argulus sp.* (“piolho dos peixes”) e *Dolops sp.* já foram observados, parasitando tilápias. Infestações por estes organismos levam a depreciação do valor comercial e propensão a doenças fúngicas e bacterianas secundárias. Fixam-se à pele e brânquias, comprometendo a ventilação. O *Argulus* se alimenta dos fluídos dos peixes, causando anemia e redução no crescimento, além de servir como vetor de vírus e bactérias (KUBITZA 2000b).

5.6. Indicadores mais frequentes de estresse em Zebrafish são:

a) Mudança de coloração: A mudança ocorre em função de estresse fisiológico, subordinação social e muito comumente estímulos ambientais;

b) Anormalidades morfológicas: Os indicadores mais comuns de estresse são anormalidades nas brânquias, olhos e nadadeiras. Observa-se opacidade nas nadadeiras e a descoloração nas brânquias, alterações que ocorrem como consequência de múltiplos fatores e que podem indicar a presença de um problema crônico subjacente, associado à má qualidade da água;

c) Taxas de crescimento: Podem variar de acordo com a genética, parâmetros ambientais, densidade e nutrição. Uma taxa de crescimento reduzida, especialmente nos primeiros estágios de vida, pode ser um indicativo de estresse crônico, de que o sistema de criação não está adequado;

d) Desempenho reprodutivo: Muitos são os fatores que podem provocar alteração no desempenho

reprodutivo, e, dentre os principais, podemos citar: desequilíbrio nutricional, desequilíbrio na química da água, perturbações no ambiente e idade do animal e

e) Alterações comportamentais visíveis: O nado errático, letargia, imobilidade e a alteração no padrão do nado podem ser alguns sintomas que indiquem a existência de agentes estressores em peixe zebra (KALUEFF, GEBHARDT *et al.*, 2013).

6. Procedimentos em atividades de ensino ou pesquisa científica

Procedimentos que envolvam exames clínicos, cirurgia, anestesia e diagnóstico devem ser realizados por médicos veterinários, ou por pessoal treinado, na presença de um médico veterinário.

O manejo dos peixes deve ser realizado em ambiente calmo, pois os animais podem se estressar facilmente. Os animais devem ser retirados dos aquários com puçá e imediatamente colocados em água com anestésico. A anestesia é uma importante ferramenta na tentativa de manter a homeostasia dos peixes e minimizar as consequências deletérias de diversas operações, mas que pode promover efeitos indesejáveis *per se*, uma vez que são muitas as variáveis envolvidas (MARICCHIOLO & GENOVESE 2011). Ver adiante os procedimentos para a anestesia.

É importante que todo o manejo dos animais seja realizado utilizando-se um pano ou toalha molhada para que a região das brânquias e opérculo seja mantida úmida. Deve-se evitar qualquer contato das mãos com o corpo dos animais, evitando assim a retirada de muco e/ou escamas, o que pode ocasionar lesões. Após imersão dos animais no anestésico, as seguintes características comportamentais devem ser observadas:

- a)** Movimentos operculares sem ritmo;
- b)** O equilíbrio começa a ficar prejudicado e o animal apresenta dificuldades para manter o equilíbrio, mesmo parado;
- c)** Ocorre perda total do equilíbrio e os animais não conseguem permanecer na posição vertical. Em alguns casos, podem até mesmo ficar com a região ventral voltada para cima; e
- d)** Incapacidade de reagir a qualquer estímulo. Nesta etapa, o animal pode ser capturado com o puçá para os procedimentos experimentais. Para reverter os efeitos da anestesia, deve-se colocar o animal em água sem a adição de nenhum produto químico, bem oxigenada, e se possível, colocá-lo em água corrente. Em poucos minutos, o animal retorna ao seu comportamento inicial.

6.4. Administração de substâncias

A forma menos invasiva de se administrar substâncias a peixes é em banhos de imersão, sendo esta a via de eleição, principalmente quando se trata de lotes de animais. A substância é dissolvida na água (na concentração adequada ao volume da mesma) e absorvida através das brânquias (ou outros órgãos respiratórios) e/ou da pele. O método dispensa contenção física, poupando os animais de manipulações que podem ser estressantes e evitando lesões no tegumento, as quais podem tornar-se porta de entrada para agentes infecciosos. Todos os parâmetros físico-químicos da água devem ser controlados, uma vez que podem influenciar a farmacodinâmica de substâncias dissolvidas na mesma. Ao se observar sinais de toxicidade, deve-se transferir prontamente os peixes para recipientes contendo água pura e devidamente aerada. Os antiparasitários são exemplos de fármacos geralmente administrados via banho de imersão (CARPENTER, 2005; SUTILI, GRESSLER *et al.*, 2013). No caso de administração de anestésicos, no entanto, peixes grandes e/ou com respiração aérea obrigatória requerem o uso de aspersão do fármaco diretamente nas brânquias. Este procedimento garante que o anestésico chegue à corrente sanguínea nestes espécimes, como por exemplo o pirarucu, que apresentam baixa frequência de batimento opercular e que não sobreviveriam a banhos de imersão (HONCZARYK & INOUE 2009).

Em se tratando de terapia parenteral, as vias subcutânea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal e intracelomática podem ser utilizadas. A musculatura dorsal, ventrolateralmente à nadadeira dorsal, é o local de eleição para injeções intramusculares, que podem ser usadas para aplicação de antibióticos, por exemplo. Quando se optar por administração intracelomática, deve-se evitar a inoculação em órgãos internos (YANONG 2006). Algumas substâncias, como os aditivos, podem ser incorporadas à dieta a ser oferecida aos peixes, sendo absorvidas no trato gastrointestinal (SACCOL, UCZAY *et al.*, 2013). Na aplicação de hormônios exógenos para estimular a liberação de gametas, estes normalmente são aplicados na base da nadadeira peitoral ou dorsal.

Injeções intraperitoneais são procedimentos muito utilizados em experimentação animal pois a cavidade peritoneal oferece grande superfície de absorção a partir da qual as substâncias entram rapidamente na circulação (VALLE *et al* 1991).

6.5. Colheita de tecidos, fluidos, secreções, excreções e ectoparasitos.

Biópsias externas (pele, escamas, nadadeiras e brânquias) podem auxiliar no diagnóstico de enfermidades bacterianas, virais, fúngicas e parasitárias e ainda identificação de nódulos tumorais. O peixe pode ser contido manualmente ou ainda ser submetido à anestesia. No entanto, o uso desta pode causar grande perda de ectoparasitas ou deixá-los imóveis, o que dificulta a visualização (EIRAS, TAKEMOTO *et al.*, 2000; CALLAHAN & NOGA 2002).

A coleta de amostras é feita em áreas com aparência anormal, como locais descolorados, úlceras, erosões e massas, eliminando-se primeiramente o muco. Lamínulas são utilizadas para raspagem da epiderme, enquanto tesouras ou lâminas de bisturi são empregadas na obtenção de amostras de nadadeiras e brânquias. No caso das brânquias, o arco branquial não deve ser cortado. Coleta-se apenas um fragmento pequeno do filamento. Em peixes maiores, o raspado de brânquias também pode ser realizado. As amostras devem ser colocadas em uma lâmina com uma gota de água (doce ou salgada, dependendo da classe ictícola em questão) e cobertas com uma lamínula para subsequente avaliação (YANONG 2006). Os instrumentos cirúrgicos devem ser esterilizados.

Material fecal pode ser coletado para visualização de parasitas no exame direto em microscópio. A coleta é feita facilmente pressionando-se regiões próximas à abertura anal. Por isso, deve-se atentar para a contaminação de outros tipos de amostras, como raspados de epiderme, pois a pressão da lâmina pode induzir a eliminação tanto de fezes quanto de esperma nos machos. As fezes também podem ser obtidas via sonda cloacal.

Quanto à coleta de sêmen, deve-se eliminar a urina e as fezes antes da extração do mesmo; se isto não for possível, descarta-se a amostra. Se o macho estiver pronto para a reprodução, a liberação de sêmen ocorrerá quando a região abdominal for pressionada delicadamente da frente para trás até as proximidades do poro urogenital. O sêmen é então utilizado para avaliar as condições de saúde espermática, como motilidade, viabilidade e concentração de espermatozóides, podendo ser usado para criopreservação (EIRAS, TAKEMOTO *et al.*, 2000; YANONG 2006).

Amostras de tecido muscular também são úteis no diagnóstico de formas parasitárias (por ex., cistos). Preparados úmidos de órgãos internos obtidos durante a necropsia são igualmente utilizados para avaliação microscópica, como no caso de infestações por parasitas protozoários no aparelho gastrointestinal (EIRAS, TAKEMOTO *et al.*, 2000).

No caso de suspeita de enfermidade bacteriana em uma grande população de peixes, recomenda-se a eutanásia de exemplares moribundos para amostragem microbiológica, usando técnicas estéreis apropriadas. Podem ser

realizadas culturas de encéfalo, rins, fígado e baço, em se tratando se suspeita de infecção sistêmica. A região a ser amostrada deve ser externamente desinfetada com álcool, o qual deve secar antes da realização da incisão com uma lâmina de bisturi. Para a coleta, pode-se utilizar um *swab* estéril ou ainda inserir uma tesoura esterilizada para obtenção de um fragmento do tecido. As culturas de sangue também são úteis no diagnóstico de enfermidade bacteriana sistêmica, com a vantagem de que a amostra é coletada a partir do animal vivo. A agulha deve ser inserida em local previamente limpo com gaze estéril e solução salina (YANONG 2006).

A coleta de sangue em peixes é extensamente realizada para a avaliação de parâmetros hematológicos, bioquímicos e morfológicos e pesquisa de hemoparasitas. O acesso mais explorado são os vasos da região caudal, localizados ventrolateralmente à medula espinhal. Para tal procedimento, o peixe pode ser apenas contido mecanicamente (no grupo controle em estudos para verificar o efeito de anestésicos) ou ainda estar sob efeito de um sedativo ou anestésico. Porém, apesar de serem utilizados para minimizar o estresse, tais fármacos podem promover alterações nos índices a serem avaliados (VELISEK, WLASOW *et al.*, 2007; ZAHL, KIESSLING *et al.*, 2010; GHOLIPOURKANANI & AHADIZADEH, 2013; GOMULKA, WLASOW *et al.*, 2014; GRESSLER, SUTILI *et al.*, 2015). A punção intracardiaca é menos utilizada, sendo a anestesia indispensável neste caso. Anticoagulantes (por ex., heparina, EDTA) são utilizados em quantidade mínima apenas para umedecer internamente a agulha e a seringa (RANZANI-PAIVA, DE PÁUDA *et al.*, 2013). A padronização hematológica deve levar em conta os parâmetros ambientais

6.6. Estudos embrionários e larvais

Os ovos e embriões devem ser mantidos em incubadoras, preferencialmente cônicas, com fluxo constante de água. Nestas condições, a primeira clivagem do embrião do lambari ocorre entre 20 e 30 minutos a partir da fertilização. O período de incubação médio dos embriões até a eclosão das larvas é de cerca de 11 horas. Não são utilizados rotineiramente tratamentos com medicamentos na incubação de ovos e larvas de lambari.

6.7. Modificação de ingestão de alimento

Pode ser feita através de alteração na composição das rações a serem oferecidas. Evitar, sempre que possível, a intubação esofágica.

6.8. Cirurgia experimental

Estudos biológicos em peixes têm utilizado técnicas cirúrgicas minimamente invasivas como a intubação esofágica, a canulação da aorta dorsal e o cateterismo urinário, a fim de reduzir o estresse relacionado à manipulação e amostragem. No caso da intubação esofágica, o objetivo é a administração de compostos diretamente no trato gastrointestinal, minimizando inconvenientes como a regurgitação (GLOVER & HOGSTRAND 2002). A canulação da aorta dorsal permite o monitoramento de parâmetros sanguíneos e/ou plasmáticos através de coletas repetidas (GINGERICH & DROTTAR 1989; BELANGER, SON *et al.*, 2001; LO, CHANG *et al.*, 2003; KIESSLING, JOHANSSON *et al.*, 2009; DJORDJEVIC, KRISTENSEN *et al.*, 2012). Outras técnicas de canulação vascular incluem a veia e a artéria caudal, vasos dos arcos branqueais e a veia porta hepática (WELLS, TETENS *et al.*, 1984; MCLEAN & ASH, 1989; BELANGER, SON *et al.*, 2001; KARLSSON, ROSSELAND *et al.*, 2012). O cateterismo urinário tem sido realizado para estudar as funções renais e da bexiga urinária (WOOD & PATRICK 1994). Algumas destas técnicas são utilizadas em combinação durante protocolos experimentais, permitindo a avaliação da cinética de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de certos compostos (DENG, REFSTIE *et al.*, 2000; DENG, REFSTIE *et al.*, 2001; FAN, TEH *et al.*, 2002). Outras técnicas cirúrgicas já descritas em peixes são: remoção do órgão endócrino pancreático, possibilitando o estudo de Diabetes mellitus insulino-dependente (KELLEY 1993); celiotomia, para implantação de marcadores eletrônicos (COLLINS, SMITH *et al.*, 2000; COOKE & WAGNER 2004; ERICKSON & WEBB 2007; HARMS & LEWBART 2011); biópsias teciduais (GILLILAND 1994; GRANT 1996; MURRAY 2010); e cirurgias reprodutivas, com ou sem o uso de técnicas endoscópicas (HERNANDEZ-DIVERS, BAKAL *et al.*, 2004; PARAGAMIAN, BEAMESDERFER *et al.*, 2005; WEBB & ERICKSON, 2007; DIVERS, BOONE *et al.*, 2009; MATSCHE, BAKAL *et al.*, 2011). Em zebrafish, o uso do protocolo de lesão mecânica direta da região medial telencefálica demonstrou resultados eficientes para estudos relacionados à regeneração celular em sistema nervoso central sem causar mortalidade significativa dos animais (MÄRZ, SCHMIDT *et al.*, 2011; BAUMGART, BARBOSA *et al.*, 2012). Todos esses procedimentos devem ser feitos em peixes sob anestesia profunda.

7. Cuidados no manejo

7.1. Cuidados pré e pós-operatórios

Previamente a um procedimento cirúrgico, deve-se manter o peixe em ambiente tranquilo, com água aerada e em condições ideais para a espécie, a fim de reduzir o estresse fisiológico (MURRAY 2002). Se houver a presença de infecções parasitárias ou bacterianas, por exemplo, tratar dias antes de submeter o animal ao procedimento cirúrgico para que sua capacidade imunológica esteja aumentada (WILDGOOSE 2000).

O jejum de no mínimo 24 horas é necessário para evitar regurgitação e bloqueio dos ramos branquiais durante a anestesia profunda (LEWBART & HARMS 1999). A manipulação cuidadosa previne a perda excessiva da camada protetora de muco, evitando a ocorrência de infecções cutâneas secundárias que poderiam prolongar a recuperação do animal (MURRAY 2002).

Após a cirurgia, o peixe deve ser mantido em tanque de recuperação, até que os efeitos da anestesia não sejam mais visualizados. Em seguida, o animal pode ser devolvido ao ambiente de origem, devendo ser mantido em isolamento para facilitar a inspeção frequente e a manutenção dos parâmetros da água em condições ótimas para que não haja estresse adicional. A presença de esconderijos pode proporcionar mais tranquilidade àquelas espécies que normalmente os utilizam. O uso de antibióticos e analgésicos no período pós-operatório deve ser considerado (WILDGOOSE 2000; MURRAY 2002; HARMS, Kishimori *et al.*, 2005). No caso de peixes com respiração aérea obrigatória, a recuperação da anestesia é feita por meio de lavagem das brânquias por aspersão de água limpa, observando-se a tomada de ar voluntária (HONCZARYK & INOUE 2009).

7.2. Analgesia

Há evidência que os peixes são capazes de perceber estímulos nociceptivos e, em decorrência, apresentar não só respostas reflexas, como também alterações comportamentais e fisiológicas (SNEDDON, BRAITHWAITE *et al.*, 2003; DUNLOP & LAMING 2005; ASHLEY, SNEDDON *et al.*, 2007; ROQUES, ABBINK *et al.*, 2010; WOLKERS, BARBOSA JUNIOR *et al.*, 2013). Uma das razões subjetivas mais plausíveis para se administrar analgésicos a peixes

é a inapetência ou anorexia que geralmente resultam de procedimentos diagnósticos ou cirúrgicos (WEBER 2011). Além destes, outros sinais como ventilação rápida, posição anormal e imobilidade são indicativos de dor em peixes. No entanto, são poucos os estudos investigando os efeitos farmacocinéticos de analgésicos nestes animais, o que faz com que a administração empírica dos mesmos seja baseada no conhecimento obtido a partir de outras espécies animais (MURRAY 2002; SNEDDON 2012).

A maioria dos relatos do uso de analgésicos em peixes refere-se aos opióides butorfanol e morfina (LEWBART, SPODNICK *et al.*, 1998; SNEDDON, BRAITHWAITE *et al.*, 2003; HARMS & LEWBART 2000; HARMS, KISHIMORI *et al.*, 2005; NORDGREEN, GARNER *et al.*, 2009; WEBER, WEISSE *et al.*, 2009). O sistema nervoso central (SNC) de peixes apresenta receptores opióides μ e κ . Então, parece razoável que opiáceos sejam capazes de produzir analgesia nestes animais (CHERVOVA & LAPSHIN 2000; HARMS, KISHIMORI *et al.*, 2005; VELASCO, LAW *et al.*, 2009; WOLKERS, BARBOSA JUNIOR *et al.*, 2013).

As propriedades analgésicas de anti-inflamatórios não-esteróides (por ex., cetoprofeno e carprofeno) e anestésicos (por ex., lidocaína) também têm sido testadas para prevenir ou tratar a dor em peixes (WEBER, WEISSE *et al.*, 2009; ROBERTS 2010; SNEDDON 2012). Fármacos com ação analgésica podem ser administrados nestes animais pelas vias intramuscular, subcutânea e intracelomática (CARPENTER 2005).

7.3. Anestesia

A anestesia de peixes é mais comumente realizada pelo método de imersão, sendo o fármaco dissolvido na água na concentração adequada para a espécie e de acordo com o objetivo do procedimento. Após a absorção, o fármaco atinge a circulação sanguínea e chega ao SNC, promovendo seus efeitos no organismo. Fatores inerentes ao anestésico (por ex., grau de lipossolubilidade), à espécie (por ex., área de superfície branquial) e ao ambiente (por ex., temperatura) podem afetar a eficácia do procedimento anestésico (BURKA, HAMMELL *et al.*, 1997; KING, HOOPER *et al.*, 2005; SNEDDON, 2012; ZAHL, SAMUELSEN *et al.*, 2012). Os anestésicos recomendados pelo CFMV para peixes são: barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis, halotano, isoflurano, sevoflurano, MS-222 e hidrocloreto de benzocaína.

Os anestésicos também podem ser administrados em peixes pelas vias intravenosa, intracelômica, intramuscular e oral e por aspensão branquial. No entanto, a necessidade de contenção física, a possibilidade de dano visceral e

a inconsistência na taxa de absorção e no tempo de indução tornam estas opções bem menos práticas e seguras que o banho de imersão (FLEMING, HEARD *et al.*, 2003).

Em diversos países, os anestésicos sintéticos mais comumente utilizados para anestésiar peixes em banho de imersão são o MS-222, a benzocaína, o etomidato, o metomidato, o fenoxietanol e a quinaldina (ROSS & ROSS 2008). Dentre estes, apenas a benzocaína e o fenoxietanol estão disponíveis no mercado brasileiro a um custo acessível. Outra opção é o propofol, anestésico geral de uso típico intravenoso amplamente utilizado nas Medicinas Veterinária e Humana. Sua eficácia na anestesia de peixes em banho de imersão foi comprovada (GRESSLER, PARODI *et al.*, 2012a) e subsequentes estudos testaram seu uso em variadas espécies de peixe, empregando diferentes protocolos experimentais (GHOLIPOURKANANI & AHADIZADEH 2013; GOMULKA, WLASOW *et al.*, 2014; GRESSLER, SUTILI *et al.*, 2015).

Estudos avaliando protocolos anestésicos variados para objetivos distintos (ex: transporte, biometria, coleta de amostra biológica) em tilápias, principalmente *O. niloticus*, são frequentes. Quando testado em baixas concentrações diluídas na água, o propofol (0,15, 0,30 e 0,60 mL/L) promoveu anestesia eficiente e não causou efeitos genotóxicos e mutagênicos (VALENÇA-SILVA, BRAZ *et al.*, 2014). De forma semelhante, o eugenol promoveu anestesia mesmo nas mais baixas concentrações testadas (50, 75, 100, 150, 200 e 250 mg/L) (VIDAL, ALBINATI *et al.*, 2008) e a benzocaína produziu sedação adequada na concentração de 190 mg/L (OKAMURA, ARAÚJO *et al.*, 2010). Já a associação de tiletamina e zolazepam administrada via intramuscular (5, 10, 20, 30, 40 e 60 mg/kg) não induziu a níveis anestésicos (BORIN, CRIVELENTI *et al.*, 2010).

Dentre os anestésicos de origem natural empregados na anestesia por imersão de peixes, o óleo de cravo e o eugenol são os principais produtos com reconhecido potencial anestésico em vários países, inclusive no Brasil (JAVAHERY, NEKOUBIN *et al.*, 2012; SUTILI, GRESSLER *et al.*, 2014). Óleos essenciais extraídos de plantas brasileiras também têm sido explorados como anestésicos para banho de imersão para esta classe de animais, representando alternativas para futura comercialização no mercado local (CUNHA, BARROS *et al.*, 2010; AZAMBUJA, MATIAZZI *et al.*, 2011; BECKER, PARODI *et al.*, 2012; BENOVI, GRESSLER *et al.*, 2012; GRESSLER, RIFFEL *et al.*, 2012b; TONI, BECKER *et al.*, 2014). Além desses, ainda o mentol pode ser utilizado (SIMÕES & GOMES 2009).

A anestesia em peixes é um tema relativamente recente e o conhecimento sobre o uso ou não uso de determinados anestésicos provém do objetivo real do estudo, bem como da base empírica existente da literatura de outros modelos animais (CRESSEY 2014). Estudos atuais têm demonstrado que apesar do amplo uso do banho de imersão do

metanossulfonato de MS-222 como um anestésico eficiente para o peixe zebra, a espécie tende a evitar o contato com o composto em um modelo de estudo utilizando tanque de preferência (WONG, VON KEYSERLINGK *et al.*, 2014). Tais achados têm indicado a real necessidade de um estudo mais aprofundado sobre procedimentos de anestesia e bem-estar de peixes. Em contrapartida, foi demonstrado que, para peixes de pequeno porte (até aproximadamente 3 a 4 cm), como o peixe zebra, a diminuição gradativa da temperatura da água (28°C → 17°C → ≈ 10°C) apresenta resultados significativos para a anestesia prévia a procedimentos de curta duração (por exemplo, em protocolos que necessitem da realização de injeção intraperitoneal), bem como anterior à eutanásia sem causar lesão na pele dos peixes (KINKEL, EAMES *et al.*, 2010; COLLYMORE, TOLWANI *et al.*, 2014). Basicamente, tal procedimento pode ser empregado para peixes adultos e caracteriza-se por não apresentar riscos de alteração de parâmetros metabólicos significativos em comparação ao procedimento que utiliza agentes químicos anestésicos, podendo ser empregado de modo repetitivo para um mesmo animal. A recuperação dos peixes pode ocorrer rapidamente após a imersão em água dechlorada com níveis saturados de O₂ dissolvido (≈7,8 mg/L) a uma temperatura de 28°C.

Inicialmente, em peixes de respiração aquática, os anestésicos induzem um efeito sedativo. Em seguida, há perda de equilíbrio, mobilidade, consciência e, por fim, de ação reflexa (ROSS & ROSS 2008). Tais mudanças correspondem a estágios de indução à anestesia (Tabela 4), sendo o nível de depressão anestésica monitorado de acordo com o objetivo do procedimento.

Tabela 4 - Estágios de indução à anestesia de peixes de respiração aquática

(modificado de Schoettger e Julin, 1967).

ESTÁGIO	DESCRITOR	COMPORTAMENTO DO PEIXE
0	Normal	Nado ativo; reativo a estímulos externos; equilíbrio normal; tônus muscular normal
I.1	Sedação leve	Nado voluntário continua; leve perda de reatividade a estímulos visuais e táteis; frequência respiratória normal; equilíbrio normal; tônus muscular normal
I.2	Sedação profunda	Desaceleração e cessação do nado voluntário; movimentos não-coordenados; perda total de reatividade a estímulos visuais e táteis; leve diminuição na frequência respiratória; equilíbrio normal; tônus muscular levemente diminuído; ainda responde a mudanças de posição
II.1	Narcolese leve	Fase de excitação pode preceder um aumento na frequência respiratória; perda do tônus; ainda responde fracamente a mudanças de posição
II.2	Narcolese profunda Estágio de tolerância	Deixa de responder a mudanças de posição; diminuição na frequência respiratória para aproximadamente normal; perda total do equilíbrio; ausência de esforços para corrigir a postura; tônus muscular diminuído; alguma reatividade a estímulos táteis e vibracionais fortes Permite retirada de amostras externas, biópsia das guelras, e biópsia das nadadeiras
III.1	Anestesia leve	Perda total do tônus muscular; responde à pressão profunda; diminuição na frequência respiratória Permite procedimentos cirúrgicos menores
III.2	Anestesia cirúrgica	Perda completa de nocicepção e reatividade, relaxamento muscular completo; respiração lenta e bradicardia; perda total de resposta a estímulos Permite qualquer procedimento cirúrgico
IV	Colapso medular	Estágio irreversível; colapso medular leva à morte Permite eutanásia
<p>A recuperação pode ser classificada nos seguintes estágios:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Estágio I: Corpo imobilizado, mas movimentos operculares se iniciando. 2. Estágio II: Movimentos operculares regulares e movimentos corporais grosseiros se iniciando. 3. Estágio III: Equilíbrio recuperado, aparência similar à anterior à aplicação do anestésico. 		

No caso de cirurgias, por exemplo, a indução é feita até o estágio 4. A partir de então, é realizada a manutenção da anestesia durante o tempo necessário para executar a intervenção, utilizando uma concentração anestésica mais baixa do que aquela usada para induzir à anestesia. Ao final do procedimento, a exposição ao anestésico é interrompida, sendo o peixe transferido para recipiente contendo água pura para que ocorra a recuperação da anestesia. Os estágios observados durante a indução são gradualmente revertidos e o animal retoma natação e atividade normais.

7.4. Cirurgia

Um dos aspectos mais importantes no que se refere à cirurgia de peixes é a necessidade de conhecimento da anatomia normal da espécie. Este, aliado a um protocolo anestésico adequado, podem garantir o sucesso do procedimento, já que conceitos gerais de anestesia como hemostasia e manipulação delicada dos tecidos também se aplicam a estes animais (MURRAY 2002; WEBER, WEISSE *et al.*, 2009).

Neoplasias, distúrbios do globo ocular (por ex., catarata), biópsias de fígado, rins e baço, distúrbios da bexiga natatória, problemas reprodutivos e ingestão de corpo estranho constituem os procedimentos cirúrgicos mais comumente realizados em peixes (WOOSTER, HSU *et al.*, 1993; WILDGOOSE 2000).

A constatação de desordens internas requer diagnóstico via equipamentos de imagem ou laparotomia exploratória (HARMS, BAKAL *et al.*, 1995; LEWBART, SPODNICK *et al.*, 1998).

As cirurgias em peixes podem ser realizadas tanto com o animal dentro da água quanto fora dela. No primeiro caso, há risco de contaminação tecidual, o campo cirúrgico pode se tornar um tanto obscuro pela presença de sangue na água e as suturas não são de fácil realização. Por isso, a maioria dos procedimentos é feita fora da água. No entanto, o tempo de execução deve ser restrito e o equipamento adequado. A manipulação cuidadosa e a manutenção da umidade da pele evitam lesões e perda excessiva de muco (LEWBART & HARMS, 1999; BRATTELID & SMITH, 2000; MURRAY, 2002). O uso de equipamentos para monitorar os parâmetros vitais assegura maior segurança durante o transoperatório, uma vez que reflexos que indiquem o nível de depressão anestésica (principalmente os oculares) não são visualizados nestes animais. Peixes não possuem pálpebras e a alteração do tamanho pupilar é lenta (WILDGOOSE 2000). Para manipulação fora da água deve haver um sistema que promova um fluxo de água devidamente aerada através das brânquias e com uma concentração mais baixa de anestésico que a utilizada para anestesia rápida, a fim de evitar o colapso medular e conseqüente morte do peixe.

7.5. Eutanásia

A eutanásia é utilizada com o intuito de causar a morte rápida de animais com o mínimo de dor e sofrimento possíveis. A preparação para o procedimento deve considerar, em primeiro plano, o bem-estar do peixe, sendo este mantido dentro da sua zona de conforto (por ex., parâmetros físico-químicos da água, intensidade de luz e nível de

ruído). Devem ser seguidas as recomendações publicadas na Diretriz da Prática de Eutanásia do Concea.

7.6. Necropsia

Em estudos biomédicos com uso de peixes como modelo animal, técnicas necroscópicas devem ser realizadas em todos os exemplares, uma vez que podem auxiliar em investigações epidemiológicas e condutas terapêuticas. O ideal é realizar o exame logo após a morte dos peixes, já que estes autolisam mais rapidamente que outras espécies animais (MATUSHIMA 2006). Durante a necropsia, coleta-se material biológico para testes diagnósticos, os quais incluem exame histopatológico, microbiológico, toxicológico, parasitológico e citológico, a fim de determinar a *causa mortis* (MATUSHIMA 2006).

A necropsia de peixe inicia por uma inspeção macroscópica externa, a fim de avaliar o estado das escamas, da pele e das cavidades naturais e o aspecto geral do tegumento. Observa-se a presença de ectoparasitas e formações nodulares, por exemplo, sendo qualquer alteração amostrada para exames diagnósticos. Ectoparasitas podem ser fixados em álcool 70% para posterior identificação (MATUSHIMA 2006).

Uma vez concluída a avaliação macroscópica externa, a cavidade celomática é aberta através de uma incisão ao longo da linha média ventral.

Imagens fotográficas feitas ao longo da inspeção podem auxiliar na elaboração do laudo necroscópico, o qual deve incluir a *causa mortis*, a moléstia principal e a descrição das alterações anatomopatológicas observadas (MATUSHIMA 2006). As fotografias também servem para documentar achados de necropsia, como tumores viscerais e presença de conteúdo atípico em órgãos ocultos.

7.7. Descarte de carcaças

Como todo resíduo sólido, as carcaças de peixes são consideradas um risco à saúde pública e ao meio ambiente, sendo as secreções e os fluídos provenientes destes excelentes meios de cultura e de disseminação de patógenos e contaminantes. As carcaças de peixes, bem como os restos de tecidos de animais necropsiados, devem ser acondicionados em sacos plásticos específicos para descarte de material biológico devidamente selados e identificados de acordo com a simbologia adotada internacionalmente, isto é, Material Infeccioso (Risco Biológico). Após embalado,

o material pode ser mantido em câmaras frias (ou freezers a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) por um período de até 24 horas, devendo então ser recolhido por empresas especializadas e transferido ao seu destino final. Alguns destinos possíveis são aterros sanitários, autoclavação e incineração (CARDOSO 2002). Alternativamente, pode-se fazer uso de compostagem, que representa uma maneira econômica e ambientalmente correta de destino de carcaças, mas que requer adequações a critérios rígidos para sua utilização (GENOVA, CAMPUS *et al.*, 2014).

Com exceção de linhagens domesticadas muito bem domesticadas e caracterizadas, como é o caso do zebrafish e das tilápias-do-Nilo de laboratório, com procedência oficial registrada na publicação, para cada estudo, amostra(s) de exemplares-testemunho (“voucher”) deve(m) ser depositada(s) em coleção(ões) oficial(is) de museu(s) ou outr(a)s instituição(ões) de pesquisa com serviço de curadoria prevista no organograma (o que garante a preservação permanente da coleção). Para peixes, em geral a técnica de fixação após a eutanásia é a fixação em formalina (se o exemplar for de porte médio a grande, é aconselhável injetar a solução fixadora na musculatura e cavidade visceral); após 5-7 dias, o exemplar é lavado e preservado em álcool 70-75%. Esta providência é de grande importância, em primeiro lugar porque permite que a identificação seja checada por outros pesquisadores, um dos pressupostos do método científico, garantindo a confiabilidade desse aspecto do estudo. Além disso, em caso de alterações na sistemática do grupo a que pertence a espécie estudada, a existência de “vouchers” permite efetuar a correspondência no novo arranjo taxonômico. Por outro lado, não havendo espécimes testemunho, todo o estudo pode ser perdido pela impossibilidade de se fazer tal correspondência.

No caso de excedentes, se os exemplares estiverem muito mutilados ou se o experimento envolver o uso de substâncias tóxicas e/ou que interfiram ou impossibilitem a preservação em coleções taxonômicas, as carcaças devem ser descartadas, seguindo-se protocolos específicos. Os indivíduos, bem como restos de órgãos e tecidos, devem ser acondicionados em recipientes próprios para descarte de material biológico, devidamente selados e identificados. O material deve ser mantido resfriado até o recolhimento por empresas especializadas em destinação deste tipo de resíduo.

Finalmente, se a decisão for não eutanasiar os peixes após o estudo, estes, em hipótese alguma, devem ser devolvidos ao habitat natural, mesmo que se trate exatamente do mesmo local de sua coleta, o que seria o mais próximo de uma situação teoricamente ideal de soltura, em vista do risco de introdução de patógenos e parasitas adquiridos no laboratório. Esses exemplares vivos devem continuar a ser mantidos em cativeiro, podendo, dentro do princípio dos três Rs, ser utilizados em estudos sobre bem-estar em peixes ou mesmo para fins didáticos e paradidáticos.

8. Referências bibliográficas

- ADOLFI, M. C.; CARREIRA, A.C.; JESUS, L.W.; BOGERD, J.; FUNES, R.M.; SCHARTL, M.; SOGAYAR, M.C.; BORELLA, M.I. Molecular cloning and expression analysis of *dmrt1* and *sox9* during gonad development and male reproductive cycle in the lambari fish, *Astyanax altiparanae*. **Reprod. Biol. Endocrinol.**, 13: 2, 2015.
- ASHLEY, P. J.; SNEDDON, L.U.; McCROHAN, C.R. Nociception in fish: stimulus-response properties of receptors on the head of trout *Oncorhynchus mykiss*. **Brain Res.**, 1166: 47-54, 2007.
- AZAMBUJA, C. R. M.; MATIAZZI, J.; RIFFEL, A.P.; FINAMOR, I.A.; GARCIA, L.O.; HELDWEIN, C.G.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M.A.; LLESUY, S.F. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. **Aquaculture International**, 319: 156-161, 2011.
- BARAÚNA, L.C.R.I. **Utilização de megadoses de vitamina C na ração de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos à infecção experimental por *Edwardsiella tarda***. Mestrado, Universidade Federal da Bahia, 2008.
- BARRETO, R.E.; CARVALHO, G.G.; VOLPATO, G.L. The aggressive behavior of Nile tilapia introduced into novel environments with variation in enrichment. **Zoology**, 114(1): 53-57, 2011.
- BATISTA, L. **Papel do Enriquecimento Ambiental na cognição de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Monografia, Universidade Federal do Paraná, 2011.
- BAUMGART, E.V.; BARBOSA, J.S.; BALLY-CUIF, L.; GOTZ, M.; NINKOVIC, J. Stab wound injury of the zebrafish telencephalon: a model for comparative analysis of reactive gliosis. **Glia**, 60(3): 343-357, 2010.
- BECKER, A.G.; PARODI, T.V.; HELDWEIN, C.G.; ZEPPEFELD, C.C.; HEINZMANN, B.M. BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiol. Biochem.**, 38(3): 789-796, 2012.
- BELANGER, J.M.; SON, J.H.; LAUGERO, K.D.; MOBERG, G.P.; DOROSHOV, S.I.; LANKFORD, S.E.; CECH, J.J. Effects of short-term management stress e ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. **Aquaculture** 203: 165-176, 2001.
- BENOVI, S.C.; GRESSLER, L.T.; SILVA, L.L.; GARCIA, L.O.; OKAMOTO, M.H.; PEDRON, J.S.; SAMPAIO, L.A.; RODRIGUES, R.V.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B. Anesthesia and transport of Brazilian Flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 43(6): 896-900, 2012.
- BETTIM, F.L.; GALVAN, G.L.; CESTARI, M.M.; YAMAMOTO, C.I.; SILVA DE ASSIS, H.C. Biochemical responses in freshwater fish after exposure to water-soluble fraction of gasoline. **Chemosphere**, 144:1467-1474, 2016.
- BORIN, S.; CRIVELANTI, L.Z.; LIMA, C.A.P. Uso intramuscular da associação de tiletamina e zolazepam na anestesia de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Animal Brasileira**, 11: 429-435, 2010.
- BRAMBILA-SOUZA, G. **Biologia reprodutiva de fêmeas de *Astyanax fasciatus* com números de cromossomos diferentes vivendo em ambiente natural e no cativeiro**. Mestrado, Universidade de São Paulo, 2015.
- BRATTELID, T.; SMITH, A.J. Methods of positioning fish for surgery or other procedures out of water. **Lab. Anim.**, 34(4): 430- 433, 2000.
- BRYDGES, N.M.; BRAITHWAITE, V.A. Does environmental enrichment affect the behaviour of fish commonly used in laboratory work? **Applied Animal Behaviour Science**, 118: 137-143, 2009.
- BURKA, J.F.; HAMMELL, K.L.; HORSBERG, T.E.; JOHNSON, G.R.; RAINNIE, D.J.; SPEARE, D.J. Drugs in salmonid aquaculture - a review. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, 20(5): 333-349, 1997.
- CALLAHAN, H.A., NOGA, E.J. Tricaine dramatically reduces the ability to diagnose protozoan ectoparasite (*Ichthyobodo necator*) infections. **Journal of Fish Diseases**, 25: 433-437, 2002.
- CARDOSO, C.V.P. **Descarte de carcaças**. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, 2002.
- CARPENTER, J.W. **Exotic Animal Formulary**. 6th. ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders, 2022.
- CARVALHO, T.B.; MENDONÇA, F.Z.; COSTA-FERREIRA, R.S.; GONÇALVES-de-FREITAS, E. Exotic Animal Formulary. **Zoologia**, 30: 125-129, 2005.
- CHEHADE, C.; CASSEL, M.; BORELLA, M.I.; COSTA, F.G. Morphologic study of the liver of lambari (*Astyanax altiparanae*) with emphasis on the distribution of cytokeratin. **Fish Physiol. Biochem.**, 40(2): 571-576, 2014.
- CHERVOVA, L. S.; LAPSHIN, D.N. Opioid modulation of pain threshold in fish. **Dokl. Biol. Sci.**, 375: 590-591, 2000.

- COLLINS, M.; SMITH, T.; POST, W.; PASHUK, O. Habitat utilization and biological characteristics of adult Atlantic sturgeon in two South Carolina rivers. **Transactions of American Fisheries Society**, 129: 982-988, 2000.
- COLLYMORE, C.; TOLWANI, A.; LIEGGI, C.; RASMUSSEN, S. Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*). **J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.**, 53(2): 198-203, 2014.
- COLLYMORE, C.; TOLWANI, R.J.; RASMUSSEN, S. The Behavioral Effects of Single Housing and Environmental Enrichment on Adult Zebrafish (*Danio rerio*). **J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.**, 54(3): 280-285, 2015.
- COLQUHOUN, D.J.; DUODU, S. Francisella infections in farmed and wild aquatic organisms. **Vet. Res.**, 42: 47, 2011.
- COOKE, S.J.; WAGNER, G.N. Training, experience and opinions of researchers who use surgical techniques to implant telemetry devices into fish. **Fisheries**, 29: 10-18, 2004.
- CORREIA, T.G. **Influência do alumínio e do pH ácido sobre a fisiologia reprodutiva de peixes teleósteos continentais**. Mestrado, Universidade de São Paulo, 2008.
- COSTA, A.B. **Caracterização de bactérias do complexo Aeromonas isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica**. Mestrado, Universidade de São Paulo, 2003.
- COSTA, F.G.; ADOLFI, M.C.; GOMES, C.C.; JESUS, L.W.; BATLOUNI, S.R.; BORELLA, M.I. Testes of *Astyanax altiparanae*: the Sertoli cell functions in a semicyclic spermatogenesis. **Micron.**, 61: 20-27, 2014.
- CRESSEY, D. Fish-kill method questioned. **Nature**, 506(7489): 419-420, 2014.
- CUNHA, M. A.; BARROS, F.M.C.; GARCIA, L.O.; VEECK, A.P.L.; HEINZMANN, B.M.; LORO, V.L.; EMANUELLI, T.; BALDISSEROTTO, B. Essential oil of *Lippia alba*: a new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, 306: 403-406, 2010.
- DELICIO, H.C.; BARRETO, R.E. Time-place learning in food-restricted Nile tilapia. **Behav. Processes**, 77(1): 126-130, 2008.
- DELICIO, H.C.; BARRETO, R.E.; NORMANDES, E.B.; LUCHIARI, A.C.; MARCONDES, A.L. A place preference test in the fish Nile tilapia. **Journal of Experimental Animal Science**, 43: 141-148, 2006.
- DENG, D.F.; REFSTIE, S.; HEMRE, G.-I.; CROCKER, C.E.; CHEN, H.Y.; CECH, J.J.; HUNG, S.S.O. A new technique of feeding, repeated sampling of blood and continuous collection of urine in white sturgeon. **Fish Physiology and Biochemistry**, 22: 191-197, 2000.
- DENG, D.F.; REFSTIE, S.; HUNG, S.S.O. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon after oral administration of simple and complex carbohydrates. **Aquaculture**, 199: 107-117, 2001.
- DIVERS, S.; BOONE, S.; HOOVER, J.; BOYSEN, K.; KILLGORE, K.; MURRAY, C.; GEORGE, S.; CAMUS, A. Field endoscopy for identifying gender, reproductive stage and gonadal anomalies in free-ranging sturgeon (*Scaphirhynchus*) from the lower Mississippi River. **Journal of Applied Ichthyology**, 25: 68-74, 2009.
- DJORDJEVIC, B.; KRISTENSEN, T.; OVERLI, O.; ROSSELAND, B.O.; KIESSLING, A. Effect of nutritional status and sampling intensity on recovery after dorsal aorta cannulation in free-swimming Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Fish Physiol. Biochem.**, 38(1): 259-272, 2012.
- DUNLOP, R.; LAMING, P. Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Pain**, 6(9): 561-568, 2005.
- EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. **Métodos de Estudo e Técnicas Laboratoriais em Parasitologia de Peixes**. Maringá, PR: Eduem, 2000.
- ERICKSON, D.; WEBB, M. Spawning periodicity, spawning migration, and size at maturity of green sturgeon, *Acipenser medirostris*, in the Rogue River, Oregon. **Environmental Biology of Fishes**, 79: 255-268, 2007.
- FAN, T.W.; TEH, S.J.; HINTON, D.E.; HIGASHI, R.M. Selenium biotransformations into proteinaceous forms by foodweb organisms of selenium-laden drainage waters in California. **Aquat. Toxicol.**, 57(1-2): 65-84, 2002.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Cultured aquatic species information Programme - Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758)**. Fisheries and Aquaculture Department. Acessado em: 05 de novembro de 2015. Disponível em: https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/oreochromis_niloticus/en
- FIGUEIREDO, H.C.P. Columnarose: Doença da piscicultura moderna. **Panorama da aquicultura**, 17: 32-37, 2007.
- FIGUEIREDO, H.C.P.; CASTRO, G.A.C.; LEAL, C.A.G.; et al. Quem tem medo de Aeromonas? **Panorama da Aquicultura** 17: 26-31, 2008.
- FIGUEIREDO, H.C.P.; MIAN, G.F.; GODOY, D.T. Estreptococose em tilápia do Nilo - parte 1. **Panorama da Aquicultura**, 19: 36-38, 2007.
- FISHBASE. **Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) Nile Tilapia**. Acessado em: 5 de novembro de 2015. Disponível em:

<https://www.fishbase.se/search.php>.

- FLEMING, G. J.; HEARD, D.J.; FRANCIS FLOYD, R.; RIGGS, A. Evaluation of propofol and medetomidine-ketamine for short-term immobilization of Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). **J. Zoo Wildl. Med.**, 34(2): 153-158, 2003.
- GALHARDO, L.; ALMEIDA, O.; OLIVEIRA, R.F. Preference for the presence of substrate in male cichlid fish: Effects of social dominance and context. **Applied Animal Behaviour Science**, 120: 224-230, 2009.
- GALHARDO, L.; CORREIA, J.; OLIVEIRA, R.F. The effect of substrate availability on behavioral and physiological indicators of welfare in the African cichlid (*Oreochromis mossambicus*). **Animal Welfare**, 17(239-254), 2008.
- GARUTTI, V.; BRITSKI, H.A. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto do rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero da bacia. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia PUCRS, Série Zoologia** 13: 65-88, 2000.
- GENOVA, G.J.; CAMPUS, W.C.; FERRO, D.A.M. MARTINS, C.C. **Compostagem de peixe tipo tilápia**. Anais do Fórum de Iniciação Científica da FUNEC, 5(5), 2014.
- GHOLIPOURKANANI, H.; AHADIZADEH, S. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. **Springerplus**, 2(1): 76, 2013.
- GILLILAND, E.R. Comparison of absorbable sutures used in Largemouth Bass liver biopsy surgery. **Progressive Fish-Culturist**, 56: 60-61, 1994.
- GINGERICH, W.H.; DROTTAR, K.R. Plasma catecholamine concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest and after anesthesia and surgery. **General and Comparative Endocrinology**, 73: 390-397, 1989.
- GLOVER, C. N.; HOGSTRAND, C. *In vivo* characterisation of intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, 205(Pt 1): 141-150, 2002.
- GOMES, C.C. **Expressão das diferentes formas de GnRH no encéfalo de lambari (*Astyanax altiparanae*)**. Doctorate, Universidade de São Paulo, 2015.
- GOMES, C.C.; COSTA, F.G.; BORELLA, M.I. Distribution of GnRH in the brain of the freshwater teleost *Astyanax altiparanae*. **Micron**. 52-53: 33-38, 2013.
- GOMULKA, P.; WLASOW, T.; SZCZEPKOWSKI, M.; MISIEWICZ, L.; ZIOMEK, E. The effect of propofol anaesthesia on haematological and biochemical blood profile of European whitefish. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 14: 331-337, 2014.
- GONÇALVES, L.U.; PARISI, G.; BONELLI, A.; SUSSEL, F.R.; VIEGAS, E.M.M. The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. **Aquaculture Research**, 45(2): 195-203, 2014.
- GRANT, G.C. RNA-DNA ratios in white muscle tissue biopsies reflect recent growth rates of adult Brown Trout. **Journal of Fish Biology**, 48: 1223-1230, 1996.
- GRESSLER, L.T.; PARODI, T.V.; RIFFEL, A.P.; da COSTA, S.T.; BALDISSEROTTO, B. Immersion anaesthesia with tricaine methanesulphonate or propofol on different sizes and strains of silver catfish *Rhamdia quelen*. **J. Fish Biol.**, 81(4): 1436-1445, 2012a.
- GRESSLER, L.T.; RIFFEL, A.P.K.; PARODI, T.V.; SACCOL, E.E.H.; KOAKOSKI, G.; da COSTA, S.T.; PAVANATO, M.A.; HEINZMANN, B.M.; CARON, B.O.; SCHMIDT, D.; LLESUY, S.F.; BARCELLOS, L.J.; BALDISSEROTTO, B. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, 45: 1061-1072, 2012b.
- GRESSLER, L. T.; SUTILI, F.J.; DA COSTA, S.T.; PARODI, T.V.; PÊS, T. da S.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L.J.; BALDISSEROTTO, B. Hematological, morphological, biochemical and hydromineral responses in *Rhamdia quelen* sedated with propofol. **Fish Physiol. Biochem.**, 41(2): 463-472, 2015.
- HARMS, C. A.; BAKAL, R.S.; KHOO, L.H.; SPAULDING, K.A.; LEWBART, G.A. Microsurgical excision of an abdominal mass in a gourami. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 207(9): 1215-1217, 1995.
- HARMS, C.A.; KISHIMORI, J.; BOYLAN, S.; LEWBART, G.A.; SWANSON, C. Behavioral and clinical pathology changes in koi carp (*Cyprinus carpio*) subjected to anesthesia and surgery with and without peri-operative analgesics. **Comparative Medicine**, 55(3): 221-226, 2005.
- HARMS, C.A.; LEWBART, G.A. Surgery in fish. **Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.**, 3(3): 759-774, 2000.
- HARMS, C.A.; LEWBART, G.A. The veterinarian's role in surgical implantation of electronic tags in fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 21: 25-33, 2011.

- HERNANDEZ-DIVERS, S. T.; BAKAL, R.S.; HICKSON, B.H.; RAWLINGS, C.A.; WILSON, H.G.; RADLINSKY, M. HERNANDEZ-DIVERS, S.M.; DOVER, S.R. Endoscopic sex determination and gonadal manipulation in Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 35(4): 459-470, 2004.
- HONCZARYK, A.; INOUE, L.A.K.A. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. **Ciência Rural**, 39: 577-579, 2009.
- IMRE, I.; GRANT, J.W.A. KEELEY, E.R. The effect of visual isolation on territory size and population density of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 59: 303-309, 2002.
- JAVAHERY, S.; NEKOUBIN, H.; MORADLU, A.H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review). **Fish Physiol. Biochem.**, 38(6): 1545-1552, 2012.
- JESUS, L.W.O.; BRANCO, G.S.; CAMARGO, M.P.; MELO, G.C.; BOGERD, J.; BORELLA, M.I. **Expression of gpha, fshb and lhb gonadotropin subunits during the annual reproductive cycle of female *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characiformes) in captivity**. 27th Conference of European Comparative Endocrinologists, Rennes, France, 2014.
- KALUEFF, A.V., GEBHARDT, M.; STEWART, A.M.; CACHAT, J.M.; BRIMMER, M.; CHAWLA, J.S.; CRADDOCK, C.; KYZAR, E.J.; ROTH, A.; LANDSMAN, S.; GAIKWAD, S.; ROBINSON, K.; BAATRUP, E.; TIERNEY, K.; SHAMCHUK, A.; NORTON, W.; MILLER, N.; NICOLSON, T.; BRAUBACH, O.; GILMAN, C.P.; PITTMAN, J.; ROSEMBERG, D.B.; GERLAI, R.; ECHEVARRIA, D.; LAMB, E.; NEUHAUSS, S.C.; WENG, W.; BALLY-CUIF, L.; SCHNEIDER, H.; ZEBRAFISH NEUROSCIENCE RESEARCH CONSORTIUM. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond. **Zebrafish**, 10(1): 70-86, 2013.
- KARLSSON, A.; ROSSELAND, B.O.; MASSABUAU, J.-C.; KIESSLING, A.L. (2012). Pre-anaesthetic metomidate sedation delays the stress response after caudal artery cannulation in Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Fish Physiology and Biochemistry** 38: 401-411, 2012.
- KELLEY, K.M. Experimental diabetes mellitus in a teleost fish. I. Effect of complete isletectomy and subsequent hormonal treatment on metabolism in the goby, *Gillichthys mirabilis*. **Endocrinology** 132(6): 2689-2695, 1993.
- KENT, M. K.; SPITSBERGEN, J.M.; MATTHEWS, J.M.; FOURNIE, J.W.; MURRAY, K.N.; WESTERFIELD, M. **Diseases of zebrafish in research facility**. Eugene, OR: ZIRC, 2015
- KIESSLING, A.; JOHANSSON, D.; ZAHL, I.H.; SAMUELSEN, O.B. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. **Aquaculture**, 286: 301-308, 2009.
- KING, W. V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D. The use of clove oil, metomidate, tricaine, methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). **Aquaculture Research**, 36: 1442-1449, 2005.
- KINKEL, M. D.; EAMES, S.C.; PHILIPSON, L.H.; PRINCE, V.E. Intraperitoneal injection into adult zebrafish. **J. Vis. Exp.**, (42), 2010.
- KINKELIN, P.; MICHEL, C.H.; GHITTINO, P. **Tratado de las enfermedades de los peces**. España: Editora Acribia, 1991.
- KLONTZ, G. W. **Animal Models for Biomedical Research, vol. 4 Symposium**. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1971.
- KUBITZA, F. Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. Parte I. **Panorama da Aquicultura**, 10: 44-53, 2000a.
- KUBITZA, F. Principais parasitoses e doenças em tilápias. **Panorama da Aquicultura**, 10: 39-53, 2000b.
- KUBITZA, F. Tilápias na mira dos patógenos. **Panorama da Aquicultura**, 18: 28-37, 2008.
- KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; ONO, E.A.; ISTCHUK, P.I. Panorama da piscicultura no Brasil Parte IV: A sanidade na piscicultura, do ponto de vista dos produtores e técnicos. **Panorama da Aquicultura**, 33: 16-26, 2013.
- LANGECKER, T. G.; NEUMANN, B.; HAUSBERG, C.; PARZEFALL, J. Evolution of the optical releasers for aggressive behavior in cave-dwelling *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae). **Behavioural Processes**, 34(2): 161-167, 1995.
- LAWRENCE, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. **Aquaculture**, 269: 1-20, 2007.
- LEWBART, G. A.; HARMS, C. Building a fish anesthesia delivery system. **Exotic DVM**, 1: 25-28, 1999.
- LEWBART, G.A.; SPODNICK, G.; BARLOW, N.; LOVE, N.E.; GEOLY, F.; BAKAL, R.S. (1998). Surgical removal of an undifferentiated abdominal sarcoma from a koi carp (*Cyprinus carpio*). **Vet. Rec.** 143(20): 556-558, 1998.
- LIMA, F. C.; MACHADO, A.O.G.; BORGES, A.P.; LIMA, C.H.A.; ANDRADE, C.M.; MESQUITA, E.F.M. **Doença epitelocística em *Tilapia nilotica* (Linnaeus, 1758) no estado do Rio de Janeiro, Brasil**. Santa Maria, RS: Ciência Rural, 31: 519-520, 2001.
- LO, W.Y.; CHANG, C.F.; SONG, Y.L. Evaluation of dorsal aorta cannulation for immunological studies of grouper (*Epinephelus*

- malabaricus*). **Fish Shellfish Immunol.**, 14(4): 289-303, 2003.
- LOWE, C. H.; HEATH, W.G. Behavioural and physiological responses to temperature in the Desert pupfish, *Cyprinodon macularia*. **Physiological Zoology**, 42: 53-59, 1969.
- MACÊDO, J.A.B. **Águas e águas**. Belo Horizonte, CRQ-MG, 2004.
- de OLIVEIRA, E.G.; et al. **Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria**. MAPA, Circular Técnica 45: 12, 2007.
- MARICCHIOLO, G; GENOVESE, L. Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of the anaesthetics. **The Open Marine Biology Journal**, 5: 24-33, 2011.
- MARKOVICH, M. L.; RIZZUTO, N.V.; BROWN, P.B. Diet affects spawning in zebrafish. **Zebrafish** 4(1): 69-74, 2007.
- MÄRZ, M.; SCHMIDT, R.; RASTEGAR, S.; STRAHLE, U. Regenerative response following stab injury in the adult zebrafish telencephalon. **Dev. Dyn.**, 240(9): 2221-2231, 2011.
- MATSCHE, M. A.; BAKAL, R.S.; ROSEMARY, K.M. Use of laparoscopy to determine sex and reproductive status of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) and Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*). **Journal of Applied Ichthyology**. 27: 627-636, 2011.
- MATUSHIMA, E. R. Técnicas Necroscópicas. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo, SP: Roca. Cap 61: 980-990, 2006.
- McLEAN, E.; ASH, R. Chronic cannulation of the hepatic portal vein in rainbow trout, *Salmo gairdneri*: a prerequisite to net absorption studies. **Aquaculture**, 78: 195-205, 1989.
- MERIGHE, G. K. F.; PEREIRA-DA-SILVA, E.M.; NEGRÃO, J.A.; S. RIBEIRO, S. Efeito da cor do ambiente sobre o estresse social em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, 33: 828-837, 2004.
- MIAN, G. F., GODOY, D.T.; LEAL, C.A.; YUHARA, T.Y.; COSTA, G.M.; FIGUEIREDO, H.C. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. **Vet. Microbiol.**, 136(1-2): 180-183, 2009.
- MURRAY, M. J. Fish Surgery. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, 11(4): 246-257, 2002.
- MURRAY, M. J. Endoscopy in sharks. **Vet Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.**, 13(2): 301-313, 2010.
- NELSON, J. C. **Fishes of the World**. Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons, Inc., 2006.
- NORDGREEN, J.; GARNER, J.P.; JANCZAK, A.M.; RANHEIM, B.; MUIR, W.M.; HORSBERG, T.E. Thermonociception in fish: effects of two different doses of morphine on thermal threshold and post-test behaviour in goldfish (*Carassius auratus*). **Applied Animal Behaviour Science**, 119: 101-107, 2009.
- OKAMURA, D.; ARAÚJO, F.G.; ROSA, P.V.; FREITAS, R.T.F.; MURGAS, L.D.S.; CESAR, M.P. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39: 971-976, 2010.
- PÁDUA, S. B.; FILHO, R.N.M.; CRUZ, C. Alevinos saudáveis: o ponto de partida para uma produção estável. **Panorama da Aquicultura**, 22: 30-37, 2012.
- PANSONATO-ALVES, J. C.; HILSDORF, A.W.; UTSUNOMIA, R.; SILVA, D.M.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Chromosomal mapping of repetitive DNA and cytochrome C oxidase I sequence analysis reveal differentiation among sympatric samples of *Astyanax fasciatus* (Characiformes, Characidae). **Cytogenet Genome Res.**, 141(2-3): 133-142, 2013.
- PARAGAMIAN, V.; BEAMESDERFER, R.; IRELAND, S. Status, population dynamics, and future prospects of the endangered Kootenai River white sturgeon population with and without hatchery intervention. **Transactions of the American Fisheries Society**, 134: 518-532, 2005.
- PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Eduem, 2002.
- PAZZA, R.; KAVALCO, K.F.; PRIOLI, S.M.A.P.; PRIOLI, A.J.; BERTOLLO, L.A.C. Chromosome polymorphism in *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae), part 3: analysis of the RAPD and ISSR molecular markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, 35: 843-851, 2007.
- PIATO, A. L.; D. B. ROSEMBERG, D.B. Princípios éticos no uso do peixe-zebra como organismo-modelo na pesquisa científica. In: PICHLER, N.A.; GIACOMINI, A.C.V.V. **Ética em pesquisa com animais e humanos: Bem-estar e dignidade**. Passo Fundo, RS: Editora Universidade de Passo Fundo, 2014.
- PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO, B. **Espécies Nativas para Piscicultura no Brasil**. Santa Maria, RS: Editora UFSM. 1: 101-115, 2010.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T.; de PÁUDA, S.B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. **Métodos para análise hematológica em peixes**.

Maringá, PR: Eduem, 2013.

- REED, B.; JENNINGS, M. **Guidance on the housing and care of Zebrafish *Danio rerio***. Southwater, UK: RSPCA, 64 p., 2011. Disponível em: <https://science.rspca.org.uk/documents/1494935/9042554/Guidance+on+the+housing+and+care+of+zebrafish.pdf/a4982df2-1499-52bd-d866-9c5706ddda09?t=1552901798437>. Acesso em: 1st Mar. 2023.
- RIBEIRO, R. P. Espécies Exóticas. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. **Fundamentos da Moderna Aquicultura**. Canoas, RS: Editora da ULBRA, p.91-100, 2001.
- ROBERTS, H. E. Anesthesia, analgesia, and euthanasia. In: ROBERTS, H.E. **Fundamentals of ornamental fish health**. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell, 2010.
- ROBERTS, R. J. The Bacteriology of Teleosts. In: ROBERTS, R.J. **Fish Pathology**. Edinburgh: W.B. Saunders: 339-382, 2012.
- ROQUES, J. A.; ABBINK, W.; GEURDS, F.; VAN DE VIS, H.; FLIK, G. Tailfin clipping, a painful procedure: Studies on Nile tilapia and common carp. *Physiol. Behav.*, 101(4): 533-540, 2010.
- ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals**. Oxford: Blackwell Publishing, 2008.
- SACCOL, E. M. H.; UCZAY, J.; T. PÊS, T.; FINAMOR, I.A.; OURIQUE, G.M.; RIFFEL, A.P.K.; SCHMIDT, D. CARON, B. O.; HEINZMANN, B.M.; LLESUY, S.F.; LAZZARI, R.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M.A. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. - Brown essential oil to the diet of the silver catfish: an analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. **Aquaculture**, 416-417: 244-254, 2013.
- SARIG, S. **The prevention and treatment of diseases of warmwater fish under subtropical conditions, with special emphasis on intensive fish farming**. Jersey City, NJ: THF Publications INC., 1971.
- SCHOETTGER, R. A.; JULIN, M.A. Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. **Investigation of Fisheries Contribution**, U.S. Department of Interior, 13: 1-15, 1967.
- SIMÕES, L. N.; GOMES, L.C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 61(3): 613-620, 2009.
- SINGH, V.; CHAUDHARY, D.K.; MANI, I.; JAIN, R.; MISHRA, B.N. Development of diagnostic and vaccine markers through cloning, expression, and regulation of putative virulence-protein-encoding genes of *Aeromonas hydrophila*. **J. Microbiol.**, 51(3): 275-282, 2013.
- SIQUEIRA-SILVA, D. H.; SILVA, A.P.S.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Morphology of the urogenital papill and its component ducts in *Astyanax altiparanae* Garutti & Briski, 2000 (Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology** 13(2): 309-316, 2015.
- SNEDDON, L. U. Clinical anesthesia e analgesia in fish. **Journal of Exotic Pet Medicine**. 21: 32-43, 2012.
- SNEDDON, L. U.; BRAITHWAITE, V.A.; GENTLE, M.J. Do fishes have nociceptors? Evidence for the evolution of a vertebrate sensory system. **Proc. Biol. Sci.**, 270(1520): 1115-1121, 2003.
- SPAGNOLI, S.; XUE, L.; KENT, M.L. The common neural parasite *Pseudoloma neurophilia* is associated with altered startle response habituation in adult zebrafish (*Danio rerio*): Implications for the zebrafish as a model organism. **Behav. Brain Res.**, 291: 351-360, 2015.
- SPENCE, R., G.; GERLACH, G.; LAWRENCE, C.; SMITH, C. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.**, 83(1): 13-34, 2008.
- SUTILI, F. J.; GRESSLER, L.T.; BALDISSEROTTO, B. Clove Oil, eugenol effective anesthetics for silver catfish, other Brazilian species. **The Global Aquacultur Advocate**, May/June, 2014.
- SUTILI, F. J.; GRESSLER, L.T.; VARGASA, C.; ZEPPENFELD, C.C.; BALDISSEROTTO, B.; CUNHA, M.A. The use of nitazoxanide against the pathogens *Ichthyophthirius multifiliis* and *Aeromonas hydrophila* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Vet. Parasitol.**, 197(3-4): 522-526, 2013.
- TONI, C.; BECKER, A.G.; SIMOES, L.N.; PINHEIRO, C.G.; de LIMASILVA, L.; HEINZMANN, B.M.; CARON, B.O.; BALDISSEROTTO, B. Fish anesthesia: effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiol. Biochem.**, 40(3): 701-714, 2014.
- TORREZANI, C. S. A influência do enriquecimento ambiental no comportamento agressivo da tilápia do Congo *Tilapia rendalli*. Monografia, Universidade Estadual Paulista, 2012.
- UMMINGER, B. L.; PANG, P.K.T. Fish as animal models in biomedical research. **ILAR News** (Nat. Acad. Sci.), 22(3): 12-18, 1979.
- VALENÇA-SILVA, G.; BRAZ, M.G.; BARRETO, R.E.; SALVADOR, D.M.F.; VOLPATO, G.L. Low dose of the anesthetic propofol does not induce genotoxic or mutagenic effects in Nile tilapia. **Transactions of American Fisheries Society**, 143: 414-419, 2014.
- VALLE, L. B. S. *et al.* **Farmacologia Integrada: fundamentos farmacológicos da terapêutica**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1991.

- VELASCO, E. M.; LAW, P.Y.; RODRIGUEZ, R.E. Mu opioid receptor from the zebrafish exhibits functional characteristics as those of mammalian Mu opioid receptor. **Zebrafish**, 6: 259-268, 2009.
- VELISEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; NOVOTNY, L. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis L.*). **Veterinari Medicina**. 52: 103-110, 2007.
- VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, A.C.L.; LIRA, A.D.; ALMEIDA, T.R.; SANTOS, G.B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 43: 1069-1074, 2008.
- VIEIRA, V. A.; CORREIA, T.G.; MOREIRA, R.G. Effects of aluminum on the energetic substrates in neotropical freshwater *Astyanax bimaculatus* (Teleostei: Characidae) females. **Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.** 157(1): 1-8, 2013.
- VOLPATO, G. L.; BARRETO, R.E. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 34(8): 1041-1045, 2001.
- VOLPATO, G. L.; DUARTE, C.R.; LUCHIARI, A.C. Environmental color affects Nile tilapia reproduction. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 37(4): 479-483, 2004.
- von KROGH, K.; SØRENSEN, C.; NILSSON, G.E.; ØVERLI, Ø. Forebrain cell proliferation, behavior, and physiology of zebrafish, *Danio rerio*, kept in enriched or barren environments. **Physiol. Behav.**, 101(1): 32-39, 2010.
- WEBB, M.; ERICKSON, D. Reproductive structure of the adult green sturgeon, *Acipenser medirostris*, population in the Rogue River, Oregon. **Environmental Biology of Fishes**, 79: 305-314, 2007.
- WEBER, E. P., III; WEISSE, C.; SCHWARZ, T.; INNIS, C.; KLIDE, A.M. Anesthesia, diagnostic imaging, and surgery of fish. **Compend. Contin. Educ. Vet.** 31(2): E11, 2009.
- WEBER, E. S., III (2011). Fish analgesia: pain, stress, fear aversion, or nociception? **Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.** 14(1): 21-32, 2011.
- WELLS, R. M. G., TETENS, V.; DEVRIES, A.L. Recovery from stress following capture and anaesthesia of Antarctic fish: haematology and blood chemistry. **Journal of Fish Biology**, 25: 567-576, 1984.
- WESTERFIELD, M. **The zebrafish book: a guide for the laboratory use of the zebrafish (*Danio rerio*)**. Oregon: University of Oregon Press, 2007.
- WILDGOOSE, W. H. (2000). Fish surgery: an overview. **Fish Veterinary Journal**, 5: 22-36, 2000.
- WOLKERS, C. P.; BARBOSA JUNIOR, A.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L.; HOFFMANN, A. "Stress-induced antinociception in fish reversed by naloxone. **PLoS One**, 8(7): e71175, 2013.
- WONG, D.; VON KEYSERLINGK, M.A.G.; RICHARDS, J.G. RICHARDS; WEARY, D.M. Conditioned Place Avoidance of Zebrafish (*Danio rerio*) to Three Chemicals Used for Euthanasia and Anaesthesia. **PLoS ONE**, 9(2): e88030, 2014.
- WOOD, C. M; PATRICK, M.L. Methods of Assessing Kidney and Urinary Bladder Function in Fish. *In*: HOCHACHKA, P.W.; MOMMSEN, T.P. **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes**. Amsterdam: Elsevier, p.127-142, 1994.
- WOOSTER, G. A.; HSU, H.-M.; BOWSER, R. Nonlethal surgical procedures for obtaining tissue samples for fish health inspections. **Journal of Aquatic Animal Health**, 5: 157-164, 1993.
- WURTS, W. A. Alkalinity and hardness in production ponds. **World Aquaculture**, 33(2): 16-17, 2002.
- YANONG, R.P.E. Peixes de Aquário. *In*: AGUILAR, R.; HERNÁNDEZ-DIVERS, S.M.; HERNÁNDEZ-DIVERS, S.J. **Atlas de Medicina, Terapêutica e Patologia de Animais Exóticos**. São Caetano do Sul, SP: Interbook, p.81-111, 2006.
- YASUI, G. S.; SENHORINI, J.A.; SHIMODA, E.; PEREIRA-SANTOS, M.; NAKAGHI, L.S.; FUJIMOTO, T.; ARIAS-RODRIGUES, L.; SILVA, L.A. Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. **Animal.**, v.9, p. 464-470, 2015.
- ZAGO, A. C.; FRANCESCHINI, L.; GARCIA, F.; SCHALCH, S.H.; K. S. GOZI; SILVA, R.J. Ectoparasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage farming in a hydroelectric reservoir in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol., Vet.** 23(2): 171-178, 2014.
- ZAHL, I. H.; KIESSLING, A.; SAMUELSEN, O. B.; OLSEN. Anesthesia induces stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Fish Physiol. Biochem.**, 36(3): 719-730, 2010.
- ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish. Physiol. Biochem.**, 38(1): 201-218, 2012.

9. Critérios mínimos para instalações de Peixes

Classificação:

OB - Obrigatório

Considera-se item OBRIGATÓRIO

R - Recomendado.

Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

Critérios mínimos para criação, manutenção e experimentação de peixes – Lambari (*Astyanax* spp.), Tilápia (*Tilapia* spp., *Sarotherodon* spp. e *Oreochromis* spp.) e Zebrafish (*Danio rerio*) - mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica:

DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos	
Área administrativa.	R
Área de recepção de pessoal (usuários e visitantes).	R
Recepção de animais e quarentena.	R
Área destinada à higienização (lavagem, desinfecção ou esterilização de materiais) separada fisicamente da área de salas de animais.	R
Sanitários localizados fora das áreas controladas.	R
Vestiário.	R
Local para estocagem de alimentos que atendam às recomendações dos fabricantes.	OB
Local para armazenamento de produtos químicos e medicamentos.	R
Freezer para acondicionamento de carcaças.	OB
Condições ambientais gerais da sala ou aquários	
Controle de temperatura.	OB
Controle de Iluminação.	OB
Sistema de abastecimento de água e reservatório de armazenamento.	OB
Bomba de renovação e abastecimento de água dos aquários.	OB
Controle de patógenos no aquário.	OB
Controle de oxigênio na água.	OB
Controle de temperatura.	OB
Controle de pH.	OB
Controle de amônia e dureza da água.	OB
Controle de densidade de peixes nos aquários, de acordo com a espécie.	OB
Controle de concentração de nitrito, de acordo com especificações do Guia Concea.	OB
Enriquecimento ambiental.	OB

Alimentação de acordo com a fase de desenvolvimento dos animais e hábito alimentar da espécie.	OB
Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB
Uso de equipamentos de proteção individual preconizados pelo nível de biossegurança da instalação.	OB
Barreiras sanitárias de bioexclusão e biocontenção preconizadas pelo nível de biossegurança da instalação.	OB

Capítulo 6

Peixes II:

Peixes grandes



COORDENADORES:

Bernardo Baldisserotto Universidade Federal de Santa Maria

Paulo Hilário Nascimento Saldiva Universidade de São Paulo

Francisco Tadeu Rantin Universidade Federal de São Carlos

AUTORES:

Ana Lúcia S. Marigo Embrapa Meio Ambiente

Carla Patricia Bejo Wolkers Universidade Estadual Paulista Jaboticabal

Evoy Zaniboni Filho Universidade Federal de Santa Catarina

Fernanda Garcia Sampaio Embrapa Meio Ambiente

Fabiano Menezes Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Luiz David Solos Murgas Universidade Federal de Lavras

Luciane T. Gressler Universidade Federal de Santa Maria

Luiz Henrique Florindo Universidade Estadual Paulista Câmpus de São José do Rio Preto

Guerino Bandeira Junior Instituto Federal Farroupilha

Michelly Pereira Soares Universidade Federal de São Carlos

Monica Serra Universidade Federal da Bahia

Citação recomendada: MARIGO, A.L.S.; WOLKERS, C.P.B.; ZANIBONI FILHO, E.; SAMPAIO, F.G.; MENEZES, F.; MURGAS, L.D.S.; GRESSLER, L.T.; FLORINDO, L.H.; BANDEIRA JUNIOR, G.; SOARES, M.P.; SERRA, M. (2023) Capítulo 6 - Peixes II: Peixes grandes. pp. 384-459. In: BALDISEROTTO, B.; SALDIVA, P. H. N. e RANTIN, F. T. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	391
1.1. Bem-estar animal	393
1.2. Senciência em peixes	394
1.3. Questão da nocicepção e sensibilidade à dor em peixes	395
2. Obtenção de animais	398
2.1. Captura de animais da natureza	398
2.1.1. Além desta Portaria, destacam-se as seguintes instruções normativas:	398
2.2. Reprodução em cativeiro	398
2.2.1. Origem das matrizes:	398
2.2.2. Indução à reprodução:	399
2.2.3. Manejo para seleção, aplicação de hormônios e desova:	401
2.2.4. Obtenção dos ovos:	402
2.2.5. Incubação dos ovos:	404
2.2.6. Larvicultura:	405
2.3. Transporte de peixes	406
3. Instalações animais	409
3.1. Tanques de manutenção	409
3.1.1. Tanques escavados ou viveiros:	409
3.1.2. Tanques de lona:	410
3.1.3. Aquários ou caixas:	411
3.1.4. Tanques-rede:	413
3.1.5. Quarentenário:	414
3.2. Qualidade da água	414
3.2.1. Parâmetros de qualidade da água:	414
3.2.2. Origem da água:	415
3.2.3. Filtragem de água:	415
3.2.4. Temperatura:	416
3.2.5. Termorreguladores:	417
3.2.6. pH:	417
3.2.7. Oxigênio dissolvido:	418
3.2.8. Salinidade:	419
3.2.9. Níveis de amônia, nitrito e nitrato:	421
3.3. Densidade de estocagem	424
3.4. Alimentação	426
3.5. Enriquecimento ambiental e social	427
3.6. Regime de iluminação	429
4. Sanidade de peixes	433
4.1. Métodos de tratamento das principais doenças	433
4.3. Estresse em peixes mantidos em cativeiro	434
5. Manejo de animais em laboratório	437
5.1. Captura	437

5.2. Administração de fármacos	437
5.3. Anestesia	438
5.4. Analgesia	439
5.5. Cirurgia	440
5.6. Coleta de material biológico	442
5.7. Eutanásia	445
5.8. Necropsia	445
5.9. Destino de carcaças	446
6. Referências bibliográficas	447
7. Critérios mínimos para instalações de Peixes	459

PEIXES II: PEIXES GRANDES

1. Introdução

Nos últimos anos, o debate em torno do uso de animais para atender às necessidades da saúde humana e animal se intensificou. A maior controvérsia está no uso de animais nas pesquisas biológicas, no ensino e nos testes de produtos comerciais. Com a criação do CONCEA (Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal), surgiram uma série de Resoluções Normativas que abrangem os cuidados com animais de laboratório e com suas instalações. Tanto a Lei nº 11.794, que rege a experimentação animal do Brasil, quanto as Normativas do CONCEA incluem, implícita ou explicitamente, os preceitos dos três R's (do inglês Reduction, Refinement and Replacement): **Redução** no número de animais necessários para pesquisa; **Refinamento** de técnicas que possam causar menos estresse ou sofrimento; **Substituição** de animais vivos por simulações ou culturas de células sempre que possível (RUSSELL & BURCH 1959).

Segundo Cleveland e colaboradores (2002), o desenvolvimento na biologia celular e molecular contribuiu para diminuir o uso de animais em estudos e testes de produtos químicos. A pesquisa com animais permitiu o entendimento de doenças como a varíola e a poliomielite e a imunização contra doenças anteriormente comuns e com frequência fatais, incluindo a difteria, a caxumba e a rubéola. Também ajudou a criar tratamentos para o câncer, diabetes, doenças cardíacas e psicoses maníaco-depressivas e, ainda, procedimentos cirúrgicos, incluindo cirurgia cardíaca, transfusões de sangue e remoção de catarata. As pesquisas sobre a AIDS ainda têm uma importante participação de animais (CLEVELAND *et al.*, 2002).

A busca de novos modelos experimentais tem se intensificado nos últimos anos devido à necessidade de atender os 3Rs. Os peixes têm se mostrado um bom modelo biológico, visto que eles exibem enorme diversidade em sua morfologia e em sua biologia. Segundo Nelson (2006), essa diversidade é, em parte, o que torna a compreensão da história evolutiva e o estabelecimento de uma classificação dos peixes tão difícil. Peixes-bruxa e lampreias, tubarões, peixes ósseos a peixes pulmonados, eles incluem uma vasta gama de vertebrados distantes, mas relacionados. Com base na classificação cladística, os peixes ósseos, o grupo de peixes dominante em número de espécies, estão mais relacionados aos mamíferos do que aos tubarões por exemplo, o que os torna excelentes modelos experimentais. Apesar de sua diversidade, eles são importantes para os pesquisadores por causa da riqueza de informações que não foram ainda totalmente elucidadas (NELSON 2006).

Outro ponto forte dos peixes como bons modelos biológicos é o fato de serem de imenso valor para os seres humanos. Eles têm sido um item básico na dieta de muitos povos e são importantes na economia de muitas nações, ao mesmo tempo em que apresentam valor recreativo e psicológico incalculável. Aspectos particulares de várias espécies se prestam a estudos de comportamento, ecologia, evolução, genética, fisiologia e toxicologia. São usados como indicadores gerais ou bioindicadores da poluição aquática, em parte pelo benefício direto e importância para os seres humanos (NELSON 2006). O comportamento dos peixes é tão diverso quanto a sua morfologia. Eles são adaptados a uma grande variedade de dietas e vivem em quase todos os tipos conhecidos de habitat aquático. Podem produzir toxinas, venenos, eletricidade, som ou luz (NELSON 2006).

Diante do exposto acima, várias espécies de peixes podem ser utilizadas como modelo experimental, sendo importante que o pesquisador escolha a espécie adequada para o seu delineamento experimental. O zebrafish (*Danio rerio*), um teleósteo da família Cyprinidae, conhecido como paulistinha no Brasil, é um bom exemplo. Inicialmente, foi utilizado por George Streisinger como modelo em seus estudos genéticos (STREISINGER *et al.*, 1981). A produção científica nacional com uso do zebrafish, que inexistia há pouco mais de uma década, tem crescido de modo acelerado nos últimos anos, num ritmo maior do que no restante do mundo e seu uso foi detalhado na Resolução Normativa 34 do Concea, de 27 de julho de 2017.

Outro exemplo é o peixe teleósteo cavernícola, *Astyanax mexicanus*, pertencente à ordem Characiformes e intimamente relacionado ao zebrafish. Ele apresenta retinas degeneradas (o que o torna cego), acúmulo de gordura no fígado, níveis elevados de açúcar no sangue e de insulina - tudo isso pode significar problemas de saúde para os humanos, mas para eles são uma característica normal de sua biologia. Pesquisadores argumentam que estas adaptações do *A. mexicanus* podem lançar luz sobre doenças que acometem os humanos (PENNISI 2016). Este peixe apresenta também sono caracterizado por períodos prolongados de quiescência e reduzida capacidade de resposta aos estímulos sensoriais. Coletivamente, os dados mostram que o *A. mexicanus* é um modelo poderoso para elucidar os mecanismos genéticos subjacentes à evolução comportamental (YOSHIZAWA *et al.*, 2015).

Mas não são só estes peixes que são utilizados como modelos experimentais. Aqui no Brasil, a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* - peixe introduzido), o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), o *Rhamdia quelen*, e muito outros são utilizados em vários estudos de fisiologia cardiorrespiratória e testes de memória (ARMELIN *et al.*, 2016; ZERAIK *et al.*, 2013; TAYLOR *et al.*, 2009; DELICIO & BARRETO, 2008; FLORINDO *et al.*, 2006, MATHIAS *et al.*, 2018).

O objetivo deste guia é apresentar métodos e procedimentos adequados de criação e manutenção destes peixes em cativeiro, garantindo condições adequadas de estrutura e de saúde para a sua integridade como modelo de experimentação pautada nas normas de bem-estar animal. O que será apresentado abaixo foi obtido pelo esforço integrado de vários profissionais dentro de suas devidas áreas, com o objetivo fornecer, para aquelas pessoas que queiram trabalhar com peixes em instalações de ensino ou pesquisa científica, subsídios e formas adequadas de mantê-los em cativeiro.

1.1. Bem-estar animal

Peixes sob tutela humana, como aqueles mantidos em biotérios e laboratórios, encontram-se em um ambiente em que são os humanos que determinam a maior parte dos aspectos de sua vida: tamanho do recinto, qualidade da água, quantidade e qualidade do alimento ingerido, regime de luz, presença de indivíduos da mesma espécie ou de espécies diferentes, ocorrência de manejo, entre outros. Por isso, cabe aos cuidadores de biotérios e laboratórios assegurar que as necessidades básicas dos peixes estão sendo saciadas e estes animais não estão sendo submetidos a situações de desconforto. Nesse contexto, devemos nos preocupar com a identificação e manutenção do bem-estar desses animais. O conceito de bem-estar é bastante complexo, sendo considerado uma característica individual da relação do animal com o meio e que pode variar em um contínuo que vai desde um bem-estar comprometido, ou pobre, até um bem-estar assegurado, ou bom (BROOM 1991). O ambiente em que o animal vive pode ser considerado apropriado se é capaz de prover ao animal a satisfação de suas necessidades (BROOM 2008). Quando o animal não é capaz de controlar suas interações com o ambiente e apresenta dificuldade em se adaptar a essa situação, ou quando suas necessidades não são atendidas, associamos essa condição a um bem-estar pobre ou comprometido (BROOM 2008). Entretanto, embora muita atenção na questão do bem-estar tenha sido voltada para a redução de desconforto/sofrimento dos animais, devemos também considerar a satisfação das motivações e necessidades dos animais: a ausência de desconforto e doença não significa necessariamente bem-estar assegurado. O cuidado com o bem-estar animal não deve se limitar apenas a identificar e sanar situações de bem-estar comprometido, mas também procurar promover condições para que os animais possam saciar sua motivação para realizar comportamentos recompensadores, melhorando seu bem-estar geral (MELLOR 2016).

Uma questão constantemente abordada sobre a preocupação com o bem-estar é se o grupo animal em questão

possui sentiência, ou seja, se o animal em questão é capaz de ter experiências subjetivas como dor, prazer, desconforto. De acordo com Volpato e colaboradores (2007), três abordagens são importantes para a avaliação da ocorrência de sentiência nos animais: a presença de estruturas encefálicas homólogas àquelas envolvidas na consciência humana; a presença dos mecanismos fisiológicos associados à sensação de dor; e a ocorrência de alterações comportamentais nos animais após serem submetidos a estímulos nocivos/potencialmente dolorosos. Grupos animais que apresentam essas três características seriam considerados sencientes e, portanto, seu bem-estar deve ser assegurado.

1.2. Senciência em peixes

O termo “senciência” refere-se à capacidade de um ser afetado positiva ou negativamente, ter experiências, estando diretamente associado à concepção de consciência. Embora se possa acreditar que somente animais com alta complexidade biológica, como os seres humanos, tenham esta capacidade, a sentiência surgiu em algum momento na evolução e pode ter surgido há muito tempo e estar distribuída de maneira mais ampla por meio das espécies animais (MOLENTO 2005).

Embora o telencéfalo dos peixes não seja estruturalmente capaz de sustentar estados avançados de consciência, o sistema nervoso desses animais permite processos como percepção, aprendizado e memória, tornando-os aptos a evitar estímulos e situações que causam desconforto e nocicepção (HOFFMANN 2008). A consciência é uma função do sistema nervoso que comporta vários fenômenos (ROTH 2001), podendo ser dividida em dois tipos: a consciência primária e a expandida (EDELMAN & TONONI 2000), conforme descrição abaixo:

a) Estados gerais da consciência ou consciência primária: A consciência primária não apresenta uma ligação clara com um conteúdo mental. Este tipo de consciência é responsável pelo controle da vigília, da fadiga, do conforto, da percepção da duração temporal e do layout espacial e serve de suporte para tipos mais específicos ou complexos da consciência. Esses diferentes estados gerais da consciência podem ser afetados seletivamente por lesões específicas do sistema nervoso e essas estruturas foram conservadas ao longo da evolução entre os vertebrados. Uma dessas estruturas é a formação reticular do tronco cerebral, onde se situam alguns agrupamentos celulares que originam vias ascendentes que se projetam difusamente para todas as regiões anteriores do sistema nervoso, inclusive para as regiões neocorticais, diferenciadas mais recentemente (HOFFMANN 2008).

b) Consciência expandida: A consciência expandida comporta estados como percepção consciente

do ambiente e do próprio corpo, atividades mentais (pensar, imaginar, lembrar e planejar), consciência autobiográfica, percepção da realidade e autopercepção. Foi o desenvolvimento do *pallium* nos mamíferos, sobretudo das áreas associativas do neocórtex, que permitiu o aparecimento dessa consciência (EDELMAN & TONONI 2000).

Neste contexto, é possível que os peixes apresentem estados da consciência primária como uma função do sistema nervoso (CHANDROO *et al.*, 2004). Tem sido sugerido que a consciência evoluiu gradativamente e que diferentes espécies de animais podem apresentar diferentes graus de consciência (DUNCAN, 1996). Sendo assim, a existência de uma consciência primária é uma justificativa plausível para se abordar a questão da percepção da dor e bem estar em peixes.

1.3. Questão da nocicepção e sensibilidade à dor em peixes

A percepção da dor e nocicepção em vertebrados menos derivados, como peixes, tem sido um assunto amplamente debatido no meio científico. Devido ao seu encéfalo estruturalmente simples, associado à ausência de estruturas encefálicas como o neocórtex por exemplo, os peixes foram considerados, por muito tempo, animais insensíveis à dor (ROSE, 2002; ARLINGHAUS *et al.*, 2007). Entretanto, a percepção da dor e nocicepção também envolvem estruturas corticais e subcorticais presentes nos peixes, e estudos recentes apontam que estes animais podem ser sensíveis a estímulos nocivos (SNEDDON *et al.*, 2003a; NEWBY & STEVENS, 2008; REILLY *et al.*, 2008; ROQUES *et al.*, 2010; ALVES *et al.*, 2013; WOLKERS *et al.*, 2013, 2015a, 2015b). Sendo assim, o uso de peixes na pesquisa científica e no ensino deve considerar o bem-estar e as questões éticas envolvidas no uso destes animais.

De acordo com Bateson (1991), os principais critérios para se determinar se um animal é capaz de experienciar a dor são:

a) Nociceptores: A presença de nociceptores (terminações nervosas livres) em peixes foi descrita pela primeira vez na década de 1970 (WHITEAR 1971) e, mais recentemente, foi demonstrado que estes receptores respondem a estímulos nocivos como pressão, calor e químicos irritantes (ácido acético) (SNEDDON 2002; SNEDDON 2003a, b).

b) Estruturas encefálicas e vias de condução: Assim como os mamíferos, os peixes apresentam vias espinhais relacionadas à condução de informações nociceptivas, incluindo os tratos espinotalâmicos, espinomesencefálicos, espinoreticulares, espinolímbicos (CHANDROO *et al.*, 2004a) e o trato trigeminal. Além disso, dados eletrofi-

siológicos demonstram que a estimulação nociva cutânea de peixes provocam potenciais evocados em várias regiões do sistema nervoso central, incluindo o telencéfalo (DUNLOP & LAMING 2005; NORDGREEN *et al.*, 2007), sugerindo que estas informações ascendem ao encéfalo para serem processadas. Com relação à estrutura encefálica, a despeito da ausência de um neocortex, os peixes possuem um telencéfalo altamente diferenciado, com capacidade de processamento de informações sensoriais, sendo intensamente interconectado com outras regiões encefálicas como o mesencéfalo e o diencefalo (RINK & WULLIMANN 2004), apresentando atividade após a estimulação nociva (DUNLOP & LAMING 2005) e contendo estruturas que guardam homologia com a amígdala e o hipocampo mamíferos. Há, ainda, evidências da participação da região dorsomedial do telencéfalo na modulação da analgesia induzida pelo estresse no peixe *Leporinus macrocephalus* (WOLKERS *et al.*, 2015a, 2015b), sugerindo que essa região pode desempenhar um papel semelhante à amígdala dos mamíferos na modulação da nocicepção.

c) Substâncias opióides endógenas e receptores: Os peixes apresentam um sistema opióide funcional, semelhante ao de outros vertebrados, apresentando todos os principais tipos de receptores opióides (delta, kappa e mu), com estrutura proteica semelhante aos dos receptores de mamíferos (BUATTI & PASTERNAK 1981; VELASCO *et al.*, 2009; DREBROG *et al.*, 2008) e amplamente distribuídos nas regiões relacionadas ao processamento de informações sensoriais (GONZALEZ-NUÑEZ & RODRIGUEZ 2009).

d) Redução da resposta nociceptiva em resposta a analgésicos: Embora pouco seja conhecido a respeito da analgesia em peixes, estudos demonstram que a aplicação de substâncias analgésicas opióides como a morfina (SNEDDON *et al.*, 2003a; NEWBY *et al.*, 2007) e o tramadol (CHERVOVA & LAPSHIN 2000) reduz as respostas comportamentais e fisiológicas desencadeadas pelo estímulo nocivo. Além disso, situações estressantes, como um longo período de subordinação social (ASHLEY *et al.* 2007), a presença de substância de alarme de coespecífico (ALVES *et al.*, 2013) e a restrição de espaço (WOLKERS *et al.*, 2013) são capazes de ativar um sistema analgésico endógeno em peixes de maneira similar ao observado em mamíferos.

e) Aprendizado de evitação e suspensão do comportamento normal: Os peixes apresentam uma ampla variedade de respostas fisiológicas e comportamentais a estímulos nocivos incluindo comportamentos atípicos (rubbing e rocking) (SNEDDON, 2003a), aumento na frequência ventilatória (SNEDDON 2003a; NEWBY & STEVENS 2008; ALVES *et al.*, 2013), perda do equilíbrio (NEWBY & STEVENS 2008), aumento da atividade natatória e hiperatividade (ROQUES *et al.*, 2010, ALVES *et al.*, 2013; WOLKERS *et al.*, 2013), além da liberação de muco pelas células das brânquias e alterações nos transportadores de íons da membrana (ROQUES *et al.*, 2010). Além disso, são capazes

de aprender a evitar os estímulos nocivos, sendo esta aprendizagem flexível e dependente das condições ambientais (DUNLOP *et al.*, 2006; MILLSOPP & LAMING 2007).

Sendo assim, embora não seja possível afirmar definitivamente a sensibilidade dos peixes à dor, estes atendem a todos os critérios definidos por Bateson (1991) para se determinar a percepção da dor em animais, sendo, portanto, de extrema importância que a possibilidade de dor e sofrimento seja levada em consideração quando as práticas de manejo são definidas, visando ao bem-estar destes animais.

2. Obtenção de animais

2.1. Captura de animais da natureza

A captura de peixes nativos em ambientes naturais deve obedecer à legislação vigente, devendo ser realizada apenas após emissão de licenças dos órgãos competentes, sejam eles Federais ou Estaduais, levando em consideração a espécie e seu habitat. Atualmente, a Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, do Ministério do Meio Ambiente, explicita as regras para uso das espécies de peixes ameaçadas de extinção.

2.1.1. Além desta Portaria, destacam-se as seguintes instruções normativas:

a) Instrução Normativa IBAMA nº 56, de 23 de novembro de 2004: Define os métodos de captura e transporte de exemplares vivos de peixes marinhos nativos do Brasil para uso ornamental.

b) Instrução Normativa MMA nº 30, de 13 de setembro de 2005: Define os métodos de captura, o transporte e o armazenamento de peixes da bacia hidrográfica do rio Paraná.

2.2. Reprodução em cativeiro

A reprodução de peixes em cativeiro é uma atividade de rotina tanto em biotérios quanto no setor produtivo e que veio substituir a dependência da captura de peixes do ambiente natural.

2.2.1. Origem das matrizes:

A origem das matrizes que passarão a compor o plantel de reprodutores é dependente dos objetivos da unidade de produção de juvenis. Caso a reprodução dos peixes tenha como objetivo a produção de juvenis destinados à cadeia da piscicultura encarregada da produção de carne, devem ser escolhidos exemplares oriundos de programas de seleção e/ou de melhoramento genético que contenham as melhores características zootécnicas para maximizar o

desempenho no ambiente de criação, ou mesmo às exigências do mercado consumidor. Por outro lado, caso o objetivo dos reprodutores seja a produção de juvenis destinados à estocagem no ambiente natural, também conhecido como repovoamento, a seleção dos reprodutores deve considerar a máxima diversidade genética do plantel, mantendo correspondência da diversidade genética do plantel de reprodutores com a variabilidade genética do estoque receptor, ou seja, aquele estoque de peixes do ambiente natural que receberá a suplementação com juvenis produzidos em cativeiro.

A seleção dos exemplares que serão acasalados a cada manejo reprodutivo igualmente varia com o destino dos juvenis produzidos, sendo normalmente adotados procedimentos antagônicos. Enquanto naquele que objetiva produzir juvenis para a engorda é desejada a homogeneidade genética e de desempenho dos descendentes, mantendo as características selecionadas nas matrizes, no outro, que objetiva destinar os juvenis para liberação no ambiente natural, com finalidade de estocagem, quase sempre é esperado a heterogeneidade genética dos juvenis.

2.2.2. Indução à reprodução:

Ao serem dominadas as técnicas de reprodução em cativeiro das diferentes espécies de peixes, vários protocolos de manejo foram definidos para atender às exigências fisiológicas e comportamentais de cada espécie. Apesar disso, as técnicas utilizadas para a reprodução de peixes em cativeiro pode ser dividida em duas, quais sejam, indução ambiental e indução hormonal (ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004), assim descritas:

a) Indução ambiental: A possibilidade de estimular a reprodução de todos os peixes por meio da indução ambiental é viável, visto que esse é o mecanismo que desencadeia todo o processo reprodutivo em condições naturais. Apesar disso, a complexidade dos mecanismos de controle do desenvolvimento gonadal e do comportamento reprodutivo, em muitos casos, dificulta essa simulação em condições de cativeiro. Dessa forma, essa técnica é normalmente utilizada para indução à maturação final, espermiacão/ovulação e desova de peixes não-migradores, tais como cará, traíra, tilápia e diversas espécies de uso ornamental.

Dentre as técnicas usuais de manipulação ambiental para indução à reprodução de peixes, as mais utilizadas estão relacionadas à variação da temperatura da água, do fotoperíodo, da condutividade da água, da densidade de estocagem dos peixes, da colocação de substratos ou refúgios, ou ainda, da combinação de alguns deles.

Nestes casos, uma proporção adequada de machos e fêmeas é estocada no ambiente de criação e inicia-se a manipulação ambiental. Após acontecer a reprodução dos peixes, duas estratégias podem ser adotadas, com resultados bastante diversos dependendo da espécie utilizada, quais sejam:

i) Manter os parentais juntamente com os ovos para concluírem o cuidado parental e posteriormente remover os descendentes na fase de larva ou juvenil; e

ii) Retirar os ovos imediatamente após a desova para incubação em condições controladas.

b) Indução hormonal: Apesar da influência determinante das condições ambientais no ciclo reprodutivo dos peixes, fisiologicamente, os mecanismos de ajuste de todo o processo de maturação gonadal e desova é controlado por meio de controles hormonais (CAROLSFELD 1989; ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004). Dessa forma, a indução hormonal é uma técnica que pode ser utilizada com sucesso para distintas espécies de peixes e com diferentes estratégias reprodutivas. A técnica é simples e consiste na administração de hormônios estimulantes da maturação final e a espermição/ovulação dos peixes. Os hormônios são hidrossolúveis e isso facilita sua administração por meio de uma solução aquosa. Geralmente, é utilizada solução salina (0,6% NaCl) ou água destilada. A aplicação da solução é normalmente feita via intramuscular ou intraperitoneal. A quantidade de hormônio necessária para induzir a maturação final e desova dos peixes depende do grau de maturação dos reprodutores, da espécie e do método escolhido para fazer a aplicação (ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004). Dessa forma, a dosagem recomendada para induzir diferentes espécies pode ser bastante distinta.

Há inúmeras variações nos métodos para administração de hormônio em peixes. Porém, as fêmeas geralmente requerem doses maiores de hormônio do que os machos, sendo que doses parceladas produzem resultados melhores que uma única dose (WOYNAROVICH & HORVÁTH 1983). O método típico para indução de peixes utiliza duas aplicações nas fêmeas e uma única aplicação nos machos (WOYNAROVICH & HORVÁTH 1983). Essa dosagem é calculada em relação ao peso corporal, havendo necessidade de perfeito controle da dosagem aplicada em cada reprodutor. Dessa forma, a identificação dos reprodutores é um cuidado fundamental para distinguir indivíduos que receberão diferentes quantidades de hormônio. Além disso, a identificação durante a seleção dos peixes possibilita o controle do desempenho reprodutivo de cada exemplar do plantel. Há uma diversidade de marcações internas e externas que podem ser utilizadas, uma análise comparativa da qualidade de cada uma das principais é apresentada por HARVEY & CAROLSFELD (1993).

A capacidade do técnico para a seleção de peixes maduros é vital para o sucesso do processo de indução da maturação final e desova, sendo considerada a etapa mais importante (CAROLSFELD 1989). A seleção consiste na escolha de exemplares que estão com as gônadas maduras, no “estádio de dormência”, ou seja, aqueles peixes que têm maior probabilidade de responder positivamente ao tratamento de indução hormonal, resultando na ovulação/espermição de gametas viáveis (ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004).

Apesar da enorme importância da seleção de peixes maduros, os critérios utilizados estão normalmente baseados em características subjetivas. Por exemplo, fêmeas com abdômen dilatado e macio que apresentam a papila genital intumescida e avermelhada (WOYNAROVICH & HORVÁTH, 1983). A dificuldade para padronização dos critérios para seleção dos reprodutores tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas na busca de métodos mais objetivos, principalmente para a seleção de fêmeas, dentre os quais por meio da realização de biópsia ovariana (ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004).

A seleção dos machos, na maioria das espécies, é feita por meio de pressão abdominal, de modo que os peixes maduros eliminam pequenas quantias de sêmen (ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004). Em algumas espécies, a separação dos sexos é facilitada pela existência de dimorfismo sexual, tais como a presença de espículas na nadadeira anal dos machos de dourado (*Salminus brasiliensis*), matrinxã (*Brycon lundii*) e piracanjuba (*B. orbignyanus*), ou da emissão de sons pelos machos maduros de piau (*Leporinus friderici*), piapara (*Megaleporinus obtusidens*) e curimatã (*Prochilodus lineatus*).

2.2.3. Manejo para seleção, aplicação de hormônios e desova:

A reação ao manejo apresentada pelas diferentes espécies de peixes é bastante distinta, além da história de vida do lote a ser manejado. O manejo inadequado dos reprodutores pode estressar os animais e interferir negativamente no resultado final do tratamento, sem mencionar a possibilidade de perda do reprodutor. Existem métodos simples que podem ser adotados para reduzir o estresse durante o manejo, conforme indicação de Harvey e Carolsfeld (1993). São eles: reduzir a superpopulação de peixes apreendidos na rede, durante a captura; devolver os peixes ao tanque cuidadosamente, sem nunca jogá-los; sempre molhar as mãos e os equipamentos utilizados no manejo, para minimizar a retirada de muco e a perda de escamas; cobrir os olhos dos peixes com um pano úmido, sempre que possível; desenvolver técnicas para segurar os peixes sem maltratá-los; reduzir o ruído sonoro durante o manejo; utilizar, para

peixes de água doce, água levemente salinizada durante o transporte dos peixes (1 a 2% de NaCl) e adicionar oxigênio quando o transporte for mais longo ou a densidade for elevada.

A administração de anestésicos pode auxiliar durante as práticas de reprodução. Apesar disso, a maior parte do estresse causado pelo manejo de grandes reprodutores utilizados na piscicultura ocorre durante a fase de captura (HARVEY & CAROLSFELD 1993), no momento anterior àquele em que se pode administrar anestésico. Adicionalmente, há a necessidade de manejos repetidos dos peixes em curto espaço de tempo (1-3 dias), para a seleção, a pesagem, a aplicação do hormônio e a posterior extrusão dos gametas, condição que exigiria a repetição do uso de anestésicos em cada manejo. Considerando essas limitações, quando são utilizadas espécies dóceis ou linhagens domesticadas, e o manejo reprodutivo não impõe um estresse acentuado, a simples utilização de boas práticas de manejo pode eliminar a necessidade do uso de anestésicos. Porém, caso necessário, pode ser feita a utilização de anestésicos para reduzir a atividade e o metabolismo dos peixes durante a seleção, transporte, pesagem e biópsia dos reprodutores. Uma lista de produtos químicos que podem ser utilizados para sedar peixes é apresentada por Kubitza (1999). Em alguns casos, o uso de anestésicos pode interferir na qualidade dos gametas. Por exemplo, o contato do anestésico MS-222 (metanosulfonato de tricafina) não diminui a qualidade dos ovos, porém reduz a motilidade do esperma em reprodutores de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (WAGNER *et al.*, 2002). Assim, é recomendado o banho dos peixes em água isenta de anestésico anteriormente à extrusão dos gametas (POPOVIC *et al.*, 2012). A situação ideal seria o uso da técnica de desova natural com indução ambiental, em que não há necessidade de manipulação dos peixes (HARVEY & CAROLSFELD 1993), já que o aumento excessivo dos níveis de estresse dos peixes submetidos ao manejo causa efeito negativo na reprodução (SOSO *et al.*, 2008; SCHRECK 2010). Apesar disso, nem todas as espécies respondem a essa técnica, sendo, em alguns casos, necessário o manejo para a aplicação de hormônios e induzir artificialmente a desova (REYNALTE-TATAJE *et al.*, 2013).

2.2.4. Obtenção dos ovos:

As fêmeas de várias espécies de peixes submetidas ao tratamento de indução hormonal iniciam a liberação dos ovócitos na presença de machos, após a ovulação (WOYNAROVICH & HORVÁTH 1983). Nesse caso, os ovócitos são fertilizados pelos machos dentro do tanque sem a interferência do produtor e é denominada “reprodução induzida com desova natural” ou “desova seminatural”. Apesar da redução do manejo dos peixes para a extrusão dos gametas, que

em espécies mais sensíveis resulta no aumento da taxa de sobrevivência dos reprodutores após a desova (REYNALTE-TATAJE *et al.*, 2002), a desvantagem da desova seminatural está relacionada com a necessidade de remoção dos ovos do tanque e transferência para as incubadoras. Esse manejo prejudica o desenvolvimento normal dos embriões e aumenta a possibilidade de infecção dos ovos por fungos, reduzindo assim a taxa de sobrevivência dos ovos e a qualidade das larvas (BERMUDEZ *et al.*, 1979).

Considerando que algumas espécies de peixes, quando em condições de cativeiro, não liberam os ovócitos espontaneamente após a ovulação, é necessária a retirada dos gametas por extrusão (WOYNAROVICH & HORVÁTH 1983). Essa é a técnica mais utilizada no Brasil e apresenta bons resultados para diferentes espécies de peixes (ZANIBONI-FILHO & BARBOSA 1996; SATO 1999), além da vantagem de reduzir a mão-de-obra operacional e permitir um maior controle da produção. Outras vantagens da desova por extrusão são destacadas por Harvey e Carolsfeld (1993).

A técnica de desova por extrusão consiste na retirada das fêmeas imediatamente após a ovulação, quando os ovócitos estão soltos na luz do ovário, e por meio de pressão abdominal induzir a saída dos ovócitos pela papila urogenital (ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004). O mesmo procedimento é utilizado para a retirada do sêmen, sendo ambos os gametas recolhidos em recipientes secos para posterior mistura. Os reprodutores devem ser secos antes do início da extrusão, garantindo que os gametas não entrem em contato com nenhuma quantidade de água, condição que reduz a duração da viabilidade dos gametas. É necessário ainda determinar o momento exato da ovulação das fêmeas para garantir a obtenção de gametas de boa qualidade (BROMAGE *et al.*, 1994). A retirada dos ovócitos antes ou depois de determinado tempo da ovulação pode comprometer a qualidade das larvas e proporcionar baixas taxas de fertilização (SPRINGATE *et al.*, 1984).

A fertilização a seco tem a vantagem de ampliar o tempo para o manejo dos gametas, permitindo a separação e a quantificação da desova nas porções a serem estocadas nas distintas incubadoras, além de aumentar a taxa de fertilização (ZANIBONI-FILHO & NUÑER 2004). Após a mistura dos ovócitos com o sêmen, é adicionada água para ativação dos gametas. A quantidade a ser adicionada, porém, precisa ser dimensionada: a inclusão de água em excesso causa a diluição do sêmen e a diminuição das chances de encontro dos gametas para a fertilização, da mesma forma que uma quantidade insuficiente pode causar a obstrução da micrópila pelo muco do ovário ou mesmo pelo contato de outro óvulo (WOYNAROVICH & HORVÁTH 1983).

A quantidade de ovócitos liberados pela fêmea em cada desova, conhecida como fecundidade, é dependente do volume da cavidade celomática disponível para alojar ovários maduros e do volume desses ovócitos (VAZZOLER

1996). O tamanho dos ovócitos maduros é bastante variável entre as espécies de peixes. Porém, avaliando mais de uma centena de espécies, Wootton (1990) verificou que variam entre 250 e 7000µm. A fecundidade dos peixes tende a aumentar com o crescimento do peixe, sendo mais relacionada ao comprimento do que com a idade (VAZZOLER 1996). Esse aumento na fecundidade dos peixes com o crescimento é atribuída à existência de uma fonte renovável e contínua de novos ovócitos a partir das células do epitélio folicular (CHAVES 1991). Dessa forma, a fecundidade de peixes pode ultrapassar facilmente um milhão de ovócitos produzidos em uma única desova. Considerando a fecundidade do dourado (*Salminus brasiliensis*), segundo Morais-Filho e Schubart (1955), cada quilo de fêmea produz em média 141.000 ovócitos. Assim, um dourado fêmea de 20kg produzirá aproximadamente 3.000.000 de ovócitos em uma única desova.

2.2.5. Incubação dos ovos:

A espessura e dureza da membrana do ovo podem variar conforme a espécie (WOYNAROVICH & HORVATH 1983), além do diâmetro que esse ovo atinge após a completa hidratação, condição que influi diretamente sobre a densidade dele. Essas variações exigem condições distintas de incubação dos ovos para garantir a eficiência de funcionamento das incubadoras para cada espécie (WOYNAROVICH 1986). Apesar disso, o autor descreve algumas exigências que são comuns aos ovos de peixes, devendo ser garantidos elevados teores de oxigênio dissolvido, temperaturas adequadas, um mecanismo eficiente para remoção dos metabólitos, bactérias e outros organismos nocivos que se desenvolvem na matéria orgânica, evitando sempre romper ou danificar mecanicamente os ovos. Vários autores têm relacionado os diferentes métodos de incubação, descrevendo o mecanismo de funcionamento, as vantagens e desvantagens de cada um deles (HUET 1978; WOYNAROVICH & HORVATH 1983; WOYNAROVICH 1986; KAFUKU 1989; ZANIBONI-FILHO 2000).

A determinação do fluxo de água ideal para cada tipo de incubadora e de ovo é extremamente importante para o sucesso da incubação. A forte correnteza provoca o desnudamento dos ovos, sendo facilmente observada a presença de células soltas no espaço perivitelínico (WOYNAROVICH 1986). A respiração dos ovos e larvas de peixes é feita por difusão direta, de modo que exige a presença de elevados teores de oxigênio dissolvido na água para garantir a sobrevivência dos embriões. Adicionalmente, há um aumento da demanda de oxigênio pelo embrião com o seu desenvolvimento. Por exemplo, considerando o consumo de oxigênio pelos ovos de tainha *Mugil cephalus* na fase de fechamento

do blastóporo, esse valor é aumentado em sete vezes quando os ovos estão embrionados e passa a ser dez vezes maior no momento da eclosão (WALSH *et al.*, 1989).

2.2.6. Larvicultura:

A larvicultura pode ser realizada de modo extensivo, quando a criação é feita em tanques ou viveiros externos, expostos à condição ambiental natural e explorando alimentação natural produzida para nutrir os peixes, podendo ou não fazer a complementação do alimento com rações artificiais com pequena granulometria. Outra possibilidade é a larvicultura intensiva, normalmente realizada em ambientes fechados e com maior controle das condições ambientais. Neste caso, os peixes dependem da alimentação fornecida por meio de dietas artificiais e possibilita um aumento da densidade de criação, conforme explicitado a seguir:

a) Larvicultura extensiva: A dependência da produção do alimento natural, para suprir as necessidades nutricionais dos peixes, exige a responsabilidade do pesquisador responsável, perante a CEUA, para serem mantidos os níveis adequados de nutrientes para sustentar a cadeia trófica. O abastecimento de água dos viveiros está normalmente restrito à reposição de perdas por evaporação e infiltração, sendo evitadas as trocas de água. Essa condição de criação faz com que os tanques e viveiros de piscicultura sejam caracterizados pelas grandes variações nos parâmetros abióticos, principalmente na camada superficial, causada pela atividade fotossintética (HINO 1985). Apesar disso, essa grande amplitude de variação das condições ambientais parece ser tolerada pelas larvas de peixes, sem causar redução na taxa de sobrevivência (ZAIKONS & BALDISSEROTTO, 2000; ZANIBONI-FILHO *et al.*, 2002). Nesses viveiros de piscicultura, existe uma cadeia alimentar baseada nas algas e outra baseada nas bactérias e detritos (PORTER 1977), sendo que as bactérias são mais bem adaptadas, energeticamente, aos ambientes eutróficos (HINO 1985), como são os viveiros onde se desenvolve a larvicultura extensiva. Dessa forma, o aumento da produtividade final de alevinos depende do acréscimo da quantidade de adubo utilizado na preparação dos tanques, devendo crescer proporcionalmente até a adição de uma determinada quantidade de adubo, quando a deterioração da qualidade de água passa a reduzir a produtividade (ZANIBONI-FILHO 1992). Nesse sistema de larvicultura, os melhores resultados de produtividade final de juvenis têm sido obtidos com a estocagem mínima de 200 larvas/m² de viveiro (FONTES *et al.*, 1990; ZANIBONI-FILHO 1992).

b) Larvicultura intensiva: Nesse sistema de criação, a produção do alimento natural é desconsiderada

e o fluxo de água é mantido elevado, mantendo um pequeno tempo de residência da água no ambiente de criação. Há possibilidade de maior controle das condições ambientais, apesar da completa dependência qualitativa e quantitativa do alimento artificial. Esse sistema de larvicultura é mais caro, necessita de maior qualificação e demanda da mão-de-obra envolvida. Apesar disso, tem uma produção final mais garantida do que aquela feita no sistema extensivo, onde há uma enorme dependência das condições ambientais e menor controle da condição de criação. A produtividade esperada, considerando o exemplo obtido com o tambaqui (*Colossoma macropomum*), pode ultrapassar a 2000 juvenis/m² (PÉREZ *et al.*, 1986).

2.3. Transporte de peixes

O transporte de peixes muitas vezes é necessário, tanto para obtenção dos animais quanto no traslado entre diferentes laboratórios. Este processo pode ser estressante para os peixes, especialmente se não for feito adequadamente. O transporte em si já pode ser estressante, como veremos a seguir, mas a preparação, por si só, pode configurar estresse para os peixes, uma vez que é necessário os capturar e os transferir para o meio de transporte. É necessário muito cuidado durante a captura e acondicionamento pré-transporte para evitar perda de muco e escamas e a ocorrência de injúrias, que resultam em uma janela para troca osmótica e para ação de patógenos, bem como reduzir ao mínimo necessário o tempo de exposição aérea dos peixes. Os animais devem possuir a documentação ambiental e sanitária segundo a legislação vigente. Caso não provenham de vida livre, o estabelecimento deve possuir cadastro no órgão de Defesa Sanitária. Caso provenham de vida livre, o ato deve atender normatização vigente do órgão ambiental. O transporte pode ser feito em sistema fechado ou aberto (BERKA 1986). O sistema fechado mais amplamente utilizado consiste no transporte em sacos plásticos selados, contendo uma parte de água, onde são acondicionados os peixes, e a injeção de duas ou mais partes de oxigênio puro antes de selar o saco plástico.

A proporção de oxigênio/água depende da duração do transporte, sendo necessária maior quantidade de gás em transportes mais longos. Pode-se utilizar ensacamento duplo, ou seja, com um saco dentro do outro, para reduzir o risco de vazamentos e perda de oxigênio e água, ocorrência esta que pode levar os peixes à morte. Esse tipo de sistema é mais indicado para peixes menores (larvas e juvenis) e espécies que não possuem acúleos (também chamados de “espinhos”). Acúleos são raios enrijecidos presentes nas nadadeiras de algumas espécies de peixe e podem perfurar o saco de transporte resultando em vazamentos. Já o sistema aberto consiste em caixas de transporte, variáveis em

formato e tamanho. As caixas são cheias de água e devem ser dotadas de bombas portáteis para aeração constante durante o transporte (BERKA 1986). É a forma de transporte mais indicada para espécimes de maior tamanho e para espécies que possuem acúleos perfurantes.

O tempo de transporte também é um fator determinante para o método utilizado. Períodos mais longos podem exigir que o transporte seja feito em sistema aberto, que possui aeração constante, uma vez que há limitações na quantidade de oxigênio que pode ser contido no sistema fechado. A densidade também é um fator importante. Altas densidades podem resultar em injúrias na pele, devido ao contato físico entre os peixes. Assim, recomenda-se que a proporção mínima entre o volume de peixes e o volume de água durante o transporte seja de 1:3 para indivíduos maiores e até 1:100 a 1:200 para indivíduos menores, sendo que a recomendação pode variar de espécie para espécie (BERKA 1986).

A densidade também pode afetar outro fator muito importante durante o transporte: a qualidade da água. Quanto maior a densidade ou mais prolongado o transporte, maior o acúmulo de excretas na água e também maior a alteração dos parâmetros físico-químicos desse meio. A manutenção da temperatura adequada da água é muito importante, não apenas porque os peixes são ectotérmicos e, portanto, sua temperatura corpórea e metabolismo dependem da temperatura do meio, como também a temperatura influencia o pH, a fração não ionizada de amônia e a solubilidade de gases na água. Se a temperatura da água cair durante o transporte, o metabolismo dos peixes é reduzido, e se a temperatura subir durante o transporte, a solubilidade do oxigênio diminui, por isso deve-se tomar muito cuidado em transportes prolongados para que a temperatura da água não se altere em demasia.

A respiração dos peixes resulta na excreção de CO_2 e o aumento da concentração desse gás na água circundante reduz a capacidade dos peixes de excretá-lo. Se o CO_2 se acumula no sangue dos peixes, ocorre acidificação sanguínea, o que resulta em redução do transporte de oxigênio pelo efeito Root (a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio é menor em meios de pH mais baixos) (RANDALL & LIN 1993). Ainda, a concentração elevada de CO_2 na água de transporte pode levar à acidificação da água (MACINTYRE *et al.*, 2008). Um indicativo de que os níveis de CO_2 na água de transporte estão elevados é a redução de atividade e até perda de equilíbrio dos peixes, uma vez que esse gás possui um efeito anestésico (MORAN *et al.*, 2008). O principal composto nitrogenado liberado pelos peixes é a amônia, que é excretada por meio das brânquias. A amônia em altas concentrações é tóxica. O aumento da temperatura e do pH aumentam a concentração de NH_3 na fração de amônia total, dificultando a excreção de amônia pelo peixe. Portanto, o cuidado para que a temperatura da água não aumente durante o transporte também ajuda a evitar o aumento da toxici

dade da amônia. Uma boa estratégia para a redução da liberação de excretas, especialmente fezes e amônia, durante o transporte, é o jejum de ao menos 24 horas antes desse procedimento, o que pode ajudar a garantir a qualidade da água.

Durante o transporte, os peixes de água doce tendem a perder íons para o meio hiposmótico circundante e podem apresentar hemodiluição, tanto pelo aumento da permeabilidade branquial durante a resposta de estresse como também por meio da perda da impermeabilidade da pele em pontos onde houve perda de escamas e injúrias. A adição de sais, como cloreto de sódio na água, em baixas concentrações, nunca excedendo 0,6% de salinidade (6 g/L), pode reduzir a perda de íons e minimizar a resposta de estresse nos peixes transportados (para metodologia ver CARNEIRO & URBINATI 2001; BENDHACK & URBINATI 2009). Contudo, esse procedimento não funciona bem em algumas espécies (SALBEGO *et al.*, 2017), de modo que se deve verificar caso a caso a utilização do sal.

Por fim, ao término do transporte, a soltura deve ser feita com cuidado. Água dos tanques de destino deve ser adicionada, lentamente, à água do transporte, para aclimatar os peixes a parâmetros como temperatura e dureza da água antes da transferência. Os peixes devem ser inicialmente transferidos para tanques de quarentena e observados antes da soltura nos tanques definitivos de forma a evitar possível contaminação do biotério.

3. Instalações animais

3.1. Tanques de manutenção

A manutenção de peixes para experimentação pode ser feita de diferentes formas e irá depender da capacidade instalada, da unidade de pesquisa e dos objetivos da pesquisa. Abaixo, são listados os principais tanques que podem ser utilizados para manutenção e experimentação dos peixes. A escolha da modalidade depende diretamente do nível de controle de variáveis limnológicas e de acesso ao alimento natural, assim como do delineamento experimental e da forma e frequência de manipulação dos indivíduos ao longo do período experimental. Além disso, há necessidade de se atentar para a geração efluentes, que dependendo do tipo de experimento, pode liberar cargas de material orgânico, bem como de outros contaminantes como antimicrobianos, hormônios, necessitando assim, de um tratamento eficiente a fim de reduzir os impactos negativos ao meio ambiente.

3.1.1. Tanques escavados ou viveiros:

Tanques escavados ou viveiros são estruturas escavadas no solo e podem ser de médias a grandes dimensões. Para que tenham assegurada sua estrutura física, devem ser construídos por profissionais capacitados, pois necessitam de dimensões e inclinações de taludes que se adequem às características na área onde serão construídos. Sua estrutura necessita de manutenção frequentemente (PEREIRA, 2006) e, muitas vezes, de intensa adequação do espaço físico para sua instalação. Por manterem os animais em contato direto com o sedimento, são os que melhor simulam o habitat natural e permitem ainda a manutenção da alimentação natural dos peixes (ZIMMERMANN & FITZSIMMONS 2004), o que deve ser considerado na condução dos experimentos. Há ainda a variação dos tanques escavados que podem ter suas paredes revestidas por cimento ou lonas, o que pode aumentar a vida útil do sistema com menor manutenção, mas exigindo maior investimento. Em sua maioria, os tanques escavados dependem de sistema natural para o enchimento e reabastecimento da água, o que permite o controle do volume de entrada e da qualidade da água. A vazão da água é normalmente regulada por um monge de alvenaria ou um cotovelo articulado, por meio do qual ocorre também o escoamento da sujeira acumulada no fundo. Os sistemas de entrada e saída permitem então a simulação

de circulação de água nos tanques escavados, aumentando ou diminuindo o tempo de residência nestes sistemas e permitindo controle de qualidade de água de entrada e saída durante a condução de experimentos. Por possuir entrada e saída de água, e por permitir o escoamento do fundo, o controle das variáveis limnológicas dos tanques escavados é maior, permitindo um maior controle das condições experimentais. Atendendo o conceito sanitário e às normas da Organização Mundial da Saúde Animal (OIE), todo ambiente, antes de iniciar a manutenção ou entre os ciclos de manutenção de animais, deverá passar por um vazão sanitário, momento em que o tanque não abrigará animais ou água por período necessário à perda de infectividade de patógenos. Segundo Queiroz (2012), a manutenção dos viveiros deve ser feita adequadamente adotando-se boas práticas aquícolas (BPA). As BPA, como calagem, secagem, aração, fertilização, revolvimento de fundo e fertilização, devem ser adotadas para que a boa qualidade do solo seja mantida e minimize fatores que ocasionam o estresse nos peixes e o surgimento de doenças. A periodicidade de adoção destes procedimentos irá depender diretamente do estudo das condições dos viveiros. Para uso de tanques escavados em experimentos os peixes podem ser distribuídos livremente nos tanques e cada tanque ser considerado uma unidade experimental. Em alternativa, gaiolas ou tanques-rede podem ser instalados nos tanques escavados (MAINARDES-PINTO *et al.*, 2003), permitindo, assim, que um único viveiro comporte mais de uma unidade experimental. Em tanques escavados o manejo dos animais em experimentação é mais difícil, pois, para retirar os indivíduos há que se promover a despesca com passagem de redes, o que pode estressar os animais e alterar suas respostas fisiológicas. Também há maior competição por alimento, se o processo de arraçoamento não for feito de forma adequada, o que pode desuniformizar os lotes experimentais. Em unidades de ensino e pesquisa são mais comumente usados para manutenção de animais ou para experimentos de desempenho e reprodução.

3.1.2. Tanques de lona:

São estruturas modulares, normalmente menores que as dimensões dos tanques escavados. Sua mobilidade permite o deslocamento da estrutura e manuseio. Também requerem manutenção. Porém, a adequação da área para instalação pode ser menor do que a dos tanques escavados. Podem ser utilizados para produção, manejo, quarentena, manutenção e pesquisas de várias naturezas, além de serem os mais recomendados para criação/manejo de larvas de peixes ou alevinos. Os tamanhos dos tanques de lona irão variar de acordo com a capacidade instalada do laboratório e o objetivo das pesquisas a serem realizadas. Assim como as demais estruturas descritas, os peixes podem ser

distribuídos livremente nos tanques ou serem separados em gaiolas para maior controle. Por não ter contato com o ambiente natural, nestes sistemas os peixes dependem diretamente da alimentação externa. Por serem sistemas mais controlados, devem ter maior atenção no processo de renovação e manutenção da qualidade da água. Desta forma, normalmente devem ser instalados filtros para remoção dos resíduos físicos e biológicos. Por esta característica, estes sistemas são relativamente mais caros que os anteriores, porém, suportam maior capacidade animal. Estes sistemas dependem totalmente dos filtros para que suas condições ideais de manutenção dos peixes sejam mantidas. Os filtros devem ter funcionalidade biológica (permite o crescimento de microorganismos favoráveis ao ambiente); química (carvão ativado, que elimina impurezas tóxicas) e mecânica (remove fezes e ração não consumida). Os filtros devem ser periodicamente verificados, de modo a não comprometer a qualidade da água e garantir o bem-estar dos animais (SCHNEIDER *et al.*, 2009). Os tanques de lona, quando de maior dimensão, também permitem o uso de gaiolas para dividir os grupos experimentais e facilitar o manejo dos animais.

3.1.3. Aquários ou caixas:

Sistemas experimentais que utilizem caixas plásticas ou aquários de vidro são uma opção prática e de menor custo, além de permitirem deslocamento das estruturas e alterações nas configurações. Podem ser utilizadas caixas ou aquários individualizados, sendo cada um uma unidade experimental fechada ou em unidades interligadas entre si, formando sistemas fechados de recirculação de água. Ambos devem ser dotados de sistemas de filtro físico e biológico, caso o experimento seja conduzido por um período maior. Caso não haja sistema de filtro, é necessário fazer renovação de água e remoção dos resíduos. O sistema de filtros é necessário para limpeza e remoção de resíduos e demais impurezas presentes no ambiente. A filtração biológica permite reduzir compostos orgânicos nitrogenados pela ação de bactérias aeróbias; a filtração química elimina as pequenas partículas e odores; a filtração mecânica retira partículas maiores, que geralmente se depositam no fundo dos aquários. Os filtros podem ser externos ou internos. A vantagem deste tipo de sistema é a reutilização da água, passando por etapas de filtragem até ficarem adequadas novamente a todas as condições de qualidade de água exigidas. Recomenda-se fazer a troca parcial da água e limpeza dos filtros frequentemente, desde que essa prática não comprometa as pesquisas em andamento. Em experimentos de Toxicologia com exposição hídrica, não devem ser utilizados filtros, pois o contaminante ficará retido. Nestes casos, deve-se apenas trocar a água e sifonar o fundo para remover os resíduos. Assim como nos tanques de lona, o controle das con-

dições ambientais nos aquários e caixas é maior. Além das questões já descritas sobre o uso de filtros e remoção de resíduos nos aquários, o controle de variáveis como temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido, amônia, nitrito e nitrato também é possível. Estes sistemas também permitem a instalação de controle de temperatura, utilizando resistências ou termostatos, o que permite o ajuste preciso da temperatura adequada à espécie utilizada. A limpeza do aquário ou caixas deve ser realizada com água limpa e uma esponja ou pano limpo. A cada despesca, realizar a limpeza e a desinfecção de toda a estrutura física, equipamentos e utensílios utilizados no manejo dos animais. Para higienização e desinfecção podem ser utilizados métodos físicos e químicos. Caso seja utilizado cascalho, canos de policloreto de vinila (PVC) para abrigos dos animais, ou qualquer objeto de enriquecimento ambiental, estes deverão ser bem lavados com água corrente previamente ou utilizar métodos físicos e químicos. Peixes mantidos em aquários nos laboratórios de pesquisa podem estar alocados em ambientes que comprometem seu bem-estar, contudo, o enriquecimento ambiental torna a manutenção destes animais mais confortável, sendo o ambiente modificado em prol do bem-estar, incluindo aspectos comportamentais, reprodutivos, etc. (DELICIO *et al.*, 2006; BRYDGES & BRAITHWAITE 2009). Os aquários geralmente são de vidro, mas podem ser de polietileno ou acrílico, opacos ou transparentes, formas diferenciadas e tamanhos variados, obedecendo as propostas do estudo em questão. São indicados para experimentos de toxicidade de compostos, comportamento animal, reprodução, criação, entre outros objetivos. Admitem-se pequenas inclinações, normalmente da ordem de 2%, para facilitação dos processos de escoamento de dejetos. Esta característica poderá variar em função dos projetos e sistemas de filtragem propostos. Já o interior dos tanques ou aquários deve ser, preferencialmente, liso, isento de porosidades ou deformações que facilitem a formação de biofilmes microbianos, que dificultam a sua higienização. Deve-se atentar ainda para que o local possibilite fácil acesso ao aquário e segurança para o condutor do experimento, facilitando o processo de coleta dos animais para manuseio ao longo do período experimental. O local de instalação do aquário deve ser escolhido cuidadosamente, evitando locais com excesso de iluminação natural, barulhos e ruídos, trânsito de pessoas ou veículos e demais agentes estressores para os peixes. Cuidados com o macroambiente para a instalação de aquários ou caixas (biotério ou sala de manutenção de peixes) devem ser considerados, o piso deve ser de material impermeável e resistente, as paredes e teto pintados com tinta resistente e lavável, ausência de janelas, portas de material resistente e impermeável, não utilizar mobiliário de madeira e similares, controlar a temperatura e umidade do macroambiente com uso de termohigrômetro, ralo sifonado e com fechamento, etc. É recomendado a instalação de salas anexas, como por exemplo, sala de procedimentos (cirurgia, coleta de amostras, eutanásia), depósito de insumos e de resíduos. Nos sistemas de aquário ou caixas é mais comum o uso de aeração

para manter os níveis adequados de oxigênio dissolvido na água, elemento indispensável para a manutenção da vida dos peixes. Porém, os sistemas de tanques escavados de lona e tanques-rede também podem utilizar a oxigenação para simulações experimentais. Sugere-se utilizar compressores de ar ligados a tubos ou mangueiras, em substituição a equipamentos de pequeno porte, quando o estudo for de longa duração ou a estrutura for de grande porte (GOUVEIA *et al.*, 2006). A iluminação dos ambientes de experimentação, quando realizado em ambientes controlados, deverá ser adequada à espécie e ao experimento em questão, considerando que ambientes demasiadamente iluminados podem contribuir para o desenvolvimento de algas verdes e ambientes com pouca iluminação favorecem a formação de algas marrons. Diariamente, deve-se verificar o funcionamento dos equipamentos como aeradores ou bombas de aeração, aquecedores, além de monitorar a temperatura, visando não comprometer o bem-estar dos peixes. Antes de receber os animais, recomenda-se que o ambiente passe por um período mínimo de maturação superior a três dias.

3.1.4. Tanques-rede:

Tanques-rede são gaiolas, quadradas ou cilíndricas, constituídas de material resistente e seguro, para resistir ao manuseio (geralmente metal). Devem ser completamente fechadas por tela, inclusive a parte superior, para prevenir o ataque de predadores e fornecer sombreamento. As telas variam o tamanho de sua malha em função da fase de desenvolvimento e tamanho dos peixes. Os tanques-rede podem variar de tamanho, dependendo do número e do tamanho dos animais confinados e são medidos em m³. Deve ter acoplado à gaiola um sistema que permita sua flutuação na água. Nas gaiolas, geralmente existe um comedouro ou pode-se adaptar a forma de alimentação de acordo com os objetivos dos experimentos em questão (PEREIRA 2006). Os tanques-rede não obstruem a passagem de água, promovendo fácil circulação, sendo possível utilizar recursos hídricos já existentes como rios e reservatórios. Esta característica é contrária aos demais sistemas, pois dificulta a manutenção de condições controladas do ambiente. Por isso, muitas vezes este sistema experimental é escolhido para experimentos de desempenho animal e simulação de condições reais de produção. A escolha deste sistema deve ter em mente a dificuldade de controle de vazão e de variáveis físico-química na área interna dos tanques rede. Como dito anteriormente, podem ser instalados em tanques escavados ou de lona, pois permitem melhorar o manejo dos animais em experimento.

3.1.5. Quarentenário:

Estabelecimento que garante condições de biossegurança destinadas à recepção de animais aquáticos após o processo de importação, exportação e trânsito nacional de animais aquáticos; uma estrutura que possibilita manter em quarentena desde larvas até reprodutores. O espaço tem por objetivo oferecer o serviço de controle sanitário e de saúde dos animais trazidos de outros países ou de diferentes bacias hidrográficas, reduzindo o risco de introdução e de disseminação de doenças. Para obtenção do credenciamento, os estabelecimentos quarentenários deverão cumprir com as exigências e normas previstas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), mais precisamente pela sua Coordenação de Animais Aquáticos, do Departamento de Saúde Animal, normativa MAPA Nº 04, de 04 de fevereiro de 2015. A infraestrutura deve ser isolada de modo impedir a entrada de contaminantes e dividido em ambiente interno (sala de quarentena) e externo (vestiário, sala administrativa, sala para lavagem de equipamentos e depósito de resíduos sólidos) identificados quanto a sua finalidade. A sala de quarentena deverá dispor de manilúvio adequado à lavagem de equipamentos de uso diário e das mãos, deverá dispor de produto antisséptico para as mãos, papel-toalha e recipientes coletores (lixeira). O piso das instalações, os reservatórios, os equipamentos e os utensílios utilizados no manejo dos animais, bem como os recipientes para descarte de resíduos sólidos.

3.2. Qualidade da água

3.2.1. Parâmetros de qualidade da água:

No âmbito da piscicultura, o micro-habitat consiste do espaço onde os peixes serão acondicionados e todos os acessórios que compõem o ambiente onde os peixes são mantidos.

A qualidade da água é o principal fator entre os que compõem o micro-habitat. Cada espécie de peixe mantida em cativeiro pode ter diferentes condições ótimas de manutenção, bem como apresentar diferentes faixas de tolerância para as alterações nas condições físico-químicas da água. Embora as faixas de tolerância a determinados parâmetros possam ser amplas, alguns processos, como a postura de ovos, fertilização externa, crescimento e sistema imune, podem sofrer impactos consideráveis com pequenas variações nos espectros de tolerância. Cabe aos pesquisadores investigar quais são as melhores condições de manejo da espécie escolhida, antes de iniciar sua criação.

Nesse contexto, a qualidade da água é o principal fator a ser monitorado com regularidade quanto às suas propriedades físico-químicas, uma vez que alterações nos padrões preestabelecidos podem causar impactos consideráveis ao criadouro.

A frequência da checagem da qualidade da água deve obedecer a um sistema de periodicidade, levando em consideração a velocidade em que cada fator sofre alterações significativas. Para determinação dessa periodicidade, as primeiras checagens devem ser diárias e calculadas, levando em consideração a densidade populacional do tanque. Ainda há a possibilidade de observação de alguns indicativos visuais que podem servir de alerta para checagem de qualidade da água, tais como: atividade locomotora, agressividade, lesões ou manchas cutâneas, mortalidade, turbidez da água, quantidade de matéria orgânica na água, entre outros fatores que serão citados a seguir.

3.2.2. Origem da água:

Conforme o tipo de cativeiro, a água que irá abastecer os tanques pode ser proveniente preferencialmente de um corpo d'água natural (nascente, lago, córrego) ou, alternativamente, fornecida diretamente do sistema municipal de abastecimento. De qualquer forma é de extrema importância que, entre o tanque de criação e a fonte de água, haja um ponto de checagem da qualidade da água que irá entrar em contato com os animais, a chamada água de uso. Por meio do ponto de checagem, pode-se verificar possíveis alterações causadas por poluição, em caso de fonte natural, bem como um aumento nas concentrações de químicos como cloro, usado pelo fornecedor municipal, podendo assim condicionar a qualidade da água previamente, como uma medida profilática.

3.2.3. Filtragem de água:

A água ainda pode sofrer filtragem por sistemas diversos, a fim de garantir melhor controle de seus parâmetros. Um sistema de osmose reversa pode ser usado para garantir controle, mas é importante garantir o reequilíbrio das condições iônicas adequadas para a espécie em questão, uma vez que este tipo de filtração diminui drasticamente os íons na água (BU-ALI *et al.*, 2007).

Existem diversos tipos de filtros e a escolha depende do tipo de tanque, preferência dos experimentadores, potencial sensibilidade dos animais à presença do filtro, entre outros fatores. A escolha dos filtros também impacta a

rotina dos biotérios e criadouros, uma vez que requerem manutenção para a garantia da qualidade de água. Os filtros comumente incluem elementos de filtração mecânica para remoção de partículas (peneiras, fibras ou polímeros com diferentes porosidades), filtração química ou de absorção de partículas (comumente carvão ativado). Além disso, comumente os elementos filtrantes de aquários com baixa taxa de renovação de água incluem peças de cerâmica ou polímeros sintéticos que abrigam bactérias nitrificantes que fazem a conversão de amônia, nitrato e nitritos, a fim de reduzir sua concentração, ou, no caso de tanques escavados e viveiros, pode-se utilizar ainda plantas aquáticas do gênero *Eichhornia*, mais conhecidas como aguapé, reconhecidamente agente filtrante natural, (JAFARI *et al.*, 2006; TODD & JOSEPHSON 1996). No entanto, alguns fatores devem ser observados previamente, uma vez que alterar a composição, densidade e distribuição de espécies vegetais flutuantes, podem afetar significativamente populações cultivadas (WANG *et al.*, 2018).

Aquários de vidro geralmente possuem filtros individuais em formato de torre mantidos em seu interior, ou em cascata em suas paredes laterais. Sistemas semi-fechados recirculantes muitas vezes usam filtros coletivos para a água de diversos aquários e incluem os elementos de filtração supramencionados e a possibilidade de inclusão de fontes de radiação UV para esterilização da água antes do retorno aos aquários. No caso de aquários, os sistemas de filtração comumente são também os responsáveis pelo aporte de oxigênio na água. Por isso, deve-se levar em consideração a capacidade de vazão dos filtros em relação ao volume do aquário.

3.2.4. Temperatura:

Por serem animais ectotérmicos, os peixes são dependentes da temperatura do ambiente para manutenção da sua temperatura corporal, ficando assim suas atividades fisiológicas intimamente relacionadas à temperatura da água. Embora possam suportar uma grande variação na temperatura, cada espécie possui uma faixa considerada ideal em que melhor está adaptada e se desenvolve de forma eficiente (BOLTAÑA *et al.*, 2017; O'GORMAN *et al.*, 2016). Lembrando que mesmo suportando grandes variações de temperatura, uma mudança abrupta de temperatura na faixa de $\pm 5^{\circ}\text{C}$, pode caracterizar um choque térmico, tanto em casos de hipertermia quanto de hipotermia, podem ter como consequência aumento da taxa de mortalidade (DONALDSON *et al.*, 2008; SHENG & XU 2008). Para peixes endêmicos de regiões tropicais, a temperatura ideal fica em torno de $24\text{-}28^{\circ}\text{C}$, embora na natureza estejam sujeitos a maiores variações de temperatura, o reflexo dessas variações está na menor taxa de reprodução e desenvolvimento (GARCIA

et al., 2008).

3.2.5. Termorreguladores:

Os aquecedores podem ser simples, necessitando de regulação manual e monitoramento frequente da temperatura ou ligados a um termostato que irá regular a temperatura da água, conforme o préestabelecido em seu controle, independentemente da temperatura externa. Já um aquecedor simples não manterá a temperatura da água do aquário estável se houver variações na temperatura externa.

A aferição da temperatura da água deve ser realizada diretamente no tanque onde os animais são mantidos, lembrando que, em casos de tanques com lâmina d'água superior a 0,90m, deve-se mensurar a temperatura na superfície e na parte mais profunda do tanque, uma vez que podem apresentar diferentes temperaturas. Para mensurar a temperatura, pode-se usar termômetro de mercúrio, termômetros digitais com sonda permanentemente mergulhada no tanque ou ainda termômetros digitais de bolso.

3.2.6. pH:

Um dos parâmetros que podem sofrer variação com maior frequência em um sistema de criação de peixes é o pH, isso devido a uma série de fatores inerentes ao micro ecossistema, onde a interação entre os fatores bióticos e abióticos é intenso. Entre os fatores que podem contribuir para variação no pH da água no sistema de criação estão: Carbonatos provenientes de pedras, corais, fotossíntese realizada por algas ou outras plantas liberando CO², nitrificação por bactérias, decomposição de alimentos, excretas, entre outros.

O balanço (ou equilíbrio) acidobásico é crítico para a fisiologia da maioria dos organismos vivos, principalmente para os vertebrados, entre eles, os peixes. A principal estrutura responsável pela troca de compostos acidobásico em peixes é o epitélio branquial, que pode sofrer alterações histológicas, conforme o estado físico-químico da água, assim prejudicando o equilíbrio osmótico e a respiração (CLAIBORNE *et al.*, 2002; GOSS *et al.*, 1998; REIS *et al.*, 2009). Em casos de pH muito baixo (≈3), essas modificações acabam causando aumento de muco no epitélio branquial, podendo levar o peixe à morte por anoxia, além de prejudicar o equilíbrio iônico, inibindo a captação de Na⁺ (EVANS 2005; PACKER & DUNSON 1972).

Variações no pH ainda podem prejudicar a viabilidade dos ovos, bem como o desenvolvimento de larvas e alevinos. Foi observado que pH abaixo de 6,0 diminui a taxa de sobrevivência e a qualidade de embriões. Embora a tolerância possa variar de acordo com a espécie, o pH ideal para o melhor desenvolvimento e viabilidade de embriões da maioria das espécies é o neutro (NASCIMENTO *et al*, 2007; REYNALTE-TATAJE *et al.*, 2015).

A maneira mais eficaz de controle dos níveis de pH é por meio da verificação periódica, que deve ser determinada de acordo com as características de cada tanque, uma vez que o tempo para variação do pH depende de fatores como a densidade no tanque, renovação da água, regime de alimentação, sistema de filtragem, composição do micro-habitat, entre outros. A verificação pode ser realizada a partir de uma amostra coletada da parte mais centralizada do tanque. O pH pode ser mensurado, utilizando indicadores de pH em forma de fitas ou reagentes líquidos halocrômicos, ou ainda utilizar medidores digitais, que conferem maior precisão à medida.

Mudanças comportamentais como atividade locomotora e agressividade podem ser um dos indicativos de alteração no pH (WOLFF & DONATTI 2016). Peixes, quando expostos a baixos valores de pH, apresentam comportamento letárgico e um posicionamento corporal angular em relação à superfície da água.

3.2.7. Oxigênio dissolvido:

Oxigênio dissolvido refere-se ao nível de oxigênio livre, que não está ligado a outro elemento presente na água ou em outro solvente. É um parâmetro importante na avaliação da qualidade da água, devido à sua influência nos organismos que vivem dentro de um corpo de água. O oxigênio livre na água, de forma geral, é proveniente de duas fontes;

a) Difusão direta: Absorvendo, na superfície, o oxigênio diretamente da atmosfera, nesse caso, de forma lenta, ou ser misturado, de forma mais rápida, por meio de processos que causem algum tipo de turbilhonamento, como quedas d'água ou correntezas, ou ainda, de forma artificial, por meio de aeradores mecânicos (bombas de ar); e

b) processos de fotossíntese: Em caso de viveiros, a disponibilidade de oxigênio na água é preponderantemente oriunda da fotossíntese realizada por plantas aquáticas e fitoplânctons. No entanto, o aporte de oxigênio dissolvido na água proveniente de fotossíntese sofre variações durante o período de 24hs, apresentando maiores concentrações nos períodos de luz e sofrendo uma queda drástica durante a noite, podendo gerar hipóxia ambiental.

Alguns fatores, como turbidez, temperatura, densidade e salinidade têm influência direta na quantidade de oxigênio disponível na água. Em águas com temperatura elevada, a concentração de oxigênio dissolvido é menor. Primeiro,

porque a solubilidade do oxigênio diminui à medida que a temperatura aumenta, diminuindo a quantidade de oxigênio que a água precisa para alcançar o equilíbrio de saturação com o oxigênio atmosférico. Segundo, porque em temperaturas mais elevadas, há um aumento no consumo de oxigênio, devido ao aumento da taxa metabólica dos organismos presentes na água (CLARKE & JOHNSTON 1999; LEMBI 2001).

As concentrações ideais de oxigênio dissolvido na água variam de acordo com a espécie. Entretanto, para grande maioria das espécies, os níveis ficam entre 5 e 9 mg/L (AVDESH *et al.*, 2012; KRAMER, 1987; MOREIRA *et al.*, 2001).

Alguns comportamentos podem servir de indicativo de baixos níveis de oxigênio dissolvido na água, tais como: a) mudanças na atividade, b) aumento do uso de respiração de superfície aquática e c) mudanças de habitat verticais ou horizontais (KRAMER 1987). Entre as consequências dos baixos níveis de oxigênio dissolvido na água estão a alta mortalidade, baixa taxa reprodutiva e menor taxa de desenvolvimento.

O monitoramento dos níveis de oxigênio deve ser diário, por meio de medidores colorimétricos, ou oxímetros, medidores eletrônicos portáteis ou de sondas permanentes. Em caso de diminuição do aporte de oxigênio dissolvido, algumas medidas emergenciais devem ser tomadas, como utilização de aeradores adicionais e aumento da taxa de renovação.

A utilização de aeradores pode ser permanente, no caso de tanques de pouca ou nenhuma circulação de água ou emergencial, sendo ativados apenas quando os níveis do oxigênio na água estão baixos.

O tipo e a potência do aerador a ser utilizado dependem do volume do tanque e a quantidade de biomassa que se pretende manter nesse espaço. Diversos tipos de sistema de aeração podem ser empregados na criação de peixes. Aeradores de pá (funcionam causando circulação da água, recomendado para viveiros de alta produção e grandes dimensões), ainda podem ser utilizados propulsores de ar, bombas verticais, bombas espersoras e difusores de ar. Embora possa ser calculado o consumo de oxigênio por biomassa no tanque, a forma mais eficiente ainda é o monitoramento diário, sendo necessárias duas checagens diárias em casos de grandes proporções, uma vez que diversos fatores podem alterar as quantidades de oxigênio dissolvido na água.

3.2.8. Salinidade:

A salinidade consiste basicamente da concentração total de todos os sais dissolvidos na água. Uma vez que

essas partículas dissolvidas na água carregam cargas positivas ou negativas, contribuem diretamente na condutividade da água (ZINABU *et al.*, 2002). A maioria dos peixes tolera apenas uma faixa específica de salinidade, ou seja, são ditos estenoalinos. Esses animais habitam exclusivamente ambientes de água doce ou exclusivamente ambientes de água salgada (WURTS 1998). No entanto, existem alguns organismos que podem se adaptar a uma série de salinidades, conhecidos como eurialinos. Estes organismos podem ser eurialinos anádromos, catádromos ou verdadeiros. Organismos anádromos vivem em água salgada, mas desovam em água doce. Nas espécies catádromas ocorre o oposto, ou seja, vivem em água doce e migram para a água salgada para desovar. As espécies eurialinas verdadeiras podem ser encontradas em ambientes de água salgada, doce ou salobra em qualquer ponto de seu ciclo de vida.

A tolerância aos níveis de salinidade de cada espécie depende de sua capacidade fisiológica de adaptação às condições osmóticas, sendo que organismos de água doce são considerados hiperosmóticos, por suas células terem a capacidade de eliminar água e reter íons.

O aumento da salinidade diminui drasticamente os níveis de oxigênio dissolvido na água, sendo assim, um importante fator na criação de peixes, além do fato de que um aumento ou diminuição da salinidade pode ter impacto direto na condutividade da água, afetando assim uma série de atividades metabólicas dependentes da concentração iônica; porém, alterações controladas da salinidade do meio de criação podem ser interessantes, pois são capazes de melhorar a sobrevivência, a fecundidade e o bem-estar de algumas espécies modelo, como, por exemplo o zebrafish e os peixes-rei *Odontesthes bonariensis* e *O. humensis*. Mesmo sendo considerado um peixe de água doce, cuja salinidade nos ambientes naturais de ocorrência varia entre 0 e 0,6‰ (LAWRENCE 2007), a manutenção de zebrafish a uma salinidade de 0,35‰ tem impactos negativos sobre a produção de ovos e sobre a sobrevivência (BOISEN *et al.*, 2003). Por isso, o incremento do nível de salinidade a valores de até 1% é interessante para a manutenção desses animais em laboratório (LAWRENCE 2007; AVDESH *et al.*, 2012). Considerando as condições de manutenção de peixes-rei *O. bonariensis*, a utilização de meios salobros tem potencial para diminuição de perdas econômicas por mortalidade seguida de estresse por manipulação, transporte, altas densidades e baixa qualidade da água (STRÜSSMANN *et al.*, 1996; TSUZUKI *et al.*, 2000, 2001), além do aumento na taxa de sobrevivência de embriões (PIEDRAS *et al.*, 2009). No mesmo sentido, a transferência de peixes-rei *O. humensis* aclimatados a água salobra para água doce é mais estressante para os animais (SILVEIRA *et al.*, 2018), ainda que na natureza esses animais habitem ambientes hiposmóticos. Em vista disso, a salinidade do meio tem um importante papel na garantia do bem-estar dos modelos mantidos em estações experimentais.

As medidas de condutividade são mensuradas por unidades de Siemens, sendo que as concentrações em água doce podem apresentar uma variação de 100-2000 micro Siemens($\mu\text{S}/\text{cm}$), água potável 30-1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$, água marinha 55000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e água destilada 0,5-3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (MCCLESKEY *et al.*, 2011). Os valores de salinidade são medidos por ppt (Parts Per Thousand) ou partes por mil. Águas de rios apresentam em média salinidade menor que 0,5 ppt, estuários apresentam salinidade na faixa de 0,5-17 ppt, enquanto água marinha tem salinidade média de 35 ppt (LIKENS & HARRIS 2009).

3.2.9. Níveis de amônia, nitrito e nitrato:

No ambiente aquático, a amônia pode estar presente na forma dissolvida não ionizada NH_3 , ou na forma ionizada NH_4^+ , ou pode ser medida como amônia total, que é a soma das duas formas $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ (EMERSON *et al.*, 1975). Além da amônia, o nitrogênio pode ser encontrado na água nas formas de nitrato, nitrito, óxido nitroso, amoníaco dentre outros. Em sistema de criação de peixes, a formação de resíduos nitrogenados pode ter origem em fontes diversas, tais como: **a)** excretas dos peixes, principalmente em casos de dietas ricas em proteínas, **b)** fertilizantes a base de amônia e nitratos, e **c)** decomposição aeróbia e anaeróbia de matéria orgânica (SIMON DA SILVEIRA *et al.*, 2009).

O pH exerce grande influência quanto à forma que a amônia está presente na água, sendo que em condições neutras ou ácidas inferiores a 8, a forma NH_4^+ predomina, isso devido ao fato de que, em meio aquoso ácido, a amônia formada é menos estável, sofrendo processo de hidratação, enquanto que, em meio alcalino, esse processo ocorre em menor escala, predominando a forma não ionizada NH_3 (KÖRNER *et al.*, 2001; LI *et al.*, 2012). O cálculo dos níveis de NH_3 na água é importante, não porque NH_3 seja a forma mais tóxica, mas sim porque o aumento da proporção de NH_3 na água leva a uma redução da excreção de amônia pelo peixe, com consequente acúmulo desse metabólito nos tecidos (BALDISSEROTTO 2013).

Níveis elevados de amônia, mesmo que levemente, podem afetar negativamente o ecossistema de um criadouro. Os peixes podem sofrer uma redução no sucesso da eclosão; redução na taxa de crescimento e desenvolvimento morfológico; apresentar lesão no tecido branquial (hiperplasia), danos no fígado e rins (BENLI *et al.*, 2008; EDDY 2005; MEADE, 1985; RANDALL & TSUI 2002).

O elevado nível de amônia nas células do organismo pode interferir em processos metabólicos dependentes de ATP, uma vez que o aumento de amônia diminui a disponibilidade de alfacetoglutarato, importan-

te intermediário no ciclo de Krebs, maior fonte metabólica de ATP. Além disso, o aumento de amônia provoca um aumento significativo de glutamina, e decréscimo de glutamato, o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso (BRAISSANT *et al.*, 2013; MONFORT *et al.*, 2002; SHAFFI, 1980; SUÁREZ *et al.*, 2002). As elevadas concentrações de amônia ainda podem causar distúrbios na regulação iônica devido à alteração histopatológica nas brânquias (BENLI *et al.*, 2008).

A tolerância dos peixes às diferentes concentrações de amônia na água varia conforme a espécie e o estágio de desenvolvimento, além do fato dos valores totais de amônia toleráveis sofrerem variação em função da temperatura, pH e salinidade. Os valores médios seguem conforme tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1: Níveis máximos toleráveis de nitrito para peixes de água doce em mg/L

Cloreto (mg/L)	Nitrito médio (mg.L ⁻¹) (N)
< 2	0,02
2 - 4	0,04
4 - 6	0,06
6 - 8	0,08
8 - 10	0,10
> 10	0,20

Tabela 2: Níveis toleráveis de amônia para ambientes de água doce em mg/L(N)

pH	15°C	16°C	17°C	18°C	19°C	20°C	30°C
6,5	1,77	1,64	1,52	1,41	1,31	1,22	1,1
6,6	1,77	1,64	1,52	1,41	1,31	1,22	1,1
6,7	1,77	1,64	1,52	1,41	1,31	1,22	1,1
6,8	1,77	1,64	1,52	1,42	1,32	1,22	1,1
6,9	1,77	1,64	1,53	1,42	1,32	1,22	1,0
7,0	1,77	1,64	1,53	1,42	1,32	1,23	0,99
7,1	1,77	1,65	1,53	1,42	1,32	1,23	0,95
7,2	1,78	1,65	1,53	1,42	1,32	1,23	0,90
7,3	1,78	1,65	1,53	1,42	1,32	1,23	0,85
7,4	1,78	1,65	1,53	1,42	1,32	1,23	0,79
7,5	1,78	1,66	1,54	1,43	1,33	1,23	0,73
7,6	1,79	1,66	1,54	1,43	1,33	1,24	0,67
7,7	1,79	1,66	1,54	1,43	1,34	1,24	0,60
7,8	1,54	1,53	1,42	1,32	1,23	1,14	0,53
7,9	1,30	1,21	1,12	1,04	0,970	0,904	0,47
8,0	1,09	1,02	0,944	0,878	0,818	0,762	0,41

8,1	0,874	0,812	0,756	0,704	0,655	0,611	0,35
8,2	0,700	0,651	0,606	0,565	0,527	0,491	0,30
8,3	0,562	0,523	0,487	0,455	0,424	0,396	0,26
8,4	0,452	0,421	0,393	0,367	0,343	0,321	0,22
8,5	0,365	0,341	0,318	0,298	0,278	0,261	0,18
8,6	0,296	0,277	0,259	0,242	0,227	0,213	0,15
8,7	0,241	0,226	0,212	0,198	0,186	0,175	0,13
8,8	0,198	0,185	0,174	0,164	0,154	0,145	0,11
8,9	0,163	0,153	0,144	0,136	0,128	0,121	0,09
9,0	0,135	0,128	0,121	0,114	0,108	0,102	0,06

Tabela 3. Níveis toleráveis de amônia para ambientes de água salobra (10mg/kg) em mg/L(N)

pH	10°C	15°C	20°C	25°C
7,0	20	14	9,4	6,6
7,2	12	8,7	5,9	4,1
7,4	7,8	5,3	3,7	2,6
7,6	5,0	3,4	2,4	1,7
7,8	3,1	2,2	1,5	1,1
8,0	2,0	1,4	0,97	0,69
8,2	1,3	0,87	0,62	0,44
8,4	0,81	0,56	0,41	0,29
8,6	0,53	0,37	0,27	0,20
8,8	0,34	0,25	0,18	0,14
9,0	0,23	0,17	0,13	0,10

(U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1999)

Embora a medição dos níveis totais de amônia deva ser feita regularmente, por meio de indicadores colorimétricos ou eletrônicos, há ainda observações que podem ajudar a monitorar um possível aumento nos níveis de amônia em tanques e viveiros. Um dos sinais que demonstram aumento dos níveis de compostos nitrogenados é a proliferação de fitoplâncton, o que pode desencadear em um aumento significativo do pH, deixando a água assim com maior potencial tóxico (KUBITZA 1999). Alguns fatores, como comportamento e lesões cutâneas, observadas nos peixes, colaboram na identificação de alterações na qualidade da água, devido ao excesso de amônia. Os principais são letargia, perda de apetite, permanência no fundo do tanque (especialmente para peixes de superfície), busca de oxigênio na superfície, brânquias inflamadas, inflamação nas barbatanas, olhos ou ânus inflamados (GROUP 1986; ISRAELI- WEINSTEIN & KIMMEL 1998; WILKIE 1997).

A aferição das concentrações de amônia pode ser baseada nas quantidades de amônia na forma NH_3 ou NH_4^+ , além da concentração total de nitrogênio na forma de amônia. No entanto, deve-se levar em consideração fatores como temperatura, pH e salinidade. A periodicidade de aferição, principalmente em sistemas de cultivo fechado, deve ocorrer diariamente, até que se tenha um perfil das alterações ao longo do tempo, em função da biomassa e regime de alimentação empregado no criadouro.

A transformação da amônia, até sua forma menos tóxica por meio da nitrificação, envolve dois grupos de bactérias: *Nitrosomonas* spp., que oxidam a amônia até nitrito (NO_2^-) e *Nitrobacter* spp., que oxidam o nitrito a nitrato (NO_3^-)

Figura 1.

Algumas medidas podem ser tomadas quando o sistema de criação se encontra com concentrações de amônia ou nitrito acima do desejado. A primeira medida é a troca parcial da água, de maneira gradual, até que os níveis dos compostos nitrogenados na água alcancem os valores aceitáveis. No caso do cativeiro se tratar de um tanque de grandes dimensões em que a troca da água seja uma medida inviável, é importante que se controle o pH e a temperatura, lembrando que esses fatores podem influenciar no nível de toxicidade da amônia. Outra medida a ser tomada é reduzir a quantidade de fitoplâncton existente no sistema de criação, a fim de controlar o pH e o aporte de oxigênio no sistema. O regime de alimentação também deve ser reduzido, de forma a diminuir a quantidade de sedimentos e controlar a quantidade de excretas.

3.3. Densidade de estocagem

Densidade de estocagem é o termo normalmente usado para se referir ao peso de peixes por unidade de volume (g.L^{-1} ou g.m^3) (ELLIS 2001; LAZZARI *et al.*, 2011). A densidade de estocagem mais adequada varia de acordo com a espécie trabalhada, o tamanho dos animais, o sistema experimental em que os peixes serão mantidos e sua idade (HOLM *et al.*, 1990; EL-SAYED *et al.*, 1995; LAZZARI *et al.*, 2011). Contudo, ela é também determinada por fatores externos, como temperatura da água em que serão mantidos os peixes, luz e taxa de alimentação (WALLACE *et al.*, 1988).

Ao pensarmos na densidade de estocagem para condução de experimentos, é importante considerar a biomassa inicial e a final esperada e sua relação com a capacidade de suporte do sistema experimental utilizado, buscando uma densidade biológica ótima para a espécie de peixe trabalhada ao longo do período experimental (SILVA & SIQUEIRA

1997), pois, apesar da densidade inicial, experimentos de longa duração devem contar com o crescimento dos peixes, com base na conversão alimentar e nas alterações da densidade de estocagem calculadas no início do experimento.

Instalações laboratoriais que consigam simular ao máximo os ambientes naturais poderão prover maior conforto aos animais e, desta forma, melhorar sua capacidade de suporte para recebimento dos peixes. E, para o delineamento experimental, é importante considerar as densidades de estocagem, realizando uma biometria média inicial dos peixes antes do experimento, para que haja uma densidade de estocagem semelhante entre os grupos experimentais, não influenciando os resultados obtidos.

Densidades inadequadas de peixes podem gerar diversas complicações. Uma baixa densidade pode influenciar no aparecimento de classes hierárquicas, dominantes e subordinadas, em que os animais dominantes monopolizam as zonas de alimentação e o alimento, diferenciando o crescimento nessas duas classes. A hierarquização também pode trazer prejuízos como brigas excessivas, acarretando em lesões e mortalidade; assim como densidades excessivas também podem acarretar variação no crescimento dos peixes, onde o grande adensamento dificulta o acesso ao alimento e gera competição nas zonas de alimentação, afetando a homogeneidade dos lotes a serem estudados (SCHIMITTOU 1993; HUNTINGFORD & LEANIZ 1997; MACLEAN & METCALFE 2001).

Alguns autores correlacionam ainda a densidade diretamente com a transmissão de doenças, pois existe maior contato entre os peixes (TACHIBANA *et al.*, 2008). Portanto, a alta densidade animal é um fator predisponente para o aparecimento de diversas infecções bacterianas as quais podem ser submetidos os peixes (FIGUEIREDO & LEAL 2008).

A densidade de estocagem também deve ser respeitada nos testes de toxicidade (CL50), pois influenciam diretamente a proporção do material testado que estará disponível aos organismos expostos. No Guia da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD 2000), para testes agudos de toxicidade em peixes, é recomendável a utilização da densidade de 1 g de peixe / L⁻¹ de água para ambientes estáticos e semiestáticos, e, para ambientes com recirculação, uma maior densidade pode ser aceita. Portanto, a densidade de estocagem influencia na toxicidade de alguns compostos. Para testes de crescimento utilizando peixes juvenis a densidade deve ser baixa o suficiente para que uma concentração de oxigênio dissolvido de, pelo menos, 60% do valor de saturação do ar possa ser mantida sem aeração (OECD 2000).

3.4. Alimentação

O tipo de alimento a ser fornecido aos peixes no biotério depende da fase de desenvolvimento dos animais, bem como ao hábito alimentar da espécie. É importante identificar o hábito alimentar para adequar o tipo de ração que será necessária. Neste manual, serão descritas as características dos alimentos que devem ser fornecidos aos animais com hábitos carnívoros e onívoros. Enquanto os alimentos devem ter um elevado conteúdo de proteínas para a alimentação de animais carnívoros, alimentos de origem vegetal e com menor quantidade de proteína são bem aproveitados pelos peixes de hábitos onívoros.

A adequada alimentação dos peixes deve estar relacionada com a fase de desenvolvimento de cada espécie. Serão descritos aqui os principais alimentos e métodos de fornecimento desse alimento nas fases de desenvolvimento inicial (larvas), juvenis e adultos.

De acordo com Rodrigues e colaboradores (2013), as formas físicas de fornecimento da ração são:

a) Ração farelada: Principal tipo de alimento fornecido aos peixes na fases iniciais de desenvolvimento. O tamanho das micropartículas deve ser adaptado ao tamanho da boca do peixe. Este tipo de ração deve ser fornecida em quantidade e frequência suficientes para que a qualidade da água não seja afetada em função de sobras. Esse tipo de ração pode resultar dos processos de peletização ou extrusão (preferível), seguidos de moagem fina. Tal prática confere homogeneidade ao alimento em relação aos nutrientes inseridos na dieta. Pode, ainda, resultar de processo mais simples que contempla somente a mistura dos ingredientes, o que não é recomendável, pois, neste caso, haverá segregação dos ingredientes com diferentes densidades e consequente lixiviação dos nutrientes além de permitir a seletividade na ingestão pelos peixes.

b) Ração peletizada: alimento usado nas formas juvenis e em adultos de peixes. Neste tipo de ração a mistura de ingredientes é comprimida utilizando umidade, calor e pressão, produzindo péletes densos, que afundam rapidamente. Desta forma, este tipo de ração é indicado por reduzir as perdas de nutrientes na água e para manter uma boa qualidade do ambiente aquático. Este tipo de ração é mais utilizada nas formas juvenis de peixes em cativeiro;

c) Ração extrusada: este tipo de ração permanece por mais tempo na superfície da água. processo de extrusão permite o tratamento térmico com uma combinação de calor, umidade e trabalho mecânico. Este tipo de ração é o mais indicado para os animais em crescimento e adultos.

A quantidade de ração a ser fornecida está diretamente relacionada com a fase do desenvolvimento do animal e com o hábito alimentar, de forma que as pós-larvas devem ser alimentadas 4 vezes ao dia, as formas jovens e em crescimento podem ser alimentadas 2 vezes ao dia (carnívoras) ou 3 vezes ao dia, no caso de serem espécies onívoras. Os animais adultos, independentemente do hábito alimentar, devem receber alimentação duas vezes ao dia. A temperatura da água afeta o consumo de ração dos peixes. Em temperaturas mais baixas, o consumo diminui e, em temperaturas elevadas, o consumo tende a aumentar. Desta forma, se aconselha manter a temperatura da água de acordo com a exigência da espécie, para o melhor aproveitamento da ração fornecida.

A ração pode ser oferecida de forma manual ou automática (RIBEIRO *et al.*, 2002). A quantidade de ração a ser fornecida varia de acordo com alguns fatores como, por exemplo, a densidade de estocagem, a espécie, o tipo de ração e a fase de crescimento do animal. O conceito de biomassa é adotado para o cálculo da quantidade de ração que deve ser fornecida aos animais, de forma que os peixes devem ser pesados para saber o seu peso e calcular a quantidade de ração que deve ser consumida. Em animais adultos, se recomenda uma quantidade de 3% do peso da biomassa.

Todos os cuidados acima descritos devem ser tomados para que a quantidade de ração ofertada aos peixes seja consumida em pequeno intervalo de tempo. Desta forma, a qualidade da água se mantém viável por mais tempo e os peixes estarão expostos a menor quantidade de resíduos.

3.5. Enriquecimento ambiental e social

Por questões práticas, como redução de custos e facilidade na limpeza e manipulação, muitas vezes tanques e aquários de manutenção dos peixes em laboratório acabam se tornando ambientes extremamente pobres. Entretanto, ambientes empobrecidos podem levar a alterações cognitivas, comportamentais e fisiológicas nos animais (STRAND *et al.*, 2010), inclusive, podendo invalidar ou tornar pouco confiáveis os dados obtidos em condições experimentais (REINHARDT 2004). Para evitar esses efeitos e melhorar o bem-estar, é preciso fazer o enriquecimento ambiental dos recintos onde os peixes são mantidos sempre que for possível. Embora nem sempre o enriquecimento, tanto para animais terrestres como para aquáticos, comprovadamente, indique melhora no bem-estar (WILLIAMS *et al.*, 2009) e os efeitos do enriquecimento ambiental em peixes não sejam tão estudados como em espécies terrestres, já há evidências de que a manutenção em ambientes mais complexos aumenta a flexibilidade comportamental (BRAITHWAITE & SALVANES 2005; SALVANES *et al.*, 2013), a plasticidade neural e o aprendizado dos peixes (SALVANES *et al.*, 2013)

Esse aumento da complexidade pode ser feito por meio de elementos espaciais no ambiente, por meio do enriquecimento alimentar, com variação da alimentação e oferta de presas vivas e também considerar o enriquecimento social, ou seja, manter os peixes junto, a coespecíficos ou indivíduos de outras espécies, em contrapartida ao isolamento.

O enriquecimento espacial do ambiente pode ser feito, considerando a história natural da espécie em questão, com a adição de substrato (que além de promover filtragem biológica extra, também favorece comportamentos de construção de ninhos e marcação de território, além de prover fundo com coloração para espécies com comportamento críptico); canos e outras estruturas para abrigo (fornece refúgio para os peixes, entretanto, seu uso deve ser monitorado e o número de elementos deve ser adequado ao número de peixes, pois pode aumentar a disputa territorial em algumas espécies) e plantas (também fornecem abrigo, algumas espécies utilizam para postura de ovos) (WILLIANS *et al.*, 2009). O enriquecimento alimentar, com variação na dieta e utilização de presas vivas, também pode ser utilizado. As presas vivas favorecem a exibição de comportamentos de procura ativa por alimento e caça, promove variação na estimulação quimiossensorial e pode potencialmente melhorar o balanço nutricional (WILLIANS *et al.*, 2009).

O enriquecimento baseado no ambiente e modo de vida de uma determinada espécie de peixe pode favorecer a exibição do repertório comportamental normal pelos peixes, que consiste em uma das cinco liberdades descritas para o bem-estar de animais em ambiente de cativeiro. Uma vez que o conhecimento sobre o repertório comportamental natural de diversas espécies de peixe utilizadas em laboratório é escasso ou inexistente, muitas vezes é difícil determinar se o enriquecimento está promovendo a exibição desses comportamentos normais (WILLIANS *et al.*, 2009). Entretanto, no geral, conhecemos ao menos o hábito e a história natural da espécie (se bentônica, pelágica, etc.), e assim um enriquecimento com elementos básicos pode ser feito. É importante ressaltar, entretanto, que no ambiente enriquecido é preciso reposicionar os elementos (pedras, canos) semanalmente para mudar o ambiente (STRAND *et al.*, 2010; SALVANES *et al.*, 2013), ou este se tornará novamente monótono.

Embora o aumento da complexidade do ambiente possa reduzir as alterações fisiológicas e comportamentais que afetariam os resultados exibidos pelos peixes em pesquisa e aulas práticas, é preciso ter em mente que o enriquecimento deve considerar também as particularidades do uso dos animais experimentais. Quando o enriquecimento é aplicado nos recintos de manutenção e experimentação de peixes utilizados em pesquisas científicas, é necessário descrever as condições adequadamente ao publicar o estudo, de forma que seja possível manter sua replicabilidade. Ainda, em testes de toxicidade e efeito de compostos presentes na água, o enriquecimento deve levar em consideração

os materiais utilizados, uma vez que pode haver absorção dos compostos químicos pelos objetos e conseqüentemente redução da concentração desejada (WILLIANS *et al.*, 2009).

O enriquecimento social também é muito importante, uma vez que a redução de estímulos de origem social é uma das condições mais problemáticas para as espécies gregárias (REINHARDT 2004). Espécies que vivem em cardumes ou formam grupos hierárquicos podem ficar estressadas se mantidas em isolamento. Peixes de espécies que evoluíram o comportamento de viver em cardumes podem ter seu bem-estar diminuído quando mantidos isolados. Fazer parte de um cardume gera segurança, pois a detecção de predadores bem como a proteção dos indivíduos contra os ataques, são mais eficientes quando os peixes nadam de forma sincronizada em um grupo (PITCHER & PARRISH 1993). Além disso, o enriquecimento social também auxilia no aprendizado, uma vez que os peixes podem assimilar novas atividades mais rapidamente, como captura de presas, quando em contato com coespecíficos mais experientes – fenômeno denominado aprendizado social (STRAND *et al.*, 2010). A forma de enriquecimento social não apenas é espécie-específica, como também deve considerar a ontogenia da espécie, uma vez que alguns peixes formam cardumes em algumas fases do desenvolvimento, enquanto vivem isolados em outras (WILLIANS *et al.*, 2009). É preciso tomar cuidado, entretanto, ao estabelecer a densidade, especialmente quanto ao monitoramento da qualidade da água e de interações agressivas. Ainda, há espécies cuja agressividade acaba exigindo o isolamento, como é o caso de machos de betas *Betta splendens*, mas deve-se sempre ter o cuidado de enriquecer o ambiente de peixes isolados (com elementos espaciais ou alimentação viva) para minimizar o efeito da redução de estímulos.

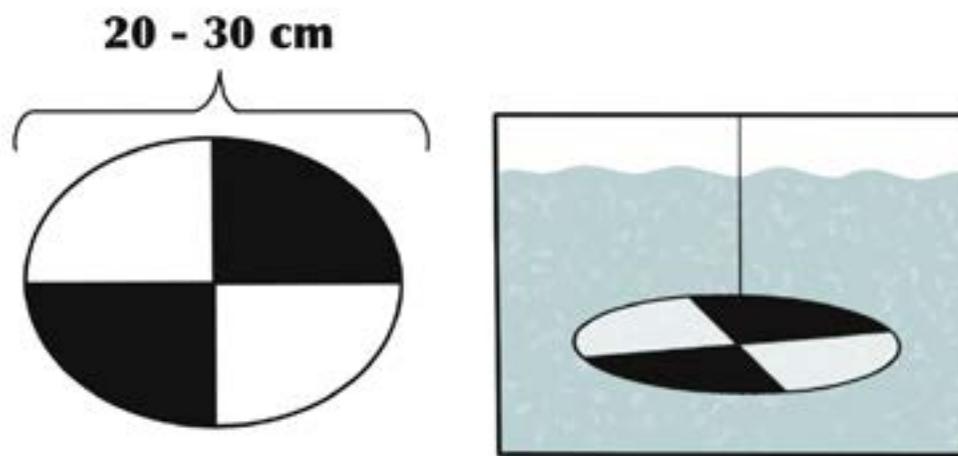
3.6. Regime de iluminação

A iluminação em um biotério de criação de peixes para experimentação ou em um regime de produção deve obedecer alguns critérios que podem ser determinantes para o sucesso da criação. A característica dos peixes, de não possuírem pálpebras capazes de bloquear a luminosidade, os torna muito susceptíveis às mínimas variações de intensidade de luz. A luminosidade é um dos mais importantes fatores para criação de peixes, uma vez que pode influenciar significativamente no desenvolvimento, fisiologia, maturação sexual, resposta imune e comportamento de predação (BLAXTER 1986; HUNTER 1981; ZHENG *et al.*, 2016). A luz que chega até os animais mantidos no tanque sofre influência de intensidade de luz aplicada sobre a superfície da água, seja ela artificial ou natural; da turbidez ou transparência da água, da profundidade do tanque, além da quantidade de sedimentos em suspensão e vegetação. No caso de

biotérios, onde a iluminação na maioria dos casos é realizada por luz artificial, ainda deve ser levada em consideração a distância da fonte de luz em relação à superfície da água e o ciclo de tempo claro/escuro adotado.

A transparência da água consiste de sua capacidade em permitir a passagem de luz até suas regiões mais profundas, aumentando assim a visibilidade do meio interno do tanque. A presença de fitoplâncton no tanque, além de provocar turbidez na água, prejudicando a passagem de luz, pode ser um sinal de aumento de amônia e aumento do risco da escassez de oxigênio dissolvido na água, isso devido a um processo conhecido como bloom (florescimento), que é um aumento acelerado da população de fitoplâncton, seguido por escassez de nutrientes, morte e decomposição do fitoplâncton (SMITH & PIEDRAHITA 1988; SMITH *et al.*, 2014).

Entre as formas de mensurar a transparência da água, está o disco de Secchi, que consiste em um disco circular de cor branca (ou preto e branco), geralmente de 20 – 30 cm de diâmetro, produzido em material com capacidade de submersão, preso a uma haste ou corda no seu centro (Figura 1). A partir do registro da profundidade em que o disco deixa de ser visível é possível determinar o nível de transparência da água e o grau de penetrância da radiação solar (IDSO & GILBERT 1974; PREISENDORFER 1986).



A intensidade de luz em tanques externos é dependente do clima. Por isso, está sujeita a variações. No entanto, no caso de biotérios ou tanques em lugares cobertos, a intensidade depende da potência da luz artificial, da distância entre a fonte de luz e a superfície da água e da distribuição das fontes de luz. A luminosidade no tanque pode variar entre uma distribuição homogênea, ou optar pela criação de pontos de sombra, onde o peixe possa se ocultar, essa escolha deve levar em consideração os hábitos da espécie escolhida, uma vez que esse fator pode influenciar no comportamento de predação, além de poder ser um fator de estresse (CERRI 1983; MAXIMINO *et al.*, 2010).

Para mensurar a intensidade de luz no tanque, pode ser usado um luxímetro posicionado próximo à superfície do tanque, com pontos de checagem distribuídos nas extremidades. A medida da intensidade de luz é mensurada em lux, que tem suas faixas ideais para a criação de peixes, dependente da espécie mantida no cativeiro. A primeira medida a ser tomada é a identificação do habitat natural da espécie escolhida, se é uma espécie de ambiente pelágico ou de bentônico. Animais de hábito pelágico ocupam as zonas mais superficiais dos corpos d'água, zona fotótica, onde normalmente a temperatura é mais elevada e com maior intensidade de luz. Enquanto animais bentônicos ocupam regiões de maior profundidade, geralmente próximos ao substrato, onde a intensidade da luz é menor.

As faixas ideais de intensidade de luz para algumas espécies das famílias Ciprynidae e Cichlidae fica entre 180 – 500 lux (ALVAREZ-VERDE *et al.*, 2015; MATTHEWS *et al.*, 2002; RAJESWARI *et al.*, 2017). Para as espécies da família Salmonidae, a faixa de intensidade de luz que propicia melhor desenvolvimento e maior taxa de sobrevivência fica entre 50 – 200 lux (WALLACE *et al.*, 1988).

Em termos fisiológicos, sabe-se que a iluminação pode afetar a regulação da pigmentação corporal de várias espécies. As variações na coloração podem ser indicativas de estresse e influenciar uma série de outros fatores como apetite, reprodução e resposta imune (ALY *et al.*, 2017; HÄRŞAN *et al.*, 2014; LOGAN *et al.*, 2006; SUGIMOTO 2002).

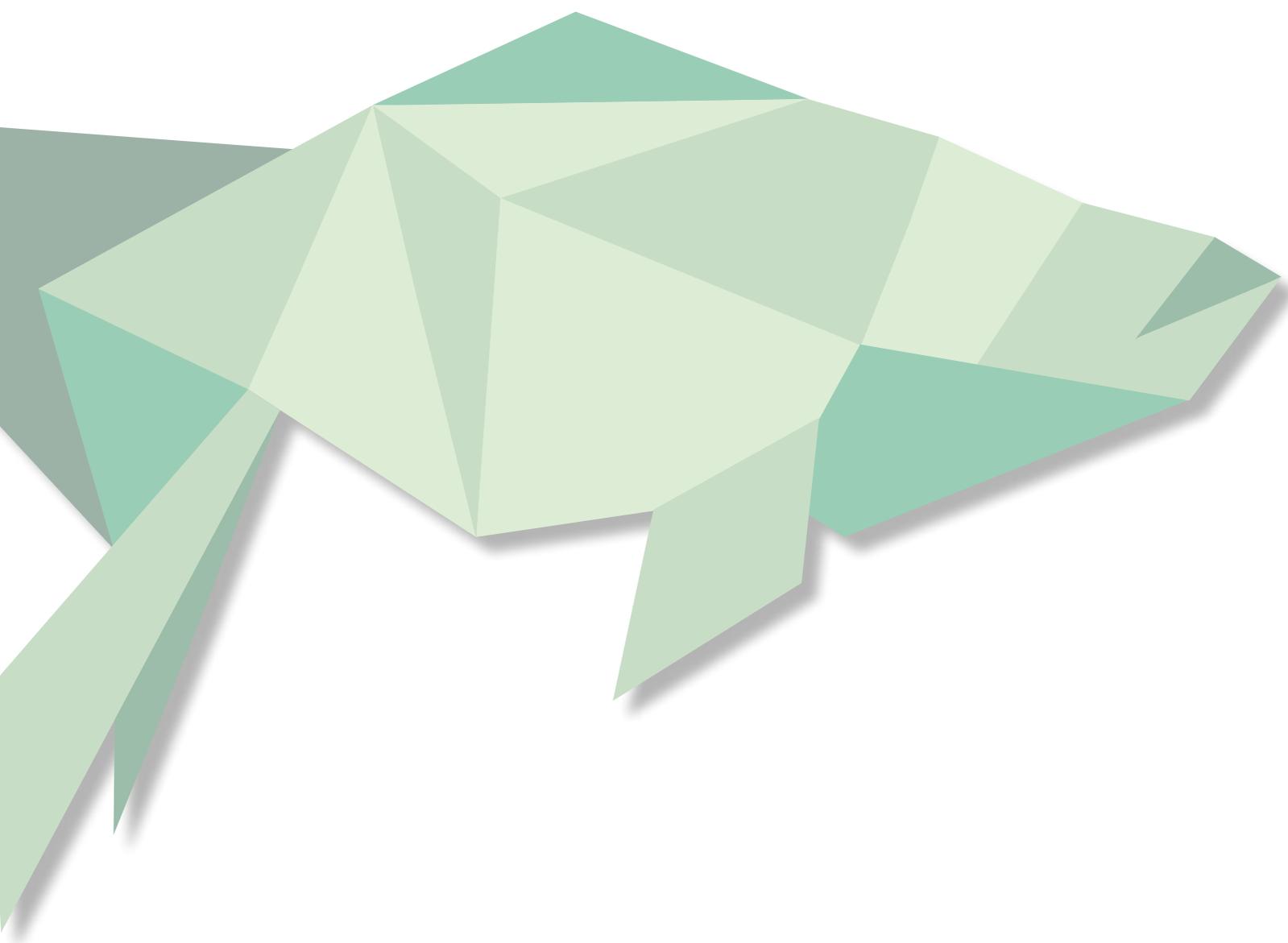
Embora a maioria dos peixes tenha capacidade de percepção de cores, não foi observada a necessidade de nenhum espectro de luz específico para seu ambiente. Nesse caso, a iluminação por lâmpadas comuns é suficiente (PIGNATELLI *et al.*, 2010).

No caso de criadouros mantidos em ambientes fechados, onde a iluminação é artificial, o ciclo de luz escolhido é de fundamental importância. O ciclo de luz empregado no biotério deve respeitar as características do local de origem do animal modelo (Exemplo: Zebrafish originário da Índia onde o período de luz durante o verão possui aproximadamente 14 horas) (SPENCE *et al.*, 2008). No caso de espécies naturais de regiões equatoriais, pode-se adotar um ciclo de luz de 12/12 (claro/escuro), uma vez que essa região sofre poucas variações no ciclo de luz ao longo do ano. Por outro lado, no caso de animais endêmicos de regiões sub-tropicais e temperadas, ou seja, que não está entre os trópicos, o tempo de luz do dia pode chegar a 16hs durante o verão no Brasil, por exemplo (RANDLER & RAHAFAR 2017).

Portanto, dependendo da espécie, região e da rotina do biotério, pode-se optar por um ciclo de luz fixo, utilizando como parâmetro a temporada de maior produtividade da espécie, normalmente vinculada aos períodos mais quentes, quando há menor gasto de energia e maior atividade, ou usar um ciclo flexível que mimetize a sazonalidade encontrada na natureza. No caso de espécies tropicais, usa-se um ciclo 12/12 e, para espécies de zona temperada, pode ser

adotado um ciclo de até 16/8 (claro/escuro) (TAYLOR & MIGAUD 2009). No entanto, qualquer mudança no fotoperíodo deve ocorrer de forma lenta e gradual, uma vez que já foi observado que mudanças repentinas no ciclo de luz podem acarretar em estresse, levando a prejuízos reprodutivos devido à involução gônadal (NAVARRO *et al.*, 2014; SHIMIZU *et al.*, 1994).

Além da escolha de um fotoperíodo adequado, a utilização de artefatos, como tubos ou caixas no fundo dos tanques, pode contribuir para diminuição do estresse causado por uma iluminação excessiva, uma vez que podem servir como esconderijo, principalmente para animais de hábitos pelágicos, além de enriquecer o ambiente (SPANIER *et al.*, 2011).



4. Sanidade de peixes

No Brasil, apesar do constante crescimento, a produção de peixes vem enfrentando entraves em virtude de problemas relacionados às enfermidades, levando a prejuízos econômicos e elevada taxa de mortalidade (SEBASTIÃO *et al.*, 2015). Com isso, cresce o número de estudos científicos visando à prevenção ou ao tratamento dessas doenças. Deve-se ficar atento para mudanças na natação, comportamento, coloração da pele, lesões cutâneas ou nas barbata- nas ou perda de escamas, pois estas e outras alterações podem indicar que os peixes apresentam alguma enfermi- da- de.

4.1. Métodos de tratamento das principais doenças

Na aquicultura, por se tratar de uma criação em larga escala, utiliza-se duas principais formas de administração de medicamentos: via oral (por meio da ração) ou via banhos (na água). Porém, também pode-se utilizar as vias sub- cutânea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal e intracelomática.

Com relação aos agentes antibacterianos, no Brasil, as duas moléculas registradas para uso na aquicultura são o florfenicol e a oxitetraciclina, ambas com ação bacteriostática. Além desses dois antimicrobianos, apenas a sulfadi- metoxina/ormetoprim também é aprovada pelo FDA - *Food and Drug Administration* para uso em aquicultura (BALDIS- SEROTTO *et al.*, 2017). Para peixes ornamentais, é utilizada a neomicina como agente antibacteriano.

Dentre os antifúngicos, destaca-se o verde malaquita por ser muito eficaz. Porém, foi banido mundialmente para uso em aquicultura, sendo utilizado apenas na criação de peixes ornamentais. Outros antifúngicos são: formalina, clore- to de sódio/cálcio, cobre, iodóforos, bronopol, quitosana, peróxido de hidrogênio e ozônio, sendo na maioria das vezes aplicados nos ovos, antes da eclosão (BALDISSEROTTO *et al.*, 2017).

Existem estudos avaliando a atividade *in vitro* de fármacos antivirais contra vírus de peixes e camarões, mas ainda não foi encontrado uso comercial na aquicultura. Devido à estreita interação entre o vírus e o hospedeiro, a maioria dos agentes antivirais é tóxica (BALDISSEROTTO *et al.*, 2017).

Dentre os ectoparasitários, destacam-se o albendazol, o fembendazol, o mebendazol, o praziquantel, o levami- zol, o diflubenzuron, o dióxido de cloro, a cloramina-T, a formalina (aprovada pelo FDA), o cloreto de sódio (bastante

utilizado por ser barato, eficaz e seguro), o percarbonato de sódio, o sulfato de cobre, o permanganato de potássio, o peróxido de hidrogênio e o verde malaquita (não seguro para uso em aquicultura segundo o FDA, devido ao potencial carcinogênico) (BALDISSEROTTO *et al.*, 2017).

Já, em relação aos endoparasitários, destacam-se o metronidazol, para o tratamento de infestações por protozoários hexamitídeos; o praziquantel, para trematódeos digenéticos; o praziquantel, a niclosamida e o mebendazol, para cestoides; o levamisol, o metrifonato, o fembendazol, o benzoato de emamectina e a ivermectina, para nematoides; e o “di-n- butyltinoxide”, o bitionol, a oxiclozanida e a loperamida, para acantocéfalos. Estudos também demonstram atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral e antiparasitária de compostos derivados de plantas (BALDISSEROTTO *et al.*, 2017).

4.3. Estresse em peixes mantidos em cativeiro

Assim como os outros grupos de vertebrados, quando submetidos a distúrbios, os peixes exibem uma resposta de estresse. No ambiente laboratorial, existem várias possíveis fontes de estresse para os peixes, como instalações e manejos inadequados, a presença dos tratadores, ruídos, além da própria manipulação referente ao uso dos peixes na pesquisa ou em práticas didáticas. A resposta de estresse a esses distúrbios consiste em uma cascata de alterações fisiológicas e comportamentais que permitem ao peixe lidar com a situação deletéria. As respostas comportamentais geralmente incluem comportamentos que permitem ao peixe evitar ou se afastar do distúrbio, como alterações na atividade (aumento, diminuição ou cessação da movimentação), além de alterações na alimentação e agressividade, entre outros padrões (SCHRECK *et al.*, 1997). As respostas fisiológicas podem ser divididas em respostas primárias, secundárias e terciárias. As respostas primárias consistem na ativação de dois eixos principais. O eixo simpático-cromafim consiste, após a detecção do estressor, na ativação do sistema nervoso autonômico simpático, cujas fibras eferentes estimulam a liberação das catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) pelas células cromafins, situadas em torno dos vasos sanguíneos no rim cefálico dos peixes. As catecolaminas ficam armazenadas em grânulos dentro das células cromafins, e sua liberação, após a detecção do distúrbio, é bastante rápida, em questão de segundos. Entretanto, a meia vida desses neuro- hormônios é curta, de apenas alguns minutos. Portanto, o aumento das catecolaminas é rápido, mas transiente. Já, a resposta do eixo hipotálamo-hipófise-interrenais (HHI) se inicia no hipotálamo, com a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que estimula a hipófise a liberar a corticotrofina (ACTH). O ACTH estimula

as células interrenais, que se encontram agrupadas em torno dos vasos no rim cefálico nos peixes, a sintetizar e liberar cortisol (BARTON 2002). O aumento dos níveis de cortisol começa cerca de minutos após a detecção do distúrbio (FOX *et al.*, 1997), uma vez que esse hormônio é um esteroide e não pode ser pré-sintetizado e armazenado, sua liberação depende de síntese imediata, demorando alguns minutos para seu aumento ser detectável, mas pode se manter por horas ou até mesmo dias. As alterações fisiológicas provocadas pelas catecolaminas e pelo cortisol são chamadas de respostas secundárias e envolvem adaptações metabólicas (aumento de energia disponível via glicogenólise, lipólise, proteólise e gliconeogênese), cardiorrespiratórias (aumento das frequências cardíaca e respiratória), iônicas (pode ocorrer desbalanço osmótico devido ao aumento da permeabilidade da membrana branquial), sanguíneas e imunes (aumento do número das células vermelhas, ativação ou inibição das funções imunes dependendo da duração da resposta) (URBINATI *et al.*, 2015). Se o agente estressor for crônico e a resposta de estresse se sustentar por longos períodos, as alterações fisiológicas primárias e secundárias começam a se tornar deletérias, afetando o crescimento, imunidade e capacidade reprodutiva dos peixes, podendo levar a doenças ou até mesmo à morte dos indivíduos.

Além de importantes para assegurar um alto bem-estar para os peixes mantidos em laboratório, as diretrizes compiladas neste fascículo também são cruciais para evitar a ocorrência de estresse agudo e crônico nos peixes que serão utilizados em pesquisa e práticas didáticas, uma vez que as alterações comportamentais e fisiológicas da resposta de estresse afetam os resultados obtidos. O responsável pelo cuidado dos peixes deve não apenas se certificar de que as instalações, as condições de manutenção e o manejo dos animais estão de acordo com o recomendado para a espécie, como também estar atento para sinais indicativos de estresse nos peixes. As alterações comportamentais decorrentes do estresse são uma boa ferramenta de detecção, pois são uma das primeiras linhas de defesa dos animais contra estímulos adversos (BEITINGER 1990), ocorrem no início da resposta e sua observação é não invasiva (HUNTINGFORD *et al.*, 2006). Algumas espécies podem apresentar escurecimento da coloração quando estressadas, mas vale ressaltar que alterações na coloração também ocorrem devido a interações sociais, por adaptação à cor do ambiente (coloração críptica) ou como sinalização sexual. Então, o tratador deve estar atento a todos os fatores que podem estar influenciando a coloração dos peixes. Peixes estressados também podem exibir alteração no apetite e até mesmo anorexia, bem como padrões alterados de locomoção (espécies de fundo permanecendo na superfície e vice-versa; espécies mais sedentárias apresentando aumento acentuado na locomoção, ou espécies mais ativas apresentando redução na movimentação). Um estressor agudo frequentemente resulta em aumento da frequência respiratória devido à ação das catecolaminas, observada pela alta frequência do batimento opercular (WENDELAAR

BONGA1997), o que pode ser um indício de estresse, desde que descartada uma queda nos níveis de oxigênio na água. Qualquer alteração do comportamento dos peixes deve ser investigada, pois pode indicar a presença de um estressor não percebido pelo tratador. Além das alterações externas, a avaliação do estado de estresse pode recorrer a análises fisiológicas se houver a suspeita de perturbação dos peixes. A medição das catecolaminas é pouco usada como indicador de estresse em peixes, pois seu aumento rápido e transiente, no início da resposta de estresse, pode ser perdido ou mesmo o aumento detectado ser referente ao manejo da coleta de sangue para análise *in situ*. O indicador mais utilizado é o cortisol. Seus níveis podem ser detectados no sangue (plasma ou soro), ou mesmo após a extração em amostras de tecido. Entretanto, os níveis de cortisol variam ao longo do dia nos peixes e deve-se tomar o cuidado de sempre coletar o sangue no mesmo horário para evitar inferências erradas devido a essas flutuações. Indicadores relativos às respostas secundárias de estresse também podem ser utilizados, embora sejam bastante variáveis, como a glicemia, que aumenta durante a resposta de estresse (WENDELAAR BONGA 1997), mas também após a alimentação. As proteínas de choque térmico (Heat Shock Proteins - HSPs), proteínas constitutivas e que desempenham um papel no metabolismo proteico (MORIMOTO *et al.*, 1990), também aumentam em diversos tecidos nos peixes em situações de estresse (IWAMA *et al.*, 1999). As HSPs podem mediar reparo, degradação ou agir como chaperonas moleculares em proteínas desnaturadas (KIANG & TSOKOS 1998) e seu aumento vem sendo utilizado como indicador de estresse, embora ainda sejam escassos na literatura os valores de referência para que se utilize apropriadamente esse parâmetro para todas as espécies. Vale ressaltar, entretanto, que a coleta de material fisiológico *in situ* já é um estressor. Portanto, deve ser feita para a avaliação do estresse apenas quando for estritamente necessário.

Pode-se fazer a análise de metabólitos e hormônios por meio da água, ao invés da coleta de fluidos dos peixes. A detecção de esteroides na água dos peixes, por exemplo, já mostrou boa correlação com os níveis de esteroides endógenos dos indivíduos (ELLIS *et al.*, 2004), sendo portanto uma alternativa para a detecção do cortisol sem o estresse da manipulação. Entretanto, a análise da água pressupõe que apenas a média de todos os indivíduos presentes será inferida, exceto em casos em que os peixes sejam mantidos isolados. Portanto, pode não ser adequada para determinação de estresse dos peixes individualmente ou mesmo em grupo onde alguns peixes podem estar estressados e outros não, pois níveis altos de cortisol de alguns indivíduos podem acabar diluídos na média e não serem detectáveis.

5. Manejo de animais em laboratório

5.1. Captura

Os principais cuidados que devem ser observados na captura dos peixes no laboratório estão relacionados com a redução do estresse ao realizar a manipulação. A captura deve ser realizada após a redução do volume de água do aquário de manutenção dos animais, de forma a facilitar a captura usando um puçá com tamanho adequado de acordo ao peso do animal. O tempo de permanência dos peixes em ambiente sem oxigênio depende de vários fatores como a espécie, a fase de desenvolvimento e o tamanho. De maneira geral, ao manipular o animal fora da água, o uso de anestésicos deve ser recomendado. Neste caso, devem ser tomados os devidos cuidados, mantendo o animal hidratado (pano limpo e umedecido) e em ambiente com pouca luminosidade.

5.2. Administração de fármacos

A forma menos invasiva de se administrar substâncias a peixes é por meio de banhos de imersão, sendo esta a via de eleição principalmente quando se trata de lotes de animais. A substância é dissolvida na água (na concentração adequada ao volume da mesma) e absorvida por meio das brânquias (ou outros órgãos respiratórios) e/ou da pele. O método dispensa contenção física, poupando os animais de manipulações que podem ser estressantes e evitando lesões no tegumento, as quais podem tornar-se porta de entrada para agentes infecciosos. Todos os parâmetros físico-químicos da água devem ser controlados, uma vez que podem influenciar a farmacodinâmica de substâncias dissolvidas na mesma. Ao se observar sinais de toxicidade, deve-se transferir prontamente os peixes para recipientes contendo água filtrada e devidamente aerada. Os antiparasitários são exemplos de fármacos geralmente administrados em banho de imersão (CARPENTER 2005; SUTILI *et al.*, 2013).

Em se tratando de terapia parenteral, as vias subcutânea, intramuscular, intravenosa e intracelomática podem ser utilizadas. A musculatura dorsal, ventrolateralmente à nadadeira dorsal é o local indicado para injeções intramusculares, que podem ser usadas para aplicação de antibióticos, por exemplo. Quando se optar por administração intracelomática, deve-se evitar a inoculação em órgãos internos (YANONG 2006). Algumas substâncias, como os aditivos, podem ser incorporadas à dieta a ser oferecida aos peixes, sendo absorvidas no trato gastrointestinal (SACCOL *et al.*, 2013).

5.3. Anestesia

Existem meios físicos (por ex., hipotermia) e químicos (por ex., fármacos) de se promover a anestesia de peixes. No entanto, o uso de alternativas não farmacológicas vem sendo desencorajado devido ao aspecto desumano que lhes é inerente (COYLE *et al.*, 2004).

A anestesia de peixes é mais comumente realizada pelo método de imersão, sendo o fármaco dissolvido na água na concentração adequada para a espécie e de acordo com o objetivo do procedimento. Após a absorção, o fármaco atinge a circulação sanguínea e chega ao SNC, promovendo seus efeitos no organismo. Fatores inerentes ao anestésico (por ex., grau de lipossolubilidade), à espécie (por ex., área de superfície branquial) e ao ambiente (por ex., temperatura) podem afetar a eficácia do procedimento anestésico (BURKA *et al.*, 1997; KING *et al.*, 2005; SNEDDON 2012, 2015; ZAHL *et al.*, 2012).

Os anestésicos também podem ser administrados em peixes pelas vias intravenosa, intracelômica, intramuscular e oral e por aspersão branquial. No entanto, a necessidade de contenção física, a possibilidade de dano visceral e a inconsistência na taxa de absorção e no tempo de indução tornam estas opções bem menos práticas e seguras que o banho de imersão (FLEMING *et al.*, 2003).

Em diversos países, os anestésicos sintéticos mais comumente utilizados para anestésiar peixes em banho de imersão são o metanossulfonato de tricaína (MS-222), a benzocaína, o etomidato, o metomidato, o fenoxietanol e a quinaldina (ROSS & ROSS 2008). Dentre estes, apenas a benzocaína e o fenoxietanol estão disponíveis no mercado brasileiro a um custo acessível. Outra opção é o propofol, anestésico geral de uso típico intravenoso amplamente utilizado nas Medicinas Veterinária e Humana. Sua eficácia na anestesia de peixes em banho de imersão foi comprovada (GRESSLER *et al.*, 2012) e subseqüentes estudos testaram seu uso em variadas espécies de peixe empregando diferentes protocolos experimentais (GHOLIPOURKANANI & AHADIZADEH 2013; GOMULKA *et al.*, 2014; GRESSLER *et al.*, 2015, 2016).

Dentre os anestésicos de origem natural empregados na anestesia por imersão de peixes, o óleo de cravo e o eugenol são os principais produtos com reconhecido potencial anestésico em vários países, inclusive no Brasil (JAVAHERY *et al.*, 2012; SUTILI *et al.*, 2014). Óleos essenciais extraídos de plantas brasileiras também têm sido explorados como anestésicos para banho de imersão para esta classe de animais, representando alternativas para futura comercialização no mercado local (CUNHA *et al.*, 2010; AZAMBUJA *et al.*, 2011; BECKER *et al.*, 2012; BENOVIĆ *et al.*,

2012; GRESSLER *et al.*, 2014; TONI *et al.*, 2014).

Inicialmente, os anestésicos induzem um efeito sedativo. Em seguida, há perda de equilíbrio, de mobilidade, de consciência e, por fim, de ação reflexa (ROSS & ROSS 2008). Tais mudanças correspondem a estágios de indução à anestesia (Tabela 1), sendo o nível de depressão anestésica monitorado, de acordo com o objetivo do procedimento. No caso de cirurgias, por exemplo, a indução é feita até o estágio 4. A partir de então, é realizada a manutenção da anestesia durante o tempo necessário para executar a intervenção, utilizando uma concentração anestésica mais baixa do que aquela usada para induzir à anestesia. Ao final do procedimento, a exposição ao anestésico é interrompida, sendo o peixe transferido para recipiente contendo água pura para que ocorra a recuperação da anestesia. Os estágios observados durante a indução são gradualmente revertidos e o animal retoma natação e atividade normais.

Tabela 4: Estágios de indução à anestesia em peixes.

Estágio	Descrição	Características
1	Sedação leve	Perda parcial da reação aos estímulos externos.
2	Sedação profunda	Perda parcial do equilíbrio, nenhuma reação aos estímulos externos.
3a	Perda total do equilíbrio	Os peixes viram, mas retêm a habilidade da natação.
3b	Perda total do equilíbrio	A habilidade da natação pára, mas responde à pressão no pedúnculo caudal.
4	Anestesia	Perda da atividade reflexa, nenhuma reação aos estímulos externos.
5	Colapso medular	O movimento respiratório cessa (morte).

Fonte: SCHOETTGER & JULIN (1967).

5.4. Analgesia

Há evidência que os peixes são capazes de perceber estímulos nociceptivos e, em decorrência, apresentar não só respostas reflexas como também alterações comportamentais e fisiológicas (SNEDDON *et al.*, 2003; DUNLOP & LAMING 2005; ASHLEY *et al.*, 2007; ROQUES *et al.*, 2010; WOLKERS *et al.*, 2013). Uma das razões subjetivas mais plausíveis para se administrar analgésicos a peixes é a inapetência ou anorexia, que geralmente resultam de procedimentos diagnósticos ou cirúrgicos (WEBER 2011). Além destes, outros sinais como taxa de ventilação aumentada, posição anormal e imobilidade são indicativos de dor em peixes. No entanto, são poucos os estudos investigando os

efeitos farmacocinéticos de analgésicos nestes animais, o que faz com que a administração empírica seja baseada no conhecimento obtido a partir de outras espécies animais (MURRAY 2002; SNEDDON 2012, 2015).

A maioria dos relatos do uso de analgésicos em peixes refere-se aos opióides butorfanol e morfina (LEWBART *et al.*, 1998; SNEDDON *et al.*, 2003a; HARMS & LEWBART 2000; HARMS *et al.*, 2005; NORDGREEN *et al.*, 2009; WEBER *et al.*, 2009). O sistema nervoso central (SNC) de peixes apresenta receptores opióides μ e κ . Então, parece razoável que opiáceos sejam capazes de produzir analgesia nestes animais (CHERVOVA & LAPSHIN 2000; HARMS *et al.*, 2005; VELASCO *et al.*, 2009; WOLKERS *et al.*, 2013). As propriedades analgésicas de antiinflamatórios não-esteroides (por ex., cetoprofeno e carprofeno) e anestésicos (por ex., lidocaína) também têm sido testadas para prevenir ou tratar a dor em peixes (WEBER *et al.*, 2009; ROBERTS 2010; SNEDDON 2012, 2015). Fármacos com ação analgésica podem ser administrados nestes animais pelas vias intramuscular, subcutânea e intracelomática (CARPENTER 2005).

5.5. Cirurgia

Previamente a um procedimento cirúrgico, deve-se manter o peixe em ambiente tranquilo, com água aerada e em condições ideais para a espécie, a fim de reduzir o estresse fisiológico (MURRAY 2002). Se houver a presença de infecções parasitárias ou bacterianas, por exemplo, tratar dias antes de submeter o animal ao procedimento cirúrgico para que sua capacidade imunológica esteja aumentada (WILDGOOSE 2000).

O jejum de no mínimo 24 horas é necessário para evitar regurgitação e bloqueio dos ramos branquiais durante a anestesia profunda (LEWBART & HARMS 1999). A manipulação cuidadosa previne a perda excessiva da camada protetora de muco, evitando a ocorrência de infecções cutâneas secundárias que poderiam prolongar a recuperação do animal (MURRAY 2002).

Após a cirurgia, o peixe deve ser mantido em tanque de recuperação até que os efeitos da anestesia não sejam mais visualizados. Em seguida, o animal pode ser devolvido ao ambiente de origem, devendo ser mantido em isolamento para facilitar a inspeção frequente e a manutenção dos parâmetros da água em condições ótimas para que não haja estresse adicional. A presença de esconderijos pode proporcionar mais tranquilidade àquelas espécies que normalmente os utilizam. O uso de antibióticos e analgésicos no período pós-operatório deve ser considerado (WILDGOOSE 2000; MURRAY 2002; HARMS *et al.*, 2005).

Um dos aspectos mais importantes no que se refere à cirurgia de peixes é a necessidade de conhecimento da anatomia normal da espécie. Este, aliado a um protocolo anestésico adequado, pode garantir o sucesso do procedimento (MURRAY 2002; WEBER *et al.*, 2009).

Neoplasias, distúrbios do globo ocular (por ex., catarata), biópsias de fígado, rins e baço, distúrbios da bexiga natatória, problemas reprodutivos e ingestão de corpo estranho constituem as principais causas que geram a necessidade de procedimentos cirúrgicos em peixes (WOOSTER *et al.*, 1993; WILDGOOSE 2000).

A constatação de desordens internas requer diagnóstico via equipamentos de imagem ou laparotomia exploratória (HARMS *et al.*, 1995; LEWBART *et al.*, 1998).

As cirurgias em peixes podem ser realizadas tanto com o animal dentro da água quanto fora dela. No primeiro caso, há risco de contaminação tecidual, o campo cirúrgico pode se tornar um tanto obscuro pela presença de sangue na água e as suturas não são de fácil realização. Por isso, a maioria dos procedimentos é feita fora da água. No entanto, o tempo de execução deve ser restrito e o equipamento adequado. A manipulação cuidadosa e a manutenção da umidade da pele evitam lesões e perda excessiva de muco (LEWBART & HARMS 1999; BRATTELID & SMITH 2000; MURRAY 2002). O uso de equipamentos para monitorar os parâmetros vitais assegura maior segurança durante o transoperatório, uma vez que reflexos que indiquem o nível de depressão anestésica (principalmente os oculares) não são visualizados nestes animais. Peixes não possuem pálpebras e a alteração do tamanho pupilar é lenta (WILDGOOSE 2000). Para manipulação fora da água, deve haver um sistema que promova um fluxo de água devidamente aerada por meio das brânquias e com uma concentração mais baixa de anestésico que a utilizada para anestesia rápida, a fim de evitar o colapso medular e consequente morte do peixe.

Estudos biológicos em peixes têm utilizado técnicas cirúrgicas minimamente invasivas como a intubação esofágica, a canulação da aorta dorsal e o cateterismo urinário, a fim de reduzir o estresse relacionado à manipulação e amostragem. No caso da intubação esofágica, o objetivo é a administração de compostos diretamente no trato gastrointestinal, minimizando inconvenientes como a regurgitação (GLOVER & HOGSTRAND 2002). A canulação da aorta dorsal permite o monitoramento de parâmetros sanguíneos e/ou plasmáticos por meio de coletas repetidas (GINGERICH & DROTTAR 1989; BELANGER *et al.*, 2001; KIESSLING *et al.*, 2009; DJORDJEVIC *et al.*, 2012). Outros alvos para técnicas de canulação vascular incluem a veia e a artéria caudal, vasos dos arcos branquiais e a veia porta hepática (WELLS *et al.*, 1984; MCLEAN & ASH, 1989; BELANGER *et al.*, 2001; KARLSSON *et al.*, 2012). O cateterismo urinário tem sido realizado para estudar as funções renais e da bexiga urinária (WOOD & PATRICK 1994). Algumas destas téc-

nicas são utilizadas em combinação durante protocolos experimentais, permitindo a avaliação da cinética de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de certos compostos (DENG *et al.*; 2000, 2001; FAN *et al.*, 2002).

Outras técnicas cirúrgicas já descritas em peixes são: remoção do órgão endócrino pancreático, possibilitando o estudo de Diabetes mellitus insulino-dependente (KELLEY 1993); celiotomia, para implantação de marcadores eletrônicos (COLLINS *et al.*, 2000; COOKE & WAGNER, 2004; ERICKSON & WEBB, 2007; HARMS & LEWBART, 2011); biópsias teciduais (GILLILAND 1994; GRANT 1996; MURRAY 2010); e cirurgias reprodutivas com ou sem o uso de técnicas endoscópicas (HERNANDEZ-DIVERS *et al.*, 2004; PARAGAMIAN *et al.*, 2005; WEBB & ERICKSON 2007; DIVERS *et al.*, 2009; MATSCHE *et al.*, 2011). Todos esses procedimentos devem ser feitos em peixes sob anestesia profunda.

5.6. Coleta de material biológico

De acordo com o Manual de Coleta e Remessa de Amostras para Diagnóstico de Enfermidades de Animais Aquáticos na Rede Nacional de Laboratórios do Ministério da Pesca e Aquicultura - RENAQUA (2013), amostras obtidas de animais aquáticos devem ser coletadas, acondicionadas e preservadas de maneira a possibilitar o diagnóstico das doenças e assim aumentar a eficiência do sistema de defesa sanitária destes animais. Ainda, o indivíduo que tenha conhecimento de suspeita da ocorrência de doença alvo (aquela de notificação para a Organização Mundial de Saúde Animal ou de interesse para o país - endêmica, emergente ou exótica) deve comunicar imediatamente à unidade local do serviço veterinário oficial, a fim de possibilitar a investigação da suspeita. O manual descreve os procedimentos de biossegurança indispensáveis para a coleta de amostra, a maneira adequada de identificar a amostra por meio de formulários epidemiológicos e também as particularidades sobre a coleta e remessa de material para diagnóstico de doenças infecciosas e parasitárias.

Biópsias externas (pele, escamas, nadadeiras e brânquias) podem auxiliar no diagnóstico de enfermidades bacterianas, virais, fúngicas e parasitárias e ainda na identificação de nódulos tumorais. O peixe pode ser contido manualmente ou ainda ser submetido à anestesia. No entanto, o uso da anestesia pode causar grande perda de ectoparasitos ou deixá-los imóveis, o que dificulta sua visualização (EIRAS *et al.*, 2000; CALLAHAN & NOGA 2002).

A coleta de amostras é feita em áreas com aparência anormal, como locais descolorados, úlceras, erosões e massas, eliminando-se primeiramente o muco. Lamínulas são utilizadas para raspagem da epiderme, enquanto tesouras

ou lâminas de bisturi são empregadas na obtenção de amostras de nadadeiras e brânquias. No caso das brânquias, o arco branquial não deve ser cortado. Coleta-se apenas um fragmento pequeno do filamento. Em peixes maiores, o raspado de brânquias também pode ser realizado. As amostras devem ser colocadas em uma lâmina com uma gota de água (doce ou salgada, dependendo da espécie ictífica em questão) e cobertas com uma lamínula para subsequente avaliação (YANONG 2006).

Material fecal pode ser coletado para visualização de parasitos no exame direto em microscópio. A coleta é feita facilmente, pressionando-se regiões próximas à abertura anal. Por isso, deve-se atentar para a contaminação de outros tipos de amostras, como raspados de epiderme, pois a pressão da lâmina pode induzir a eliminação tanto de fezes quanto de esperma nos machos. A pressão exercida sobre o abdômen do peixe não deve ser muito grande e nem feita com objetos abrasivos, para evitar lesões epiteliais e perda de escamas. As fezes também podem ser obtidas via sonda anal. Ainda, uma forma não invasiva de coletar as fezes dos peixes é por meio da decantação, mantendo os animais em tanques com fundo cônico e com uma abertura na extremidade inferior, onde as fezes se concentram, permitindo a coleta sem perturbação dos peixes. No entanto, essa técnica não permite a individualização dos peixes, exceto quando são mantidos isoladamente, e está mais sujeita à contaminação, como restos alimentares e escamas.

Quanto à obtenção de sêmen, deve-se eliminar a urina e as fezes antes da extração do gameta. Se isto não for possível, descarta-se a amostra. Se o macho estiver pronto para a ejaculação, a liberação de sêmen ocorrerá quando a região abdominal for pressionada da frente para trás até as proximidades do poro urogenital. O sêmen é então utilizado para avaliar as condições de saúde espermática, como motilidade, viabilidade e concentração de espermatozoides, podendo ser usado para criopreservação (EIRAS *et al.*, 2000; YANONG 2006). Entretanto, é necessário muito cuidado na extração desse material, pois a pressão da extrusão mecânica pode levar à perda de escamas, escoriações na pele e severa perda epitelial (ZANUZZO *et al.*, 2015).

Quando da observação de endoparasitas durante a necropsia, coletar amostra do tecido infectado, xenoma ou o próprio parasita, acondicionar em cassete histológico e armazenar em tubo de coleta com solução de fixação (formol 10% tamponado) na proporção volume: volume 1:10 para envio à avaliação histopatológica (Manual de Coleta e Remessa de Amostras para Diagnóstico de Enfermidades de Animais Aquáticos na Rede Nacional de Laboratórios do Ministério da Pesca e Aquicultura - RENAQUA, 2013). Preparados úmidos de órgãos internos são igualmente utilizados para avaliação microscópica, como no caso de infestações por parasitos protozoários no aparelho gastrointestinal (EIRAS *et al.*, 2000).

No caso de suspeita de enfermidade bacteriana em uma grande população ictiíca, recomenda-se a eutanásia de exemplares moribundos para amostragem microbiológica usando técnicas estéreis apropriadas. Podem ser realizadas culturas de encéfalo, rins, fígado e baço em se tratando suspeita de infecção sistêmica. A região a ser amostrada deve ser externamente esterilizada com álcool, o qual deve secar antes da realização da incisão com uma lâmina de bisturi. Para a coleta, pode-se utilizar um swab estéril ou ainda inserir uma tesoura esterilizada para obtenção de um fragmento do tecido. As culturas de sangue também são úteis no diagnóstico de enfermidade bacteriana sistêmica, com a vantagem de que a amostra é coletada a partir do animal vivo. A agulha deve ser inserida em local previamente limpo com gaze estéril e solução salina (YANONG 2006).

A coleta de sangue em peixes é extensamente realizada para a avaliação de parâmetros hematológicos, bioquímicos e morfológicos e pesquisa de hemoparasitas. O acesso mais explorado são os vasos da região caudal. Para tal procedimento, quando aplicável, pode-se utilizar anestesia desde que não altere os parâmetros a serem avaliados (VELISEK *et al.*, 2007; ZAHL *et al.*, 2010; GHOLIPOURKANANI & AHADIZADEH 2013; GOMULKA *et al.*, 2014; GRES-SLER *et al.*, 2014). A coleta de sangue dos vasos caudais consiste na inserção da agulha ventrolateralmente da porção caudal pós-anal do peixe, evitando assim a cavidade peritoneal, em um ângulo de aproximadamente 45° na direção da coluna vertebral, onde os vasos estão localizados ventrolateralmente à medula espinhal. O ângulo de inserção pode variar de acordo com a anatomia do peixe e seu tamanho. A punção intracardíaca é menos utilizada, sendo a anestesia indispensável neste caso e que consiste na inserção da agulha perpendicularmente em relação ao ventre do peixe, diretamente no coração. Anticoagulantes (por ex., heparina, EDTA) são utilizados em quantidade mínima apenas para umedecer internamente a agulha e a seringa (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013). A secção caudal, que consiste na coleta de sangue diretamente dos vasos após o corte do pedúnculo caudal, deve ser evitada, pois, além de necessariamente resultar na morte do peixe, o sangue no geral é contaminado por outros fluidos teciduais exsudados no corte (CONGLETON & LAVOIE 2001). Caso a secção caudal seja estritamente necessária, como no caso de peixes muito pequenos, onde as punções vaso-caudal ou cardíaca não são possíveis, é imprescindível que o animal seja profundamente anestesiado ou eutanasiado previamente. A coleta de sangue por punção dos vasos branquiais é possível nos peixes de maior tamanho, onde a visualização desses vasos é mais fácil. Por se tratar de uma área com maior pressão sanguínea, deve-se tomar muito cuidado para não romper os vasos, o que causa grande perda de sangue pelo peixe. Em todos os métodos de coleta de sangue, é imprescindível tomar o cuidado de selecionar agulhas de tamanho adequado ao tamanho do peixe e à parte do corpo onde a coleta será feita. Embora agulhas de maior calibre resultem em uma

coleta mais rápida, por permitirem maior fluxo de sangue, agulhas com um diâmetro inadequadamente grande podem romper os vasos ou o tecido cardíaco (no caso da punção cardíaca) e levar o peixe a óbito. Em relação à quantidade de sangue a ser amostrada, devemos levar em consideração o tamanho do animal e o ambiente em que vive. A coleta deve sempre considerar a quantidade de sangue no peixe, tomando-se o cuidado de utilizar peixes no tamanho adequado ao volume de sangue que precisa ser obtido. Estima-se em peixes que de 2 a 5% do peso corporal seja composto de sangue (JOHANSEN *et al.*, 2006). Peixes de água doce recuperam a volemia (volume sanguíneo) mais rapidamente, uma vez que seus fluidos corpóreos são mais concentrados em solutos do que a água do ambiente e por isso o animal adquire água facilmente. Já para peixes marinhos, a reposição é mais demorada, pois tendem a desidratar facilmente por viverem em um meio mais concentrado em solutos.

5.7. Eutanásia

A eutanásia é utilizada com o intuito de causar a morte rápida de animais com o mínimo de dor e sofrimento possíveis. Recomenda-se ver definição de eutanásia, critérios a serem adotados para eutanásia e condições necessárias para eutanásia na Resolução Normativa 37 do Concea, Diretriz da Prática de Eutanásia, publicada em 15 de fevereiro de 2018.

5.8. Necropsia

Técnicas necroscópicas devem ser realizadas em todos os exemplares, uma vez que podem auxiliar em investigações epidemiológicas e condutas terapêuticas. O ideal é realizar o exame logo após a morte dos peixes, já que estes autolisam mais rapidamente que outras espécies animais (MATUSHIMA 2006). Durante a necropsia, coleta-se material biológico para testes diagnósticos, os quais incluem exame histopatológico, microbiológico, toxicológico, parasitológico e citológico, a fim de determinar a causa mortis (MATUSHIMA 2006).

A necropsia de peixe inicia por uma inspeção macroscópica externa, a fim de avaliar o estado das escamas, da pele e das cavidades naturais e o aspecto geral do tegumento. Observa-se a presença de ectoparasitas e formações nodulares, por exemplo, sendo qualquer alteração amostrada para exames diagnósticos. Ectoparasitas podem ser fixados em álcool 70% para posterior identificação (MATUSHIMA 2006).

Uma vez concluída a avaliação macroscópica externa, a cavidade celomática é aberta por meio de uma incisão ao longo da linha média ventral.

Imagens fotográficas feitas ao longo da inspeção podem auxiliar na elaboração do laudo necroscópico, o qual deve incluir a causa mortis, a moléstia principal e a descrição das alterações anatomopatológicas observadas (MATSUMURA 2006). As fotografias também servem para documentar achados de necropsia, como tumores viscerais e presença de conteúdo atípico em órgãos cavitários.

5.9. Destino de carcaças

Carcaças de animais utilizados em experimentação são classificados Resíduos Sólidos do Grupo A (“resíduos que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente, devido à presença de agentes biológicos”), de acordo com a legislação vigente, seja a carcaça contaminada ou não por agentes patogênicos. As carcaças a serem descartadas devem ser acondicionadas em sacos plásticos adequados ao tamanho e peso do resíduo, devidamente identificados quanto ao seu conteúdo (CARDOSO 2002). Se não for possível dar destino às carcaças imediatamente, recomenda-se que estas sejam acondicionadas em sacos plásticos identificados e armazenadas em câmaras frias ou freezer (-16°C ou temperatura mais baixa). O destino das carcaças pode ser aterro sanitário (desde que atenda às normas de biossegurança e de proteção ao meio ambiente), autoclavação (uma vez autoclavada, a carcaça está livre de contaminação e pode ser descartada em lixo comum) e incineração (calcinação da matéria orgânica, destruindo agentes patogênicos e gerando cinzas como resíduos) (CARDOSO 2002). O destino das carcaças depende das instalações à disposição do laboratório de experimentação animal e de aulas práticas da instituição.

6. Referências bibliográficas

- ALVAREZ-VERDE, C.A.; SAMPAIO, L.A.; OKAMOTO, M.H. Effects of light intensity on growth of juvenile Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. **Bol. do Inst. Pesca**, v. 41, n. 4, 2015.
- ALVES, F.L.; BARBOSA JUNIOR, A.; HOFFMANN, A. Antinociception in piaçu fish induced by exposure to the conspecific alarm substance. **Physiology and Behavior**, 110-111: 58-62, 2013.
- ALY, H.A.; ABDEL RAHIM, M.M.; ABDELATY, B.S.; LOTFY, A.M. Impact of Different Colors of Artificial Light on Pigmentation and Growth Performance of Hybrid Red Tilapia (*Oreochromis mosambicus* × *O. hornorum*) Reared in Saline Well Water. **J. Mar. Sci. Res. Dev.**, 7:229, 2017
- ARLINGHAUS, R.; COOKE, S.J.; SCHWAB, A.; COWX, I.G. Fish welfare: a challenge to the feelings-based approach, with implications to recreational fisheries. **Fish Fisheries**, 8:57–71, 2007.
- ARMELIN, V. A.; BRAGA, V. H. S.; TEIXEIRA, M. T.; RANTIN, F. T.; FLORINDO, L. H.; KALININ, A. L. Gill denervation eliminates the barostatic reflex in a neotropical teleost, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 1213-1224, 2016.
- ASHLEY, P.J.; SNEDDON, L.U.; McCROHAN, C.R. Nociception in fish: stimulus- response properties of receptors on the head of trout *Oncorhynchus mykiss*. **Brain Research**. v.1166, p.47-54, 2007.
- AVDESH, A.; CHEN, M.; MARTIN-IVERSON, M. T.; MONDAL, A.; ONG, D.; RAINEY- SMITH, S.; TADDEI, K.; LARDELLI, M.; GROTH, D. M.; VERDILE, G.; MARTINS, R. N. Regular Care and Maintenance of a Zebrafish (*Danio rerio*) Laboratory: An Introduction. **Journal of Visualized Experiments**, v.69, e4196, 2012.
- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. **AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals. 2013 Edition**. Disponível em: https://www.in.gov/boah/files/AVMA_Euthanasia_Guidelines.pdf. Acesso em: 30 out. 2013.
- AZAMBUJA, C. R. M.; MATIAZZI, J.; RIFFEL, A. P. K.; FINAMOR, I. A.; GARCIA, L. O.; HELDWEIN, C. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M. A.; LLESUY, S. F. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. **Aquaculture International**. v.319, p.156-161, 2011.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. EDUFMS, 2013. 349p.
- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C.; HEINZMANN, B. M.; DA CUNHA, M. A. **Farmacologia aplicada à aquicultura**. 1ª ed. Santa Maria, RS: Editora UFSM, 2017. 653 p.
- BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v.42, p.517–525, 2002.
- BATESON, P. Assessment of pain in animals. **Animal Behavior**, 42: 827–839, 1991.
- BECKER, A. G.; CUNHA, M. A.; GARCIA, L. O.; ZEPPENFELD, C. C.; PARODI, T. V.; MALDANE, G.; MOREL, A. F.; BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.789-796, 2012.
- BEITINGER, T.L. Behavioral reactions for the assessment of stress in fishes. **Journal of Great Lakes Research**, v.16, p.495-528, 1990.
- BELANGER, J.M.; SON, J. H.; LAUGERO, K. D.; MOBERG, G. P.; DOROSHOV, S. I.; LANKFORD, S. E.; CECH, J. J. Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. **Aquaculture**, v.203, p.165-176, 2001.
- BENDHACK, F.; URBINATI, E. C. Mitigating stress effects during transportation of matrinxã (*Brycon amazonicus* Günther, 1869; Characidae) through the application of calcium sulfate. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 25, p. 201–205, 2009.
- BENLI, A. C. K.; KÖKSAL, G.; OZKUL, A. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): effects on gill, liver and kidney histology. **Chemosphere**, v. 72, n. 9, p. 1355–8, jul. 2008.
- BENOVIĆ, S. C.; GRESSLER, L. T.; SILVA, L. L.; GARCIA, L. O.; OKAMOTO, M. H.; PEDRON, J. S.; SAMPAIO, L. A.; RODRIGUES, R. V.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Anesthesia and transport of Brazilian Flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.43, n.6, 2012.
- BERKA, R. The transport of live fish: a review. **EIFAC Technical Paper**, n. 48, 52 pp, 1986.
- BERMUDEZ, D.A., PRADA C.H., N.R. AND KOSSOWSKI, C. **Ensayo sobre la reproducción de Cachama *Colossoma macropomus* (Cuvier) 1818 en cautiverio**. Universidad Centro Occidental, Escuela de Agronomía, 23 p., 1979.

- BLAXTER, J.H.S. Ninth larval fish conference: Development of sense organs and behaviour of Teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. **Trans. Am. Fish. Soc.** 1986
- BOISEN, A. M. Z., AMSTRUP, J., NOVAK, I., GROSELL, M. Sodium and chloride transport in soft and hard water acclimated zebrafish (*Danio rerio*). **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1618, p.207-218, 2003.
- BOLTAÑA, S. et al. Influences of thermal environment on fish growth. **Ecology and Evolution**, 2017.
- BRAISSANT, O.; MCLIN, V. A.; CUDALBU, C. Ammonia toxicity to the brain. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, 2013.
- BRAITHWAITE, V. A.; SALVANES, A. G. V. Environmental variability in the early rearing environment generates behaviorally flexible cod: implications for rehabilitating wild populations. **Proceedings of the Royal Society B**, v.272, p.1107-1113, 2005.
- BRATTELID, T.; SMITH, A. J. Methods of positioning fish for surgery or other procedures out of water. **Laboratory Animals**, v.34, p.430-433, 2000.
- BROMAGE, N.; M. BRUCE; N. BASAVARAJA; RANA, K. Egg quality determinants in finfish: The role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic Halibut *Hippoglossus hippoglossus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 25 (1): 13-21, 1994.
- BROOM, D.M. Animal welfare: concepts and measurement. **Journal of Animal Science**, 69 (10): 4167-4175, 1991.
- BROOM, D.M. Welfare assessment and relevant ethical decisions: key concepts. **Annual Review of Biomedical Sciences**, 10: 79- 90, 2008,
- BRYDGES, N. M.; BRAITHWAITE, V. A. Does environmental enrichment affect the 33 behaviour of fish commonly used in laboratory work? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, p. 137-143, 2009.
- BU-ALI, Q.; AL-ASEERI, M.; AL-BASTAKI, N. An experimental study of performance parameters and ion concentration along a reverse osmosis membrane. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, vol. 46, l. 7, 2007.
- BUATTI, M.C.; PASTERNAK, G.W. Multiple opiate receptors: phylogenetic differences. **Brain Research**, 218: 400-405, 1981.
- BURKA, J. F.; HAMMEL, K. I.; HORSBERG, T. E.; JOHNSON, G. R.; RAINNIE, D. J.; SPEARS, D. J. Drugs in salmonid aquaculture - a review. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.20, p.333-349, 1997.
- CALLAHAN, H. A.; NOGA, E. J. Tricaine dramatically reduces the ability to diagnose protozoan ectoparasite (*Ichthyobodo necator*) infections. **Journal of Fish Diseases**, v.25, p.433- 437, 2002.
- CARDOSO, C. V. P. Destino de carcaças. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p.280-288, 2002.
- CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 297–304, 2001.
- CAROLSFELD, J. Reproductive physiology e induced breeding of fish as related to culture of Colossomas. In: Hernandez, A.. **Cultivo de Colossoma**. Bogota: Red Regional de Entidades y Centros de Acuicultura de America Latina, p. 37-73, 1989.
- CARPENTER, J. W. **Exotic Animal Formulary**, 3rd. ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders, 564 p., 2005.
- CERRI, R.D. The effect of light intensity on predator and prey behaviour in cyprinid fish: Factors that influence prey risk. **Anim. Behav.**, 1983.
- CHANDROO, K. P., DUNCAN, I. J. H; MOCCIA, R. D. Can fish suffer? Perspectives on sentience, pain, fear and stress. **Applied Animal Behavior Science**, 86 (3-4):225-250, 2004.
- CHAVES, P. T. C. **Aspectos convergentes da dinâmica ovariana nos peixes, com uma contribuição à biologia reprodutiva de 14 espécies do litoral de São Paulo**. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 123p., 1991.
- CHERVOVA, L. S.; LAPSHIN, D. N. Opioid modulation of pain threshold in fish. **Doklady Biological Science**, v.375, p.590-591, 2000.
- CLAIBORNE, J. B.; EDWARDS, S. L.; MORRISON-SHETLAR, A. I. Acid-base regulation in fishes: cellular and molecular mechanisms. **The Journal of experimental zoology**, 2002.
- CLARKE, A.; JOHNSTON, N. M. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. **Journal of Animal Ecology**, 1999.
- CLEVELAND P. H. JR., LARRY S. R., ALLAN L. **Animal Diversity**. 3ª Ed. McGraw-Hill Science, 464 p. 2002.
- COLLINS, M.; SMITH, T.; POST, W.; PASHUK, O. Habitat utilization and biological characteristics of adult Atlantic sturgeon in two South Carolina rivers. **Transactions of American Fisheries Society**, v.129, p.982-988, 2000.
- COYLE, S. D.; DURBOROW, R. M.; TIDWELL, J. H. **Anaesthetics in aquaculture**. Southern Regional Aquaculture Center Publication, v.3900, 2004.
- CONGLETON, J. L.; LAVOIE, W. L. Comparison of Blood Chemistry Values for Samples Collected from Juvenile Chinook Salmon

- by Three Methods. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.13, p.168-172, 2001.
- COOKE, S. J.; WAGNER, G. N. Training, experience and opinions of researchers who use surgical techniques to implant telemetry devices into fish. **Fisheries**, v.29, p.10-18, 2004.
 - CUNHA, M. A.; BARROS, F. M. C.; GARCIA, L. O.; VEECK, A. P. L.; HEINZMANN, B. M.; LORO, V. L.; EMANUELLI, T.; BALDIS-462 463 SEROTTO, B. Essential oil of *Lippia alba*: a new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v.306, p.403-406, 2010.
 - DELICIO, H.C.; BARRETO, R.E. Time-place learning in food-restricted Nile tilapia. **Behavioural Processes**, v. 77, p. 126–130, 2008.
 - DELICIO, H.C.; BARRETO, R.E.; NORMANDES, E.B.; LUCHIARI, A.C.; MARCONDES, A.L. A place preference test in the fish Nile tilapia. **Journal of Experimental Animal Science**, v. 43, p. 141-148, 2006.
 - DENG, D. F.; REFSTIE, S.; HEMRE, G.-I.; CROCKER, C. E.; CHEN, H. Y.; CECH JR., J. J.; HUNG, S. S. O. A new technique of feeding, repeated sampling of blood and continuous collection of urine in white sturgeon. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.22, n.4, p.191-197, 2000.
 - DENG, D. F.; REFSTIE, S.; HUNG, S. S. O. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon after oral administration of simple and complex carbohydrates. **Aquaculture**, v.199, p.107-117, 2001.
 - DIVERS, S.; BOONE, S.; HOOVER, J.; BOYSEN, K.; KILLGORE, K.; MURPHY, C.; GEORGE, S.; CAMUS, A. Field endoscopy for identifying gender, reproductive stage and gonadal anomalies in free-ranging sturgeon (*Scaphirhynchus*) from the lower Mississippi River. **Journal of Applied Ichthyology**, v.25, p.68-74, 2009.
 - DJORDJEVIC, B.; KRISTENSEN, T.; ØVERLI, Ø.; ROSSELAND, B. O.; KIESSLING, A. Effect of nutritional status and sampling intensity on recovery after dorsal aorta cannulation in free-swimming Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, n.1, p.259-272, 2012.
 - DONALDSON, M. R. et al. Cold shock and fish. **Journal of Fish Biology**, 2008.
 - DREBROG, S.; REL SUNDSTROM, G.; LARSSON, T.A. Evolution of vertebrate opioid receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, 105(40):15487– 15492, 2008.
 - DUNCAN, I. J. H. Animal welfare defined in terms of feelings. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Supplementum, v.27, p. 29-35, 1996.
 - DUNLOP, R.; LAMING, P. Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of Pain**, v.6, n.9, p.561-568, 2005.
 - DUNLOP, R.; MILLSOPP, S. LAMING, P. Avoidance learning in goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) and implications for pain perception. **Applied Animal Behaviour Science**, 97:255-271, 2006.
 - EDDY, F. B. Ammonia in estuaries and effects on fish. **Journal of Fish Biology**, 2005.
 - EDELMAN, G. M.; TONONI, G.A. **Universe of consciousness**. Basic Books, New York, NY, 2000.
 - EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de Estudo e Técnicas Laboratoriais em Parasitologia de Peixes**. Maringá: Eduem, 173 p., 2000.
 - ELLIS, T. What is stocking density. **Trout News CEFAS**, 32:35-37; 2001.
 - ELLIS, T.; JAMES, J. D.; STEWART, C.; SCOTT, A. P. A non-invasive stress assay based upon measurement of free cortisol released into the water by rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v.65, p.1233–1252, 2004.
 - EL-SAYED, A. F. M.; MOSTAFA, K. A.; ALMOHAMMADI, J. S.; EL-DEHAIMI, A.; KAYID, M. Effects of stoking density and feeding levels on growth rates and feed utilization of rabbitfish *Siganus canaliculatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 26, n. 2, p. 212-216, 1995.
 - EMERSON, K. et al. Aqueous Ammonia Equilibrium Calculations: Effect of pH and Temperature. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, 1975.
 - ERICKSON, D.; WEBB, M. Spawning periodicity, spawning migration, and size at maturity of green sturgeon, *Acipenser medirostris*, in the Rogue River, Oregon. **Environmental Biology of Fishes**, v.79, p.255-268, 2007.
 - EVANS, D. H. The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste. **Physiological Reviews**, 2005.
 - FAN, T. W. M.; TEH, S. J.; HINTON, D. E.; HIGASHI, R. M. Selenium biotransformations into proteinaceous forms by foodweb organisms of selenium-laden drainage waters in California. **Aquatic Toxicology**, v.57, n.1-2, p.65-84, 2002.
 - FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 8-14, 2008.

- FLEMING, G. J.; HEARD, D. J.; FLOYD, R. F.; RIGGS, A. Evaluation of propofol and metomidine-ketamine for short-term immobilization of Gulf of Mexico sturgeons (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.34, p.153-158, 2003.
- FLORINDO, L. H.; LEITE, C. A. C.; KALININ, A. L.; REID, S. G.; MILSOM, W. K.; RANTIN, F. T. The Role of Branchial and Orobranchial O₂ Chemoreceptors in The Control of Aquatic Surface Respiration (ASR) in The Neotropical Fish Tambaqui (*Colossoma macropomum*): Progressive Response to Prolonged Hypoxia. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n.9, p. 1709- 1715, 2006.
- FONTES, N. A.; SENHORINI, J. A.; LUCAS, A.F.B. Efeito de duas densidades de estocagem no desempenho larval do pacu (*Piaractus mesopotamicus* (fêmea) HOLMBERG, 1887) X *Colossoma macropomum* (macho) (CUVIER, 1818), em viveiros. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 3, p. 23-32, 1990.
- FOX, H. E.; WHITE, S. A.; KAO, M. H. F.; FERNALD, R. D. Stress and dominance in a social fish. **The Journal of Neuroscience**, v.17, p.6463–6469, 1997.
- GARCIA, L. D. O. *et al.* Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. **Neotropical Ichthyology**, 2008.
- GHOLIPOURKANANI, H.; AHADIZADEH, S. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. SpringerPlus, v.2, p.1-5, 2013.
- GILLILAND, E. R. Comparison of absorbable sutures used in Largemouth Bass liver biopsy surgery. **Progressive Fish-Culturist**, v.56, p.60-61, 1994.
- GINGERICH, W. H.; DROTTAR, K. R. Plasma catecholamine concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest and after anesthesia and surgery. **General and Comparative Endocrinology**, v.73, n.3, p.390-397, 1989.
- GLOVER, C. N.; HOGSTRAND, C. In vivo characterization of intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. **Journal of Experimental Biology**, v.205, p.141-150, 2002.
- GOMULKA, P.; WLASOW, T.; SZCZEPKOWSKI, M.; MISIEWICZ, L.; ZIOMEK, E. The effect of propofol anaesthesia on haematological and biochemical blood profile of European whitefish. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.14, p.331-337, 464 465 2014.
- GONZALEZ-NUNES, V.; RODRIGUEZ, R. The zebrafish: a model to study the endogenous mechanisms of pain. **ILAR Journal**, 50(4): 373-385, 2009.
- GOSS, G. G. *et al.* Gill morphology and acid-base regulation in freshwater fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, (1):107-15, 1998.
- GOUVEIA JR, A.; MAXIMINO, C.; BRITO, T. M. Comportamento de peixes: Vantagens e utilidades nas neurociências. Faculdade de Ciências/UNESP. Bauru, SP, p. 80, 2006.
- GRANT, G. C. RNA-DNA ratios in white muscle tissue biopsies reflect recent growth rates of adult Brown Trout. **Journal of Fish Biology**, v.48, p.1223-1230, 1996.
- GRESSLER, L. T.; PARODI, T. V.; RIFFEL, A. P. K.; DA COSTA, S. T.; BALDISSEROTTO, B. Immersion anaesthesia with tricaine methanesulfonate or propofol on different sizes and strains of *Rhamdia quelen*. **Journal of Fish Biology**, v.81, p.1436- 1445,2012.
- GRESSLER, L. T.; RIFFEL A. P. K., PARODI, T. V.; SACCOL, E. M. H.; KOAKOSKI, G.; DA COSTA, S. T.; PAVANATO, M. A.; HEINZMANN, B. M.; CARON, B.; SCHMIDT, D.; LLESUY, S. F.; BARCELLOS, L. J. G.; BALDISSEROTTO, B. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1061-1072, 2014.
- GRESSLER, L. T.; SUTILI, F. J.; DA COSTA, S. T.; PARODI, T. V.; PÊS, T. S.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. J. G.; BALDISSEROTTO, B. Hematological, morphological, biochemical and hydromineral responses in *Rhamdia quelen* sedated with propofol. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p.463-472, 2015.
- GRESSLER, L. T.; SUTILI, F. J.; LOEBENS, L.; SACCOL, E. M. H.; PES, T. S.; PARODI, T. V.; DA COSTA, S. T.; PAVANATO, M. A.; BALDISSEROTTO, B. Histological and antioxidant responses in *Rhamdia quelen* sedated with propofol. **Aquaculture Research**, v.47, p. 2297-2306, 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Ammonia. Environmental Health Criteria**, 54 (1986) 210 p, 1986.
- HARMS, C. A.; BAKAL, R. S.; KHOO, L. H.; SPAULDING, K. A.; LEWBART, G. A. Microsurgical excision of an abdominal mass in a gourami. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.207, n.9, p.1215-1217, 1995.
- HARMS, C. A.; LEWBART, G. A. The veterinarian's role in surgical implantation of electronic tags in fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.21, p.25-33, 2011.
- HARMS, C.A.; KISHIMORI, J.; BOYLAN, S.; LEWBART, G. A.; SWANSON, C. Behavioral and clinical pathology changes in koi

- carp (*Cyprinus carpio*) subjected to anesthesia and surgery with and without peri-operative analgesics. **Comparative Medicine**, v.55, n.3, p.221-226, 2005.
- HÄRŞAN, R.; OGNEAN, L.; NICA, C. Light Influence on Chromatophores Activity in *Poecilia reticulata*. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca. Vet. Med.* 71, 110–113, 2014.
- HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: International Development Research Center, 144p., 1993.
- HAWKE, J. P.; MCWHORTER, A. C.; STEIGERWALT, A. G.; BRENNER, D. J. *Edwardsiella ictaluri* sp. nov., the causative agent of enteric septicemia of catfish. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 31, p. 396-400, 1981.
- HERNANDEZ-DIVERS, S. T.; BAKAL, R. S.; HICKSON, B. H.; RAWLINGS, C. A.; WILSON, H. G.; RADLINSKY, M.; HERNANDEZ-DIVERS, S. M.; DOVER, S. R. Endoscopic sex determination and gonadal manipulation in Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.35, n.4, p.459-470, 2004.
- HINO, K. Mixing patterns and productivity of phytoplankton in a small artificial pond. **Ciência e Cultura**, v. 37, n. 8, p. 1331-40, 1985.
- HOFFMANN, A. **A dor na perspectiva da evolução filogenética. Reflexões em torno da dor**. 1ª ed., 169-196. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP: Ribeirão Preto, 2008
- HOLM, J. C.; REFSTIE, T.; BO, S. The effect of fish density and feeding regimes on individual growth rate and mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 89, p. 225-232, 1990.
- HUET, M. **Tratado de Piscicultura**. Madri: Mundi-Prensa, 1978.
- HUNTER, J.R. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. In: LASKER, R. **Marine Fish Larvae: Morphology, Ecology and Relation to Fisheries**. Seattle, WA: University of Washington Press, 1981.
- HUNTINGFORD, F. A.; LEANIZ, C. G. Social dominance, prior residence and acquisition of profitable feeding sites in juvenile Atlantic salmon. **Journal of Fish Biology**, v. 51, n. 5, p. 1009-1014, 1997.
- HUNTINGFORD, F.A.; ADAMS, C.; BRAITHWAITE, V.A.; KADRI, S.; POTTINGER, T.G.; SANDØE, P.; TURNBULL, J.F. Current issues in fish welfare. **Journal of Fish Biology**, v.68, p.332-372, 2006. - IDSO, S.B., GILBERT, R.G. On the Universality of the Poole and Atkins Secchi Disk-Light Extinction Equation. **J. Appl. Ecol.** 11, 399, 1974.
- ISRAELI-WEINSTEIN, D.; KIMMEL, E. Behavioral response of carp (*Cyprinus carpio*) to ammonia stress. **Aquaculture**, 1998.
- IWAMA, G. K.; VIJAYAN, M. M.; FORSYTH, R. B.; ACKERMAN, P. A. Heat shock proteins and physiological stress in fish. **American Zoologist**, v.39, p.901–909, 1999.
- JAFARI, N. G.; TRIVEDY, R. K.; FOROUTAN, A. Possible practical and environmental applications of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Pollution Research**, 2006.
- JAVAHERY, S.; NEKOUBIN, H.; MORADLU, A. H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.1545-1552, 2012.
- JOHANSEN, R.; NEEDHAM, J. R.; COLQUHOUN, D. J.; POPPE, T. T.; SMITH, A. J. Guidelines for health and welfare monitoring of fish used in research. **Laboratory Animals**, v.40, p.323-340, 2006.
- KAFUKU, T. Changes in technique for hatching of eggs spawned in flow. **Int. J. Aq. Fish. Technol.**, 1: 99-108, 1989.
- KARLSSON, A.; ROSSELAND, B. O.; MASSABUAU, J-C.; KIESSLING, A. Pre-anaesthetic metomidate sedation delays the stress response after caudal artery cannulation in Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.401-411, 2012.
- KELLEY, K. M. Experimental diabetes mellitus in a teleost fish. I. Effect of complete isletectomy and subsequent hormonal treatment on metabolism in the goby, *Gillichthys mirabilis*. **Endocrinology**, v.132, n.6, p.2689-2695, 1993.
- KIANG, J. G.; TSOKOS, G. C. Heat shock proteins 70kDa: Molecular biology, biochemistry, and physiology. **Pharmacology & Therapeutics**, v.80, p.183–201,1998.
- KIESSLING, A.; JOHANSSON, D.; ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O. B. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. **Aquaculture**, v.286, p.301-308, 2009.
- KING, W. V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D. The use of clove oil, metomidate, tricaine, methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). **Aquaculture Research**, v.36, p.1442-1449, 2005.
- KÖRNER, S. et al. The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to *Lemna gibba*. **Aquatic Botany**, 2001.

- KRAMER, D. L. Dissolved oxygen and fish behavior. **Environmental Biology of Fishes**, 18, 81-92, 1987.
- KUBITZA, F. **Qualidade da água na produção de peixes**. 3^a. ed. Jundiaí: Degaspari. 97p, 1999a.
- KUBITZA, F. **Técnicas de transporte de peixes vivos**. Jundiaí: Degaspari, 1999b.
- LAWRENCE, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. **Aquaculture**, v.269, p.1- 20, 2007.
- LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; CORRÊIA, V.; VEIVERBERG, C. A.; TAFFAREL BERGAMIN, G.; EMANUELLI, T.; PORTES RIBEIRO, C. Densidade de estocagem no crescimento, composição e perfil lipídico corporal do jundiá. **Ciência Rural**, v. 41, n. 4, 2011.
- LEMBI, C. A. Limnology, Lake and River Ecosystems. **Journal of Phycology**, 2001.
- LEWBART, G. A.; HARMS, C. Building a fish anesthesia delivery system. **Exotic DVM**, v.1, p.25-28, 1999.
- LEWBART, G. A.; SPODNICK, G.; BARLOW, N.; LOVE, N. E.; GEOLY, F.; BAKAL, R. S. Surgical removal of an undifferentiated abdominal sarcoma from a koi carp (*Cyprinus carpio*). **Veterinary Record**, v.143, p.556-558, 1998.
- LI, L. et al. Ammonium stability and nitrogen isotope fractionations for NH_4^+ - $\text{NH}_3(\text{aq})$ - $\text{NH}_3(\text{gas})$ systems at 20-70°C and pH of 2-13: Applications to habitability and nitrogen cycling in low-temperature hydrothermal systems. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 2012.
- HARRIS, G. Salinity. In: LIKENS, G.E. **Encyclopedia of Inland Waters**. Academic Press, p. 79-84, 2009.
- LOGAN, D.W.; BURN, S.F.; JACKSON, I.J. Regulation of pigmentation in zebrafish melanophores. **Pigment Cell Res.**, 19(3):2016-13, Jun, 2006.
- MACINTYRE, C. M.; ELLIS, T.; NORTH, B. P.; TURNBULL, J. F. The Influences of Water Quality on the Welfare of Farmed Rainbow Trout: a Review In: BRANSON, E. J. (Org.). **Fish Welfare**. Oxford: Blackwell Publishing, p. 150-184, 2008.
- MACLEAN, A.; METCALFE, N. B. Social status, access to food, and compensatory growth in the juvenile Atlantic salmon. **Journal of Fish Biology**, v. 58, n. 5, p. 1331-1346, 2001.
- MAINARDES-PINTO, C.S.R.; et al. **Viability of Thailand tilapia, *Oreochromis niloticus* culture raised in small volume net cages placed in populated ponds**. In: WORLD AQUACULTURE, Salvador, BA. Book of Abstracts. Salvador: WAS, 2003. p.442, 2003.
- MATSCHE, M. A.; BAKAL, R. S.; ROSEMARY, K. M. Use of laparoscopy to determine sex and reproductive status of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) and Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*). **Journal of Applied Ichthyology**, v.27, 466 467 p.627-636, 2011.
- MATTHEWS, M.; TREVARROW, B.; MATTHEWS, J. **A virtual tour of the guide for zebrafish users**. **Lab Anim**, 31(3):34-40, 2002. DOI:10.1038/5000140.
- MATUSHIMA, E. R. Técnicas Necroscópicas. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO- DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, Cap. 61, p.980-990, 2006.
- MAXIMINO, C., MARQUES DE BRITO, T., DE MATTOS DIAS, C.A.G., GOUVEIA, A., MORATO, S. Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. **Nat. Protoc.**, 5(2):209-16, 2010. DOI:10.1038/nprot.2009.225.
- McCLESKEY, R. B.; KIRK NORDSTROM, D.; RYAN, J. N. Electrical conductivity method for natural waters. **Applied Geochemistry**, v.26, Supplement, p. S227-S229, 2011.
- McLEAN, E.; ASH, R. Chronic cannulation of the hepatic portal vein in rainbow trout, *Salmo gairdneri*: a prerequisite to net absorption studies. **Aquaculture**, v.78, p.195-205, 1989.
- MEADE, J. W. Allowable Ammonia for Fish Culture. **The Progressive Fish-Culturist**, p. 135-145, 1985.
- MELLOR, D.J.A. Updating Animal Welfare Thinking: Moving beyond the “Five Freedoms” towards “A Life Worth Living”. **Animals**, 6(3): 21, 2016.
- MILLSOPP, S.; LAMING, P. Trade-offs between feeding and shock avoidance in goldfish (*Carassius auratus*). **Applied Animal Behaviour Science**, 113:247-254,2007.
- MOLENTO, C. F. M. Senciência Animal. Curitiba: **Revista do Conselho Regional de Medicina Veterinária**, v. 16, p. 18, 2005.
- MONFORT, P. et al. Molecular mechanism of acute ammonia toxicity: Role of NMDA receptors. **Neurochemistry International**, 41(2-3):95-102, 2002.
- MORAIS-FILHO, M.B.; SCHUBART, O. **Contribuição ao estudo do dourado (*Salminus maxillosus* Val.) do rio Mogi Guassu (Pisces, Characidae)**. São Paulo, SP: EGRT-Ministério da Agricultura- Divisão de Caça e Pesca, 1955.
- MORAN, D.; WELLS, R. M. G.; PETHER, S. J. Low stress response exhibited by juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi Valenciennes*) exposed to hypercapnic conditions associated with transportation. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1399-1407, 2008.

- MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. **Fundamentos da moderna aquicultura**. Canoas: Ulbra, 2001.
- MORIMOTO, R. I.; KROEGER, P. E.; COTTO, J. J. 1990. The transcriptional regulation of heat shock genes: A plethora of heat shock factors and regulatory conditions. *In*: FEIGE, U.; MORIMOTO, R. I.; YAHARA, I.; POLLA, B. S. **Stress-inducible cellular responses**. Basel: Birkhauser, p.139-164, 1996.
- MURRAY, M. J. Endoscopy in sharks. **Veterinary Clinic of Exotic Animal**, v.13, p.301-313, 2010.
- MURRAY, M. J. Fish Surgery. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v.11, n.4, p.246- 257, 2002.
- NASCIMENTO, T. S. R.; BOIJINK, C. DE L.; PÁDUA, D. M. C. **Efeito do pH da água no equilíbrio iônico de alevinos de *Piaractus mesopotamicus***. 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/681436/efeito-do-ph-da-agua-no-equilibrio-ionico-de-alevinos-de-piaractus-mesopotamicus>. Acessado em: 24 fev. 2023.
- NAVARRO, F.K.S.P.; NAVARRO, R.D.; MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, V. DE O. Effect of photoperiod stress assessment and locomotor activity of female lambari (*Astyanax bimaculatu*). **Ciência e Agrotecnologia**, 38, 173–180, 2014.
- NELSON, J. S. **Fishes of the world**. 4th ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 622 p. 2006.
- NEWBY, N.C.; GAMPERL, A.K.; STEVENS, E.D. Cardiorespiratory effects and efficacy of morphine sulfate in winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). **American Journal of Veterinary Research**, 68: 592–597, 2007.
- NEWBY, N.C.; STEVENS, E.D. The effects of the acetic acid “pain” test on feeding, swimming, and respiratory responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Applied Animal Behaviour Science**, 114-260-269, 2008.
- NORDGREEN J.; GARNER, J. P.; JANCZAK, A. M.; RANHEIM, B.; MUIR, W. M.; HORSBERG, T. E. Thermonociception in fish: effects of two different doses of morphine on thermal threshold and post-test behaviour in goldfish (*Carassius auratus*). **Applied Animal Behaviour Science**, v.119, p.101-107, 2009.
- NORDGREEN, J.; HORSBERG, T.E.; RANHEIM, B.; CHEN, A.C.N. Somatosensory evoked potentials in the telencephalon of Atlantic salmon (*Salmo salar*) following galvanic stimulation of the tail. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 193, p.1235-1242, 2007.
- O’GORMAN, E. J. et al. Temperature effects on fish production across a natural thermal gradient. **Global Change Biology**, 22(9):3206-23, 2016.
- PACKER, R. K.; DUNSON, W. A. Anoxia and sodium loss associated with the death of brook trout at low pH. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Physiology**, 1972.
- PARAGAMIAN, V.; BEAMESDERFER, R.; IRELAND, S. Status, population dynamics, and future prospects of the endangered Kootenai River white sturgeon population with and without hatchery intervention. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.134, p.518-532, 2005.
- PENNISI, E. Blind cave fish may provide insights into human health. **Science**, 352 (6293), p. 1502-1503, 2016.
- PEREIRA, F. A. **Cultivo de peixes**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: il. – (ABC da Agricultura Familiar, 8), p. 19, 2006.
- PÉREZ, L. E.; MARTINO, G.; RAVELO, C.V. **An intensive *Colossoma macropomum* fry rearing method**. 1st Interamerican Congress of Aquiculture. Salvador, BA. p. 44, 1986.
- PIEDRAS, S.R.N.; FERNANDES, J.L.O.; MOTOYAMA, I.S.; MARTINS, G.B. Efeito de diferentes concentrações de salinas (NaCl) na sobrevivência de embriões de peixe – rei *Odontesthes bonariensis* e *Odontesthes humensis*. **Biotemas**, v.22, p. 235-238, 2009.
- PIGNATELLI, V.; CHAMP, C.; MARSHALL, J.; VOROBYEV, M. Double cones are used for colour discrimination in the reef fish, *Rhinecanthus aculeatus*. *Biol. Lett.*, 6(4): 537-539, 2010.
- PITCHER, T. J.; PARRISH, J. K. Functions of shoaling behaviour in teleosts. *In*: PITCHER, T. J. **The behaviour of teleost fishes**. Sydney: Springer, 1993, p.337-364.
- POPOVIC, N. T.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; COZ-RAKOVAC, R.; BARISIC, J.; JADAN M.; BERAKOVIC, A. P.; KLOBUCAR, R. S. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, p. 553-564, 2012.
- PORTER, K. G. The plant-animal interface in freshwater ecosystems. **American Scientist**, v. 65, n. 2, p. 159-170, 1977.
- QUEIROZ, J. F. Boas práticas aquícolas (BPA) em viveiros garantem sucesso da produção. Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE), **Visão Agrícola** n. 11, p. 36- 39, 2012.
- RAJESWARI, M.V., RAJASREE, S.R.R., BALASUBRAMANIAN, T. Effect of Light Levels on Growth, Survival and Skin Colour Enhancement of Marine Angelfish, *Apolemichthys xanthurus* (Bennett, 1833). **Turkish J. Fish. Aquat. Sci.** 17, 2017.
- RANDALL, D. J.; LIN, H. Effects of Variations in Water pH on Fish. *In*: LAHLOU, B.; VITIELLO, P. (Org.). **Aquaculture: Fundamental**

and Applied Research. Washington: American Geophysical Union, 1993.

- RANDALL, D. J.; TSUI, T. K. N. Ammonia toxicity in fish. **Marine Pollution Bulletin. Anals.** 2002
- RANDLER, C., RAHAFAR, A. Latitude affects Morningness-Eveningness: evidence for the environment hypothesis based on a systematic review. **Sci. Rep.** 7, 39976, 2017.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T.; DE PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, A. I. **Métodos para análise hematológica em peixes.** Maringá: Eduem, 120 p., 2013.
- REILLY, S.C.; QUINN, J.P.; COSSINS, A.R.; SNEDDON, L.U. Behavioural analysis of a nociceptive event in fish: Comparisons between three species demonstrate specific responses. **Applied Animal Behaviour Science**, 114: 248-259, 2008.
- REINHARDT, V. Common husbandry-related variables in biomedical research with animals. **Laboratory Animals**, v.38, p.213–235, 2004.
- REIS, A. B. *et al.* Alterações do epitélio branquial e das lamelas de tilápias (*Oreochromis niloticus*) causadas por mudanças do ambiente aquático em tanques de cultivo intensivo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29(4), 2009.
- REYNALTE-TATAJE, D. A.; BALDISSEROTTO, B.; ZANIBONI-FILHO, E. The effect of water pH on the incubation and larviculture of curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Characiformes: Prochilodontidae). **Neotropical Ichthyology**, 13(1) 2015.
- REYNALTE-TATAJE, D. A.; ESQUIVEL, B. M.; ESQUIVEL, J. R.; ZANIBONI-FILHO, E. Reproducción inducida del piauçu, *Leporinus macrocephalus* GARAVELLO y BRITSKI, 1988 (Characiformes, Anostomidae). **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 11-18, 2002.
- REYNALTE-TATAJE, D. A.; LOPES, C. A.; ÁVILA-SIMAS, S.; GARCIA, J. R. E.; ZANIBONI-FILHO, E. Artificial reproduction of neotropical fish: Extrusion or natural spawning?. **Natural Science** (Print), v. 05, p. 1-6, 2013.
- RIBEIRO, P. A. P.; GOMIERO, J. S. G.; LOGATO, P. V. R. Manejo alimentar de peixes. **Boletim de extensão** nº 98, Universidade Federal de Lavras, 2002. 17p.
- RINK, E.; WULLIMANN, M.F. Connections of the ventral telencephalon (subpallium) in the zebrafish (*Danio rerio*). **Brain Research**, v.1011, p.206-220, 2004.
- ROBERTS, H. E. Anesthesia, analgesia, and euthanasia. In: Roberts HE. **Fundamentals of ornamental fish health.** Ames, IA: Blackwell Publishing, 2010. 169 p.
- RODRIGUES, A.P.O.; BERGAMIN, G. T.; SANTOS, V. R. V. Nutrição e alimentação de peixes. In: RODRIGUES *et al.* (Eds.). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos.** Brasília, DF: Embrapa, 2013. Cap.6, p.171-213.
- ROQUES, J.A.C.; ABBINK, W.; GEURDS, F. van de VIS, H.; FLIK, G. Tailfin clipping, a painful procedure: studies on Nile tilapia and common carp. **Physiology and Behavior**, 101: 533-540, 2010.
- ROSE, D. J. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. **Review in Fisheries Science**, 10: 1-38, 2002.
- ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals.** 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 222 p., 2008.
- ROTH, G. The evolution of consciousness. In: ROTH, G.; WULLIMANN, M.F. (eds) **Brain Evolution and Cognition.** New York: John Wiley, p. 555–582, 2001.
- RUSSELL, W. M. S. AND BURCH, R. L. **The Principles of Humane Experimental Technique.** London: Methuen, 1959.
- SACCOL, E.M.H.; UCZAY, J.; PÊS, T.; FINAMOR, I.A.; OURIQUE, G.M.; RIFFEL, A.P.K.; SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; HEINZMANN, B. M.; LLESUY, S. F.; LAZZARI, R.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M. A. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: an analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. **Aquaculture**, v.416-417, p.244-254, 2013.
- SALBEGO, J.; SIMÕES, L.N.; BALDISSEROTTO, B. Aditivos no transporte de animais aquáticos. pp.539-568 In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C.; HEINZMANN, B.M.; CUNHA, M.A. (eds.). **Farmacologia aplicada à aquicultura.** EDUFMS, 2017.
- SALVANES, A.G.V.; MOBERG, O.; EBBESSON, L.O.E.; NILSEN, T.O.; JENSEN, K.H.; BRAITHWAITE, V.A. Environmental enrichment promotes neural plasticity and cognitive ability in fish. **Proceedings of the Royal Society B**, v.280, 20131331,2013.
- SATO, Y. **Reprodução de peixes da bacia do Rio São Francisco: indução e caracterização de padrões.** Tese - Universidade Federal de São Carlos, 1999.
- SCHIMITTOU, H.R. **Produção de peixes em alta densidade em tanques-rede de pequeno volume.** Campinas, SP: Associação Americana de Soja/Mogiana Alimentos, 1993. 78 p.
- SCHNEIDER, A.C.R.; SANTOS, J.L.D.; PORAWSKI, M.; SCHAEFER, P.G.; MAURER, R.L.; MATTE, U.D.S.; SILVEIRA, T.R.D. Implementação de um novo modelo de experimentação animal: zebrafish. **Revista HCPA.** Vol. 29, n. 2, p. 100-103, 2009.

- SCHOETTGER, R.A.; JULIN, A.M. Efficacy of MS-222 as an anaesthetic on four salmonids. *Investigation of Fisheries Contribution*, U.S. Department of Interior, v.13, p.1-15, 1967.
- SCHRECK, C.B. Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. **General Comparative Endocrinology**, v.165, p. 549–556, 2010.
- SCHRECK, C.B.; OLLA, B. L.; DAVIS, M. W. Behavioral responses to stress. *In*: IWAMA, G.K.; PICKERING, A.D.; SUMPTER, J.P. SCHRECK, C.B. **Fish Stress and Health in Aquaculture**. Cambridge: Cambridge University Press, p.119-144, 1997.
- SEBASTIÃO, F.A.; FURLAN, L.R.; HASHIMOTO, D.T.; PILARSKI, F. Identification of bacterial fish pathogens in Brazil by direct colony PCR and 16S rRNA gene sequencing. **Advances in Microbiology**, v. 5, p. 409-424, 2015.
- SHAFFI, S. A. Ammonia toxicity: Metabolic disorder in nine freshwater teleosts. **Toxicology Letters**, 6(6): 349-56, 1980.
- SHENG, L.; XU, J. **Effects of Thermal Shock on Some Freshwater Fishes**. 2008 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering. *Anals. IEEE*, May 2008. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/document/4535173>. Acessado em: 28 Feb. 2023
- SHIMIZU, A.; AIDA, K.; HANYU, I. Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity and plasma steroid levels in an autumn-spawning bitterling, *Acheilognathus rhombea*, during different phases of its annual reproductive cycle. **Gen. Comp. Endocrinol.** 93, 137–50, 1994.
- SILVA, A. L. N.; SIQUEIRA, A. T. **Piscicultura em tanques-rede: princípios básicos**. Recife: Sudene/Imprensa Universitária da UFRPE, p. 72, 1997.
- SILVEIRA, T.L.R.; MARTINS, G.B.; DOMINGUES, W.B.; REMIÃO, M.H.; BARRETO, B.F.; LESSA, I.M.; SANTOS, L.; PINHAL, D.; DELLAGOSTIN, O.A.; SEIXAS, F.K.; COLLARES, T.; ROBALDO, R.B.; CAMPOS, V.F. Gene and Blood Analysis Reveal That Transfer from Brackish Water to Freshwater Is More Stressful to the Silverside *Odontesthes humensis*. **Frontiers in Genetics**, v.28, n.9, 2018.
- SIMON DA SILVEIRA, U. et al. Fatores estressantes em peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, 2009.
- SMITH, D.W.; PIEDRAHITA, R.H. The relation between phytoplankton and dissolved oxygen in fish ponds. **Aquaculture**, v.68, p. 249-265, 1988.
- SMITH, J.M.; CHAVEZ, F.P.; FRANCIS, C.A. Ammonium uptake by phytoplankton regulates nitrification in the sunlit ocean. **PLoS One**, 2014.
- SNEDDON, L. U. Clinical anesthesia and analgesia in fish. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v.21, p.32-43, 2012.
- SNEDDON, L. U. Pain in aquatic animals. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, p.967-976, 2015.
- SNEDDON, L. U. The evidence for pain perception in fish: the use of morphine as an analgesic. **Applied Animal Behaviour Science**, 83: 153-162, 2003a.
- SNEDDON, L. U. Trigeminal somatosensory innervation of the head of the rainbow trout with particular reference to nociception. **Brain Research**, 972: 44-52, 2003b.
- SNEDDON, L. U.; BRAITHWAITE, V. A.; Gentle, J. M. Do fish have nociceptors: evidence for the evolution of a vertebrate sensory system. **Proceedings of the Royal Society of London B**, 270: 115-1122, 2003c.
- SNEDDON, L.U. Anatomical and electrophysiological analysis of the trigeminal nerve in a teleost fish, *Oncorhynchus mykiss*. **Neuroscience Letters**, 319(3): 167-171,2002.
- SOSO, A. B.; BARCELLOS, L. J. G.; RANZANI-PAIVA, M. J.; KREUTZ, L. C.; QUEVEDO, R. M.; LIMA, M.; BOLOGNESI-SILVA, L.; RITTER, F.; BEDIN, A. C.; FINCO, J. A. The effects of stressful broodstock handling on hormonal profiles and reproductive performance of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) females. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 39, p. 835–841, 2008.
- SPANIER, E.; LAVALLI, K.L.; EDELIST, D. Artificial reefs for lobsters. An overview of their application for fisheries enhancement, management and conservation, *in*: BORTONE, S.A.; BRANDINI, F.P.; FABI, G.; OTAKE, S. **Artificial Reefs in Fisheries Management**. 1st ed. CRC Press, 366p., 2011
- SPENCE, R.; GERLACH, G.; LAWRENCE, C.; SMITH, C. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.** 83, 13–34, 2008.
- SPRINGATE, J.R.C.; BROMAGE, N.R.; ELLIOTT, J.A.K.; HUDSON, D.L. The timing of ovulation and stripping and the effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* L.). **Aquaculture**, v. 43, p.313-322, 1984.
- STRAND, D.A.; UTNE-PALM, A.C.; JAKOBSEN, P.J.; BRAITHWAITE, V.A.; JENSEN, K.H.; SALVANES, A.G.V. Enrichment promotes learning in fish. **Marine Ecology Progress Series**, v.412, p.273-282, 2010.
- STREISINGER, G.; WALKER, C.; DOWER, N.; KNAUBER, D.; SINGER, F. Production of clones of homozygous diploid zebra fish

(*brachydanio rerio*). **Nature**. 291, 293–296, 1981.

- STRÜSSMANN, C. A.; MORIYAMA, S.; HANKE, E. F.; COTA, J. C. C.; TAKASHIMA, F. Evidence of thermolabile sex determination in pejerrey. *Journal of Fish Biology*, v48, p. 643- 651, 1996.
- SUÁREZ, I.; BODEGA, G.; FERNÁNDEZ, B. Glutamine synthetase in brain: Effect of ammonia. **Neurochemistry International**, v.41, p. 123-142, 2002.
- SUGIMOTO, M. Morphological color changes in fish: Regulation of pigment cell density and morphology. **Microsc. Res. Tech.**, 58(6):496-503, 2002. doi:10.1002/jemt.10168.
- SUTILI, F.J.; GRESSLER, L.T.; BALDISSEROTTO, B. Clove Oil, eugenol effective anesthetics for silver catfish, other Brazilian species. **The Global Aquaculture Advocate**, May/June 2014.
- SUTILI, F.J.; GRESSLER, L.T.; VARGAS, A.C.; ZEPPEFELD, C.C.; BALDISSEROTTO, B.; CUNHA, M.A. The use of nitazoxanide against the pathogens *Ichthyophthirius multifiliis* and *Aeromonas hydrophila* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Parasitology**, v.197, p.522-526, 2013.
- TACHIBANA, L.; LEONARDO, A. F. G.; CORRÊA, C. F.; SAES, L. A. Densidade de estocagem de pós-larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a fase de reversão sexual. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 483-488, 2008.
- TAYLOR, J.; MIGAUD, H. Timing and duration of constant light affects rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth during autumn-spring grow-out in freshwater. **Aquac. Res.**, v.40, p. 1551-1558, 2009. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02260.x.
- TODD, J.; JOSEPHSON, B. The design of living technologies for waste treatment. **Ecological Engineering**, v.6, p. 109-136, 1996.
- TONI, C.; BECKER, A.G.; SIMÕES, L. N.; PINHEIRO, C.G.; SILVA, L.; HEINZMANN, B M.; CARON, B.O.; BALDISSEROTTO, B. Fish anesthesia: effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.40, p.701-714, 2014.
- TSUZUKI, M.Y.; AIKAWA, H.; STRÜSSMANN, C.A.; TAKASHIMA, F. Physiological responses to salinity increases in the freshwater silversides *Odontesthes bonariensis* and *O. hatcheri* (Pisces, Atherinidae). **Revista Brasileira de Oceanografia**, v.48, p.81-85, 2000.
- TSUZUKI, M.Y.; OGAWA, K.; STRÜSSMANN, C.A.; MAITA, M.; TAKASHIMA, F. Physiological responses during stress and subsequent recovery at different salinities in adult pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **Aquaculture**, v.200, p.349-362, 2001.
- URBINATI, E.C.; ZANUZZO, F.S.; SERRA, M.; WOLKERS, C.P.B.; SABIONI, R.E. Avanços da fisiologia do estresse e suas implicações em espécies nativas. In: TAVARES-DIAS, M.; MARIANO, W.S. **Aquicultura no Brasil: novas Perspectivas**. São Carlos: Editora Pedro e João, p.381-416, 2015.
- VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: Teoria e prática**. Maringá:EDUEM, 1996. 169p.
- VELASCO, E.M.F.; LAW, P. Y.; RODRIGUEZ, R. E. Mu opioid receptor from the zebrafish exhibits functional characteristics as those of mammalian Mu opioid receptor. **Zebrafish**, v.6, p.259-268, 2009.
- VELISEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; NOVOTNY, L. Effects of 2- phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). **Veterinarni Medicina**, v.52, p.103-110, 2007.
- VOLPATO, G.L.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. e FERNANDES-DE-CASTILHO, M. Insights into the concept of fish welfare. **Diseases of Aquatic Organisms**, 75 (2): 165-171, 2007.
- WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON, B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. **Aquaculture**, v. 211, p. 353–366, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00878-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00878-X). Acesso em: 24 Feb.2023.
- WALLACE, J. C.; KOLBEINSHAVN, A. G.; REINSNES, T. The effects of stocking density on early growth in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 73, p. 101- 110, 1988.
- WALSH, W.A.; SWANSON, C.; LEE, C.S.; BANNO, J.E.; EDA, H. Oxygen consumption by eggs and larvae of striped mullet, *Mugil cephalus* in relation to development, salinity and temperature. **J. Fish Biol.**, 35: 347-358. 1989.
- WEBB, M.; ERICKSON, D. Reproductive structure of the adult green sturgeon, *Acipenser medirostris*, population in the Rogue River, Oregon. **Environmental Biology of Fishes**, v.79, p.305-314, 2007.
- WEBER, E. S. III. Fish Analgesia: Pain, Stress, Fear Aversion, or Nociception? **Veterinary Clinic of Exotic Animal**, v.14, p.21-32, 2011.
- WEBER, E. S.; WEISSE, C.; SCHWARZ, T.; INNI, C.; KLIDE, A. M. **Anesthesia, diagnostic imaging, and surgery of fish. Compendium: Continuing Education for Veterinarians**, v.31, n.2, E1–9 Online, 2009.
- WELLS, R.M.G.; TETENS, V.; DEVRIES, A.L. Recovery from stress following capture and anaesthesia of Antarctic fish:

- haematology and blood chemistry. **Journal of Fish Biology**, v.25, p.567-576, 1984.
- WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v.77, p.591- 625, 1997.
 - WHITEAR, M. The free nerve endings in fish epidermis. **Journal of Zoology**, v.163, p. 231–236, 1971.
 - WILDGOOSE, W.H. Fish surgery: an overview. **Fish Veterinary Journal**, n.5, p.22-36, 2000.
 - WILKIE, M.P. Mechanisms of ammonia excretion across fish gills. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Physiology**, v.118, p. 39-50, 1997.
 - WILLIAMS, T. D.; READMAN, G. D.; OWEN, S. F. Key issues concerning environmental enrichment for laboratory-held fish species. **Laboratory Animals**, v. 43, p.107–120, 2009.
 - WOAAH - WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. Infectious haematopoietic necrosis. *In: OIE - World Organization for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, Chapter 2.3.4*, p. 1-16, 2017.
 - WOAAH - WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. **Listed diseases**. Disponível em: <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/>. Acesso em: 28 Feb. 2023.
 - WOLFF, L.L.; DONATTI, L. Estudo do comportamento do peixe de água doce *Phalloceros harpagos* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) submetido à alteração artificial do pH. **Luminária**, v. 18, n. 1, p. 10–21, 2016.
 - WOLKERS, C.P.B.; BARBOSA JUNIOR A.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA L.; HOFFMANN A. Acute administration of a cannabinoid CB1 receptor antagonist impairs stress-induced antinociception in fish. **Physiology and Behavior**, v.142, p.37-41, 2015a.
 - WOLKERS, C.P.B.; BARBOSA JUNIOR A.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA L.; HOFFMANN A. GABAA-benzodiazepine receptors in the dorsomedial (Dm) telencephalon modulate restraint-induced antinociception in the fish *Leporinus macrocephalus*. **Physiology and Behavior**, v.147, p.175-182, 2015b.
 - WOLKERS, C. P. B.; JUNIOR, A. B.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L.; HOFFMANN, A. Stress-induced antinociception in fish reversed by naloxone. **PLoS One**, v.8, n.7, e71175, 2013.
 - WOOD, C.M.; PATRICK, M.L. Methods of Assessing Kidney and Urinary Bladder Function in Fish. *In: HOCHACHKA, P.W.; MOMMSEN, T.P. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Amsterdam: Elsevier, Cap. 12, p.127-143, 1994.
 - WOOSTER, G.A.; HSU, H-M.; BOWSER, P.R. Nonlethal surgical procedures for obtaining tissue samples for fish health inspections. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.5, p.157-164, 1993.
 - WOOTTON, R.J. **Ecology of teleost fishes**. London-New York, Chapman and Hall. 404p., 1990.
 - WOYNAROVICH, E. **Tambaqui e Pirapitinga - Propagação artificial e produção de alevinos**. Brasília, DF: CODEVASF, 1986.
 - WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. A propagação artificial de peixe de águas tropicais: manual de extensão. Brasília, DF: FAO/ CODEVASF/ CNPq. 220 p., 1983.
 - WURTS, W.A. Why can some fish live in freshwater, some in salt water, and some in both? **World Aquaculture**, 29(1), 1998.
 - YANONG, R.P.E. Peixes de Aquário. *In: AGUILAR, R.; HERNÁNDEZ-DIVERS, S.M.; HERNÁNDEZ-DIVERS, S.J. Atlas de Medicina, Terapêutica e Patologia de Animais Exóticos*. São Caetano do Sul: Interbook, Cap. 4, p.81-111, 2006.
 - YOSHIZAWA, M.; ROBINSON, B. G.; DUBOUÉ, E. R.; MASEK, P.; JAGGARD, J.B.; O'QUIN, K.O.; BOROWSKY, R.L.; JEFFERY, W.R. ;KEENE, A.C. Distinct genetic architecture underlies the emergence of sleep loss and prey-seeking behavior in the Mexican cavefish. **BMC Biology**, p. 13:15, 2015.
 - ZAHL, I. H.; KIESSLING, A.; SAMUELSEN, O. B.; OLSEN, R. E. Anaesthesia induces stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.36, p.719-730, 2010.
 - ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O. B.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.201-218, 2012.
 - ZAIONS, M.I.; BALDISSEROTTO, B. Na⁺ and K⁺ body levels and survival of fingerlings of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) exposed to acute changes of water pH. **Ciência Rural**, v. 30, n. 6, p.1041-1045, 2000.
 - ZANIBONI-FILHO, E. **Incubação, larvicultura e alevinagem do tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER 1818)**. Tese de Doutorado. UFSCar 202 p. ,1992.
 - ZANIBONI-FILHO, E. Larvicultura de peixes de água doce. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, 21(203): 69-77, 2000.
 - ZANIBONI-FILHO, E.; BARBOSA, N.D.C. Priming hormone administration to induce spawning of some Brazilian migratory fish. **Revista Brasileira de Biologia**, 56 (4): 655-659, 1996.
 - ZANIBONI-FILHO, E.; MEURER, S.; GOLOMBIESKI, J. I.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B. Survival of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) fingerlings exposed to acute pH changes. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 4, p. 917-920, 2002.
 - ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. *In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI,*

- E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Org.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo, SP, p. 45-73, 2004.
- ZANUZZO, F. S.; ZAIDEN, S. F.; SENHORINI, J. A.; MARZOCCHI-MACHADO, C. M.; URBINATI, E. C. Aloe vera bathing improved physical and humoral protection in breeding stock after induced spawning in matrinxã (*Brycon amazonicus*). **Fish e Shellfish Immunology**, v.45, p.132-140, 2015.
- ZERAIK, V.M.; BELÃO, T.C.; FLORINDO, L.H.; KALININ, A.L.; RANTIN, F.T. Branchial O₂ chemoreceptors in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Control of cardiorespiratory function in response to hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**, v. 166, p. 17-25, 2013.
- ZHENG, J.-L., YUAN, S.-S., LI, W.-Y., WU, C.-W. Positive and negative innate immune responses in zebrafish under light emitting diodes conditions. *Fish Shellfish Immunol.* 56:382-387, 2016
- ZIMMERMAM, S.; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. *In*: CYRINO, J.E.P. et al. (ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática. TecArt, Cap.9, p.239-266, Models, 2004.
- ZINABU, G. M.; CHAPMAN, L. J.; CHAPMAN, C. A. Conductivity as a predictor of a total cations and salinity in Ethiopian lakes and rivers: Revisiting earlier models. **Limnologia** ,32 (21-26), 2002.

7. Critérios mínimos para instalações de Peixes

Classificação:

OB - Obrigatório

Considera-se item OBRIGATÓRIO

R - Recomendado.

Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

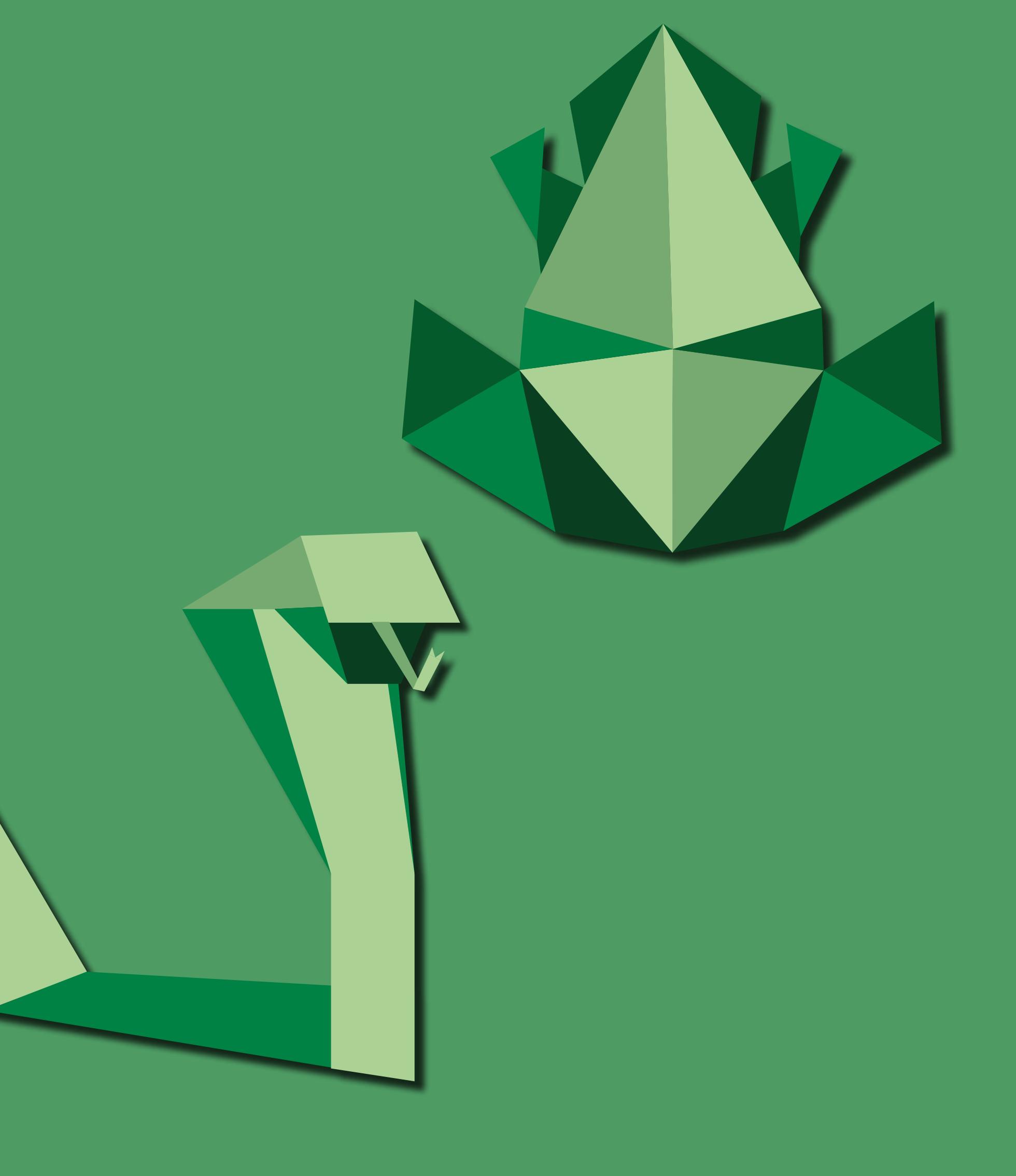
Critérios mínimos para criação, manutenção e experimentação de peixes grandes (capítulo de Peixes II) mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica:

DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos	
Área administrativa.	R
Área de recepção de pessoal (usuários e visitantes).	R
Área de recepção de animais.	R
Vestiário.	R
Local para estocagem de alimentos que atendam às recomendações dos fabricantes.	OB
Local para armazenamento de produtos químicos e medicamentos.	R
Freezer para acondicionamento de carcaças.	OB
Captura dos animais de acordo com a legislação.	OB
Alojamento em tanques escavados, tanques de lona, aquários ou caixas ou tanques rede, de acordo com as características das espécies.	OB
Controle de efluentes do alojamento.	OB
Condições de alojamento conforme as especificações do Guia Concea.	OB
Tanque para quarentena.	OB
Controle de filtragem, temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade e níveis de amônia e nitrito da água dos tanques de manutenção.	OB
Controle de nitrato na água dos tanques de manutenção.	R
Controle de densidade de estocagem.	OB
Alimentação de acordo com a fase de desenvolvimento dos animais e hábito alimentar da espécie.	OB
Controle de iluminação.	OB
Enriquecimento ambiental.	OB
Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB

Capítulo 7

Anfíbios e serpentes





COORDENADORA:

Vania Gomes de Moura Mattaraia Instituto Butantan

AUTORES:

Carlos Alberto Gonçalves Silva Jared Instituto Butantan

Kathleen Fernandes Grego Instituto Butantan

Marta Maria Antoniazzi Instituto Butantan

Sávio Stefanini Sant'Anna Instituto Butantan

Selma Maria Almeida Santos Instituto Butantan

Vania Gomes de Moura Mattaraia Instituto Butantan

Citação recomendada: MARIGO, A.L.S.; WOLKERS, C.P.B.; ZANIBONI FILHO, E.; SAMPAIO, F.G.; MENEZES, F.; MURGAS, L.D.S.; GRESSLER, L.T.; FLORINDO, L.H.; BANDEIRA JUNIOR, G.; SOARES, M.P.; SERRA, M. (2023) Capítulo 6 - Peixes II: Peixes grandes. pp. 384-459. In: BALDISEROTTO, B.; SALDIVA, P. H. N. e RANTIN, F. T. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

Anfíbios	466
1. Introdução	467
2. Captura no campo	468
3. Instalações animais	471
3.1. Caixas e tanques de contenção	471
3.2. Enriquecimento dos recintos	472
3.3. Manutenção da temperatura, da luminosidade e da umidade	473
3.4. Alimentação	473
3.5. Higienização dos recintos	475
3.6. Exigências no cativeiro por grupo	476
3.6.1. Pererecas	476
3.6.2. Sapos e rãs de grande porte	477
3.6.3. Sapos e rãs de pequeno porte	477
3.6.4. Anuros semifossórios	478
3.6.5. Dendrobatídeos	478
3.6.6. Pipídeos	479
3.6.7. Cecílias fossórias	479
3.6.8. Cecílias aquáticas	480
4. Eutanásia	481
5. Doenças mais comuns observadas no cativeiro	482
5.1. Micose	482
5.2. Doença da perna vermelha (<i>red leg disease</i>)	482
5.3. Amebíase	483
5.4. Miíase	483
5.5. Verminose	483
5.6. Protrusão intestinal	483
5.7. Dificuldade na troca de pele	484
5.8. Fraturas ósseas	484
1. Introdução	486
2. Instalações animais	487
2.1. Estrutura física dos recintos (macro e microambientes)	487
2.1.1. Área de recinto e condições ambientais	487
2.1.1.1. Serpentário fechado	487
2.1.1.2. Serpentário aberto:	490
2.1.1.3. Quarentena e identificação	493
2.1.2. Área de utilização	494
2.2. Apoio técnico	495
2.2.1. Área de higienização	495
2.2.2. Ambulatório e centro cirúrgico	495
2.2.3. Depósito	496
2.2.4. Triagem	496

2.2.5. Sala de necropsia	496
3. Procedimentos de manejo	498
3.1. Alimentação	498
3.2. Higienização	499
3.3. Contenção	500
3.4. Enriquecimento ambiental	500
3.5. Medicina preventiva	501
3.5.1. Inspeção diária	501
3.5.2. Biossegurança	502
3.5.3. Barreiras sanitárias	503
3.5.4. Controle de doenças, diagnóstico e tratamento	503
3.5.5. Triagem	504
3.5.6. Separação por espécies	504
4. Procedimentos	505
4.1. Principais vias de administração de substâncias	505
4.2. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções	506
4.2.1. Colheita de tecidos	506
4.2.2. Colheita de amostras sanguíneas	506
4.2.3. Extração de peçonha	507
4.3. Modificação de ingestão de alimento	508
5. Cuidados veterinários	509
5.1. Cuidados pré e pós-operatórios	509
5.2. Analgesia	510
5.3. Anestesia	511
5.4. Cirurgia	512
5.5. Eutanásia	513
5.6. Necropsia	514
5.7. Destino das carcaças	514
6. Ética e bem-estar animal no uso de serpentes em laboratório	516
7. Referências bibliográficas Anfíbios	517
8. Referências bibliográficas Serpentes	518

ANFÍBIOS

1. Introdução

O manejo de animais silvestres em cativeiro é geralmente praticado visando à realização de trabalhos científicos, à exposição pública dos animais em museus ou parques zoológicos para fins de conservação, ou à extração de matéria prima utilizada na pesquisa ou para fins de produção.

O objeto deste capítulo é tratar dos anfíbios em cativeiro para uso em atividades de produção, manutenção ou utilização para fins de pesquisa ou ensino. Em relação à manutenção em cativeiro, existe uma vasta literatura detalhando técnicas de manejo em peixes, aves e mamíferos. As serpentes e anfíbios, no entanto, são bastante desconhecidos nesse aspecto, existindo pouca informação sobre a sua manutenção e o seu comportamento em cativeiro. Indubitavelmente, os anfíbios compõem o grupo de vertebrados menos conhecido por esse ponto de vista, já que são animais em geral de pequeno porte e de hábitos secretivos. Além do mais, diferentemente das serpentes, não representam (ou representam muito pouco) problema para a saúde humana ou veterinária.

Dos dados disponíveis na literatura, a maioria se refere a animais do hemisfério norte, especialmente ao grupo Caudata, representado pelas salamandras e tritões que, das 600 espécies existentes na atualidade, apenas 5 encontram-se no Brasil. De uma maneira geral, muito pouco se conhece sobre os Anura (sapos, rãs e pererecas) e os Gymnophiona (cecílias ou cobras-cegas), em especial, os da vastíssima anfíbiofauna brasileira. A escassez da literatura sobre o tema é talvez decorrente da dificuldade em se manter esses animais em cativeiro, dado o delicado equilíbrio em que vivem na natureza, sendo muito sensíveis a variações ambientais e apresentando uma pele muito desprotegida e frágil (DUELMANN & TRUEB 1989; POUGH *et al.*, 1993, JARED & ANTONIAZZI 2009). Porém, o atual *status* de ameaça da classe como um todo, estabelecido pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN), vem sendo considerado uma motivação maior para estudos que visem à conservação desses animais.

2. Captura no campo

A captura, manutenção ou utilização de animais silvestres para fins de pesquisa, ensino ou produção depende da aprovação dos órgãos responsáveis (IBAMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade SISBIO, e/ou Secretaria Estadual do Meio Ambiente), além da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) local. A Instrução normativa do ICMBio nº 03, de 02 de setembro de 2014 (ICMBio, 2014) que regulamenta atividades científicas ou didáticas que envolvam captura dos animais silvestres na natureza, transporte, manutenção destes em cativeiro por período inferior a 24 meses e a coleta de material biológico de animais silvestres mantidos em cativeiro. Para autorização de diferentes categorias de empreendimentos que se utilizem da fauna silvestre (atualmente através da instrução normativa nº 169/2008, de 20 de fevereiro de 2008) (IBAMA 2008).

O bem-estar dos animais no cativeiro, para uso em atividades de produção, manutenção ou utilização para fins de pesquisa ou ensino depende em grande parte da observação de seu modo de vida e de seu hábitat na natureza. Esses dados são muito importantes para gerir o modo como essas espécies são mantidas. São eles que nos fornecem os subsídios para a tentativa de reproduzir o seu ambiente natural. Nessa tentativa, dá-se ênfase, principalmente, à área dos terrários, tipo de substrato, alimento, condições de umidade, iluminação e temperatura.

A captura de anfíbios na natureza geralmente é realizada por meio da colocação de armadilhas de interceptação e queda (“pitfall”), ou por procura ativa. As armadilhas “pitfall” são úteis, principalmente, quando a busca por anfíbios está inserida em expedições mais amplas, que visem à captura de outros grupos de animais, aproveitando-se, assim, o esforço envolvido na instalação da infra-estrutura para esse tipo de armadilha. Podem ser úteis para a captura de todos os taxa, com exceção das pererecas, que por serem trepadoras têm facilidade para escapar do interior dos baldes.

Uma vez que a grande maioria dos anfíbios é noturna, a busca ativa é realizada preferencialmente à noite, com o auxílio de lanternas. Já as cecílias, por serem fossórias, são procuradas durante o período diurno, por meio de escavação não muito profunda do solo (cerca de 15 cm), de preferência em locais ricos em matéria orgânica, revirando-se tocos, galhos e troncos em decomposição, utilizando-se uma enxada larga. Para a procura de anuros de chão de floresta, a enxada também é útil para a retirada superficial do folhiço, com movimentos certos, ainda que delicados. Os animais, quando avistados, devem ser agarrados rapidamente com as mãos, segurando-os firme, porém, sem apertá-

-los. A seguir, devem ser colocados no interior de sacos plásticos fechados com bolha de ar no interior, ou em sacos de pano. Em todos os casos, coloca-se um pouco de substrato (terra ou folhiço úmidos) para servir de abrigo, e diminuir o nível de estresse dos animais. No caso dos pipídeos, anfíbios exclusivamente aquáticos, pode-se utilizar tarrafas de pesca, ou ainda, no caso das *Pipas* amazônicas, a procura ativa em barcos com o motor desligado, já que esses animais podem passar uma boa parte do tempo boiando na superfície dos rios sem correnteza. A captura de cecílias aquáticas, da mesma forma que os pipídeos, pode ser realizada por meio de tarrafas utilizadas para peixes.

É importante ressaltar a necessidade de se acondicionar os anfíbios separados por espécie, de modo a que suas toxinas cutâneas não possam provocar danos para as demais espécies capturadas.

Caso a expedição para capturas se estenda por vários dias, é necessário providenciar alimento vivo baseado em grilos, baratas, cupim sem ferrão (de preferência na forma larval), moscas, mosquitos e outros pequenos artrópodes. No caso de animais fossórios, pode-se utilizar minhocas como alimento. Deve-se, ainda, verificar diariamente as condições de umidade das caixas. Caso algum animal venha a óbito, este deve ser imediatamente fixado para trabalhos posteriores e/ou depósito em coleção zoológica. No final dos trabalhos de campo, caso os animais tenham que ser mantidos vivos e trazidos ao laboratório, devem ser acondicionados em local arejado e sombreado, em caixas plásticas com tampa telada ou furada, com bom nível de umidade e abrigos como folhiço, galhos e fragmentos de casca de árvore. Quando os animais são fossórios, usa-se terra como principal substrato, além de folhiço úmido na superfície.

O transporte dos animais vivos, assim como a captura, deve ser autorizado pelos órgãos competentes. Trata-se de uma etapa crítica nas expedições científicas e devem ser tomados todos os cuidados para que seja gerado o menor nível de stress possível nos animais. Mesmo em viagens curtas, o espaço a ser destinado para os animais deve considerar cuidados principalmente em relação à manutenção da umidade e ao controle da temperatura, que deve ser mantida amena.

No caso de anuros, animais saltadores, é recomendável acomodá-los em caixas pequenas com furos na tampa e lacradas com fita adesiva ou clips de pressão, ou em sacos de pano umedecido, contendo folhiço úmido ou uma bola de algodão bem umedecida. O ambiente protegido e com pouco espaço impossibilita que os animais saltem, gerando muito menos stress e menor possibilidade de se ferirem durante o transporte. Os animais aquáticos, quando em transporte de curta duração, podem ser mantidos fora da água, desde que sejam acondicionados em ambiente bem úmido em meio a folhiço, em caixas ou sacos de pano. Outro método bastante utilizado para transporte, principalmente em viagens mais longas, é o acondicionamento dos animais em sacos plásticos inflados com ar e bem amarrados, conten-

do uma bola de algodão bem umedecida no seu interior. Nesse caso é adequado que se renove, pelo menos diariamente, o ar dos sacos de acondicionamento. Também é adequado que os sacos e caixas contendo os animais sejam acomodados em uma caixa maior, de plástico ou isopor. Caso necessário, dependendo das condições climáticas, esta caixa poderá conter gelo embalado e protegido por panos ou papel, em quantidade suficiente para amenizar a temperatura no interior da caixa mas sem entrar em contato direto com os animais. Deve-se, sempre, agrupar os indivíduos por espécie e, preferencialmente, por tamanho, caso sejam muito diferentes entre si, evitando-se um número excessivo de animais em cada embalagem.

Ao chegarem à instalação animal, os animais devem passar por um período de quarentena e, apenas posteriormente, poderão ser misturados a outros indivíduos que possam já existir no local, de preferência, separados por local de procedência.

3. Instalações animais

3.1. Caixas e tanques de contenção

A instalação animal deve ser provida de caixas plásticas retangulares de vários tamanhos e alturas, com tampa telada, preferencialmente dotada de grampos de segurança, com um bom encaixe no corpo da caixa. As caixas devem ser adequadas aos hábitos de vida de cada animal. Assim, pererecas, animais arborícolas e trepadores, devem ser colocadas em caixas altas, enquanto espécies de chão, como: pequenas rãs e sapos e espécies semifossórias, como: os microhilídeos, podem ser acondicionados em caixas mais baixas. Terrários de vidro podem ser utilizados em alguns casos, desde que bem vedados e com tampa telada, sendo ideais para a manutenção de dendrobatídeos.

A tarefa de escolha de tamanho dos recintos é muito delicada, já que as espécies são muito variadas, tanto em tamanho, como em relação aos seus hábitos e necessidades. Assim, é importante que o responsável técnico utilize informação sobre cada espécie e seja um atento observador dos animais, assim como os cuidadores. Só dessa forma será possível a utilização do bom senso na escolha dos terrários.

Para os sapos e rãs de grande porte, o ideal é a utilização de tanques de alvenaria azulejados, com cerca de 60 cm (largura, altura e profundidade), fechados com tampas teladas montadas com dobradiças, e providos de torneira com bico de rosca a uma altura de cerca de 30 cm e ralo (bem vedado) no chão. Potes de cerâmica, porcelana ou plásticos, de vários tamanhos e profundidades são necessários para a colocação de água em cada ambiente, dependendo do tamanho e hábito dos animais. Devem ter boca larga e ser bem estáveis, visto que os anfíbios costumam mergulhar na água desses recipientes para se hidratarem.

Para os animais aquáticos, utiliza-se grandes aquários ou tanques com tampa, providos de uma longa coluna de água (com cerca de 50 cm) e de sistema de filtragem constante. Idealmente, no caso do uso de água tratada, esta deve ser previamente descansada, para a evaporação do cloro, embora esse procedimento não pareça ser crítico. No caso de *Pipas*, deve-se utilizar tanques cilíndricos de paredes bem lisas e sem transparência, que não ofereçam possibilidade de os animais escalarem por cantos. Caso sejam utilizados terrários de vidro ou caixas plásticas retangulares, deve-se promover uma boa vedação da tampa, em vista de desses animais escaparem com muita facilidade mesmo por pequenas frestas. No caso das *Pipas*, não é necessário aeração, pois a água deve ser trocada após a alimentação

devido a sujeira remanescente. Para as cecílias aquáticas, o ambiente ideal é igual ao utilizado para peixes, com sistema de filtragem externo, cascalho no fundo e aeração, tomando-se apenas o cuidado de se manter uma longa coluna de água e uma boa vedação na tampa. Cecílias de correnteza como as do gênero *Typhlonectes*, apreciam a corrente de água que se estabelece através da filtragem e aeração.

3.2. Enriquecimento dos recintos

A proposição de itens de enriquecimento espécie-específicos, adequados às necessidades de cada uma das espécies e dos indivíduos, deve se apoiar na observação do comportamento dos animais em cativeiro, comparando-o com dados obtidos.

Substrato de terra é utilizado somente para anfíbios fossórios ou com hábitos de chão de floresta. Para os animais fossórios, a fim de se estabelecer a altura da coluna de terra a ser utilizada, deve-se respeitar o tamanho de cada espécie e, na medida do possível, o hábito de vida dos animais, que podem colonizar diferentes níveis de profundidade do solo. Por exemplo, anuros microhilídeos, que se enterram superficialmente, são mantidos em caixa com uma coluna de 3-4 cm, enquanto que cecílias de grande porte, como *Siphonops annulatus*, requerem uma coluna de terra de pelo menos 20 cm.

Como enriquecimento para os ambientes, utiliza-se materiais inertes, tais como canos de PVC, telhas e tijolos furados de cerâmica, e folhas ornamentais artificiais, como: materiais orgânicos, tais como cascas de árvore, folhiço, cascas de coco seco cortadas ao meio, frutos vazios de sapucaia, galhos de vários tamanhos e, eventualmente, folhas naturais. No caso das cecílias aquáticas, tocas construídas com a sobreposição de pedras são bem-vindas.

Os dendrobatídeos necessitam de ambiente mais enriquecido do que os outros anuros. O terrário deve conter substrato de terra e folhiço em desnível, formando um pequeno lago em um dos cantos, que pode ser mantido com uma corrente fechada de água de forma a se obter uma pequena queda d'água, através do uso de uma bomba de aquário. É necessário também a utilização de vegetação natural e galhos, formando diferentes níveis de substrato a serem explorados pelos animais.

3.3. Manutenção da temperatura, da luminosidade e da umidade

Idealmente, para os anuros e cecílias, o ambiente poderia ser mantido em temperatura constante de aproximadamente 25°C, utilizando-se ar condicionado. No entanto, além da dispendiosa manutenção, o ar condicionado priva os animais do contato com a variação natural da temperatura, o que pode causar confusão no seu ciclo de vida. Dessa forma, o controle da temperatura ambiente pode ser realizado com a utilização de ventiladores ou aquecedores, de acordo com a necessidade. A existência de gradientes de temperatura e umidade no interior dos terrários pode ser benéfica aos animais, propiciando-lhes a oportunidade de compensar as variações ambientais através do metabolismo e do comportamento, da mesma maneira que ocorre no ambiente natural.

Para a iluminação, o biotério deve ser preferencialmente dotado de janelas teladas, sendo que a iluminação diurna pode ser reforçada por meio de luminárias no ambiente geral, acesas manualmente todos os dias, ou ligadas a um temporizador.

A umidade deve ser mantida sempre alta, entre 50 e 70%, devendo ser observada e controlada diariamente, tanto no ambiente geral, como individualmente nos terrários. Umidificadores ambientais são bem vindos, principalmente nas estações mais secas do ano. Nos terrários, deve-se verificar o nível de água dos recipientes e umidificar todo o ambiente com o auxílio de borrifadores. Quando houver como substrato, deve-se verificar a umidade por meio de contato com a palma ou o dorso da mão, despejando um pouco de água, se necessário, com o auxílio de um regador de plantas, porém sem encharcá-la. O nível de umidade ideal depende dos hábitos de cada espécie, mas em se tratando de anfíbios, é sempre de médio para alto.

3.4. Alimentação

A alimentação diversificada é um importante pré-requisito para o sucesso da manutenção. Durante a alimentação, é importante estimular as atividades normais do animal, deixando que ele capture o seu próprio alimento. Os anfíbios são todos carnívoros, na acepção mais ampla do termo, ou seja, alimentam-se de outros animais, principalmente insetos. Podem também se alimentar de minhocas, outros anfíbios, répteis e até pequenos mamíferos. Todos os espécimes que servem de alimento devem estar vivos, devido a grande maioria dos anfíbios dependem do movimento para encontrar o seu alimento. No cativeiro, a alimentação de anfíbios depende, na sua maior parte, de criações-supor-

te de insetos, principalmente baratas (*Pycnocelus surinamensis*), grilos (*Gryllus gryllus*) e tenébrios (*Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*), que devem estar disponíveis em todos os tamanhos, suprimindo as necessidades de cada espécie. Dessa forma, a instalação animal deve ser planejada para contemplar uma área especial dedicada à produção e manutenção desses animais.

A frequência da alimentação é geralmente uma vez por semana. A alimentação com insetos, que serve a maioria dos animais, como sapos e rãs de pequeno porte, pererecas e microhilídeos, deve ser farta, mas não excessiva e deve ser ajustada para cada espécie em função do tamanho e número dos indivíduos. O ideal é que haja uma pequena sobra, o que aumenta a chance de que todos os indivíduos tenham a possibilidade de se alimentar. Essa sobra deve ser mantida apenas por umas poucas horas no interior do terrário, sendo recolhida sempre no mesmo dia da alimentação. A familiaridade com cada indivíduo indica a eventual necessidade de separá-los na hora da alimentação, a fim de dar-lhes chance de agarrar o alimento, quando se percebe grande competição no grupo de um mesmo terrário. Esse fator também é decisivo para indicar quantos animais cada recinto idealmente comporta.

Antes da colocação do alimento, dependendo do comportamento de cada espécie ou mesmo de cada indivíduo, pode ser necessária a retirada parcial ou até mesmo total do enriquecimento dos terrários (com exceção dos recipientes de água e dos galhos, no caso das pererecas), a fim de evitar que os insetos se escondam. No caso dos animais semifossórios como os microhilídeos, o controle da alimentação é um pouco mais complicado, já que esses animais não aceitam ficar expostos. Assim, para eles é necessário que seja feita uma subtração entre o alimento disponibilizado e o alimento sobrado.

No caso de animais maiores, como sapos e grandes rãs, a base da alimentação é realizada com camundongos recém-nascidos ou até mesmo adultos, como no caso de leptodactilídeos e ceratofrídeos de grande porte. Esses camundongos, no caso das grandes instituições de pesquisa, podem ser obtidos através das instalações de produção de mamíferos para utilização em pesquisa ou ensino. Nesse caso, o alimento é colocado no chão dos tanques (ou terrários), de preferência na frente dos anfíbios, para facilitar a sua visualização. Os insetos também devem ser utilizados como suplementação alimentar.

Para as cecílias, animais cegos para imagem, mas com excelente olfato, a percepção do alimento se dá através de quimiorrecepção. São muito carnívoras e é aconselhável manter-se uma variação entre o uso de carne bovina ou de frango moída, coração de boi ou filé de peixe cortado em pequenos pedaços, e minhocas. Os insetos podem também servir como suplemento alimentar. As carnes devem ser colocadas na forma de pequenas bolas sobre a superfície do

substrato. Dessa forma, além de sujar menos a terra, fica mais fácil o controle da alimentação.

Geralmente, deixa-se o alimento à disposição dos animais por 24 horas. Ao fim desse período, as sobras devem ser retiradas, procedendo-se a limpeza dos terrários.

Os pipídeos, todos aquáticos e com baixa visão, também são orientados através de quimiorrecepção pelas narinas e pelas pontas dos dedos das patas dianteiras. Alimentam-se bem com a mesma variação de carnes oferecida às cecílias. Pequenos peixes vivos também são bem aceitos. Vez ou outra, muito espaçadamente, pode-se fazer uma suplementação com os pequenos crustáceos comercializados genericamente como *Artemia*.

Deve-se ter em conta que a quantidade de alimento varia ao longo do ano, havendo uma significativa diminuição do apetite dos animais em função das temperaturas baixas do inverno, o que tende a regularizar com a chegada dos meses quentes.

3.5. Higienização dos recintos

Nos terrários e caixas sem substrato, deve-se remover os animais para outra caixa e proceder a lavagem com detergente neutro, seguida de um enxágue abundante. Caso a caixa não apresente detritos ou fezes, pode-se espaçar a lavagem em períodos de tempo mais longos. A lavagem deve ser realizada semanalmente, ou com uma frequência ainda maior, caso as caixas apresentem detritos ou fezes.

No caso dos tanques, utilizados para sapos e rãs de grande porte, que quase sempre defecam em grande quantidade (fezes envolvidas por uma cápsula membranosa), deve-se promover uma lavagem abundante diária, utilizando-se uma mangueira rosqueada à torneira no interior do tanque, com ou sem detergente (no caso do uso de detergente, naturalmente, faz-se necessária a remoção dos animais).

Após a limpeza dos recintos, coloca-se novamente os enriquecimentos de cada terrário, removidos no momento da alimentação, normalmente realizada no dia anterior.

No caso de terrários com substrato de terra, a limpeza é realizada semanalmente, após a alimentação. A cada 2 meses, deve-se remover os animais subterrâneos e revolver a terra para promover a sua oxigenação. A terra deve ser inteiramente trocada a cada 4 meses. A terra utilizada deve ser fofa e rica em matéria orgânica e pode ser procedente do chão de mata (se possível), ou até mesmo comprada em lojas especializadas para artigos de jardinagem onde geralmente é conhecida pelo nome de adubo orgânico (terra preta). Deve-se certificar de que não contém adubos químicos.

Pode ser enriquecida com a mistura de pó de coco ou troncos e galhos apodrecidos e desfeitos.

Nos tanques das *Pipas*, após a alimentação, deve-se trocar toda a coluna de água em função do espalhamento do alimento, o que provoca podridão e mau cheiro.

3.6. Exigências no cativeiro por grupo

As instalações em geral abrigam animais de laboratório, principalmente mamíferos. Essas instalações seguem normas específicas, já muito bem padronizadas. A seguir, apresentaremos grupos de animais, formados a partir de semelhanças nas suas necessidades no cativeiro, em uma tentativa de sistematizar minimamente os principais requisitos para o seu bem-estar:

3.6.1. Pererecas

As pererecas, animais pertencentes à extensa família Hylidae, são trepadoras e escaladoras, possuindo discos adesivos na ponta de cada dedo que servem justamente para a locomoção e sustentação do corpo em planos verticais. Em cativeiro, permanecem boa parte do tempo aderidos nas paredes do terrário. É necessário, assim, que se dê prioridade ao volume em detrimento da área. Deve-se, portanto, utilizar caixas altas com tampas bem vedadas e teladas. Não é necessário o uso de substrato. Não é necessário individualizar os animais, desde que respeitado um número máximo confortável de animais (geralmente de 3 a 5) por caixa. Esse número deve ser determinado pelo tamanho dos animais e pelos hábitos de cada espécie (se mais agitada ou mais tranquila). A água deve ser colocada em um pote com boa estabilidade e volume, possibilitando a imersão total do animal. O enriquecimento do ambiente deve ser realizado com galhos e folhas naturais ou artificiais e pedaços de cano de PVC com diâmetro que possibilite a entrada dos animais no seu interior. A alimentação semanal deve variar entre baratas, grilos e tenébrios. A limpeza deve ser realizada um a dois dias após a alimentação, com lavagem completa das caixas, que devem ser borrifadas com água diariamente.

As pererecas do gênero *Phyllomedusa*, diferentemente da maioria das outras pererecas, devem ser mantidas separadamente, e requerem folhas bem verdes para manterem a sua cor.

3.6.2. Sapos e rãs de grande porte

Os sapos incluem todas as espécies que pertencem à família Bufonidae, em especial do gênero *Rhinella*. As espécies de grande porte são conhecidas popularmente como sapos-cururu. Esses animais devem ser mantidos em tanques de alvenaria providos de torneira e ralo, o que facilita enormemente a limpeza, que deve ser diária, com auxílio de mangueira. A água deve ser provida em recipientes grandes, estáveis e não muito fundos (como por exemplo, gaiolas pequenas de camundongos), de forma que os animais possam se banhar. É aconselhável que o uso de substratos como terra ou folhiço seja dispensado, já que dificulta enormemente a limpeza dos tanques. O enriquecimento deve ser realizado com telhas de barro superpostas, de maneira a criar abrigos e formar rampas para acesso à água, além de servir como um substrato diferenciado. São animais gregários, e frequentemente são vistos amontoados dentro dos abrigos. A alimentação semanal é composta basicamente por camundongos neonatos, complementados por insetos oferecidos de forma alternada (baratas, grilos ou tenébrios).

As rãs de grande porte compreendem espécies do gênero *Leptodactylus* (família Leptodactylidae). Essas espécies são mantidas em ambiente semelhante aos sapos, mas diferentemente daqueles, são animais territoriais, devendo ser mantidos separadamente. Passam boa parte do tempo totalmente imersos no recipiente de água (que, portanto, deve ter bom tamanho e profundidade), mas também procuram com frequência os abrigos de telha. A alimentação semanal é composta basicamente de camundongos ou ratos neonatos, ou até mesmo camundongos com cerca de 20 g, dependendo do tamanho das rãs.

Na falta de tanques de alvenaria, sapos e rãs de grande porte podem ser mantidos em caixas plásticas grandes e fundas, com tampa de tela.

3.6.3. Sapos e rãs de pequeno porte

Os sapos de pequeno porte também pertencem, na sua grande maioria, ao gênero *Rhinella* (família Bufonidae). Já as pequenas rãs, na maioria pertencem à família Leptodactylidae. Esses animais são mantidos em caixas menores, mais baixas do que as das pererecas, com um fino substrato de terra e/ou folhiço. Não é necessário em geral individualizar os animais. A água é oferecida em recipientes baixos o suficiente para permitir que os animais se banhem sem correr o risco de afogamento. O alimento composto de insetos (grilos, baratas e tenébrios) é oferecido semanalmente.

A limpeza deve ser realizada semanalmente, trocando-se a terra e/ou folhiço. As caixas devem ser borrifadas diariamente.

3.6.4. Anuros semifossórios

Esse grupo de animais compreende desde espécies grandes de rãs, como as do gênero *Ceratophrys*, até espécies menores, como as que compõem a família Microhylidae. O tamanho das caixas deve, assim, ser adequado ao tamanho de cada espécie.

As espécies do gênero *Ceratophrys* são mantidas solitárias em caixas com substrato de terra em uma coluna suficiente que permita ao animal se enterrar por inteiro. A terra deve ser mantida sempre úmida, porém, não encharcada. Um recipiente baixo e estável com água deve ser colocado à disposição na superfície. Esses animais são muito vorazes e com bocas muito grandes em relação ao tamanho corporal. Sua alimentação preferida são os camundongos, oferecidos semanalmente, que podem variar desde adultos (para as espécies de maior porte), até recém-nascidos (para as espécies de menor porte ou indivíduos jovens). A terra deve ser revolvida pelo menos a cada 15 dias e trocada a cada 2-3 meses.

Em relação às espécies de Microhylidae, geralmente de porte menor, valem regras semelhantes às das espécies do gênero *Ceratophrys*. Podem, porém, compartilhar uma mesma caixa em pequeno número e, ao contrário daqueles, possuem olhos e bocas pequenos, o que torna a sua alimentação mais difícil em cativeiro. Normalmente os itens mais bem aceitos, oferecidos semanalmente, são os tenébrios, cupins sem ferrão e, por vezes, minhocas pequenas. Valem os mesmos cuidados com o substrato e a umidade relatados para os *Ceratophrys*.

3.6.5. Dendrobatídeos

Os dendrobatídeos pertencem à família Dendrobatidae e compreendem, na sua maioria, espécies amazônicas que em geral possuem coloridos muito vistosos. São espécies pequenas e quase sempre arborícolas ou semiarborícolas e normalmente de hábitos diurnos. Geralmente, são mantidas em terrários de vidros que possibilitem a sua visualização constante para um melhor controle. Devem ser mantidos com substrato de terra em elevação, propiciando a formação de um lago de um dos lados do terrário, galhos e vegetação formando várias alturas de substrato e propor-

cionando diferentes possibilidades de abrigo. A água pode ser mantida em corrente fechada, através do uso de uma bomba de aquário. Para esses animais é adequado o uso de iluminação especificamente sobre o terrário (lâmpada comum ou luz do dia de baixa radiação) provida de timer, acompanhando o ritmo regular de claro/escuro do ambiente externo. A alimentação é realizada com grilos e baratas jovens, formigas e cupins sem ferrão e moscas de frutas. O terrário deve ser borrifado diariamente.

3.6.6. Pipídeos

Esses animais constituem os únicos anuros exclusivamente aquáticos e pertencem ao gênero *Pipa* (família Pipidae). O ambiente ideal para eles são tanques cilíndricos com colunas de água de pelo menos 50 cm de altura, de preferência construídos em material opaco, que evite a passagem da luz. Podem ser mantidos em grupos de vários indivíduos. A água deve ser permanentemente filtrada com fibra sintética para a retirada de resíduos mais grosseiros. Não é necessário nenhum tipo de enriquecimento, uma vez que esses animais apreciam ficar parados no fundo do tanque ou, por vezes, boiando na superfície. A altura da coluna de água é importante já que esses animais desenvolvem com muita frequência as danças nupciais. A alimentação deve ser realizada em dias alternados com carne bovina ou de frango moída, ou lascas de peixe. Pode-se, ainda, oferecer pequenos peixes vivos e minhocas picadas. A água deve ser totalmente trocada após a alimentação, utilizando-se um sistema de sifão ou de torneiras instaladas no tanque especificamente para essa finalidade, especialmente quando são oferecidas as carnes moídas. Caso sejam observados resíduos aderidos ao tanque, se necessário, suas paredes devem ser limpas com esponja ou até mesmo lavadas. Se for necessária a lavagem com detergente para a remoção de gordura, os animais devem ser retirados com o auxílio de rede para peixes e posteriormente reintroduzidos na água limpa.

3.6.7. Cecílias fossórias

As cecílias são também popularmente conhecidas como cobras-cegas. Pertencem ao grupo dos Gymnophiona e compreendem várias famílias e gêneros. São animais essencialmente fossórios e devem ser mantidos em caixas plásticas contendo substrato de terra, formando colunas de pelo menos 20 cm de altura, bem tampadas com tela, sem deixar frestas. A superfície do substrato deve ser enriquecida com elementos que forneçam abrigo, tais como: cascas secas

de coco ou frutos de sapucaia com a boca voltada para baixo. No substrato, constroem suas galerias, mas apreciam também utilizar esses abrigos onde podem ser encontrados agregados. A terra deve ser mantida sempre úmida, mas não encharcada. Não deve ser revolvida para que as galerias sejam mantidas intactas. Porém, a cada 4 meses deve ser trocada. A alimentação semanal é composta de carne bovina ou de frango moída, oferecida na forma de pequenas bolas. Deve-se, ainda, alternar essa alimentação com camundongos neonatos e, vez ou outra, carne de peixe ou coração de boi. A introdução de minhocas na terra é benéfica, uma vez que podem servir de alimento e, ao mesmo tempo, contribuir para o equilíbrio do substrato através da decomposição de fezes das cecílias e de eventuais contaminações por sobras de alimento.

3.6.8. Cecílias aquáticas

As cecílias aquáticas pertencem à família Typhlonectidae. O ambiente ideal desses animais é semelhante aos aquários convencionais para peixes, com sistema de filtragem externo, cascalho no fundo e aeração, tomando-se apenas o cuidado de se manter uma longa coluna de água e uma boa vedação na tampa. Cecílias de correnteza, como as do gênero *Typhlonectes*, apreciam a corrente de água que se estabelece através da filtragem e aeração. A alimentação semanal é realizada com minhocas e carne de boi ou frango moída. A filtragem da água, se eficiente, dispensa a limpeza do ambiente.

4. Eutanásia

A eutanásia deve ser realizada pela aplicação intraperitoneal de uma dose excessiva de tiopental (ou tiopentato de sódio) a 50 mg/kg. Pode-se, ainda, utilizar lidocaína ou benzocaína em pomada ou gel por pincelamento no interior da boca ou na barriga e região inguinal. Outra opção é a administração intrapleuroperitoneal de volumes de 0,05 a 2 ml (em função do tamanho do exemplar) de solução de cloridrato de lidocaína a 2% ou de cloridrato de bupivacaína 0,5%, aguardando um período de cinco minutos até que não haja reflexos. Pode-se ainda assegurar a morte com uma injeção intra craniana - *via foramen magnum* – de lidocaína ou bupivacaína (SEBBEN 2007).

Os animais que venham a óbito, seja por morte natural, por doença, ou pelo procedimento de pesquisa científica, devem ser fixados em formalina (formaldeído a 10%) e tombados em coleções zoológicas, sempre que possível e quando houver interesse do acervo. As coleções da região onde ocorre a pesquisa deverão ser consultadas previamente quanto ao interesse em receber estes animais para tombamento.

5. Doenças mais comuns observadas no cativeiro

A rotina de manejo e manutenção de um biotério de animais silvestres deve contar com uma equipe multidisciplinar composta, principalmente, por biólogos e veterinários, de modo a contemplar tanto os aspectos biológicos quanto os clínicos referentes ao manejo.

Quaisquer anormalidades devem ser analisadas pelos membros da equipe, os quais devem permanecer sempre atentos a comportamentos que fogem à rotina, sinais de doença ou ferimentos que venham a surgir nos animais. Essa análise visa fornecer subsídios para a indicação de possíveis tratamentos clínicos pelos veterinários. Entretanto, em relação a anfíbios, a literatura que versa sobre aspectos clínicos e doenças é ainda muito escassa. Apresentamos, a seguir, algumas das doenças mais comuns que acometem esses animais no cativeiro.

5.1. Micose

Causa: Diversos fungos

Sintomas: Mudança na aparência normal do tegumento, ferida circular que com o tempo sofre aumento no diâmetro e na profundidade.

Tratamento: Uso de antimicótico.

5.2. Doença da perna vermelha (*red leg disease*)

Causa: Infecção por bactérias como as do gênero *Pseudomonas*

Sintomas: Ruborização da pele e hematomas ao longo da região abdominal e pernas.

Tratamento: Uso de antibiótico.

5.3. Amebíase

Causa: Entamoeba especializada em anfíbios (*Entamoeba ranarum*).

Sintomas: Diarreia sanguinolenta, constipação, postura anormal devido à destruição dos tecidos internos.

Tratamento: Uso do medicamento a base de Metronidazol

5.4. Miíase

Causa: Proliferação de larvas de moscas (diversas espécies).

Sintomas: Dano tissular, especialmente na região dos olhos, narinas e cloaca.

Tratamento: Remoção mecânica e subsequente untamento com óleo e utilização de antiinflamatório e antibiótico de uso tópico.

5.5. Verminose

Causa: Várias espécies de vermes

Sintomas: Muito variáveis conforme a espécie de parasita

Tratamento: Específico para cada espécie.

5.6. Protrusão intestinal

Causa: presumivelmente por infestação de nematóides.

Tratamento: Manipulação do intestino empurrando-o delicadamente para em direção ao interior da cloaca com um jato de água. Algumas vezes, é necessária a remoção cirúrgica.

5.7. Dificuldade na troca de pele

Causa: Desidratação.

Tratamento: Banhos forçados prolongados em água. A partir disso, faz-se remoção da pele, podendo ser auxiliado com pinça.

5.8. Fraturas ósseas

Causa: Acidentes causados pelos próprios animais.

Sintomas: Membros quebrados

Tratamento: Normalmente, ocorre regeneração espontânea, porém, é importante prevenir infecção, utilizando pomada antibiótica ou antibiótico injetável.

SERPENTES

1. Introdução

As Serpentes são animais vertebrados ectotérmicos que fazem parte do grupo dos répteis. Possuem o corpo alongado sem patas e coberto por escamas, a cintura escapular está ausente quando a cintura pélvica está presente, ela é rudimentar e notam-se pequenos esporões ao invés de membros pélvicos (VITT & CALDWELL 2009). Não possuem pálpebras, mas o globo ocular está protegido por uma escama córnea transparente. O ouvido externo está ausente e o médio é adaptado para sentir vibrações do solo. São animais carnívoros que ingerem suas presas inteiras, possuindo diferentes táticas para subjugar suas presas. Enquanto algumas serpentes simplesmente abocanham e engolem suas presas, outras realizam comportamentos como a constrição e ainda há as que produzem substâncias tóxicas que são injetadas em suas presas, paralisando e matando-as. Apesar do formato externo muito semelhante entre as espécies, o tamanho das espécies pode variar de alguns centímetros a vários metros. Uma característica muito interessante das serpentes é o fato de alguns grupos produzirem substâncias tóxicas que quando inoculadas matam suas presas ou causam acidentes nos seres humanos.

Para produção, manutenção ou utilização para fins de pesquisa ou ensino, envolvendo serpentes ou qualquer outro animal silvestre, é necessária aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) local e aprovação dos órgãos responsáveis (IBAMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade SISBIO, e/ou Secretaria Estadual do Meio Ambiente). O IBAMA é o órgão que regulamenta os procedimentos para autorização de diferentes categorias de empreendimentos que se utilizem da fauna silvestre (atualmente através da instrução normativa nº 169/2008, de 20 de fevereiro de 2008 (IBAMA 2008)). O ICMBio é o órgão que regulamenta atividades científica ou didáticas que envolvam coleta ou captura dos animais silvestres na natureza, manutenção destes em cativeiro por período inferior a 24 meses e coleta de material biológico de animais silvestres mantidos em cativeiro (atualmente a através da Instrução Normativa nº 03, de 02 de setembro de 2014).

2. Instalações animais

2.1. Estrutura física dos recintos (macro e microambientes)

As serpentes podem ser mantidas de duas maneiras distintas, serpentário fechado (criação intensiva) e serpentário aberto (semiextensiva) (LELOUP 1984).

No serpentário fechado, as serpentes devem ser mantidas em caixas dentro de salas, enquanto que, no serpentário aberto, as serpentes devem ser mantidas em recintos delimitados em áreas externas. A rotina de manejo e manutenção em qualquer um dos serpentários deve contar com uma equipe de biólogos e, ao menos, um veterinário responsável. Requisitos mínimos para produção, manutenção ou utilização de serpentes para atividades de ensino ou pesquisa científica são apresentados no anexo II.

2.1.1. Área de recinto e condições ambientais

2.1.1.1. Serpentário fechado

É um tipo de instalação útil para casos de manutenção de serpentes que não são adaptadas às condições climáticas da região, já que é possível controlar fatores como temperatura, umidade e iluminação. Por exemplo, quando se mantém serpentes de áreas equatoriais em local com clima subtropical. No serpentário fechado a reprodução pode ser controlada e as serpentes podem ser melhor acompanhadas individualmente quanto à sua alimentação, condições de saúde e etc. (LELOUP 1984).

Dimensões:

As serpentes são mantidas em gaiolas, caixas ou terrários. Estes podem estar dispostos em prateleiras, a fim de otimizar o espaço da sala e devem ser de material liso e de fácil higienização. Deve-se evitar um número superior a de dois animais por gaiola, sendo um animal o ideal. As dimensões das gaiolas devem ser compatíveis ao tamanho da serpente e ela enrolada não pode ocupar mais de 1/3 da área da gaiola. Para as serpentes arborícolas, a

altura disponível também é um fator a ser considerado e, neste caso, a altura deve corresponder no mínimo à metade do comprimento da serpente. Serpentes semiaquáticas ou aquáticas devem ter um local que possam nadar ou banhar-se, mas também a opção de um local que possam permanecer sem estar em contato com a água, mantendo todo seu corpo em ambiente seco.

Substrato:

O substrato pode variar conforme a espécie ou até mesmo o experimento que será realizado. No caso de estudos relativos à história natural e comportamento dos animais, substratos naturais podem ser usados, simulando o habitat em que as serpentes vivem. Terra, cascalho, pedras, areia e troncos podem ser utilizados, contanto que tenham passado por um processo de desinfecção previamente (ver item Higienização abaixo). Outros tipos de substratos são o papel jornal e o papelão corrugado. No caso do papel jornal, deve-se forrar a gaiola com uma camada formada por várias folhas de jornal, já que, em caso da serpente virar o bebedouro de água, o jornal pode absorver a água, evitando que o ambiente fique alagado. Pelo fato de o jornal ser uma superfície lisa, deve ser inserido um objeto como um pedaço de rocha ou telha ou qualquer outro objeto rugoso para que a serpente deslize seu corpo contra o objeto e consiga realizar a ecdise. Serpentes arborícolas devem ter condições de ocupar a gaiola tridimensionalmente. Para tal, devem existir suportes em diferentes alturas para que a serpente possa escalar e se manter enrodilhada acima do nível do piso da gaiola. As diferenças da habilidade em escalar, assim como o tamanho dos animais, devem ser levadas em consideração com relação ao tamanho dos suportes e a quantidade dos mesmos. Por exemplo, a cobra-papagaio (*Corallus caninus*) consegue se equilibrar em um único galho, enquanto outras necessitam de áreas de forquilha para se manter acima da superfície. Algumas serpentes são fossoriais, Neste caso, é necessário que o substrato permita que se enterrem. Pode-se, então, utilizar vermiculita, sabugo de milho triturado, areia etc. Para serpentes que vivem sob o folhicho ou troncos de árvores, uma opção é o uso de cascas de árvores (*barks*). Serpentes muito pesadas podem vir a ter problemas nas escamas ventrais caso o substrato não seja macio o suficiente, neste caso a maravalha é uma boa opção. Entretanto, cuidados devem ser tomados no momento da alimentação quando o substrato é formado de pequenas partículas, como a serragem, visto que, durante a ingestão da presa, pode haver ingestão do material particulado, causando sérios problemas na boca ou no trato digestório (CARE 1980-1984). A origem do material utilizado deve ser verificada evitando assim problemas como contaminação e lesões das serpentes.

Fonte de água e umidade:

Apesar de algumas serpentes serem encontradas em ambientes xéricos, é imprescindível a presença de uma fonte de água para que a serpente possa ingerir água e para manter a umidade no interior da gaiola. Essa água deve ser tratada e trocada a cada três dias, evitando o desenvolvimento de bactérias. O bebedouro deve ser liso para melhor higienização, lavado com detergente comum e ser bem enxaguado, a cada troca de água. Serpentes podem também ingerir água que acumula sobre seu corpo (ANDRADE & ABE 2000). Este é um comportamento muito importante no caso das serpentes arborícolas que em condições naturais não descem ao solo para beber água. Elas ingerem a água das chuvas que ficam nas folhas e galhos, ou então as gotículas nas suas escamas. Assim, para serpentes arborícolas deve-se borrifar água na gaiola e sobre a serpente frequentemente (a cada dois ou três dias), fornecendo água para ingestão.

A umidade ideal depende da espécie que se está mantendo em cativeiro. Espécies provenientes de matas fechadas possuem uma maior necessidade de umidade do que aquelas que habitam locais rochosos e secos. Deve haver um higrômetro na sala para controle, a observação dos animais e das suas condições, dão bons indícios se a umidade do local é adequada. Dificuldades para realizar a ecdise e/ou acúmulo de disecdises são indícios de uma baixa umidade no local, que pode ser compensada com borrifos de água na gaiola. A existência de fungos na gaiola ou mesmo micoses nas escamas das serpentes, por outro lado, demonstra que a umidade (pelo menos no interior da gaiola) está elevada. Aumento de pontos de ventilação nas gaiolas, aumentando o fluxo de ar pode ser a solução. Caso o problema não seja solucionado e se estenda a muitas gaiolas e animais, deve-se aumentar a ventilação da sala.

Temperatura:

As serpentes, como animais ectotérmicos, necessitam de fonte de calor externo para manutenção da sua temperatura. Portanto, é necessário dar a serpente condições para que consiga manter o intervalo de temperatura do seu corpo dentro dos níveis aceitáveis para realização das suas atividades fisiológicas e comportamentais. Devido à existência de grande diversidade de serpentes com seus diferentes hábitos e temperaturas, não é possível estabelecer uma temperatura exata ou mesmo um intervalo ideal que sirva indistintamente para todas as espécies de serpentes.

É recomendado proporcionar gradientes de temperatura no interior dos terrários, visando o bem-estar dos animais. Caso sejam mantidas na sala serpentes com preferências térmicas diferentes, fontes de calor devem ser providenciadas. Existem produtos como pedras aquecidas próprias para aquecimento de terrários que podem ser usadas,

porém, deve-se tomar cuidado para que a serpente não consiga entrar em contato direto com a fonte de calor caso esta seja uma lâmpada de bulbo ou resistência, a fim de evitar queimaduras na pele.

Iluminação:

Diferentemente de outros répteis como lagartos e tartarugas que necessitam de radiação solar para síntese de vitamina D, as serpentes obtêm essa vitamina através da alimentação. Esse fato possibilita a manutenção de serpentes sem a necessidade de iluminação especial com UVB (comprimento de onda de 290-320 nm). Entretanto, assim como para os outros animais, é fundamental um ciclo de claro e escuro. A iluminação natural (através de janelas ou claraboias) já é suficiente para a manutenção do ciclo. Caso a sala não possua iluminação natural, deve ser fornecido um ciclo de 12/12 horas, ou então similar ao ciclo na região onde se encontra o serpentário. Se houver sistema de ventilação na sala (uso de insuflação e exaustão de ar) as janelas podem ser seladas. Do contrário, é melhor que as janelas possam ser abertas e teladas por fora, para evitar fugas e entrada de insetos.

2.1.1.2. Serpentário aberto:

Neste caso, as serpentes são alojadas em áreas externas delimitadas. Neste tipo de serpentário, as serpentes estão em condições mais próximas às condições naturais, tendo contato com chuva, radiação solar, vento, rochas etc. (LELOUP 1984). Quando comparado ao serpentário fechado, uma série de fatores é naturalmente resolvida como, por exemplo, a iluminação. No entanto, deve-se ter em mente que neste tipo de serpentário as espécies a serem mantidas devem ser típicas da região de instalação do serpentário ou então de locais com características climáticas semelhantes.

No cativeiro semiextensivo, se as instalações atenderem todos os requisitos estruturais e de segurança, o manejo dos animais é facilitado, necessitando apenas de adequações nos aquecedores quando a temperatura cai. O tempo de quarentena de 45 a 60 dias é considerado adequado, embora muitas vezes exames clínicos sejam necessários para evitar a introdução de doenças nos recintos. O manejo alimentar é individualizado e os técnicos devem monitorar, à distância, se a serpente se alimenta ou não. A marcação para identificação das serpentes pode ser feita por meio de marcas naturais, tinta nas escamas ou microchip subcutâneo.

O trabalho do técnico do serpentário envolve familiaridade com a manutenção e manejo de serpentes, principalmente no recinto das peçonhentas.

No Brasil, as serpentes usualmente mantidas em cativeiro semiextensivo pertencem à família Viperidae (gêneros *Bothrops* e *Crotalus*) e representantes da família Boidae (gêneros *Boa* e *Epicrates*). Representantes de outras famílias podem ser utilizados, porém, a taxa de mortalidade desses animais costuma ser mais elevada.

Dimensões:

No caso do serpentário aberto, as dimensões dependem mais das condições de implantação e do número de animais a serem mantidos. Deve-se utilizar a regra de uma serpente média (cerca de 1m) por m², com 150 cm de altura mínima das laterais e 3 a 4 m² para serpentes maiores de 2m. Em casos de serpentários acima de 50m², sugere-se a divisão em unidades menores, (bacias ou parques) a fim facilitar o manejo profilático. É fundamental que exista área sombreada para as serpentes, assim como abrigos, para que elas não se sintam desprotegidas e à mercê de predadores como águias, gaviões e gambás. É importante conhecer muito bem o comportamento e as capacidades das espécies a serem mantidas em cativeiro para determinar a altura do muro que irá delimitar o recinto, evitando a saída ou entrada de outros animais. A cobertura com tela pode ser uma opção. A cenografia do recinto deve assemelhar-se ao habitat natural da serpente (e.g. ambiente de Cerrado para cascavéis e ambiente de Mata Atlântica para jararacas e jibóias). O sistema de circulação de água pode incluir um riacho em toda a extensão do serpentário, com um sistema de escoamento da água no chão ou mesmo uma cachoeira entre as pedras (MELGAREJO-GIMENEZ 2006).

Substrato:

Normalmente, os serpentários abertos possuem substrato natural formado por terra, vegetação, folhiço, areia, pedaços de rochas, galhos etc. Pode haver uma parte do serpentário com substrato artificial (grama artificial, concreto etc) para facilitar a higienização do local.

Fonte de água e umidade:

Devido a presença da luz solar, a fonte de água para os animais deve ser de água corrente ou então ser trocada todos os dias para evitar o acúmulo de algas e bactérias. E, assim como no serpentário fechado, a água disponível deve ser tratada. De maneira geral, a umidade natural já é suficiente, mas, dependendo do local e devido a picos de período seco, pode-se aumentar a umidade, molhando através de uma mangueira o recinto de uma a duas vezes por dia. Dificilmente, ocorrem casos de umidade excessiva graças à ventilação natural. E assim como no serpentário

fechado, a presença de micoses nas escamas ou disecdises também são indicativos de possíveis desequilíbrios na umidade local. Importante lembrar que o recinto deve ter escoamento de água protegido por tela para que a água da chuva não se acumule, alagando o serpentário e nem as serpentes escapem.

Temperatura:

O serpentário aberto possui uma grande vantagem que é permitir a termorregulação natural pelas serpentes. No entanto, é necessário que se dê opções de diferentes temperaturas para que as serpentes possam elevar ou abaixar a sua temperatura corpórea. Áreas com insolação e com diferentes graus de sombreamento ocorrendo ao mesmo tempo são fundamentais para que as serpentes escolham o que melhor lhes convém naquele momento. Durante o inverno, caso as espécies de serpentes não estejam acostumadas a quedas de temperatura da região, é necessário o uso de aquecedores ou, então, o deslocamento das serpentes para serpentários fechados.

Iluminação:

A iluminação natural possui vantagens em relação à luz artificial. O ciclo de claro e escuro é naturalmente controlado, a luz solar é um agente bactericida (DANIEL *et al.*, 2001) e a radiação é uma fonte de calor para a termorregulação das serpentes. Devem-se tomar cuidados com a insolação nas serpentes, portanto, ambientes abrigados da luz solar devem estar disponíveis a todos os indivíduos.

Higienização:

A higienização do recinto deve ser realizada a cada 15 dias com a lavagem dos bebedouros, paredes internas e externas, com água e sabão, enquanto os espelhos d'água com lavadora de alta pressão. Uma intervenção sanitária no serpentário (higienização completa das paredes e piso com hipoclorito de sódio) é realizada uma vez por ano em cada recinto ou a cada troca do plantel.

Alimentação:

Viperídeos e boídeos são alimentados mensalmente com camundongos (*Mus musculus*) ou ratos (*Rattus norvegicus*) de acordo com o tamanho da serpente. Durante a alimentação dos animais, as serpentes são separadas em diferentes pontos do recinto para que ocorra melhor distribuição do alimento e para evitar a disputa das serpentes

pela mesma presa (roedor). Nas primeiras duas semanas, o manejo e a circulação de pessoas após a alimentação das serpentes devem ser evitados. Outras presas (e.g. anfíbios e lagartos) devem ser utilizadas no caso de colubrídeos ou dipsadídeos.

Parâmetros fisiológicos e Reprodução:

A temperatura corpórea de machos e fêmeas ao longo das estações do ano pode ser monitorada nos diferentes microhabitats do cativeiro semiextensivo. A mensuração pode ser feita com o termômetro infravermelho que elimina a necessidade de contato com o animal.

O cativeiro semiextensivo permite acompanhar e observar várias interações entre machos e fêmeas na época do acasalamento. Em cascavéis e jararacas, por exemplo, durante os meses de abril a junho (outono), são observados vários comportamentos reprodutivos, tais como luta entre machos (rituais de combate), corte, perseguição e acasalamento. No final da primavera, observa-se várias fêmeas termorregulando, o que pode ser muito importante para otimizar o metabolismo da mãe e dos embriões durante a gestação. Fêmeas prenhes podem ser acompanhadas e identificadas por marcação individual. Deste modo, no final do verão poderemos registrar o nascimento de filhotes e identificar as mães. Observações de processos reprodutivos podem ser obtidas também em outras espécies de serpentes em cativeiro semiextensivo. Tais registros constituem informações preciosas sobre a biologia reprodutiva desses animais, que, por sua vez, podem contribuir para o melhor manejo dos mesmos.

2.1.1.3. Quarentena e identificação

A quarentena dos animais recém-chegados é fundamental para evitar a propagação de doenças infectocontagiosas no plantel. A quarentena deve estar próxima ao biotério, mas separada por barreiras físicas, como portas. Caso não haja funcionários exclusivos para atuar nas salas de quarentena, o fluxograma da instalação animal deve ser feito de modo que as salas da criação sejam atendidas em primeiro lugar. A vestimenta do funcionário deve ser trocada ao entrar na quarentena e, em nenhuma hipótese, o funcionário poderá voltar à criação principal. Não havendo espaço físico para a separação em salas diferentes, pode-se utilizar prateleiras separadas para o isolamento dos animais recém-chegados, neste caso o material de cada prateleira deve ser individualizado.

Serpentes coletadas na natureza ou trazidas de algum outro local deverão receber ficha de identificação indi-

vidualizada, na qual serão armazenados dados sobre a procedência do animal, data e local de coleta e o número de registro da serpente. Na quarentena, as serpentes são mantidas em caixas individuais. As caixas são forradas com papelão e água *ad libitum*. A inspeção deve ser realizada diariamente, sendo as caixas trocadas quando necessário. Após o processo de registro, as serpentes devem permanecer por período de 45 a 60 dias em quarentena. A ficha deve conter ainda registros das serpentes, tais como: comprimento rostro-cloacal (CRC) e comprimento da cauda (CC), massa e sexo do animal. Ao tratador, é indicado o uso de equipamentos de proteção individual, como: luvas de borracha ou cirúrgicas e máscaras, uma vez que diversos agentes infecciosos podem ser transmitidos das serpentes para o homem.

O controle de endo e ectoparasitas deve seguir um programa estabelecido pelo responsável técnico da instalação. Durante o período de permanência na quarentena, as serpentes devem ser observadas quanto à frequência alimentar, regurgito, defecação e ecdise.

Na quarentena, é recomendado que os ganchos e tubos sejam desinfetados após o manejo de cada serpente, para evitar contaminações entre os animais. Esta desinfecção pode ser realizada imergindo os insumos em um recipiente com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% ou solução de amônio quaternário inodoro.

Antes de serem liberados para o plantel, exames coproparasitológicos devem ser realizados nas serpentes da quarentena. Os animais só deverão ser encaminhados ao biotério de criação quando os resultados de todos forem negativos.

Todos os animais devem ser identificados. O uso do microchip é muito recomendado. Os animais devem ser microchipados após 45 a 60 dias de quarentena (JACOBSON *et al.*, 1992). O microchip (*transponder*) é implantado por via subcutânea com auxílio de um aplicador, no lado esquerdo, do último terço do corpo da serpente. Um leitor especial permite identificar, a cerca de 30 cm, o código do *transponder*, que, aplicado corretamente, é bem tolerado e não produz inflamação nem sofre migrações dentro do corpo do animal. Esse procedimento está de acordo com a Instrução Normativa do IBAMA (02/2001) a qual estabeleceu a obrigatoriedade de se identificar os animais em criadouros por sistema eletrônico de microchip. Além disso, pode ser feita uma marcação externa com esmalte na base da cauda para identificação visual.

2.1.2. Área de utilização

Pesquisas relacionadas ao comportamento ou a fisiologia podem ocorrer dentro da própria gaiola, terrário ou

recinto onde o animal é mantido. A sala deve ter características semelhantes às salas para outros animais de laboratório. Paredes e tetos devem ser lisos e laváveis, sem rachaduras que possam acumular microorganismos. O chão e as bancadas ou prateleiras devem ser resistentes a produtos químicos para higienização e impermeáveis. A sala deve ser iluminada com luz artificial ou natural, neste caso as janelas devem possuir tela para evitar a entrada de insetos. Não se aconselha a existência de escada na saída da sala, optando-se, quando possível, pela utilização de rampas.

2.2. Apoio técnico

Composto por uma área de higienização, sala de procedimentos (ambulatório e centro cirúrgico), depósito, área de triagem, área de quarentena e sala de necropsia. Todas as atividades realizadas nas diferentes áreas da criação e experimentação animal devem ter uma descrição detalhada das operações, para que os procedimentos sejam sempre uniformizados e padronizados (Procedimento Operacional Padrão - POP).

2.2.1. Área de higienização

Esta área deve ser adequada à lavagem e desinfecção das gaiolas e materiais utilizados na criação das serpentes. Muitas vezes, a área de higienização se encontra no interior da sala de manutenção e se restringe a uma pia ou torneira instalada num dos cantos. A higienização das gaiolas ou terrários deve ser feita em outro ambiente, já que é necessário o uso de substâncias químicas, como: hipoclorito de sódio, quaternário de amônio, clorexidine ou álcool etílico para a desinfecção e higienização, além da água e sabão. O resíduo originado neste local, como fezes e substratos, deve ser descartado em saco de lixo branco para material infectante e posteriormente ser incinerado.

2.2.2. Ambulatório e centro cirúrgico

Quando a pesquisa/ensino necessitar de exames mais específicos ou cirurgias deve haver um ambulatório e/ou centro cirúrgico, ou então convênios com locais que estejam adequados para tais procedimentos. O ambulatório e/ou centro cirúrgico são espaços contíguos, sendo que no ambulatório são realizados exames clínicos gerais, retirada de secreções, biópsias, curativos e preparação do paciente para a intervenção cirúrgica. No ambulatório, devemos ter

uma pia, uma estufa para esterilização de material, uma mesa de fácil desinfecção (aço inoxidável, por exemplo) e todo o material e medicamento necessários para os procedimentos a serem realizados. O centro cirúrgico deverá ter uma mesa em material de fácil desinfecção e uma boa iluminação, que pode ser conseguida através de um foco cirúrgico fixo ou portátil. Muitas vezes, por falta de espaço, não há condições de ter um ambulatório e um centro cirúrgico na criação/experimentação de serpentes. Deste modo, o ambulatório e o centro cirúrgico podem ser em uma única sala, desde que o ambiente seja devidamente limpo e desinfetado antes de realizar uma cirurgia.

As paredes e o chão devem ser de material não poroso, de fácil limpeza, com cantos arredondados e a porta deve ter visor. Se nas salas houver janelas, estas devem permanecer fechadas durante os procedimentos para evitar a entrada de poeira e insetos.

2.2.3. Depósito

É importante que na criação haja um espaço reservado para os materiais de reposição utilizados na criação, como gaiolas e bebedouros lavados e desinfetados, substratos limpos, sacos de lixo e luvas de procedimento.

2.2.4. Triagem

Antes de entrarem na quarentena, as serpentes recém-chegadas ao plantel devem passar pela triagem, uma sala próxima à quarentena onde os primeiros tratamentos profiláticos são administrados. Esta sala deve ter uma porta com visor, uma pia, uma mesa de fácil limpeza para a realização do exame clínico geral, determinação do sexo, medida dos dados biométricos (como comprimento rostro-cloacal e rostro-total) e uma balança para pesagem dos animais.

2.2.5. Sala de necropsia

A sala de necropsia deve ter uma pia, uma mesa de aço inoxidável, uma geladeira e um freezer. As paredes e piso devem ser de material impermeável e de fácil limpeza. A necropsia deve ser realizada com equipamentos de proteção individual como luvas, máscara e óculos de proteção. O avental utilizado na necropsia não poderá ser utilizado em nenhum outro local da criação. Sugere-se o uso de propé na sala de necropsia. Animais que vêm a óbito deverão

ser levados, em sacos plásticos adequados, à sala de necropsia, onde são colocados na geladeira. Após a necropsia e coleta de material para exame histopatológico, os animais são adequadamente embalados em sacos plásticos e colocados no freezer até o descarte apropriado. Sempre que possível, as serpentes devem ser fixadas em formalina (fomaldeído a 10%) e tombadas em coleções zoológicas (mais informações no item 6.7).

3. Procedimentos de manejo

3.1. Alimentação

As serpentes são animais carnívoros que sempre se alimentam da presa inteira. Existe uma vasta diversidade de itens alimentares que são predados pelas diversas espécies e algumas espécies possuem modificação ontogenética na dieta. O primeiro passo é conhecer a dieta alimentar da espécie em vida livre e adaptar as condições de cativeiro. É importante que a presa a ser fornecida como alimentação seja procedente de locais próprios de criação (biotérios de camundongos e ratos, ranários etc.) e que tenham um controle das suas condições sanitárias. No entanto, há casos em que faz parte da experimentação oferecer animais coletados na natureza (por exemplo, em casos de estudos do comportamento alimentar), ou que não exista criação do alimento, mas corre-se o risco de introduzir patógenos no plantel. Nem sempre é possível oferecer a mesma dieta da natureza no cativeiro por dificuldade em se conseguir a presa. Neste caso deve-se fazer uma adaptação da serpente ao alimento. Por exemplo, filhotes de *Bothrops jararaca* se alimentam de presas ectotérmicas na natureza quando jovens. No entanto, com insistência, eles acabam aceitando filhotes de camundongos na alimentação.

Serpentes costumam matar suas presas antes de ingeri-las, mas deve-se tentar oferecer a presa submetida à eutanásia. Caso a serpente não aceite a presa morta, deve-se insistir movimentando-a perto da serpente. Se mesmo assim ela recusar, a presa deve ser oferecida viva. Se for oferecido alimento vivo e que possa levar perigo para a serpente (por exemplo, um roedor), deve-se colocar na gaiola alimento para a presa. Caso a serpente não prede o roedor, este terá alimento e não atacará a serpente. As presas vivas não devem permanecer na sala de manutenção das serpentes quando não estiverem sendo oferecidos para alimentação. Estudos indicam que mesmo camundongos de laboratório reconhecem o odor das serpentes como ameaça e apresentam comportamentos estereotipados de medo (Weldon *et al.*, 1987). Da mesma maneira, é aconselhável que toda sala de manutenção seja alimentada no mesmo dia, evitando que serpentes sintam o odor da presa, mas não sejam alimentadas.

A frequência da alimentação também é variada, dependendo da espécie. Serpentes que se alimentam de grandes volumes relativos de uma só vez podem ser alimentadas mensalmente (por exemplo boídeos e viperídeos) com cerca de 10-20% do seu peso em alimento (que pode ser fracionado em duas ou três presas). Já outras serpentes

que se alimentam mais frequentemente, mas de presas menores, podem ser alimentadas quinzenalmente ou mesmo semanalmente (por exemplo *Micrurus*). É importante oferecer uma presa compatível com a capacidade de ingestão da serpente para que a mesma não sofra tentando ingerir um alimento muito grande (SAZIMA & MARTINS, 1990). Em todos os casos, o controle do ganho do peso e do crescimento é fundamental para evitar sobrepeso dos animais.

3.2. Higienização

Diariamente, os resíduos de excreções e ecdises devem ser removidos das gaiolas das serpentes ou, quando necessário, a gaiola deve ser trocada. A cada três dias, ou antes, se necessário, o bebedouro deve ser trocado. Tanto as gaiolas como os bebedouros devem ser lavados com sabão neutro e desinfetados com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,4% ou com uma solução de amônio quaternário inodora. As gaiolas devem secar fora da sala de manutenção para que o odor destas substâncias químicas não influencie as serpentes. O substrato arbóreo utilizado para as serpentes de hábito arborícola precisa ser regularmente lavado e desinfetado. O recipiente com água, utilizado para as serpentes de hábito semiaquático, deve ser lavado a cada três dias. Embora a terra não seja um bom substrato para manter as serpentes de criação ou experimentação, por dificultar a retirada dos resíduos, se o seu uso for necessário, esta deve ser trocada mensalmente.

Deve-se tomar muito cuidado com a procedência dos substratos utilizados nas gaiolas, pois podem estar infectados com ácaros, carrapatos ou microrganismos prejudiciais às serpentes. Galhos, folhas, cascalhos e terra devem ser autoclavados previamente. Outra opção de desinfecção, com exceção da terra, é imergir os substratos por um período de 2 horas em uma solução de hipoclorito de sódio a 0.4% e postos para secar.

Nenhum material de uma sala pode ser utilizado em outra, para evitar contaminações. Regularmente, o material de contenção de cada sala, ganchos e tubos de contenção, devem ser desinfetados com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% ou com uma solução a base de amônio quaternário inodoro. Semanalmente, o piso das salas deve ser limpo com detergente neutro e água.

3.3. Contenção

Existem equipamentos próprios para a contenção de serpentes: gancho, laço de Lutz, pinção e tubo de contenção. Para cada situação e espécie a ser contida, pode-se usar um ou mais equipamentos. O gancho é o equipamento mais versátil, já que com ele podemos erguer uma serpente e transportá-la de um lado para outro. É formado de um cabo que possui a ponta curvada em forma de “L” ou “C”. Com o gancho, também podemos pressionar a cabeça da serpente de modo a imobilizá-la antes de contê-la com as mãos. O laço de Lutz é composto por um cabo e na sua ponta uma tira de couro (de 2 a 3 cm de largura) que corre por uma guia diminuindo ou aumentando o tamanho do laço. Deve ser usado para contenção passando o laço pela cabeça da serpente e apertando a região do pescoço. Sua utilização deve ser realizada para contenções de curtos períodos. A força de pressão do laço no pescoço deve ser suficiente para imobilizar a cabeça da serpente sem, no entanto, machucá-la. Deve-se ter mais cuidado com espécies que não tenham traqueia pulmonar (por exemplo, *Lachesis* e *Micrurus*), evitando o sufocamento das serpentes. Esta é uma boa opção para contenções rápidas de serpentes peçonhentas e que necessitem observar ou manusear partes do corpo inclusive a cabeça. O pinção pode ser utilizado para contenção e deslocamento de serpentes, principalmente para aquelas que são mais ágeis e que não se mantêm no gancho. O tubo de contenção deve ser longo e transparente. A serpente é induzida a entrar no tubo e após adentrar ao menos um terço de seu corpo no tubo, o mesmo deve ser pressionado levemente no substrato, a fim de impedir o movimento do animal. Com auxílio das mãos, o animal fica retido no interior do tubo conferindo segurança total ao tratador. O diâmetro do tubo deve ser tal que não permita que a serpente consiga virar a sua cabeça e retornar. Caso sejam mantidas serpentes de diferentes tamanhos, deve-se ter tubos de diferentes diâmetros. A borda de entrada do tubo deve ser lisa de modo a não ferir a serpente quando da sua entrada. O tubo mantém a porção posterior da serpente livre para os procedimentos necessários (ver LOCK 2008), observando a ventilação do tubo para que não sufoque a serpente.

3.4. Enriquecimento ambiental

Embora sejam animais com metabolismo baixo quando comparados aos mamíferos e aves, e assim, apresentam pouca atividade no seu recinto, o oferecimento de itens de enriquecimento ambiental é importante para promover melhor grau de bem-estar às serpentes. Serpentes arborícolas devem ter condições de se manter acima do substrato

através de galhos ou canos. Para serpentes aquáticas, a possibilidade de corpos d'água grandes o suficiente para nadar também é um item de enriquecimento ambiental. Serpentes mantidas, em ambientes com muita presença humana, devem ter locais de abrigo onde elas se sintam protegidas.

Os recintos podem ser constituídos de árvores, plantas e arbustos originários de cada área nativa do habitat da serpente. Além disso, deverão ter elementos naturais, árvores, touceiras e gramados. Estes materiais podem ser dispostos para abrigar os animais (*e.g.* buracos no solo, tocas, iglus, sombras debaixo de folhas de bananeira, troncos, pedras, arbustos ou árvores). Todos esses elementos podem vir a constituir um microhabitat para diversas espécies de serpentes e permitem a seleção de habitat mais adequado para seu metabolismo e sobrevivência (GOMES & ALMEIDA-SANTOS 2012).

3.5. Medicina preventiva

A medicina preventiva se dedica a prevenir as doenças ao invés de tratá-las. Neste contexto, o distresse (estresse crônico) é um dos fatores mais importantes em serpentes e com o qual temos que ter maior cuidado, pois os animais submetidos ao distresse têm uma queda na resistência imunológica, predispondo-os a várias doenças. Para minimizar o estresse crônico, devemos nos preocupar com o bem-estar dos animais e mantê-los em condições ambientais favoráveis (temperatura, umidade, luminosidade e substrato apropriados), em ambientes tranquilos e com uma alimentação adequada para cada espécie. Tratamentos profiláticos e exames laboratoriais são importantes para manter a higidez dos animais e diagnosticar precocemente algumas doenças, respectivamente. A seguir, alguns itens importantes na prevenção de doenças em serpentes, inclusive antropozoonoses (doenças transmitidas ao homem por um reservatório animal).

3.5.1. Inspeção diária

Diariamente, as serpentes devem ser vistoriadas por profissionais devidamente treinados. O médico veterinário responsável deve ser avisado de qualquer mudança de comportamento, presença de feridas, ectoparasitos ou qualquer anormalidade clínica, para que medidas adequadas sejam tomadas. Como, na maioria das vezes, as serpentes não demonstram sintomas clínicos, é importante que dados de peso, frequência de alimentação e de ecdise sejam anota-

dos na ficha individual dos animais para auxiliar no diagnóstico. Existe uma diversidade de doenças que acometem as serpentes em cativeiro e que estão descritas em literatura (MADER 2006; JACOBSON 2007; GREGO, RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, KOLESNIKOVAS 2014).

3.5.2. Biossegurança

Toda a equipe técnica envolvida no manejo das serpentes peçonhentas de importância em saúde (família Viperidae e Elapidae), serpentes peçonhentas sem importância em saúde (família Colubridae e Dipsadidae) ou serpentes não peçonhentas (Colubridae, Dipsadidae, Boidae, Pythonidae) deve ser treinada por profissionais com experiência na área. Equipamentos de proteção individual (EPI's), como: aventais, botas, luvas de procedimento, propés e óculos de segurança devem estar à disposição da equipe e serem utilizados, conforme o trabalho desenvolvido em cada criação. A equipe também deverá ser treinada para utilizar apropriadamente e com segurança os equipamentos para o manejo das serpentes, como ganchos, laços de Lutz, tubos de contenção e pinção, que devem estar sempre em boas condições de uso e limpos.

Não é indicado que um técnico trabalhe sozinho em um biotério de serpentes peçonhentas de importância em saúde. Deverá haver um telefone no biotério e um número de emergência para o qual o técnico deverá ligar em casos de acidente. Cartazes com informações do que fazer em casos de acidentes ofídicos devem estar visíveis no biotério.

Em relação às zoonoses, a *Salmonella* sp é uma bactéria presente na microbiota intestinal da maioria das serpentes, com potencial zoonótico. Os principais sintomas em humanos são diarreia, vômito e cefaleia. Existem outras bactérias (Quadro 1) também presentes na microbiota intestinal ou na microbiota da cavidade oral das serpentes e que também podem causar enfermidades em humanos, principalmente nos imunossuprimidos (SÁ & SOLARI 2001; JHO *et al.*, 2011). A microbiota fúngica de serpentes inclui *Geotrichum* sp (PARÉ *et al.*, 2007), *Aspergillus* sp (AUSTWICK & KEYMER 1981), *Mucor* sp (NORBERG *et al.*, 2011), *Trichophyton* sp (PARÉ *et al.*, 2007) e *Trichosporon* sp (CAMPAGNER 2011), mas as pessoas mais susceptíveis são também as imunossuprimidas. A utilização de luvas de procedimento durante a troca das gaiolas evita a contaminação bacteriana e fúngica. Zoonoses causadas por parasitos de serpentes são mais comuns nos países asiáticos, através da ingestão de serpentes cruas ou mal preparadas.

Quadro 1: Principais agentes zoonóticos bacterianos envolvidos em biotérios de criação e experimentação de serpentes.

AGENTE	NB*	VIA DE TRANSMISSÃO	PROFILAXIA
Salmonella Aeromonas hydrophila Citrobacter freundii Corynebacterium sp Enterobacter sp Enterococcus sp Klebsiella pneumonia Morganella morganii Proteus mirabilis Proteus vulgaris Providencia sp Pseudomonas sp Staphilococcus sp	2	orofecal	Uso de EPI's
Mycobacterium	2	Ingestão ou contato direto com fluidos e exsudatos corporais.	Uso de EPI's
* NB: nível de biossegurança.			

3.5.3. Barreiras sanitárias

Existem várias barreiras sanitárias importantes na criação de serpentes:

- 1) Utilização de vestimenta adequada no biotério como jaleco e botas/propés;
- 2) Uso estratégico de pedilúvio com solução desinfetante;
- 3) Elaboração de um fluxograma eficiente, cobrindo primeiro as áreas limpas e, posteriormente, as áreas sujas;
- 4) Troca da vestimenta nas diferentes áreas do biotério;
- 5) Utilização de luvas de procedimento na troca de gaiolas e manejo das serpentes;
- 6) Lavagem e desinfecção criteriosa dos insumos utilizados na criação;
- 7) Tratamento profilático das serpentes recém-chegadas; e
- 8) Quarentena dos animais recém-chegados de, no mínimo, 60 dias.

3.5.4. Controle de doenças, diagnóstico e tratamento

Para o bom desempenho das pesquisas científicas, é recomendável que as serpentes fiquem em adaptação

por um período mínimo de 15 dias antes do início de sua utilização. Se o estudo não for a respeito dos endoparasitos, recomendamos a vermifugação dos espécimes, pois endoparasitos podem causar estresse crônico nos animais, com consequente imunossupressão, favorecendo que pequenas lesões causadas pelos parasitos nas mucosas sirvam de porta de entrada para bactérias oportunistas. O veterinário responsável deve ser informado imediatamente de qualquer alteração de comportamento, presença de feridas, disecidise ou fraturas, a fim de realizar exames laboratoriais e precocizar o tratamento mais adequado. O animal doente deve ser isolado e, dependendo do estudo, excluído. Na literatura, há uma extensa lista das enfermidades mais comuns, seu diagnóstico e tratamento (FRYE *et al.*, 1996; MADER 2006; GREGO, RAMEH-DE-ALBUQUERQUE & KOLESNIKOVAS 2014).

3.5.5. Triagem

Ao chegarem na instalação, as serpentes devem passar por um exame clínico para verificação das suas condições gerais, presença de feridas, fraturas, ectoparasitos, inspeção da cavidade oral, da cloaca, determinação do sexo e medição dos dados biométricos. Neste momento, os animais recebem uma identificação e uma ficha individual que lhes acompanham por todo o período que estiverem no biotério. É aconselhável que todas as serpentes recém-chegadas passem por um tratamento ectoparasiticida e endoparasiticida antes de serem encaminhadas para a quarentena, pois é comum chegarem da natureza ou de outros criadouros infestadas com ácaros, carrapatos e endoparasitos.

3.5.6. Separação por espécies

O ideal é que se faça a separação das serpentes por famílias, em salas ou baias diferentes. Caso não seja possível, é imprescindível a separação em diferentes prateleiras com equipamentos separados para cada grupo. É comum que serpentes de famílias diferentes tenham respostas imunológicas diferenciadas frente a um mesmo antígeno. Por exemplo, os viperídeos (*Crotalus*, *Bothrops*) são muito susceptíveis ao paramixovírus, já os boídeos (*Boa*, *Epichrates*) são resistentes a esse vírus, podendo ser portadores assintomáticos.

4. Procedimentos

4.1. Principais vias de administração de substâncias

A espécie da serpente em tratamento irá determinar a via de administração de substâncias. A via de administração para serpentes peçonhentas de importância em saúde é, geralmente, a injetável, por ser mais segura para o técnico.

Via oral:

Para administrar substâncias via oral, as serpentes precisam ser contidas manualmente ou “sedadas” em recipiente saturado de dióxido de carbono.

Substâncias em suspensão são administradas às serpentes através de sondas (o número da sonda depende do tamanho da serpente). A sonda deve ser umedecida em água para facilitar a passagem pelo esôfago e ser inserida suavemente. O volume a ser administrado não deve passar dos 10% do peso do animal. Ex: se uma serpente pesa 100g, o volume a ser administrado não deve passar dos 10 ml.

Substâncias em cápsulas ou comprimidos são inseridos no esôfago dos ofídios com o auxílio de uma pinça.

Via subcutânea:

A injeção subcutânea é aplicada entre as escamas, na região lateral do terço cranial da serpente, após desinfecção do local com álcool iodado a 0,2%. A contenção pode ser manual, com Laço de Lutz ou tubo de contenção.

Via intracelomática:

A injeção intracelomática deve ser feita na região ventral, cinco dedos acima da cloaca, entre as escamas, em uma angulação baixa (< 45°). É uma ótima via para administrar uma grande quantidade de líquido parenteral. A contenção pode ser manual, com Laço de Lutz ou tubo de contenção.

Via intravenosa:

São poucos os sítios para administração venosa de medicamentos em serpentes. A veia caudal é de di-

fácil acesso em pequenas serpentes ou naquelas em que a cauda é muito curta, mas é um ótimo sítio em animais de porte médio a grande, como os viperídeos. Como a veia caudal fica localizada ventralmente às vértebras coccigeanas, é indicado que se posicione a serpente deixando o seu ventre exposto. A agulha deve ser escolhida de acordo com o tamanho do animal, sendo inserida na linha média da cauda, entre as escamas, em um ângulo de 45°. Cuidados devem ser tomados para não atingir o hemipênis dos machos.

As injeções cardíacas só devem ser utilizadas para a administração de medicamentos de emergência, pois há um pequeno risco de hemorragia associada a esse sítio (TAMBOURGI, *et al.*, 2010).

Via intramuscular:

A injeção intramuscular deve ser realizada nos músculos paravertebrais, inserindo a agulha entre as escamas e apenas pequenos volumes relativos devem ser administrados por esta via. É de fácil acesso em boídeos, por serem serpentes mais musculosas, mas de difícil acesso em viperídeos que possuem, geralmente, pouca musculatura paravertebral.

4.2. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções

4.2.1. Colheita de tecidos

A biópsia de tecido cutâneo e de fragmentos de órgãos devem seguir as mesmas recomendações descritas no item 5.4 (cirurgia), por se tratar de um procedimento invasivo.

4.2.2. Colheita de amostras sanguíneas

São poucos os sítios para a venopunção em serpentes. A colheita de sangue pela veia caudal é um ótimo sítio em animais de porte médio a grande, mas deve-se tomar cuidado para não contaminar a amostra com linfa. Ver o item 4.1.

A colheita de sangue através da punção cardíaca é possível, mas a sedação ou anestesia são necessárias. O coração pode ser facilmente localizado com o auxílio de um doppler vascular ou através da visualização dos batimentos

cardíacos nas escamas ventrais. O coração deve ser estabilizado entre os dedos e a agulha deve ter calibre adequado para o tamanho da serpente (20 x 0,55 para animais de pequeno porte; 25 x 0,70 para animais de médio porte e 30 x 1,0 para serpentes de grande porte). A agulha é inserida entre as escamas, uma ou duas escamas abaixo de onde o coração é localizado. Deixe a seringa encher sozinha, para evitar excesso de pressão negativa e o colapso do ventrículo cardíaco (DYER & CERVASIO 2008).

O plexo venoso vertebral, com auxílio de um *scalp* 22, também pode ser utilizado para colheita de amostras sanguíneas, principalmente em serpentes de grande porte, como os boídeos. Para acessar este vaso, a serpente deve ser contida na borda de uma mesa, dobrando-a em um ângulo de aproximadamente 90°, para facilitar a inserção da agulha entre as vértebras.

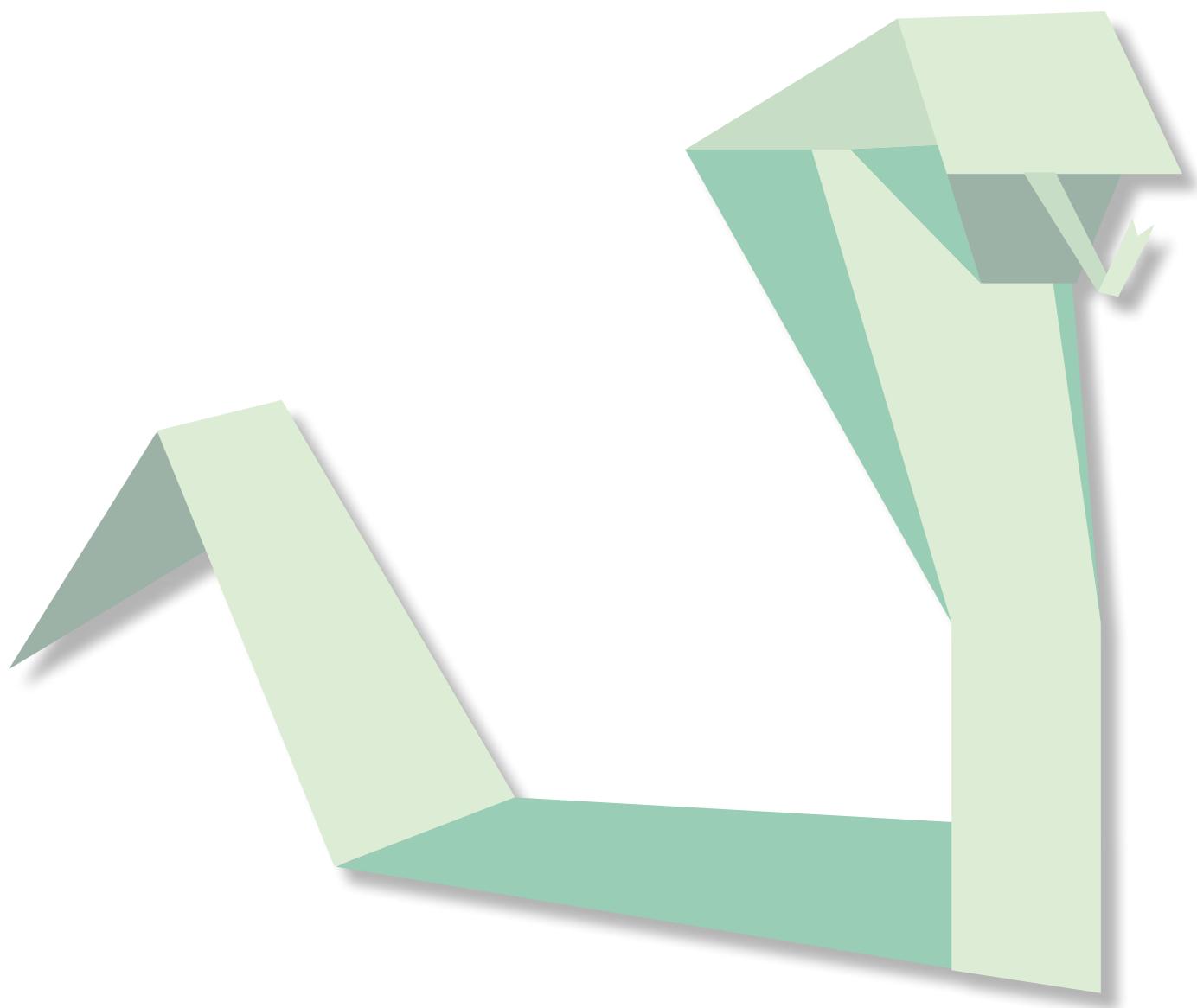
4.2.3. Extração de peçonha

A **extração de peçonha** das serpentes opistóglifas (principalmente das famílias Colubridae e Dipsadidae), ofídios peçonhentos sem importância em saúde, pode ser realizada contendo-se manualmente o animal pela cabeça e fazendo-se uma leve massagem caudo-cranial, com os dedos indicador e polegar, em cima da glândula Duvernoy. Em cada presa (dentição inoculadora), encaixa-se um tubo capilar sem heparina ou microtubos. Imediatamente após a colheita, o veneno deverá ser refrigerado ou congelado, de acordo com a necessidade de cada experimento.

A **extração de peçonha** das serpentes proteróglifas (família Elapidae) e solenóglifas (família Viperidae), ofídios peçonhentos de importância em saúde, deverá ser realizada com o auxílio do dióxido de carbono como medida de prevenção de acidentes. Segundo (WANG *et al.*, 1993), o pH do sangue das serpentes que passam pelo dióxido de carbono para a realização da extração de veneno, volta rapidamente para os níveis normais. A serpente deverá ser colocada em um recipiente saturado de dióxido de carbono até ‘adormecer’, aproximadamente 5 minutos. Este tempo pode variar de indivíduo para indivíduo. Após a ‘sedação’, a serpente é contida manualmente, fazendo-se uma massagem caudo-cranial em cima da glândula de veneno. No caso dos viperídeos, a extração de veneno pode ser feita com microtubos ou tubos encaixados nas presas ou, então, em um Becker de vidro imerso em um banho de gelo. No caso dos elapídeos, a extração deverá ser feita com tubos capilares sem heparina, encaixados nas presas inoculadoras. Em qualquer um dos casos mencionados acima, após a extração, deve-se passar um antisséptico nas bainhas das presas e nas presas para evitar estomatite. Podem ser utilizadas soluções de iodo-povidone 10% ou de clorexidine 0,12%.

4.3. Modificação de ingestão de alimento

Caso a serpente não se alimente naturalmente, pode-se optar pela alimentação forçada. Neste caso, a presa deve ter um tamanho inferior à capacidade máxima de ingestão da serpente e deve estar morta. Caso ela possua estruturas que possam lesionar o trato digestório da serpente, esta deve ser extraída (por exemplo dentes incisivos de roedores). Para facilitar o procedimento, a presa deve ser untada com substância lubrificante que facilite o transporte pelo trato digestório (por exemplo: clara de ovo, vitamina).



5. Cuidados veterinários

5.1. Cuidados pré e pós-operatórios

Deve-se fazer uma avaliação pré-operatória na serpente que inclui um exame clínico geral, frequência cardíaca, frequência respiratória e avaliação hídrica. Se possível, exames hematológicos e bioquímicos também auxiliam na verificação do estado geral do animal. Um jejum de sete dias antes da cirurgia é recomendado para as serpentes, sem restrição hídrica.

Os pré-anestésicos são utilizados para sedar o animal e facilitar a intubação endotraqueal para anestesia inalatória, assim como diminuir a quantidade de anestesia injetável utilizada. Como droga pré-anestésica, atualmente o propofol está sendo bastante utilizado, pois permite uma rápida indução e recuperação quando comparado a outros agentes. Diferentes combinações com cetamina também são utilizadas como pré-anestésicos: cetamina + midazolam; cetamina + medetomidina. Diferentemente dos mamíferos, não é necessário administrar atropina como droga pré-anestésica em serpentes para evitar a sialorreia, pois não produzem saliva em excesso.

Após a cirurgia, devemos manter a serpente em local tranquilo com temperatura em torno de 25° a 27°C até a sua recuperação. A ferida cirúrgica deve ser tratada a cada 48h e, dependendo do protocolo de ensino ou pesquisa, antibiótico e analgésico devem ser prescritos para evitar infecções e garantir o bem-estar do animal. Na tabela 1, a dose das principais drogas pré-operatórias estão apresentadas.

Os antibióticos devem ser escolhidos de acordo com cada situação. Na literatura, existem vários trabalhos que auxiliam na escolha adequada destes medicamentos (JACOBSON 1996; STEIN 1997; KOLESNIKOVAS *et al.*, 2007; FUNK & DIETHELM 2007).

Tabela 1: Principais drogas pré-operatórias utilizadas em serpentes.

PRINCÍPIO ATIVO	DOSAGEM	OBSERVAÇÕES	FONTE
Acetilpromazina	0,1 - 0,5 mg/kg IM.	Sedativo, adm. 1 hora antes da anestesia geral.	BENNETT, 1991.
Diazepam	0,22 - 0,62 mg/kg IM.	Sedativo.	BENNETT, 1991.
Midazolam	2,0 mg/kg IM.	Pré-anestésico.	BENNETT, 1991.
Propofol	5 - 10 mg/kg IV.	Anestésico de curta duração.	TAMBOURGI <i>et al.</i> , 2010.
Cetamina/midazolam	40 mg/kg de cetamina + 2 mg/kg de midazolam IM.	Anestésico geral.	BOUTS & GASTHUYS, 2002.
Tiletamina/zolazepam	2 - 5 mg/kg IM.	Anestésico geral, para pequenos procedimentos.	SCHUMACKER & YELEN, 2006.
Vias de administração: IM intramuscular; IV – intravenosa			

5.2. Analgesia

Apesar de dificilmente manifestarem dor, alguns sinais, como: postura alterada, tremores, aumento da frequência respiratória ou cardíaca, podem ser indicativos de dor e desconforto nestes animais. Algumas vezes, o não reconhecimento da dor e a falta de conhecimento das doses apropriadas de drogas analgésicas para estes animais resultam no tratamento inadequado da dor. Os analgésicos devem ser administrados a todas as serpentes submetidas a procedimentos dolorosos: após cirurgias; feridas ou queimaduras extensas etc. Na tabela 2, doses de agentes analgésicos utilizados em serpentes.

Tabela 2: Drogas analgésicas utilizadas em serpentes.

PRINCÍPIO ATIVO	DOSAGEM	OBSERVAÇÕES	FONTE
Buprenorfina	0,02 mg/kg IM.	Leva horas para fazer efeito.	TAMBOURGI, <i>et al.</i> , 2010.
Butorfanol	0,4 - 2,0 mg/kg SC, IM, IV.	Administrar a cada 12 - 24h.	SCHUMACKER & YELEN, 2006.
Meperidina	20 mg/kg IM.	Administrar a cada 24h.	HEARD, 1993.
Meloxicam	0,1 - 0,2 mg/kg IM, IV, VO.	Analgésico e anti-inflamatório, Administrar a cada 24h.	SCHUMACKER & YELEN, 2006.
Cetoprofeno	2 mg/kg SC, IM.	Administrar a cada 24h.	SCHUMACKER & YELEN, 2006.
Vias de administração: IM - intramuscular; IV – intravenosa; SC – subcutânea; VO – via oral			

5.3. Anestesia

Em ofídios, a glote é facilmente visualizada e está localizada imediatamente acima da bainha da língua, a traqueia é formada por anéis incompletos e finaliza no pulmão ou no saco aéreo. Algumas serpentes das famílias Viperidae (cascavéis, jararacas), Colubridae e Dipsadidae, possuem o que chamamos de traqueia-pulmonar, ou seja, ao longo de quase toda a traqueia observamos parênquima pulmonar. No viperídeo *Lachesis* sp, nas famílias Boidae e Pythonidae e em algumas serpentes das famílias Colubridae e Dipsadidae, a traqueia finaliza no(s) pulmão(ões). A grande maioria das serpentes possui apenas o pulmão direito desenvolvido, mas, outras, apesar de possuir o direito mais desenvolvido, possuem um pulmão esquerdo menor do que o direito (em até 40%) ou até mesmo vestigial. O pulmão termina no saco aéreo, parte avascular do pulmão que não realiza trocas gasosas. Cuidado deve ser tomado ao prover ventilação assistida às serpentes, pois tanto os pulmões como os sacos aéreos são delicados e facilmente danificados com a hiperinsuflação (JACOBSON 1993).

Tanto os anestésicos inalatórios como os injetáveis podem ser utilizados, embora os inalatórios possuam uma indução e um tempo de recuperação mais rápidos.

Tubos de contenção, de tamanho adequado para a serpente manejada, podem ser utilizados para a indução da serpente, acoplando a mangueira do aparelho anestésico inalatório na ponta onde está a cabeça do animal. Na parte posterior do tubo, veda-se o espaço entre o tubo e a serpente com papel toalha. Assim que a serpente entrar em plano de indução, retirá-la cuidadosamente do tubo e inserir um tubo endotraqueal ou sonda uretral, de tamanho adequado, na sua glote.

Em se tratando de serpentes peçonhentas de importância em saúde, um mínimo de duas pessoas adequadamente treinadas devem estar presentes durante o manejo. Lembrando que todo procedimento de anestesia deve ser acompanhado por um médico veterinário. Procedimentos operacionais padrões sobre socorro de acidentados ofídicos devem estar visíveis, inclusive com o número do posto de saúde ou do hospital para onde a pessoa acidentada deve ser encaminhada.

Alguns procedimentos menos invasivos podem ser realizados com anestesia local, como biópsia de pele, redução de prolapso de cólon, sutura de feridas e curativo de feridas extensas. O agente mais utilizado é a lidocaína, infiltrada localmente a 2- 5mg/kg. Devido aos efeitos colaterais de toxicidade, a dose não deve exceder os 10mg/kg (SCHUMACHER & YELEN 2006).

O agente anestésico inalatório de eleição é o isofluorano. A indução é feita com 4 - 5% e a manutenção com 1 - 3%. A vantagem do isofluorano é o de proporcionar uma indução e recuperação rápidas, com mínima depressão cardiovascular (SCHUMACHER & YELEN 2006).

Em relação aos agentes anestésicos injetáveis, várias combinações podem ser usadas, sendo que as associações com a cetamina são as mais utilizadas. O uso de propofol em injeções intravenosas de 5 - 10mg/kg também pode ser utilizado, mas com cuidado, pois pode causar depressão cardiorespiratória. Na tabela 3 os agentes anestésicos inalatórios e injetáveis mais utilizados.

Tabela 3. Drogas anestésicas utilizadas em serpentes.

PRINCÍPIO ATIVO	DOSAGEM	OBSERVAÇÕES	FONTE
Isofluorano	3-5% indução, 2-4% manutenção	Anestesia inalatória	TAMBOURGI, <i>et al.</i> , 2010
Propofol	5-10mg/kg IV	Anestésico de curta duração	TAMBOURGI, <i>et al.</i> , 2010
Cetamina/acepromazina (10:1 em volume)	40-60mg/kg de cetamina	Anestésico geral	TAMBOURGI, <i>et al.</i> , 2010
Cetamina/midazolam	40mg/Kg de cetamina + 2mg/kg de midazolam IM	Anestésico geral	BOUTS & GASTHUYS, 2002
Cetamina/xilazina	40mg/Kg de cetamina + 1mg/kg de xilazina IM	Anestésico geral	BOUTS & GASTHUYS, 2002
Tiletamina/zolazepam	2 - 5mg/kg IM	Anestésico geral, para pequenos procedimentos	SCHUMACKER & YELEN, 2006
Lidocaína	2 - 5mg/kg	Anestésico local	SCHUMACKER & YELEN, 2006

5.4. Cirurgia

As cirurgias somente deverão ser feitas em ambientes limpos, desinfetados, bem iluminados e com todo o equipamento e instrumental apropriados. Deverá ser realizada por um médico veterinário ou com a supervisão deste (Lei nº 5.517, de 23 de outubro de 1968), após cuidadoso estudo da anatomia do animal e o melhor protocolo anestésico para a situação. Durante a cirurgia, é indicado que a serpente fique em uma manta elétrica com temperatura em torno dos 25±1°C. Após a cirurgia, a serpente deve ser mantida a 28±1°C até sua total recuperação, ou seja, dardejear de língua e propriocepção adequada (quando colocada em decúbito dorsal a serpente retorna ao decúbito ventral)

Após a cirurgia, cuidados pós-operatórios devem ser adotados, como oferecer temperatura adequada para a

recuperação da serpente (em torno dos 25° - 27°C), prescrição de analgésico, antibiótico e curativos com periodicidade regular, para o bem estar do animal. A manutenção da serpente em temperaturas subótimas, após a cirurgia, predispõe o animal à supressão imunológica e subsequente infecção.

5.5. Eutanásia

Segundo a Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, eutanásia é a indução da cessação da vida animal, por meio de método tecnicamente aceitável e cientificamente comprovado, sendo um meio de eliminar a dor ou o sofrimento dos animais. Segundo o art. 10 desta mesma Resolução, a escolha do método dependerá da espécie animal envolvida, da idade e do estado fisiológico dos animais, bem como dos meios disponíveis para contenção dos mesmos, da capacidade técnica do executor, do número de animais e, no caso de experimentação ou ensino, do protocolo de estudo.

De acordo com Resolução Normativa que trata das diretrizes da prática de eutanásia do Concea, procedimentos de eutanásia devem ser supervisionados, mesmo que não de forma presencial, pelo Responsável Técnico pelo Biotério, que deve ter o título de Médico Veterinário com registro ativo no Conselho Regional de Medicina Veterinária da Unidade Federativa em que o estabelecimento esteja localizado.

Em serpentes, o método mais adequado é a utilização de barbitúricos (30 - 100 mg/kg, intravenoso ou intracelômático), pois é uma droga de efeito rápido e de baixo custo. Como há a necessidade de realizar a contenção física para a aplicação do agente, técnicos experientes são imprescindíveis, principalmente quando se trata da contenção de serpentes peçonhentas de importância em saúde.

Em serpentes submetidas à eutanásia para servirem de alimento a serpentes ofiófagas (serpentes que se alimentam de outras serpentes), os barbitúricos ou outros agentes injetáveis não devem ser utilizados, pois podem causar sedação nos animais que consomem a carcaça. Nestes casos, o mais indicado é o uso de anestésicos inalatórios (para espécies que não fazem apnéia, seguido de outro método de eutanásia), após a devida aprovação pelas CEUAs das Instituições de Ensino e Pesquisa. Atualmente, existe uma grande tendência em oferecer ratos e camundongos pré-abatidos às serpentes. A eutanásia, nestes casos, pode ser feita pelo deslocamento cervical, contanto que seja feito por um executor bem qualificado e para roedores com peso menor que 150g.

5.6. Necropsia

Para compreender a história natural de uma doença, risco de surgimento, morbidade das afecções e as causas de mortalidade, devemos proceder à realização de necropsia e posterior coleta de material biológico para determinação do agente etiológico envolvido (MATUSHIMA 2007). Para realizar a necropsia, a conservação do cadáver deve ser feita em refrigerador (4° a 10° C) por um período máximo de 24 horas. O resfriamento não impede a autólise e a putrefação, mas retarda estes processos. Nunca devemos congelar carcaças que serão submetidas à necropsia, pois o congelamento pode romper as membranas celulares, impedindo o diagnóstico histopatológico. O médico veterinário responsável pela necropsia deverá ser bem familiarizado com a anatomia da espécie em questão, bem como com suas particularidades. Na literatura, existem alguns trabalhos sobre a anatomia das principais espécies de serpentes utilizadas em pesquisa ou ensino no Brasil, que são ferramentas de grande auxílio nesta atividade (KOLESNIKOVAS *et al.*, 2007; FUNK 2005; GOMES & PUORTO 1993; GOMES *et al.*, 1989). Equipamentos de proteção individual, como avental, luvas e máscaras devem sempre ser utilizados durante a necropsia.

Antes da necropsia propriamente dita, deve-se pesar, medir e examinar externamente a serpente: condições gerais, orifícios naturais, presença de ectoparasitos, feridas e fraturas. Feito isto, coloca-se a serpente em decúbito dorsal e faz-se uma pequena incisão nas escamas ventrais, no meio do corpo, cortando, em seguida, na direção cranial e depois na direção caudal. Após aberta, a pele da serpente pode ser rebatida e presa em uma tábua de necropsia com alfinetes. Todos os órgãos internos devem ser cuidadosamente verificados em relação à anatomia topográfica, aspecto, presença de parasitos, secreções etc. As amostras de tecido podem ser coletadas nos mais diferentes tipos de soluções e reagentes, dependendo da finalidade do estudo, em frascos apropriados e identificados. Na maioria das vezes, utiliza-se formol 10%. Após a necropsia, uma ficha deve ser preenchida com todas as informações a respeito da serpente e uma detalhada descrição necroscópica.

5.7. Destino das carcaças

As serpentes que vierem ao óbito natural ou que forem submetidas à eutanásia e que puderem ser aproveitadas em atividades de ensino ou pesquisa, em universidades ou coleções, devem ser armazenadas em freezer até o seu uso

ou fixadas (FRANCO *et al.*, 2002). Serpentes que vierem a óbito e que forem descartadas devem ser acondicionadas em saco branco leitoso apropriado para resíduos biológicos (grupo A)(no caso das serpentes peçonhentas de importância em saúde, deve-se tomar a precaução de terem a boca fechada com fita crepe, pois as presas ainda podem ter resíduos de veneno com atividade lesiva, tanto para a pessoa que está efetuando o acondicionamento da carcaça, como para os funcionários responsáveis pelo transporte do lixo). Se o saco com a carcaça não for imediatamente encaminhado para a coleta apropriada do lixo, deve ser congelado até o momento da coleta. As carcaças devem ser tratadas pelo método de incineração (TAMBOURGI *et al.*, 2010).



6. Ética e bem-estar animal no uso de serpentes em laboratório

Assim como para outros animais, devemos nos preocupar com o bem-estar para as serpentes que estão sendo utilizadas na produção, manutenção ou utilização em atividades de ensino ou pesquisa científica. Pessoal treinado e capacitado para o manejo das serpentes é condição imprescindível, principalmente quando se trata de serpentes de importância em saúde. Muitas pessoas, por medo dos animais, acabam não tendo os devidos cuidados na manipulação, podendo causar sérias lesões nas serpentes. A sala de manutenção das serpentes não pode ser utilizada para outros fins, como laboratório ou escritório, e o tempo de permanência na sala deve-se restringir ao mínimo necessário. Algumas serpentes demonstram claramente, através da vibração da cauda ou de posturas defensivas, o quanto a presença humana é incômoda e estressante. Locais com muito barulho ou vibração, ao lado de marcenarias ou serralherias, por exemplo, também são desconfortáveis para as serpentes.

Quando machos forem colocados juntos para realização da disputa antes do acasalamento, é necessário que seja num espaço amplo que permita ao perdedor se refugiar, caso contrário, a disputa pode não se encerrar, levando um ou os dois indivíduos à estafa e até à morte. Deve-se tomar cuidados especiais no manejo de fêmeas prenhes. Devido à mudança do estado fisiológico, elas se mostram mais agressivas e, devido aos filhotes ou ovos, possuem seu centro de gravidade deslocado. Quando da manipulação com gancho, laço de Lutz e outros para evitar o soerguimento da serpente por um único ponto.

A investigação e o registro de questões de bem-estar animal são de responsabilidade de cada indivíduo envolvido. Cada instituição deve desenvolver métodos de relato e investigação de indicadores de bem-estar animal, e todos os funcionários devem estar cientes da importância e dos mecanismos para o registro e os relatos de questões de bem-estar animal. A responsabilidade pela revisão de tais relatórios é do responsável técnico e das Comissões de Ética no Uso de Animais. A resposta a tais relatórios incluem a comunicação dos achados aos funcionários envolvidos, as medidas corretivas se cabíveis. Todos os relatórios e ações corretivas devem ser registrados de forma permanente (*National Research Council 2011*).

7. Referências bibliográficas Anfíbios

- DAVIES, R.; DAVIES, V. **The Reptile and Amphibian Problem Solver: Practical and Expert Advice on Keeping Snakes and Lizards**. Tetra Press, 1997.
- DUELLMAN, W.E.; TRUEB, L. **The Biology of Amphibians**. MacGraw-Hill: New York, NY, 1986.
- JARED, C.; ANTONIAZZI, M.M. Anfíbios: Biologia e Venenos. *In*: CARDOSO J.L.C.; FRANÇA F.O.S.; WEN, F.H.; MALAQUE, C.M.S., HADDAD Jr., V. (Org.). **Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes**. 2ª ed. São Paulo: Sarvier, p. 317-330, 2009.
- JARED, C.; NAVAS, C.; TOLEDO, R.C. An appreciation of the physiology and morphology of the Caecilians (Amphibia, Gymnophiona). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 123(4):313-328, 1999.
- JARED, C.; ANTONIAZZI, M.M.; KATCHBURIAN, E.; TOLEDO, R.C.; FREYMÜLLER, E. Some aspects of the natural history of the casque-headed tree frog *Corythomantis greeningi* (Hylidae). **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Biologie Animale**, 1999(3):105-115, 1999.
- POUGH, F. H.; HEISER, J.B.; MCFARLAND, W.N. **A vida dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu Editora, 1993.
- SEBBEN, A. Microdissecação fisiológica a fresco: uma nova visão sobre a anatomia de anfíbios e répteis. *In*: NASCIMENTO, L. B.; OLIVEIRA, M. E. (eds.). (Org.). **Herpetologia no Brasil II**. 1ed. Belo Horizonte, MG: Sociedade Brasileira de Herpetologia, v. 1, p. 311-325, 2007.
- VELLOSO, M.E.C.; JARED, C.; ANTONIAZZI, M.M. **Técnicas de manutenção de algumas espécies de anuros em cativeiro**. Anais do III Congresso Latino Americano de Herpetologia, Campinas, SP, 1993.
- ZIMMERMANN, E. **Reptiles and Amphibians**. New Jersey: T.F.H. Publications, Inc., 1993.

8. Referências bibliográficas Serpentes

- ANDRADE, D. V.; ABE, A. S. Water collection by the body in a viperid snake, *Bothrops moojeni*. **Amphibia Reptilia**, v. 21, n. 4, p. 485-492, 2000. ISSN 0173-5373.
- AUSTWICK, P.K.C.; KEYMER, I.F. Fungi and actinomycetes. *In*: COOPER, J.E.; JACKSON, O.F. (eds), **Diseases of the Reptilia**. v1, p. 193-231, 1981.
- BENNETT RA. A review of anesthesia and chemical restraint in reptiles. **J. Zoo Wildl. Med**, v. 22: 282-303, 1991.
- BOUTS T.; GASTHUYS F. Anesthesia in Reptiles. Part 1: Injection anesthesia. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, 71: 183-194, 2002.
- CAMPAGNER, M. V. **Manejo de serpentes em cativeiro: manejo clínico-sanitário e avaliação da microbiota**. Tese de doutorado Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- CADANADIAN COUNCIL OF ANIMAL CARE. **Guide to the Care Use of Experimental Animals**. Ottawa: CCAC, 208 p., 1980-1984.
- DANIEL, L. A. *et al.* **Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável**. Rio de Janeiro: Programa de Pesquisas em Saneamento Básico—PROSAB, 2001.
- DYER S.M.; CERVASIO EL. Na overview of restraint and blood collection techniques in exotic pet practice. **Vet. Clin. Exot. Anim.**, 11: 423-443, 2008.
- FRANCO, F. L.; SALOMÃO, M. G.; AURICCHIO, P. Répteis. *In*: AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M. D. G. **Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos**. São Paulo: Instituto Pau Brasil de História Natural, p. 75-125, 2002.
- FUNK R.S. Snakes. *In*: MADER, D.R. (ed) **Reptile Medicine and Surgery**. 2nd ed. Elsevier Saunders, p. 42 – 58, 2006.
- FUNK R.S.; DIETHELM G. Reptile formulary. *In*: MADER, D.R. (ed) **Reptile Medicine and Surgery**. 2nd ed. Elsevier Saunders, p. 1119 – 1140, 2006.
- GOMES C.A.; ALMEIDA-SANTOS S.M. Microhabitat use by species of the genera *Bothrops* and *Crotalus* (Viperidae) in semi-extensive captivity. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, 18(4), p.393-398, 2012
- GOMES N.; PUORTO G. Atlas anatômico de *Bothrops jararaca* Wied, 1824. **Mem. Inst. Butantan**, 55 (1): 69 - 100, 1993.
- GOMES N.; PUORTO G.; BUONONATO M.A.; RIBEIRO M. de F.M. **Atlas anatômico de BOA CONSTRICTOR**. MONOGRAFIAS INSTITUTO BUTANTAN, 2: 1 - 59, 1989.
- GREGO, K. F.; de ALBUQUERQUE, L.C.R.; KOLESNIKOVAS, C. K. M. Ordem Squamata–Subordem Ophidia (Serpente). *In*: CUBAS Z.S.; SILVA J.C.R.; CATÃO-DIAS J.L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca, v.1:186 - 218, 2014
- HEARD, D. J. Principles and techniques of anesthesia and analgesia for exotic practice. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract**, v. 23, n. 6, p. 1301-1327, 1993.
- JACOBSON, E.R. Snakes. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract**. v. 23: 1179-1212, 1993.
- JACOBSON, E.R. Metabolic scaling of antibiotics in reptiles: basis and limitations. **Zoo Biology**: 15:329-339, 1996.
- JACOBSON, E.R. **Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text**. Boca Raton, FL: CRC Press, 716p, 2007.
- JACOBSON, E.R.; GASKIN, J.M.; WELLS,S.; BOWLER, B.S.; SCHUMACHER, J. Epizootic of ophidian paramyxovirus in a zoological collection: pathological, microbiological and sorological findings. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, n. 23, p.318-327, 1992.
- JHO, Y.S; PARK, D.H.; LEE, J.H.; CHA, S.Y.; HAN, J.S. Identification of bacteria from the oral cavity and cloaca of snakes imported from Vietnam. **Laboratory Animal Research**, 27(3): 213-217, 2011
- KOLESNIKOVAS, C. K. M.; GREGO, K. F.; de ALBUQUERQUE; L.C.R. Ordem Squamata–Subordem Ophidia (Serpente). *In*: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca: 68-85, 2007.
- LELOUP, P. Various aspects of venomous snake breeding on a large scale. **Acta Zool. Pathol.**, v. 78, p. 177-198, 1984.
- LOCK, B. Venomous Snake Restraint and Handling. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 17, n. 4, p. 273-284, 2008.
- MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. California: Elsevier Saunders Company, 1242p., 2006.

- MATUSHIMA, E. Técnicas Necroscópicas. *In*: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L.(ed) **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo, SP: Roca, p. 980-990, 2007.
- MELGAREJO-GIMENEZ A.R. Criação e manejo de serpentes. *In*: ANDRADE, A; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. (eds). **Animais de laboratório**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 175-99, 2006.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, USA, 2011. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. 8th ed. Disponível em <http://www.nap.edu/catalog/12910/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals-eighth>. Acesso em: 24 Feb. 2023.
- NORBERG, A.N.; PILE, E.P.; RIBEIRO, P.C.; BRITO, P.L.X.; CONSORTE, L.B.S.; SANCHES, F.G.; SERRA-FREIRE, N.M. Mucormicose em *Crotalus durissus terrificus* mantidas em cativeiro. **Revista de Ciência e Tecnologia**, 11(2,) 2011.
- PARÉ, J.A.; JACOBSON, E.R. Mycotic diseases of reptiles. *In*: Jacobson, E.R. (ed). **Infectious diseases and pathology of reptiles**. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 527– 547, 2007.
- SÁ I.V.A; SOLARI C.A. Salmonella em répteis de estimação nacionais e importados. **Brazilian Journal of Microbiology**, 32(4): 293-297, 2001.
- SAZIMA, I.; MARTINS, M. Presas grandes e serpentes jovens: quando os olhos são maiores do que a boca. **Mem. Inst. Butantan**, v. 52, n. 3, p. 73-79, 1990.
- SCHUMACHER, J; YELEN, T. Anesthesia and analgesia. *In*: MADER, D. R. (ed). **Reptile Medicine and Surgery**. Elsevier Health Sciences, p. 442-452, 2006.
- TAMBOURGI, D.V.; BIZERRA, A.F.; et al. **Manual Prático sobre Usos e Cuidados Éticos de Animais de Laboratório**. Secretaria do Estado da Saúde de São Paulo, p. 45-61, 2010.
- VITT, L. J.; CALDWELL, J. P. **Herpetology: an Introductory Biology of Amphibians and Reptiles**. Academic Press, 697p., 2009.
- WELDON, P. J.; DIVITA, F. M.; MIDDENDORF III, G. A. Responses to snake odors by laboratory mice. **Behavioural Processes**, v. 14, n. 2, p. 137-146, 1987.

9. Critérios mínimos para instalações de Anfíbios e serpentes

<p>Classificação:</p> <p>OB - Obrigatório Considera-se item OBRIGATÓRIO</p> <p>R - Recomendado. Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.</p>

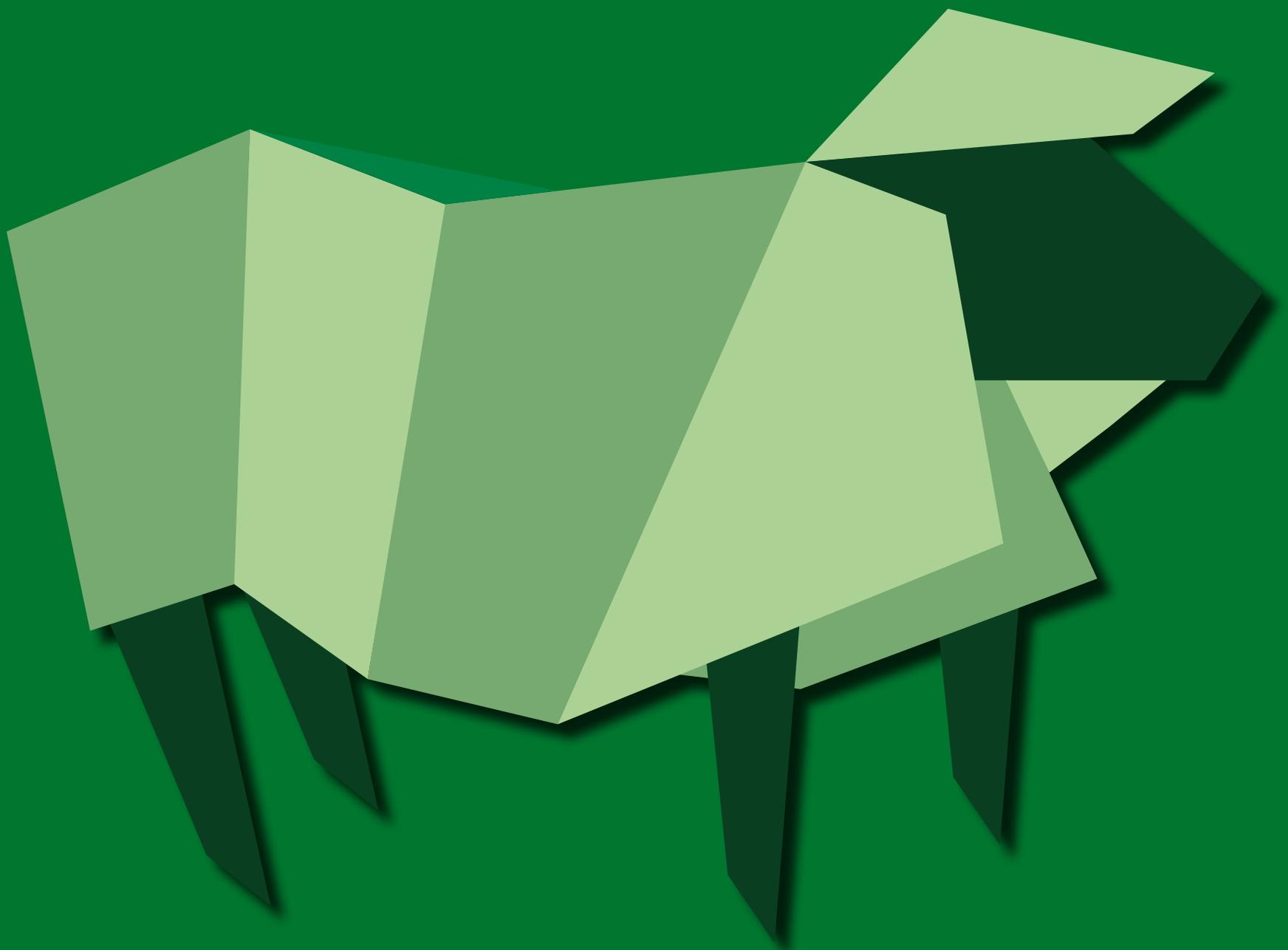
ANFÍBIOS	
DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Instalações animais	
Alojamentos com dimensões e características que atendam os hábitos e necessidades de cada espécie, respeitando as especificações do Concea.	OB
Controle de iluminação, umidade e temperatura.	OB
Procedimentos	
Enriquecimento ambiental.	OB
Registro da frequência da alimentação dos animais.	OB
Registro de higienização dos recintos dos animais.	R
Manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R

SERPENTES	
DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Alojamentos com dimensões e características que atendam os hábitos e necessidades de cada espécie e que promovam a segurança dos animais e dos técnicos, respeitando as especificações do Concea.	OB
Alojamentos que promovam o bem-estar dos animais, de acordo com as orientações do Concea.	OB
Fonte de água no interior da gaiola.	OB
Controle de temperatura, umidade, ciclos de luz e trocas de ar de acordo com as necessidades das espécies.	OB
Inspeção e registro diários das condições físicas e de bem-estar dos animais.	OB
Ambulatório e centro cirúrgico.	R
Enriquecimento ambiental.	R
Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB
Espécies a serem mantidas devem ser típicas da região de instalação do serpentário ou então de locais com características climáticas semelhantes, ou em ambientes que reproduzam o habitat natural da espécie.	OB
Fontes de calor artificiais em serpentários abertos.	OB
Fonte de água corrente ou frequência diária de troca de água para os animais do recinto.	OB
Ambientes abrigados da luz solar nos recintos dos animais.	R
Registro de higienização dos recintos dos animais.	OB
Registro da frequência da alimentação dos animais.	R
Manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Área de quarentena.	R
Identificação dos animais.	OB

Registro de Inspeção.	OB
Espaço reservado para os materiais de reposição utilizados na criação.	R
Área de higienização externa às salas de manutenção de animais.	R
Níveis de biossegurança das áreas da instalação de acordo com o risco biológico das atividades realizadas.	OB

Capítulo 8

Pequenos
ruminantes



COORDENADOR:

Marco Aurélio Delmondes Bomfim Embrapa Cocais

AUTORES:

Alice Andrioli Pinheiro Embrapa Caprinos e Ovinos

Iran Borges Universidade Federal de Minas Gerais

Marco Aurélio Delmondes Bomfim Embrapa Cocais

Silvia Helena Nogueira Turco Universidade Federal do Vale do São Francisco

Citação recomendada: PINHEIRO, A.A.; BORGES, I.; BOMFIM, M.A.D.; TURCO, S.H.N. (2023) Capítulo 8 - Pequenos Ruminantes. pp. 522-565. In: BOMFIM, M.A.D. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1^a ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	529
2. Modelos de caprinos e ovinos utilizados em pesquisa	530
3. Instalações	531
3.1. Instalações de criação	531
3.1.1. Sistemas extensivos	531
3.1.2. Sistemas Semi-intensivos e Intensivos	532
3.2. Instalações gerais de manejo	532
3.2.1. Instalações de engorda (confinamento)	532
3.2.2. Apriscos	533
3.2.3. Cercas para pequenos ruminantes	534
3.2.4. Baias para reprodutores	534
3.2.5. Sala de ordenha (incluindo sistema de ordenha e curral de espera)	535
3.2.6. Curral de manejo	535
3.2.6.1. Curral de espera	536
3.2.6.2. Seringa	536
3.2.6.3. Tronco coletivo	536
3.2.6.4. Tronco individual	537
3.2.6.5. Recepção e expedição de animais (embarcadouro)	537
3.2.6.6. Piso	537
3.2.6.7. Depósito de alimentos.	537
3.2.7. Equipamentos para as instalações	538
3.2.7.1. Bebedouros	538
3.2.7.2. Comedouros	539
3.2.7.3. Saleiros	539
3.3. Instalações para pesquisa e ensino	539
3.3.1. Área de contenção para animais geneticamente modificados	539
3.3.2. Área de procedimentos cirúrgicos e/ou enfermaria	540
3.4. Setor cirúrgico	540
3.4.1. Setor de internamento	540
3.4.2. Quarentenário	540
3.4.3. Setor de apoio	541
3.4.4. Setor auxiliar de diagnóstico	541
3.4.5. Equipamentos	541
3.4.6. Sala de necropsia	541
3.5. Área de gerenciamento de resíduos da pecuária	542
4. Procedimentos de manejo	543
4.1. Alimentação	543
4.1.1. Animais de cria (aleitamento materno, aleitamento artificial, concentrado, volumoso, pastagem, sal)	543
4.1.2. Animais de recria (animais pós-desmame)	543
4.1.3. Adultos (pastagem, concentrado, volumoso, sal)	544
4.1.5. Água	544

4.2. Higienização (camas, instalações, instrumentos de manejo, equipamentos de ordenha)	544
4.3. Contenção e imobilização (cordas/peia, cabresto, tronco)	545
5. Práticas de manejo	547
5.1. Ordenha	547
5.2. Controle de doenças	547
5.2.1. Vacinação	548
5.2.1.1. Vacina contra Clostridioses	548
5.2.1.2. Vacina Antirrábica	548
5.2.1.3. Vacina contra Linfadenite Caseosa	548
5.2.2. Imunização de crias	549
5.2.3. Enriquecimento ambiental	549
5.4. Transporte	549
6. Procedimentos experimentais	551
6.1. Administração de substâncias biológicas e farmacêuticas	551
6.1.1. Administração oral	551
6.1.2. Para a administração parenteral	551
6.1.3. Administração subcutânea (SC)	551
6.1.4. Administração Intramuscular (IM)	551
6.1.5. Administração intravenosa (IV)	552
6.1.6. Administração de substâncias comuns em nutrição animal	552
6.2. Colheita de materiais	552
6.2.1. Colheita de sangue	552
6.2.2. Colheita de fezes	553
7. Estudos em áreas específicas	554
7.1. Nutrição (fístulas, cangas, gaiolas metabólicas e câmaras respirométricas e climáticas)	554
7.2. Câmaras respirométricas	554
7.3. Câmaras climáticas e respirométricas	555
7.4. Gaiolas metabólicas	555
7.5. Doenças infecciosas ou parasitológicas	555
7.6. Reprodução e técnicas reprodutivas	556
7.6.1. Inseminação artificial (IA)	556
7.6.2. Coleta e transferência de embriões	557
8. Cuidados veterinários e cirurgias	558
8.1. Cuidados pré-operatórios:	558
8.2. Cuidados pós-operatórios:	558
8.3. Analgesia e Anestesia	558
8.4. Principais procedimentos cirúrgicos realizados em pequenos ruminantes	559
8.4.1. Orquiectomia	559
8.4.2. Ovariectomia	559
8.4.3. Descorna	560
8.4.4. Técnicas para preparo de rufião	560
9. Eutanásia	561
10. Necropsia e destino de carcaças	562
11. Referências bibliográficas	563
12. Critérios mínimos para instalações de Pequenos Ruminantes	564

PEQUENOS RUMINANTES

1. Introdução

As espécies *Capra hircus* (caprinos) e (ovinos), denominados de pequenos ruminantes, foram há milênios domesticados pelos humanos e são criados em diversos países, para a produção de carne, leite, pele, pelo e lã. Tem grande potencial econômico e produtivo, ao mesmo tempo em que desenvolvem um importante papel social em muitas regiões do mundo, repercutindo na segurança alimentar e na pobreza.

Os cuidados e manejo são frequentemente similares, porém o comportamento, tipo de pastoreio e algumas características fisiológicas os diferem. As cabras domésticas (*C. hircus*), provavelmente tiveram como ancestral a *Capra aegagrus*, originários da Ásia central que, devido ao seu hábito de pastoreio se desenvolvem em vários habitats terrestres, exceto nas tundras e desertos e habitats aquáticos.

São animais que preferem estar em grupos, pois são susceptíveis à predação. Estabelecem hierarquias entre si, por meio de confrontos, mas uma vez estabelecidos os membros dominantes, o grupo se harmoniza.

Caprinos e ovinos usam os cinco sentidos: visão, audição, olfato, paladar e tato. A visão, o olfato e audição são usados para comunicação entre si, enquanto que o toque é usado (cabeçadas) para determinar o status de dominância.

Os pequenos ruminantes são sensíveis à conduta humana e sofrem em casos de distresse, doenças e dor, apresentando emoções negativas como: medo, frustração, tédio, raiva, entre outras. Desta forma, a interferência das ações de pesquisa e ensino sobre o bem-estar dessas espécies deve ser minimizada ou até mesmo eliminada, garantindo o tratamento ético e humano.

Com esse propósito, é importante o acolhimento das recomendações aqui descritas por professores, pesquisadores, comissões de ética no uso de animais (CEUAs) e demais agentes envolvidos, de forma a garantir a integridade e o atendimento às necessidades básicas desses animais, interferindo de forma mínima no bem-estar animal e nos resultados de pesquisa.

2. Modelos de caprinos e ovinos utilizados em pesquisa

Estas espécies são utilizadas em pesquisa e ensino nas ciências veterinárias, zootécnicas, farmacêuticas e médicas. Como são animais criados para a produção de alimentos, as pesquisas e o ensino utilizando estes pequenos ruminantes são majoritariamente dirigidos para o avanço e aprimoramento das técnicas de manejo, nutrição, melhoramento, reprodução, sanidade e produção de leite, carne, pele e lã.

Além disso, os caprinos e ovinos, assim como outros animais de produção, têm contribuído recentemente, em avanços na área biomédica e cirúrgica, principalmente nas áreas da fisiologia e das tecnologias de reprodução assistida. Isto se deve a limitações a qual as pesquisas biomédicas se defrontaram no uso dos modelos experimentais tradicionais e pelo acesso ao genoma e as ferramentas de manipulação de genes dos animais de produção disponíveis na atualidade.

3. Instalações

3.1. Instalações de criação

As instalações devem ser planejadas de acordo com o tipo de atividade a ser executada (corte, leite, duplo-propósito, lã, fibra), número de animais a serem alojados, tipo de manejo, espaço disponível, condições climáticas predominantes, solo e topografia. Os sistemas devem garantir a segurança e o bem-estar, tanto do pessoal envolvido nas atividades quanto dos animais experimentais, garantindo que os animais estejam livres de fome e sede; de desconforto físico e térmico (temperatura, umidade, ventilação, iluminação e barulho); de dor, lesões e doenças; de medo e distresse e livres para expressar seu comportamento natural, exceto em casos aprovados pela CEUA. O pessoal deve ter treinamento, equipamento e experiência para trabalhar com a espécie.

3.1.1. Sistemas extensivos

No caso de sistemas extensivos, ou seja, onde os animais são mantidos a pasto, as estruturas de ensino ou pesquisa deverão ter disponíveis instalações simples, chamadas de abrigos, que serão utilizadas em momentos de condições climáticas intensas, como chuva e ventos fortes ou horários de maior elevação da temperatura em consequência da radiação solar, ou mesmo para segurança do rebanho durante a noite.

No pasto deve haver sombra para os animais nas horas mais quentes do dia, e os piquetes ter condições de drenagem, que possibilitem a redução do acúmulo de lama ou esterco durante os períodos de chuvas. Deverá haver controle de plantas tóxicas. A lotação do pasto deve estar de acordo com a quantidade de alimento fornecido.

Estas instalações devem ser construídas no sentido Leste-Oeste, para a maioria dos casos, ou Norte-Sul, quando empregar-se piso com camas ou naquelas regiões em que tal orientação assim o necessitar. Podem ser construídas de vários materiais, tais como: alvenaria, concreto armado, metálica, madeira ou combinações destas. A cobertura pode ser de palha, sombrite, fibrocimento, barro, ou outras telhas que mitiguem a ação dos elementos meteorológicos. O piso pode ser rústico (chão batido, areia grossa ou brita), com inclinação para fora das instalações facilitando a drenagem da água de chuva. Em instalações de piso de concreto utilizar drenos. Como referência, recomenda-se uma densidade

animal de no mínimo 0,60 e 0,30m² para animais adultos e suas crias, respectivamente, conforme espécie, raça e idade do animal a ser utilizado. Os animais não devem ficar confinados neste ambiente, que se destina a abrigá-los poucas horas do dia.

Nos abrigos e na área experimental de animais mantidos em pastagem, deverão ser disponibilizados bebedouros, com proteção para que os animais não entrem, evitando assim a contaminação da água. Todos os animais instalados no abrigo ou a pasto, deverão ter acesso à água de qualidade. Os bebedouros poderão ser distribuídos em cada baia ou até mesmo um bebedouro para duas baias, nas divisórias dentro do abrigo.

A limpeza das instalações, assim como bebedouro e comedouro, deve ser realizada com periodicidade suficiente para não haver acúmulo de fezes e sujeira. Assim como nas instalações, devem ser evitados quaisquer materiais perfurocortante (pregos, parafusos, arames farpados, entre outros), os quais podem machucar os animais. Quanto aos comedouros, poderão ser utilizados, de acordo com a finalidade, com uma recomendação de comprimento mínimo por animal de 0,25m linear, podendo ser maior conforme a raça dos animais (grande porte) e o tipo de dieta utilizado.

3.1.2. Sistemas Semi-intensivos e Intensivos

Nestes sistemas, os animais permanecem a maior parte do tempo nas instalações e, portanto, estas devem proporcionar um local adequado que garanta bem-estar e funcionalidade. Dentre as instalações utilizadas em sistemas intensivos de caprinos e ovinos, temos: apriscos, baias para reprodutores, sala de ordenha, setor de manejo e instalações para engorda.

3.2. Instalações gerais de manejo

3.2.1. Instalações de engorda (confinamento)

Devem ser simples, práticas, de fácil limpeza e de baixo custo. A área por animal confinado depende de seu porte, sugerindo-se no mínimo de 0,50 m² para animais de pequeno porte e no mínimo 0,60 a 0,70 m² para animais de grande porte. Estas dimensões devem ser maiores quando se tratar de animais destinados exclusivamente para pesquisa e que não se destinem a produção.

Nestas áreas, não devem ser computadas aquelas destinadas aos comedouros e/ou bebedouros. Estas instalações podem ou não ser cobertas (dependendo da época de uso – época chuvosa ou seca), ou parcialmente cobertas, quando fornecem cobertura na área do comedouro, mas sempre deve haver disponibilidade de uma área de abrigo do sol e chuva para todos os animais do recinto.

Para regiões quentes e secas sugere-se piso de chão batido com inclinação de 2%, para facilitar a limpeza das baias; para regiões com ocorrência de alta precipitação sugere-se piso de concreto, com caimento para os drenos. As divisórias deverão ser reforçadas e ter uma altura mínima recomendada de 1,20 m, podendo ser em alvenaria, madeira, cercas de metais e outros materiais. Devem ser evitadas cercas de arame farpado.

3.2.2. Apriscos

Os apriscos devem ser divididos em baias, onde os animais devem ser separados de acordo com as fases de criação: pré-gestação, gestação, maternidade com cria e em produção. Cada baia deve ser dimensionada pelo número de animais de cada fase e nível de produção.

Recomenda-se uma altura útil da instalação (pé-direito) de 2,50 m ou maior, permitindo melhor ventilação e diminuindo o acúmulo de umidade, a carga térmica, acúmulo de poeira, entre outros benefícios.

O piso do aprisco poderá ser escolhido entre o ripado e o sólido ou compacto. O piso ripado pode facilitar a limpeza, evitando o acúmulo de fezes nas baias. Como sugestão de espaçamento entre ripas, pode-se adotar 1,5 a 2,0 cm, para animais jovens e adultos e, para animais em fase de cria, essa distância pode ficar entre 1,0 e 1,5 cm. Nos pisos sólidos, poderá ser usado chão batido ou piso de concreto com drenos, atentando para a necessidade de cama para maior conforto animal. No caso de pisos compactos ou sólidos, ao contrário dos ripados, deverão ser regularmente limpos.

Assim como nos sistemas extensivos, estas instalações devem ser construídas, preferencialmente, no sentido Leste-Oeste, ou Norte-Sul quando empregar-se piso com camas ou naquelas regiões em que tal orientação assim o necessitar. E com beirais do tamanho adequado para diminuir a influência da radiação solar direta sobre os animais. Sugere-se que sejam utilizadas telhas ou outros materiais de boa qualidade térmica, ou seja, que não permitam transmitir muito calor para dentro do ambiente dos animais.

A utilização de solários deve ser levada em consideração para animais em confinamento, fornecendo melhor

conforto e enriquecimento ambiental. Sugere-se que as dimensões do solário sejam no mínimo o mesmo tamanho que a área confinada. Há espaço suficiente para se levantar, deitar, alongar e mover naturalmente, com adequado acesso à alimentação e água, oportunidade de se manterem razoavelmente secos e limpos e com contato visual com outros animais. Abaixo, nos Quadros 1 e 2 estão referências de tamanho animal e medidas de instalações.

Quadro 1: Tamanho dos animais para cálculo de instalações

Discriminação	Raça Pequena (m)	Raça Grande (m)
Altura	0,40 a 0,60	0,65 a 0,80
Comprimento	0,70 a 0,85	0,90 a 1,20

Fonte: Sales, L.S., 1978

Quadro 2: Instalações para ovinos – medidas

Animais	Raça Pequena (m ²)	Raça Grande (m ²)
Adulto	0,50 a 0,60	0,70 a 0,90
Fêmea e cria	1,00 a 1,20	1,40 a 1,80
Animais em crescimento	0,40 a 0,50	0,55 a 0,75
Reprodutor	1,50 a 1,80	2,10 a 2,70

Fonte: Sales, L.S., 1978

3.2.3. Cercas para pequenos ruminantes

As cercas podem ser construídas de uma gama muito ampla de materiais - madeiras, arames lisos, bambus, cercas vivas, telas metálicas, telas plásticas e cercas elétricas, dentre outros. Sugere-se a não utilização de arame farpado, pela possibilidade de causar lesões aos animais. Na construção das cercas, recomenda-se atenção na colocação de pregos, parafusos e pontas soltas de arames, dentre outros, pelo risco de estes ferirem os animais.

3.2.4. Baias para reprodutores

Para um bom controle do rebanho, aconselha-se que as baias dos reprodutores sejam afastadas do aprisco do

rebanho geral. Também devem ter uma área coberta e outra de solário, aberta, para permitir o exercício. Recomenda-se que a área coberta deva ter um pé-direito de no mínimo 2,50m e pode ser de piso compacto, ripado ou parcialmente ripado, onde se colocaria a parte ripada no fundo da baía próximo ao bebedouro. Como referência, as baias individuais devem ter, no mínimo, 2,00 m² de área. Sugere-se para a área de exercício e solário uma área de 4,00 m². O material de cobertura do telhado deve proporcionar um ambiente térmico adequado ao desenvolvimento do animal.

3.2.5. Sala de ordenha (incluindo sistema de ordenha e curral de espera)

A instalação poderá ser construída de vários tipos de materiais, como: madeira, alvenaria, metálica, concreto, ou o misto destes. Devem ser construídas em lugar arejado e com boa drenagem. Também, devem-se considerar as dimensões para cabras leiteiras, que podem variar conforme a raça, o comprimento de 69 a 97 cm, a altura, de 70 a 93 cm e a largura, de 26 a 40 cm, para o dimensionamento correto dessa instalação. As cabras devem estar a uma altura que facilite a higiene do úbere e a ordenha; para isso recomenda-se uma plataforma, a uma altura de 95 cm do solo, permitindo uma manipulação mais adequada do úbere do animal. Esta plataforma poderá ser feita de madeira, metal ou mesmo em alvenaria. Como referência, sua largura pode ser de 40 cm, o que representa a largura média de uma cabra. Nas extremidades da plataforma, devem ficar as rampas de subida e descida.

As rampas deverão ser projetadas para que, mesmo úmidas, não se tornem escorregadias para que as cabras não sofram riscos de lesões, sendo que a prática de fazer arranhuras no concreto ou mesmo a colocação de pequenas ripas nas rampas de madeira já é suficiente.

Essa plataforma poderá ser construída apoiada nas paredes externas da instalação. Sugere-se revesti-la com material impermeável, já que as lavagens serão frequentes, para facilitar a limpeza. Com essa plataforma, poderá ser usada ordenha tipo balde ao pé ou mesmo mecanizada.

3.2.6. Curral de manejo

Este setor deve ser dimensionado para diversas atividades tais como: pesagem, vermifugação, marcação, separação dentre outros, tanto do manejo geral quanto da coleta de dados e amostras dedicados à experimentação ou ao ensino. O setor de manejo usualmente inclui, principalmente, currais de espera, seringa, tronco coletivo, brete ou tronco

de contenção, balança e embarcadouro. O terreno da área de manejo deverá ter topografia plana ou levemente inclinada, permitindo boa drenagem, para permitir rápida secagem após chuva ou manejo dos animais.

3.2.6.1. Curral de espera

Para ovinos e caprinos, a referência para área útil nos currais de espera é de 0,8 a 1,0 m². Esta instalação deve possuir porteiros de entrada e de saída, para a seringa, cuja referência é de 1,20 m de largura e 1,20 m de altura. O curral poderá ser de madeira ou mesmo cordoalha de aço, ou outro material que não proporcione lesões nos animais. Nunca devem ser colocados nesses currais mais animais em relação ao que foi dimensionado, pois nestes casos, as ocorrências de brigas e machucados nos animais são altas.

3.2.6.2. Seringa

Esta instalação tem a finalidade de encaminhar os animais ao tronco coletivo e/ou embarcadouro e, deve ser projetada para facilitar o manejo e não lesionar os animais. Podem também serem feitos em curvas com porteira e cercas de réguas justapostas (sem espaçamento), o que leva o animal a ver o tronco como única saída. Sugere-se que as laterais da seringa tenham altura mínima de 1,20 m e sejam totalmente fechadas.

3.2.6.3. Tronco coletivo

Tem a finalidade de encaminhar os animais para o tronco de contenção individual e balança. Sugere-se que o tronco também seja construído em curva e com laterais totalmente fechadas. Os troncos podem ter uma seção retangular (lados retos) ou trapezoidal (lados inclinados - metade ou inteiros). Sugere-se que as medidas para facilitar o manejo dos animais sejam: 50 cm de largura superior; 35 cm de largura inferior (caso for utilizado modelo trapezoidal); altura de 0,80 a 1,20 m; comprimento que varie de 5 a 11 m.

3.2.6.4. Tronco individual

Tem a finalidade de realizar a contenção individual de animais para efetuar práticas de manejo, clínicas e/ou cirúrgicas. Suas medidas podem ser as mesmas do tronco coletivo, exceto para o comprimento que varia entre 1,00 a 1,40m. Admite-se tronco individual de inversão com a finalidade de proporcionar melhor contenção animal e facilidade nas práticas de manejo.

3.2.6.5. Recepção e expedição de animais (embarcadouro)

Trata-se de um conjunto que visa facilitar o embarque e desembarque dos animais, sugere-se as dimensões: em torno de 70 cm de largura com rampa de comprimento de 4 m e laterais com altura de 1,20 m totalmente fechadas. A extremidade de acesso ao transporte deve estar a uma altura de 2,0 m do solo, o que facilita a entrada e saída dos animais dos sistemas de transporte. No final do embarcadouro, em contato com o caminhão, sugere-se a construção de uma plataforma plana de 80 cm que facilita a entrada dos animais.

3.2.6.6. Piso

Em muitas regiões, onde há pouca ocorrência de chuva, poderão ser de chão batido, mas, se for uma região onde haja ocorrência de alta precipitação, o melhor piso é o concreto, projetado com frisos para os animais não deslizarem.

3.2.6.7. Depósito de alimentos.

Toda área das instalações destinada ao armazenamento de alimentos ou rações deve possuir iluminação natural, ventilação adequada, permitindo que o local permaneça seco. Deve-se empregar artefatos ou instrumentos protetores quanto à invasão de animais alheios à criação/experimentação, e que sejam capazes de contaminar a matéria prima destinada à alimentação dos animais. Recomenda-se o emprego de tambores ou similares para a estocagem de alimentos em grãos, farináceos e líquidos, bem como rações processadas de todos os tipos. Alimentos e forração

devem ser armazenados em estrados, pallets ou estantes, de modo que não haja contato com o piso ou paredes.

3.2.7. Equipamentos para as instalações

3.2.7.1. Bebedouros

Os bebedouros devem estar presentes em todas as instalações e nos pastos. Eles devem fornecer água no volume necessário, com qualidade e serem dimensionados para o período de maior consumo (meses mais quentes), atendendo o número máximo de animais por baia e para o tipo de alimentação que será fornecida.

O bebedouro pode ser feito de diversos modelos, desde os mais rústicos, de materiais reciclados, como tambores plásticos, pneus velhos etc, de caixa de concreto com boia ou mesmo do tipo *nipple* ou tipo concha, automáticos. Pode-se utilizar também bebedouros móveis, podendo ser de plásticos (baldes) ou outros materiais, como borracha. O importante é que seja fornecida a quantidade necessária diária de água, com qualidade. Recomenda-se que os bebedouros sejam localizados na parte externa das instalações e sejam supervisionados constantemente para não comprometer o perfeito fornecimento de água aos animais. Na Tabela 1 é apresentada a área necessária por animal no bebedouro. Sugere-se que o bebedouro fique a uma altura de 20 a 25 cm do chão e possua algum sistema de proteção, evitando assim contaminações.

Tabela 1: Recomendações de área de bebedouros e exigência de água para caprinos e ovinos

Item	Reprodutores	Ovelhas		Cabritos	Cordeiros
		Gestantes	Lactantes		
Número de animais por m linear de bebedouro	15	45 - 60	45 - 60	70	-
Número de animais por <i>nipple</i> ou concha	10	40 - 50	40 - 60	-	50 - 75
Litros necessários por dia	7,5-11,3	7, 5 - 11,	11,4	0,4-1,1	5,7

Fonte: Ross (1989)

3.2.7.2. Comedouros

Os comedouros devem ser dimensionados conforme a idade dos animais, tipo de alimentação, número de animais por lote, presença ou não de chifres. O tipo de material a ser empregado, é bastante versátil podendo ser: madeira, bombona, cano de policloroeteno (PVC), folha galvanizada etc. O comedouro deve fornecer espaço suficiente para que todos os animais do lote se alimentem ao mesmo tempo, salvo em experimentos de estudo de comportamento. A limpeza frequente dos cochos, é importante para manter a sanidade dos animais.

3.2.7.3. Saleiros

Os saleiros podem ser de madeira, alvenaria, pneu, bombona de plástico ou qualquer outro material, desde que seja funcional e adequado à altura correta para cada categoria animal. Deve-se atentar à reposição do sal mineral aos saleiros e assegurar o fornecimento contínuo aos animais.

3.3. Instalações para pesquisa e ensino

As instalações a serem utilizadas para fins de ensino ou pesquisa devem proporcionar um ambiente adequado aos animais, garantindo bem-estar, saúde, minimizando a competição social. O dimensionamento das instalações deve estar de acordo com a densidade animal, funcionalidade das instalações, manejo e condições climáticas locais.

As instalações poderão ser tanto as do sistema extensivo, quanto intensivo de produção de pequenos ruminantes, ou mesmo em sistemas mistos.

3.3.1. Área de contenção para animais geneticamente modificados

Quando necessário, uma instalação específica deverá ser preparada para alojar estes animais, desde que a sua presença possa impor riscos à população geneticamente normal da mesma espécie ou de outras. A entrada das instalações é mantida trancada, sendo o acesso restrito às pessoas credenciadas.

3.3.2. Área de procedimentos cirúrgicos e/ou enfermagem

As condições para o funcionamento de estabelecimentos médicos veterinários, incluindo as instalações destinadas às cirurgias, setor de internamento, diagnóstico, sala de necropsia, dentre outras devem sempre levar em consideração o tipo de uso, o grau de invasividade e complexidade dos procedimentos. Algumas recomendações são feitas a seguir, como referência:

3.4. Setor cirúrgico

Correspondem às áreas: de preparo do paciente; sala de antissepsia com pias de higienização; sala de esterilização de materiais, unidade de recuperação intensiva e sala de cirurgia. Recomenda-se que a sala cirúrgica deva ter: mesa cirúrgica impermeável de fácil higienização, equipamento de oxigenoterapia e anestesia inalatória, sistema de iluminação emergencial própria e mesas auxiliares. Esta configuração da sala de cirurgia deve ser ajustada, a depender dos procedimentos a serem executados.

3.4.1. Setor de internamento

Este setor se constitui de baias, boxes ou outras acomodações individuais e de isolamento compatíveis para ovinos e caprinos, de fácil higienização e obedecidas as normas sanitárias municipais e/ou estaduais. Deve ter um local de isolamento para animais com doenças infectocontagiosas. Recomenda-se que a área projetada para este setor seja suficiente para receber até 5% do plantel existente.

3.4.2. Quarentenário

Área reservada e obrigatória para abrigar animais a serem introduzidos ou reintroduzidos ao rebanho (animais adquiridos ou que foram à outras instituições para realizar exames, dentre outras ações), visando prevenir a entrada de enfermidades. Os animais devem permanecer 40 dias nesta área e serem submetidos aos exames clínicos, testes de diagnóstico, vacinações e vermifugações. A instalação deve ser isolada das demais, com pé direito maior que 2,5 m e

uma área entre 4 e 5 m² /animal.

3.4.3. Setor de apoio

Sugere-se uma configuração contendo: lavanderia, local para preparo de alimentos, depósito/almojarifado, instalações para repouso de plantonistas, sanitários/vestiários compatíveis com o número de funcionários e setor de estocagem de medicamentos e drogas. Os produtos químicos e medicamentos para uso animal devem ser estocados em local apropriado, com condições controladas de temperatura e ventilação. O acondicionamento e o descarte dos produtos, e de suas embalagens, devem ser realizados de forma segura, a fim de evitar sua utilização inapropriada, ou a contaminação de indivíduos, alimentos e ambiente. O prazo de validade deve ser periodicamente observado.

Sugere-se um existe um manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) com procedimentos de rotina bem como instruções sobre alojamento, manejo, manuseio, contenção, biometodologia e cuidados médicos veterinários dos animais.

3.4.4. Setor auxiliar de diagnóstico

Recomenda-se que haja serviço de diagnóstico por imagens e análises clínicas, sejam estes próprios, convenientes ou terceirizados, obedecendo às normas para instalação e funcionamento da Secretaria de Saúde do Município ou Estado, desde que as prestadoras atendam à Legislação em vigor.

3.4.5. Equipamentos

Apropriados para manutenção de vacinas, antígenos e outros produtos biológicos e estufas de secagem e esterilização de materiais.

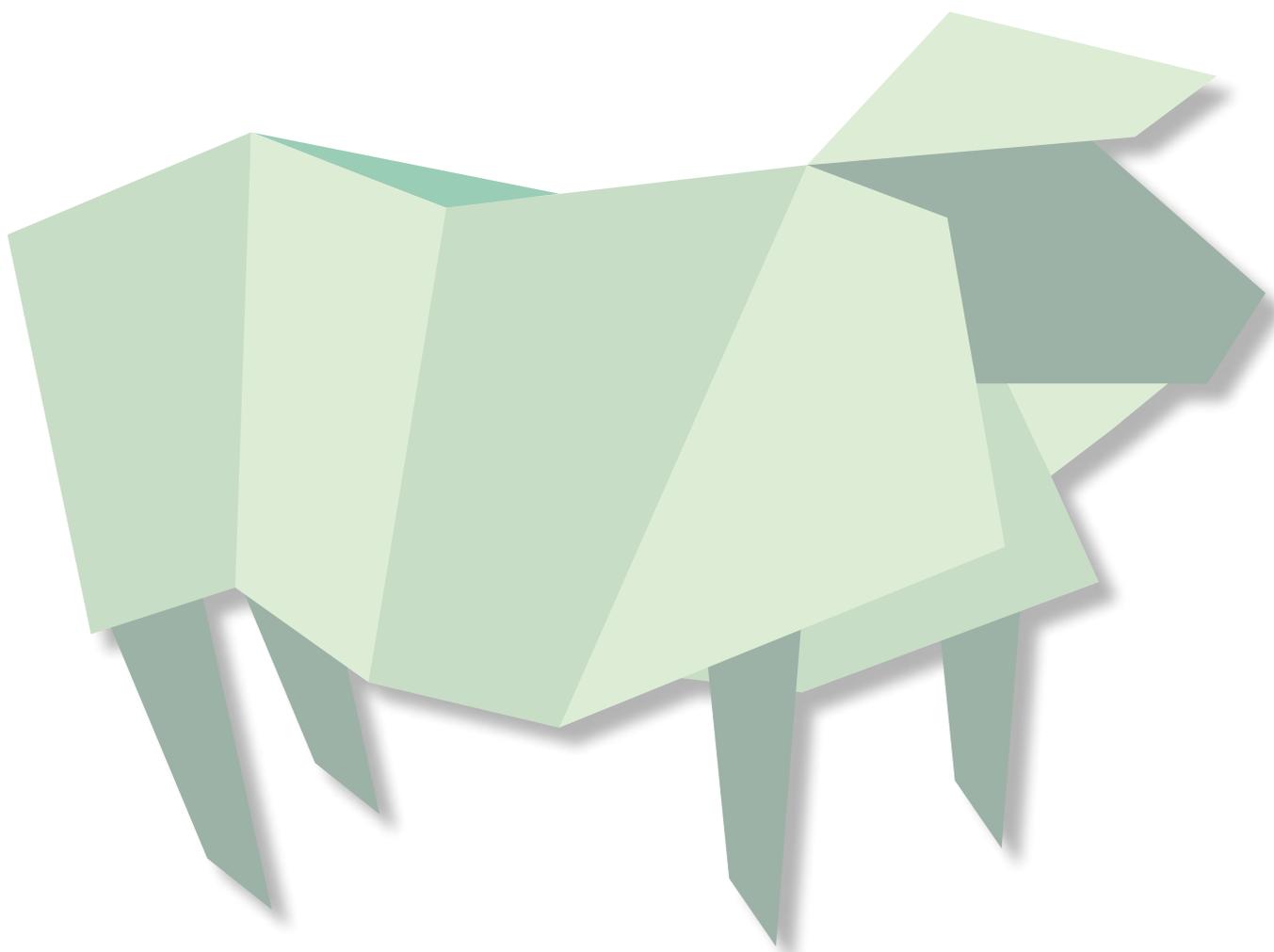
3.4.6. Sala de necropsia

Recomenda-se observar as dimensões mínimas para conter uma bancada em inox com cuba e torneira de ala-

vanca ou pedal, mesa de necropsia de inox com instalações hidráulicas adequadas, canaletas para resíduos de lavagem de ambientes. Boa ventilação natural e ralos sifonados, piso lavável, antiderrapante e impermeável e parede lisa, lavável, impermeável até o forro.

3.5. Área de gerenciamento de resíduos da pecuária

Destinada para armazenar adequadamente as carcaças de animais e restos orgânicos da necropsia, o qual deverá ter: câmara fria ou congelador horizontal, uma saída diretamente para o exterior, piso lavável, antiderrapante e impermeável e parede lisa, lavável, impermeável até o forro. Deve existir um plano de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde de acordo com a legislação vigente.



4. Procedimentos de manejo

4.1. Alimentação

4.1.1. Animais de cria (aleitamento materno, aleitamento artificial, concentrado, volumoso, pastagem, sal)

É possível trabalhar com sistemas de crias ao pé da fêmea, empregando-se técnicas de suplementação usando *creep feeding*, *creep grazing* ou similares. É livre a adoção de manejo de mamada, onde as crias sejam apresentadas às suas mães pelo menos duas vezes ao dia. Nesse caso, as crias ficarão em instalação específica recebendo água de qualidade à vontade, suplementação energética e proteica, mistura mineral adequada à categoria, oferta de volumoso se necessário. Também pode ser adotado o aleitamento artificial, onde as crias são separadas das fêmeas após o nascimento, recebendo colostro e leite em mamadeiras individuais ou coletivas, além de suplementação volumosa e concentrada.

4.1.2. Animais de recria (animais pós-desmame)

Podem ser criados em sistemas que envolvam apenas pastagens, pastagens com suplementação ou totalmente confinados. O importante é o fornecimento de água de qualidade à vontade, e o estabelecimento de planos alimentares que garantam o atendimento das suas exigências nutricionais. Pesquisas que envolvam restrição nutricional ou alimentar devem obter a aprovação junto aos órgãos institucionais específicos, lembrando-se que há técnicas experimentais que requerem tais restrições parciais ou mesmo períodos de jejum, o que não impede a execução experimental, uma vez atendidas as condições dos comitês de éticas locais. Alimentos ou rações que contenham princípios antinutricionais em sua composição original podem ser empregados em formulações de rações experimentais, respeitadas as garantias de saúde e bem-estar animal em função de sua limitada participação na confecção das rações.

4.1.3. Adultos (pastagem, concentrado, volumoso, sal)

Podem ser criados em sistemas que envolvam apenas pastagens, pastagens com suplementação ou totalmente confinados. O importante é o fornecimento de água de qualidade à vontade e estarem submetidos a planos alimentares que atendam suas exigências nutricionais. Para animais mantidos em confinamento, é importante atentar para o fornecimento de volumosos em quantidade e em qualidade que garanta boa nutrição e nível de fibra adequado à saúde ruminal, recomendando-se um nível mínimo de 20% de fibra fisicamente efetiva. Pesquisas que envolvam restrição nutricional ou alimentar devem obter a aprovação junto aos órgãos institucionais específicos, lembrando-se que há técnicas experimentais que requerem tais restrições parciais ou mesmo períodos de jejum, o que não impede a execução experimental, uma vez atendidas as condições dos comitês de ética locais. O emprego de alimentos ou rações que contenham princípios antinutricionais em sua composição original pode ser empregado em formulações de rações experimentais, respeitadas as garantias de saúde e bem-estar animal em função de sua limitada participação na confecção das rações.

4.1.5. Água

É obrigatório o fornecimento de água de qualidade (química e microbiológica) em quantidade suficiente para dessedentação de todos os animais do rebanho ou do ensaio experimental, para tal é fundamental o emprego de caixas de recalque ou outro tipo de reservatório, que possa garantir o suprimento adequado. A Tabela 1 apresenta referências da quantidade de água a ser oferecida.

4.2. Higienização (camas, instalações, instrumentos de manejo, equipamentos de ordenha)

A higienização de instalação com cama, deve ser garantida com o uso de material absorvente, que deve ser repostado, periodicamente, de acordo com necessidade (saturação da cama). Para as baias com piso de chão batido, o processo de varrição diário é o mais recomendado, muito embora seja aceitável ter o processo realizado a cada dois dias ou mais, dependendo da lotação animal. Já instalações providas piso de ripado é aconselhável empregar a vas-

soura de fogo sempre que necessário, acompanhado ou não da raspagem de fezes amolecidas e emplastadas entre as ripas. Sempre que houver ocorrência de surto de doença infectocontagiosa, canzils, comedouros e bebedouros deverão ser higienizados e desinfetados, ou toda vez que houve um vazio sanitário entre um experimento e outro, visando o controle e não proliferação da mesma para outros animais. Todo equipamento de ordenha ou instrumental ligado às práticas zootécnicas diárias ou pontuais com no caso da reprodução, pequenas cirurgias, entre outras, deverão seguir preceitos de higienização já conhecidas e recomendadas para cada procedimento.

4.3. Contenção e imobilização (cordas/peia, cabresto, tronco)

A contenção física do animal é utilizada para restringir seus movimentos, parciais ou totais. Se faz necessária para a realização de procedimentos como: exames clínicos, tratamentos ou administração de fármacos, coletas de amostras, cirurgias, atividades zootécnicas, dentre outras. Qualquer que seja o método de contenção utilizado, este deve garantir a segurança do animal e do técnico.

O estresse da captura e da contenção é inevitável, assim deve ser realizada por técnico treinado e ocorrer no menor tempo possível, evitando movimentos desnecessariamente ríspidos ou intensos. O estresse do animal irá variar em intensidade de acordo o método utilizado e com as características do animal - espécie, a raça, a idade, o sexo, o temperamento, as condições físicas e psicológicas dos animais e o grau de familiaridade do animal com o manejo. O local onde será realizada a contenção deve ser livre de pedras e outros materiais que possam causar ferimentos, principalmente se for em decúbito.

Para a contenção física podem ser utilizados cabrestos, cordas, maca ou brete. Não se aconselha segurar os animais pelo chifre, lã, orelha ou rabo, pois além da dor provocada há a possibilidade de causar lesões. Deve-se evitar reunir animais de lotes diferentes no momento do manejo, para evitar brigas e estresse.

Para a contenção dos animais que estão em curral ou baias, o técnico e um auxiliar (se necessário), devem ir lentamente se aproximando e encurralando os animais. Se possível o técnico deve-se posicionar por trás do animal (no seu ponto cego) e quando este estiver ao alcance da mão, deve-se contê-lo cuidadosa e firmemente pela articulação do jarrete. Logo em seguida, posicionar a outra mão na frente do peito do animal.

Uma vez seguro pode-se colocar o cabresto ou um laço no pescoço do animal e adaptar ou não uma corda guia, para facilitar a sua condução. O laço deve ser amarrado deixando de dois a três dedos de espaço entre o laço e o pes-

coço.

Os procedimentos podem ser realizados com o animal em estação ou em decúbito. Em estação, os animais podem ser contidos no canzil, tronco ou entre as pernas do técnico, na região do externo logo após os membros anteriores. Ao mesmo tempo, o técnico deve segurar a cabeça do animal com as mãos. Esta forma de contenção é ideal para a coleta de sangue da jugular, sendo que o técnico deve levantar cuidadosamente a cabeça do animal segurando abaixo da mandíbula.

Quando for necessária a contenção em decúbito, é importante todo cuidado ao deitar o animal, evitando traumas físicos e estresse. É importante evitar o decúbito lateral esquerdo, pois comprime o rúmen e ocasiona problemas, caso a imobilização seja demorada. Uma vez em decúbito lateral, pode-se apoiar, sem pressionar, sobre o animal, até imobilizar os membros com o auxílio de um ajudante ou por corda.

Contenção animal em decúbito dorsal é feito em maca, especialmente projetada para pequenos ruminantes. É geralmente utilizada em cirurgias e para técnicas reprodutivas. O animal pode ser sedado em estação e então dois operadores, seguram firmemente os membros anteriores e posteriores do animal e o colocam em decúbito dorsal sobre a maca. Em seguida, os quatro membros são amarrados na maca com cordas ou tiras de borracha. O procedimento pode ser realizado com a maca na horizontal ou inclinada em ângulo de até 45 graus, mantendo o animal de cabeça no nível mais baixo, o que favorece as cirurgias na região pélvica.

Os caprinos também podem ser contidos em estação bipedal (membros torácicos) para realizar a inseminação artificial. Nesta postura, o técnico posiciona o animal em sua frente, prendendo o seu pescoço entre as pernas, então deve-se segurar firmemente os membros posteriores pelo jarrete e levantá-lo mantendo-o com os membros anteriores fixos ao chão, e aproximar o corpo do animal junto ao seu.

Animais jovens devem ser pegos com as duas mãos pelo tórax e nunca serem suspensos pelos membros. Para a contenção de animais jovens, o técnico deve posicionar o seu braço entre os membros anteriores do cordeiro ou cabrito, a cabeça pode ser mantida, sob a axila do mesmo braço, utilizado para segurar o animal, com leve pressão. Os jovens também podem ser contidos em decúbito lateral e dorsal.

5. Práticas de manejo

5.1. Ordenha

A ordenha deve ser realizada, preferencialmente, em salas de ordenha, ou se utilizando plataformas de ordenhas em estruturas fixas ou móveis. Admite-se, excepcionalmente, para fins de ensaios experimentais pontuais ou mesmo sob condições emergenciais, que se proceda a ordenha nas baias com balde ao pé. Todos os procedimentos higiênicos sanitários antes e depois da ordenha devem ser obedecidos para que não se comprometa a saúde dos animais ordenhados e dos ordenhadores, assim como também preservar a qualidade do leite obtido. A ordenha deve ser completa, de forma a não deixar leite residual, que pode levar a comprometimento da saúde da glândula mamária.

5.2. Controle de doenças

A incidência e a prevalência de enfermidades dos pequenos ruminantes na região, servem de guia para delinear um programa preventivo de controle para estes animais assegurando a saúde e o bem-estar.

A familiaridade com o comportamento dos ovinos e caprinos facilitam a identificação rápida de variações de comportamento que podem servir de alerta para quadro de doença e dor. É fundamental, para o bem-estar dos caprinos e ovinos, a observação de sinais de alerta, tais como: tristeza, isolamento do rebanho, perda de peso, postura do animal, sensibilidade ao toque, pelos arrepiados e sem brilho, falta ou redução do apetite, apetite depravado (como ingerir areia, plástico...), fezes pastosas ou diarreicas, urina de coloração escura, vermelha e com cheiro diferente, cicatrizes, infertilidade, claudicação, tosse, gemidos ou berros, corrimentos (nasal, ocular, vaginal), alteração na curva de crescimento/desenvolvimento, dentre outros.

Portanto, é importante o monitoramento periódico dos animais, sendo que a frequência dependerá de fatores como: tipo de alojamento, época de parição, presença de predadores na região, introdução de novos membros em um grupo, e em eventos climáticos adversos. Outro ponto fundamental é o diagnóstico precoce das enfermidades, evitando o desenvolvimento das doenças e o aparecimento de sintomas, o que conseqüentemente reduz a dor e o sofrimento pelo animal.

O biotério deve ter um programa de controle de parasitas externos (ectoparasitas) e internos (endoparasitas), estabelecido pelo médico veterinário da instituição. Porém, sugere-se a associação de métodos de diagnóstico como o Famacha e exames de fezes e o uso de medicamentos.

5.2.1. Vacinação

As vacinas conferem imunidade ao animal contra as doenças, portanto, são importantes na medicina veterinária preventiva. As recomendações de vacinação podem ser específicas para cada região, cabendo ao médico veterinário responsável do biotério estabelecer um calendário de vacinação. Porém as vacinas mais utilizadas em pequenos ruminantes são as que conferem imunidade às seguintes doenças: Clostridioses, Raiva e Linfadenite Caseosa.

5.2.1.1. Vacina contra Clostridioses

Manter a vacinação frequente no rebanho, sendo que as fêmeas gestantes devem receber revacinação anual 30 dias antes do parto. Crias de mães vacinadas devem ser vacinadas aos três meses de idade, com dose de reforço após 30 dias, e revacinação anual. Crias de mães não vacinadas, devem ser vacinadas aos 30 dias de idade, com dose de reforço após 30 dias, e revacinação anual.

5.2.1.2. Vacina Antirrábica

A vacina deverá ser utilizada em áreas onde ocorre a doença e onde for confirmada a presença de colônias permanentes de morcegos hematófagos. Vacinar todos animais com idade acima de três meses, com dose de reforço após 30 dias, e revacinação anual.

5.2.1.3. Vacina contra Linfadenite Caseosa

As vacinas disponíveis no mercado não garantem proteção total contra a formação de abscessos, mas pode haver redução do número de lesões. Para os caprinos, a resposta é ainda menos efetiva. A vacinação de cabritos e

borregos deve ser feita a partir dos três meses de idade, com segunda dose após três ou quatro semanas (dependendo do produto), e reforço anual após as duas doses básicas. Em adultos não vacinados, deve-se aplicar duas doses, com intervalo de 30 dias, e revacinar anualmente.

5.2.2. Imunização de crias

Cabritos e cordeiros devem ingerir o colostro nas primeiras 48 horas após o nascimento, pois nestas espécies não há passagem de anticorpos pela placenta, sendo importante que esta transferência ocorra pela via digestiva, conferindo aos neonatos imunidade passiva às enfermidades. Portanto, a vacinação de cabras e ovelhas no terço final da gestação também garante a proteção das crias, nas primeiras semanas de vida.

5.2.3. Enriquecimento ambiental

Pequenos ruminantes, em especial os caprinos, são animais curiosos e gostam de explorar o ambiente, de forma que respondem bem ao enriquecimento ambiental, o qual pode ser: pneus pendurados por cordas; caixotes ou outros objetos ou estruturas que possam ser escaladas pelos animais, escovas entre outros. Esses animais, também têm uma hierarquia bem definida no grupo, de forma que não se deve mudar constantemente os animais de lotes diferentes, pois a cada mudança haverá disputa para definições da posição hierárquica dos novatos no grupo, o que leva a estresse, alteração na ingestão de alimentos e queda de imunidade. Por outro lado, caprinos e ovinos, são animais extremamente gregários, sendo que o isolamento de um animal é muito estressante e só deve ser realizado em casos específicos e por menor tempo possível.

5.4. Transporte

Muitas são as consequências de uma qualidade ruim no transporte de animais, podendo causar estresse físico, psicológico e fisiológico como também contusões, perda de peso e até morte. São vários os meios de transporte que podem ser utilizados para o transporte de pequenos ruminantes: caminhões, barcos, caminhonetes, vagões, em carreta de reboque e até aviões. Todos os meios de transporte devem proporcionar segurança e ausência de estruturas que

possam provocar injúrias.

Recomenda-se, quando possível, a utilização de divisórias internas (podendo ser de madeira ou outro material que não provoque contusões ou machucados) para minimizar riscos de esmagamentos ou quedas com rolamentos de animais em eventuais processos de frenagens ou manobras bruscas com o veículo de transporte.

O transporte deve ter laterais altas, fortes e seguras para impedir que os animais saiam ou caiam fora do veículo. O piso do veículo não pode ser escorregadio. Evitar cantos com arestas, parafusos salientes, protuberância com pontas que possam machucar os animais. Uma boa ventilação na carroceria deve ser garantida, com o veículo em movimento ou quando estacionado.

Segundo vários autores, os ovinos tendem a deitar apenas durante o transporte em longas distâncias, sugere-se, portanto, que em viagens longas com mais de quatro horas, todos os animais deverão ser capazes de deitar. Uma referência para área, seria 0,27 m², como área mínima para que um ovino, pesando 35 kg, possa deitar em um veículo, em viagens longas.

6. Procedimentos experimentais

6.1. Administração de substâncias biológicas e farmacêuticas

6.1.1. Administração oral

Na administração via oral (VO) de fármacos utiliza-se pistolas dosadoras ou seringas descartáveis (sem agulha). Estando o animal em estação, o técnico deve segurar a mandíbula e elevar a cabeça do animal. A seringa ou o bico da pistola é colocada na comissura labial e o fluxo do líquido é direcionado para a cavidade oral, observando a deglutição. Caso o animal comece a tossir ou mostrar sinal de desconforto, deve-se liberar e abaixar a cabeça do animal. Deve-se ter cuidado para evitar pneumonia por aspiração ou traumas da região oral.

6.1.2. Para a administração parenteral

Como sugestão, utilizar agulhas de tamanho 0,8mm X 25mm, para aplicações via Intramuscular (IM), subcutânea (SC) ou intravenosa (IV) em animais adultos. Para cabritos e cordeiros sugere-se agulhas 0,7mm X 25mm também para estas vias.

6.1.3. Administração subcutânea (SC)

A administração subcutânea é realizada na região torácica, por ter a pele mais frouxa. A pele deve ser levantada com os dedos polegar e indicador e a agulha inserida nesta prega.

6.1.4. Administração Intramuscular (IM)

Recomenda-se os músculos semimembranoso e semitendinoso, não se deve administrar mais que 5mL por músculo. Os músculos do pescoço e o tríceps podem ser utilizados para volumes menores. Deve-se conter o animal na

estação, fazer a assepsia e inserir a agulha, perpendicularmente. Aspirar (puxar o êmbolo da seringa), para certificar que nenhum vaso sanguíneo foi atingido. Após a aplicação, remove-se a agulha, realiza-se uma massagem no local.

6.1.5. Administração intravenosa (IV)

A administração geralmente é feita na veia jugular com o animal em estação. Um auxiliar deve segurar a mandíbula e elevar a cabeça do animal lateralmente. A veia após ser identificada e feito a assepsia da pele, é perfurada com a agulha com o bisel voltado para cima, em um ângulo ao redor de 30 graus em relação a pele, aspire para confirmar o acesso à veia e então administre o líquido com cautela. Remova a agulha e pressione a região por alguns segundos para não formar hematomas.

6.1.6. Administração de substâncias comuns em nutrição animal

É possível o emprego de substâncias indicadoras de fluxo de sólidos e líquidos no trato gastrointestinal sem qualquer restrição, tendo em vista que tais marcadores não representam perigo à saúde animal, pois as mesmas são estáveis, não digeríveis e inócuas por sua própria definição e origem. Todo marcador radioativo deve ter aprovação específica junto a órgãos homologados junto à Comissão Nacional de Energia Nuclear. Substâncias que possuem efeito aditivo, seja qual for a classificação pelo MAPA, também estão livres de uso em pesquisas nacionais com pequenos ruminantes; outras substâncias, como modificadores orgânicos, antibióticos não registrados pela ANVISA, ou drogas diversas com essa ausência de registro, requerem aprovação prévia pelos órgãos competentes.

6.2. Colheita de materiais

6.2.1. Colheita de sangue

Utiliza-se preferencialmente a venopunção da jugular utilizando agulha 1,2mm x 25mm e um tubo a vácuo, ou seringa. Deve-se fazer a assepsia da área com álcool isopropílico a 70% ou outro antisséptico, conter o animal em estação e segurar a cabeça para o lado, o caprino pode ser acudado em uma parede ou montado, a cabeça é levantada pela

mandíbula e levemente virada para o lado, a veia é palpada no terço inferior do pescoço, e inserindo a agulha com bisel para cima a um ângulo próximo a 30 graus com a pele, paralelamente a jugular e então se segue a coleta. Ao retirar a agulha, deve-se fazer uma leve pressão com algodão embebido em álcool para estancar o sangue.

6.2.2. Colheita de fezes

Após a contenção do animal em estação, o técnico com luva de procedimento introduz o dedo indicador lubrificado no ânus do animal, e delicadamente recolhe as sítulas de fezes. Deve ter cuidado para não causar traumatismos nos animais, principalmente em jovens.

7. Estudos em áreas específicas

7.1. Nutrição (fístulas, cangas, gaiolas metabólicas e câmaras respirométricas e climáticas)

A realização de cirurgias para obtenção de fístulas e colocação de cânulas deve ser desencorajada quando existirem métodos alternativos, se necessárias devem ser plenamente justificadas, aprovadas por CEUA e sempre realizada sob anestesia local e com emprego de preventivo de analgésicos, como os anti-inflamatórios não esteroides e opióides.

Há métodos alternativos ao uso de ruminantes fistulados que permitem a avaliação de algumas variáveis específicas da digestão ruminal e/ou intestinal. Por exemplo, há modelos artificiais de rúmen (BIRK *et al.*, 2018) assim como outros métodos alternativos de estudos de digestibilidade com animais ruminantes in vivo publicados na literatura (ABBASI, *et al.*, 2018; PAGELLA *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2015; DECRUYENAERE *et al.*, 2009; SILVEIRA *et al.* 2009). Como alternativa ao método convencional que mede a degradabilidade ruminal de alimentos, onde a amostra é incubada no rúmen via fístula ruminal, pequenas bolsas porosas contendo a amostra poderiam ser fornecidas via oral e/ou ingeridas voluntariamente pelos animais e coletadas do rúmen após o abate, quando o experimento envolver abate de animais.

O emprego de cangas é aceito desde que tenha a finalidade precípua de evitar que o animal interfira em procedimentos clínicos ou cirúrgicos a que esteja sujeito. A coleta de conteúdo do trato digestivo para a obtenção de amostras (ex: líquido ruminal) ou procedimentos de assistência clínica deve seguir protocolos já existentes utilizando sondas orogástricas lubrificadas, introduzidas com cuidado para não ocasionar ferimentos nas vias digestivas.

7.2. Câmaras respirométricas

Como referência, devem fornecer área mínima de 2,0 m² para o animal instalado, largura mínima de 0,70 m e altura mínima de 1,80 m. Dotada de sistemas de alerta para o caso de colapso no fornecimento de energia, bem como de alertas sonoros, visuais ou mesmo no ambiente virtual (*smartphones*, *pc's*, *tablets* e similares).

7.3. Câmaras climáticas e respirométricas

Toda instalação climatizada para estudos com pequenos ruminantes deve possuir sistemas de controles das condições ambientais dotados de redes de sensores para emissão de alertas sonoros, visuais e mesmo no ambiente virtual (*smartphones*, *Pc's*, *tablets* e similares) para os casos onde houver colapso da rede elétrica. As dimensões deverão ser adequadas para baias ou gaiolas com o mínimo de 2,0 m² por animal adulto, e área complementar que, somada a essa, atinja pelo menos 4,0 m². A câmara deverá ser construída com piso impermeável e antiderrapante, com drenos para não gerar acúmulos de urina e fezes, e conseqüentemente de gases, além de facilitar a limpeza. Devem ser equipadas com sistemas de exaustão que permitam a renovação e recirculação do ar no interior da mesma, evitando o acúmulo de gases.

7.4. Gaiolas metabólicas

Podem ser metálicas, de plástico injetado, madeira e outros materiais que não produzam injúrias aos animais contidos, assegurando conforto, apresentando dimensões suficientes para conter o animal em seu interior, permitindo os movimentos de levantar e deitar. Como referência, deve possuir laterais com mínimo de 0,80 m, largura mínima de 0,70 m, comprimento mínimo de 1,00 m. Possuir comedouros, bebedouros e saleiros, de preferência fora da gaiola, para atendimento do manejo alimentar, bem como conjunto de sistemas específicos para coleta de fezes e urina, não só para o emprego experimental, mas também para garantir o melhor manejo sanitário nas instalações onde as gaiolas permanecerão alojadas. Pode apresentar o piso vazado na forma de ripado ou gradil, podendo ser dos mesmos materiais e possuir as mesmas características acima descritas. O piso deve oferecer tração adequada e conforto aos animais.

7.5. Doenças infecciosas ou parasitológicas

A metodologia de inoculação de agentes patogênicos (bactérias, vírus ou da sobrecarga de ectoparasitos ou endoparasitos) para pesquisas sobre a enfermidade causada, formas de tratamento ou vacinas, devem ser descritas minuciosamente no protocolo da pesquisa, assim como as medidas de alívio dos sintomas ou do ponto final humanitá-

rio, quando for o caso.

7.6. Reprodução e técnicas reprodutivas

As práticas de inseminação artificial, fertilização in vitro, transferência de embriões e outras tecnologias de reprodução assistidas são permitidas, desde que sejam respeitados os princípios da ética e atuação profissional.

Os caprinos e ovinos possuem estacionalidade reprodutiva, sendo denominados de poliéstricos estacionais de dias curtos (inverno e outono). No entanto, esta característica reprodutiva tende a diminuir ou até mesmo cessar, à medida que estes animais sejam criados em regiões de baixa latitude, onde há pouca variação da duração do dia/noite, sendo que nestas regiões eles são considerados poliéstricos contínuos, desde que alimentados corretamente durante o ano todo.

A técnica deve iniciar com a remoção de fezes da ampola retal do macho por um técnico removendo, gentilmente, as fezes com o dedo indicador introduzido no ânus do animal, sendo necessário que a mão do técnico esteja enluvada e lubrificada com gel de lubrificante. Isso facilitará o contato da sonda com a parede do reto e conseqüentemente, a propagação do estímulo elétrico. A introdução da sonda no reto do animal deve ser cuidadosa, devendo estar lubrificada preferencialmente com gel para ultrassonografia e respeitando o porte do animal. O uso gel além de facilitar a introdução da sonda eleva a superfície de contato melhorando o desempenho da técnica. No início, para expor o pênis, são aplicados 3 a 5 estímulos curtos de 1 a 2 segundos, com intervalo de 5 segundos. Então se aplica 1 a 3 estímulos prolongados de 5 a 10 segundos para que ocorra a ejaculação.

7.6.1. Inseminação artificial (IA)

Devido a diferenças anatômicas da cérvix de ovelhas (anéis cervicais intercalados), a passagem da pipeta de inseminação nesta espécie é mais difícil que nos caprinos, chegando a casos de impossibilidade de acesso ao útero.

A inseminação artificial, quanto ao local de deposição do sêmen, pode ser: vaginal, cervical superficial, intracervical ou intrauterina. Quanto mais profunda for a deposição do sêmen, maior será a probabilidade de fecundação, desde que a passagem da pipeta de inseminação seja cuidadosa e não cause lesão e sangramentos. Dependendo da técnica utilizada haverá a necessidade de sedação e anestesia local e/ou epidural.

7.6.2. Coleta e transferência de embriões

A coleta de embriões pode ser realizada por procedimento cirúrgico (laparotomia) ou por laparoscopia, sempre realizadas sob anestesia geral. Atualmente, a coleta de embriões pela via transcervical (não-cirúrgica), tanto na cabra quanto na ovelha tem sido descrita, porém além de necessitar, igualmente, de protocolos de sedação e anestesia, pois o pinçamento e a tração da cervice causam dor, a técnica em ovinos requer o uso de hormônios e dilatadores cervicais, devido à anatomia cervical da ovelha, além de ainda estar em fase de estudos. A inovulação dos embriões coletados pode ser realizada na cabra e ovelha por laparoscopia, laparotomia, porém a via transcervical apresenta resultados inferiores de prenhez. Para a coleta de oócitos, a técnica recomendada é laparoscopia (LOPU).

Tanto a coleta de oócitos quanto a de embriões podem ser feitas com ou sem superestimulação ovariana. Como, geralmente, este procedimento é precedido de superovulação, a manipulação dos ovários, seja para coleta de ovócitos ou contagem de corpos lúteos deve ser cuidadosa e com irrigação de soro fisiológico, pois há a possibilidade de causar aderências severas. A contagem pode ser feita um dia antes da coleta por meio de ultrassonografia em modo B e Doppler. Animais não responsivos são imediatamente retirados da programação subsequente, evitando-se procedimentos desnecessários como jejum, sedação, anestesia e cirurgia.

8. Cuidados veterinários e cirurgias

As recomendações e normas para as principais cirurgias em pequenos ruminantes devem seguir as recomendações do médico veterinário que acompanha os animais.

8.1. Cuidados pré-operatórios:

- As cirurgias devem ser precedidas de exames clínico e exames complementares quando necessário;
- Jejum de líquidos e sólidos de no mínimo 12 horas, para evitar o refluxo de conteúdo ruminal e o risco de aspiração deste material;
- Tricotomia e antissepsia da região a ser submetida à cirurgia;
- O cateterismo venoso possibilita a administração segura e rápida da medicação anestésica, soro e, caso for necessário, de fármacos emergenciais. Para a venopunção da veia jugular o calibre do cateter deve ser de 14 a 16 G para pequenos ruminantes adultos e 18G para jovens;
- Preparo de material cirúrgico estéril por método químico ou físico.

8.2. Cuidados pós-operatórios:

- Acomodação do animal em local adequado limpo, seguro e tranquilo;
- Monitoramento constante até a recuperação da anestesia e diário até a recuperação do animal;
- Fornecimento de água e comida;
- Tratamento com medicação analgésica, anti-inflamatório e antibiótico;
- Tratamento da ferida cirúrgica até a cicatrização.

8.3. Analgesia e Anestesia

Todos os procedimentos cirúrgicos requerem sedação, anestesia e analgesia. A analgesia deve incluir anti-infla-

matórios não esteroides e opióides administrados no período perioperatório. Sempre quando possível, independente da técnica anestésica empregada, deve-se incluir técnicas de anestesia local, promovendo-se assim a analgesia preventiva.

Deve-se avaliar a dor em pequenos ruminantes baseado nas escalas de dor validadas e fundamentadas em alterações comportamentais e/ou faciais ou por meio de outras ferramentas disponíveis na literatura e intervir com analgésicos quando necessário.

Durante o plano anestésico em poligástricos devem ser consideradas duas principais complicações: a ocorrência de timpanismo e a regurgitação, pois não é possível o total esvaziamento do rúmen. Sob anestesia prolongada o animal poderá sofrer de distensão abrupta do rúmen com prejuízo da função do diafragma, levando a anormalidades na respiração e na oxigenação. A regurgitação em ruminantes sob anestesia, representa um risco de aspiração do conteúdo estomacal para os pulmões.

8.4. Principais procedimentos cirúrgicos realizados em pequenos ruminantes

Alguns procedimentos são proibidos na prática médico-veterinária como: castração utilizando anéis de borracha, caudectomia em ruminantes, exceto em ovinos de raças lanadas, ou qualquer procedimento sem o respeito às normas de antisepsia, profilaxia, anestesia e analgesia.

8.4.1. Orquiectomia

Trata-se de prática comum nos sistemas produtivos e, portanto, factível de ser executada nas condições e ensino e pesquisa. Realizar de preferência em animais jovens, antes dos dois meses de idade. A castração requer o uso de anestesia local prévia e analgesia perioperatória.

8.4.2. Ovariectomia

Realizada na fêmea utilizada para o estímulo do macho em coletas de sêmen, pois a ausência dos ciclos dos hormônios ovarianos facilita a indução artificial do estro com o uso de estrógeno. Deve-se utilizar sedação, analgésicos

e anestesia geral.

8.4.3. Descorna

A retirada do botão córneo nos cabritos pode ser realizada logo que apareça ou até quatro semanas de idade, sempre com anestesia local. Este procedimento visa à prevenção de traumatismos provocados por eventuais brigas entre animais, além da segurança de técnicos. A região ao redor do botão córneo deve ser submetida à tricotomia, seguida de limpeza e antissepsia (sugere-se: clorexidine 3%) e anestesia local infiltrativa circular na base do corno, com anestésico local (lidocaína) no volume aproximado de 5mL por botão córneo. No caso excepcional de ser necessário realizar em adultos, deve-se utilizar analgésicos, sedação e anestesia local.

8.4.4. Técnicas para preparo de rufião

Preferencialmente utilizar vasectomia ou epididectomia parcial e realizar em animais jovens. O desvio lateral do pênis e a fixação da flexura sigmoide não devem ser realizados. Utiliza-se sedação seguida por anestesia local.

9. Eutanásia

A eutanásia deve atender as exigências da legislação específica do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea), órgão integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCTI), conforme a Diretriz da Prática de Eutanásia do Concea ou outra norma que a substitua.

10. Necropsia e destino de carcaças

A necropsia deve ser feita por médico veterinário e em lugar apropriado para este fim (sala de necropsia) com exame cuidadoso de todos os órgãos e a coleta adequada de seus fragmentos. O risco de zoonoses pode ser alto (PUGH; BAIRD 2012), portanto a equipe deve proceder a necropsia evitando o contato direto com os tecidos e fazendo uso correto dos Equipamentos de proteção individual.

Pesquisas que contêm no protocolo a eutanásia dos animais geralmente requerem a necropsia para obtenção de amostras ou diagnósticos anatomopatológicos. A necropsia deve ser feita para determinar a *causa mortis* dos animais, estejam eles em experimentos ou aqueles mantidos pela instituição de ensino e pesquisa.

A necropsia deve ser realizada logo após a morte do animal devido à autólise *post mortem*, que poderá mascarar as lesões. No entanto, quando isso não for possível a carcaça deverá ser mantida congelada dentro de câmara fria ou freezer horizontal, porém o congelamento poderá influenciar os resultados, principalmente os exames microscópicos.

Deve-se proceder o descarte, de acordo com a legislação vigente, de carcaças, peças anatômicas ou vísceras de animais submetidos a processos de experimentação, principalmente os de inoculação de microrganismos, bem como os animais mortos suspeitos de serem portadores de agentes patogênicos.

Um dos métodos com menor risco de contaminação ambiental é a compostagem, pois trata-se de um processo que acelera a decomposição do material orgânico, que chega às altas temperaturas devido a ação de microrganismos, e tem como produto final resíduos que podem ser reintroduzidos no meio ambiente.

11. Referências bibliográficas

- ABBASI, I.; ABBASI, F.; ABD EL-HACK, M. E.; SWELUM, A. A.; YAO, J.; CAO, Y. Post-ruminal effects of rumen-protected methionine supplementation with low protein diet using long-term simulation and in vitro digestibility technique. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 36, Mar. 2018. doi:10.1186/s13568-018-0566-7
- BIRK, B.; STÄHLE, A.; MEIER, M.; PALM, M.; FUNK-WEYER, D.; BREVES, G.; SEULBERGER, H. Investigation of ruminant xenobiotic metabolism in a modified rumen simulation system (RUSITEC). **ALTEX; Alternatives to Animal Experimentation**, v. 35, n. 3, p. 379-389, 2018. DOI: 10.14573/altex.1712221
- BRASIL. Resolução nº 1275, de 25 de junho de 2019. **Conceitua e estabelece condições para o funcionamento de Estabelecimentos Médico-Veterinários de atendimento a animais de estimação de pequeno porte e dá outras providências**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil: Seção I, Brasília, DF, ano 156, p. 94-95, n. 141, 27 jun. 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-n-1.275-de-25-de-junho-de-2019-203419719>. Acesso em: 24 fev. 2023.
- BRASIL. Resolução nº 877, de 15 de fevereiro de 2008. **Dispõe sobre os procedimentos cirúrgicos em animais de produção e em animais silvestres; e cirurgias mutilantes em pequenos animais e dá outras providências**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil: Seção 1, Brasília, DF, 19 mar. 2008., p. 173-174. Disponível em: https://www.normasbrasil.com.br/norma/resolucao-877-2008_108008.html. Acesso em: 12 out. 2019.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Guia Brasileiro de Boas Práticas Para Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados**. Brasília, DF: Conselho Federal de Medicina Veterinária, Brasília, 2013 1v. (62p) 15 x 21cm. Disponível em: <https://www.cfmv.gov.br/guia-brasileiro-de-boas-praticas-para-a-eutanasia-em-animais/comunicacao/publicacoes/2020/08/03/#2>. Acesso em: 07 fev. 2020.
- CORTOPASSI, S. R. G.; FANTONI, D. T.; BERNARDI, M. M. Anestésicos locais. In: SPINOSA, H. de S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- DECRUYENAERE, V.; LECOMTE, P.; DEMARQUILLY, C.; AUFRERE, J.; DARDENNE, P.; STILMANT, D.; BULDGEN, A. Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): developing a global calibration. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, p. 1/6, p. 138-156, Jan. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.03.007>
- GALATOS, A. D. Anesthesia and analgesia in sheep and goats. The Veterinary Clinics of North America. **Food Animal Practice**, v. 27, n. 1, p. 47-50, Mar. 2011. DOI: 10.1016/j.cvfa.2010.10.007.
- GONZÁLEZ, O.M **Transporte de animais vivos Código de Ação: FITO 0002 7ª Convocatória Diálogo: questões sanitárias e fitossanitárias**. Julho a Setembro de 2014. Relatório elaborado pela médica veterinária e perita contratada pelo projeto Dra Olga Minguez González. http://www.agricultura.gov.br/assuntos/producao-animal/arquivos-publicacoes-bem-estar-animal/FITO0002_Relatriofinal.pdf/@download/file/FITO0002_Relatriofinal.pdf. Acesso em: 11 fev. 2020.
- LUNA, S. P. L.; CARREGARO, A. B. **Anestesia e analgesia em equídeos, ruminantes e suínos**. São Paulo: MedVet, v. 1. 676 p., 2018.
- PAGELLA, J. H.; MAYES, R. W.; PÉREZ-BARBERÍA, F. J.; ØRSKOV, E. R. The development of an intraruminal nylon bag technique using nonfistulated animals to assess the rumen degradability of dietary plant materials. **Animal**, v. 12, n. 1, p. p. 54-65, Jan, 2017. DOI: 10.1017/S1751731117001203
- PUGH, D. G.; BAIRD, A. N. **Sheep and goat medicine**. 2nd ed. Missouri: Elsevier Saunders, 640 p., 2012.
- ROSS, C. V. **Sheep production and management**. New Jersey: Prentice-Hall, 481 p., 1989.
- SALES, L.S. **A cabra produtiva: Métodos Modernos e Práticos de Criação e Exploração**. Lisboa: Litexa, 1978.
- SILVEIRA, M. F.; KOZLOSKI, G.; MESQUITA, F. R.; FARENZENA, R.; SENGER, C. C. D.; BRONDANI, I. L. Avaliação de métodos laboratoriais para estimar a digestibilidade e o valor energético de dietas para ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 2, p. 429-437, abr. 2009.
- WANG, Y.; ZHANG, Y. G.; LIU, X.; KOPPARAPU, N. K.; XIN, H.; LIU, J.; GUO, J. Measurement of the intestinal digestibility of rumen undegraded protein using different methods and correlation analysis. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 10, p. 1454-1464, Oct. 2015. DOI: 10.5713/ajas.15.0085.

12. Critérios mínimos para instalações de Pequenos Ruminantes

Classificação:

OB - Obrigatório

Considera-se item OBRIGATÓRIO

R - Recomendado.

Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
AMBIENTES FÍSICOS	
Áreas de Apoio	
Área administrativa.	R
Área de recepção de animais.	R
Local para descarte de carcaças de acordo com as especificações do Concea.	OB
Área de quarentena de acordo com as especificações do Concea.	R
Detalhes Construtivos	
Paredes, pisos e tetos de materiais que possibilitem a adequada higienização e desinfecção.	R
Instalações amplas, arejadas e voltadas ao maior conforto possível para o animal, oferecendo proteção contra as intempéries.	R
Instalações com áreas destinadas a funções específicas, que promovam a segurança e o bem-estar, tanto do pessoal envolvido nas atividades quanto dos animais experimentais.	R
Dimensionamento dos alojamentos de acordo com as especificidades dos animais.	OB
Curral de manejo compartimentado e separado por porteiras permitindo o manejo seguro de apartação dos animais.	R
Paredes internas do curral, do brete e do tronco de contenção lisas e livres de saliências ou elementos pontiagudos que possam provocar danos ao animal.	OB
Curral com cobertura total ou parcial para proteção do pessoal e dos animais.	R
Corredor do tipo “seringa” para direcionamento dos animais.	R
Baias destinadas aos reprodutores em local afastado do aprisco do rebanho geral.	R
Área de eutanásia separada das demais instalações.	OB
Depósitos	
Depósitos exclusivos para estocagem de ração, forragem e cama	OB
Ração armazenada sem contato com o piso ou paredes	OB
Depósito de resíduos isolado das demais áreas	OB
Depósito de produtos químicos e medicamentos	OB
Câmara fria ou freezer para acondicionamento de carcaças	R
Piquetes	
Cochos para fornecimento de alimento, sal mineral e água e sombreamento.	OB
Cercas de materiais que minimizem riscos de ferimentos.	OB
Terreno dos piquetes com condições de drenagem, que possibilitem a redução do acúmulo de lama ou esterco durante os períodos de chuvas.	R
Lotação animal de acordo com a disponibilidade de pastagem.	R

Controle de plantas tóxicas.	OB
Informações gerais	
Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB
Área para procedimentos cirúrgicos, piquete e baia hospitalar	
Área cirúrgica localizada em ambiente fechado e própria para este fim, dotada de brete de contenção.	R
Baias hospitalares compatíveis com o tamanho dos animais, piso resistente com escoamento de águas servidas ligado diretamente a rede de esgotos ou a canaleta coletora.	OB
Biossegurança	
Áreas de alojamento e manejo de caprinos e ovinos geneticamente modificados, fisicamente separadas de outras áreas, com acesso restrito.	OB
Gaiolas metabólicas (quando existentes) adequadas a espécie e de uso exclusivo durante a realização dos estudos metabólicos.	OB
Câmaras climáticas e respirométricas (quando existentes) equipadas com sistemas de exaustão, renovação e recirculação do ar.	OB

Capítulo 9

Grandes ruminantes



COORDENADORES:

Concepta Margaret McManus Pimentel Universidade de Brasília

Marco Aurélio Delmondes Bomfim Embrapa Caprinos e Ovinos

AUTORES:

Bruna Rios Coelho Alves Universidade Federal Fluminense

Danielle Maria Machado Ribeiro Azevedo Embrapa Meio-Norte

Helder Louvandini Universidade de São Paulo

José Luiz Rodrigues Universidade Federal do Rio Grande do Sul

José Renato Junqueira Borges Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Luciano Doretto Centro de Pesquisas em Animais do Brasil

Luiz Carlos Pinheiro Machado Filho Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Clorinda Soares Fioravanti Universidade Federal de Goiás

Marcelo Bertolini Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa Universidade Estadual Paulista Jaboticabal

Paulo César de Faccio Carvalho Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Vanessa Felipe de Souza Embrapa Gado e Corte

Vanessa Garcia Rizzi Indústria farmacêutica Ouro Fino Saúde Animal

Citação recomendada: ALVES, B.R.C.; AZEVEDO, D.M.M.R.; LOUVANDINI, H.; RODRIGUES, J.L.; BORGES, J.R.J.; DORETTO, L.; MACHADO FILHO, L.C.P.; FIORAVANTI, M.C.S.; COSTA, M.J.R.P.; BERTOLINI, M.; COSTA, M.J.R.P.; CARVALHO, P.C.F.; SOUZA, V.F.; RIZZI, V.G. (2023) Capítulo 9 - Grandes Ruminantes. pp. 566-655. In: PIMENTEL, C.M.M.; BOMFIM, M.A.D. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1106p

SUMÁRIO

1. Introdução	575
2. Utilização de modelos Bovinos e Bubalinos em ensino e pesquisa	577
2.1. Finalidade	577
2.2. Ambiente, condutas de manejo e comportamento animal	578
2.3. Relação homem x animal	580
2.4. Escopo e aspectos relevantes na utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa	581
3. Instalações	583
3.1. Orientações gerais	583
3.1.1. Conforto térmico	583
3.1.2. Ventilação	585
3.1.3. Piso	585
3.1.4. Cercas	586
3.1.5. Iluminação	586
3.1.6. Instalações elétricas	587
3.1.7. Ruído	587
3.1.8. Enriquecimento ambiental	587
3.2. Instalações para alojamento	588
3.2.1. Bezerreiro	588
3.2.2. Piquetes	589
3.2.3. Sistema de confinamento	589
3.3. Instalações para manejo	591
3.3.1. Recepção e expedição de animais	591
3.3.2. Instalações para ordenha	592
3.3.3. Curral de manejo	592
3.3.4. Maternidade	593
3.3.5. Instalações para touros	594
3.4. Instalações especiais	594
3.4.1. Acclimação e isolamento	594
3.4.2. Área para procedimentos cirúrgicos, piquete e baia hospitalar	595
3.4.3. Área de alojamento para animais geneticamente modificados	595
3.4.4. Gaiolas metabólicas	596
3.4.5. Câmaras respirométricas e câmaras climáticas	596
3.5. Instalações de apoio	597
3.5.1. Apoio administrativo	597
3.5.2. Depósito de produtos químicos e medicamentos	597
3.5.3. Depósito de alimento	598
4. Procedimentos de manejo	599
4.1. Contenção e imobilização	600
4.2. Identificação	601
4.3. Transporte	602
4.4. Manejo nutricional e da água	604

4.4.1. Oferta de alimento	604
4.4.2. Oferta de água	605
4.5. Manejo reprodutivo	606
4.5.1. Acasalamento	606
4.5.2. Monta natural	607
4.5.3. Biotécnicas da reprodução	607
4.5.4. Ovariectomia	613
4.5.5. Castração de machos	613
4.5.6. Cirurgias para preparo de rufiões	614
4.6. Manejo de fêmeas em fase de transição e durante o parto	614
4.7. Manejo de bezerras	615
4.7.1. Cuidados iniciais	615
4.7.2. Desmama	617
4.7.3. Alimentação	617
4.8. Manejo na ordenha	618
4.9. Descorna	619
4.10. Remoção de tetos extranumerários	620
4.11. Fistulização	620
4.12. Manejo sanitário	621
5. Procedimentos Clínicos e Cirúrgicos	623
5.1. Exame clínico	623
5.2. Administração de substâncias	624
5.2.1. Aclimação do animal e preparação do local	624
5.2.1. Volume de administração e tamanho da agulha	624
5.2.3. Frequência e intervalo de administração	625
5.2.4. Vias de administração	625
5.3. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções	628
5.3.1. Considerações gerais para minimizar os efeitos adversos da colheita de fluidos corporais, secreções e excreções e para orientar a seleção dos métodos	628
5.3.2. Sangue	628
5.3.3. Urina	629
5.3.4. Secreção nasal	630
5.3.5. Secreção ocular	630
5.3.6. Material bucal	630
5.3.7. Leite	631
5.3.8. Fluido ruminal	631
5.3.9. Fezes	631
5.3.10. Secreção do trato genital	632
5.4. Procedimentos experimentais para testes com de fármacos antiparasitários, antimicrobianos, vacinas ou outros produtos biológicos	632
6. Procedimentos cirúrgicos e anestésicos	633
6.1. Treinamento da equipe	633
6.2. Planejamento pré-operatório	633
6.3. Unidade cirúrgica	634
6.3. Pré-operatório	634
6.4. Trans-operatório	636
6.5. Procedimentos anestésicos	637
6.5.1. Analgesia de infiltração	638
6.5.2. Analgesia regional	638
6.5.3. Tranquilização e sedação	639

6.5.4. Anestesia geral	639
6.5.5. Fármacos analgésicos e anestésicos	639
6.6. Cuidados pós-operatórios	640
7. Eutanásia e abate comercial	642
7.1. Eutanásia	642
7.2. Abate comercial	643
8. Necrópsia e destino de carcaça	644
8.1. Necropsia	644
8.1.1. Pré-necropsia	644
8.1.2. Procedimento de necropsia	644
8.2. Destino das carcaças	645
9. Resíduos	647
10. Referências bibliográficas	648
11. Critérios mínimos para instalações de Grandes Ruminantes	654

GRANDES RUMINANTES

1. Introdução

Antes da domesticação, o gado selvagem denominado *urus* ou *auroch* (*Bos primigenius*) habitava uma extensa região desde o norte da Índia até os desertos da Arábia. Ao longo da última era glacial (250 mil a 13 mil anos a.C.) este gado migrou para outras partes do globo, formando as duas subespécies principais, chamadas *Bos primigenius primigenius* (ancestral do gado europeu), e *Bos primigenius namadicus* (ancestral do gado indiano ou zebu). Em virtude da migração, das pressões do processo evolutivo, e dos consequentes isolamentos geográficos, esses animais se fixaram como pequenas populações que, com os acasalamentos mais consanguíneos, levaram a formação de linhagens evolutivas divergentes. Tanto as espécies *Bos taurus* (bovinos) quanto *Bubalus bubalis* (bubalinos) são pertencentes à família *Bovidae*, subfamília *Bovinae*.

Os bovinos apresentam cariótipo igual a $2n=60$ cromossomos e são divididos em duas subespécies, o *Bos taurus taurus* formada por gado taurino de origem europeia e representada por raças como Angus, Charolês, Hereford, Holandêsa, Jersey, Limousin, Braunvieh, Caracu, Curraleiro Pé-Duro, Pantaneiro, Crioulo Lageano, entre outras. A subespécie *Bos taurus indicus* é composta por gado zebuino de origem asiática e representada por raças como Nelore, Gir, Guzerá, Indubrasil, Sindi e Tabapuã, entre outras.

A espécie *Bubalus bubalis* ou búfalo-do-rio apresenta cariótipo igual a $2n=50$ cromossomos e engloba três das quatro raças reconhecidas pela Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (ABCB): Mediterrâneo, Murrah e Jafarabadi. O tipo Baio é um búfalo de pelagem baia ou pardacenta, provavelmente, pertencente ao grupo Murrah. O *Bubalus bubalis* variedade *kerebau*, ou búfalo do pântano apresenta cariótipo igual a $2n=48$ cromossomos e é composto apenas pela raça Carabao.

No Brasil, a relação do homem com os bovinos é relatada desde a época de colonização do país, quando a importação desses animais ocorreu pela necessidade da produção de alimentos, bem como da tração de carros e equipamentos. Já os bubalinos foram introduzidos na região norte no País no final do século XIX. No século XXI as duas espécies estão distribuídas nas cinco regiões brasileiras e desempenham importante papel econômico e social, devido principalmente à sua utilização na produção de alimentos e na sua interação com as pessoas influenciando seu modo de vida.

A razão majoritária da interação homem x animal envolvendo bovinos e bubalinos se dá pela aptidão de produ-

ção de alimentos e outros produtos, sendo a abordagem sistemática, zootécnica e o estudo do bem-estar de bovinos e bubalinos premissas para promover o aumento da produtividade. No entanto, esta ótica vem sendo atualizada pelo entendimento da sociedade de que animais dessas espécies são indivíduos que podem apresentar sofrimento devido à distresse, enfermidades, dor, medo, tédio, dentre outros. Considerando este ponto de vista, há demanda crescente da sociedade para que a interferência negativa sobre o bem-estar dessas espécies seja amplamente minimizada, ou até mesmo eliminada.

As semelhanças relacionadas à anatomia, fisiologia e etologia das espécies bovina e bubalina, bem como a adaptação de aspectos de criação comercial e abordagem clínica de bovinos para os sistemas de criação de bubalinos, permitiram a abordagem conjunta dessas espécies. É ressaltado, ainda, que a maioria dos procedimentos recomendados para a utilização desses animais é baseada em estudos realizados com a espécie bovina. Dessa forma, práticas adaptadas para a utilização de bubalinos são citadas de acordo com a disponibilidade das mesmas.

Dessa forma, com este capítulo busca-se estabelecer recomendações básicas de procedimentos a serem adotados na utilização de bovinos e bubalinos em atividades que envolvam ensino e pesquisa, com o intuito de garantir a integridade e o atendimento às suas necessidades básicas, interferindo de forma mínima em suas características comportamentais.

2. Utilização de modelos Bovinos e Bubalinos em ensino e pesquisa

2.1. Finalidade

A utilização dos modelos bovinos e bubalinos em ensino e pesquisa é indispensável para o desenvolvimento da agropecuária nacional, pois o Brasil é um dos maiores produtores de carne bovina do mundo. Assim, a contribuição das escolas de ciências agrárias e veterinárias e dos institutos de pesquisa foram e são fundamentais para este sucesso.

Os cursos de ciências agrárias e veterinárias utilizam os modelos animais para ensino de nutrição de ruminantes, manejo dos sistemas de produção, etologia e comportamento animal, anatomia e fisiologia. No campo da medicina são utilizados para estudos das principais enfermidades dos bovinos, avaliando os métodos e meios semiológicos empregados no diagnóstico destas enfermidades, relacionando-os à etiologia, patogenia, tratamento e prevenção desses problemas.

A criação, o manejo e, principalmente, os cuidados médicos a bovinos e bubalinos carecem de mão de obra especializada, a qual deve ser devidamente treinada. Esta necessidade justifica a utilização das espécies bovina e bubalina em atividades de ensino, conduzidas em instituições credenciadas para a sua realização, segundo a legislação vigente, e em situações em que o uso de modelos *in vitro*, ou outros, não são eficientes para o alcance dos objetivos didáticos propostos.

Devido à semelhança de certos processos fisiológicos entre a espécie bovina e a humana, a limitação de tamanho de órgãos obtidos de espécies de roedores, bem como da facilidade para a obtenção de material biológico de bovinos, seu uso em pesquisas voltadas para a área de saúde humana se faz necessária em alguns casos. No campo da pesquisa biomédica, bovinos têm sido utilizados como modelo animal em estudos que contribuem para a elucidação de processos fisiológicos ou patológicos da espécie humana, bem como para a prevenção ou tratamento de doenças que acometem humanos, sejam ou não zoonoses. São exemplos de tal uso os estudos nas áreas de ortopedia, cardiologia, reprodução, embriologia, neurociência e doenças infecciosas .

Bovinos e bubalinos são também utilizados como modelos animais para estudar diversos aspectos inerentes a essas espécies, como os relacionados à fisiologia, patologia, melhoramento, comportamento e manejo. Muito comu-

mente, a justificativa para essas pesquisas relaciona-se à melhoria da eficiência dos sistemas de produção de alimentos e outros produtos de origem bovina ou bubalina, buscando-se a adequação da produtividade e da qualidade dos produtos, melhoria da saúde e bem-estar animal, melhor aproveitamento dos recursos naturais, redução de impactos negativos ao meio ambiente, dentre outros.

Existe, portanto, uma interface entre as atividades de pesquisa em sistemas de pecuária e as atividades de práticas zootécnicas envolvendo as espécies em questão. No entanto, o uso desses animais de produção na pesquisa deve, sempre que possível, preconizar os mesmos aspectos éticos para outros animais, que servem como modelos para pesquisas biomédicas. Nos estudos que abrangem condutas de manejo típicas dos sistemas de produção de bovinos e bubalinos, os animais devem estar sempre sob constante monitorização e os procedimentos experimentais devem ser realizados de forma a se assegurar que a dor e o distresse sejam minimizados.

Em qualquer um dos cenários expostos acima, a justificativa para o uso de bovinos e bubalinos em ensino e pesquisa sempre deve ser feita considerando a relevância dos resultados previstos e o grau de interferência negativa no bem-estar e segurança tanto dos animais quanto das pessoas envolvidas.

As fazendas experimentais destinadas ao ensino e pesquisa deverão ser cadastradas como biotérios no Cadastro de Instituições de Uso Científico de Animais (CIUCA), vinculado e deverão possuir como responsável técnico um Médico Veterinário de acordo com a resolução Normativa nº 6 do Concea de 10/07/2012.

2.2. Ambiente, condutas de manejo e comportamento animal

Nas instituições de ensino e pesquisa, os locais onde são criados ou mantidos os animais a serem utilizados para essas finalidades devem possuir Coordenador Zootecnista ou Médico Veterinário, bem como o Responsável Técnico, para garantir controle das condições ambientais, nutricionais e sanitárias, a fim de cumprir a legislação e garantir o bem-estar dos animais.

As condutas básicas de manejo de bovinos e bubalinos para ensino ou pesquisa, em certos casos, podem estar sobrepostas àquelas adotadas nos sistemas de produção comercial, como atividades zootécnicas, desde que estas não sejam conflitantes com a legislação vigente. Sugere-se a elaboração de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) por procedimentos de rotina.

Cabe enfatizar que a adoção de condutas de boas-práticas de produção para estas espécies, além de benéfica

em termos de qualidade de vida, também são interessantes economicamente, pois animais criados em sistemas que respeitem sua fisiologia tendem a ser mais produtivos, o que se reflete economicamente no valor do produto final.

O bem-estar animal é um dos principais componentes a serem considerados no ensino e experimentação animal moderna. A compreensão das necessidades e do comportamento dos animais é fundamental para que eles tenham boa qualidade de vida.

É indispensável que nos ambientes de criação, manutenção e utilização de bovinos e bubalinos para ensino ou pesquisa sejam atendidas as cinco liberdades dos animais (Conselho de Bem-Estar de Animais de Produção – FAWAC): estar livres de fome e sede; de desconforto físico e térmico; de dor, lesões e doenças; de medo e distresse e livres para expressar seu comportamento natural.

Bovinos e bubalinos são animais que gostam de rotina e que aparentemente têm boa memória. Podem discriminar as pessoas envolvidas no manejo diário e apresentam reações específicas a cada uma delas em função do tipo de experiência vivida. Assim, possuem um aprendizado associativo chamado de condicionamento operante. A presença das mesmas pessoas, sendo essas conhecidas pelos animais, durante o manejo diário e com comportamento não aversivo, contribui para diminuir os efeitos negativos no desenvolvimento e na produção de bovinos e bubalinos. O manejo truculento pode influenciar no comportamento dos animais na sala de ordenha, prejudicando o bem-estar animal com redução na produção e alterando os resultados das pesquisas.

Devido ao hábito de rotina, o planejamento de todas as atividades de ensino e pesquisa devem ser respeitados. Recomenda-se uma definição de horários para alimentação, descanso, ordenha e coleta de amostras e de dados. O fornecimento de alimentos, preferencialmente, deverá ser feito pelas mesmas pessoas e nos mesmos horários.

Instalações para bovinos e bubalinos são fundamentais no sistema de criação, portanto, devem ser amplas, arejadas, de fácil higienização e voltadas ao maior conforto possível para o animal (proteger contra as chuvas, os ventos e temperaturas extremas). Deverão, ainda, atender a legislação federal, estadual e municipal, relativas ao meio ambiente, controle sanitário e segurança. É desejável que o sistema seja eficiente na movimentação, alimentação, manejo dos dejetos, devendo prover um ambiente que ao mesmo tempo seja saudável para os animais e que promova condições de trabalho favoráveis e confortáveis para os funcionários. Por fim, mas não menos importante, ser economicamente viável.

2.3. Relação homem x animal

O bem-estar animal é em grande parte determinado pela qualidade de sua interação com o homem. As pessoas diretamente envolvidas com as atividades de manejo do rebanho devem receber treinamento adequado para manejo e para reconhecimento de comportamentos dos animais, que indiquem ocorrência de distresse. Apesar de similar, o comportamento de bovinos e bubalinos apresentam diferenças que implicam em necessidade de manejo diferenciado em algumas condições. É importante que a interação com os animais seja realizada de maneira calma, que eventuais problemas sejam antecipados e que ações preventivas para a manutenção do bem-estar animal sejam executadas. Para que a prevenção ou a interferência de manejo visando a manutenção de bovinos e bubalinos em condições de bem-estar é necessário que se conheça o comportamento normal dessas espécies e que existam frequentes atividades de treinamento de mão-de-obra. É importante também que a estrutura das instalações permita o manejo seguro dos animais, com riscos mínimos de injúrias às pessoas que executam ou acompanhem a realização das atividades relacionadas a estas espécies.

A relação positiva entre homem e animal é sempre benéfica para a realização de atividades, tanto de ensino quanto de pesquisa, utilizando-se bovinos e bubalinos. Em atividades de ensino, o ambiente emocional positivo gerado pela postura de manutenção ou interferência mínima no bem-estar animal, por parte dos professores e funcionários, é benéfico ao aprendizado. Em situações contrárias, cenas desagradáveis que envolvem a relação homem x animal observadas pelos alunos podem sobrepor o processo cognitivo para o aprendizado do assunto abordado. No caso das atividades de pesquisa, a interferência mínima no bem-estar, em consequência de uma relação positiva homem x animal, resulta na manutenção da fisiologia e do comportamento normal do animal experimental, o que implica em maiores chances de sucesso na obtenção de resultados confiáveis.

Sendo assim, as condutas de criação e utilização de bovinos e bubalinos em atividades de ensino e pesquisa devem privilegiar a manutenção ou interferência mínima do bem-estar animal a fim de, não apenas se fazer cumprir a legislação ou de proporcionar condições mais humanitárias para os animais, mas também de promover condições propícias para se alcançarem os objetivos propostos nas atividades de ensino e pesquisa. Um importante fator é a qualidade da capacitação e o comprometimento dos membros da equipe com o trabalho desenvolvido. As pessoas devem ser capacitadas para oferecer cuidado minucioso na manutenção de animais. Devem estar cientes de que a qualidade de suas ações interfere no bem-estar dos animais ou nos resultados de atividades de ensino ou pesquisa.

Pesquisadores, professores ou usuários de animais devem ter treinamento e experiência nos procedimentos que realizam. O conhecimento dos preceitos éticos da utilização de animais também deve ser cobrado de todos os membros da equipe. O treinamento, programas educacionais, capacitação técnica e seminários para todos os envolvidos no uso de animais em atividades de ensino ou pesquisa são de responsabilidade da instituição.

2.4. Escopo e aspectos relevantes na utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa

Vários são os aspectos que devem ser considerados para a descrição de procedimentos de referência quando da utilização de animais em ensino e pesquisa, incluindo características da estrutura física, do manejo e do ambiente, assim como as características específicas relativas a cada espécie animal. Os principais aspectos a serem considerados antes de qualquer abordagem com vistas ao uso de animais em ensino e pesquisa, com enfoque neste guia, encontram-se listados a seguir:

- Situação geográfica e de relevo, estrutura física, ambiente e manejo
- Espécies: bovina e bubalina
- Raças e propósito da produção: leite, carne, mista
- Comportamento e temperamento animal
- Tamanho do rebanho
- Sexo: machos, fêmeas
- Idade e categorias animais: bezerros, garrotes/juvenis, adultos
- Características de produção e do estabelecimento: sistema extensivo, intensivo, semi-intensivo, unidade animal/área
- Fases da produção:
 - Corte:** cria, recria, engorda
 - Leite:** bezerras, novilhas vazias ou prenhes, fêmeas em lactação, fêmeas secas
- Fase do ciclo reprodutivo:
 - Machos:** bezerros, jovens pré-púberes ou púberes, adultos púberes
 - Fêmeas:** bezerras, novilhas, fêmeas prenhes, periparto, puerpério/cria ao pé, ciclicidade/anestro,

patologias

→ Descarte: voluntário e involuntário

→ Experiência/treinamento/hábito: pessoal (equipe) e animal

De acordo com as características descritas acima, as recomendações de boas práticas podem diferir significativamente e devem ser consideradas no planejamento e execução das atividades. Como obviedade, deve-se sempre considerar aspectos adicionais que condizem aos enfoques específicos de cada atividade de ensino ou pesquisa com animais, e que não estejam necessariamente contemplados acima.

3. Instalações

3.1. Orientações gerais

Instalações para fins de ensino ou pesquisa destinadas a bovinos e bubalinos devem ser planejadas de acordo com o tipo de atividade a ser executada, número de animais a serem alojados, tipo de manejo, espaço disponível, condições climáticas predominantes, solo e topografia.

Os regimes de criação podem abranger sistemas abertos, como piquetes contendo pastagens; ou confinados ou semi-confinados, constituídos por bezerreiras, *free-stall*, *tie-stall* e baias. As instalações geralmente são compostas por um complexo de ambientes, incluindo o próprio local de criação, estruturas para manejo de rotina (como sala de ordenha e tronco de contenção) e outros utilizados em situações especiais ou manejos específicos, como baias hospitalares, baias ou piquetes maternidade, por exemplo.

As instalações comumente requerem áreas destinadas a funções específicas, que garantam a segurança e o bem-estar, tanto do pessoal envolvido nas atividades quanto dos animais experimentais. Além disso, o ambiente deve ser capaz de permitir aos animais a expressão do seu comportamento natural, e para isso é necessário adotar um sistema que permita a pronta detecção de alterações de comportamento, para que o problema seja sanado no menor intervalo possível.

Apesar das diferentes necessidades e muitas soluções alternativas de concepção, há orientações específicas que devem ser consideradas no projeto. É recomendado o desenvolvimento de um projeto flexível, de fácil adaptação e, se possível, com vistas a expansões futuras.

3.1.1. Conforto térmico

Edificações destinadas ao confinamento e manejo dos animais devem preferencialmente estar orientadas no sentido leste-oeste, para que a superfície exposta a oeste seja a menor possível, evitando-se superaquecimento pela forte insolação nas longas tardes de verão. Em abrigos exclusivos para sombreamento dos animais, onde não há limitação de espaço nas laterais para movimentação dos animais, a melhor orientação é a norte-sul. Desta forma, os

animais se movimentam juntamente com o deslocamento da sombra do abrigo, permitindo maior exposição solar do piso, reduzindo a formação de lama e mantendo-o mais seco, além de usufruir do poder germicida da radiação solar na desinfecção do piso.

Deve-se considerar a manutenção dos animais em condições de termoneutralidade, evitando-se dessa forma o distresse causado tanto pelo frio, quanto pelo calor. Condições de estresse pelo frio são geralmente observadas em bezerros. A faixa de temperatura ideal para os bovinos depende de fatores como raça, idade, nível de produção, tamanho etc. A temperatura mínima tolerada por recém-nascidos é de 10°C. A zona termoneutra para bovinos taurinos adultos é de -1°C a 16°C e as temperaturas críticas, mínima e máxima, sob as quais valores inferiores e superiores geram distresse, são -10°C e 27°C, respectivamente. Considerando-se bovinos zebuínos, as temperaturas de conforto térmico variam entre 10°C a 32°C, com temperatura crítica máxima de 35°C e mínima de 0°C. A zona de conforto térmico dos bubalinos se encontra entre temperaturas ambiente de 15°C e 21°C. Bubalinos possuem sistema de termorregulação menos eficiente que de bovinos, por isso procuram água para imersão objetivando o resfriamento corpóreo, em condições de temperatura ambiente superior a 29°C.

Para evitar estresse pelo frio em bezerros, deve-se prever a criação dos mesmos em abrigos que permitam a manutenção da temperatura mínima para evitar o distresse. Em sistemas abertos, a fim de evitar ou minimizar o distresse pelo calor, necessita-se da disponibilização de sombra para os animais mantidos em piquetes. O sombreamento pode ser natural (provida por árvores) ou, se necessário, artificial (por exemplo, por sombrites).

A quantidade de sombra requerida para animais novos deve ser de, no mínimo, 0,7 m² por animal e para animais adultos, de 3m² por animal. Preferencialmente, a altura da sombra deve ser de no mínimo 3m. Em sistemas fechados, se o sombreamento não for suficiente para fornecer as condições de termoneutralidade, outros métodos (como ventilação forçada, aspersão de água) devem ser empregados. É importante lembrar que búfalos precisam de área de sombra maior que a recomendada para os bovinos.

Nas pastagens, dependendo da espécie utilizada, pode-se cerca de 10 árvores por hectare. Os búfalos têm o hábito de coçar a cabeça, batendo contra o tronco da árvore. Assim a casca é rompida na sua circunferência, formando um anel, o que pode matar a planta. Isso pode passar despercebido nas criações extensivas, mas em pastos de sistemas rotacionado pode ser percebido. Para se evitar isso, deve-se enrolar arame farpado no tronco das árvores.

3.1.2. Ventilação

A ventilação é importante para a manutenção de condições adequadas de temperatura ambiente e umidade no microambiente dos animais. Preconiza-se que a umidade ideal do ambiente deve estar entre 50% e 80%. Além de controlar a temperatura e a umidade do ambiente, a ventilação remove os gases metano e dióxido de carbono, produzidos pela fermentação ruminal, e amônia oriunda da decomposição das fezes e urina, poeira e microrganismos patogênicos. A ventilação necessária depende do tamanho, densidade, tipo, idade e alimentação dos animais, além do sistema de manejo de dejetos e das condições atmosféricas. A ventilação no sistema de confinamento deve variar de mínima no inverno, suficiente para remover o vapor de água, contaminantes e odores, a máxima no verão (geralmente em torno de 10 vezes a taxa mínima) para limitar a temperatura interna consequente da radiação solar e do calor sensível dos animais. O uso de ventiladores, promovendo a movimentação do ar, pode ser benéfico se a ventilação natural for muito baixa ou inexistente.

3.1.3. Piso

As instalações para confinamento, semi-confinamento e manejo geral devem ter piso de material antiderrapante para evitar escorregões. No entanto, os mesmos não devem ser rugosos a ponto de causar danos aos cascos dos animais. Sugere-se que os pisos de concreto liso devam ter ranhuras de aproximadamente 0,75 cm a 1,3 cm, ou tratados com material antiderrapante. Outra ação recomendada é o uso de pisos emborrachados nas áreas onde os animais passam muito tempo em pé (na frente dos comedouros, sala de ordenha e na sala de espera da ordenha).

Os bovinos apresentam a estrutura dos olhos bem parecida com a dos humanos, fato este que o permite distinguir as cores, ou seja, enxergar colorido e não somente branco e preto. Entretanto, não têm boa capacidade para diferenciação entre tonalidades. As cores que melhor visualizam, em ordem decrescente de discernimento, são o amarelo, laranja, vermelho, azul, cinza e verde. Pode-se empregar este conhecimento em instalações para bovinos e bubalinos, por exemplo na pecuária leiteira, a melhor utilização das camas no sistema *free-stall* é conseguida quando estas são pintadas de verde.

3.1.4. Cercas

As cercas possuem a finalidade de delimitar a área de acesso dos animais e devem ser construídas por materiais que minimizam os riscos de ferimentos aos mesmos. É recomendado fortemente o uso de cerca de arame liso, ao invés de arame farpado. A altura da cerca pode variar de 1,30 m a 1,70 m e os moirões distanciados em 2,5 m. Nas cercas periféricas é recomendável o uso de 5 fios equidistantes em 0,27 m, já nas cercas divisórias, para contenção de animais adultos, recomendam-se 4 fios equidistantes em 0,35m. Cercas elétricas devem possuir voltagem adequada, aterramento e isolamento seguros. Verificação periódica das condições das cercas deve ser realizada.

Como os búfalos são animais fortes e pesados, as cercas devem naturalmente ser resistentes o suficiente para suportar as tentativas de rompimento, estacas ou moirões apontados, de madeira de lei, distanciados de 1 a 2 m, com seis fios de arame liso ou farpado, afastados da superfície do solo até o fio mais elevado em intervalos de 20 cm. Para melhorar a eficiência da contenção dos búfalos, podem ser usadas cercas mistas, de arame e madeira, eletrificadas ou não-eletrificadas, com uma distância entre os moirões que pode variar de 2 a 2,5 m. Outras alternativas é a cerca eletrificada mista, constituída de cerca convencional de seis fios de arame, com um (60 cm de altura) ou dois (60 cm e 1 m) deles eletrificados; cerca eletrificada, constituída de dois fios de arame liso, sendo um a 70 cm e outro a 1,10 m de altura, utilizando-se moirões ou estacas furadas, com isoladores tubulares de plástico, distanciados de 10m a 25 m, dependendo da topografia do terreno.

3.1.5. Iluminação

Bovinos e bubalinos não devem ser mantidos em ambientes de escuridão no período diário integral. Deve-se, portanto, utilizar iluminação artificial nos locais de confinamento, nos casos que a iluminação natural for ausente durante o dia. Neste caso, a iluminação deve ser funcional durante o período diário equivalente ao período de luz natural. Para minimizar o distresse em face da menor capacidade de bovinos e bubalinos distinguirem sombra de reentrâncias em superfícies, deve-se evitar contrastes de luz e sombra nas instalações, principalmente em locais onde há movimentação de animais, como por exemplo, os bretes de contenção.

A iluminação adequada deve existir também em locais onde realizam-se inspeção e procedimentos com os animais. A intensidade luminosa tem que ser distribuída em toda a extensão das instalações, ser suficiente para auxiliar

na execução de atividades, permitir inspeção adequada dos animais, favorecer o bem-estar dos mesmos, e garantir condições de segurança e higienização do ambiente para as pessoas que estão lidando com os animais.

3.1.6. Instalações elétricas

Todas as instalações elétricas devem ser inacessíveis para o gado, adequadamente isoladas, protegidas contra roedores, bem estruturadas, regularmente testadas e de acordo com as normas de segurança de construção locais.

3.1.7. Ruído

O ambiente de criação deve ser livre de ruídos desnecessários, para se evitar o estresse dos animais. Máquinas agrícolas, cães e outras fontes ruidosas devem ser evitadas no ambiente de criação.

3.1.8. Enriquecimento ambiental

O contato com os humanos se faz necessário durante as práticas de manejo. Contatos efetivos durante o aleitamento artificial, o fornecimento de ração, a observação de cio, a inseminação artificial, a ordenha, e a limpeza das instalações podem gerar um estreito relacionamento entre as partes, que, por meio de ações positivas, refletem benéficamente na qualidade do bem-estar animal. Da mesma forma, quando essas atividades são desenvolvidas mecanicamente, ou seja, as oportunidades de contatos são ignoradas pelo homem ou são desenvolvidas com ações negativas, não há condições para elevação do bem-estar animal.

Como bovinos e bubalinos possuem comportamento gregário, o ideal é que eles não sejam privados do contato físico ou ainda visual, com indivíduos da mesma espécie, salvo em algumas exceções. A inserção de objetos nas instalações dos animais que permitam que os mesmos possam expressar seus comportamentos naturais, como por exemplo coçar, tem mostrado resultados positivos como elementos de enriquecimento ambiental.

3.2. Instalações para alojamento

3.2.1. Bezerreiro

O local onde bezerros são alojados deve propiciar a manutenção da sanidade, higiene e deve prover a possibilidade de desenvolvimento do animal em relação ao seu comportamento inato. Atenção especial deve ser oferecida aos animais logo após o nascimento. Bezerros recém-nascidos devem ser mantidos em locais que ofereçam proteção contra as adversidades ambientais como ventos, precipitações, sol, umidade e os mantenha em conforto térmico. Em caso de manutenção de bezerros soltos em piquetes, com ou sem as mães, os piquetes devem possuir áreas de sombreamento naturais ou artificiais e proteção. A lotação do piquete deverá ser estabelecida de acordo com o número de animais definido em função da oferta de forragem, do período de ocupação e da área total disponível. Alimento volumoso ou que estimule o desenvolvimento do trato digestivo deve ser disponibilizado, via pastagem natural ou suplementação.

Em caso de opção pelo manejo de bezerros em abrigos, individuais ou coletivos, deve-se preferencialmente disponibilizar os abrigos em local que permita a incidência de radiação solar pela manhã e a proteção dos bezerros contra ventos dominantes. Os abrigos devem estar em terreno bem drenado, com alguma declividade, de preferência constituído por areia ou uma gramínea de porte rasteiro. A cama deve ser limpa e seca frequentemente, mediante a retirada das fezes. Os animais não devem ser presos diretamente nos abrigos, mas mantidos no local usando-se coleira e corrente com distorcedor, esta última fixada ao solo com auxílio de um vergalhão; e após a saída de cada animal, esse abrigo deve ser limpo, completamente desinfetado e colocado em novo local, antes de ser ocupado por um bezerro recém-nascido.

Os abrigos individuais são estruturas que podem ter dimensões e materiais variáveis, mas, com o objetivo comum da criação de bezerros de forma individualizada e com respeito às condições anteriormente citadas. Os animais devem ser mantidos presos em corrente por meio de coleira, que permitam movimentarem-se para o lado externo do abrigo. Apesar de serem mantidos segregados nesse tipo de instalação, os animais devem ter a possibilidade de contato visual com outros bezerros.

Estes abrigos podem ser construídos com madeira, aglomerado, bambu, lona, telhas de fibrocimento, sapé, ou adquiridos prontos, normalmente de metal ou fibra de vidro. As dimensões podem ser variadas desde que permitam

conforto térmico e espaço suficiente para os bezerros. As medidas sugeridas para esses abrigos são 1,10 m de altura, 1,10 m de largura e 1,80 m de comprimento.

As baias coletivas são estruturas de dimensões variadas que visam a manutenção dos animais em grupos. Estas podem ser parcial ou totalmente cobertas e construídas em diversos materiais. As laterais, cobertura e pisos podem ser feitos em vários moldes, mas, devem manter condições ideais de ambiente. O piso deve permitir a higienização, ser antiderrapante e com bom escoamento. A cobertura deve ser disposta de modo a permitir a proteção e temperatura ideais aos animais. As dimensões sugeridas são de 2,0 m² a 2,5 m² por animal. De acordo com as necessidades experimentais ou de criação, os bezerros podem ser mantidos em baias fechadas e individualizadas (boxes) com dimensões que variam de 1,50 m² a 1,80 m². As baias são construídas em alvenaria e mantidas no interior de galpões. Podem haver variações no modelo construído, mas, este deve garantir condições ideais de ambiente. O piso deve permitir a higienização, ser antiderrapante e com bom escoamento. As paredes e a cobertura devem promover um ambiente de proteção ambiental.

3.2.2. Piquetes

Os piquetes devem ser cercados por materiais que minimizam os riscos de ferimentos aos animais. O terreno dos piquetes deve possuir condições de drenagem, que possibilitem a redução do acúmulo de lama ou esterco durante os períodos de chuvas. A lotação animal deve ser determinada de acordo com a disponibilidade de forragem. Deve-se disponibilizar um mínimo de 15 m² de área por animal. Piquetes de pastagem devem ser periodicamente monitorados quanto a presença de elementos tóxicos ou prejudiciais à saúde dos animais, como carcaças, plantas tóxicas e agentes químicos. Deve-se executar controle de plantas tóxicas, bem como registrar a ocorrência de aplicações químicas em forragens e pastagens e assegurar que sua utilização seja realizada de forma adequada e que os períodos de carência sejam respeitados.

3.2.3. Sistema de confinamento

Todo sistema de confinamento deve garantir que os animais tenham espaço suficiente para se levantar, deitar, alongar e se mover naturalmente, com adequado acesso à alimentação e água, oportunidade de se manterem razoa-

velmente secos e limpos e com contato visual com outros animais. Para a determinação da área de confinamento, devem-se considerar fatores tais como a declividade e o tipo de superfície do solo, o regime de chuvas e possibilidade de escoamento de água, a quantidade de insolação solar incidente no local, o tamanho do grupo a ser lotado, bem como o grau de agressividade e fatores relacionados a isto, como raça, sexo e presença de chifres.

A altura das instalações deve ser adequada para permitir a expressão do comportamento natural, como monta durante o estro. O pé direito deve ser de 3,0 m a 4,0 m na altura do beiral. O telhado deve ter inclinação suficiente para promover a circulação e saída do ar quente e deve ser de material que possibilite menor incidência de radiação solar direta. Ventilação no vão central, seja por meio de aberturas ou por meio de lanternins são recomendadas. As paredes devem ter abertura lateral e serem dotadas de divisórias que não ofereçam riscos aos animais. Recomenda-se piso de concreto frisado no sentido longitudinal, com declividade de 1% a 1,5% para evitar que os animais escorreguem e facilitar o escoamento de águas e de resíduos orgânicos. Em caso de utilização de camas, estas devem ser limpas, secas e confortáveis. Os dejetos devem ser removidos pelo menos uma vez ao dia, devem possuir contenções que não ofereçam riscos de acidentes ou injúrias aos animais, e seu substrato deve ser de material seco e macio.

Em sistemas de criação de bovinos leiteiros, pode-se utilizar galpões do tipo *free-stall*, *tie-stall* e *compost barn*, que são instalações cercadas e cobertas, e que possuem camas individuais (no caso dos dois primeiros) ou não. Enquanto que nos sistemas de *free-stall* e *compost barn* as vacas ficam soltas no galpão e têm livre acesso às áreas de descanso, alimentação e água; em sistemas de *tie-stall*, os animais ficam constantemente presos, geralmente por correntes no pescoço. Animais podem ser mantidos em *free-stall* e *compost barn* por tempo indeterminado, ao passo que recomenda-se sua manutenção em sistemas de *tie-stall* somente quando em período experimental.

Para o fornecimento da dieta aos animais, pode ser utilizada pista de alimentação ou cochos. O dimensionamento da pista deve permitir que todos animais tenham acesso ao alimento, ao mesmo tempo. Os cochos podem ser individuais ou coletivos. A limpeza periódica das instalações é imperativa e as condições de temperatura, umidade e acúmulo de gases devem ser adequadas às condições de bem-estar animal. Nos sistemas de *compost barn*, deve-se realizar o manejo correto do material de compostagem, evitando-se o acúmulo de umidade e o crescimento exacerbado de microrganismos. O material deve ser revolvido pelo menos duas vezes ao dia, e a temperatura da cama deve ser monitorada constantemente, devendo permanecer entre 54°C a 66°C e a 30 cm da superfície da cama.

Os galpões de *compost barn* devem ter no mínimo 7,5 m² de área por animal, enquanto que em sistemas *free-stall*, o número de animais não deve exceder em mais de 20% o número de camas individuais disponíveis. Neste último

tipo de sistema, o acesso às camas se dá na parte posterior, permitindo aos animais entrarem e saírem livremente. Nas camas, uma barra limitadora deve ser instalada na parte superior das contenções, paralela à linha do corredor, obrigando o animal a se afastar toda vez que se levanta, projetando sua parte traseira para fora da baia, e assim evitando que o mesmo defeque ou urine na cama. O posicionamento desta barra limitadora deve permitir que o animal não encontre dificuldades para se levantar ou deitar. As camas devem ser bem dimensionadas, com largura suficiente para o conforto do animal, sem, entretanto, permitir que o mesmo se vire. O comprimento deve ser o mínimo para que a novilha ou vaca, ao deitar-se, permaneça com o úbere e as pernas alojadas internamente ao cubículo, enquanto as fezes e urina são lançadas no corredor de limpeza ou de serviço. Este comprimento é equivalente a uma distância um pouco mais longa que a medida entre os ísquios e o peitoral dos animais a serem lotados. As camas devem fornecer espaço livre para a movimentação da cabeça do animal, quando o mesmo se levanta, deita ou permanece em repouso. A largura das camas deve ser o dobro da largura do osso pélvico das vacas.

Os sistemas de confinamento podem existir em galpões cobertos ou a céu aberto. Nos sistemas de galpões cobertos deve-se prover no mínimo 3,5 m² de área por animal para bovinos e 7,5 m² bubalinos, devendo observar e evitar situações que propiciem competição e aumento da agressividade entre os animais. As condições de piso, cama e ventilação devem ser adequadas. Em caso de confinamento a céu aberto, deve-se prover no mínimo 10 m²/animal, devendo-se exercer extrema observância ao acúmulo de lama e ao sombreamento.

Os sistemas de confinamento de búfalos exigem mais espaço, sendo recomendado 17 m²/animal. Tanto para bovinos como para búfalos, caso haja acúmulo de lama ou ausência de sombreamento mínimo, o espaço por animal deve ser aumentado.

Os animais também podem ser lotados em baias individuais. O tamanho mínimo da largura e do comprimento das baias deve ser a medida da distância entre a ponta do focinho ao início da cauda, quando o animal a ser lotado está em estação. Em caso de baias maternidade, deve haver espaço suficiente para a realização de manobras obstétricas.

3.3. Instalações para manejo

3.3.1. Recepção e expedição de animais

Animais transportados em caminhões devem ser manejados com auxílio de embarcadouro, que deve ser cons-

truído preferencialmente em anexo ao curral de manejo. A parede interna do embarcadouro deve ser afunilada, livre de saliências e elementos pontiagudos e preferencialmente vedada nas laterais. A rampa de acesso deve ser levemente inclinada, sendo que seu último lance deve ser horizontal e o piso da saída do embarcadouro deve ser nivelado com o piso da carroceria do caminhão.

3.3.2. Instalações para ordenha

O curral de espera é o local de recepção dos animais à espera da ordenha. O local deve dispor de sombra para os animais e contar com espaço físico de pelo menos 2,5 m² por animal. Em caso de inabilidade de manutenção da temperatura na faixa térmica ótima, principalmente nos casos de utilização de bovinos leiteiros taurinos, recomenda-se a utilização de sistemas de resfriamento, como ventiladores e nebulizadores, tanto no curral de espera, quanto no curral de ordenha. Além disso, recomenda-se que haja fornecimento de água para ingestão no local onde os animais permanecem anteriormente ou após a ordenha. Recomenda-se que haja possibilidade de 15% do número total de animais do lote a ser ordenhado tenha a possibilidade de acessar o bebedouro.

O curral de ordenha ou estábulo é o local destinado à ordenha dos animais, que pode ser realizada manualmente ou mecanicamente. As instalações devem ser adequadas a cada tipo de ordenha, e devem contemplar suprimento de água limpa, local para manuseio de resíduos, condições adequadas de luminosidade, ventilação e temperatura. A sala deve ser um ambiente limpo, calmo e que proporcione conforto para os animais.

O curral de alimentação destina-se a receber os animais que serão suplementados após a ordenha, ou que são criados em sistemas de confinamento ou semi-confinamento. O comprimento dos cochos deve permitir um espaço de 0,60 m a 0,80 m para cada animal (ou até mesmo maior, em casos de animais com chifres), podendo ser construídos com alvenaria ou com madeira. É importante que parte desse curral seja coberta para evitar acúmulo de água nos cochos e para que os animais se protejam do sol nas horas mais quentes do dia.

3.3.3. Curral de manejo

Para auxílio às atividades de manejo e de procedimentos necessários na rotina de criação e nos experimentos, como aferição dos parâmetros clínicos, aplicação de medicamentos, vacinação, colheita de sangue, inseminação ar-

tifical, exames andrológicos, divisão de lotes, dentre outros, se faz necessária uma estrutura que permita a execução de maneira eficiente, segura e confortável dessas práticas. A estrutura deve apresentar, no mínimo, um curral dividido em compartimentos separados por porteiras para permitir o manejo e apartação dos animais; cobertura total ou parcial para proteção do pessoal e dos animais e corredor do tipo “seringa” para direcionamento dos animais. Dependendo do tipo de sistema e do grau de agressividade dos animais, o curral de manejo deve conter também um tronco de contenção próprio para bovinos, para realização dos procedimentos necessários sem comprometimento do bem-estar dos animais e da segurança do pessoal envolvido. O curral deve ser preferencialmente localizado em terreno elevado e em disposição que facilite a entrada e saída dos animais. As paredes internas do curral, do brete e do tronco de contenção devem ser lisas e livres de saliências ou elementos pontiagudos que possam provocar danos ao animal. É recomendado que as paredes laterais, especialmente do brete e tronco, sejam fechadas para impedir a visualização do ambiente externo pelos bovinos, e assim reduzir reações negativas de medo e ansiedade por parte dos animais. O piso deve ser antiderrapante e de fácil higienização, mas nunca tão rugoso que possa causar lesões de sola e cascos.

A altura do curral para búfalos adultos deve oscilar entre 1,60 e 1,80 m. A distância entre os esteios varia de 1,50 a 2,50 m. O curral deve apresentar peças horizontais (frechais) com 10 cm x 5 cm, no mínimo. Os vãos livres entre as peças de madeira horizontais oscilam de 20 a 30 cm. Até 1 m de altura, porém, não devem ultrapassar os 25 cm.

3.3.4. Maternidade

Maternidade é o local onde os animais serão alojados durante o período que antecede o parto. Os animais devem ser levados para o piquete maternidade alguns dias antes da data prevista para o parto. A área de maternidade deve estar localizada onde os animais possam ser frequentemente observados e monitorados. O local escolhido para ser o piquete maternidade deve ser bem drenado, não possuir terreno acidentado, ser sombreado, proporcionar alimento e água de boa qualidade, possuir fácil visualização e acesso, enfim proporcionar um ambiente confortável para o animal. A maternidade deve prover uma área isolada para o parto, visto que as fêmeas naturalmente se isolam neste período. Um piquete limpo é uma área desejável para maternidade, podendo-se utilizar também baias coletivas ou individuais. Deve-se garantir que a área de maternidade tenha espaço suficiente para permitir qualquer assistência necessária durante o parto, e prover ambiente confortável, seco e sanitariamente adequado para a mãe e a cria. A maternidade deve ser bem ventilada, mas sem correntes de ar fortes. A iluminação suplementar deve estar disponível. Deve prover área

coberta para garantir sombra e abrigo contra chuva.

3.3.5. Instalações para touros

As baias destinadas aos touros devem ser localizadas em local que possibilite aos animais a visibilidade e o contato com o som e o odor de outros animais do rebanho. A instalação deve contar com uma área de repouso, na proporção de 1 m² para cada 60 kg de peso vivo do animal, além de uma área de exercício de, no mínimo, 25 m². Se a monta ocorrer dentro desta instalação, esta deve ter altura mínima que permita tal evento sem danos ao touro, e além disso, deve ter piso antiderrapante. As instalações também devem ter um caminho de fuga, para a segurança das pessoas que lidam com os touros.

3.4. Instalações especiais

3.4.1. Aclimatação e isolamento

A quarentena tem como objetivo evitar a entrada de novos agentes patogênicos no rebanho. Ela é realizada por meio do isolamento dos animais recém-chegados em um ambiente separado dos demais, com o intuito de realizar de exames laboratoriais e também acompanhar clinicamente os animais em caso de incubação de alguma doença. A quarentena deve ser aplicada quando houver introdução de animais de outras propriedades ou quando houver animais acometidos por enfermidades que apresentam risco de transmissão a animais saudáveis. A duração do período de quarentena, a localização, a posição de baias individuais ou outras estruturas usadas para a quarentena devem ser determinadas por profissionais de veterinária visando o bem estar e a segurança sanitária. O ideal é que o local seja afastado do sistema de produção e separado por barreira física (vegetal). Durante a quarentena os animais e as instalações devem ser submetidos a tratamento contra ecto e endoparasitos. O local escolhido deve propiciar fácil limpeza, desinfecção e vazio sanitário entre os lotes. Os equipamentos utilizados nesse setor devem ser mantidos para uso exclusivo.

O manejo dos animais em quarentena inicia-se ao recepcionar um novo lote ou mesmo um único animal. Nesse momento, deve ser feita a inspeção para verificar as condições gerais, presença de traumas visíveis e ectoparasitas, ou

qualquer anormalidade visível. O exame clínico dos animais e a realização de exames complementares é mandatória e é recomendável a vermifugação e as imunizações de interesse da instalação que recebe os animais. Ao longo do período da quarentena devem ser procedidas avaliações sempre que necessárias e a observação dos animais deve ser diária. O consumo de alimento e água deve ser monitorado.

3.4.2. Área para procedimentos cirúrgicos, piquete e baia hospitalar

As cirurgias devem ser realizadas, preferencialmente, em locais fechados e de uso adequado para esta finalidade, dotados de brete de contenção.

As baias hospitalares são compartimentos destinados ao abrigo de animais de grande porte; sua área deve ser compatível com o tamanho dos animais que abriga, nunca inferior a 10 m², sendo a menor dimensão no plano horizontal nunca inferior a 3 m, com pé direito mínimo de 3 m, o piso deve ser resistente ao pisoteio e a desinfetantes, provido de escoamento de águas servidas ligado diretamente a rede de esgotos ou a canaleta coletora externa provida de grade protetora.

Os piquetes hospitalares devem, preferencialmente, abrigar um animal de cada vez, e serem dotados de cercas de arame liso, bebedouro, cocho coberto e sombrite.

3.4.3. Área de alojamento para animais geneticamente modificados

As áreas de alojamento e manejo de bovinos e bubalinos geneticamente modificados devem ser fisicamente separadas das áreas de alojamento dos outros animais, e a entrada das instalações devem ser mantidas trancadas, sendo o acesso restrito às pessoas credenciadas. Os detalhes construtivos e as recomendações gerais de manejo para manutenção do bem-estar animal devem ser baseadas nas recomendações gerais deste capítulo, porém, obedecendo necessariamente as exigências estabelecidas pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CNTBio) para estudos com animais geneticamente modificados.

3.4.4. Gaiolas metabólicas

São instalações destinadas a ensaios metabólicos, para controle do consumo de alimentos e coleta de fezes e urina. O uso de gaiolas metabólicas necessariamente reduz as atividades sócio-comportamentais dos animais. Portanto, as mesmas não devem ser utilizadas como instalação de alojamento, sendo reservadas apenas para estudos metabólicos. Os animais devem ser mantidos em gaiolas metabólicas exclusivamente durante o período experimental. O período total de permanência em gaiolas metabólicas não deve exceder 30 dias. As gaiolas metabólicas devem apresentar dimensões suficientes para conter o animal em seu interior, permitindo os movimentos de levantar e deitar. O material utilizado para sua confecção deve ser resistente, sem oferecer riscos aos animais. O piso deve oferecer tração adequada e conforto aos animais.

3.4.5. Câmaras respirométricas e câmaras climáticas

São câmaras onde os animais são alojados para mensuração das trocas respiratórias (câmaras respirométricas) ou para o estudo do efeito das variáveis climáticas, como temperatura e umidade, isoladas ou em conjunto, na fisiologia animal (câmaras climáticas). A câmara climática deve ser equipada com sistemas de exaustão que permitam a renovação e recirculação do ar no interior da mesma, evitando o acúmulo de gases. As câmaras respirométricas apresentam sistemas automáticos para controle da ventilação. Esses sistemas requerem alarmes e aberturas de emergência para permitir a entrada de ar, em situações de falta de energia elétrica ou acúmulo de dióxido de carbono no interior da câmara. Os sistemas de aquecimento, refrigeração e controle do fluxo de gases devem ser aferidos antes da introdução dos animais nas câmaras.

Bovinos e bubalinos devem permanecer confinados no interior das câmaras somente durante o período necessário para avaliação experimental. Se possível, deve-se permitir o acesso dos animais a piquete adjacente no período noturno. Se o desenho experimental exigir que os animais permaneçam no interior da câmara por 24 horas diárias, os animais deverão ser levados a se exercitarem três vezes por semana. O material utilizado para sua confecção deve ser resistente, sem oferecer riscos aos animais. O piso deve prover tração adequada para evitar escorregamento, e não ser excessivamente abrasivo, para evitar desgaste excessivo dos cascos e lesões de escoriação. Recomenda-se o uso de barreiras de contenção para permitir que o técnico entre na câmara e permaneça protegido. Tal contenção deve ser

confeccionada com material que não ofereça risco de injúrias ao animal e ao funcionário.

As câmaras devem apresentar dimensões que permitam que o animal facilmente deite-se, levante-se e adote postura normal de descanso, e tenha contato visual com outros animais. As câmaras também podem apresentar visores que permitam que os técnicos visualizem os animais em seu interior. No caso de câmaras climáticas, os animais devem ser contidos por baias individuais, com bebedouros e oferta constante de água, e dimensionadas de acordo com o tamanho do animal. Se a permanência dos animais for superior a dois dias, será necessário prover as baias com camas e comedouros individuais.

3.5. Instalações de apoio

3.5.1. Apoio administrativo

Recomenda-se que o local de manutenção e utilização de bovinos e bubalinos para ensino e pesquisa seja provido de instalação de apoio administrativo, para dar suporte aos procedimentos diversos de controle, que devem ser realizados para o cumprimento da legislação, bem como para se alcançar eficiência ótima nos processos de manutenção e utilização dos animais, de maneira a preservar seu bem-estar. Dentre os fatores a serem controlados incluem-se a entrada, saída e o número de animais do rebanho; os procedimentos de ensino e pesquisa nos quais os animais estão envolvidos, e a documentação de autorização da utilização dos mesmos para estes fins, emitida pelo órgão responsável. Além disso, controle de estoque de produtos químicos, alimentos e outros insumos deve ser realizado para se promover a oferta dos mesmos de maneira constante.

Sugere-se um existe um manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) com procedimentos de rotina bem como instruções sobre alojamento, manejo, manuseio, contenção, biometodologia e cuidados médicos veterinários dos animais.

3.5.2. Depósito de produtos químicos e medicamentos

Os produtos químicos e medicamentos para uso animal devem ser estocados em local apropriado, com condições controladas de temperatura e ventilação. O acondicionamento e o descarte dos produtos, e de suas embalagens,

devem ser realizados de forma segura, a fim de evitar sua utilização inapropriada, ou a contaminação de indivíduos, alimentos e ambiente. O prazo de validade deve ser periodicamente observado.

3.5.3. Depósito de alimento

O local destinado à manutenção de alimentos/ingredientes e componentes das dietas dos animais deve ser um ambiente que proteja a integridade e qualidade dos alimentos, de modo a impedir a contaminação e/ou a proliferação de microrganismos e proteger contra a alteração ou danos ao recipiente ou embalagem. Os alimentos, principalmente aqueles granelizados, devem ser avaliados quanto à presença de insetos, fezes de roedores, mofo e bolores e quanto a danos causados por processamentos, por calor ou presença de objetos estranhos. Durante todo o período do armazenamento deve ser exercida inspeção sistemática dos alimentos/ingredientes, a fim de que somente sejam utilizados aqueles aptos para o consumo animal e sejam cumpridas as especificações de armazenamento, quando existirem. Devem ser observadas as instruções para a armazenagem, o prazo ou data de validade e a temperatura de conservação, quando estabelecidas pelo fabricante e constantes dos rótulos, devem ser rigorosamente respeitadas e alimentos/ingredientes em desacordo com os mesmos não devem ser utilizados. Sugere-se adotar o sistema PVPS (primeiro que vence primeiro que sai) para utilização dos alimentos/ingredientes. A disposição dos produtos deve obedecer à data de fabricação, sendo que os produtos de fabricação mais antiga são posicionados, de forma a serem consumidos primeiramente. Não devem ser armazenados alimentos junto a produtos químicos, de higiene, de limpeza e perfumaria, para evitar contaminação ou impregnação com odores.

O local de armazenagem deve ser fresco, ventilado e iluminado; sem, contudo, permitir que os alimentos recebam luz solar direta. Os pisos deverão ser construídos sem inclinação para permitir a construção de pilhas altas sem o risco de tombamento, e deve estar em nível elevado em relação à rua para permitir o escoamento da água. As instruções sobre empilhamento, quando existentes, devem ser rigorosamente respeitadas. Os alimentos não devem estar em contato com o piso e sim apoiados sobre estrados ou prateleiras das estantes, que devem ter afastamento de 60 cm do forro e 35 cm das paredes, sempre que possível, sendo 10 cm o mínimo aceitável. O teto deve ser isento de vazamentos e goteiras; deve ser evitada a utilização de telhas que permitam a ocorrência de respingos. As portas e acessos devem ser mantidos fechados e com abertura máxima de 1,0 cm do piso. Se necessário, deve-se instalar cortinas de ar ou cortinas plásticas. A temperatura de armazenamento dos insumos/ingredientes deve ser compatível com a recomendação do fabricante.

4. Procedimentos de manejo

Em sistemas intensivos de criação, bovinos e bubalinos devem ser monitorados diariamente. Em caso de criações em sistemas extensivos, os animais devem ser observados, no mínimo, semanalmente. Os animais devem ser manejados com calma e de forma a se promover condições mínimas de estresse. Os manejadores devem cuidar para que os bovinos e bubalinos sejam conduzidos de forma tranquila, a um ritmo confortável e evitar utilizar recursos que produzam barulhos fortes para movê-los, ou bater nos animais de forma que possa machucar. Varas e bandeiras podem ser usadas como ferramentas na lida com os animais, mas não devem ser usadas para bater nos animais. Deve-se levar em consideração que bovinos e bubalinos têm campo de visão amplo e podem se assustar ao ver objetos em movimento, mesmo que a longas distâncias e que possuem audição aguçada e, dessa forma, não devem ser submetidos a elevados níveis de ruídos.

Os olhos dos bovinos em posição mais lateral, como na maioria das espécies que são presas potenciais, diferentemente daquelas consideradas predadoras, que possuem os olhos numa posição mais frontal (como ocorre nos seres humanos). A localização lateral permite um campo visual bem mais amplo (345°) que o humano (180°). Por outro lado, não permite boa visão tridimensional, resultante da combinação das imagens colhidas pelos dois olhos formando uma só imagem no cérebro. Os bovinos apresentam grande parte da visão monocular, que ocorre quando as imagens captadas pelos olhos direito e esquerdo são caracterizadas de forma independente no cérebro, o que resulta em dificuldade para o animal avaliar o ambiente quanto à profundidade, que é melhor avaliada quando as informações captadas pelos olhos direito e esquerdo formam uma só imagem no cérebro, caracterizando a visão binocular. Tal condição deve ser considerada durante o manejo, uma vez que situações que exijam dos bovinos a capacidade de discernir entre uma sombra ou um buraco ou mesmo a altura de um degrau podem gerar dificuldades ou atraso no desenvolvimento dos trabalhos.

Um conceito importante que deve ser considerado é o de distância de fuga, que é a distância mínima que o animal permite a aproximação de humanos antes de iniciar o deslocamento (fuga). Portanto, para conduzi-los para frente deve-se posicionar dentro da zona de fuga em posição caudal a partir do ponto de equilíbrio, até um ângulo de 45° em relação a este ponto (tendo em conta o corpo do animal, este ponto estaria localizado logo após a paleta). O posicionamento ainda mais caudal, entre 45° e 60° em relação ao ponto de equilíbrio, geralmente resulta na paralisação

do deslocamento, por se aproximar da área cega, o que leva o animal a virar a cabeça para manter a pessoa em seu campo visual, parando de andar ou, no caso de não parar, começa a andar em círculos. Nessa situação deve-se tomar a posição mais frontal em relação ao ponto de equilíbrio, pois a tendência é o animal se mover para trás.

Esses conhecimentos são de grande utilidade prática no manejo dos bovinos, por exemplo, quando é necessário trabalhar com os animais e eles precisam ser conduzidos para o tronco ou brete. Nesta situação, geralmente a pessoa se coloca dentro da zona de fuga do animal, e o deslocamento para a frente e para trás têm reflexos diretos no comportamento dos animais, que também se deslocam (para frente e para trás) numa tentativa de se afastar quando a pessoa se aproxima. Essa situação pode ser muito estressante para os animais e, nos casos mais graves, o movimento de vai-e-vem pode ficar mais intenso levando os animais a pular sobre os outros ou deitar dentro do brete. A postura ideal da pessoa em uma situação como esta é a de iniciar o movimento a partir do tronco, conduzindo o primeiro animal para dentro do mesmo logo após ter passado seu ponto de equilíbrio; logo em seguida continua o deslocamento até o último animal. Assim, a combinação do deslocamento do primeiro animal para frente e da pessoa para trás facilita o movimento dos demais. Para evitar que os animais recuem ao chegar ao final do brete a pessoa deve sair da zona de fuga, repetindo a ação quantas vezes forem necessárias. Vale lembrar que a zona de fuga do animal é percebida principalmente pela visão e desta maneira, para que se possa sair do campo de visão do animal a pessoa poderia se afastar do bovino, ou, se a instalação (brete) for construída com as laterais totalmente fechadas bastaria sair do campo visual dos animais.

4.1. Contenção e imobilização

Realiza-se a contenção de bovinos e bubalinos de forma a prevenir injúrias físicas tanto aos animais quanto às pessoas que realizam procedimentos com os animais. Animais adultos podem ser contidos de forma mecânica (manualmente, em bretes, troncos de contenção, ou pela utilização de cordas) ou por contenção química. A contenção por estímulos elétricos não deve ser realizada.

A contenção de bezerros deve ser feita de forma gentil, segurando-os pela virilha e pelo pescoço. No caso de necessidade de deitar o bezerro, não se deve jogá-lo ao chão, mas sim deslizá-lo, apoiando-o na perna, até que o mesmo se encontre em decúbito. A contenção para manter o bezerro deitado deve ser feita sem força exagerada. Para levantá-lo deve-se recolher as patas do mesmo, deixando-o em posição que facilite seu retorno à estação.

Os bretes e troncos são as alternativas mais seguras e indicadas para a contenção de animais adultos. Não devem ser colocados animais de faixas etárias, ou peso, muito diferentes em bretes ou seringas de contenção, para evitar esmagamento ou sufocamento dos animais mais novos ou leves. Bretes para manejo de bubalinos devem ter largura maior que 750 a 800 cm.

A contenção utilizando-se cordas deve ser realizada por profissionais treinados, tomando-se os cuidados descritos a seguir. Ao se utilizar focinheira, deve-se garantir que os animais respirem normalmente. Os nós das laçadas devem ser confeccionados para permitir fácil soltura, liberando-se o animal rapidamente, em caso de emergência. Ao se derrubar o animal, é imprescindível que haja monitoramento para que o mesmo não bata a cabeça no chão, e para que a queda não ocorra bruscamente. Não se deve usar compressão abdominal por cordas em touros, ou vacas em estágio avançado de gestação. O animal deve permanecer em decúbito lateral, com o lado esquerdo voltado para cima. As cordas devem ser amarradas de forma a conter eficientemente os animais sem, contudo, impedir sua respiração ou causar danos à pele destes. Os operadores devem sempre tomar cuidado com as atitudes bruscas dos animais, principalmente os coices.

A contenção química, por meio de sedativos, somente pode ser realizada por médico veterinário, em concorrência com o uso de procedimentos anestésicos. Procedimentos cirúrgicos realizados somente com o uso de sedativos não devem ser conduzidos.

4.2. Identificação

Os procedimentos de marcação e identificação devem seguir a legislação vigente, e, preferencialmente, serem realizados em animais jovens. Em geral, estes procedimentos incluem o uso de brincos numerados e outras formas de marcação, como tatuagem e marcação a quente ou frio, os quais podem ou não ser associados em um mesmo indivíduo. Entretanto, algumas particularidades, como animais de pelagem escura ou excesso de pêlos, tornam esses tipos de marcação laboriosos e sujeitos a erros durante a transcrição manual dos dados.

Para contrapor essas desvantagens, a utilização de dispositivos eletrônicos como transponders (RFID), balanças eletrônicas, GPS, leitores de códigos de barras, e sensores de biometria, entre outros, representam a forma mais segura e eficiente para identificação de animais, pois eliminam erros na transcrição manual de dados, bem como a necessidade de contenção do animal.

A marcação a quente (com uso de ferro incandescente) é, em alguns casos, obrigatória, como na identificação de fêmeas vacinadas contra brucelose ou diagnosticadas como sororreagentes à enfermidade. Este procedimento deve ser realizado somente nas regiões anatômicas permitidas pela legislação em vigor, de forma rápida e com o animal bem contido. Em bubalinos, a marcação a ferro quente pode ser realizada nos chifres, e somente em animais adultos. A marcação a frio (criogênica), feita com ferro resfriado em nitrogênio líquido, ou etanol e gelo seco, é uma alternativa à marcação a ferro quente, bastante interessante para bubalinos.

Quando utiliza-se brincos, a colocação destes deve ser realizada entre as duas nervuras superiores da orelha, assim como as tatuagens, que podem ser feitas neste mesmo local da orelha ou na prega caudal. Os equipamentos de perfuração para a realização dos procedimentos devem estar limpos e afiados. Após a realização de qualquer um desses procedimentos, deve-se monitorar o local da ferida e administrar medicação adequada para evitar a instalação de miíases ou infecções.

4.3. Transporte

O sistema de transporte deve ser planejado de modo a garantir que os animais não sejam submetidos a estresse ou desconforto desnecessários. Os funcionários envolvidos no transporte deverão receber treinamento adequado para executar as tarefas necessárias.

O transporte de bezerros deve ser realizado quando os mesmos apresentam agilidade e resistência suficientes para a caminhada ou a permanência em veículo durante o trajeto, o que ocorre após uma ou duas semanas de vida. Em casos de sistemas de corte, o vínculo entre mãe e filho deve ser formado previamente ao transporte, para evitar risco de abandono do bezerro. O deslocamento, quando realizado por caminhada, deve ser feito em pequenos lotes e de forma lenta, e após o percurso, deve-se assegurar que os bezerros estejam junto às suas mães.

No caso de transporte realizado em veículo, as instalações para embarque devem conter uma rampa com leve inclinação, devem ser mantidas limpas e bem iluminadas, com o mínimo de sombras e contrastes. A rampa de embarque deve proporcionar uma boa aproximação do veículo para evitar que o gado escorregue e caia. As rampas de embarque devem ser apropriadamente projetadas e com degraus espaçados para tração. Os caminhões utilizados no transporte devem ser apropriados para a finalidade de transportar animais. Devem estar em boa condição de conservação, tanto mecânica para evitar a necessidade de manutenções durante o percurso, quanto da carroceria, sem que

haja buracos no assoalho, lascas de madeira soltas, parafusos com pontas salientes, excesso de matéria orgânica no piso. É importante lembrar que o transporte de cargas vivas está sujeito a normas do Conselho Nacional de Trânsito.

Bovinos e bubalinos, incluindo bezerros, devem ter acesso à água até o momento do transporte e acesso ao alimento até pelo menos cinco horas antes do embarque no caminhão. Indivíduos que não são familiarizados uns com os outros não devem ser misturados, da mesma forma, animais com chifres não devem ser misturados aos animais mochos. Recomenda-se que se formem os lotes de transporte anteriormente a este procedimento. Após o embarque, deve-se aguardar 20 minutos antes de se iniciar a viagem, para que os animais se adaptem à gaiola.

Deve-se embarcar o número correto de animais por compartimento de carga, evitando-se principalmente a superlotação. Segue o quadro informando as bases para o esse cálculo.

Peso vivo em quilogramas	Espaço linear - metro/animal
250	0,33
300	0,37
350	0,41
400	0,44
450	0,47
500	0,51
550	0,54
600	0,57
650	0,60
700	0,63
750	0,65
800	0,68
850	0,71
900	0,73
950	0,76
1000	0,78

Fonte: Adaptado de Tseimazides (2006)

Para búfalos o espaço tem relação com a duração da viagem, de modo que em viagens com duração superior a três horas deve-se respeitar 2 m² por animal e em viagens curtas de 1,0 a 1,25 m² por animal.

O transporte deve ser feito em horários com menor incidência de sol, a velocidade do caminhão não deve ser alta e o tempo de transporte deve ser planejado para minimizar o tempo de viagem e de espera dos animais. As paradas devem ser feitas regularmente, de acordo com a legislação vigente e os animais devem ser deixados descansando em local sombreado.

4.4. Manejo nutricional e da água

4.4.1. Oferta de alimento

A habilidade do animal para expressar seu potencial genético de crescimento, reprodução, lactação, longevidade, combate a patógenos e ao estresse está diretamente vinculada ao seu estado nutricional. Elaboração de dieta balanceada com formulação declarada e reprodutível, garante a qualidade dos resultados dos experimentos conduzidos com esses animais, além de assegurar o seu bem-estar. Não apenas os aspectos nutricionais da dieta devem ser observados, mas também o controle da presença de patógenos, substâncias tóxicas e ou anti-nutricionais, bem como a quantidade e qualidade da água ofertada. As dietas podem ser classificadas levando em conta o grau de refinamento de seus ingredientes, em dietas com ingredientes naturais (concentrado comercial) e dietas purificadas (quimicamente definidas ou puras). Na medida do possível, devem ser oferecidos aos animais alimentos com composição variável na sua apresentação desde que adequados à espécie.

Bovinos e bubalinos devem receber alimento em quantidade e qualidade suficientes para atender às suas necessidades, como preconizado em guias de alimentação destas espécies. Tais cuidados devem ser especialmente considerados em sistemas de criação onde os animais são mantidos exclusivamente em pastagens, devendo-se garantir que a forragem seja suficiente para suprir as exigências nutricionais. O alimento deve ser oferecido de maneira a minimizar a contaminação por urina, fezes e outros materiais.

Além de atender as necessidades dos animais, a alimentação deve proporcionar o exercício do comportamento normal destes, como a oferta de alimento fibroso para que possam ruminar, bem como alterações abruptas na dieta, ou suspensão da alimentação por mais de 24 horas devem ser evitadas.

Alimentos volumosos e concentrados devem ser fornecidos de forma equilibrada, permitindo que ocorra, além da ruminação, a ingestão de quantidade e qualidade adequadas de nutrientes, evitando-se assim a ocorrência de alterações metabólicas decorrentes do desbalanceamento destes dois componentes. A quantidade deve ser ajustada com regularidade, para tanto é importante observar o volume residual de alimentos diariamente nos cochos.

Os cochos de alimentos podem ser construídos de diferentes materiais, como tambores, manilhas, madeira, desde que possam conter o volume de alimentos (volumoso) que serão oferecidos aos animais. Poderão ser colocados até a uma altura máxima de 40 centímetros do solo (o fundo do cocho). O importante é que tenham 60 a 70 cm/animal

adulto, permitindo que todos os animais possam alimentar-se ao mesmo tempo. Caso os animais sejam menores o tamanho pode ser reduzido proporcionalmente.

O sal mineral é outro componente importante da dieta, além de outros suplementos nutricionais, em caso da sua deficiência no pasto. É recomendado que o cocho de sal mineral esteja próximo da fonte de água, e seja construído de forma a disponibilizar espaço suficiente para que todos os animais tenham acesso livre, reduzindo assim a competição. Destaca-se ainda que a limpeza dos cochos deverá ser diária, pois, além do risco de contaminação por fezes e urina, há possibilidade de que restos de alimento fermentem e causem quadros de intoxicação.

Todos os alimentos e ingredientes recebidos na propriedade devem ser registrados, a fim de se manter um controle sobre a qualidade e a utilização dos mesmos. Conforme legislação vigente, alimentos que contenham proteínas ou gorduras derivadas de mamíferos não devem ser fornecidos a bovinos e bubalinos.

4.4.2. Oferta de água

Além da alimentação, todos os animais, inclusive os lactentes, devem ter diariamente acesso livre a uma fonte de água de boa qualidade e fresca, devendo ser esta regularmente analisada e protegida. Os requerimentos de água dos bubalinos são cerca de 20% a 30% maiores que os requerimentos dos bovinos e os períodos de restrição de água não devem exceder 12 horas.

Sempre que possível, devem ser evitadas fontes naturais de água para dessedentação, por questões sanitárias e ambientais. Entretanto, quando for necessário o uso de aguadas naturais deve-se garantir que a água fornecida possua boa qualidade, bem como sejam avaliados possíveis impactos ambientais associados a assoreamento, deposição de matéria orgânica, e risco potencial de transmissão de doenças. Além disso, as leis locais, estaduais e federais devem ser consideradas quando houver a necessidade de uso de fontes naturais de água.

Os bebedouros devem ser posicionados a uma altura confortável para os animais acessarem a água. A distância máxima percorrida por um bovino ou bubalino para o alcance de água deve ser em torno de 600 metros e todo animal deve ter a oportunidade de ingerir água à vontade pelo menos uma vez ao dia. Assim como os alimentos, a água também deve ser oferecida em condições que permitam a menor contaminação por urina, fezes e outros materiais. Os bebedouros devem ser mantidos limpos e quando forem munidos de sistemas automáticos, estes devem ser verificados frequentemente para assegurar o fluxo normal de água.

Os bebedouros não devem molhar ou encharcar as áreas de descanso e o acesso a eles deve ser de concreto ou outro material antiderrapante, quando possível. No pasto, a área em volta dos bebedouros deve ser monitorada para evitar que fique excessivamente molhada ou lamacenta e, se necessário, deve ser considerado o uso de bebedouros sobre anteparos de concreto.

4.5. Manejo reprodutivo

As atividades básicas de manejo reprodutivo de rebanhos bovinos e bubalinos objetivam principalmente a produção de novos indivíduos, bem como a indução de lactação, em decorrência do parto, em fêmeas bovinas e bubalinas, para a realização de atividades que exijam o trabalho com animais lactantes. Estas atividades deverão ser realizadas de forma a minimizar a ocorrência de distresse, doenças e/ou perdas de animais ou gestações. Abaixo, serão abordadas algumas atividades e a conduta de manejo necessária para garantir a integridade e fornecer as melhores condições possíveis de bem-estar aos animais. Os búfalos podem se comportar como animais poliéstricos estacionais ou anuais, dependendo de quão distantes são criados em relação à linha do Equador. Sendo a latitude determinante no comportamento reprodutivo desta espécie. Quanto menores as latitudes, maior sua tendência à sazonalidade.

4.5.1. Acasalamento

Nos procedimentos de acasalamentos de animais, algumas práticas devem ser preferencialmente adotadas, para a redução de fatores que podem levar à diminuição do bem-estar animal. As fêmeas jovens (novilhas) somente devem ser liberadas para a reprodução quando apresentam peso e estatura adequados. Para se evitar problemas ao parto (distocia), em caso de uso de monta natural, os touros devem apresentar tamanho compatível com vacas e novilhas. No caso de uso de sêmen de touros avaliados geneticamente (por inseminação artificial ou transferência de embriões) recomenda-se a escolha de animais que apresentem informações que indiquem melhor facilidade de parto principalmente quando o procedimento for realizado em novilhas. Além disso, os animais devem estar alojados em instalações adequadas para se evitar acidentes ou lesões no momento da monta, principalmente com relação ao piso e altura de coberturas. As datas de acasalamento devem ser anotadas, para a correta previsão da data do parto e, conseqüente, manejo adequado da fêmea em período de transição.

4.5.2. Monta natural

Nos sistemas de monta natural, deve-se atentar para a adequação da relação do número de touros e vacas em cada lote. Fatores como maturidade sexual, idade, capacidade de monta, estado sanitário e nutricional dos touros devem ser levados em consideração para a determinação da proporção touro:vaca. Nos casos de haver necessidade da utilização de mais de um touro por lote, deve-se utilizar touros de idade e peso semelhantes, que preferencialmente tenham sido criados em proximidade. Não se recomenda misturar touros aspados com touros mochos. Nos casos dos bubalinos, a associação de dois touros no mesmo lote deve ser evitada.

4.5.3. Biotécnicas da reprodução

Em termos gerais, as principais biotécnicas da reprodução incluem a inseminação artificial (IA), a produção in vivo de embriões por meio da múltipla ovulação e da transferência de embriões (MOET) e a produção *in vitro* de embriões pela fecundação *in vitro* (FIV). Na atualidade existem biotécnicas que englobam processos técnicos de menor eficiência e desafiadores sob os pontos de vista ético e de bem-estar animal, como a clonagem animal por transferência nuclear (TN), a engenharia genética, a edição gênica, e a biologia de células-tronco, entre outras. Tais tecnologias estão interligadas entre si e com as ferramentas moleculares atualmente disponíveis, sendo completamente dependentes das gerações anteriores. A aplicação destas biotécnicas da reprodução pode entrar em conflito com preceitos éticos e de bem-estar animal.

Em ensino e pesquisa a aplicação das biotécnicas da reprodução em animais de produção tem facilitado o avanço do conhecimento, da formação de recursos humanos, com um significativo impacto econômico e social na agropecuária. As atividades de ensino com animais, de maneira ampla, vêm sendo instrumentais na formação técnica e profissional de pessoal dos mais diversos níveis educacionais, que compõem a cadeia produtiva para atender as demandas do agronegócio. O emprego de animais no ensino da reprodução animal proporciona a disseminação do conhecimento envolvendo manejos, procedimentos, métodos (ou técnicas) estabelecidas e de importância universalmente reconhecida. Já as atividades em pesquisa com animais buscam transpor os limites do conhecimento em temas ainda não esclarecidos, tanto em aspectos de ciência básica quanto aplicada, e que nem sempre estão associados à produção animal *per se*, a exemplo de pesquisas em engenharia genética para fins biomédicos. Compreende-se, as-

sim, a necessidade da definição de diretrizes de uso ético e responsável de biotécnicas da reprodução em animais com diferentes finalidades.

Recomenda-se portanto que todas as atividades em ensino e pesquisa envolvendo biotécnicas da reprodução em bovinos e bubalinos estejam dispostas em protocolos de uso de animais por parte das equipes técnicas institucionais, sob responsabilidade técnica do Médico Veterinário, de acordo com a estrutura física e com o ambiente, e conforme os procedimentos em questão, podendo ser estruturados em procedimentos operacionais padrão (POP).

A) Procedimentos diagnósticos

De acordo com as características dos animais, os procedimentos devem ser planejados de forma a reduzir o tempo de exame e a exposição animal a condições não habituais, minimizando o estresse, salvaguardando a saúde e o bem-estar. Deve-se também avaliar o risco-benefício de cada procedimento, balizando o ganho técnico em relação ao potencial prejuízo ao animal.

Os procedimentos físicos semiológicos básicos para fins de diagnóstico quando da aplicação de biotécnicas da reprodução em bovinos e bubalinos incluem a inspeção visual e a palpação, individualmente ou combinadas.

A inspeção pode ser realizada em ambiente aberto, com menor impacto ao animal, ou mediante contenção. Dentre aspectos da inspeção em ambiente aberto, inclui-se, por exemplo, a observação da manifestação de estro em fêmeas submetidas à inseminação artificial (IA) ou transferência de embriões (TE). A manifestação do estro é uma expressão fisiológica do comportamento animal, em especial em bovinos, que deve ser realizada em ambiente que não comprometa a integridade física e não altere o comportamento animal. Já os aspectos de inspeção sob contenção devem também ser avaliados em relação ao ambiente e estrutura física, sempre salvaguardando a integridade física e de bem-estar do técnico e do animal.

A palpação retal é procedimento diagnóstico essencial em reprodução animal, sendo o procedimento mais comumente aplicado em bovinos e bubalinos. Este procedimento requer contenção adequada do animal, podendo ser realizada em canzil simples para animais dóceis e de manejo e contato corriqueiro com humanos, ou em estrutura de contenção mais robusta, envolvendo centro de manejo com currais, bretes e troncos de contenção, para animais de menor docilidade ou de menor frequência de contato e manejo com humanos.

B) Procedimentos ginecológicos e andrológicos

Os procedimentos ginecológicos mais comumente realizados fêmeas bovinas e bubalinas são avaliação ginecológica (por palpação retal e ultrassonografia transretal), inseminação artificial, implantação (transferência) de embriões, lavagem uterina para a coleta de embriões e punção ovariana guiada por ultrassom. Estes procedimentos devem ser realizados por profissional treinado, sob condições de higiene, e a manipulação retal e do trato genital deve ser realizada de forma gentil. Em caso de novilhas ou fêmeas pequenas, deve-se atentar para a compatibilidade entre tamanho do animal com o tamanho/espessura dos instrumentos utilizados (como espéculos vaginais, transdutores de ultrassom) ou o braço do técnico. A implantação de embriões pelo método cirúrgico (paralombar) deve ser realizada sob anestesia local (subcutânea). Os procedimentos de lavagem uterina para a coleta de embriões e punção ovariana guiada por ultrassom devem preferencialmente ser conduzidos sob anestesia epidural.

A avaliação andrológica dos machos inclui o exame geral, exame dos órgãos genitais externos pela inspeção e palpação e dos internos são examinados pela palpação retal ou ultrassonografia, avaliação do comportamento sexual e a colheita e a análise do sêmen. Durante a realização de exame andrológico em bubalinos ou bovinos adultos, de comportamento dominante, irascível ou não dócil, deve-se evitar a colocação e mais de um animal nas mesmas instalações, sem um condicionamento prévio, pois pode ocorrer briga entre eles, acarretando lesão corporal e distresse.

C) Colheita de sêmen para fins diagnósticos e de tecnologia de sêmen

Tecnicamente, a colheita de sêmen em bovinos e bubalinos pode ser implementada por métodos mais fisiológicos, com auxílio da vagina artificial, ou por métodos que causam certo desconforto ao animal, como a eletroejaculação ou massagem das ampolas dos canais deferentes, que são procedimentos que requerem instalações apropriadas e contenção adequada do animal.

A utilização da vagina artificial, por se tratar de um procedimento que mimetiza a cópula, em todas as suas fases, se executado tecnicamente de forma correta, não deverá infligir dor, sofrimento, desconforto ou prejuízos ao bem-estar animal. Não obstante, tal procedimento deve ser executado em instalações apropriadas e sem risco ao animal ou aos técnicos. O procedimento pode ser de evento único, ou de repetição, como em centrais de tecnologia de sêmen.

Normalmente, animais utilizados para a coleta por vagina artificial são condicionados à coleta *per se*, em treinamento de rotina, em ambiente calmo, limpo, seguro e amplo, sendo tal experiência de treino do animal importante no sucesso do procedimento. Sienta-se que a última etapa na fase pós-copulatória envolve a memória do processo,

estando normalmente associado à memória positiva, o que possibilita ao animal adquirir condicionamento ao procedimento. Por questões de comportamento animal e temperamento, tal prática pode ser frustrada. Não obstante, a prática para animais submetidos a manejo e de temperamentos menos dóceis deve ser ponderada, devendo-se avaliar o dano-benefício, em havendo indícios de situações de risco de acidentes e traumas.

No âmbito do bem-estar animal, a eletroejaculação e massagem das ampolas dos canais deferentes, são procedimentos que podem causar sofrimento ou desconforto animal de grau leve a moderado, normalmente se situando em um grau de intensidade leve (dor, sofrimento ou desconforto leves), também por serem de curta duração, no limiar inferior de dor, não comprometendo ou causando prejuízo ao bem-estar ou às condições gerais dos animais. A gravidade e o potencial prejuízo estão na dependência das características do animal, tais como espécie, raça, idade, criação, temperamento/docilidade, hábito de manejo, entre outras.

Cuidados na manipulação do reto, e na adequação da vagina artificial, principalmente relacionado à temperatura da água a ser utilizada, devem ser tomados a fim de evitar lesões físicas ao animal. O uso do eletroejaculador para a coleta de sêmen em bovinos é aconselhável em situações onde o examinador encontra-se em risco de lesão pelo animal não contido, e quando outros métodos de coleta não são eficientes para a obtenção do ejaculado em volume ou com características desejáveis. No caso de opção pelo uso do eletroejaculador, o operador responsável pelo acionamento do equipamento deve estar ciente de que o manejo inadequado pode causar dor ao animal e, portanto, a manipulação do equipamento deve ser feita de forma a aplicar o estímulo elétrico o mais gentilmente possível. A avaliação do comportamento do animal como excesso de vocalização, decúbito no tronco, ejaculação ausente ou em menor quantidade, deve ser feita constantemente, quando da realização deste procedimento, a fim de se adequar a intensidade e duração do estímulo elétrico. No caso dos búfalos, é desaconselhável o uso de eletroejaculador em animais acima de cinco anos, em vista da possibilidade de ocorrência de reação violenta desses animais ao estímulo elétrico, com risco de lesões aos animais e ao pessoal que realiza o procedimento

D) Produção in vivo de embriões

Os procedimentos que envolvem a manipulação de animais para a produção in vivo de embriões incluem a seleção de fêmeas doadoras e receptoras, a realização de exames ginecológicos, implementação de protocolo de sincronização hormonal do ciclo estral e de superestimulação de crescimento folicular (superovulação), observação de mudanças de comportamento pela exteriorização do estro, inseminação artificial (IA) e coleta de embriões.

E) Produção in vitro de embriões

A produção *in vitro* (PIV) de embriões envolve diversas tecnologias e procedimentos, podendo mais comumente ser realizada pela fecundação *in vitro* (FIV) ou pela clonagem por transferência nuclear (TN). Ambos os processos necessitam de oócitos para a produção de embriões, os quais podem ser obtidos post-mortem, de ovários de abatedouro, ou in vivo, pela aspiração folicular de fêmeas doadoras vivas. Neste último caso, o procedimento mais amplamente utilizado é a aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassonografia, também denominada de *ovum pick-up* (OPU).

Fêmeas ou machos podem ser submetidos a procedimentos cirúrgicos simples, com a biópsia tecidual, para a coleta de tecido para isolamento de células somáticas para uso na clonagem por TN, ou mesmo para o isolamento de células-tronco de origem mesenquimal. Em geral, tais procedimentos exigem a sedação/tranquilização do animal, em contenção adequada, sendo compatível com grau de severidade leve, podendo ser moderado dependendo do tipo de procedimento e do tipo de tecido a ser coletado.

F) Inseminação artificial (IA)

A inseminação artificial é o processo de deposição de sêmen no trato reprodutivo da fêmea com o propósito da concepção pela fecundação in vivo do(s) oócito(s) ovulado(s) pela fêmea. A IA é um procedimento realizado normalmente por palpação retal, com a transposição de um instrumento (aplicador de IA) contendo o sêmen através da cérvix da fêmea inseminada, sob regime de contenção adequada, conforme acima. Por ser um procedimento rápido, a IA é normalmente classificada como grau de severidade leve, em limiar inferior de dor. A IA pode ser um evento único, individual, ou de rebanho, aplicada em momento fisiologicamente adequado à espécie, após a observação da manifestação do estro, podendo ocorrer em repetições frequentes de manejo de contenção a cada ciclo estral, de acordo com o sucesso ou não da concepção.

G) Transferência de embriões (TE)

A transferência de embriões é o processo de deposição de embrião(ões) no trato reprodutivo de uma fêmea receptora de embrião com o propósito da concepção de embriões produzidos in vivo ou *in vitro*, em geral de outras doadoras, em sincronia de dia do ciclo/estádio de desenvolvimento embrionário. A TE é um procedimento que exige maior capacitação técnica do que a IA, sendo realizado normalmente por palpação retal, com a transposição de

um instrumento (inovulador) contendo o(s) embrião(ões) através da cérvix da fêmea, com a condução do instrumento para a extremidade do corno uterino ipsilateral ao ovário contendo pelo menos um corpo lúteo compatível com o dia do ciclo. É um procedimento que deve ser realizado sob regime de contenção adequada, mas por rápido, é normalmente classificado como grau de severidade leve, em limiar inferior de dor. A TE pode ser um evento único, individual, ou de rebanho, aplicada em momento fisiologicamente adequado à espécie, após a observação da manifestação do estro, podendo ocorrer em repetições frequentes de manejo de contenção a cada ciclo estral, de acordo com o sucesso ou não da concepção.

H) Manejos adicionais após a IA e TE

Após a IA ou TE, as fêmeas podem ser submetidas ao diagnóstico de prenhez por palpação retal e/ou por ultrassonografia, definição do sexo fetal e gemelaridade por ultrassonografia, em períodos fisiologicamente compatíveis de acordo com a espécie.

A PIV de embriões, em especial pela clonagem por TN, está comumente associada a problemas pré e pós-natais, com potencial impacto na saúde e no bem-estar do conceito, do neonato e da mãe. O monitoramento da gestação é prática habitual em tais circunstâncias, o que exige manejos adicionais das fêmeas ao longo da prenhez, que apresentam grau de severidade leve, em limiar inferior de dor. Por vezes, condições clínicas adversas que podem ocorrer durante a gestação e no período periparto exigem intervenções clínicas e cirúrgicas, como a cesariana, que pode aumentar o grau de severidade para moderado ou severo, e o limiar de dor para superior, podendo haver a necessidade de realização de eutanásia, sob circunstâncias extremas. Bezerros clonados, por exemplo, apresentam alta morbidade e mortalidade no período hebdomadal imediato e mediato, exigindo atendimento clínico ambulatorial e mesmo hospitalar, em unidades de terapia intensiva, para o necessário suporte à sobrevivência do animal. Dadas tais possibilidades, equipes envolvidas na produção de clones, por exemplo, pelo alto risco e possibilidade de moderado a severo grau de severidade, com potencialidade de limiar superior de dor e desconforto por parte da mãe e do neonato, devem certificar que todas as condições clínicas, ambulatoriais, diagnósticas, cirúrgicas e de atendimento intensivo estejam disponíveis para o atendimento adequado destes animais.

4.5.4. Ovariectomia

A ovariectomia deve ser feita com contenção adequada, preferencialmente em tronco ou brete, em condições de higiene, sob sedação, seguida de anestesia e analgesia, e conduzida por profissional treinado. Pode-se utilizar os métodos transvaginal ou por laparotomia via flanco esquerdo. O método transvaginal não deve ser realizado em fêmeas com gestação acima de 120 dias ou paridas há menos de 30 dias, ou em casos de ovários anormalmente grandes. Quando da escolha desta última técnica, deve-se certificar que as vias de acesso (retal e vaginal) são grandes o suficiente para permitir a manipulação e deve-se utilizar instrumental adequado e empregar técnica eficiente para garantir a hemostasia do pedúnculo ovariano. Deve-se realizar acompanhamento pós operatório, com aplicação de antibioticoterapia.

4.5.5. Castração de machos

A castração de machos pode ser realizada pela remoção cirúrgica dos testículos (orquidectomia), interrupção do fluxo sanguíneo dos testículos ou por meio farmacológico. Os procedimentos de castração por meio farmacológico incluem a imunoesterilização e a esterilização química. Apesar de emergente, ainda requerendo maiores investigações, o uso da imunoesterilização tem sido crescentemente apontado como método de escolha para castração, quando leva-se em consideração o aspecto de bem estar animal. Este procedimento é realizado pela aplicação de fármacos, por via sistêmica, que suprimem a atividade do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).

A esterilização química é realizada por meio de administração local de agentes químicos que geram inflamação, fibrose e dano físico definitivo às estruturas do aparelho reprodutor masculino, incluindo-se testículos, ductos deferentes e epidídimos. A interrupção do fluxo sanguíneo dos testículos, por meio de estenose do cordão espermático, é realizada utilizando-se emasculador (burdizzo), não sendo recomendado o uso de anéis de borracha. Os métodos de castração por cirurgia, interrupção de fluxo sanguíneo e esterilização química (local) são passíveis de provocar estresse e dor e portanto, a anestesia local deve ser utilizada previamente aos procedimentos.

4.5.6. Cirurgias para preparo de rufiões

Rufiões são animais que apresentam comportamento masculino de detecção de estro e monta, mas que não possuem a capacidade de fecundar. A produção de rufiões por métodos cirúrgicos pode ser realizada pelos seguintes métodos: deferentectomia, epididimectomia, remoção do ligamento apical dorsal do pênis, desvio lateral do pênis, fixação da flexura sigmóide do pênis e fixação da túnica albugínea do pênis. Os métodos de escolha, levando-se em consideração o bem-estar animal são a deferentectomia ou a epididimectomia. Em todos esses casos, a cirurgia deve ser realizada sob sedação seguida de anestesia local e com acompanhamento pós-operatório.

4.6. Manejo de fêmeas em fase de transição e durante o parto

A fase de transição (que compreende as três semanas anteriores e posteriores ao parto) é um período geralmente associado ao estresse em vacas e novilhas, principalmente devido a eventos de reagrupamento social, alterações físicas e hormonais associadas ao parto e lactação e ao aumento abrupto nos requerimentos nutricionais. Desta forma, as práticas de manejo dos animais durante o período de transição devem a redução do estresse inerente do mesmo. Deve-se evitar a movimentação intensa de fêmeas durante o período final da gestação para a prevenção a ocorrência de partos prematuros. É importante que as fêmeas, em período iminente ao parto, sejam observadas com maior frequência, a fim de se oferecer assistência rápida e adequada caso haja distocia ou outros problemas no momento do parto.

As visitas aos pastos-maternidade devem ser realizadas ao menos duas vezes por dia. Recomenda-se a alocação de fêmeas em piquetes maternidade, que devem ser estabelecidos em local calmo, com incidência mínima de ruídos artificiais, protegido do acesso de predadores, mas em local de fácil acesso para monitoramento constante dos animais. A área destinada ao parto deve ser bem drenada, os buracos devem ser tapados e cercas e bebedouros devem estar funcionais. Em caso do parto ocorrer em baia, a mesma deve ser limpa e ter dimensões que permitam o animal ficar em decúbito lateral, com conforto. Em caso de necessidade, o parto deve ser assistido por indivíduos treinados a prestar tal tipo de assistência. Em geral, a intervenção deve ser imposta cerca de 30 a 60 minutos após a externalização dos pés ou focinho do feto, ou imediatamente quando detectados problemas de má apresentação ou anomalias fetais, ou outras complicações. Fetos somente devem ser tracionados se houver dilatação cervical, e a tração não deve ser realizada com força superior ao esforço de dois homens.

A realização das manobras deve ser feita por pessoal treinado, e, em caso de procedimentos obstétricos complexos (manobras de maior dificuldade, cesariana ou fetotomia), deve-se solicitar a intervenção de médico veterinário. Todos os procedimentos de auxílio ao parto devem ser realizados sob condições de higiene. Fêmeas que apresentem dificuldades de levantar após o parto devem ser mantidas em locais limpos e confortáveis (sobre chão macio ou cama), protegidas contra condições climáticas adversas, e recebendo alimentação e água.

4.7. Manejo de bezerros

Em sistemas de criação de bovinos e bubalinos, os procedimentos de manejo de bezerros são, em sua maioria, realizados de acordo com a finalidade do uso desses animais. Nos sistemas de produção de leite, os bezerros são mantidos separados de suas mães, definitivamente (em sistemas intensivos de produção de leite) ou na maioria do dia, entrando em contato com a mãe somente no momento de ordenha. Já nos sistemas de gado de corte, os bezerros permanecem com suas mães até o momento da desmama, que geralmente ocorre dos seis aos oito meses de idade. Independentemente do tipo de sistema, os procedimentos de manejo de bezerros devem ser feitos de forma a garantir a mínima interferência negativa na imunidade desses animais.

A manutenção dos bezerros em local limpo e seco, na ausência de condições extremas de temperatura, sob trato gentil que os resguarde de estresse, bem o fornecimento de colostro nas primeiras horas após o nascimento e a desinfecção do umbigo são condutas fundamentais, que devem ser realizadas, para a manutenção da imunidade e consequente boa condição de saúde e bem-estar dos bezerros.

4.7.1. Cuidados iniciais

A ingestão de colostro deve ser realizada nas primeiras horas de vida. O bezerro deve mamar pela primeira vez até três horas após o nascimento. A impossibilidade de permanecer em pé, tanto da vaca quanto do bezerro, além da conformação do sistema mamário da vaca (tetos grandes e úberes pendulosos) podem levar a impossibilidade ou dificuldade para a realização da mamada. Indícios de que a amamentação não ocorreu incluem ausência de distensão abdominal do bezerro (indicando que não houve ingestão de alimento), nervosismo e inquietação da mãe (principalmente no caso de primíparas). A quantidade adequada de colostro para os bezerros, tanto de búfalos quanto bovinos

é de, aproximadamente, 1,5 a dois litros por refeição, durante os dois primeiros dias.

Durante o monitoramento frequente do parto maternidade, devem-se observar os fatores que levam à dificuldade ou impossibilidade de amamentação ou os indícios de que esta não ocorreu, intervindo-se em caso de necessidade, no intuito de se garantir a ingestão de colostro durante as primeiras 12 horas de vida. A interferência pode ser realizada na maternidade, em caso de dificuldades menores e de índole dócil da vaca, ou então, vaca e bezerro devem ser conduzidos a um curral para que a interferência seja feita de maneira efetiva e segura.

Os bezerros não devem ser induzidos a realizarem longas caminhadas, devendo ser, nestes casos, transportados de maneira confortável e segura. Em sistemas de manejo de raças menos dóceis, deve-se garantir que a vaca não tenha possibilidade de agredir a pessoa que realiza o transporte do bezerro. Em caso da impossibilidade da amamentação natural, o bezerro recém-nascido deve receber colostro em mamadeira ou sonda gástrica. Em caso de necessidade do uso de sonda, o procedimento deve ser realizado com bastante cuidado, para se evitar lesão de mucosa ou colocação errada da sonda, nas vias respiratórias. O colostro pode ser proveniente da própria mãe, de outra vaca recém-parida, ou de banco de colostro, onde o mesmo deve ser armazenado congelado e sob boas condições de higiene. A quantidade de colostro a ser fornecida deve ser estipulada como no mínimo 10% do peso do bezerro, até em quantidades para que o bezerro mame à vontade.

Além do fornecimento de colostro, os cuidados iniciais devem incluir a desinfecção do umbigo, a identificação e outros procedimentos que se fizerem necessários. A desinfecção do umbigo deve ser realizada em todos os bezerros de forma a se controlar a contaminação do mesmo, e evitar processos infecciosos graves que podem até levar à morte. Em sistemas de produção e leite, a desinfecção deve ser realizada o mais próximo possível do momento do nascimento e repetida diariamente, até o ressecamento do umbigo.

Em sistemas de corte, para que não haja interferência no estabelecimento do vínculo entre mãe e filho, a desinfecção do umbigo, bem como os outros procedimentos (como identificação, pesagem e administração de vermífugo) devem ser realizados no dia seguinte ao parto. A desinfecção deve ser realizada pela imersão do umbigo em solução antisséptica adequada. Nos casos em que o umbigo é longo, pode-se cortá-lo previamente, para que ele permaneça com cerca de cinco centímetros, usando-se tesoura limpa e afiada. Em sistemas de criação extensivos, com o uso de raças menos dóceis, o manejo inicial deve ser realizado por no mínimo duas pessoas experientes, uma realizando os procedimentos com os bezerros e outra mantendo a vaca afastada, protegendo o companheiro de sofrer agressão.

4.7.2. Desmama

Em sistemas de corte, ou em sistemas extensivos de produção de leite, a desmama dos bezerros pode ser realizada abruptamente ou pela redução parcial das horas diárias de contato entre mãe e filho. É importante ressaltar que o procedimento da desmama é naturalmente estressante para os animais, podendo causar interferência negativa no sistema imune dos mesmos. Portanto, deve-se preconizar a realização da desmama em momentos em que não existem outros fatores desafiantes para o sistema imune do bezerro (como a vacinação e o transporte). O momento da desmama pode variar de acordo com o tipo de sistema, mas deve ocorrer numa idade compatível com a capacidade do bezerro de ingestão de outros alimentos para o alcance dos requerimentos nutricionais.

Em sistemas intensivos ou semi-intensivos de produção de leite, a suspensão da oferta de leite aos bezerros não deve ocorrer antes que eles estejam ingerindo quantidades adequadas de concentrado inicial para a categoria, que equivale a consumo de aproximadamente 1% do peso vivo do animal. Em geral, preconiza-se que os bezerros sejam desaleitados aos 60 dias de vida, ou quando atingirem o dobro do seu peso ao nascimento. Recomenda-se a manutenção dos animais nos bezerreiros por pelo menos 10 dias após a suspensão do fornecimento do leite, para que possam ser frequentemente observados durante a adaptação à nova dieta.

4.7.3. Alimentação

O aleitamento dos bezerros pode se dar de forma natural, quando os animais permanecem (em tempo integral ou parcial) com as mães (ou amas de leite) ou pode ser fornecido de maneira artificial. Em sistemas de produção leiteira, preconiza-se que os bezerros permaneçam integralmente com suas mães após o nascimento por, no mínimo, 12 horas no caso de bovinos, e por três dias no caso de bubalinos. Os bezerros bubalinos são mais dependentes da ingestão de leite do que os bezerros bovinos. Por isso, quando possível, preconiza-se um manejo inicial para que os bezerros bubalinos mamem em amas de leite até os 30 dias de idade. Uma ama de leite pode ser disponibilizada para amamentar até quatro bezerros.

O aleitamento artificial, que ocorre em sistemas intensivos de produção de leite, pode ser realizado utilizando-se mamadeiras ou baldes, oferecendo-se leite ou substituto. Não se deve fornecer leite de vacas com mastite ou que receberam antibiótico. No caso da oferta de substituto do leite (sucedâneo), este deve ter sua formulação condizente com as

necessidades nutricionais dos bezerros, e ausência de ingredientes não recomendados ou que causem perturbações na fisiologia dos animais. A quantidade diária de leite ou sucedâneo a ser oferecida deve ser de, no mínimo, 10% (ideal 20%) do peso do bezerro nos dias iniciais ao nascimento, sendo esta quantidade diminuída gradativamente, à medida que outros alimentos são introduzidos. Até os 40 dias de vida, o fornecimento deve ser feito em dois momentos diários, e a partir desse momento pode ser realizado somente uma vez ao dia, na parte da manhã. Os baldes e mamadeiras devem ser limpos diariamente. Desde o primeiro dia de vida, os bezerros devem ter acesso a água limpa e fresca, durante todo o dia. Bebedouros devem ser frequentemente monitorados quanto à vazão e a qualidade da água nos mesmos.

Os bezerros devem ser alimentados com dieta saudável e que seja adequada à sua idade, peso, e às necessidades comportamentais e fisiológicas. Deve ser fornecida em quantidade suficiente para mantê-los em boa saúde e deve satisfazer as necessidades nutricionais da categoria. Nos sistemas em que os bezerros são mantidos a pasto, a transição da alimentação exclusiva com leite para o pastejo se faz naturalmente. É importante garantir que exista oferta de forragem em qualidade e quantidade suficientes para suprir a demanda nutricional dos bezerros. O sal mineral deve ser ofertado à vontade. Em sistemas intensivos de criação de bezerros, deve-se fornecer alimento concentrado a partir do terceiro dia de vida, e este alimento deve ser trocado diariamente. O consumo deste alimento inicia-se por um mínimo e deve ser aumentado gradativamente, até cerca de 1 kg a 1,5 kg por dia no momento da desmama. Em caso de ausência de suplementos minerais no concentrado, estes devem ser também oferecidos separadamente. A alimentação volumosa deve ser oferecida a partir dos 40 dias de vida. Os cochos para o fornecimento de concentrado e sal mineral, bem como os baldes para fornecimento de leite, devem estar em altura compatível com o tamanho dos bezerros e devem ser ajustados de acordo com o crescimento destes.

4.8. Manejo na ordenha

Em sistemas de produção de leite, todas as fêmeas em lactação devem ser ordenhadas rotineiramente, por meio dos procedimentos padronizados de ordenha, em horários regulares. A ordenha pode ser realizada de forma manual ou mecanizada, e preferencialmente pelos mesmos ordenhadores. A condução dos animais ao local de ordenha e o manejo dos animais neste local, devem ser realizados com calma, sem agressão aos animais. Recomenda-se que as primíparas sejam conduzidas ao local de ordenha por três semanas anteriores ao parto, ao final da ordenha dos outros animais, para a sua aclimatação com o ambiente e o manejo. A aceitação de búfalas à ordenha mecânica é geralmente

mais difícil, se comparada a dos bovinos. No entanto, o uso de banhos de água ou outros procedimentos para acalmar os animais antes da ida ao local de ordenha pode ser benéfico para a aclimação dos animais a este procedimento.

No procedimento de ordenha manual deve-se assegurar que o técnico realize o procedimento com segurança, recomendando-se amarrar as pernas traseiras das vacas durante a ordenha. Deve-se evitar a superlotação de animais no curral de ordenha, ou a mistura de lotes de animais, que pode levar a episódios de agressão a outros animais ou aos ordenhadores. Quando esse procedimento é realizado com a presença do bezerro, deve-se efetuar correta contenção do mesmo, para a manutenção do conforto da vaca, bezerro e ordenhador, e para se evitarem acidentes.

Nos casos em que a ordenha é realizada de forma mecanizada, é imprescindível que o equipamento esteja com a manutenção e higienização adequadas, e que seja manuseado corretamente. As teteiras devem ser gentilmente encaixadas, e a pressão para a retirada das teteiras deve ser feita somente após a redução do vácuo. A higienização deve ser realizada após cada procedimento de ordenha, de acordo com as recomendações do fabricante do equipamento.

Quando se realiza ordenha manual ou mecanizada, mas especialmente esta última, cuidados devem ser tomados para prevenção ou controle de mastites, como a manutenção do ambiente sempre limpo, lavagem das mãos por parte do ordenhador e a imersão dos tetos em soluções desinfetantes. Além disso, deve-se preconizar que não haja leite residual. As fêmeas com mastite clínica e as que estão em tratamento ou em período de carência devem ser ordenhadas por último. Além disso, deve-se manejar as fêmeas de forma que elas permaneçam em estação por, no mínimo, 30 minutos após a ordenha.

4.9. Descorna

A descorna é um procedimento que auxilia no manejo dos animais, geralmente com o objetivo de reduzir o risco de acidentes com outros animais e operadores, evitar lesões no couro, reduzir danos às instalações e facilitar o transporte, pois inibe o comportamento de dominância. Além disso, animais sem chifres requerem menor espaço nos cochos para alimentação, e são mais facilmente manejados em canzís. O momento ideal para este procedimento é quando o botão córneo do chifre se torna proeminente, em torno de 15 a 30 dias de idade em bubalinos ou de 15 a 60 dias em bovinos. Quando realizada no período citado, a descorna pode ser executada por meio de cauterização química (uso de pomadas) ou física (por calor) do botão córneo.

No procedimento de cauterização utilizando-se pasta química, deve-se prevenir que a pasta escorra do local de

aplicação e queime a pele do animal. Portanto, este procedimento deve ser evitado em condições climáticas úmidas com chuva. No caso da cauterização por calor, utiliza-se ferro quente ou cauterizador elétrico. Este último procedimento deve ser realizado sob anestesia local. Nos dois casos, a medicação analgésica deve ser utilizada em caso de desconforto prolongado. Os animais devem ser observados continuamente por uma hora após o procedimento. A ferida deve ser monitorada diariamente e tratada de acordo com a necessidade. Os métodos de serrar os chifres, usar anéis de borracha e outros métodos não desenvolvidos para o propósito de descorna não devem ser utilizados.

A remoção dos chifres em bovinos com mais de seis meses de idade deve ser realizada apenas por veterinário, usando a combinação de sedativo e anestesia local e anti-inflamatório. Todos os cuidados pós-cirúrgicos recomendados devem ser tomados após a cirurgia de remoção dos chifres. A descorna a partir dos seis meses de idade não deve ser um procedimento de rotina.

4.10. Remoção de tetos extranumerários

Quando necessário, recomenda-se que o procedimento seja realizado entre a segunda e a oitava semanas de idade. Deve-se fazer higienização e desinfecção da área do úbere, anteriormente ao procedimento. Caso a remoção seja feita após a oitava semana de vida, recomenda-se o uso de anestesia local.

4.11. Fistulização

A técnica de fistulação de bovinos e bubalinos é imprescindível nos estudos de fisiologia e metabolismo ruminal. A fistulação consiste em procedimento cirúrgico realizado sob anestesia, caracterizado pela exteriorização de determinada porção do trato digestório do ruminante, com aberturas feitas desde a pele até a região do órgão a ser exteriorizada. Após abertura e perfeita cicatrização do local, é implantado um tubo de silicone (ou de outro material inerte), para manter o orifício vedado e permitir acesso ao interior do órgão. Todas as medidas de antisepsia e anestesia, bem como cuidados pré e pós-operatórios, devem ser devidamente seguidas. O procedimento deve ser indolor para não causar sofrimento ao animal, que deve ser acompanhado intensivamente até a cicatrização completa, só então sendo utilizado pela pesquisa. A partir daí, os cuidados veterinários são contínuos e permanentes, estando ou não o animal em experimentação. Deve-se utilizar o mínimo de animais necessários para as avaliações científicas, respeitando-se

princípios éticos da experimentação animal.

4.12. Manejo sanitário

Locais de criação e manutenção de bovinos e bubalinos utilizados para pesquisa devem ser providos de um programa organizado e eficaz de controle sanitário, com o intuito de atendimento às normas regionais e nacionais, bem como de prover aos animais condições propícias de saúde. Todos os animais do rebanho devem ser identificados individualmente, e frequentemente observados, por técnico qualificado, para o diagnóstico de possíveis enfermidades. O programa sanitário deve ser coordenado por médico veterinário, e deve incluir atividades de diagnóstico, prevenção, tratamento e controle de doenças relevantes.

O manejo sanitário é composto pelo conjunto de medidas, cuja finalidade é proporcionar aos animais ótimas condições de saúde, evitando, eliminando ou reduzindo a incidência de doenças para que o rebanho possa expressar melhor seu potencial genético e aumentar a produção. Juntamente com o manejo nutricional e o reprodutivo, faz parte das bases para a obtenção um rebanho sadio e produtivo. Outros objetivos dos programas de manejo sanitário são o bem-estar animal, a redução na poluição por dejetos animais, a prevenção de zoonoses e a redução dos contaminantes e resíduos em produtos de origem animal. Para tal, devem ser consideradas as recomendações técnicas do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE) e Organização Pan-Americano de Saúde/Organização Mundial de Saúde (OPAS-OMS).

As medidas de prevenção e controle de doenças de bovinos e bubalinos incluem a limitação e o controle de entrada de animais, pessoas, material biológico (como sêmen, embriões, entre outros) ou fômites; a manutenção de divisas seguras, a execução de programas de vacinação e de controle de endo e ectoparasitos, conforme a legislação, os fatores regionais e as necessidades da unidade de ensino ou de pesquisa.

O uso de fármacos antiparasitários de antibióticos deve ser realizado de acordo com a legislação vigente e com os guias dos fabricantes. Cuidados devem ser tomados para garantir que não haja contaminação e intoxicação dos animais por estes fármacos, bem como das pessoas que executam a aplicação dos mesmos, ou até mesmo dos alimentos dos animais que podem entrar em contato com os fármacos durante o seu armazenamento ou aplicação. Durante a aplicação de antiparasitários, devem ser utilizados equipamentos de proteção e segurança (EPI) adequados, e os procedimentos devem ser realizados em locais de fácil circulação de ar. Os animais devem ser monitorados durante e após

a aplicação para a detecção de quadro agudo de intoxicação. Caso este ocorra, os animais devem ser prontamente assistidos.

Durante as condutas de vacinação e aplicação de produtos químicos e medicamentos, deve-se procurar estabelecer uma interação homem x animal positiva, de forma a minimizar o estresse dos animais e o risco de acidentes aos mesmos e às pessoas envolvidas nestas atividades. Os produtos a serem utilizados nos animais devem ser aprovados nos termos da legislação vigente, e sua utilização deve ser feita de acordo com orientação técnica, devendo-se observar cuidadosamente a dose recomendada e o período de carência do produto, considerando os resíduos no leite e na carne. As pessoas envolvidas nas atividades de manejo sanitário devem estar cientes do calendário de atividades e dos procedimentos de diagnóstico e tratamento inicial de doenças, para que a interferência, quando necessária, seja realizada com rapidez e eficiência. Deve-se implementar anotação sistemática das atividades de manejo sanitário do rebanho de forma a se controlar o uso de produtos químicos, vacinas e medicamentos, bem como de se monitorar sistematicamente o estado de saúde dos animais.

5. Procedimentos Clínicos e Cirúrgicos

5.1. Exame clínico

O exame clínico deve ser feito em etapas que incluem: identificação ou resenha, anamnese ou histórico, exame físico e exames complementares, que incluem os laboratoriais e de imagem. Os métodos semiológicos diretos e indiretos incluem a inspeção, palpação, percussão, auscultação e olfação. Todos devem ser realizados considerando as características fisiológicas e comportamentais da espécie, de modo a produzir o mínimo de dor e estresse.

A inspeção consiste na visualização do animal e de partes do seu corpo e, se possível, deve-se observar o seu comportamento em grupo e isolado.

A palpação deve ser voltada para a avaliação da consistência, conteúdo, sensibilidade e temperatura. Na avaliação da sensibilidade deve-se aferir se no momento da pressão da estrutura o animal manifesta algum sinal de dor como mugir, gemer ou esboçar alguma reação de defesa como retirada do membro, coices e cabeçadas. Nos bovinos e bubalinos a palpação retal é o um método muito usado para o exame dos sistemas digestivo e gênito-urinário, que sempre que possível deve ser completada pela avaliação ultrassonográfica. Palpação indireta pode ser realizada em bovinos com um bastão para avaliar a sensibilidade do retículo e com pinça para determinar a sensibilidade do casco. Diferentes tipos de sondas também podem ser usadas para determinar a presença de obstruções.

A percussão consiste no método de percutir uma determinada estrutura observando o som produzido. A percussão pode ser direta, com os dedos, ou indireta (dígito-dígito ou martelo-plexímetro). A finalidade é a localização topográfica de determinadas vísceras e a sua avaliação funcional. Pode ser útil na pesquisa de sensibilidade e no exame neurológico para avaliar reflexos tendíneos.

A auscultação consiste na avaliação dos ruídos que os diferentes órgãos produzem espontaneamente. Pode ser realizada diretamente, colocando o ouvido em contato com determinada parte do corpo do animal, ou indiretamente utilizando o estetoscópio. Deve ser feita em local silencioso e os animais não devem estar se alimentando.

Minimamente, o exame físico deve constar da avaliação do estado geral, incluindo os parâmetros de estado nutricional, excitabilidade e atitudes características, que devem ser pesquisadas no animal em estação, em locomoção e em decúbito. A tomada das funções vitais deve iniciar com as que produzem menos estresse, iniciando com a frequ-

ência respiratória e cardíaca, passando para os movimentos ruminais e finalizando com a temperatura. O horário e as condições ambientais podem alterar esses parâmetros, por isso a necessidade de sejam executadas sempre no mesmo horário. Na sequência devem ser avaliadas as mucosas oculares, nasal, bucal, vaginal e prepucial. Nos ruminantes podem ser clinicamente acessados e avaliados os linfonodos submandibulares, pré-parotídeo, pré-escapular, pré-crural e retro-mamário nas fêmeas. O estado de hidratação deve ser determinado considerando a aparência das mucosas, o tempo de preenchimento capilar e o turgor cutâneo. O exame deve ser finalizado com a avaliação específica dos sistemas de interesse.

5.2. Administração de substâncias

5.2.1. Aclimatação do animal e preparação do local

É recomendado dar tempo para que os animais se familiarizem com o tratador/pesquisador para minimizar o estresse. Se a administração causar sofrimento ou dor significativa ou se a substância administrada for conhecida por causar dor, considerar a possibilidade de sedação. Ocasionalmente, o local de administração pode exigir corte do pelo e higienização da pele com administração de analgésicos ou anestésicos locais para prevenir a dor.

5.2.1. Volume de administração e tamanho da agulha

Deve-se usar a via de administração recomendada pelo fabricante e o volume não deve exceder as diretrizes recomendadas. No uso intramuscular recomenda-se aplicar volume que não exceda 10 ml por músculo. O ideal é intercalar a face de aplicação (lado direito e lado esquerdo). Todas as substâncias administradas parenteralmente devem ser estéreis e aquecidas até a temperatura ambiente ou corporal para evitar possível infecção ou irritação no local de administração e queda na temperatura corporal. Considerar também o pH e a tonicidade da substância administrada, bem como a natureza química (solubilidade, viscosidade, odor, sabor, estado de perigo, sensibilidade à luz). Dar preferência a substâncias/produtos químicos de grau farmacêutico, para evitar efeitos colaterais indesejados devido à presença de substâncias tóxicas.

Usar o menor tamanho de agulha aplicável ao procedimento. As agulhas recomendadas para a aplicação intra-

muscular e endovenosa são as agulhas 40x12 e 40x16 e para a aplicação subcutânea são a 15x15, 15x18, 10x10 e 10x15. Agulhas e seringas devem ser esterilizadas e usadas apenas uma vez, dando-se preferência às descartáveis. É necessário pesar o animal para calcular a dose correta e o volume de administração.

5.2.3. Frequência e intervalo de administração

Deve-se limitar a frequência da administração tanto quanto possível. Para administrações repetidas, considerar a substituição das administrações diárias por bomba osmótica implantável, que pode fornecer liberação contínua de substância por um período de até um mês. Para o uso prolongado da via intravenosa é indicado a colocação de cateteres, cuja principal vantagem consiste na manutenção prolongada do acesso intravenoso, suprimindo dessa forma, a necessidade de repetidas e inconvenientes venopunções. O tempo de permanência do cateter é variável e de maneira geral, nenhum cateter deve permanecer posicionado na mesma veia por mais de 72 horas, a não ser que sejam cateteres de uso prolongado. Os cateteres mais usados em grandes animais são os de diâmetro 14G e 16G. Sempre que possível, deve-se utilizar o cateter de menor diâmetro, pois quanto menor o trauma vascular, menores serão as possibilidades de ocorrência de complicações.

5.2.4. Vias de administração

A via de administração compreende a forma como o medicamento entrará em contato com o organismo, para exercer sua atividade farmacológica. De acordo com algumas condições, como o objetivo a ser alcançado, as propriedades do medicamento, ou as condições clínicas do paciente, haverá a indicação para uma via de administração específica, que apresentará suas vantagens e desvantagens. Podem ser classificadas em dois grandes grupos, enteral e parenteral. A via enteral inclui as vias oral e a retal. No grupo da via parenteral fazem parte as vias intravenosa, intramuscular e subcutânea. Nos ruminantes também podem ser usadas as vias tópica, intramamária, intravaginal e intraruminal.

A) Via tópica ou local

É utilizada para a aplicação de medicamento diretamente sobre a área afetada. Existem várias formas de aplicação por essa via, tais como o uso de aerossol, pomadas, imersão, entre outras. A imersão consiste em mergulhar

o local a ser tratado no medicamento. Esse método é mais utilizado para tratamento de umbigos e desinfecção de tetos no momento da ordenha. O método de aplicação *pour on* consiste em aplicar o produto diretamente sobre a pele do dorso do animal. É utilizado para o controle dos principais parasitas internos e externos, tornando-se necessário conciliar o uso do método de controle com o manejo dos animais e das pastagens.

A pulverização é uma prática comum nas propriedades rurais, sendo utilizada para controle e prevenção de carrapatos, moscas, bernes, piolhos entre outros. Existem diversos equipamentos que são usados para a realização da pulverização variando desde os mais simples como o pulverizador costal e bombas elétricas até os pulverizadores mais sofisticados como a câmara atomizadora (equipamento de pulverização em que os animais passam pelo túnel para serem molhados). A escolha do equipamento a ser utilizado deve ser baseada em vários aspectos como número de animais do rebanho, capacidade operacional da propriedade entre outros.

O pedilúvio é um local em que se adicionam soluções para a desinfecção, prevenção, controle e tratamento de enfermidades nos cascos dos animais. Antes do pedilúvio, deve-se ter um lava-pés reservatório, com água limpa, para retirar o excesso de fezes e de barro dos cascos e favorecer um melhor contato entre o casco e o medicamento. A escolha do local para a construção do pedilúvio é de extrema importância para se obter um resultado eficaz.

B) Via oral

A ingestão é um método comum de prescrição de medicamentos, além de ser seguro, conveniente e econômico. Vários medicamentos podem ser adicionados a ração e tem como vantagens não apresentar risco de transmissão de doenças, permitir a administração de grandes quantidades e garantir a ação de medicamento no rúmen, que é o caso de alguns anti-helmínticos.

A seringa dosadora é comumente utilizada para aplicações subcutâneas, mas possui um encaixe de agulha que pode ser trocado por um bico de aplicação oral, sendo muito utilizada para aplicação de anti-helmínticos em ruminantes jovens.

A mamadeira veterinária é um utensílio comumente utilizado nas propriedades rurais, sobretudo nos sistemas de produção de leite que fazem aleitamento artificial de bezerros. Além do uso da mamadeira para aleitamento é possível utilizá-la para administração de medicamentos que tenham como recomendação a via oral.

C) Via subcutânea e intradérmica

A via subcutânea consiste em aplicar o medicamento abaixo da pele, de preferência na região da tábua do pescoço ou atrás da paleta. É utilizada principalmente para administração de vacinas e vermífugos sendo a de escolha quando é necessário que um medicamento seja absorvido de forma lenta e contínua.

Na via intradérmica a substância deve ser aplicada dentro da pele, isto é, não chega a atingir a região debaixo da pele. Esta aplicação é muito específica, somente usada para testes alérgicos, como é o caso do exame de tuberculose, que deve ser realizada exclusivamente pelo médico veterinário.

D) Via intramuscular

Consiste na aplicação do medicamento no músculo, de preferência na região da coxa, tábua do pescoço ou região glútea. É utilizada principalmente para administração de antibióticos e medicamentos oleosos.

E) Via de endovenosa

Consiste na aplicação do medicamento na corrente circulatória. Utiliza-se preferencialmente a veia jugular, mas também podem ser utilizadas a veia mamária ou a auricular. Para a fluidoterapia por via endovenosa é necessário usar o equipo. Tem como vantagens a rápida obtenção de efeitos, permite a administração de grandes volumes em infusão lenta ou de substâncias irritantes devidamente diluídas, além de permitir o melhor controle da dose administrada.

F) Via intramamária

Consiste na aplicação de medicamentos no úbere do animal, através do canal do teto e é geralmente utilizada para a prevenção e tratamento das doenças das glândulas mamárias como as mastites.

G) Via intravaginal

Essa via tem sido utilizada para a aplicação de fármacos de ação sistêmica, especialmente hormônios, por sua grande área de superfície, alta vascularização e permeabilidade a uma vasta gama de compostos, incluindo os de grande peso molecular como peptídeos e proteínas. Em casos de inflamações uterinas o medicamento pode ser aplicado pela via intrauterina, utilizando-se a mesma pipeta da inseminação artificial.

5.3. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções

5.3.1. Considerações gerais para minimizar os efeitos adversos da colheita de fluidos corporais, secreções e excreções e para orientar a seleção dos métodos

Quando amostras forem retiradas do animal consciente e o procedimento de amostragem for repetido regularmente durante a pesquisa, o animal deve primeiramente ser aclimatado ao instrumento de imobilização. A equipe deve ser treinada para utilizar métodos que produzam o mínimo de dor e quanto mais rápido o procedimento for realizado, menor será o desconforto do animal e melhor será a qualidade das amostras, pois as alterações fisiológicas induzidas por estresse são minimizadas. Antes da imobilização do animal, todos os equipamentos e materiais devem estar preparados para diminuir ao máximo o tempo de contenção.

A utilização de sistema de recompensa ao coletar amostras do animal consciente deve ser considerada, pois quando repetido regularmente pode favorecer a associação positiva. O treinamento do executor é fundamental para o sucesso de todos os procedimentos e faz parte do refinamento proposto pelo Princípio dos 3R's. Deve-se garantir a aplicação do manejo etológico para todos os procedimentos de manuseio dos animais.

É indispensável manter a assepsia na execução dos procedimentos e o excedente dos produtos utilizados para a assepsia devem ser imediatamente removidos para evitar a contaminação da amostra.

A colheita de fluidos, secreções e excreções provenientes de ruminantes pode ser realizada com métodos invasivos e não invasivos, conforme o material que se objetiva coletar. A obtenção de fezes, urina e saliva pode ser realizada sem a necessidade de métodos invasivos, utilizando frascos, *swabs* e pipetas descartáveis (saliva).

Colheita de tecido cutâneo e fragmentos de órgãos devem seguir as mesmas recomendações elencadas nos procedimentos cirúrgicos, pois se trata de colheita invasiva, necessitando de preparação anestésica e cuidados pós-cirúrgicos. Para colheita de fragmentos de pele, deve-se utilizar prioritariamente um punch de biópsia. Biópsias de fragmentos maiores necessitam de sutura da pele do animal e cuidados curativos após o procedimento.

5.3.2. Sangue

O sangue é colhido para avaliações hematológicas, bioquímicas, metabólicas, toxicológicas, imunológicas e

fisiológicas. Orientações para a colheita segura de sangue devem considerar o fato de que todas as espécies têm a mesma relação entre volume sanguíneo e peso corporal. Animais jovens, idosos, estressados, portadores de doença cardíaca ou respiratória exigem cuidadoso monitoramento, pois são mais sensíveis à perda de sangue. A técnica de contenção do animal e o procedimento de colheita podem alterar alguns padrões hematológicos e bioquímicos devido ao estresse.

O volume de sangue circulante pode geralmente ser estimado em média como 55 a 70 mL/kg do peso corpóreo em animais saudáveis ou 6% a 8% do peso corpóreo. O volume máximo recomendado para colheita de sangue é de 10% do volume de sangue circulante em animais saudáveis e bem nutridos, observando um período mínimo de recuperação de três a quatro semanas. A remoção de 15% a 20% do volume do sangue produz redução do débito cardíaco e da pressão sanguínea. A remoção de 30% a 40% pode induzir choque hipovolêmico e morte. Para colheitas repetidas, pode ser removido o volume máximo de 1% do sangue circulante do animal, a cada 24 horas.

Para bovinos e bubalinos é recomendada a punção da veia jugular ou da mamária. Para animais com comportamento mais agressivo pode-se usar a veia coccígea média.

São considerações importantes para a colheita de sangue: o executor deve estar capacitado para realizar a atividade, locais que apresentam inflamação ou hematoma não devem ser puncionados e sempre que possível, deve-se usar técnicas de canulação para a obtenção de amostras múltiplas.

5.3.3. Urina

A análise da urina permite o monitoramento da presença, ausência e concentração de drogas e outras substâncias excretadas. Essa análise pode ser quantitativa ou qualitativa. A análise quantitativa de urina permite o monitoramento de pH urinário, proteína, glicose, bilirrubina, hemoglobina, cetona, urobilinogênio, creatinina e a concentração de drogas excretadas, metabólitos e outras substâncias. A análise qualitativa de urina é geralmente usada para monitorar função renal, doença renal, avaliação de anormalidades nutricionais e/ou endócrinas e a excreção de drogas e/ou metabólitos.

Em ruminantes a urina das fêmeas pode ser colhida durante a micção espontânea ou induzida, massagem suave na vulva e períneo ou por massagem retal da bexiga, entretanto essas amostras podem ser contaminadas, na vulva, com muco, sangue, pus ou fezes, não sendo indicadas para vários tipos de testes. Amostras estéreis devem ser

colhidas por cateterização, observando princípios de assepsia e bem estar animal. Machos adultos e jovens castrados geralmente não podem ser estimulados a excretar urina com massagem na bexiga. Recomenda-se a massagem pre-pucial e o ruído da agitação da água em um balde estimulem fortemente a micção. Não é recomendada a cateterização para machos.

Em ensaios metabólicos pode ser utilizado aparelho para colheita de urina composto por três componentes: canal (posicionando seu início antes da uretra até o exterior do animal), copo coletor e tambor de armazenamento. Nesse tipo de estudo é bem mais fácil colher amostras separadas de urina e de fezes de macho do que de fêmeas. Nas colheitas em gaiolas metabólicas não é possível separar a urina das fezes.

5.3.4. Secreção nasal

Secreções nasais e amostras da conjuntiva são geralmente colhidas para análise de agentes infecciosos. As amostras devem ser colhidas com *swab* estéril umedecido, mantidas sob refrigeração e analisadas prontamente. Dependendo da espécie, a anestesia leve pode ser necessária, ao colher secreções nasais, para minimizar o desconforto do animal e para obter amostra não contaminada.

5.3.5. Secreção ocular

Amostras conjuntivais devem ser colhidas com um algodão estéril, gaze ou cotonete próprio. O cotonete deve ser sempre manuseado de forma estéril, mantido em meio de cultura, refrigerado e enviado para o laboratório sem demora.

5.3.6. Material bucal

Amostras de saliva podem ser utilizadas em estudos do sistema imune secretor e do sistema digestivo, para medir cortisol de forma relativamente não invasiva e para detectar sinais de doença infecciosa. Raspagens da mucosa oral são utilizadas como uma fonte de DNA e em estudos virológicos.

5.3.7. Leite

Amostras de leite são colhidas após a limpeza e secagem da(s) teta(s), evitando-se o uso de antissépticos. As primeiras gotas de leite devem ser descartadas antes que a amostra seja colhida.

5.3.8. Fluido ruminal

A avaliação do líquido ruminal, além de auxiliar na avaliação de parâmetros digestivos e da microbiologia ruminal, pode auxiliar nas avaliações de alimentos e na detecção de anomalias digestivas provocadas pela dieta ou patologias. Pode ser utilizada como ferramenta importante na prevenção de doenças metabólicas, assim como no tratamento de diferentes doenças digestivas, por meio da substituição da microbiota por transfaunação (transferência de líquido de rumem de um animal são para o doente), utilizando de 5 a 9 litros de um doador, no caso de bovinos e bubalinos.

A colheita deve ser efetuada de 2 a 4 horas após a alimentação, por meio de fístula ruminal ou sonda esofágica, utilizando-se mangueira flexível de pelo menos 1,5 m de comprimento, até 1,3 cm de diâmetro interno e 0,3 cm de espessura de parede, arredondada na ponta, com o orifício da extremidade totalmente aberto e sem furos nas laterais, conectada a uma bomba de vácuo. Entre as colheitas, a mangueira deve ser lavada e lubrificada com vaselina nos primeiros 30 cm, sendo que para estudos de digestão e metabolismo ruminal normalmente cerca de 200 mL são suficientes.

5.3.9. Fezes

Exames de fezes podem ser qualitativos ou quantitativos. Pequenos volumes são necessários para estudos qualitativos e são colhidos diretamente do reto no animal imobilizado. Estudos quantitativos requerem que todas as fezes sejam coletadas ao longo de um período de tempo determinado (normalmente 24 horas). A gaiola metabólica é o método usualmente empregado para esse fim.

5.3.10. Secreção do trato genital

Amostras de secreções vaginais devem ser retiradas com gaze de algodão, um cotonete de algodão ou lavado vaginal, de modo estéril, e aplicado suavemente na região vaginal, para minimizar o desconforto ao animal. Amostras para identificação da fase do ciclo estral são examinadas sob o microscópio imediatamente. Atenção especial deve ser dada ao tamanho da fêmea e o cotonete utilizado para colheita deve ter uma relação proporcional à dimensão do canal vaginal.

5.4. Procedimentos experimentais para testes com de fármacos antiparasitários, antimicrobianos, vacinas ou outros produtos biológicos

A realização de procedimentos experimentais que envolvem testes de fármacos antiparasitários, antimicrobianos, vacinas ou outros produtos biológicos devem também basear-se em legislação, contendo regulamentação técnica para tais procedimentos, outorgada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, ou outro órgão de semelhante responsabilidade. A dose do fármaco utilizado, bem como o número de animais utilizados para o teste devem estar de acordo com a regulamentação vigente. Deve-se, sempre que possível, optar pela utilização do número mínimo requerido de animais e de agentes infecciosos ou parasitários infestantes.

6. Procedimentos cirúrgicos e anestésicos

6.1. Treinamento da equipe

Todo o pessoal que realiza anestesia e cirurgia deve ser devidamente treinado. O investigador principal é responsável por garantir que o pessoal de pesquisa receba treinamento e certificação apropriados antes de realizar qualquer procedimento. A equipe veterinária e sua competência deve ser certificada pela CEUA. O treinamento adequado em técnica cirúrgica, inclui, mas não se limita a assepsia, manuseio suave do tecido, dissecação mínima do tecido, uso apropriado de instrumentos, hemostasia eficaz, uso correto de materiais e padrões de sutura.

A prática pré-experimental em cadáveres permite que os investigadores se familiarizem com marcos anatômicos e agilizam os procedimentos cirúrgicos experimentais, reduzindo assim a quantidade de anestésico necessária, reduzindo o tempo operatório e minimizando os danos aos tecidos. Isso irá acelerar a recuperação pós-operatória e promover o bem-estar animal.

6.2. Planejamento pré-operatório

Antes de iniciar qualquer procedimento cirúrgico, deve haver uma reunião da equipe cirúrgica para desenvolver o plano cirúrgico. A equipe cirúrgica deve consistir de pelo menos um cirurgião, um anestesista, um técnico cirúrgico e o investigador. Procedimentos complexos podem demandar equipe maior. O plano cirúrgico escrito é responsabilidade do investigador principal e deve identificar claramente as responsabilidades de todos os envolvidos, os cuidados com os animais, os equipamentos e suprimentos necessários, avaliação de saúde pré-operatória, monitoramento intra-operatório, técnica operatória, cuidados pós-operatórios, necessidade de antibióticos, controle da dor e definição das possíveis complicações.

O uso de animais adequados ao propósito garantirá dados de pesquisa mais confiáveis. O investigador deve consultar o veterinário institucional ou outra pessoa qualificada para auxiliar na obtenção de animais adequados.

6.3. Unidade cirúrgica

É necessária a existência de instalação cirúrgica dedicada a animais de grande porte. Independentemente do local, quando uma área está sendo usada para cirurgia, nenhuma outra atividade deve ser realizada. Em geral, a instalação cirúrgica deve ter os seguintes componentes: local de preparo de animais, sala de preparação de instrumentos, local de preparo do cirurgião, baia/piquete de espera e recuperação e sala/galpão de cirurgia, dotado de tronco e brete.

A iluminação do local de cirurgia deve ser clara, focada e sem reflexos, suficiente para realizar os procedimentos. A área de cirurgia deve estar rigorosamente limpa e livre de equipamentos e materiais desnecessários para o procedimento.

Para as cirurgias de extremidades é recomendado o tronco hidráulico de contenção para casqueamento que dispensa uso excessivo de cordas, de pessoas e de força manual, o que evita problemas como timpanismo, pois todo o procedimento é realizado com animal em pé.

6.3. Pré-operatório

O termo pré-operatório refere-se aos preparativos realizados antes da cirurgia. Pode incluir jejum, uso de medicações, tricotomia e avaliação clínica e laboratorial.

Nessa etapa é importante que os indivíduos sejam devidamente identificados e informações como peso, idade, sexo e o estado de saúde precisam ser obtidas. É importante determinar se os animais foram aclimatados às instalações e geralmente três a cinco dias de adaptação são suficientes.

O exame físico pré-operatório pode muitas vezes identificar problemas potenciais, como aumento do risco anestésico, que pode comprometer o procedimento cirúrgico. Animais que não apresentam estado de saúde apropriado não devem ser submetidos a cirurgia.

O jejum pré-cirúrgico é necessário para muitas espécies para minimizar as complicações da administração do anestésico. A necessidade do jejum para os ruminantes depende do tempo de cirurgia, do regime alimentar anterior, da postura do animal durante o procedimento, do tipo de contenção química que será adotada (miorrelaxantes) e do anestésico; sendo esta uma importante decisão que cabe ao cirurgião com experiência determinar. Para as cirurgias onde o animal será colocado em decúbito pode ser necessário jejum de 24 a 48 horas para reduzir a incidência de timpanismo.

Como padrão recomenda-se jejum alimentar e hídrico de 18 horas.

A administração pré-operatória de antibióticos deve ser considerada. Isso pode garantir concentrações séricas e teciduais da droga durante o procedimento cirúrgico. Tratamento antibiótico pós-operatório adicional pode ser necessário. Entretanto, os antibióticos nunca devem ser adotados para acobertar falhas das técnicas cirúrgicas.

O uso de antibióticos e os cuidados com a assepsia e antisepsia dependem da classificação do tipo de cirurgia:

Cirurgia limpa: É aquela onde os aparelhos gastrointestinal, urinário ou respiratório não estão envolvidos;

Cirurgia contaminada limpa: É aquela que os aparelhos gastrointestinal, urinário ou respiratório estão envolvidos, mas não há derrame de significativo de conteúdo contaminado;

Cirurgia contaminada: É aquela onde ocorre derrame significativo de conteúdo contaminado ou existe inflamação aguda;

Cirurgia suja: É aquela onde existe presença de pus ou perfuração de víscera.

Em ruminantes o preparo do ambiente cirúrgico, instalações e animais pode ser um desafio para o cirurgião. O ambiente precisa estar o mais limpo possível. Em relação ao animal toda sujidade deve ser removida e os pelos da região a ser operada devem ser cortados e raspados. Deve-se preparar uma área com aproximadamente o dobro da área cirúrgica necessária, que deverá ser higienizada alternando entre solução antisséptica e álcool.

Quando a cirurgia a ser efetivada for asséptica, o uso de campos cirúrgicos estéreis é obrigatório. A cauda deve ser amarrada para prevenir o contato com o campo cirúrgico. Campos e aventais de borracha são de grande ajuda em cirurgias com grandes quantidades de líquidos, como o ruminal e o amniótico.

Para qualquer procedimento cirúrgico, o plano de controle e gerenciamento da dor apropriado, para os procedimento e espécie animal, deve ser desenvolvido, implementado e revisado, se necessário.

6.4. Trans-operatório

A anestesia e a cirurgia devem ser realizadas por pessoal competente com treinamento apropriado e experiência. Os procedimentos cirúrgicos devem ser realizados sob anestesia local ou geral apropriada. Deve haver monitoramento adequado da profundidade da anestesia e efeitos, como hipotermia, e depressão cardiovascular e respiratória. O cirurgião tem a obrigação de estar atento à eficácia da técnica anestésica empregada.

Cirurgia com recuperação em todas as espécies de animais deve ser realizada utilizando técnica asséptica. Os instrumentos devem ser estéreis. Objetos introduzidos no animal, como implantes de telemetria, minibombas osmóticas, portas de acesso vascular, as cânulas e quaisquer outros dispositivos biomédicos devem ser estéreis.

Em cirurgias limpas a preparação adequada do cirurgião incluirá vestimenta adequada, higienização das mãos e braços e uso de luvas esterilizadas. O instrumental deverá ser esterilizado e deve-se optar por técnicas assépticas.

Em caso de necessidade de realização de cirurgias a campo, deve-se optar pelo ambiente o mais limpo possível e, dentro do possível, todos os cuidados recomendados para cirurgias limpas devem ser observados.

Ao selecionar uma abordagem cirúrgica, é importante que o cirurgião considere a anatomia, a fisiologia, a postura e o comportamento do animal, o que é especialmente importante em ruminantes. Desta forma, a abordagem menos dolorosa ou aquela que promova a recuperação mais rápida deve ser a escolhida. As cirurgias que são mais frequentemente realizadas na prática veterinária de ruminantes tais como: laparotomia do flanco, ruminotomia, fistulização do rúmen, omentopexia, abomasopexia pelo flanco direito ou esquerdo e cesariana, devem ser realizadas com o animal em estação, devidamente contido em bretes adequados. Para cirurgias experimentais, guias de abordagens para cada um dos sistemas corporais estão disponíveis na literatura.

Caso seja indispensável deitar o animal para a realização da cirurgia, cuidados adicionais devem ser observados, como a proteção das partes ósseas em contato com o solo e das extremidades que terão que ser contidas com cordas. Também é indispensável garantir que a cabeça fique sempre em plano mais elevado que o corpo, para evitar a regurgitação e aspiração de conteúdo ruminal.

Durante a cirurgia, é importante que a condição fisiológica do animal seja monitorada e mantida estável. O grau de monitoramento dependerá do equipamento disponível. Monitoramento básico do sistema cardiovascular sistema, sistema respiratório e temperatura central requerem muito pouco equipamento. Essas observações devem ser registradas no registro de cirurgia do animal.

Os animais podem sofrer grande perda de fluidos durante a cirurgia. A perda de líquido ocorre principalmente como resultado da evaporação das cavidades corporais e da perda de sangue. Deve-se reduzir a perda de fluido intra-operatório irrigando o campo operatório com solução salina estéril aquecida. Pode ser necessária a administração de fluidos isotônicos quentes e estéreis por via parenteral durante a cirurgia. É necessário controlar a perda de sangue durante a cirurgia, cauterizando ou ligando os vasos sangrantes. A hipotermia é uma complicação anestésica comum em pequenos animais, mas raramente é um problema em grandes ruminantes adultos, em decorrência da grande relação entre a massa corporal e a área de superfície corpórea.

As feridas devem ser fechadas com material de sutura e técnicas apropriadas. Em relação as agulhas as de ponta cônica não cortante (atraumática) ou as agulhas redondas sem bordas cortantes devem ser usadas para tecidos moles como peritônio, intestinos, rins, entre outros. Agulhas cortantes ou cortantes reversas apresentam lâmina cortante, que atravessa os tecidos densos e difíceis de penetrar como a pele.

Em geral, fios absorvíveis devem ser usados para tecidos moles. Os vasos sanguíneos devem ser ligados com fios de sutura de absorção lenta ou não absorvíveis. Suturas não absorvíveis, cola cirúrgica ou cliques e grampos para feridas de aço inoxidável devem ser usados para a pele. A execução das técnicas cirúrgicas corretas irá prevenir complicações pós-cirúrgicas como infecção, hemorragia ou até morte.

Fios e demais materiais de sutura não absorvíveis usados para fechar a pele devem ser removidos assim que a ferida estiver cicatrizada, o que ocorre entre sete a 10 dias ou dentro de duas semanas, o que ocorrer primeiro.

Várias cirurgias importantes em um único animal não devem ser realizadas a fim de poupar recursos. Procedimentos menores, como biópsias, podem ser realizados mais de uma vez. No entanto, é importante que os animais se recuperem completamente entre os procedimentos.

Quando o animal não vai se recuperar da cirurgia, ele deve estar inconsciente por todo procedimento, com eutanásia por overdose de anestésico geral ou por indução de morte cerebral por uma variedade de métodos.

6.5. Procedimentos anestésicos

A escolha e administração de agentes anestésicos, analgésicos e tranquilizantes deve ser adequada para a espécie e apropriada para o propósito do experimento. O uso de tais agentes deve ser semelhante ao usado na prática veterinária atual.

É responsabilidade do cirurgião e do anestesista garantir que este animal seja poupado de desconforto durante todo o período perioperatório. Isso inclui o período de indução da anestesia, todo o período cirúrgico e o de recuperação pós-cirúrgica.

A recuperação da anestesia pode ser perigosa e requer monitoramento frequente, talvez contínuo. Dependendo do regime anestésico, a recuperação pode levar de alguns minutos a várias horas. Pessoal qualificado deve estar disponível para monitorar o animal durante todo o período de recuperação.

Geralmente nos grandes ruminantes os procedimentos cirúrgicos são realizados exclusivamente com o uso da analgesia local ou regional. Como a maioria das cirurgias são executadas com o animal em estação, nenhum sedativo é aplicado. Quando necessário recomenda-se a combinação de sedativo, contenção com cordas e uso de analgésico local.

A anestesia local ou de infiltração compreende a injeção aplicada diretamente no sítio cirúrgico com o agente anestésico. A anestesia regional compreende a dessensibilização, bloqueando os principais nervos de uma dada região. Ambos os métodos permitem a dessensibilização do sítio cirúrgico, preferindo-se o termo analgesia ao invés de anestesia, pois ambas as técnicas são puramente analgésicas.

6.5.1. Analgesia de infiltração

Os princípios são simples e similares para todas as espécies. Os limites da região a ser infiltrada podem ser definidos fazendo-se um vergão subcutâneo. Uma pequena quantidade de agente analgésico é injetado no local inicial com uma agulha pequena e depois, caso uma grande região de analgesia seja exigida, uma mais agulha mais longa deve ser inserida na região inicialmente dessensibilizada. A pele e o subcutâneo devem ser infiltrados primeiramente, para depois atingir as camadas mais profundas como os músculos e o peritônio.

6.5.2. Analgesia regional

É muito utilizada para os ruminantes e as seguintes técnicas são as mais frequentemente aplicadas:

Bloqueio em L invertido: É o método mais simples de analgesia regional para a laparotomia.

Bloqueio paravertebral: A base desse bloqueio é promover a analgesia da região da 13^o vértebra torá-

cica (T13) e das três primeiras vértebras lombares (L1, L2 e L3), alcançando a inervação sensitiva e motora da pele, fáscia, músculos e peritônio do flanco.

Analgesia epidural: Consiste na injeção de solução analgésica local entre a dura máter e o periósteo do canal espinhal. Pode ser cranial ou caudal de acordo com a área onde a paralisia sensitiva e motora se desenvolve, o que tem relação com o volume, concentração e dispersão do agente analgésico. O controle motor das pernas traseiras não deve ser afetado.

Analgesia regional do chifre: O bloqueio córneo é uma técnica simples que fornece analgesia para a descorna.

Anestesia intravenosa do membro: é indicada para a analgesia local do membro distal e consiste na injeção intravenosa de solução analgésica local distal a um torniquete aplicado anteriormente. Um acolchoado protetor deverá ser colocado por baixo do torniquete.

6.5.3. Tranquilização e sedação

Como deve-se priorizar a execução das cirurgias e demais procedimentos clínicos com os bovinos e bubalinos em estação, restringidos em um brete, geralmente não é necessário a aplicação de sedativos. O uso de sedativo infere que o animal esteja deitado e preso por cordas, ou restrito em uma mesa inclinada.

6.5.4. Anestesia geral

Embora existam problemas específicos, a anestesia geral pode ser efetuada de forma segura no ruminante, usando as técnicas e experiência adequada.

6.5.5. Fármacos analgésicos e anestésicos

Geralmente os anestésicos são utilizados apenas por curtos períodos e é pouco provável que animais recentemente submetidos a cirurgia ou seus produtos sejam disponibilizados para o consumo, mas é importante lembrar que existem períodos específicos de carência que devem ser observados.

Deve-se ter a disposição doses acuradas dos fármacos injetáveis, equipamentos anestésicos e acessórios de tamanhos apropriados.

O volume anestésico a ser administrado em búfalos é quase um terço menor em comparação com os bovinos. A xilazina é um potente sedativo, analgésico e relaxante muscular, frequentemente usado como pré-anestésico ou adjunto da anestesia em ruminantes. Os bovinos necessitam de apenas 1/10 da dose utilizada para equinos. Bovinos da raça Brahman requerem as menores doses, os Hereford doses intermediárias e os Holandeses são os menos sensíveis.

Os ruminantes necessitam de menos tolazolina (antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos) do que outras espécies. Esses animais se recuperam gradualmente, porém de maneira suave da anestesia com zolazepam e tiletamina, em decorrência do metabolismo mais lento e efeito mais duradouro do zolazepam.

Os ruminantes comprovadamente tem concentrações extremamente baixas de pseudocolinesterase, a enzima responsável pelo metabolismo e inativação dos bloqueadores neuromusculares despolarizantes, como a succinilcolina. Portanto a administração desse fármaco a ruminantes. Portanto, a administração desses fármacos a ruminantes deve ser monitorada com a finalidade de se evitar complicações respiratórias pós-anestésicas.

Em nenhuma circunstância é aceitável o uso de bloqueadores musculares sem os cuidados anestésicos apropriados. Nenhum CEUA deveria aprovar o uso de um “animal acordado paralisado” em uma cirurgia ou outro procedimento que pode produzir dor ou angústia.

6.6. Cuidados pós-operatórios

O conforto dos animais deve ser promovido durante todo o período pós-operatório. Deve-se monitorar a ingestão de água e comida, a condição corporal e o peso do animal, bem como realizar o controle dos sinais de infecção pós-cirúrgica ou de outras complicações. É recomendado que o animal seja examinado clinicamente pelo menos duas vezes por dia no pós-operatório imediato. A observação regular das feridas cirúrgicas é essencial para verificar o progresso da cicatrização. Quaisquer problemas devem ser atendidos imediatamente.

Quando o comportamento normal de comer e beber for retomado e os parâmetros fisiológicos estiverem estabilizados ou dentro dos limites esperados, o animal pode ser retirado do tratamento intensivo para o tratamento mais padronizado para a espécie. No entanto, o animal deve continuar a ser monitorado cuidadosamente. A ferida cirúrgica vai precisar de atenção, as suturas precisam ser removidas, os cateteres lavados, entre outras atividades. Dependendo da

cirurgia, o cuidado pós-operatório será de longo prazo e pode envolver dietas especiais, medicação diária, fisioterapia ou alguma outra forma de tratamento especializado.

O objetivo da equipe cirúrgica deve ser minimizar qualquer dor ou sofrimento. O grau de dor pós-operatória vai variar; no entanto, em todos os casos, todas as tentativas devem ser feitas para aliviar a dor com o uso adequado de analgésicos, tranquilizantes e bons cuidados de enfermagem. Os investigadores devem consultar um veterinário para estabelecer um regime analgésico para todas as espécies de animais usados. O tipo de analgésico, a dose e a duração do tratamento vão depender da espécie e temperamento do animal e do tipo de cirurgia ao qual foi submetido.

A maioria dos analgésicos em uso são de ação relativamente curta e requer administração a cada poucas horas. É responsabilidade do investigador garantir que a equipe necessária esteja disponível para administrar analgésicos conforme prescrito. Todo o pessoal do projeto deve estar familiarizado com o comportamento e a postura do animal em estado normal e quando está com dor.

Registros clínicos adequados, incluindo observações e administração de quaisquer medicamentos, fluidos ou outros tratamentos, devem ser mantidos e disponibilizados a todos os envolvidos nos cuidados pós-operatórios do animal.

Se o animal, como resultado da manipulação experimental, entrar em sofrimento que não pode ser aliviado, o serviço veterinário deve ser contatado imediatamente para executar os procedimentos de eutanásia.

7. Eutanásia e abate comercial

7.1. Eutanásia

O termo eutanásia é derivado do grego e significa morte sem sofrimento. A Lei Arouca¹ e a sua regulamentação pelo Decreto 6899² estabelece que o animal será submetido à eutanásia, em estrita obediência aos requisitos de cada espécie. Deve ocorrer sempre que o experimento for encerrado ou em qualquer de suas fases, quando tal um procedimento é recomendado, bem como sempre que ocorrer sofrimento severo. Caso o animal não deva ser submetido à eutanásia, poderá, excepcionalmente, deixar o biotério após intervenção e ser encaminhado a pessoas idôneas ou entidades de proteção animal, devidamente legalizadas. Esse procedimento também é indicado quando o bem-estar do animal está irreversivelmente prejudicado e nem a dor nem o sofrimento podem ser controlados com analgésicos ou sedativos, ou nos casos em que o animal constitui uma ameaça à saúde pública e um risco à fauna nativa ou ao meio ambiente.

Protocolo adequado de eutanásia deve obedecer as diretrizes do CONCEA e, resumidamente, atender aos preceitos listados a seguir:

- Tratar o animal com o máximo de respeito;
- Considerar o manejo pré-eutanásia baseado nas características comportamentais de cada espécie para minimizar o risco de ansiedade, dor ou lesões, antes da perda da consciência;
- Prover a morte sem dor e sofrimento físico e mental;
- Produzir imediata perda da consciência, seguido de parada respiratória e cardíaca e perda da função cerebral;
- Ser apropriado para a espécie, idade e estado de saúde do animal;
- Confirmar a morte antes do descarte do cadáver;
- Envolver pessoas qualificadas e competentes para realizar o método de forma efetiva e humanitária, reconhecer a dor e o sofrimento nas espécies em que atuam, reconhecer e confirmar a inconsciência e morte do animal;

1. <https://presrepublica.jusbrasil.com.br/legislacao/93064/lei-11794-08>

2. <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2009/decreto-6899-15-julho-2009-589524-norma-pe.html>

- Levar em consideração o impacto psicológico do pessoal envolvido, mas a prioridade é sempre o bem estar do animal;
- Ser aprovado pela CEUA da instituição;
- Basear-se na consulta de profissional(is) com experiência na área e nos grupos taxonômicos em questão, para selecionar o melhor método de eutanásia, particularmente, se houver pouca informação para a espécie animal envolvida; ou no caso de instalações animais, de acordo com a Resolução Normativa nº. 6, de 10 de julho de 2012, os procedimentos de eutanásia devem ser supervisionados pelo Responsável Técnico Médico Veterinário da instalação animal da Instituição;
- Quando do uso de anestésicos inalatórios, garantir a manutenção e calibração regulares dos equipamentos;
- Realizar um rodízio entre profissionais treinados para este fim para assegurar que o procedimento seja realizado de forma eficiente e humanitária.

7.2. Abate comercial

Há algumas décadas, o abate de animais era considerado uma operação tecnológica de baixo nível científico e não se constituía em um tema pesquisado seriamente por universidades, institutos de pesquisa e indústrias. A tecnologia do abate de animais destinado ao consumo somente assumiu importância científica quando observou-se que os eventos que se sucedem desde a propriedade rural até o abate do animal tinham grande influência na qualidade da carne. Nos países desenvolvidos há uma demanda crescente por processos denominados abates humanitários com o objetivo de reduzir sofrimentos inúteis ao animal a ser abatido, bem como melhorar a qualidade do produto final.

Abate humanitário pode ser definido como o conjunto de procedimentos técnicos e científicos que garantem o bem-estar dos animais desde o embarque na propriedade rural até a operação de sangria no matadouro-frigorífico. O essencial é que o abate de animais seja realizado sem sofrimentos desnecessários e que a sangria seja eficiente. As condições humanitárias não devem prevalecer somente no ato de abater, mas também em todos os momentos precedentes ao abate.

Detalhes sobre os requisitos e exigências técnicas no Brasil constam do Regulamento Técnico de Manejo Pré-Abate e Abate Humanitário, detalhado em instrução normativa do MAPA.

8. Necrópsia e destino de carcaça

8.1. Necropsia

Necropsia é o termo adequado para se referir à secção de um cadáver, com o objetivo de verificar as alterações que resultaram em sua morte. Recomenda-se a execução do procedimento necroscópico completo, que inclui o exame cuidadoso de todos os órgãos para estabelecer, após o estudo, a enfermidade principal, a *causa mortis*, e os achados relacionados. Durante o exame necroscópico é possível obter informações diretas à enfermidade principal e material para outros exames de auxílio diagnóstico (histopatológico, bacteriológico, virológico, micológico, toxicológico e imunoistoquímico).

8.1.1. Pré-necropsia

Nessa fase deve-se obter e registrar a história do animal e/ou do rebanho. Não aborde o exame com um diagnóstico preconcebido. Em caso de doenças de rebanho, é relevante examinar e coletar espécimes de animais vivos não necessariamente destinados a necropsia. Se possível, devem ser avaliados animais em vários estádios da doença.

Certifique-se que todos os instrumentos, produtos desinfetantes, roupas, calçados, recipientes para armazenamento de amostras e soluções fixadoras, estejam disponíveis e sejam adequados para a realização do procedimento necroscópico. O responsável deve planejar o procedimento e realizar uma lista prévia das amostras que deverão ser colhidas. Cuidado adicional deve ser tomado com a correta identificação dos espécimes biológicos colhidos.

8.1.2. Procedimento de necropsia

Se o animal for apresentado vivo, as amostras de sangue devem ser colhidas antes da eutanásia. Se o animal estiver morto, as amostras de sangue ou soro devem ser colhidas diretamente do coração. Demais fluidos, como urina e liquor devem ser colhidos logo após a eutanásia. Pode ser necessário esfregaços ou imprints de pele, cavidades naturais ou lesões em órgão. Todas as amostras devem ser obtidas com material esterilizado. No exame de endoparasitos,

o material pode ser colhido diretamente das cavidades digestivas e intestino, colocados em frascos ou placas de Petri com solução de salina. Colheita de material para exame bacteriológico deve ser feito antes de qualquer interferência sobre o órgão e sob condições de total assepsia. As amostras para exames de patologia clínica, parasitológicos e bacteriológicos devem ser encaminhados imediatamente para o laboratório.

O profissional deve escolher a técnica necroscópica na qual foi treinado. A língua, esôfago, traquéia, pulmão e coração devem ser removidos e examinados. O intestino deve ser ligado, imediatamente anterior à válvula ileocecal, para evitar derramamento de conteúdo intestinal. Os órgãos da cavidade abdominal devem ser retirados, abertos e examinados de forma individual. Para acessar as estruturas do canal pélvico, que compõem o terceiro conjunto, serre e remova a porção esquerda dos ossos do coxal, de modo a expor as estruturas. Nessa etapa é possível colher urina para exames complementares. Para remover o conjunto, tracione a bexiga para o exterior da carcaça, bem como o ânus e a genitália externa. O conjunto é composto por bexiga, reto, ânus, testículos e pênis nos machos, ou útero, vagina e vulva nas fêmeas. Após a decapitação do animal, o sistema nervoso central deve ser retirado para a avaliação e obtenção de amostras. Deve-se procedimento padronizado pelo MAPA, para a colheita e o envio de amostras destinadas ao exame da raiva e monitoramento da encefalopatia espongiforme bovina.

Toda e qualquer amostra destinada à avaliação histopatológica deve ser fixada em formalina a 10% e mantida à temperatura ambiente. A amostra deve ser colhida o mais rápido possível após a morte do animal, contendo porções dos tecidos (lesado e adjacente) e evitando áreas compostas apenas por necrose. Devem ser utilizados frascos de boca larga e tampa com boa vedação. A relação entre o volume da peça e do fixador varia de 1:10 a 1:20 e os fragmentos devem ter tamanho aproximado de 3cm³.

8.2. Destino das carcaças

Carcaças de bovinos e bubalinos devem ser eliminadas de acordo com a regulamentação vigente. O procedimento de eliminação de carcaças deve ser realizado de forma a prevenir a disseminação de doenças infecciosas e agentes patógenos e a reduzir o impacto ao ambiente.

Além dos animais mortos, deve-se também considerar o descarte de tecidos mortos como placentas, fetos mumificados e natimortos. Envolve a questão ambiental, a biossegurança do rebanho, além de custos operacionais. Carcaças de grandes animais podem ser eliminadas das seguintes maneiras, a menos que especificado diretamente

pelo veterinário responsável pela instalação e/ou projeto:

Renderização: É um processo que converte tecidos e órgãos de animais em materiais estáveis e utilizáveis. Já existem estações/equipamentos para a transformação de carcaças de grandes animais em subprodutos úteis, mas o custo de instalação é elevado.

Enterro: As carcaças podem ser enterradas em um local a pelo menos 100 metros de um fonte de água (rio, poço, lago) e em um local onde estes não podem ser contaminados. Todas as carcaças devem ser cobertas com pelo menos 60 centímetros de solo. As carcaças não devem ser enterradas em aterros, sem aprovação prévia do Serviço Veterinário Estadual.

Extrusão: A extrusão é um método aceitável para recuperar a proteína para alimentação animal, quando possível.

Cozinhar carcaças para alimentação de suínos: As carcaças podem ser cozidas para a alimentação dos suínos. A temperatura interna do material deve atingir 100°C por 30 minutos. Esse procedimento requer licença de autoridades sanitárias estaduais e federais.

Compostagem: Carcaças ou partes de carcaças podem ser compostadas de acordo com diretrizes pré-estabelecidas. O processo de compostagem deve ser gerenciado em todos os momentos para ser praticamente inodoro, prevenir o desenvolvimento de larvas de mosca, prevenir a depredação por animais e impedir a lixiviação dos resíduos, de forma a impedir a contaminação das fontes de água e do solo contaminação. A(s) carcaça(s) devem ser reduzidas a porções pequenas, como os ossos quebrados. Temperatura de 55°C deve ser alcançada, como mínimo de 44°C, durante todo o processo de compostagem, para que o produto acabado seja livre de patógenos.

Incineração (queima): A incineração ou a queima a céu aberto podem ser usadas, desde que a carcaça seja reduzida a cinzas. O ideal é a incineração em forno crematório, não poluente.

9. Resíduos

Os resíduos dos serviços de saúde animal podem ser biológicos infectantes, químicos, radioativos, comuns e perfurocortantes. Deve ter uma área para depósitos de resíduos isolada das demais áreas. O descarte de material de serviços de saúde deve seguir o plano de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde de acordo com a legislação vigente.

10. Referências bibliográficas

- ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A. Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans. **Theriogenology**, 43(1), 113-120, jan. 1995.
- ALVIM, M. J.; PACIULLO, D. S. C.; CARVALHO, M. M.; AROEIRA, L. J. M.; CARVALHO, L. A.; NOVAES, L. P.; GOMES, A. T.; MIRANDA, J. E. C.; RIBEIRO, A. C.C.L. Sistema de produção de leite com recria de novilhas em sistemas silvipastoris. **Sistema de Produção**. Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, n.7, dez. 2005. ISSN 1678-314.
- AN, Y.H.; FREIDMAN, R.J. **Animal models in orthopaedic research**. 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 1999. 544 p.
- ANDERSON, N. **Dehorning of calves**. Ontario: Factsheet 87-038, 01 set. 2009.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALOS. **As quatro raças no Brasil**.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE ZEBU. Disponível em: <http://www.abcz.org.br/>. Acesso: 26 fev. 2016.
- BOLLONGINO, R; BURGER, J.; POWELL, A.; MASHKOUR, M.; VIGNE, J.D.; THOMAS, M.G. Modern taurine cattle descended from small number of near-eastern founders. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, n. 9, p. 2101-4, 14 mar. 2012. doi: 10.1093/molbev/mss092.
- CAMPO, M. S. Animal models of papillomavirus pathogenesis. **Virus Research**, v. 89, n. 2, p. 249-261, nov. 2002. Doi: 10.1016/s0168-1702(02)00193-4. PMID: 12445664.
- CAMPOS, A. T.; KLOSOWSKI, E. S.; CAMPOS, A. T. de. **Construções para gado de leite: Instalações para Novilhas**. 2006. Artigo em Hypertexto.
- CAPALDO, T. The Psychological Effects on Students of Using Animals in Ways that They See as Ethically, Morally or Religiously Wrong. **Alternatives to Laboratory Animals**, v.32, n. 1, p. 525–531, jun. 2004. Doi: 10.1177/026119290403201s85. PMID: 23581130.
- CATALOGUE OF LIFE. **Bos taurus indicus. 2015b**.
- CATALOGUE OF LIFE. **Bos taurus taurus. 2015a**.
- CATALOGUE OF LIFE. **Bubalus bubalis. 2015c**.
- CLOSE, B.; BANISTER, K.; BAUMANS, V.; BERNOTH, E.M.; BROMAGE, N.; BUNYAN, J.; ERHARDT, W.; FLECKNELL, P.; GREGORY, N.; HACKBARTH, H.; MORTON, D.; WARWICK, C. Recommendations for euthanasia of experimental animals: part 2. DGXT of the European Commission. **Laboratory Animals**, v. 31, n.1, p. 1-32, jan. 1997. doi: 10.1258/002367797780600297. PMID: 9121105.
- CUSHMAN, R. A.; WAHL, C. M.; FORTUNE, J. E. Bovine ovarian cortical pieces grafted to chick embryonic membranes: a model for studies on the activation of primordial follicles. **Human Reproduction**, v. 17, n.1, p. 48-54, 2002.
- DE BOO, J.; HENDRIKSEN, C. Reduction Strategies in Animal Research: A Review of Scientific Approaches at the Intra-experimental, Supra-experimental and Extra-experimental Levels. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 33, n. 4, p. ATLA 33, p. 369–377, ago. 2005. doi: 10.1177/026119290503300404. PMID: 16185105.
- DOMINGUES, P. F.; LANGONI, H. **Manejo Sanitário Animal**. Rio de Janeiro: EPUB, p. 1-224, 2001.
- FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL. **Second report on priorities for research and development in farm animal welfare**. Department for Environment, Food and Rural Affairs and the Devolved Administrations. United Kingdom, 1993.
- FERRAZ, J.B.S.; FELÍCIO, P.E. Production Systems – An example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, p. 238-243, 2010.
- GILLEN, R. L.; KRUEGER, W. C.; MILLER, R. F. Cattle distribution on mountain rangeland in north-eastern Oregon. **Journal of Range Management Archives**, Arizona, v. 37, p. 549-553, 1984.
- GRANDIN, T. **La conducta animal y su importancia en el manejo del ganado**. 14p.
- HUANG, J. Y.; CHUNG, J. T.; TAN, S. L.; CHIAN, R. C. High survival and hatching rates following vitrification of embryos at blastocyst stage: a bovine model study. **Reproductive Biomedicine Online**, v. 14, n.4, p. 464-470, abr. 2007. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60894-2. PMID: 17425829.
- JANNI, K. A.; ENDRES, M. I.; RENEAU, J. K; SCHOPER, W. W. Compost dairy barn layout and management recommendations. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 23, n.1, p. 97-102, 2007. doi: 10.13031/2013.22333.
- LINNAEUS, 1758. **Integrated Taxonomic Information System – ITIS**.
- LOURENÇO JUNIOR, J.B.; MOURA CARVALHO, L.O.D.DE; COSTA, N. A.; BATISTA, H. A.M.; TEIXEIRA NETO, J.F.; COUTO,

- W. S.; Descorna a ferro candente em bubalinos. **Recomendações Técnicas**, n. 4, 1999. Belém, PA: Embrapa Amazonia Oriental.
- MALHI, P. S.; ADAMS, G. P.; SINGH, J. Bovine model for the study of reproductive aging in women: follicular, luteal, and endocrine characteristics. **Biology of Reproduction**, v. 73, n. 1, p. 45-53, jul. 2005. doi: 10.1095/biolreprod.104.038745. Epub 2005 Mar 2. PMID: 15744017.
- OHASHI, O. M.; SANTOS, S. S. D.; MIRANDA, M. S.; CORDEIRO, M. S.; COSTA, N. N.; SILVA, T. V. G. Morfologia do sistema genital, distúrbio reprodutivo e manejo do macho bubalino (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n.2, p. 88-94, abr./jun. 2011.
- PERUFFO, A.; COZZI, B. Bovine brain: an *in vitro* translational model in developmental neuroscience and neurodegenerative research. **Frontiers in pediatrics**, v.2, art. 74, p. 1-4, 10 jul. 2014. doi: 10.3389/fped.2014.00074. PMID: 25072040; PMCID: PMC4090595.
- POOLE, T. Happy animals make good science. **Laboratory Animals**, v. 31, n. 2, p. 116-124, abr. 1997. doi: 10.1258/002367797780600198. PMID: 9175008.
- RADOSTITS, O. M. **Herd Health Food Animal Production Medicine**. 3 ed. Philadelphia: Saunders, p. 1-884, 2001.
- ROSA, A.N.; MARTINS, E.N.; MENEZES, G.R.O.; SILVA, L.O.C. **Melhoramento Genético Aplicado em Gado de Corte: Programa Geneplus-Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa Gado de Corte, 2013.
- RUSSELL, W.M.S.; BURCH, R.L. The Principles of Humane Experimental Technique. London, UK: Methuen, p. 1- 238, 1959.
- SILVA, A.A.; BORGES, L.F.K. Conceitos e considerações sobre bem-estar animal na produção de bovinos. Revisão bibliográfica. **Ciência & Tecnologia**, v.1, n. 1, 1 julh 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33053/cientec.v1i1.471>.
- TAVARES, J. E.; BENEDETTI, E. Água: uso de bebedouros e sua influência na produção de bovinos em pasto. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 152-157, 2011.
- VAN RHIJN, I.; GODFROID, J.; MICHEL, A.; RUTTEN, V. Bovine tuberculosis as a model for human tuberculosis: advantages over small animal models. **Microbes and Infection**, v. 10, n. 7, p. 711-715, 2008.
- WEEKES, J.; WHEELER, C. H.; YAN, J. X.; WEIL, J.; ESCHENHAGEN, T.; SCHOLTYSIK, G.; DUNN, M. J. Bovine dilated cardiomyopathy: proteomic analysis of an animal model of human dilated cardiomyopathy. **Electrophoresis**, v. 20, v. 4□5, p. 898-906, 1999.

Literatura consultada

- AGRICULTURE AND RESOUCCE MANAGEMENT COUNCIL OF AUSTRALIAN AND NEW ZEALAND. Standing Committee on Agriculture and Resource Management Animal Health Committee. Model Code of Practice for the Welfare of Animals. **Farmed Buffalo**. SCARM Report Series n. 52, p. 1-27, 1995.
- ANIMAL DISEASE EMERGENCIES: CARCASS DISPOSAL METHODS. **The Center for Food Security & Public Health**.
- BABA, I. A.; BANDAY, M.T.; KHAN A. A.; KHAN, H.M.; NIGHAT, N. Traditional methods of carcass disposal: a review. **Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research**, v. 5, n. 1, p. 21-27, 7 fev. 2017. DOI: 10.15406/jdvar.2017.05.00128.
- BARBOSA NETO, J.D.; BASTIANETTO, E. Diferenças fisiológicas entre bubalinos e bovinos: interferência na produção. **Ciência Animal Brasileira**, suplemento n. 1, 2009. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/7664>.
- BARUSELLI, P.S. Sexual behavior in buffaloes. *In: Proceedings do 4th World Buffalo Congress*, São Paulo, Brasil. São Paulo: ABCB, p. 158-173, 1994.
- BARUSELLI, P.S.; BERNARDES, O.; BRAGA, D.D.A.F.; ARAUJO, D.C.; TONHATI, H. Calving distribution throughout the year in buffalo raised all over Brazil. **World Buffalo Congress, 6, Maracaibo, Venezuela, 2001**. Proceedings...Maracaibo, Venezuela: [s.n.], 2001.
- BARUSELLI, P.S.; CARVALHO, N.A.T. Controle do desenvolvimento folicular para emprego de biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*). **Rev Bras Reprod Anim**, v. 27, p.94-102, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; CARVALHO, N.A.T.; JACOMINI, J.O. Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos. **Rev Bras Reprod Anim Supl**, n.6, p.104-110, 2009.
- BASTIANETTO, E. Criação de búfalos no Brasil: situação e perspectiva. **Rev Bras Reprod Anim**, v.6. p.98-103, 2009.
- BASTIANETTO, E.; ESCRIVÃO, S.C.; OLIVEIRA, D.A.A. Influência das características reprodutivas da búfala na produção, composição e qualidade do leite. **Rev Bras Reprod Anim**, v.29, p.49-52, 2005.
- BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. **Rev Bras Reprod Anim**, v.31, p.293-298, 2007.
- BRASIL. Lei nº 4.714, de 29 de junho de 1965. **Modifica legislação anterior sobre o uso da marca de fogo no gado bovino**.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Bem-estar animal e sistemas de produção de gado de corte.** Código sanitário de animais terrestres – OIE – 2014. Comissão Técnica Permanente de BEA. - Capítulo 7.9. Tradução Livre do Capítulo versão inglês.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boas práticas de manejo, transporte/** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Mateus J.R. Paranhos da Costa, Murilo Henrique Quitiliano, Stavros Platon Tseimazides. – Brasília: MAPA/ACS, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 8, de 25 de março de 2004.** Proibir em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de normas técnicas para estruturas físicas de unidades de vigilância de zoonoses** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília/DF, 2017. 68 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 62, de 10 de maio de 2018. Regulamento Técnico de Manejo Pré-Abate e Abate Humanitário. Diário Oficial da União de 18/05/2018, n. 95, S. 1, p. 24.
- CAMPANILE, G.; BARUSELLI, P.S.; NEGLIA, G., VECCHIO, D., GASPARRINI, B.; GIMENES, L.U.; ZICARELLI, L.; D'OCCHIO, M.J. Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. **Anim Reprod Sci**, v.121, p.1-11, 2010.
- CARDOSO, E. G. Confinamento de bovinos. Embrapa Gado de Corte, 2008.
- CARVALHO, N.A.T.; BERNARDES, O.; BARUSELLI, P.S. Desestacionalização dos Partos para a Produção de Leite de Búfalas a pasto no Centro Sul do Brasil. **Pesquisa e Tecnologia**, v.8, p.1-5, 2011.
- CEUA-UFRGS: **Guia de Severidade dos Procedimentos Científicos.** Disponível em: [file:///Users/marcelobertolini/Downloads/guia%20de%20severidade%20\(2\).pdf](file:///Users/marcelobertolini/Downloads/guia%20de%20severidade%20(2).pdf).
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Cartilha – Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde Animal Simplificado** (PRGSSA). Disponível em: <https://www.cfmv.gov.br/cartilha-residuos-de-servicos-de-saude-animal/comunicacao/publicacoes/2020/08/03/#1>.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais.** Disponível em: <https://www.cfmv.gov.br/guia-brasileiro-de-boas-praticas-para-a-eutanasia-em-animais/comunicacao/publicacoes/2020/08/03/#1>
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012 do CFMV. **Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências.** Disponível em: <http://portal.cfmv.gov.br/portal/lei/index/id/326>. Acesso em: 20 abr 2016.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 877, de 15 de fevereiro de 2008 do CFMV. **Dispõe sobre os procedimentos cirúrgicos em animais de produção e em animais silvestres e cirurgias mutilantes em pequenos animais e dá outras providências.** Disponível em: <http://www.cfmv.org.br/consulta/arquivos/877.pdf>. Acesso em: 20 abr 2016.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 923, de 13 de novembro de 2009 do CFMV. **Dispõe sobre procedimentos e responsabilidades do Médico Veterinário e do Zootecnista em relação à biossegurança no manuseio de microorganismos e de animais domésticos, silvestres, exóticos e de laboratório, inclusive os geneticamente modificados, bem como suas partes, fluidos, secreções e excreções.** Disponível em: http://crmvsp.gov.br/arquivo_legislacao/923.pdf. Acesso em: 20 abr 2016.
- CORTESI, M.L. Slaughterhouses and humane treatment. **Revue Scientifique et Technique** Office International des Epizooties, v.13, n.1, p.171-193, 1994.
- EXPERT working group on severity classification of scientific procedures performed on animals. **Final Report.** Brussels: julh 2009. Revision of Directive 86/609/EEC on the protection of animals used for scientific purposes.
- FFOULKES, D. **Management of Australian Water Buffalo in South East Asian Cattle Feedlots.** Department of Primary Industry and Resources Northern Territory Government of Australia, p. 1-42, jan. 2019. Disponível em: https://dpir.nt.gov.au/_data/assets/pdf_file/0010/658954/management-water-buffalo-south-east-asia-EN.pdf.
- FFOULKES, D. **Tropical Beef Production and Husbandry of Australian Cattle and Buffalo in se Asia.** Technical Services Notebook. Australia, 2021. ISBN n. 978-0-7245-4773-9.
- GALERA, P.D. **Apostila de técnica cirúrgica.** Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária de Brasília, ago. 2005.

- GANGWAR, P.C. Importance of photoperiod and wallowing in buffalo production. **The Indian Journal of Dairy Science**, v.38, p.150- 155, 1985.
- GARCIA, A.R. Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). **Revista de Ciências Agrárias**, v.45, p.1-13, jan./jun. 2006.
- GARCIA, M.; DELLA LIBERA, A. M. M.; BARROS FILHO, I.V. **Manual de semiologia clínica dos ruminantes**. São Paulo: Varela, p. 1-247, 1996.
- GOLDMAN BD. Mammalian Photoperiodic System: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. **J Biol Rhythms**, v.6, p.283-301, 2001.
- GOMES, G.M.F.; EGITO, A.S.; SALLES, H.O.; OLIVEIRA, E.L.; VASCONCELOS, A. M. **Seleção dos Animais e Cuidados Pré, Durante e Pós-Cirúrgicos na Fistulação Ruminal em Caprinos e Ovinos**. Documentos 92 online. Embrapa Caprinos e Ovinos. Sobral/CE, 2009. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/748192/1/doc92.pdf>.
- GRACEY, J.F.; COLLINS, D.S. Humane Slaughter. In: **Meat hygiene**. London: Baillière Tindall, p.143-167, 1992.
- GRIMM, K. A.; LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GREENE, S. A.; ROBERTSON, S.A. **LUMB & JONES Anestesiologia e Analgesia Veterinária**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Roca, p. 1-1038, 2017.
- KEAL, L. C. Nutrients requeriments of ruminants in developing countries. (sl:sn). 1982. 150 p. e Zicarelli, L. Nutrition in Dairy Bufaloos. In: Tonhati *et al.* **Bubalinos; sanidade, reprodução e produção**. Jaboticabal: Funep. 1999. 202 p.
- KNECHT, C.D. *et al.* Técnicas fundamentais em cirurgia veterinária. São Paulo: Roca, 1985. 308p.
- LI L, XU JN, WONG YH, WONG JTY, PANG, SF, SHIU SYW. Molecular and cellular analyses of melatonin receptor-mediated cAMP signaling in rat corpus epididymis. **J Pineal Res**, v.25, n. 4, p. 219-228, dez. 1998. Doi: 10.1111/j.1600-079x.1998.tb00391.x. PMID: 9885991.
- MACITELLI, F.; BRAGA, J. S.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R. **Boas práticas de manejo: confinamento**. Jaboticabal: Funep, 2018, 51p.
- MALPAUX B, MIGAUD M, TRICOIRE H, CHEMINEAU P. Biology of mammalian photoperiodism and critical role of pineal gland and melatonin. **J Biol Rhythms**, v.16, p.336-347, 2001.
- MALPAUX, B. Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: Neill JD e Knobil E (Org.). **Physiology of Reproduction**. 3. ed. London: Elsevier, v.41, p.2231-2281, 2006.
- MARQUES, J.R.F. **Búfalos**. Embrapa, 2000, 176 p.
- MARQUES, J.R.F. Criação de Búfalos. **Coleção Criar**. Embrapa, 1998, 135 p.
- MATOS, M. P. C.; MOURA, V. M. B. D. **Manual de necropsia, colheita e envio de amostras para diagnóstico laboratorial de enfermidades de bovinos**. Zoetis. Goiânia, 32 p., 2013.
- MATOS, M.P.C., Moura, V.M.B. **Manual de Necropsia: Bovinos**. Zoetis. 2013, 31 p.
- BRASIL. Resolução Normativa nº 55, de 5 de outubro de 2022. **Atualiza o texto da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA**. Diário Oficial da União de 7/10/2022, n. 192, S. 1, p. 10. 22 p.
- MONTIEL-URDANETA, N.S.; ROJAS, N.; ÂNGULO, F.; PEROZO.; HERNANDEZ, A.Z.J.; CAHUAO, N.; BARILE, V.L. Factors influencing milk production in cross breed buffaloes in a very dry tropical area of Venezuela. *In: Proceedings... 5th World Buffalo Congress*, Royal Palace, Caserta, Italy, 13-16 October, p. 99-203, 1997.
- MOREIRA, M.K.; RODRIGUES, A.S. Influence of Seasonality on Mammals Reproduction. **Research & Reviews: Journal of Zoological Sciences**, v.4, p. 43-50, 2015.
- MOREIRA, P.; COSTA, A.L.; VALENTIN, J.F. Comportamento produtivo e reprodutivo de bubalinos mestiços Murrah Mediterrâneo em pastagem cultivada em terra firme, no Estado do Acre. Rio Branco: Embrapa- CPAF-Acre, **Boletim de Pesquisa**, v.13, p.19, 1994.
- MORI, A. C. F.; POLEGATO, E. P. S.; VEIGA, M. C. M.; LOBÃO, R. A. **Plano de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde animal simplificado**. CFMV. 2019, 27 p.
- NEVES, S. M. P.; ONG, F. M. P.; FONTES, R. SPALUTTO. Controle Nutricional. In Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. Silvânia M. P. Neves [*et al.*]. São Paulo: FCF-IQ/USP, 2013. 216p.
- NEW ZEALAND GOVERNMENT. National Animal Ethics Advisory Committee. **Good Practice Guide for the use of animals in research, testing and teaching**, 61p., March 2019.
- OBI-REDDY, A.; TRIPAHI, V.N.; RAINA, V.S. Effect of climate on the incidence of oestrus and conception rate in Murrah buffaloes.

Indian J Anim Sci, v.57, p.204-207, 1887.

- OHASHI, O.; MIRANDA, M. S.; SANTOS, S. D.; CORDEIRO, M.S.; COSTA, N.N.; SILVA, T.V. Distúrbios reprodutivos do rebanho bubalino nacional. **Ciênc Anim**, v.22, p.171-187, 2012.
- OLFERT, E.D.; CROSS, B.M.; MCWILLIAM, A.A. Guide to the care and use of experimental animals, V.1, 2.Ed. Ottawa: **Canadian Council on Animal Care**. 2020, 201p.
- ORTAVANT, R.; BOCQUIER, F.; PELLETIER, J.; RAVAUULT, J.P.; THIMONIER, J.; VOLLAND-NAIL, P. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. **Australian J Biol Sci**, v.41, p.69-85, 1988.
- PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; BRAGA, J. S.; PASCOA, A. G.; CEBALLOS, M. C. **Boas práticas de manejo: no curral**. Jaboticabal: Funep, 2019, 60p.
- PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; QUINTILIANO, M. H.; TSEIMAZIDES, S. P. **Boas práticas de manejo: transporte**. Jaboticabal: Funep, 2012, 56 p.
- PARMEGGIANI, A.; SEREN, E.; ESPOSITO, L.; BORGHESE, A.; DI PALO, R.; TERZANO, G.M. Plasma levels of melatonin in buffalo cows. **Proceedings of the International Symposium Prospects of buffalo production in the Mediterranean and the Middle East**, Doki (Cairo), 9–12 November, EAPP Publication, v.62, p.401-403, 1993.
- PEREIRA, R.G.A.; TOWNSEND, C.R.; COSTA, N.L.; MAGALHÃES, J.A. **Eficiência reprodutiva de búfalos**. Porto Velho: Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia, 2007. 15p. (Embrapa Rondônia. Documento 123).
- PHOGAT, J.B.; PANDEY, A.K.; SINGH, I. Seasonality in buffaloes reproduction. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v.6, p.46-54, 2016.
- RESOLUÇÃO CONAMA Nº 358, DE 29 DE ABRIL DE 2005. **Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências**. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=462>. Um resumo se encontra em <https://www.cfmv.gov.br/cartilha-residuos-de-servicos-de-saude>.
- RHODES, F.M.; MCDOUGALL, S.; BURKE, C.R.; VERKERK, G.A.; MACMILLAN, K.L. Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1876-94, 2003.
- ROCHA, R.M.P.; MATOS, M.H.T.; LIMA, L.F.; SARAIVA, M.V.A.; ALVES, A.M.C.V.; RODRIGUES, A.P.R.; FIGUEIREDO, J.R. Melatonina e reprodução animal: implicações na fisiologia ovariana. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, p.147-157, 2011.
- ROSENBERGER, G. **Exame clínico dos bovinos**. 3 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, 448 p.
- SANDER, J.E. Disposal of Carcasses and Disinfection of Premises. MSD Manual - Veterinary Manual. Zoetis.
- SÃO PAULO (SP). Assembleia Legislativa do Estado de São Paulo. Decreto nº 40.400, de 24 de outubro de 1995. **Aprova Norma Técnica Especial relativa à instalação de estabelecimentos veterinários**. Disponível em: <https://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/decreto/1995/decreto-40400-24.10.1995.html>.
- SCHMIDEK, A.; DURÁN, H.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R. **Boas Práticas de Manejo, Identificação**. Jaboticabal: Funep, 2009, 39p. E-Book. ISBN 978-85-7805-104-4.
- SENAR - Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Sanidade animal: administração de medicamentos em bovinos** / Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. - 3.ed. Brasília: SENAR, 2015. 120 p.
- SHAH, S.N.H.; WILLEMSE, A.H.; VAN DE WIEL, D.F.M. Descriptive epidemiology and treatment of postpartum anestrus in dairy buffalo under small farm conditions. **Theriogenology**, v. 33, p. 1333-1345, 1990.
- SINGH, J.; NANDA, A.S.; ADAMS, G.P. The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes. **Animal Reprod Sci**, v.60, p.593-604, 2000.
- SIQUEIRA, J.B.; LEAL, L.S.; OBA, E. Dinâmica folicular ovariana na espécie bubalina. **Rev Bras Reprod Anim**, v.33. p.133-148, 2009.
- SMITH, J.T. The role of kisspeptin and gonadotropin inhibitory hormone in the seasonal regulation of reproduction in sheep. **Domest Anim Endocrinol**, v.43, p.75-84, 2012.
- SOYSAL, M.I.; TUNA, Y.T.; GÜRCAN, E.K. An investigation on the water buffalo breeding in Danamandira Village of Silivri District of Istanbul Province of Turkey. **Journal of Ttekirdag Agricultural Faculty**, v.2, p.73-78, 2005.
- SPINOSA, H. C; GÓRNIK, S. L; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- SWATLAND, H.J. SLAUGHTERING. Disponível em: <http://www.bert.aps.uoguelph.ca/swatland/ch1.9.htm>. 2000. 10p.
- TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1993. 770p.
- TEMA: **Fistulação em Bovinos**. Embrapa, 2013. Disponível em: https://www.embrapa.br/esclarecimentos-oficiais/-/asset_publisher/TMQZKu1jxu5K/content/tema-fistulacao-em-bovinos.

- TOLAZZI, J. R., GARCIA, R. D., BEZERRA, A. S. Nutrição experimental: conceitos, aspectos éticos e dietas experimentais. **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 16, n. 1, p. 147-162, 2015.
 - TORRES-JÚNIOR. Sazonalidade reprodutiva de bubalinos (*Bubalus bubalis*) em regiões equatorial e temperada. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.40, n.4, p.142-147, out./dez. 2016. Disponível em: www.cbpa.org.br 147.
 - TSEIMAZIDES, S. P. **Efeito do manejo pré-abate de bovinos no bem-estar e qualidade da carcaça**. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal. 2016, 56p.
 - TURNER, A. S.; MCILWRAITH, C. W. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo: Roca, 1985, 341p.
 - VALE, W.G. **Bubalinos: Fisiologia e Patologia da Reprodução**. Campinas; Fundação Cargil, p.86, 1988.
 - VALE, W.G.; RIBEIRO, H.F.L. Características reprodutivas dos bubalinos: puberdade, ciclo estral, involução uterina e atividade ovariana no pós-parto. **Rev Bras Reprod Anim**, v.29, p.63-73, 2005.
 - WILLIS, N. 2003. **Animal carcass disposal**. Conf. OIE 2003, 149-159. Disponível em: <https://www.oie.int/doc/ged/D2964.PDF>.
 - ZICARELLI L. Enhancing reproductive performance in domestic dairy water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Soc Reprod Fertil Suppl**, v.67, p.443-455, 2010.
 - ZICARELLI L. Reproductive seasonality in buffalo. **Proceedings... of the Third Course on Biotechnology of Reproduction in Buffaloes** (Issue II), Gaserta, Italy 6-10, October, p.29-52, 1997.
 - ZICARELLI, L. Can we consider buffalo a non precocious and hypofertile species? **Italian J Anim Sci**, v.6, p.143- 154, 2007.
 - ZICARELLI, L. Considerazioni sull'allevamento buffalino. Salerno: **Ente Regionale Sviluppo Agricolo in Campania**, 70p., 1990.
 - ZICARELLI, L. Management in different environmental conditions. **World Buffalo Congress**, 4, 1994, São Paulo, Proceedings... São Paulo, v:88-112, 1994
- Legislação/Normas/Resoluções

11. Critérios mínimos para instalações de Grandes Ruminantes

Classificação:
OB - Obrigatório
 Considera-se item OBRIGATÓRIO
R - Recomendado.
 Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

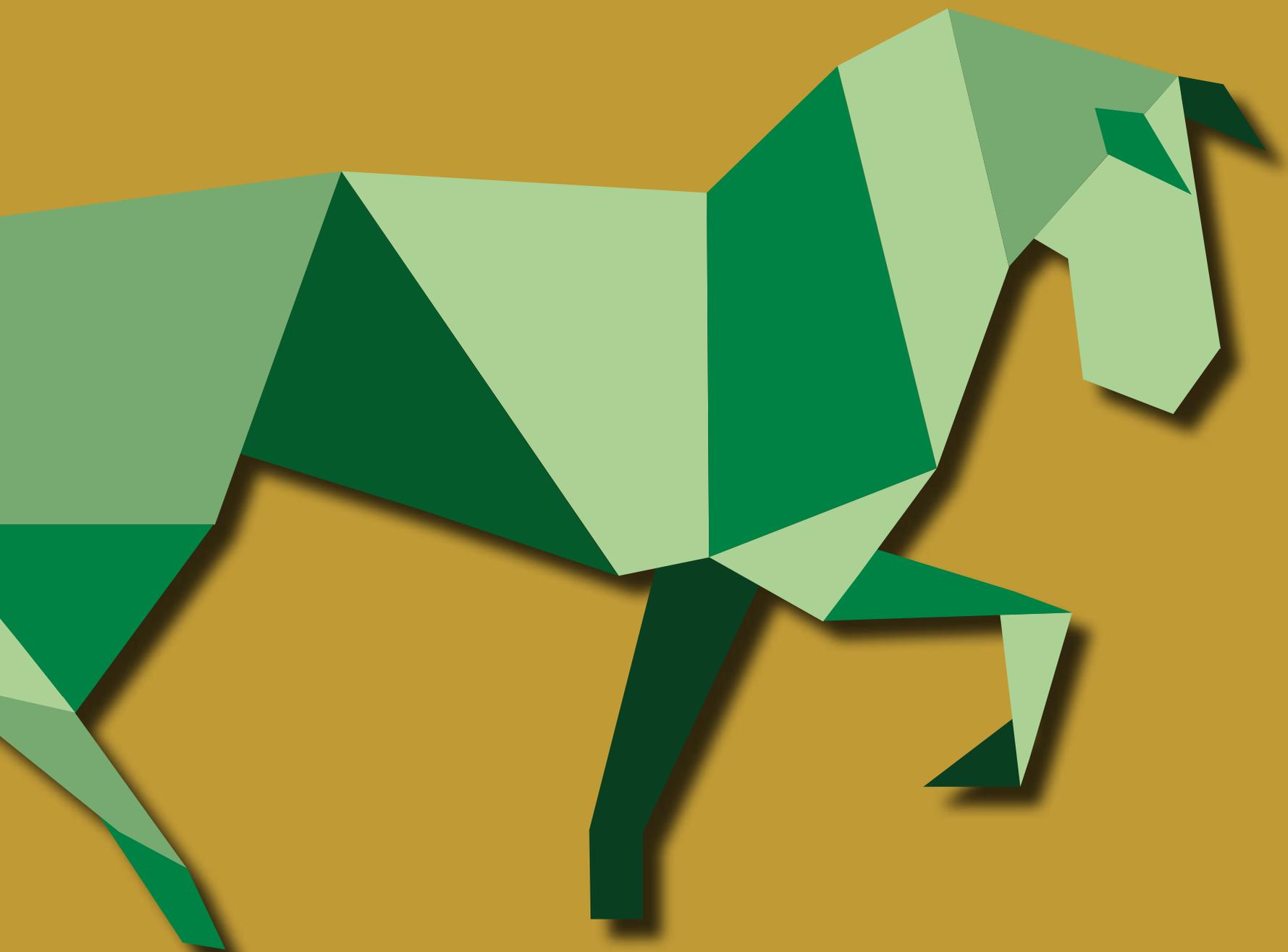
DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos	
Áreas de Apoio	
Área administrativa.	R
Instalação de criação isolada por barreira física (vegetal).	R
Equipamentos de uso exclusivo na instalação de criação.	OB
Local para descarte de carcaças de acordo com as especificações do Concea.	OB
Área de recepção de animais.	R
Área de quarentena de acordo com as especificações do Concea.	R
Detalhes Construtivos	
Paredes, pisos e tetos de materiais que possibilitem a adequada higienização e desinfecção.	R
Instalações amplas, arejadas e voltadas ao maior conforto possível para o animal, oferecendo proteção contra as intempéries.	R
Instalações com áreas destinadas a funções específicas, que promovam a segurança e o bem-estar, tanto do pessoal envolvido nas atividades quanto dos animais experimentais.	OB
Instalações para confinamento, semi confinamento e manejo geral com piso de material antiderrapante e de fácil higienização.	OB
Iluminação de acordo com as recomendações do Concea.	R
Alojamento em grupos, exceto em casos autorizados pela CEUA ou condições clínicas.	R
Contato visual entre os animais.	R
Ventilação adequada nas áreas de confinamento.	OB
Dimensionamento dos alojamentos de acordo com as especificidades dos animais.	OB
Curral de manejo compartimentado e separado por porteiras permitindo o manejo seguro de apartação dos animais.	R
Cobertura total ou parcial para proteção do pessoal e dos animais.	R
Corredor do tipo "seringa" para direcionamento dos animais.	R
Tronco de contenção próprio para a espécie.	R
Curral localizado em terreno elevado e em disposição que facilite a entrada e saída dos animais.	R
Paredes internas do curral, do brete e do tronco de contenção lisas e livres de saliências ou elementos pontiagudos que possam provocar danos ao animal.	OB
Paredes laterais fechadas, especialmente do brete e tronco.	R
Baias destinadas aos touros localizadas em local que possibilite contato visual e olfativo com outros animais do rebanho e caminho de fuga para a segurança das pessoas.	R
Instalação de produção, onde ocorre reprodução, com altura e piso propícios à monta.	OB

Depósitos	
Depósitos exclusivos para estocagem de ração, forragem e cama.	OB
Ração armazenada sem contato com o piso ou paredes.	OB
Depósito de resíduos isolado das demais áreas.	OB
Depósito de produtos químicos e medicamentos.	OB
Câmara fria ou freezer para acondicionamento de carcaças.	R
Piquetes	
Cochos para fornecimento de alimento, sal mineral e água e sombreamento.	OB
Cercas de materiais que minimizem riscos de ferimentos.	OB
Terreno dos piquetes com condições de drenagem, que possibilitem a redução do acúmulo de lama ou esterco durante os períodos de chuvas.	OB
Lotação animal de acordo com a disponibilidade de pastagem.	OB
Controle de plantas tóxicas.	OB
Informações gerais	
Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB
Área para procedimentos cirúrgicos, piquete e baia hospitalar	
Área cirúrgica localizada em ambiente fechado e própria para este fim, dotada de brete de contenção.	R
Área cirúrgica localizada em ambiente fechado e própria para este fim, dotada de brete de contenção.	OB
Piquetes hospitalares que abriguem um animal de cada vez, dotados de cercas de arame liso, bebedouro, cocho coberto e sombra.	OB
Biossegurança	
Áreas de alojamento e manejo de bovinos e bubalinos geneticamente modificados, fisicamente separadas de outras áreas, com acesso restrito.	OB
Gaiolas metabólicas (quando existentes) adequadas a espécie e de uso exclusivo durante a realização dos estudos metabólicos.	OB
Câmaras climáticas e respirométricas (quando existentes) equipadas com sistemas de exaustão, renovação e recirculação do ar.	OB

Capítulo 10

Equídeos





CORDENADORES:

Rui Machado Embrapa Pecuária Sudeste

AUTORES:

Edson Martins Scarpelli Animallis Medicina Veterinária

Raquel Soares Juliano Embrapa Pantanal

Sandra Aparecida Santos Embrapa Pantanal

Thais Sodré Invitare Pesquisa Clínica Auditoria e Consultoria

Citação recomendada: SCARPELLI, E.M.; JULIANO, R.S.; SANTOS, S.A.; SODRÉ, T. (2023) Capítulo 10 - Equídeos. pp. 656-689. In: MACHADO, R. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	663
2. Instalações	664
2.1. Estrutura física	664
2.1.1. Áreas de criação em pastagem	664
2.1.1.1 Área de pastagem ou piquete	664
2.1.1.2. Pastagem propriamente dita	665
2.1.1.3. Suplementação em pastagem	665
2.1.1.4. Áreas onde se realiza a reprodução dos animais	665
2.1.1.5. Cercas	666
2.1.1.6. Cochos e bebedouros nos piquetes	666
2.1.1.7. Conforto térmico	667
2.1.1.8. Áreas para manejo	667
2.1.2. Criação em confinamento	668
2.1.2.1. Cavalariças e baias	668
2.1.3. Áreas acessórias de apoio à experimentação	670
2.1.3.1. Laboratórios	670
2.1.3.2. Ambulatório	671
2.1.3.3. Apoio técnico e administrativo	671
3. Procedimentos de manejo	672
3.1. Alimentação	672
3.2. Higienização	672
3.2.1. Limpeza das instalações	673
3.2.2. Higiene geral dos animais	673
3.2.3. Higienização da boca e cuidados dentários	673
3.2.4. Higienização dos membros	673
3.3. Contenção	674
3.4. Enriquecimento ambiental	675
3.5. Medicina-veterinária preventiva	675
3.5.1. Inspeção diária	675
3.5.2. Barreiras sanitárias e biossegurança	676
3.5.3. Controle de doenças	676
3.5.4. Quarentena	676
3.6. Manejo geral dos animais	677
3.6.1. Recreação e exercícios	677
3.6.2. Treinamento, adestramento e provas esportivas	678
3.6.3. Trânsito e transporte	678
3.6.4. Identificação dos animais	678
3.6.5. Práticas de manejo reprodutivo	679
4. Procedimentos experimentais	680
4.1. Administração de substâncias	680
4.1.1. Via oral	680

4.1.2. Via intramuscular	680
4.1.3. Via subcutânea e intradérmica	680
4.1.4. Via Endovenosa	681
4.2. Coleta de tecidos, fluidos, secreções e excretas	681
4.2.1. Coleta de sangue	681
4.2.2. <i>Swabs</i> genitais/biopsia uterina	681
4.2.3. Lavado traqueal	682
4.2.4. Amostras de urina e fezes	682
4.3. Ingestão de água e alimento	682
4.4. Cirurgia experimental	683
4.4.1. Sedação, analgesia e anestesia	683
5. Eutanásia	684
6. Necropsia e destino das carcaças	685
7. Referências bibliográficas	686
8. Critérios mínimos para instalações de Equídeos	688

EQUÍDEOS

1. Introdução

Os animais a serem tratados neste guia pertencem ao gênero *Equus*. Serão abordados especificamente os equinos (*Equus caballus*), os asininos (*Equus asinus* ou *Equus africanus*) e os muares (mulas, burros e bardotos) originários do cruzamento entre aquelas espécies (MACFADDEN 2005), doravante designados neste guia como equídeos. Na experimentação científica, os equídeos têm grande importância. São usados para a produção de soros hiperimunes e extração de hormônios a partir da urina e do soro das éguas prenhes. O Brasil concentra aproximadamente 10% do rebanho mundial de cavalos com 5,57 milhões de cabeças, além dos 862.963 de asininos e 1,23 milhões de muares (FAOSTAT 2016) criados em todas as regiões do país. No âmbito da pesquisa em território nacional, mais de cem grupos de pesquisa do CNPq trabalham com equídeos em estudos sobre a própria criação ou os utilizam como sujeitos experimentais em estudos farmacológicos de interesse humano. Esse contexto motivou a elaboração do presente Guia, que objetiva prover orientações que garantam condições adequadas aos equídeos utilizados em pesquisas científicas e no ensino. Os procedimentos e as orientações apresentadas têm fundamentação técnica e ética para assegurar o bem-estar animal durante a criação, manutenção e utilização de equídeos em atividades de ensino ou pesquisa no território nacional. O núcleo orientador a ser seguido é o “princípio dos 3Rs (RUSSEL & BURCH 1992), que preconiza a substituição (*replacement*); a redução do uso de animais em experimentos (*reduction*); e o refinamento do uso de animais, ou seja, o uso de forma apropriada, considerando-os como seres sencientes. Assim, angústia, medo e dor devem ser prevenidos ou mitigados na condução dos experimentos. Adicionalmente, para a avaliação do bem-estar animal, serão respeitadas as cinco liberdades animais (FAWC 1992, adaptado do “relatório Brambell-1965”), que são:

1ª Livre de sede, fome e má nutrição: providenciando acesso a água fresca e alimento com indicação zootécnica à categoria individual que o animal se encaixa;

2ª Livre de desconforto físico e térmico: provendo ambiente e abrigo com espaço adequado;

3ª Livre de dor, injúrias ou doenças: prevenção, rápido diagnóstico e tratamento;

4ª Livre para expressar o comportamento: permitindo a expressão inerente a sua espécie e raça;

5ª Livre de medo e estresse: promovendo condições que evitem sofrimento mental.

2. Instalações

2.1. Estrutura física

A estrutura de um centro de experimentação ou de ensino com equídeos poderá ser composta por áreas de criação em pastagem e/ou em piquetes baias (admitindo-se com ressalvas o confinamento – vide item 2.1.2), que poderão ser utilizadas também como áreas de experimentação animal e áreas de apoio técnico e administrativo.

2.1.1. Áreas de criação em pastagem

Em criações extensivas, os principais recursos para prover bem-estar aos equídeos são pastagens com qualidade compatível à categoria animal, sombra, fontes de água limpa e fresca e cochos preferencialmente cobertos para a suplementação mineral do lote. A área deve ser preferencialmente plana e possuir quebra-ventos para que os animais possam descansar. A área deve ser livre de lixo, entulho ou descartes, buracos, utensílios e objetos que possam causar acidentes aos animais. Cuidado redobrado deve ser tomado com plantas tóxicas em áreas maiores. Locais inundados ou encharcados podem predispor a enfermidades nos cascos de animais não adaptados a tais condições (FARIA *et al.*, 2005).

2.1.1.1 Área de pastagem ou piquete

A área deve ser adequada ao número de animais, dispor de cochos de água e de suplementação, assim permitindo aos equídeos expressarem seu comportamento natural e suas atividades sociais equilibradas, mantendo espaço individual e distância de fuga, indicadores que variam conforme a raça e a categoria animal.

O centro de criação que desenvolve reprodução deve possuir piquetes separados para cada categoria animal (éguas gestantes ou recém-paridas, garanhões, animais idosos etc.), com acesso a áreas protegidas contra intempéries, semelhante a baias com ou sem portas.

2.1.1.2. Pastagem propriamente dita

Para atender as necessidades nutricionais dos animais, deve-se determinar a capacidade de suporte de cada área de pastejo (taxa de lotação) em função do tipo de pastagem existente, das condições do clima e do solo, da estação do ano, da raça e da categoria animal (SANTOS *et al.*, 2016). Como os equídeos pastejam rente ao solo, recomenda-se o uso de gramas como a Bermuda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.), a Estrela Africana (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst) e seus híbridos (Tiftons, Coast Cross, Jiggs) ou capins como o Pangola (*Digitaria decumbens*) e o de Rhodes (*Chloris gayana* Kunth.), entre outros. Capins altos, principalmente do gênero *Panicum* não são recomendados para uso exclusivo e quando utilizados, o manejo deve ser feito tomando alguns cuidados e precauções, pois a espécie pode apresentar desbalanço mineral e/ou excesso de carboidratos não estruturais na rebrota (SANTOS *et al.*, 2016). A aplicação de fertilizantes, pesticidas, herbicidas e estrume ou compostagem deve ser programada para épocas nas quais os piquetes estejam vazios, evitando assim, riscos desnecessários à saúde dos equídeos e mitigando a contaminação das águas subterrâneas (*Code of Practice for the Care and Handling of Equines* 2013).

2.1.1.3. Suplementação em pastagem

A quantidade e a qualidade do suplemento alimentar volumoso e concentrado a ser fornecido na dieta dos equídeos dependem do que é suprido pelas pastagens. O arraçoamento individual deve ser adotado sempre que necessário e o concentrado formulado de acordo com as exigências nutricionais de cada categoria (NRC 2007).

2.1.1.4. Áreas onde se realiza a reprodução dos animais

Uma vez acasaladas, deve ser realizada anotação da data prevista do parto, e, aproximadamente um mês anterior a essa data, as éguas gestantes devem ser mantidas em piquetes-maternidade (BLANCHARD *et al.*, 2003) com pastagens e/ou feno de boa qualidade localizados preferencialmente próximo das instalações de apoio.

Para criações em confinamento, as baias dos garanhões e das éguas recém paridas devem ter paredes em todo o seu perímetro para prevenir agressões mútuas (*Guide for the care and use of Agricultural Animals in Research and Teaching* 2010). A área da baia maternidade deve ser ampla o suficiente para acomodar movimentos ambulatoriais e

permitir que a fêmea se deite confortavelmente durante e depois da parição. Durante a fase de aleitamento do potro, a dupla mãe-cria requer um ambiente ainda maior (30% mais largo do que as áreas normais).

2.1.1.5. Cercas

Os materiais mais usados são os postes de madeira e os tubos metálicos. Usam-se também trilhos, placas sólidas, arames, tubos de plástico, borracha, entre outros. A cerca elétrica é uma possibilidade (CINTRA 2010), assim como o uso de arame farpado (MAPA 2017). No caso das cercas com arame liso, recomenda-se o uso de régua ou ripas ou canos pintados com largura suficiente para prevenir acidentes.

A cerca deve ser suficientemente alta (acima do solo) para não atingir os membros ou cascos dos animais, especialmente, quando eles rolam. As cercas devem estar livres de superfícies pontiagudas ou afiadas. Se possível, as curvas das cercas devem ser estreitas e apertadas para que o animal não se machuque caso tenha sido encurralado num canto.

As porteiras podem ser de material distinto do corpo da cerca, devendo estar acima do solo e na mesma altura das cercas para que os animais não pulem (*Guide for the care and use of Agricultural Animals in Research and Teaching* 2010). Para reduzir o risco de injúrias, recomenda-se a introdução dos equinos durante o dia quando as cercas forem desconhecidas pelo animal (*Code of Practice for the Care and Handling of Equines* 2013).

2.1.1.6. Cochos e bebedouros nos piquetes

O mesmo cocho ou comedouro pode ser utilizado para concentrados e volumosos e estes podem ser oferecidos em feno ou no chão, desde que haja pleno escoamento de água. Para os cochos de sal mineral, indica-se a cobertura. Dentre os materiais para confecção de cochos destacam-se a fibra de vidro e a alvenaria (cimento queimado), sem bordas cortantes e fundo arredondado com queda no sentido do ralo. A água deve ser fornecida à vontade, limpa e fresca (NRC 2007). É recomendada a utilização de boias ou bebedouros com enchimento automático. A checagem diária dos bebedouros é fortemente recomendada. O cocho de água pode ser alocado próximo à cerca de divisão, mas com o cuidado de não ser colocado em área de fuga ou movimentação. A sua limpeza deve ser observada de modo a evitar contaminações por fezes e restos de alimentos (MINERO & CANALI 2009).

2.1.1.7. Conforto térmico

O conforto térmico é alcançado quando o animal está em sua zona termoneutra, a qual ocorre quando o calor produzido pelo animal, somado ao que ele ganha do ambiente, equivale ao calor perdido por meio dos mecanismos de termorregulação. Nos cavalos em geral, a zona termoneutra está entre -5°C e 25°C (MORGAN 1998). Deve-se considerar, no entanto, a capacidade de adaptação e aclimatação da espécie a uma ampla faixa de temperatura. A exposição às altas temperaturas e/ou elevado teor de umidade relativa do ar aumenta a temperatura corporal do equino, numa velocidade maior do que a de dissipação do calor, podendo ocorrer grande desconforto ao animal.

Abrigos devem ser construídos se o clima for muito quente, muito frio ou úmido. O sombreamento, natural ou artificial (sombrites) é essencial, especialmente nas regiões de clima mais quente (*Guide for the care and use of Agricultural Animals in Research and Teaching* 2010). Sistemas silvipastoris são recomendados, pois as árvores podem proteger do frio e do vento além de amenizar altas temperaturas.

O outro extremo é a hipotermia, comum em potros devido à incapacidade de termorregulação, cuja prevenção envolve cuidados pré-natais, especialmente relativos ao manejo sanitário e nutricional da égua prenhe. Procedimentos como o uso de baias fechadas ou berçários em locais elevados são desejáveis.

2.1.1.8. Áreas para manejo

Embora os formatos poligonais sejam admissíveis, Waring (2002) aponta os formatos circular e semicircular como ideais para o manejo dos equídeos. O corredor ideal de acesso deve ter forma de funil circular, que se estreita gradualmente (seringa) até alcançar o brete. A porteira da seringa deve ter vãos que permitam a visão dos outros animais, diminuindo a sensação de isolamento. O espaço dos vãos deve ter dimensão que previna acidentes. Do brete, os equídeos são liberados para uma área de redistribuição em divisões para fazer os apartes necessários. Essas divisões devem ter sombreamento e bebedouros. As plataformas de embarque devem ser projetadas para prevenir acidentes e, sempre que possível, os equídeos devem ser ambientados às rampas ou veículos de transporte antes mesmo da necessidade real de embarque (McLEAN 2004).

2.1.2. Criação em confinamento

Os equídeos têm hábitos gregários e tendências à fuga. Portanto, sob a perspectiva etológica, o confinamento em estábulos ou em baias, principalmente de um animal isolado, deve ser a última opção ou, preferencialmente, por tempo restrito e em animais com mais de 18 meses de idade (CARVALHO & HADDAD 1987).

2.1.2.1. Cavalariças e baias

Essas edificações são herança de países de clima temperado. Para utilizá-las em ambiente tropical, deve-se prover arejamento adequado. Neste caso, pode ser recomendado que sejam construídas no sentido norte-sul e pela mesma razão pode-se optar pelo modelo de cavalaria dupla com um corredor comum no formato “L”, “U” ou quadrado, existindo então um pátio interno que contenha duchas, bebedouros, entre outros. Porém, cavalariças edificadas no sentido leste-oeste evitam o sol intenso diretamente dentro do abrigo em regiões com alto índice de insolação. A estabulação pode assumir diferentes conformações, utilizando-se de baias para restrição plena; correntes de separação para restrição limitada ou permitir a livre circulação dentro da instalação. O local escolhido deve evitar a retenção excessiva de umidade e são desaconselhadas áreas com muito ruído, já que os equídeos se guiam, orientam e formam consciência de seu entorno pelos sons captados. Barulhos, ruídos e sons desconhecidos, constantes e altos estressam os animais. Músicas e ruídos de fundo brando podem ser usados para mascarar ou habituar o equino para os sons inesperados que possam assustá-lo.

Se adotado o confinamento em baias, é recomendável que os animais tenham acesso a amplas áreas de manejo, recreação e solário para práticas de exercícios, a fim de manter a saúde física e mental (*Guide to the Care and Use of Experimental Animals* 1993). As baias devem ter um espaço mínimo para prover conforto e liberdade de movimentos para cada animal. Os equídeos são muito sociáveis e os isolamentos completos, pelo menos o visual, devem ser evitados. A separação entre eles pode ser feita por “janelas”, grades ou telas facilitando a ventilação e a visualização entre os animais, o que os adapta melhor aos espaços reduzidos ou confinamento. A parte inferior da janela deve ser alta o suficiente para que o animal não a chute e é aconselhável que as janelas sejam protegidas com barras de ferro ou similar (*Guide to the Care and Use of Experimental Animals* 1993). A baia deve apresentar uma janela que proporciona maior contato visual entre os animais. A janela pode ser feita com barras de ferro ou com tijolos cerâmicos vazados. Se

for preciso deter correntes de ar, paredes inteiriças erigidas em um dos quadrantes (ou mesmo em parte das baias) podem ser úteis. Já a porta da baia pode ser feita de madeira e deve assegurar a fácil movimentação do equino sem o risco de injúrias (*Guide to the Care and Use of Experimental Animals* 1993). A porta modelo Holandesa é feita como duas “meias-porta”, o que permite ao animal ter visão do exterior da baia. A folha superior pode ser feita de madeira e com barras de ferro em abertura central, permitindo que os equídeos tenham contato um com outro, além de permitir melhor ventilação e iluminação. Relacionado ao corredor, sua largura mínima deve ser de aproximadamente dois metros. A cobertura deve prevenir excesso de calor e de ruídos. Portanto, telhas de barro ou cerâmicas ou telhas especiais (antitérmicas ou antirruídos) são de escolha. Dispositivos que otimizem a dissipação de calor e/ou de frio excessivo são aconselháveis.

A ventilação deve prover circulação uniforme do ar nas baias. Porém, devem ser prevenidas as correntes de vento intensas e a dispersão de poeira e resíduos sólidos. O sistema de ventilação deve renovar o ar e manter o ambiente fresco e arejado, com conforto térmico e umidade agradáveis. Se necessário, a qualidade do ar pode ser aferida pelo grau de acúmulo de partículas e de gases nocivos como a amônia (*Code of Practice for the Care and Handling of Equines* 2013). Pelo alto poder de estresse mental para o animal, o confinamento em baias totalmente fechadas sem visualização do ambiente externo deve ser utilizado somente sob prescrição Médico-Veterinária.

A iluminação deve ser natural. Não é aceitável manter os animais continuamente na escuridão. A iluminação artificial pode estar disponível à noite, por tempo limitado, para o fornecimento da alimentação ou inspeção dos equinos (AHIC 2011).

O bebedouro da baia pode ser colocado na parede oposta à porta e no canto oposto ao cocho de concentrado, acompanhando a mesma altura. Sugere-se o uso de bebedouros automáticos. O porte do animal deve ser considerado na definição da altura dos cochos. Os bebedouros podem ser individuais ou coletivos (áreas externas às baias), porém rasos. A limpeza deve assegurar o consumo de água de qualidade e prevenir doenças associadas com contaminação ou transmitidas por microrganismos (*Code of Practice for the Care and Handling of Equines*, 2013).

O feno e o cocho de sal podem ser colocados na parede da frente da cocheira, porém em cantos distintos. Admite-se a colocação do feno sobre o chão, desde que em superfície limpa e seca e longe dos dejetos, em que pese os equídeos não apreenderem alimentos onde defecam ou urinam. Estes cochos devem ser grandes o suficiente para que o alimento seja distribuído em finas camadas, evitando assim que o animal coma muito rápido e em grandes volumes. Os cochos não devem apresentar quinas agudas e sua porção inferior deve ser arredondada. Recomenda-se utilização

de materiais de alvenaria, fibra de vidro e plástico para os cochos.

O piso não só da baia, mas também das áreas externas e de circulação deve ser resistente, com superfície não escorregadia e de fácil higienização e drenagem, pois é imperativo estar sempre seco, livre de água ou urina (*Code of Practice for the Care and Handling of Equines* 2013). Declividade de até 2% com escoamento em direção aos ralos ou grelhas ou no sentido da porta são suficientes para remoção da água. Pode-se usar como material: concreto, areia, terra ou borracha (CINTRA 2010) e ter cobertura com material absorvente (“cama”) para evitar a proliferação de fungos e bactérias. Evitar o uso de cascalho solto que absorve umidade.

As características desejáveis para uma cama são: maciez, bom acolchoamento (20 cm), ser absorvente, não ter ou produzir muita poeira e nem ser abrasiva, preferencialmente de material não palatável e que não solte partículas pequenas que possam provocar distúrbios respiratórios. A qualidade da cama determina a frequência com que deve ser trocada. Não obstante, a limpeza diária e desinfecção podem prevenir o acúmulo de gases tóxicos liberados pelas fezes e urina. Sugere-se que fezes e umidade sejam removidas diariamente e que a cama seja totalmente trocada a intervalos de 10 a 15 dias. Dentre as palhas, recomenda-se a de aveia. A maravalha é ainda mais absorvente, porém não é recomendada para éguas parturientes e potros, dado sua abrasividade.

2.1.3. Áreas acessórias de apoio à experimentação

As facilidades descritas neste item são requeridas apenas se o propósito das atividades de pesquisa e/ ou de ensino a serem desenvolvidas as necessitarem. Portanto, não são itens mandatórios da infraestrutura das instalações.

2.1.3.1. Laboratórios

A infraestrutura mínima atenderá ao recebimento de amostras clínicas, bem como o seu processamento inicial para encaminhamento (transporte) ou estocagem até a realização dos exames específicos.

O cuidado com as amostras ocorre desde a coleta e incluirá medidas de biossegurança e de prevenção da contaminação do meio ambiente, dos tratadores de animais ou dos indivíduos que fazem a coleta. A contaminação cruzada das amostras deve ser prevenida (OIE 2014) e o descarte de material perfuro-cortante e outros que contém potencial risco biológico seguirá a legislação aplicável e as orientações dos órgãos competentes.

Os laboratórios para os quais serão encaminhadas as amostras devem atender às exigências específicas das atividades executadas e as regulamentações dos órgãos competentes.

2.1.3.2. Ambulatório

No ambulatório, são mantidos os insumos necessários para efetuar tratamentos preventivos e curativos. Portanto, medicamentos, equipamentos, utensílios e material descartável para uso terapêutico ou cirúrgico devem ser acondicionados em locais apropriados, com acesso restrito e em ambientes limpos e arejados. Deve-se adotar sistemas de escrituração do uso de medicamentos e prontuários dos atendimentos clínico-cirúrgicos individuais. A manutenção de medicamentos e vacinas deve seguir as recomendações dos respectivos laboratórios fabricantes. Além disso, o funcionamento do ambulatório deve seguir as normas dos órgãos competentes.

2.1.3.3. Apoio técnico e administrativo

Pode haver centro cirúrgico, sala de indução anestésica e sala de necropsia, bem como: depósito de materiais e insumos; área para lavagem e esterilização de equipamentos e suprimentos; escritório para arquivo de documentos; instalações sanitárias; área de alimentação e descanso dos funcionários, tais como cozinha e copa; e área para armazenamento de lixo, descartes e resíduos, seguindo as exigências normativas dos órgãos competentes.

3. Procedimentos de manejo

3.1. Alimentação

Os equídeos são herbívoros monogástricos. Quando livres, os cavalos pastejam por até 16 horas diárias (DAVIDSON & HARRIS, 2002) e têm forte seletividade e predileção por folhas escuras, colmos e brotos de gramíneas de pequeno porte. Também ramoneiam uma ampla variedade de herbáceas, ciperáceas, arbustos e árvores. São seletivos também para grãos de alta conversão energética. Eles pastejam enquanto caminham, efetuando longos deslocamentos. O consumo diário de matéria seca é estimado em 2 a 2,5% do peso corporal. As exigências nutricionais em proteína, energia, minerais e vitaminas devem ser baseadas nas tabelas do NRC (2007) ou INRA (1990). A dieta deve manter a condição corporal com escore entre 4 (quatro) e 5 (cinco) numa escala de 1 a 9 (HENNEKE *et al.* 1983). Quando em confinamento, o volume deve ser ofertado à vontade, e, em maior volume ao final do dia. A formulação do concentrado deve considerar as exigências nutricionais da categoria e função e deve ser fornecida com intervalo de pelo menos duas horas após a oferta do volumoso. As mudanças na dieta devem ser feitas gradualmente para evitar transtornos gastrointestinais (cólica, diarreia) e metabólicos. Os excessos alimentares podem causar obesidade com consequências danosas ao bem-estar animal e à saúde (CASEY, 2002). A recuperação da obesidade e do sobrepeso mediante restrição alimentar deve ser feita com acompanhamento especializado e conduzida de forma paulatina. Se detectados casos de inanição, a recuperação do animal exige uma dieta diferenciada e balanceada, a qual oferte gradativamente quantias crescentes de nutrientes (DAVIDSON & HARRIS 2002).

3.2. Higienização

A higienização inclui a limpeza das instalações e utensílios, e a higiene do animal, especialmente nos equídeos estabulados.

3.2.1. Limpeza das instalações

As baias devem ser limpas diariamente para prevenir o acúmulo de fezes, o odor amoniacal da urina e a umidade na cama. O manejo da cama e a limpeza de cochos e bebedouros foram discutidos no tópico cavalariças e baia (item 2.1.2.1). Destaca-se que a limpeza e desinfecção destes últimos pode ser feita com soluções detergentes e antissépticas (sabão neutro e hipoclorito de sódio) e a aplicação de vassoura de fogo ou cal pode ser feita em toda a baia, periodicamente, após a retirada da cama, observando questões de segurança contra incêndios.

3.2.2. Higiene geral dos animais

O momento de limpeza e higienização serve para: observar ferimentos, inspecionar cascos, notar comportamento anormal, sensibilidade dolorosa, presença de ectoparasitas ou secreções irregulares nos animais. Estas ocorrências devem ser comunicadas ao Médico Veterinário responsável.

A limpeza de equídeos estabulados deve ser frequente e o material utilizado na higienização do animal deve estar sempre limpo, desinfetado e organizado. Os animais que vivem soltos podem ser higienizados com menor frequência.

3.2.3. Higienização da boca e cuidados dentários

O exame e a higienização periódica da boca e dentes concorrem para a saúde geral do equídeo. A saúde bucal assegura a adequada trituração dos alimentos, o que favorece a melhor digestão e aproveitamento dos nutrientes. A frequência de realização dos exames deve ser estabelecida por um médico veterinário. Em cavalos estabulados, exige-se monitoramento mais frequente da saúde bucal (PIMENTEL 2008), pois nesses animais a frequência mastigatória é modificada, o que predispõe ao desgaste anormal dos dentes.

3.2.4. Higienização dos membros

A limpeza dos cascos deve ser feita regularmente, pois eles são a base de sustentação do peso do animal, in-

terferem na saúde das articulações e tendões e na qualidade da locomoção. O tratador deve observar claudicações, sensibilidade dolorosa, temperatura dos cascos, presença de brocas e rachaduras, ocorrências que devem ser comunicadas ao Médico Veterinário responsável. As anormalidades e enfermidades dos cascos podem ser prevenidas pela higienização e pelo adequado manejo, nutricional e geral (SILVA *et al.*, 2014).

O “casqueamento” ou “toailete podal” deve ser feito periodicamente ou quando necessário objetivando a manutenção do balanceamento médio lateral e do eixo podofalangeano. Findo o toailete, observar se o ângulo do casco está correto e em total contato com o solo (CURIDI 1993). O casqueamento corretivo e o ferrageamento devem ser feitos somente por profissionais experientes. O uso de ferraduras pode ser indicado quando demandado por afecções dos locomotores, situações de treinamento ou utilização intensivos, em que o desgaste dos cascos seja superior à taxa natural de crescimento (andar em pisos abrasivos ou muito irregulares).

3.3. Contenção

A contenção dos equídeos deve ser feita com segurança para o operador e para o animal. Os tratadores devem agir com calma, paciência e respeito aos animais. A contenção pode ser física (mecânica) ou química, cuja escolha depende do tempo e/ou procedimento a ser aplicado, mitigando o estresse. A contenção química deve ser prescrita e supervisionada pelo Médico Veterinário Responsável. Atenção especial deve ser dada à proteção da cabeça do animal (JULIANO *et al.*, 2007). O uso de tapa olhos pode facilitar aproximações ou conduções, quando se usa a voz constante e segura para identificar a presença do manipulador e instituir confiança (McDONNEL 1999). Por sua vez, o uso de “pito ou cachimbo” não é aconselhável, porém pode ser utilizado quando necessário para realização de procedimentos rápidos que visem o tratamento e os cuidados com o animal. O uso de prega cutânea na tábua do pescoço tem sido efetivo para procedimentos rápidos, como aplicações parenterais ou passagem de sonda nasogástrica.

Para prevenir o risco de asfixia, o equino não deve ser amarrado pelo pescoço. A utilização de bretes individuais de contenção é recomendada. As medidas médias aproximadas de tal brete são: altura lateral: 140 cm; altura do portão traseiro: 85 cm; largura: 80 cm e comprimento: 185 cm. Dependendo do porte da raça, essas dimensões podem variar. A instalação do referido brete, devidamente projetado para equídeos, deve permitir acesso seguro e fácil a qualquer animal contido. Para tanto, recomenda-se: evitar a sua instalação próximo às paredes, mantendo pelo menos uma lateral livre; prover acesso livre para a região da cabeça do animal; manter uma barra móvel na frente para manter o animal

firmemente contido próximo à porta traseira; ter piso não escorregadio feito de material áspero ou emborrachado; possuir fonte de água acessível para permitir limpeza.

3.4. Enriquecimento ambiental

Animais mantidos muito tempo confinados e isolados tendem a ter problemas comportamentais como estereotipias ou vícios. O enriquecimento ambiental com objetos como bolas grandes e garrafas penduradas no teto pode reduzir a depressão e prevenir a estereotipia (HENDERSON & WARANT 2001). O uso de um pôster de um equino de tamanho real (MILLS & RIEZEBOS 2005) imita o contato social quando o animal está isolado e colabora para reduzir vícios como o ato de balançar a cabeça e o pescoço (McAfee *et al.*, 2002). Os espelhos de acrílico são uma opção e têm bons resultados, entretanto o melhor enriquecimento é a oportunidade de pastejo, no caso de sistemas de confinamento total, a presença de feno *ad libitum* nas baias é indicada na prevenção das estereotipias. A adoção de programas de banho em regiões/épocas de calor extremo é recomendável, assim como a disponibilização de banhos de sol com outros animais. Quando forem diagnosticadas estereotipias, estas demandam tratamento e controle, pois não são reversíveis apenas com manejo adequado.

3.5. Medicina-veterinária preventiva

3.5.1. Inspeção diária

A inspeção diária dos animais no campo deve ser feita no momento em que os animais estão reunidos próximos aos cochos ou local de pastejo. Ela deve ser realizada sob a orientação de um Médico Veterinário. Os animais estabulados devem ser inspecionados durante a limpeza das instalações, manejo dos animais para exercício, alimentação ou higiene. Quando da inspeção das baias deve-se monitorar: o consumo de água e alimentos, a condição das fezes e da urina e a presença de secreções. Um bom indicador de estado físico é a avaliação do escore de condição corporal que fornece uma medida consistente da condição nutricional do animal. Os animais devem ser avaliados periodicamente quanto aos parâmetros fisiológicos, como temperatura retal, frequência cardíaca e frequência respiratória.

3.5.2. Barreiras sanitárias e biossegurança

As barreiras sanitárias compreendem o conjunto de elementos físicos, químicos, de procedimentos e de usos dos equipamentos, que objetivam evitar a instalação/propagação de enfermidades nos animais (ANDRADE *et al.*, 2002). Sua abrangência é variável de acordo com o sistema de criação, uso específico e riscos sanitários presentes. São barreiras físicas: cercas, cercas vivas, muros, portas, instalações de isolamento. São barreiras químicas: pedilúvios, banheiras de imersão e desinfetantes. São procedimentos: isolamento e controle de trânsito, quarentena, inspeção clínica e laboratorial, higiene e desinfecção. São equipamentos: utensílios para lavagem e desinfecção, lança-chamas, autoclaves e estufas de esterilização.

Biossegurança é o conjunto de ações de prevenção, mitigação ou eliminação de riscos que podem comprometer a saúde dos seres vivos ou o meio ambiente ou a qualidade dos trabalhos desenvolvidos. O nível de biossegurança e as ações para mantê-la devem considerar: patogenicidade do microrganismo infectante, virulência, via de inoculação, endemicidade, consequências epidemiológicas, disponibilidade de tratamento eficaz e de medidas profiláticas (CARDOSO 2001). Para otimizar a biossegurança em uma criação de equídeos, sugerem-se: a exigência de atestados sanitários, a aplicação de barreiras sanitárias, o uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) para tratadores, o controle de vetores e a imunoprofilaxia, e sempre que possível guardar distância dos locais de manutenção dos animais até o limite externo da propriedade.

3.5.3. Controle de doenças

A profilaxia e o controle das enfermidades dos equídeos devem ser estabelecidos pelo Médico-veterinário responsável em conformidade às orientações oficiais e ao respectivo calendário.

3.5.4. Quarentena

A quarentena deve ser realizada sob a supervisão do Médico Veterinário responsável. Ela se baseia na reclusão dos animais introduzidos nas instalações pelo período máximo de incubação da doença, contado a partir da data do último contato com um caso clínico ou portador, ou da data em que esse indivíduo sadio abandonou o local em que se

encontrava a fonte de infecção. Para cada enfermidade, deve-se considerar um período ótimo de quarentena (CAM-PBELL 2009), porém, na prática o período de quarentena é superior a 40 dias, e em geral de 30 a 60 dias.

A quarentena serve para a adaptação gradativa dos animais ao novo ambiente, alimentação e ao manejo da propriedade. Outra aplicação é para assegurar o isolamento de animais aguardando diagnóstico de exames em fase de re-teste (ex. AIE). O espaço destinado à quarentena poderá ser um piquete em situações de criação extensiva que mantenha isolamento físico de outros rebanhos da propriedade e que tenha instalações isoladas para o manejo dos animais, inclusive para o exame clínico e coleta de amostras destinadas à triagem pelos diferentes tipos de análises exigidos.

O manejo dos animais em quarentena inicia-se ao recepcionar um novo lote ou até mesmo um único animal. Nesse momento verificam-se a Guia de Trânsito Animal (GTA) e a documentação exigida, como exames, atestados e vacinações seguidas pela inspeção clínica para determinar as condições gerais, presença de traumas visíveis e ectoparasitas, ou qualquer anormalidade visível. O exame clínico dos animais e a realização de exames complementares são mandatórios, assim como a vermifugação e as imunizações de interesse da instalação que recebe os animais. Ao longo do período da quarentena devem ser procedidas avaliações sempre que necessárias e a observação dos animais deve ser diária. O consumo de alimento e água deve ser monitorado.

3.6. Manejo geral dos animais

3.6.1. Recreação e exercícios

Períodos de recreação são indicados para equídeos de todas as categorias. A atividade física é recomendada para garantir o bem-estar dos animais pois concorre para melhorar a saúde física e comportamental dos animais. O programa de exercícios deve ser orientado por profissionais habilitados para evitar excessos nas solicitações físicas, que podem contribuir para os transtornos metabólicos (acúmulo de ácido láctico, estresse térmico etc.) e lesões músculo-esqueléticas irreversíveis. Recomenda-se que os animais se exercitem durante um período do dia, de preferência nos horários de temperatura mais amena (manhã), para evitar problemas de estresse térmico e traumas. Animais sob programas mais intensivos devem ter sua dieta devidamente ajustada, pois segundo o NRC (2007) a intensidade do trabalho modifica as exigências diárias. Exercícios extenuantes devem ser evitados (AHIC 2011).

3.6.2. Treinamento, adestramento e provas esportivas

O uso de animais em provas esportivas não está no escopo desta obra, com exceção de testes experimentais. Nesse caso, o experimento que envolve treinamento do equídeo deve seguir os regulamentos e orientações vigentes da Confederação Brasileira de Hipismo e o Manual de boas práticas para o bem-estar animal em competições equestres (MINCHILLO *et al.*, 2015).

3.6.3. Trânsito e transporte

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) disciplina o trânsito de animais e o fiscaliza. O documento oficial para transporte de animal no Brasil é a Guia de Trânsito Animal - GTA, que contém informações sobre o destino, as condições sanitárias e a finalidade do transporte animal (pesquisa científica, produção de insumos biológicos etc.). Há uma norma específica para a emissão da guia de trânsito para equídeos, disponível no portal eletrônico do ministério (MAPA 2014). O transporte de carga viva, como os equídeos, é regulamentado pelo Conselho Nacional de Trânsito (Contran 2017), que recentemente baixou uma resolução com normas de segurança e de bem-estar durante o transporte, com vistas à preservação da integridade física e saúde do animal.

3.6.4. Identificação dos animais

A identificação individual dos equídeos é mandatória, pois facilita a rastreabilidade experimental, ou seja, permite monitorar e acompanhar a evolução dos animais nos estudos. A prática da identificação requer pessoal capacitado, instalações de contenção adequadas e uso de material de qualidade. Recomenda-se fazer a identificação em animais jovens. Todos os métodos têm suas limitações, critérios e cuidados específicos a serem seguidos. O importante é que sejam adotados procedimentos que assegurem o bem-estar animal (SCHMIDEK *et al.*, 2009; OLIVEIRA 2012) e que considerem a prevenção da dor. Os métodos mais usados são: tatuagem (lábio), marcação a ferro frio e identificação eletrônica (chipagem). Oliveira (2012) recomendou o método de marcação a ferro frio (criogênico) por ser seguro, econômico e fácil de fazer, embora requeira tricotomia. Ao realizar a tatuagem deve-se antes verificar se os materiais estão em condições de uso, ou seja, o alicate de tatuagem deve estar limpo, alinhado e lubrificado e os códigos (letras

e números) devem estar livres de ferrugem e de resíduos com agulhas intactas (SCHMIDEK *et al.*, 2009) e estéreis. A marcação a ferro quente causa dor extrema e não é recomendada. A identificação eletrônica é indolor, rápida e segura. É de eleição desde que sejam seguidas as orientações de cada fabricante quanto ao local de implante e sistema de leitura. Para implantar o transponder, o animal deve estar bem contido.

3.6.5. Práticas de manejo reprodutivo

Caso a instalação se dedique à reprodução de equídeos, é importante considerar que os animais devem estar em condições que se adequem aos objetivos do estudo e que atendam aos princípios do bem-estar animal. O local para cobertura deve ser gramado. Áreas de terra ou areia favorecem a aderência de partículas ao pênis que podem lesionar e/ou contaminar o trato genital da égua. Quando adotadas biotécnicas (inseminação artificial, ultrassonografia, transferência de embriões etc.), elas devem ser precedidas por cuidados com o bem-estar animal, especialmente relativos à contenção e ao conforto animal.

O parto deve ser observado e intervenções devem ser limitadas ao estritamente necessário, devidamente orientadas por médico veterinário. A grande maioria dos partos é noturna e a égua permanece deitada na fase inicial de expulsão. O ambiente deve ser tranquilo, preferencialmente, em um piquete maternidade que permita à égua caminhar em ambiente menos contaminado. Por comodidade ou condições climáticas, muitas vezes o parto é realizado em baias-maternidade, o que facilita a observação, porém é mais contaminado.

Os cuidados críticos com o recém-nascido abrangem todo o período desde o parto até a primeira mamada (LESCHONSKI *et al.*, 2008). O reflexo de sucção do neonato parece estar presente dentro de meia a uma hora após o parto (KURTZ FILHO *et al.*, 1997). O potro deve levantar-se até duas horas após o parto. Deve-se tratar seu umbigo com solução desinfetante e confirmar a eliminação do mecônio pelas fezes e a ingestão (via mamada) do colostro dentro das seis primeiras horas após seu nascimento. Aos potros órfãos deve ser ministrado colostro ou um substituto dentro de 24 horas após o nascimento. Potros não devem ser desmamados antes dos 04 meses de idade (AHIC 2011), podendo-se estender esse período. O desmame deve ser lento e gradual.

4. Procedimentos experimentais

4.1. Administração de substâncias

A administração parenteral deve ser prescrita e realizada sob a orientação do Médico Veterinário responsável. Exige alto grau de antissepsia, assim como as coletas de tecidos e fluídos. Portanto, recomenda-se utilizar apenas material (seringas, agulhas hipodérmicas, cateter etc.) de uso individual, descartável e esterilizado.

4.1.1. Via oral

A administração de substâncias por via oral será facilmente realizada se elas forem palatáveis, não havendo, portanto, necessidade de contenção do animal. Porém, caso for necessário administrar um grande volume de fluidos (ou de bolus) deve-se utilizar uma sonda nasogástrica de calibre compatível com o tamanho do animal, ou por sonda de pequeno calibre para infusão lenta e contínua. A sonda deve ser inserida por uma pessoa habilitada.

4.1.2. Via intramuscular

Os músculos do pescoço e da região glútea podem ser usados para injeções intramusculares. Em casos de tratamentos ou administrações prolongadas, com vários dias de aplicações, é necessário alternar o local de aplicação. A musculatura dos glúteos possui maior área e abundante suprimento sanguíneo. Além disso, em casos de formação de abscessos nesse local, a drenagem é melhor realizada.

4.1.3. Via subcutânea e intradérmica

É mais usada para imunógenos, como vacinas, e pode ser utilizada para aplicação de alguns medicamentos de recomendação restrita e de pequeno volume, seguindo as recomendações do fabricante. A via intradérmica exige recomendação técnica e é mais usada para testes de hipersensibilidade. A face lateral do pescoço é um local prático e

seguro para injeções subcutâneas. As reações vacinais podem provocar inchaço e sensibilidade dolorosa aumentada no local da aplicação, normalmente sem maiores injúrias ao animal (JULIANO *et al.*, 2007).

4.1.4. Via Endovenosa

É utilizada para a ministração de grandes volumes, ou de substâncias irritativas por outros meios. Caracteriza-se por ser uma via de resposta praticamente imediata que pode ser utilizada para uma dose única ou por infusão contínua. Deve-se avaliar a necessidade de tricotomia local seguida da antissepsia.

4.2. Coleta de tecidos, fluidos, secreções e excretas

A coleta de tecidos, fluidos, secreções e excretas deve ser realizada sob a orientação do Médico Veterinário responsável.

4.2.1. Coleta de sangue

A coleta de sangue é geralmente realizada na veia jugular. Animais acostumados ao procedimento necessitam de mínima contenção. Potros são mais indisciplinados, sendo necessárias pessoas treinadas para a realização do procedimento. Se for necessária a coleta de grandes volumes de sangue, é recomendado utilizar agulhas de largo calibre (mínimo de 2mm) ou cateteres ou scalp estéreis. A decisão de inserção do cateter ou scalp depende do número necessário de amostras, do temperamento do animal e o quão relutante ele é às injeções repetidas (PITUCO *et al.*, 2010).

4.2.2. Swabs genitais/biopsia uterina

Swabs são rotineiramente coletados de fêmeas e garanhões para verificar a presença de infecções e patógenos sexualmente transmissíveis. Swabs cervicais e do clitóris podem ser coletados com a ajuda de um espécuro, se necessário, passando-o, internamente, pela cérvix e esfregando-o à mucosa uterina.

As biópsias uterinas podem exigir cuidados cirúrgicos, inclusive de analgesia e anestesia. Para esses procedi-

mentos, os animais devem ser previamente contidos em bretes. Nos garanhões, o exame pode ser realizado na fossa uretral, uretra e bolsa escrotal.

4.2.3. Lavado traqueal

O procedimento é possível ser realizado por punção percutânea ou por endoscopia. Esta é menos invasiva e é indicada em casos de múltiplas amostras. O cateter é direcionado pelo endoscópio, o qual é inserido pelas narinas e faringe. Para esse procedimento os animais devem ser devidamente contidos, preferencialmente em bretes e pode ser realizada sedação prévia. Para obtenção do lavado broncoalveolar pode-se usar endoscópio associado às sondas apropriadas de silicone.

4.2.4. Amostras de urina e fezes

A coleta de urina pode ser realizada no momento em que o animal urina por meio da cateterização vesical em fêmeas ou uretral em machos. Neste caso, exige-se leve sedação para a exposição peniana. A higienização externa é mandatória para evitar a instalação de infecção ascendente iatrogênica.

Caso a coleta de fezes diretamente do chão não atenda ao propósito necessário, as amostras podem ser coletadas direta e cuidadosamente da ampola retal. Para tanto, usam-se luvas apropriadas e lubrificadas, com o animal contido em brete individual. Outra opção é o uso de bolsas coletoras (fezes e urina) para equinos.

4.3. Ingestão de água e alimento

A falta de alimentação fibrosa ministrada ao longo do dia e de possibilidade de exercício pode causar obesidade, laminite, cólica, entre outras enfermidades. Após restrição alimentar de 12 a 24 horas, há acúmulo de conteúdo ácido sobre a região glandular do estômago, podendo promover gastrites leves e moderadas, acompanhadas ou não de sangramento. Animais estabulados são mais susceptíveis aos distúrbios estomacais do que aqueles à campo. Dessa forma, a restrição alimentar deve ser realizada com cautela e não ultrapassar 18 horas. Se necessário submeter animais à restrição mais prolongada, eles devem ser observados quanto às alterações comportamentais e não devem ser

sujeitos a exercício intenso.

4.4. Cirurgia experimental

Os procedimentos pré, trans e pós-cirúrgicos devem ser realizados apenas por médicos veterinários e equipes de apoio experientes. Atenção especial deve ser dada aos regimes anestésicos e analgésicos, os quais devem considerar as variáveis individuais e da espécie equina. A recuperação da cirurgia deve ser realizada em áreas designadas a esse propósito (TURNER & McLLWRAITH 2013).

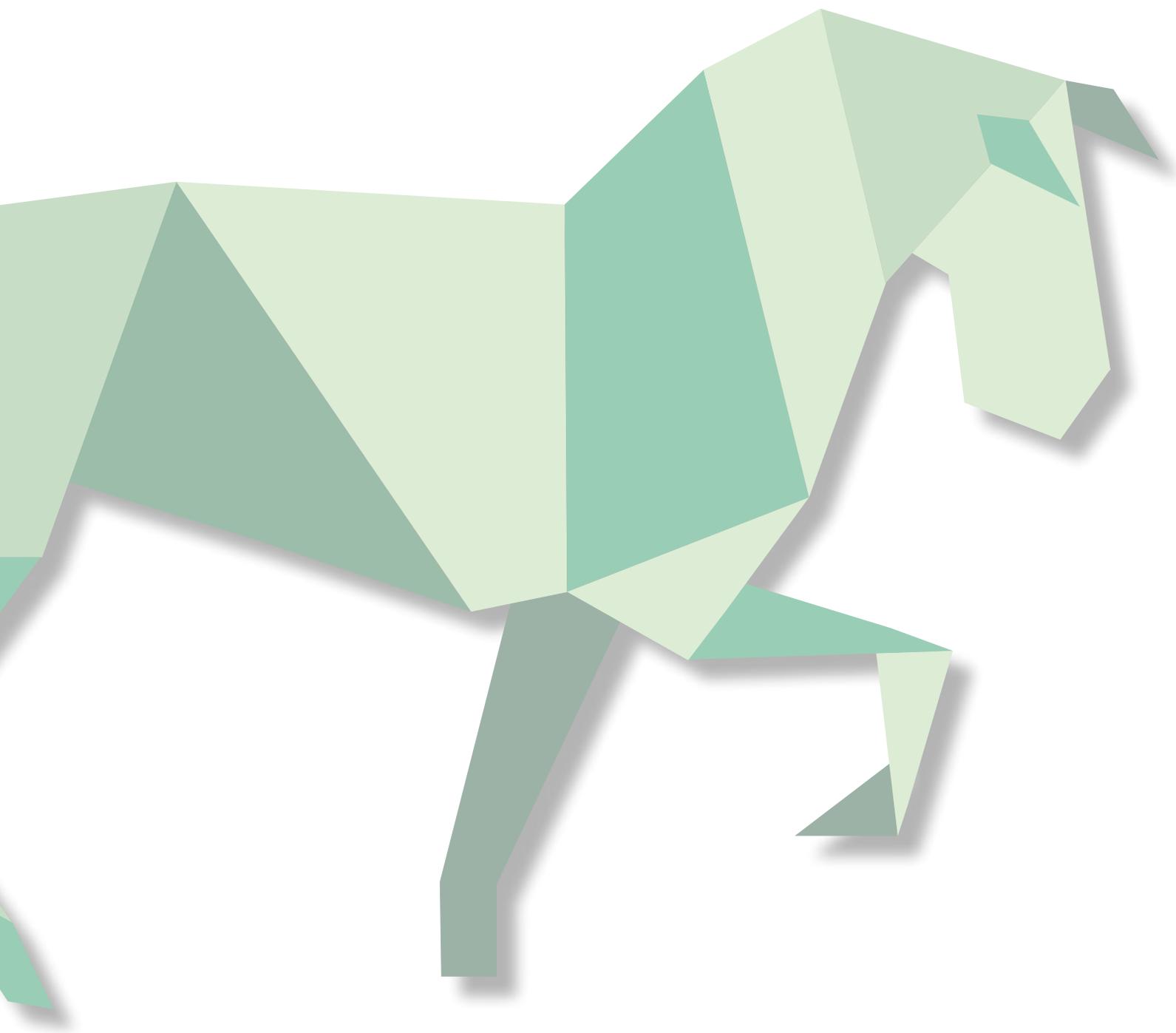
4.4.1. Sedação, analgesia e anestesia

Em muitos casos, a sedação, analgesia ou anestesia se fazem necessárias para a realização de procedimentos nos equídeos. Os animais devem ser mantidos em ambientes silenciosos e protegidos antes da administração e até que a sedação cause efeito. Para isto, devem ser mantidos em local acolchoado, em sala também utilizada para a recuperação anestésica. Posteriormente, são levados ao centro cirúrgico, onde deve haver equipamentos para a manutenção anestésica. A monitoração dos animais deve ser regular até a completa recuperação anestésica. Essa assistência visa prevenir eventuais traumas, especialmente de cabeça, em caso de queda ou excitação. Relacionado aos agentes anestésicos, os gerais afetam diversos parâmetros fisiológicos, assim, cuidados devem ser tomados para garantir que não haja interferência nos dados experimentais ou no bem-estar dos animais. Anestésias de curta duração com agentes intravenosos podem ser feitas a campo e são aceitáveis para pequenas intervenções cirúrgicas (TURNER & McLLWRAITH 2013). Na administração de substâncias depressoras do sistema nervoso central, um exame clínico completo prévio deve ser realizado para detectar condições pré-existentes que possam potencializar o efeito neurodepressor dos anestésicos (ex.: anemia). Relativo às vias, embora alguns medicamentos possam ser administrados intramuscularmente, a via intravenosa é a mais confiável e de efeito mais rápido. É essencial manter acesso vascular para situações de emergência e para evitar o risco de administração perivascular, por causar lesão tecidual e descamação.

A analgesia perioperatória deve ser realizada, quando não interferir nas condições avaliadas e sua administração deve ser realizada de forma a garantir o controle da dor e acelerar o retorno do comportamento normal dos animais, como ingestão de água e comida.

5. Eutanásia

Os procedimentos de eutanásia devem seguir as Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA (Concea 2018).



6. Necropsia e destino das carcaças

A necropsia deve seguir as orientações dos órgãos normativos competentes e ser realizada em local apropriado por profissional veterinário. É possível que sejam realizadas necropsias a campo, com ressalvas, destinando-se devidamente o material contaminado, criando um cordão sanitário para sua realização e mantendo o local em quarentena e isolado após os procedimentos.

As carcaças de quaisquer equídeos sadios ou doentes, após esquartejadas, devem ser embaladas em sacos de polietileno branco reforçado e destinados a uma empresa de coleta de resíduos orgânicos ou contaminados para esterilização e/ou incineração, respeitando-se as leis ambientais, de coleta e destinos de material contaminantes. Em situações especiais de campo e com apreciação de um médico veterinário, as carcaças podem ser enterradas e cobertas com cal, incineradas ou submetidas a outro destino aprovado pela autoridade veterinária. Em experimentos especiais e de alto nível de biossegurança, deve haver indicação dos procedimentos corretos de descarte a serem seguidos.

7. Referências bibliográficas

- AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE. Guide for the care and use of Agricultural Animals in Research and Teaching, 4th ed. 2020.
- ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. (orgs.). *Animais de Laboratório: criação e experimentação* [online]. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 2002, 388p.
- AUSTRALIAN HORSE INDUSTRY COUNCIL. **Australian Horse Welfare Protocol**, 2011. Disponível em: http://www.australiananimalwelfare.com.au/app/webroot/files/upload/files/AUST_HORSE_WELFARE_PROTOCOL_FINAL_2011_1.pdf.
- BLANCHARD, T. L. *et al. Manual of equine reproduction*. 2ed. 2003. 249 p.
- BRASIL. Conselho Nacional de Trânsito. Resolução nº 675/17. **Dispõe sobre o transporte de animais de produção, de interesse econômico, de esporte, de lazer ou de exposição**. Brasília: Contran, 2017. 04 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de boas práticas de manejo em equideocultura**. Brasília: MAPA/ACE/CGCS, 2017. 50 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de preenchimento para emissão de guia de trânsito animal de equídeos** (versão 18.0). Brasília: MAPA/SDA, 2014. 25p.
- BRASIL. Resolução Normativa nº 37, de 15 de fevereiro de 2018. Baixa a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.
- CAMPBELL, J. The future of biosecurity. **International Journal of Risk Assessment and Management**, v.12, n.2, p.248-261, 2009.
- CARDOSO, T.A.O. **A Ciência Entre Bichos e Grilos - Reflexões e Ações da Biossegurança com Animais**. Rio de Janeiro: Editora Hucitec, 2001, 98p.
- CARVALHO, R. T. L.; HADDAD, C. M. **Pastagens e alimentação de equinos**. Piracicaba: Fealq, 1987. 85 p.
- CASEY, R.A. Clinical problems associated with the intensive management of performance horses. *In*: N. WARAN (ed.). **The welfare of horses**. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands, p. 45-76, 2002.
- CINTRA A.G.C. **O Equino: características, manejo e alimentação**. São Paulo: Editora Roca, 2010.
- CURIDI, N.R.O. **Semiologia Clínica de Las Cojeras y Su Diagnostico Diferencial**. Ed Agropecuária Hemisferio SUR. Uruguay 2ª Ed, 1993. 365P.
- DAVIDSON, N.; HARRIS, P. Nutrition and welfare. *In*: Waran, N. (ed.). **The welfare of horses**. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands, p. 19-44, 2002.
- FAO. 2016. Statistics Division. **Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome**.
- FARIA, G.A.; REZENDE, A.S.C.; SAMPAIO, I.B.M.; LANA, A.M.Q.; MOURA, R.S.; MADUREIRA, J.S.; RESENDE, M.C. Composição química dos cascos de equinos das raças Pantaneira e Mangalarga Marchador. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.5, p.697-701, 2005.
- FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL – FAWC. 1992. Farm Animal Welfare Council publications. Disponível em: <http://www.fawc.org.uk>. Acesso em: 5/6/2014.
- HANDRICKSON, D.A.; BAIRD, A.N. **Turner and Mcllwraith's Techniques in Large Animal. Surgery**, 4th Ed. N., aug 2013. 352 p. ISBN: 978-1-118-27323-4.
- HENDERSON, J. V.; WARANT, N. K. Reducing Equine Stereotypies Using an Equiball. **Animal Welfare**, v.10, n.1, p. 73-80, 2001.
- HENNEKE, D. R.; G. D. POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurement and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal, Cambridgeshire**, v. 15, p. 371-372, 1983.
- INRA. **L'alimentation des chevaux**. Versailles: Route de Saint Cyr, 1990. 232 p.
- JULIANO, R.S.; BATISTA, F.A.; PETZOLD, H.V.; RAVAGLIA, E. Procedimentos para aplicação de injeções em equinos: cuidados para evitar acidentes. **Circular Técnica**, 69. Embrapa Pantanal, 2007. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT69.pdf>.
- KURTZ FILHO, M.; DEPRÁ, N.M.; ALDA, J.L.; CASTRO, I.N.; CORTE, F.D.; SILVA, C.A.M. Parâmetros fisiológicos e etológicos do potro recém-nascido, na raça puro-sangue de corrida. **Braz. J. vet. Res. anim. Sei.**, v.34, n.2. p. 103-108. 1997.
- LESCHONSKI, C.; SERRA, C.M.; MENANDRO, C. Programa de Vigilância de Zoonoses e Manejo de Eqüídeos do Estado de

São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v.5, n.52, 2008.

- MACFADDEN, B. J. Fossil Horses - Evidence for Evolution. **Science**, v.307, p. 1728-1730, 2005.
- McAFEE, L.M.; MILLS, D.S.; COOPER, J.J. The use of mirrors for the control of stereotypic weaving behaviour in the stabled horse. **Applied Animal Behaviour Science**, v.78, n.2-4, p.159-173, 2002.
- McDONNELL, S. **Understanding Horse Behavior, Your Guide to Horse Health Care And Management**, 25 jan 1999. 99 p.
- McLEAN, A. N. **Equine Behavior**. Saunders, Elsevier Limited, 2004.
- MILLS, D. S.; RIEZEBOS, M. The role of the image of a conspecific in the regulation of stereotypic head movements in the horse. **Applied Animal Behaviour Science**, v.91, n.1-2, p. 155-165, 2005.
- MINCHILLO, C.; LESCHONSKI, C.; MALDONADO, F.; BUSS, L.P.; TEIXEIRA, R.R. **Manual de boas práticas para o bem-estar animal em competições equestres**. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2015.
- MINERO, M.; CANALI, E. Welfare issues of horses: an overview and practical recommendations. **Ital.J.Anim.Sci.** v. 8 (Suppl. 1), p. 219-230, 2009.
- MORGAN, K. Thermoneutral zone and critical temperatures of horses. **Journal of Thermal Biology**, v.23, n.1, p.59-61, 1998.
- NATIONAL FARM ANIMAL CARE COUNCIL. **Code of Practice for the Care and Handling of Equines**. Equine Canada, 2013.
- NRC. **Nutrient Requirements of Horses**, 6th rev. Ed. National Research Council, National Academy Press, Washington, DC, 2007.
- OLIVEIRA, J.V. **Sistema de identificação de equídeos do pólo regional alta Mogiana**. Colina/SP. 2012.
- PIMENTEL, L.F.R.O. **Ajuste oclusal: análise de parâmetros clínicos e oclusais visando à obtenção da oclusão funcional ideal em equinos (*Equus caballus*) estabulados**. Dissertação de Mestrado, USP. 2008. 102p.
- PITUCO, E.M.; FAVA, C.D.; RIBEIRO, C.P.; BERSANO, J.G.; MIYASHIRO, S. Ruminantes, equídeos e suídeos. *In: Manual veterinário de colheita e envio de amostras*. Centro de P & D de Sanidade Animal. Instituto Biológico (APTA/SAA-SP), 2010, cap. 2, p.34-73.
- RUSSELL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. Johns Hopkins University, Baltimore, apr 1992.
- SANTOS, S. A.; HADDAD, C.M.; FRANCO, G.L. Manejo nutricional de equinos em pastagens na planície pantaneira. *In: Santos, S.A.; de Salis, S.M.; Comastri Filho, J.A. (Org.). Cavalo Pantaneiro: rústico por natureza*. 1ed.Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. cap15, p. 373-415, 2016.
- SCHMIDEK, A.; DURAN, H.D.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R. **Boas Práticas de Manejo: Identificação**. Jaboticabal: Funep, 2009, 39 p.
- SILVA, D.J.; MANERICH, G.; ERTMANN, M.F. **Enfermidades dos cascos dos equinos**. Feira do Conhecimento Tecnológico e Científico, 4, Rio do Sul. Anais..IFC, 2014.
- WARING. G. H. **Horse behavior**. Library of Congress Cataloging-in-Publication, 2nd ed., 3 dec 2002.
- WOA. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2014**.

8. Critérios mínimos para instalações de Equídeos

Classificação:
OB - Obrigatório
 Considera-se item OBRIGATÓRIO
R - Recomendado.
 Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos	
Áreas de Apoio	
Área administrativa.	R
Recepção de animais (Instalação de Criação).	OB
Quarentena (Instalação de Criação).	OB
Sistema de produção separado por barreira física (vegetal).	R
Instalações que permitam a limpeza e desinfecção.	R
Instalações que possibilitem vazio sanitário entre os lotes.	R
Área de eutanásia separada das demais instalações.	OB
Depósitos	
Depósitos para alimentos e forragem.	OB
Ração, forragem e cama armazenada sem contato com o piso ou paredes.	OB
Depósito de resíduos isolado das demais áreas.	R
Depósito de produtos químicos e medicamentos.	OB
Detalhes construtivos (Manejo)	
Área de manejo com divisões em compartimentos separados por porteiros para permitir o manejo e apartação dos animais.	R
Área de manejo com cobertura total ou parcial para proteção dos animais e corredor do tipo “seringa” para direcionamento dos animais.	R
Detalhes Construtivos de cavalariças e baias	
Instalações que promovam a segurança e o bem-estar dos animais em confinamento, de acordo com as orientações do Concea.	OB
Piso de material antiderrapante e que permita a higienização.	OB
Instalação com iluminação natural.	OB
Permitir contato físico ou visual com indivíduos da mesma espécie, exceto em casos autorizados pela CEUA ou condições clínicas.	OB
Áreas de confinamento ventiladas.	OB
Espaços que propiciem o bem-estar animal, permitindo que o animal expresse posturas da espécie e tenha acesso a alimento a água.	OB
Instalações planejadas de acordo com o tipo de atividade executada, número de animais alojados, tipo de manejo, espaço disponível, condições climáticas predominantes, solo e topografia	
Instalações que propiciem o bem-estar dos animais, livres para que expressem seu comportamento natural, exceto em casos aprovados pela CEUA.	OB

Ambiente (Pastagens)	
Sombreamento e locais de fornecimento de alimento, sal mineral e água.	OB
Cercas de materiais que minimizem riscos de ferimentos.	OB
Terreno dos piquetes com condições de drenagem, que possibilitem a redução do acúmulo de lama ou esterco durante os períodos de chuvas.	R
Lotação animal de acordo com a disponibilidade de forragem.	R
Controle de plantas tóxicas.	OB
Há adequação de sistema de transporte, veículos, transporte em gaiolas e contenção de animais (física e química) para capacidade de fornecer transporte seguro dos animais e prevenção de exposição potencial de pessoas.	OB
Procedimentos	
Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Local para acondicionamento de carcaças	OB
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB

Capítulo 11

Suínos





CORDENADORES:

Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera Universidade Federal de Goiás

Marco Antonio Stephano Universidade de São Paulo

Marco Aurélio Delmondes Bomfim Embrapa Cocais

AUTORES:

Caio Abércio da Silva Universidade Estadual de Londrina

Cleandro Pazinato Dias Instituto Interamericano de Cooperação para Agricultura

Filipe Antônio Dalla Costa Embrapa

Giovana Bongioio Magenis Universidade de São Paulo

Kelly Mazzuti Monteiro Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Luciano Doretto Júnior Centro de Pesquisa em Animais do Brasil

Luiz Carlos Pinheiro Machado Filho Universidade Federal de Santa Catarina

Marco Aurélio Delmondes Bomfim Embrapa Cocais

Osmar Antonio Dalla Costa Embrapa Suínos e Aves

Citação recomendada: SILVA, C.A.; DIAS, C.P.; COSTA, F.A.D.; MAGENIS, G.B.; MONTEIRO, K.M.; DORETTO JUNIOR, L.; MACHADO FILHO, L.C.P.; BOMFIM, M.A.D.; COSTA, O.A.D. (2023) Capítulo 11 - Suínos. pp. 690-759. In: RIVERA, E.A.B.; STEPHANO, M.A.; BOMFIM, M.A.D. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	697
2. Dados gerais	698
3. Instalações e ambiente	699
3.1. Micro e macroambientes	699
3.2. Planta física	701
3.3. Localização	702
3.4. Centralização X Descentralização	702
3.5. Áreas funcionais	703
4. Diretrizes de construção	705
4.1. Corredores	705
4.2. Portas da sala de alojamento dos animais	705
4.3. Janelas externas	706
4.4. Pisos	706
4.5. Drenagem	707
4.6. Paredes e tetos	707
5. Ambiente	708
5.1. Temperatura	708
5.2. Ventilação e qualidade do ar	710
5.3. Aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC)	711
5.5. Controle de ruído e vibrações	714
5.6. Monitoramento ambiental	716
5.7. Áreas de armazenamento	716
5.8. Instalações para sanitização de materiais	716
5.9. Instalações especiais	717
5.9.1. Barreiras	717
5.9.2. Gaiolas metabólicas:	718
5.9.3. Contenção de agentes perigosos:	719
5.10. Segurança e controle do acesso	719
5.11. Alimentação e água	720
5.12. Ambiente social	721
6. Procedimentos de manejo	722
6.1. Sistemas de produção de suínos	722
6.2. Manejo de alojamento em grupos	722
6.3. Sistema de alojamento das matrizes na gestação	723
6.4. Procedimentos de manejo no intervalo desmame-cio	724
6.5. Cobrição e gestação	724
6.6. Parto e lactação	726
6.7. Creche	729
6.8. Crescimento e terminação	731
6.9. Manejo sanitário	732
6.9.1 Doenças epizoóticas	732

6.9.2. Doenças multifatoriais	732
6.10. Uso de vacinas	733
6.10.1. Recomendações:	733
6.11. Práticas que privilegiam o bem-estar animal e o controle dos fatores de risco	734
6.11.1. Maternidade	735
6.11.2. Creche	736
6.11.3. Crescimento e terminação	737
6.11.4. Reprodução	737
6.12. Sala hospital	738
6.12.1. Manejo da sala hospital	740
6.13. Limpeza e desinfecção	741
6.13.1. Limpeza	741
6.13.1.1. Limpeza diária - rotina	742
6.13.1.2. Limpeza em instalações vazias	743
6.13.1.2.1. Limpeza seca	743
6.13.1.2.2. Limpeza úmida	744
6.13.1.3. Limpeza dos equipamentos	744
6.13.1.4. Uso de água sob pressão	745
6.13.2. Desinfecção	745
6.13.2.1. O uso de desinfetantes	745
6.13.2.2. Lança-chamas ou Vassoura de fogo:	746
6.13.3. Vazio das instalações	746
6.14. Preparo dos animais para o transporte	747
6.14.1. Jejum	747
6.14.2. Embarque	747
6.14.3. Período de descanso dos suínos antes de seu uso na pesquisa	748
6.14.4. Transporte dos suínos da granja ao local da pesquisa	748
7. Cuidados Médico-veterinários	750
8. Analgesia	751
9. Anestesia	752
10. Eutanásia	753
11. Necropsia	754
12. Destino de carcaças	755
13. Referências bibliográficas	756
14. Critérios mínimos para instalações de Suínos	758

SUÍNOS

1. Introdução

O princípio dos 3 R's deve nortear sempre os trabalhos realizados com suínos em pesquisa, ensino e testes. Não só porque está implícito na Lei nº 11.794/08, que regulamenta o uso de animais em pesquisa, mas principalmente pela questão ética que traz. Esta ética no uso de animais de experimentação deve ser considerada como uma extensão do modo de agir dos pesquisadores.

Com este princípio em mente estará assegurado não só o bem-estar animal como também teremos dados científicos mais confiáveis, e uma pesquisa com reprodutibilidade.

Os suínos são animais altamente sensíveis e para poder ajudá-los em seu bem-estar precisamos conhecer profundamente sua etologia e biologia. Somente com este conhecimento nossa pesquisa aliará o bem-estar animal a uma ciência de excelência.

Os suínos são modelos importantes em várias áreas de pesquisa como fisiologia, farmacologia, toxicologia, radiologia, cirurgia e transplante de órgãos, traumatologia, patologia, embriologia e pediatria.

Algumas razões que os tornam bons modelos para pesquisas são:

→ Tamanho de corpo adequado para a maioria dos procedimentos clínicos e cirúrgicos, principalmente os procedimentos que exigem repetidas coletas de sangue, biópsias etc.;

→ Semelhanças com o homem, particularmente pele, esqueleto, articulações, dentes, trato gastrointestinal pâncreas, fígado, rins, sistema imunológico, estado fisiológico dos recém-nascidos, dentre outras;

→ Facilidade e segurança de manejo e alojamento em confinamento;

→ Em geral, são baratos para compra e manutenção;

→ Literatura extensa a respeito, desde o desenvolvimento embrionário à moderna genômica, com médicos veterinários e criadores altamente especializados na área;

→ Facilidade na área de reprodução, muito além do que existe para outras espécies.

2. Dados gerais

Os suínos são animais omnívoros com alto grau de adaptabilidade, temperamento vivo e alta fecundidade e se reproduzem em qualquer época do ano. A média do ciclo estral é de 21 dias (17-25).

Como os suínos têm pêlos curtos e escassos, e não possuem glândulas sudoríparas, são animais sensíveis às variações de temperatura, bem como às correntes de ar, o que os torna pouco capazes de regular sua temperatura corporal. Os alojamentos ao ar livre não são adequados para algumas pesquisas, devido à falta de controle da temperatura e maior risco de infecções.

Suínos são animais inteligentes, e quando possuem espaço disponível escolhem áreas separadas para urinar e defecar e constroem áreas de ninho se tiverem acesso à palha, para maior conforto. Deve-se evitar que os animais fiquem por muito tempo em concreto nu, pois isto pode resultar em úlceras de decúbito. A palha permite que os animais fucem, exercendo seu comportamento natural, e também pode ser ingerida como volumoso. O enriquecimento ambiental é um item muito importante pois vai manter os animais ocupados diminuindo os níveis de estresse. Desta forma, podem estabilizar seus valores fisiológicos e tolerar melhor os procedimentos.

Alguns itens apropriados para este fim são bolas de borracha, correntes penduradas, escovas presas às paredes, grades de plástico ou tapetes de relva no chão. Lembrar que é necessário um programa de enriquecimento ambiental, verificando se os objetos dados são adequados e também para que não causem lesões ou brigas. Todos os itens de enriquecimento devem ser mantidos limpos, pois os suínos não vão usá-los se estiverem sujos com fezes.

Suínos são animais sociais e precisam ser alojados em grupos ou em pares; se alojados individualmente, recomenda-se que tenham algum contato direto uns com os outros, por exemplo, através de divisórias com aberturas/frestas.

Os cuidadores dos animais devem estar capacitados para planejar o manejo dos animais sob condições climáticas extremas e sob condições de emergência e fornecer condições de criação adequadas para minimizar o estresse ambiental e o sofrimento animal. Devem também estar familiarizados com o comportamento normal dos suínos, bem como com o seu comportamento frente à situações de estresse ou de reduzido bem-estar, para poder intervir a tempo de sanar estes problemas. Devem ter conhecimento de que medidas sanitárias são adequadas para evitar a transmissão de doenças entre animais, entre instalações, e de animais para seres humanos e vice-versa.

3. Instalações e ambiente

3.1. Micro e macroambientes

O ambiente no qual os suínos são alojados deve atender às suas necessidades de bem-estar, e ser projetado para protegê-los do desconforto físico e térmico, do medo e do diestresse, permitindo que desenvolvam os seus comportamentos naturais.

O macroambiente de um animal é o ambiente físico do recinto secundário, como uma sala, um galpão, ou um habitat externo. O microambiente é o ambiente físico que o circunda, tal como a gaiola, baia ou cela. Tanto o macro quanto o microambiente são afetados por muitos fatores, tais como iluminação, ruído, vibração, temperatura, umidade, composição gasosa e partículas do ar, pisos, ambiente social e microbiano. Embora o micro e o macroambiente geralmente se relacionem, o microambiente pode ser afetado por outros fatores, como o projeto do recinto primário e as condições macroambientais.

A avaliação do microambiente pode ser difícil. Dados disponíveis indicam que a temperatura, umidade e concentrações de gases e partículas são frequentemente mais elevadas no microambiente animal do que no macroambiente, enquanto a intensidade luminosa é geralmente mais baixa. Condições microambientais podem afetar diretamente os processos e comportamentos fisiológicos e podem alterar a susceptibilidade às doenças.

Os animais devem ser alojados em condições que ofereçam espaço suficiente, bem como estruturas complementares e recursos necessários para atender suas necessidades físicas, fisiológicas e comportamentais. Ambientes que não conseguem satisfazer as necessidades dos animais podem causar dentre outras alterações, desenvolvimento anormal do cérebro, disfunção fisiológica e transtornos de comportamento, que podem comprometer tanto o bem-estar animal quanto a validade científica.

Os recintos principais devem oferecer um ambiente seguro, que não permita a fuga dos animais e construído com materiais atóxicos, duráveis, que resistam à corrosão, suportem a limpeza e desinfecção, e não prejudiquem a saúde e as pesquisas. Deve-se projetar e fabricar o recinto para evitar o aprisionamento acidental dos animais, estar livre de arestas cortantes ou projeções que possam causar ferimentos aos animais ou ao pessoal. As superfícies devem ser impermeáveis e lisas com o mínimo de bordas, ângulos, cantos e superfícies sobrepostas, de modo que se minimi-

ze o acúmulo de sujeira, detritos e umidade e a limpeza e desinfecção sejam eficientes.

A superfície mínima de piso livre disponível de acordo com o peso vivo do suíno em kg, excluindo as marrãs após a cobertura e as porcas, deve ter pelo menos as seguintes dimensões:

Tabela 1: Superfície mínima de piso livre disponível de acordo com o peso vivo do suíno em kg

Peso vivo em kg	m ²
Até 10	0,15
De 10 a 20	0,20
De 20 a 30	0,30
De 30 a 50	0,40
De 50 a 85	0,55
De 85 a 110	0,65
Mais de 110	1,00

Fonte: Adaptado da Diretiva 2008/120/CE (Jornal Oficial da União Europeia, 2009).

A superfície livre de piso total disponível para cada marrã após a cobertura e para cada porca, quando as marrãs e/ou porcas sejam mantidas em grupo, deve ser de pelo menos 1,64 m² e 2,25 m², respectivamente. Quando estes animais forem mantidos em grupos de menos de seis, a superfície livre de piso deve ser aumentada em 10%. Quando forem mantidos em grupos de 40 ou mais, essa superfície pode ser diminuída em 10%.

Todos os recintos devem ser mantidos em bom estado de conservação para evitar a fuga ou lesões dos animais, promover o conforto físico, e facilitar o saneamento e a manutenção. Equipamentos oxidados, que ameacem a saúde ou a segurança dos animais, precisam ser reparados ou substituídos. Materiais menos duráveis, tais como madeira, podem ser apropriados em algumas situações, como piquetes ao ar livre, áreas de descanso, e vedações em recintos primários. No entanto, artigos de madeira podem precisar ser substituídos periodicamente devido aos danos ou dificuldades de saneamento. Pintar a madeira ou impermeabilizá-la com materiais não tóxicos pode melhorar a durabilidade deste material.

O piso pode ser sólido ou ripado, com superfície antiderrapante. No caso dos pisos ripados, as ripas devem ter bordas lisas, e o tamanho e espaçamento entre as ripas precisa ser proporcional ao tamanho do animal alojado, para minimizar injúrias e lesões de casco.

Os animais devem ter substrato adequado (como cama de palha, por exemplo) e/ou estruturas para descansar e

dormir. Para animais como o suíno, o contato com a cama amplia as oportunidades para a manifestação de comportamentos típicos da espécie, como forrageamento, escavação e construção de ninhos. Além disso, a cama absorve a urina e as fezes, facilitando a limpeza e o saneamento. Se fornecida em quantidade suficiente para permitir a construção do ninho ou toca, a cama também facilita a termorregulação. Animais reprodutores devem ter materiais de nidificação adequados e/ou estruturas de substituição com base nos requisitos espécie-específicos.

Estratégias de alojamento apropriadas para uma espécie em particular devem ser desenvolvidas e implementadas pelo pessoal que cuida dos animais durante as pesquisas, em consulta ao pesquisador e médico veterinário, e deve ter seu projeto aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição de pesquisa em questão. A habitação deve fornecer aos animais saúde e bem-estar, e ser consistente com os objetivos do uso animal. Devem ser solicitados pareceres de especialistas quando existem requisitos especiais associados aos animais (por exemplo, animais geneticamente modificados, procedimentos invasivos, ou uso de agentes perigosos). Avaliações objetivas devem ser feitas para comprovar a adequação do ambiente do animal, condições de habitação e de manejo. Sempre que possível, estes procedimentos devem ser documentados para assegurar a consistência da gestão e do cuidado com os animais.

3.2. Planta física

Uma instalação bem planejada, bem projetada, bem construída, mantida e gerida adequadamente é um elemento importante no cuidado e uso de animais, pois facilita uma operação eficiente, econômica, e segura. O projeto e o tamanho de uma instalação animal dependerão do âmbito das atividades de pesquisa institucionais, dos animais que devem ser alojados, da relação física com o resto da instituição, e da localização geográfica.

Para que o planejamento e o projeto sejam eficazes devem incluir a participação de pessoal experiente em arquitetura, engenharia e operação de instalações para animais, bem como dos usuários representantes da instalação proposta.

Os materiais de construção para instalações animais devem ser selecionados para facilitar uma operação eficiente e higiênica. Devem ser duráveis, resistentes à umidade, ao fogo e à prova de patógenos. São recomendados para as superfícies internas materiais sem costura/divisórias, que devem ser altamente resistentes aos efeitos de agentes de limpeza, à esfregação, aos pulverizadores de alta pressão, e ao impacto. Tintas e esmaltes não devem ser tóxi-

cos, se usados em superfícies com as quais os animais terão contato direto. Na construção de instalações ao ar livre, devem ser consideradas superfícies que suportem a ação dos elementos da natureza e que sejam de fácil manutenção.

3.3. Localização

Para que se tenha um manejo animal de qualidade e conforto, com proteção da saúde humana, é imprescindível a separação das instalações de animais das áreas de pessoal, como escritórios e salas de reuniões. A separação pode ser feita estando a parte dos animais em prédio separado, ala, andar, ou quarto. Um planejamento bem elaborado torna possível colocar as áreas de alojamento dos animais ao lado ou perto dos laboratórios de pesquisa, mas separadas dele por barreiras, tais como bloqueios de entrada, corredores, ou pisos. Outras questões que devem ser consideradas são o impacto do ruído e da vibração gerados a partir das instalações e das áreas circunvizinhas ao edifício, e a segurança das instalações.

Os animais devem ser alojados em instalações designadas para este propósito, e não em laboratórios modificados para conveniência dos usuários. Se for necessário que os animais sejam mantidos em um laboratório, devido aos objetivos da pesquisa, o espaço deve ser apropriado para alojamento e manejo dos animais, e seu uso limitado ao período durante o qual for requerido. Devem ser tomadas medidas para minimizar os riscos ocupacionais ligados à exposição aos animais, tanto na área de pesquisa quanto durante o transporte.

3.4. Centralização X Descentralização

Quando uma instalação animal for fisicamente centralizada, as ações de apoio, de cuidado e as áreas de uso devem ser adjacentes ao espaço de alojamento dos animais. Quando o alojamento for descentralizado os espaços utilizados não são exclusivamente dedicados aos cuidados dos animais.

A centralização frequentemente reduz custos operacionais, proporcionando um fluxo mais eficiente de cuidados dos animais, dos equipamentos e de pessoal; há uma utilização mais eficiente dos controles ambientais e menos duplicação de serviços de apoio. Também reduz as necessidades de transporte de animais entre os locais de criação, manutenção e pesquisa, minimizando assim os riscos de estresse causado pelo transporte e a exposição a agentes patogênicos. Proporciona maior segurança, possibilitando o controle de acesso às instalações, e aumenta a facilidade

de monitoramento do pessoal e dos animais.

As instalações descentralizadas geralmente apresentam custo mais elevado para serem construídas, devido à exigência de sistemas de controle ambiental especializados. A duplicação de equipamentos (por exemplo, equipamentos de limpeza) pode ser necessária, também materiais sujos podem precisar ser transportados para processamento em local distante. No entanto, a descentralização pode ser preferida para determinados tipos de pesquisa, como a imagiologia, a quarentena, seja pela proximidade das instalações de pesquisa ou por razões de biossegurança. A descentralização pode ser necessária para acomodar equipamentos de grande porte ou mais complexos, como ressonância magnética, ou para permitir a divisão de espaço pelos usuários que utilizam várias instalações ou outras instituições. A possibilidade de exposição a agentes de doenças é muito maior nestas situações e deve ser dada atenção especial à biossegurança, incluindo o transporte, a quarentena antes ou após o uso da área de pesquisa especializada, e a descontaminação ambiental e de equipamentos.

As decisões que levam a decidir entre as instalações animais fisicamente centralizadas ou as descentralizadas devem ser feitas no início do projeto, e devem envolver todas as partes interessadas.

3.5. Áreas funcionais

É necessário um bom julgamento profissional para poder desenvolver uma planta física prática, funcional e eficiente para o uso e cuidados dos animais. As funções específicas de instalação irão determinar o tamanho, a natureza e a intensidade de um programa institucional.

São necessários, como mínimo, os seguintes locais para:

- Alojamento dos animais, seus cuidados e saneamento;
- Recepção, quarentena, separação de espécies e/ou rederivação de animais;
- Isolamento de projetos individuais, quando necessário;
- Armazenamento de materiais.

Algumas destas áreas podem não ser necessárias ou podem ser incluídas em uma área polivalente, quando forem destinadas à manutenção de alguns animais ou de animais sob condições especiais, tais como gnotobióticos, livres de patógenos específicos (SPF, do inglês *Specific Pathogen Free*), ou para animais a pasto ou alojados ao ar livre.

A maioria das instalações para animais multiusuários também podem incluir:

→ Laboratórios especializados ou espaços próximos das áreas de manutenção de animais usados para atividades como cirurgia, cuidados intensivos, necropsia, irradiação, preparação de dietas especiais, procedimentos experimentais, testes comportamentais, imagem, tratamento clínico e procedimentos laboratoriais de diagnóstico;

→ Instalações ou equipamentos de contenção, se houver perigos biológicos, físicos ou agentes químicos;

→ Instalações de barreira para o alojamento de animais SPF, animais geneticamente modificados, ou modelos animais de grande valor científico ou econômico;

→ Áreas para recepção e armazenamento de alimentos, roupas, medicamentos, produtos biológicos, e suprimentos;

→ Espaço para lavagem e esterilização de equipamentos e suprimentos e, dependendo do volume de trabalho, máquinas para lavar gaiolas, garrafas, copos, prateleiras e latas de lixo; esterilizador de equipamentos, comida e material de cama; e também áreas separadas para manusear equipamentos sujos e limpos;

→ Espaço para o armazenamento de resíduos antes da incineração ou remoção;

→ Espaço para congelamento ou eliminação de carcaças;

→ Espaço para o pessoal administrativo, incluindo espaço para a formação e educação do pessoal;

→ Chuveiros, pias, armários, banheiros e áreas de descanso para o pessoal;

→ Sistemas de segurança;

→ Áreas para manutenção e reparo dos sistemas de alojamento dos animais e de equipamentos especializados.

4. Diretrizes de construção

4.1. Corredores

Os corredores devem ser de tamanho a facilitar a circulação de pessoas e equipamentos, na maioria das instalações uma largura de 1,8 a 2,5 metros pode ser suficiente para suprir as necessidades de espaço. Deve ser dada especial atenção às junções das paredes e dos pisos para facilitar a limpeza. Barras de proteção, corrimão ou amortecedores são recomendados.

Em corredores que levam às instalações de alojamento de suínos e de outras áreas com muito ruído, devem ser consideradas antessalas com portas de entrada dupla ou outros itens para diminuir o ruído.

Sempre que possível, linhas de água, canos, bobinas de reaquecimento e válvulas, conexões de serviços elétricos, e outros utilitários devem ser acessíveis via espaço intersticial ou por meio de painéis de acesso ou fendas em corredores fora das salas de animais. Os alarmes de incêndio, extintores de incêndio e telefones devem ser rebaixados na parede (em reentrância), instalados em locais elevados, ou protegidos por grades de proteção, para evitar danos a partir do movimento de equipamentos de grande porte.

4.2. Portas da sala de alojamento dos animais

As portas devem ser suficientemente grandes (cerca de 1,1 × 2,2 m) para permitir a passagem fácil de prateleiras e equipamentos, e devem se encaixar perfeitamente em seus quadros. Tanto as portas quanto os quadros devem estar devidamente selados para impedir a entrada ou refúgio de patógenos. As portas devem ser revestidas com materiais que resistam à corrosão. São geralmente preferíveis as portas equipadas com fechadura automática, com alças em reentrância ou protegidas, com placas, amortecedores e outros equipamentos de proteção. Por motivos de segurança, as portas devem abrir para as salas dos animais; se for necessário que abram para o corredor, deve haver um vestíbulo de recesso.

Quando for necessária maior segurança em nível de sala ou se for desejável para limitar o acesso (como no caso de agentes perigosos), as portas devem ser equipadas com fechaduras ou dispositivos eletrônicos de segurança.

Pensando na segurança do pessoal, as portas devem ser projetadas para abrir a partir do interior sem necessidade de chave.

4.3. Janelas externas

A presença de janelas numa instalação para animais, em particular nas salas dos animais, cria um potencial risco de segurança e deve ser evitada. As janelas também criam problemas com o controle de temperatura da área e do fotoperíodo. No entanto, as janelas podem proporcionar um enriquecimento ambiental para algumas espécies.

Como o clima no Brasil nas principais áreas de produção é classificado como temperado úmido e a espécie não é rigorosamente afetada pelo fotoperíodo, são utilizadas, normalmente, janelas amplas nas instalações e o controle da temperatura ambiental é feito por meio do manejo de cortinas de lona, além de outros equipamentos para termorregulação, como ventiladores, aquecedores elétricos, à lenha ou à gás, nebulizadores etc. Caso não existam janelas na sala de alojamento dos animais, a mesma deve ser provida de equipamentos especiais para a manutenção da temperatura ambiente e renovação do ar, como o sistema de Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado (AVAC).

4.4. Pisos

O piso deve ser resistente à umidade, não absorvente, resistente ao impacto, e relativamente suave, embora superfícies texturizadas possam ser necessárias em algumas áreas de alta umidade. O chão deve ser de fácil reparação e resistente à ação da urina, de outros materiais biológicos, bem como aos efeitos adversos de agentes de limpeza e de água quente. Os pisos devem ser capazes de suportar o peso dos equipamentos e de itens armazenados sem o risco de serem arrancados, rachados, ou perfurados. Dependendo da sua utilização, estes devem ser monolíticos ou ter um número mínimo de articulações. Alguns dos materiais utilizados são resinas epóxi, superfícies de concreto duro selado, metacrilato de metilo, poliuretano, e agregados especiais à base de borracha endurecida. Estes últimos são úteis em áreas onde a redução de ruído é importante. Uma instalação correta é essencial para garantir a estabilidade da superfície em longo prazo. Se forem instaladas soleiras na entrada de uma sala, elas devem ser projetadas para permitir a passagem conveniente dos equipamentos.

4.5. Drenagem

Quando a drenagem é utilizada, o piso deve ser inclinado e os sifões mantidos cheios de líquido. Para minimizar aumentos prolongados na umidade, a drenagem deve permitir a remoção rápida da água e secagem das superfícies. Canos de escoamento devem ter, pelo menos, 16 cm de diâmetro. A drenagem do ralo e/ou descarga ou triturador em linha podem ser úteis para a destinação de resíduos sólidos. Quando os sistemas de drenagem não estiverem em uso por longos períodos, devem ser tampados e selados para evitar o refluxo de gases de esgoto, entrada de insetos e de outros contaminantes. São aconselháveis tampas com fecho de drenagem em algumas circunstâncias.

4.6. Paredes e tetos

Paredes e tetos devem ser lisos, resistentes à umidade, a danos causados por impacto e não absorventes. Não devem ter rachaduras, penetrações não seladas e junções imperfeitas. Os materiais de revestimento devem ser capazes de resistir à limpeza com detergentes e desinfetantes e ao impacto da água sob alta pressão. O uso de parapeito, corrimão ou amortecedores, e cantoneiras deve ser considerado para proteger as paredes e os cantos, e esses itens devem ser sólidos ou selados para impedir a entrada de patógenos.

Tetos formados por lajes de concreto podem ser usados, se forem lisos e selados ou pintados. Tetos falsos são geralmente indesejáveis em locais de alojamento de animais, a menos que estejam fechados no espaço acima. Quando utilizados, devem ser fabricados de materiais impermeáveis, ter superfície lavável, e serem livres de junções imperfeitas. São desaconselhados o encanamento, a canalização e as luminárias expostas, a menos que as superfícies possam ser facilmente limpas.

5. Ambiente

5.1. Temperatura

A manutenção da temperatura corporal dentro da variação circadiana normal é necessária para o bem-estar animal. Os animais devem ser alojados dentro de condições de temperatura e umidade adequadas para a espécie, para que possam se adaptar com um mínimo de estresse e de alterações fisiológicas.

O ambiente térmico é, provavelmente, um dos componentes mais difíceis de gerir, porque suínos de diferentes idades têm diferentes exigências térmicas (tabela 1). Por isso, é importante que os suínos sejam manejados com base em suas necessidades térmicas durante cada estágio de produção. O ambiente térmico deve ser o mais próximo possível da zona de neutralidade térmica para a idade dos suínos alojados .

Tabela 2: Zona de termoneutralidade recomenda para suínos destinados ao ensino e pesquisa, de acordo com a categoria animal.

Categoria animal	Varição térmica recomendada
Porca em lactação e leitegada	15 a 26°C para porca Mínimo 32°C no escamoteador dos leitões
Maternidade, 2 a 15Kg	26 a 32°C
Creche, 12 a 35Kg	18 a 26°C
Crescimento, 35 a 70Kg	15 a 25°C
Terminação, 70 a 100Kg	10 a 25°C
Porca ou Cachaço, >100Kg	10 a 25°C

Fonte: Adaptado de *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, 2012.

Embora as condições de temperatura sejam fornecidas nesta tabela, avaliações de comportamento podem determinar apropriadamente o conforto térmico de suínos. Quando os suínos estiverem em uma zona de conforto térmico, eles irão deitar e descansar confortavelmente, não ficarão tremendo ou se amontoado uns sobre outros, não apresentarão frequência respiratória elevada, e irão, geralmente, descansar tocando outros suínos. Alguns animais podem preferir descansar sozinhos. Amontoamento ou afastamento amplo indicam que o ambiente está muito frio ou muito

quente, respectivamente. O comportamento dos suínos é um melhor indicador da temperatura do que um termômetro.

A variação da temperatura ambiente na qual ocorre a termorregulação sem a necessidade de aumentar a produção de calor metabólico ou de ativar mecanismos de perda de calor por evaporação é chamada zona termicamente neutra (ZNT) e está delimitada pelas temperaturas críticas inferior (TCI) e superior (TCS). Para manter a temperatura do corpo sob uma determinada temperatura ambiental, os animais se ajustam fisiologicamente (incluindo seu metabolismo) e comportamentalmente (incluindo seu nível de atividade e uso de recursos). Em geral, as temperaturas em salas de animais devem ser definidas abaixo da TCS dos animais para evitar estresse por calor. Isto, por sua vez, significa que os animais devem ser dotados de recursos adequados para a termorregulação (material para nidificação, abrigo), para evitar o estresse pelo frio. Recursos adequados para termorregulação são particularmente importantes para os animais recém-nascidos cuja TCI é consideravelmente maior do que de animais adultos.

A temperatura ambiente e a umidade relativa do ar em instalações de criação e/ou de manutenção, podem diferir consideravelmente entre os recintos primários e secundários, bem como no interior do recinto primário. Dentre os fatores que contribuem para a variação de temperatura e umidade entre e dentro dos recintos temos o projeto das instalações; material de construção; dispositivos de enriquecimento, como abrigos e material de nidificação; uso de filtro de ar; número, idade, tipo e tamanho dos animais em cada recinto; ventilação forçada dos compartimentos; e tipo e frequência de mudanças de contato com a cama.

A exposição a flutuações de temperatura ou umidade extremas pode resultar em alterações comportamentais, fisiológicas e morfológicas, o que pode afetar negativamente o bem-estar animal e o desempenho das pesquisas.

Algumas condições requerem o aumento das temperaturas ambientais (por exemplo, recuperação no pós-operatório, animais recém-nascidos, entre outras). A magnitude do aumento de temperatura depende de detalhes das instalações e por vezes, é preferível não aumentar a temperatura do macroambiente, mas sim aumentar a temperatura do microambiente apenas, por exemplo, utilizando almofadas de aquecimento para a recuperação no pós-operatório ou escamoteadores para leitões recém-nascidos.

A umidade relativa do ar também deve ser controlada, mas não de forma tão restrita como a temperatura para algumas espécies animais; a variação aceitável de umidade relativa é considerada como sendo de 30% a 70% para suínos.

5.2. Ventilação e qualidade do ar

O principal objetivo da ventilação é proporcionar uma adequada qualidade do ar e um ambiente estável. Especificamente, a ventilação proporciona um suprimento adequado de oxigênio; remove as cargas térmicas produzidas pelos animais, pessoal, luzes e equipamentos; dilui contaminantes gasosos e partículas, incluindo alérgenos e organismos patogênicos; ajusta o teor de umidade e temperatura do ar ambiente; e, se for necessário, criar diferenciais de pressão de ar (fluxo de ar direcional) entre espaços adjacentes.

As características físicas e de volume de ar fornecido para um recinto, bem como seu padrão de difusão, influenciam a ventilação do recinto principal de um animal, sendo importantes determinantes do seu microambiente. O tipo e a localização dos difusores de ar de entrada e registros de escape em relação ao número, a disposição, a localização e o tipo dos recintos primários e secundários afetam a forma como os microambientes são ventilados e devem, portanto, ser considerados. O uso de programas de computador para avaliar esses fatores em relação à carga de calor, aos padrões de difusão de ar e movimento de partículas pode ser útil para otimizar a ventilação de micro e macroambientes.

A exposição direta de animais ao ar em alta velocidade (correntes de ar) deve ser evitada, visto que a velocidade do ar afeta a taxa à qual o calor e a umidade são removidos a partir de um animal. Por exemplo, o ar a 20 °C movendo-se a 18,3 m/min tem efeito de arrefecimento de cerca de 7 °C, de forma que correntes de ar podem ser muito prejudiciais para leitões recém-nascidos (que possuem poucos pelos, além de terem mecanismos de termorregulação pouco desenvolvidos), por exemplo.

As recomendações de ventilação podem variar de acordo com a estação do ano. Uma taxa de ventilação mínima deve ser alcançada no inverno, com a troca de ar estando em seu nível mais baixo, mas ainda assim suficientemente eficaz para remover a umidade. A umidade excessiva (> 80%) fornece um veículo para os microrganismos, molha os suínos, e danifica o isolamento. Como regra geral, a taxa de ventilação no inverno não deve cair abaixo de 6 renovações de ar por hora. A taxa mínima de ventilação, a umidade relativa do ar e o CO₂ são importantes medidas da qualidade do ar. Estes e outros fatores devem ser considerados quando se controla a taxa de ventilação. No verão, a taxa de ventilação máxima deve ser mantida a fim de que o sistema de ventilação mantenha o ar em movimento para remover o calor dos animais e retirar a umidade também. A provisão de 10 a 15 trocas de ar fresco por hora em quartos de alojamento dos animais é uma diretriz aceitável para manter a qualidade do ar macroambiental por sistemas de volume constante e pode também garantir a qualidade do ar microambiental.

Embora este procedimento seja eficaz em muitas instalações animais, ele não leva em consideração a variação de possíveis cargas de calor; a espécie, tamanho e número de animais envolvidos; o tipo de recinto primário e material de cama; as dimensões da sala; ou a eficiência da distribuição de ar tanto no macro quanto no microambiente. Em algumas situações, o mau uso da ventilação pode superventilar um macroambiente contendo alguns animais, desperdiçando assim energia, ou subventilar um microambiente que contém muitos animais, permitindo que o calor, a umidade e os poluentes se acumulem.

Equipamentos para sistemas de Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado (AVAC) (por exemplo, os sistemas de volume de ar variável - VAV) permitem taxas de ventilação a serem definidas de acordo com a carga de calor e outras variáveis. Esses sistemas oferecem vantagens consideráveis no que diz respeito à flexibilidade e economia de energia, mas devem sempre fornecer uma quantidade mínima de trocas de ar, como recomendado para os laboratórios de uso geral.

Se os recintos primários ventilados possuírem filtração adequada para enfrentar os riscos de contaminação, o ar eliminado do microambiente pode ser devolvido para a sala em que os animais estão alojados, embora seja geralmente preferível esgotar esses sistemas diretamente no sistema de exaustão do prédio, para reduzir a carga de calor e de contaminação macroambiental.

O uso de ar reciclado para ventilar salas de animais pode economizar energia, mas implica em riscos. O fato de patógenos poderem ser transportados por vias aéreas ou fômites (por exemplo, poeira) faz com que o ar de exaustão reciclado, em sistemas de climatização que servem para vários recintos, apresente risco de contaminação cruzada.

A reciclagem do ar em áreas onde não haja animais (por exemplo, algumas áreas de ocupação humana e de alimentos) pode exigir menos filtração intensiva ou condicionada e representa menor risco de infecção. Os riscos em algumas situações, contudo, podem ser demasiado grandes para considerar a reciclagem.

5.3. Aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC)

Um sistema de funcionamento AVAC devidamente projetado é essencial para fornecer controle da pressurização do ambiente e do espaço. O controle de temperatura e da umidade minimiza as variações devido tanto à mudança das condições climáticas quanto às diferenças no número e tipo de animais e equipamentos em um espaço de criação e de manutenção animal. A pressurização auxilia no controle da contaminação do ar e odores, fornecendo um fluxo de ar

direcional entre os espaços. As áreas de quarentena, de manutenção e de pesquisa de animais expostos a materiais perigosos, devem ser mantidas sob pressão negativa, enquanto que as áreas para cirurgia ou armazenamento de equipamentos limpos devem ser mantidas sob relação de pressão positiva.

Os sistemas de climatização devem ser projetados de forma a facilitar a manutenção e a conservação de energia; ser capazes de atender os requisitos dos animais; e serem flexíveis e adaptáveis, caso haja necessidade de mudanças da espécie, do número de animais e de equipamentos mantidos durante a vida útil da instalação.

Sistemas de volume constante do ar são mais comumente utilizados em instalações animais, mas os sistemas de volume variável do ar (VAV) podem apresentar vantagens operacionais, como permitir que as taxas de ventilação sejam definidas de acordo com a carga de calor e de outras variáveis. Esses sistemas oferecem vantagens consideráveis no que diz respeito à flexibilidade e conservação de energia.

A temperatura é melhor regulada por meio de controle termostático para cada ambiente onde fiquem os animais. O uso de controle zonal para vários espaços pode resultar em variações de temperatura entre os espaços da zona, devido a diferenças na densidade de animais e ganho ou perda de calor em dutos de ventilação e outras superfícies dentro da zona.

Flutuações moderadas de temperatura e de umidade relativa do ar, fora dos intervalos sugeridos, são geralmente bem toleradas pela maioria das espécies comumente utilizadas em pesquisas, desde que sejam breves e pouco frequentes. As instalações devem ser projetadas para minimizar correntes de ar e variações de temperatura. No caso de falha no sistema AVAC ou de um componente, os sistemas devem suprir, no mínimo, as necessidades das instalações em nível reduzido, ajudados com equipamentos auxiliares.

Os locais de entrada do sistema de tratamento de ar devem evitar a entrada de fumaça de veículos, equipamentos e sistemas de escape. Enquanto 100% do ar externo é normalmente fornecido, quando a recirculação de ar é usada, sua qualidade e quantidade deve estar de acordo com recomendações ideais. O tipo e a eficiência de abastecimento e tratamento do ar de exaustão devem ser combinados com a quantidade e tipos de contaminantes e os riscos que eles representam.

A operação bem-sucedida de qualquer sistema AVAC requer manutenção preventiva e avaliação regular, incluindo a medição de sua função a nível do recinto secundário. Tais medidas devem incluir o fornecimento e exaustão de volumes de ar, a flutuação da temperatura e da umidade relativa do ar, e os diferenciais de pressão de ar entre os espaços, bem como parâmetros críticos de funcionamento mecânico.

5.4. Energia e iluminação

O sistema elétrico deve ser seguro e fornecer iluminação adequada, com número suficiente de tomadas e amperagem adequada para os equipamentos especializados. Luminárias, temporizadores, interruptores e tomadas devem estar devidamente selados para impedir a entrada de patógenos. As lâmpadas fluorescentes são eficientes em termos energéticos e são comumente utilizadas em instalações animais. Um sistema de iluminação controlada deve ser utilizado para assegurar um ciclo de iluminação diurna uniforme. Lâmpadas ou luminárias devem estar equipadas com tampas de proteção para garantir a segurança dos animais e do pessoal.

A luz pode afetar a fisiologia, a morfologia e o comportamento dos animais. Fotoestressores potenciais incluem fotoperíodo inadequado, fotointensidade, e qualidade espectral da luz. Inúmeros fatores podem afetar a necessidade de luz para os animais e devem ser levados em consideração ao se estabelecer um nível de iluminação adequado para uma instalação animal. Estes incluem a intensidade da luz e o comprimento de onda, assim como a duração da exposição do animal à luz, sua pigmentação, ritmo circadiano, temperatura do corpo, estado hormonal, idade, espécie, sexo etc.

Em geral, a iluminação deve ser difundida em toda a área dos locais onde se encontrem os animais e deve fornecer iluminação suficiente para o seu bem-estar, permitindo simultaneamente as boas práticas de produção, inspeção adequada dos animais e condições seguras de trabalho para o pessoal.

O suíno doméstico é menos sensível a iluminação ambiental do que algumas outras espécies animais. Os dados são conflitantes sobre a possibilidade de a luz influenciar a reprodução, a fisiologia e o desempenho de suínos. No entanto, os dados atuais indicam que o fotoperíodo pode influenciar a produtividade e várias medidas fisiológicas em porcas e leitões. Em estado selvagem, os suínos não dependem da visão tanto quanto de outros sistemas sensoriais, mas se forem capazes de controlar o fotoperíodo por si mesmos, eles preferem um pouco de luz e um pouco de escuro a cada hora do dia e da noite.

A manipulação do fotoperíodo pode influenciar o estado imunológico dos suínos, mas os dados sobre efeitos do fotoperíodo sobre o sistema imunológico dos suínos são contraditórios ou obscuros.

O desenvolvimento de animais reprodutores pode ser beneficiado pelo fotoperíodo de dia longo (por exemplo, 16 h de luz e 8 horas de escuro). Leitoas manejadas em dias longos apresentaram concentrações basais mais elevadas de hormônio luteinizante (LH) do que aquelas manejadas em dias curtos. O fotoperíodo não teve efeito sobre mudan-

ças na frequência de LH em marrãs pré-púberes. O fotoperíodo no final da gestação também pode influenciar medidas endócrinas e de desempenho das porcas e sua prole. Porcas em lactação respondem positivamente a 16 horas de luz e 8 horas de escuridão, resultando em melhor desempenho de seus leitões, e alguns estudos têm relatado que essas porcas apresentam intervalo desmame-cio mais curto. No entanto, este efeito não foi observado em outro estudo posterior utilizando mais repetições.

Regimes de luz oscilando entre 9-16 h de luz em uma base diária não tiveram nenhum efeito sobre a qualidade do sêmen suíno ou fertilidade, prolificidade, ou libido. Embora haja momentos em que um ciclo de luz específico possa ser uma ferramenta de manejo benéfica para os suínos, o fotoperíodo selecionado pode depender do sexo, idade, e fase de produção dos animais. Alterar o fotoperíodo pode afetar a reprodução de suínos em alguns aspectos, mas mudanças no fotoperíodo não têm sido associadas ao bem-estar de porcas e cachorros.

5.5. Controle de ruído e vibrações

O controle de ruído é importante para o bem-estar animal e deve ser discutido no planejamento e reforma das instalações. As atividades que produzam ruído devem ser separadas do alojamento dos animais experimentais. As paredes de alvenaria, devido à sua densidade, têm geralmente excelente propriedade atenuante de sons, mas a atenuação de sons pode ser alcançada usando diferentes materiais e divisórias. Por exemplo, materiais de atenuação de som ligados a paredes ou tetos podem ser apropriados para o controle de ruído em algumas situações, enquanto que materiais acústicos aplicados diretamente no teto ou como parte de um teto falso em uma sala de animais apresentam problemas de saneamento e de controle de microorganismos, portanto não são recomendados. A experiência tem demonstrado que as portas de corredores bem-construídas, portas atenuantes de som, ou portais de entrada com porta dupla podem ajudar a controlar a transmissão do som ao longo dos corredores.

Deve ser dada a atenção para a atenuação do ruído gerado pelos equipamentos. Devem ser selecionados e posicionados os alarmes de sistemas de incêndio e de monitoramento ambiental a fim de minimizar uma potencial perturbação dos animais.

O ruído produzido pelos animais e pelo seu manuseio é inerente ao funcionamento de uma instalação de pesquisa. A avaliação dos efeitos potenciais de ruídos sobre os animais deve levar em consideração a intensidade, frequência, rapidez de início, duração, e as potencialidades do som e da gama de audição, história de exposição ao ruído e

à vibração, e suscetibilidade ao efeito sonoro da espécie ou raça. Da mesma forma, a exposição ocupacional a práticas com animais que gerem ruídos pode ser motivo de preocupação para o pessoal e, se for de intensidade suficiente, pode justificar o uso da proteção auditiva.

A separação das áreas do pessoal e dos animais minimiza perturbações para ambos. Animais ruidosos, tais como os suínos, devem ser alojados longe de animais mais calmos. Os ambientes devem ser projetados de forma a acomodar os animais que fazem barulho em lugar de recorrer a métodos de redução de ruído. A exposição a sons mais altos que 85 dB pode ter efeitos auditivos e não-auditivos, por exemplo, eosinopenia, aumento de peso da glândula adrenal, e redução da fertilidade em roedores, aumento da pressão sanguínea em primatas não humanos, e pode necessitar de proteção auditiva para o pessoal. As atividades que geram ruído devem ser realizadas em salas ou áreas separadas daquelas usadas para alojamento dos animais.

Como as mudanças nos padrões de exposição sonora têm efeitos diferentes sobre diferentes animais, o pessoal deve tentar minimizar a produção de ruídos desnecessários. O ruído excessivo e intermitente pode ser minimizado por meio da formação de pessoal em alternativas às práticas ruidosas, uso de veículos almofadados, e manutenção adequada dos equipamentos (por exemplo, lubrificação). Rádios, alarmes e outros geradores de som não devem ser usados em salas de animais, a menos que eles sejam parte de um protocolo aprovado ou programa de enriquecimento.

A vibração pode surgir a partir de equipamentos mecânicos, interruptores elétricos e de outros componentes de construção, ou de fontes remotas (via transmissão gerada no solo). Quanto a este último item, deve ser dada atenção especial para o tipo de estrutura de construção, especialmente se a instalação será localizada sobre, sob, ou adjacente a metrô, trem ou tráfego de automóveis e caminhões. Espécies diferentes podem detectar e ser afetadas por vibrações de diferentes frequências e comprimentos de onda, por isso devem ser feitas tentativas para identificar todas as fontes de vibração e isolar ou amortecê-las com sistemas de supressão de vibração.

Enquanto algumas vibrações são inerentes a todas as instalações animais, a vibração excessiva tem sido associada a alterações bioquímicas e reprodutivas em animais de laboratório e podem se tornar uma variável não controlada para experimentos de pesquisa. A fonte de vibrações pode estar localizada dentro ou fora da instalação para animais. Neste último caso, a vibração gerada no solo pode afetar tanto a estrutura da instalação quanto seu conteúdo. Sistemas de alojamento com componentes móveis, tais como ventiladores, podem criar vibrações que podem afetar os animais alojados no interior, especialmente se não estiverem funcionando corretamente. Como o ruído, a vibração varia de acordo com a intensidade, frequência e duração. Uma variedade de técnicas pode ser utilizada para isolar a vibração

gerada no solo e em equipamentos. Devem ser feitas tentativas para minimizar a geração de vibração, incluindo aquela que parte do pessoal que trabalha com os animais.

5.6. Monitoramento ambiental

Deve ser realizado o monitoramento das condições ambientais nos alojamentos de animais e de outras áreas. São aconselhados os sistemas automatizados que informem o pessoal sobre variações das condições ambientais, incluindo a temperatura e o fotoperíodo evitando alterações fisiológicas e/ou a perda de animais. Devem ser regularmente verificadas a função e a exatidão de tais sistemas.

5.7. Áreas de armazenamento

É essencial que sejam planejados espaços adequados para o armazenamento de equipamentos, suprimentos, comida, material de cama e lixo. Corredores não são áreas de armazenamento adequadas. O espaço para armazenamento pode ser menor quando a entrega de materiais e de suprimentos for confiável e frequente; no entanto, deve ser suficientemente amplo para acomodar o armazenamento de produtos essenciais garantindo assim, a criação ininterrupta dos animais e seus cuidados. Materiais de cama e alimentos devem ser armazenados em áreas separadas, livres de patógenos e protegidas do risco de contaminação por substâncias tóxicas ou perigosas. As áreas utilizadas para armazenamento de alimentos não devem estar sujeitas a temperaturas ou umidade relativa elevadas por períodos prolongados. As áreas de armazenamento de lixo devem ser separadas das outras áreas de armazenamento. Para o armazenamento de animais mortos e resíduos de tecidos animais, deve estar disponível uma área a ser mantida abaixo de 7 °C, a fim de reduzir a putrefação dos materiais; tal área deve ser construída de maneira que seja de fácil limpeza.

5.8. Instalações para sanitização de materiais

Deve ser prevista uma área central dedicada à higienização dos equipamentos, com atenção a fatores como:

- Localização com relação a salas de animais, de eliminação de resíduos e áreas de armazenamento;
- Facilidade de acesso, incluindo portas de largura suficiente para facilitar a circulação de equipamentos;

- Espaço suficiente para o armazenamento e manobras de equipamentos;
- Atividades de eliminação de resíduos sujos e pré-lavagem;
- Facilidade de limpeza e desinfecção da área;
- Pressurização de ar entre os espaços com divisórias para reduzir o potencial de contaminação cruzada entre equipamentos sujos e limpos;
- Isolamento de paredes e tetos, sempre que necessário;
- Atenuação do som;
- Utilidades, como água quente e fria, vapor, ralos e energia elétrica;
- Ventilação, incluindo a instalação de aberturas ou de toldos e provisões para a dissipação de vapor e fumaça gerados a partir de processos de higienização;
- Vibração, em especial se os animais estiverem alojados diretamente acima, abaixo, ou adjacente às instalações de lavagem;
- Segurança do pessoal, garantindo que chuveiros e outros equipamentos sejam seguros; que as linhas de água e de vapor quente expostas sejam devidamente isoladas; que procedimentos com propensão de gerar aerossóis sejam adequadamente contidos; e que os equipamentos em que o pessoal precise entrar estejam equipados com dispositivos de segurança que impeçam que funcionários fiquem presos.

5.9. Instalações especiais

5.9.1. Barreiras

Instalações de barreira devem ser projetadas e construídas para evitar a introdução de agentes infecciosos nas áreas onde animais de estado de saúde definido estejam alojados. Elas podem ser parte de uma instalação maior ou de uma unidade monobloco. Podem ser utilizadas em instalações de animais geneticamente modificados, bem como para animais livres de patógenos específicos (SPF).

Instalações de barreira normalmente incorporam câmara de vácuo ou entradas especiais (por exemplo, ar ou chuveiros) para os suprimentos e para o pessoal. A equipe que trabalha nas salas dos animais deve usar roupas e calçados específicos (EPIs), estéreis, ou descartáveis tais como aventais, toucas e protetores para sapatos, luvas, e,

quando necessário máscaras. Os materiais de consumo, como alimentos ou material de cama, podem abrigar agentes infecciosos e devem ser autoclavados ou gama-irradiados pelo fornecedor e sua superfície descontaminada na entrada das salas dos animais. A água de beber pode ser autoclavada ou sujeita a tratamento especializado (por exemplo, filtração, osmose reversa) para remoção de agentes infecciosos. Gaiolas e outros materiais com os quais os animais têm contato direto podem ser esterilizados após a lavagem, antes de serem reutilizados. São frequentemente estabelecidos procedimentos operacionais rigorosos para impedir o contato de suprimentos e de grupos de pessoas, entre as áreas limpas e sujas, sendo necessário o estabelecimento de fluxos de trabalho específicos. Apenas animais com estado de saúde definido são passados pela barreira e não devem entrar novamente sem que seja feito reteste de seu estado sanitário. A entrada de pessoal é restrita e os que têm acesso devem ser adequadamente treinados em procedimentos que minimizem a introdução de contaminantes.

Para manter as características de SPF, podem ser usadas técnicas de engenharia que podem incluir um alto nível de filtração do ar de alimentação (por exemplo, HEPA ou filtros 95% eficientes), a pressurização da barreira em relação às áreas circundantes, e o fluxo de ar direcionado a partir da área limpa para áreas potencialmente contaminadas. Tipos de equipamentos especializados que aumentam a qualidade da barreira podem incluir gaiolas isoladoras, gaiolas ventiladas individualmente e as estações de troca dos animais.

5.9.2. Gaiolas metabólicas:

Gaiolas metabólicas são usadas para alojar suínos individualmente para determinadas investigações, com a devida aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição responsável pela pesquisa. A gaiola metabólica geralmente (mas nem sempre) mantém os suínos de forma que estes sejam impedidos de se virar, se sujar ou ingerir fezes. Se o piso e os materiais da gaiola forem apropriados para o tamanho do suíno a ser usado, e se os espaços disponíveis para suínos individuais forem atendidos, então os animais podem ser mantidos por períodos maiores nestas gaiolas. A largura precisa de uma gaiola metabólica pode necessitar de ajustes para proporcionar a coleta total de urina e de fezes, evitando que os suínos se virem ou girem. Portanto, podem ser necessários espaços menores para alcançar esses objetivos. Em estudos que requerem o uso de gaiolas metabólicas, a interação duas vezes por dia entre a equipe de cuidados animais e os suínos é especialmente importante. Interações visuais e vocais com outros suínos também apoiam o bem-estar dos suínos alojados individualmente. Os suínos devem ser mantidos em gaiolas

metabólicas não mais do que o exigido pelo protocolo de pesquisa aprovado.

5.9.3. Contenção de agentes perigosos:

O objetivo da contenção é “reduzir ou eliminar a exposição a potenciais agentes perigosos para o pessoal que trabalha com animais, outras pessoas e o ambiente externo”. Isto é, conseguido pelo emprego de práticas e equipamentos adequados, como vacinação do pessoal, e garantindo um bom planejamento e operação da planta física.

As instalações animais utilizadas para estudar agentes biológicos infecciosos para seres humanos são classificadas em diferentes níveis de biossegurança, de exigências crescentes de confinamento, como descrito em “Biossegurança em laboratórios biomédicos e microbiológicos” (BMBL; DHHS 2009). Cada nível de biossegurança para animais (NBA) reflete uma combinação de práticas, equipamentos de segurança e instalações com base no risco de infecção para seres humanos.

Também foram desenvolvidas orientações para a contenção de patógenos agrícolas (USDA ARS 2002), moléculas de DNA recombinantes (NIH 2002) e produtos químicos perigosos (NRC 1995). Os agentes biológicos e toxinas representam uma ameaça à saúde animal e vegetal e à segurança e saúde pública, e as instalações em que são utilizados devem aderir aos regulamentos e leis federais, estaduais ou locais pertinentes.

Os recursos de instalação, equipamentos e práticas de segurança específicas dependerão, em grande parte, se é particulado, volátil, ou ambos. Alguns dos recursos para instalações, aplicáveis a todos os perigos, incluem o isolamento dos animais e de seus resíduos, fornecimento de superfícies monolíticas seladas que não promovam o acúmulo de poeira e sejam fáceis de higienizar, aumento das taxas de troca de ar para diluir a contaminação ambiental caso ocorra, diferenciais de pressão de ar para assegurar que as áreas que contêm riscos tenham pressão negativa no que diz respeito às áreas circundantes, sistemas de alojamento especializados, se disponíveis, e equipamentos de segurança adequados, como cabine de segurança biológica (CDC & NIH 2007).

5.10. Segurança e controle do acesso

As instalações animais devem estar localizadas dentro de uma estrutura que contenha um conjunto de segurança independente. O acesso de veículos deve ser limitado e, quando previsto, controlado e monitorado.

A segurança e o controle de acesso são geralmente fornecidos por zonas, começando pelo perímetro das áreas de maior segurança. As medidas de controle podem ser constituídas por pessoal de segurança, barreiras físicas e dispositivos de controle. O âmbito do sistema de segurança depende do tamanho da instalação, bem como da natureza das atividades desenvolvidas em seu interior. Os sistemas de segurança controlados por microcomputadores são frequentemente empregados, devido ao grande número de pontos de controle e de acesso de pessoal exigidos. Esses sistemas geralmente usam chaves ou cartões eletrônicos de proximidade e leitoras associadas, que, além de controlar o acesso, permitem a gravação do tempo, localização e identificação do pessoal a cada entrada. Em áreas mais sensíveis, dispositivos de leitura biométricos podem ser mais adequados. A segurança pode ser reforçada com sistemas de vigilância eletrônica e vídeo. Estes sistemas podem ser monitorados por pessoal ou dispositivos de gravação ativados por movimento.

5.11. Alimentação e água

Os suínos devem ser observados e seu bem-estar avaliado pelo menos duas vezes por dia. Comedouros e bebedouros devem ser verificados para garantir que estão funcionando adequadamente. O modelo e a posição dos comedouros e bebedouros deve permitir fácil acesso dos animais, minimizando o desperdício alimentar. Cochos ou locais de alimentação devem estar livres de dejetos, urina e outros contaminantes. Os suínos podem ser alimentados no chão, desde que a superfície esteja limpa e seca, e que o consumo individual do alimento não seja limitado pela competição social. Quando o alimento for fornecido em baias individuais, devem ser tomados cuidados para minimizar o pó existente.

A medicação via água pode ser utilizada para o manejo de infecções, desde que sob prescrição do médico veterinário responsável.

Os suínos devem ser alimentados para atender seus requisitos nutricionais, para cada fase específica do seu ciclo de vida. Deve ser fornecido acesso *ad libitum* à água e deve-se tomar cuidado especial para garantir que os bebedouros sejam acessíveis de acordo com o tamanho dos suínos alojados. Uma opção interessante é a utilização de bebedouros com possibilidade de regular sua altura de acordo com o tamanho do animal. Se os animais forem SPF, a ração e a água deverão ser esterilizadas ou irradiadas.

5.12. Ambiente social

Os suínos são animais sociais por natureza. As fêmeas vivem em grupos na natureza e isolam-se apenas na época de parição. Cachaços selvagens são geralmente animais solitários, exceto durante a época de acasalamento. Suínos jovens mostram sinais comportamentais e fisiológicos de estresse quando alojados em completo isolamento .

A relação precisa entre o tamanho do grupo e o desempenho dos suínos não é previsível nem clara. Suínos em crescimento são comumente encontrados em grupos de 2 a 30 leitões.

Em grupos, o nível de estresse social (luta) é alto e a produtividade pode diminuir, mas uma vez que o *status* social é estabelecido, o grupo muitas vezes torna-se relativamente estável. Em alguns casos, suínos adultos alojados individualmente podem experimentar menos estresse do que suínos em crescimento. As pesquisas que se propõem a abrigar suínos individualmente devem ser justificadas e aprovadas pela CEUA.

6. Procediemntos de manejo

6.1. Sistemas de produção de suínos

Estas diretrizes podem ser aplicadas quando da criação e produção de suínos para pesquisas. As diretrizes de Boas Práticas de Produção de Suínos (BPPS) aqui descritas tem como objetivo enfatizar a busca de uma produtividade que torne a exploração de suíno economicamente viável, sem se descuidar da segurança do produto, da preservação do ambiente, do bem-estar animal e dos princípios da responsabilidade social vinculados aos fatores de produção.

As BPPS podem beneficiar os sistemas de produção de suínos de ciclo completo (CC), da qual realiza todas as etapas da produção de suínos, as Unidades de Produção de Leitões (UPL), que produz leitões até a saída da creche, e a Unidade de Terminação (UT), que recebe os leitões de uma UPL e executa as fases de crescimento e de terminação, ou mesmo os sistemas ainda mais especializados, como são os crechários (sistemas especializados para recria dos leitões envolvendo apenas a fase crítica que vai desde o desmame até os leitões alcançarem 22 kg). O sistema desma-
ma-terminação (*wean-to-finish*) engloba a produção de suínos desde o desmame até a terminação, os quais seguem dentro de um mesmo grupo de suínos do desmame ao abate. Este sistema tem por objetivos a redução da mistura de lotes dos suínos, o transporte, otimização das instalações e mão de obra, fluxo de produção simplificado, menor consumo de água e produção de dejetos.

6.2. Manejo de alojamento em grupos

No caso dos sistemas de alojamento em grupo, grande parte da agressão e da disputa associada com o alojamento em grupo pode ser influenciada pelo método de alimentação, *status* social, espaço por animal, tamanho do grupo, genética e procedimentos de manejo. Assim, alguns dos muitos fatores que devem ser considerados na concepção e implementação de sistemas de alojamento em grupo são o tamanho do grupo, o subsídio de espaço, composição do grupo (estático vs. dinâmico), tipo de dieta e método de fornecimento da alimentação, genética, e temperamento dos animais.

O alojamento em grupo pode ser confinado ou ao ar livre. Tipos de piso podem ser sólidos ou ripados, com ou

sem material de cama. Sistemas de alojamento em grupo diferem em termos de alimentação, manejo de grupo e tipo de piso.

As interações sociais são facilitadas quando os animais são mantidos em grupos, assim, os grupos devem ser manejados para reduzir o estresse social. O comportamento agressivo em suínos é comum e ferimentos graves podem resultar se os suínos forem deixados sozinhos. A interação social na baia é influenciada pelo número de animais por baia, espaço por animal, a variação no escore corporal, a duração do tempo juntos e, mais importante, o método de alimentação. Quando o grupo é alimentado com ração diária restrita, a disputa pela alimentação pode ser intensa e, sem a intervenção do pessoal ou sistema físico, os animais agressivos comem demais e os subordinados ingerem quantidades inadequadas de alimento. Vários sistemas de alimentação e sistemas de manejo podem ser usados para minimizar a agressividade das porcas durante a alimentação. Sistemas de alojamento em grupo incluem, mas não estão limitados, comedouros individuais, alimentação lenta, e os sistemas de alimentação eletrônicos. Uma alternativa é uma baia equipada com gaiolas de alimentação individuais usadas apenas na hora da alimentação.

6.3. Sistema de alojamento das matrizes na gestação

Existem dois esquemas de gestão para manejo de grupos estáticos e dinâmicos. Quando as porcas são mantidas em pequenos grupos ou grupos de até 35 ou 40 porcas, elas devem ser mantidas como grupo estático (porcas na mesma fase de produção), enquanto grupos de 80 a 200 porcas podem ser mantidos como grupo dinâmico (porcas entram e deixam o grupo a cada semana).

Na produção de suínos, podemos utilizar os seguintes sistemas de alojamento das matrizes na gestação:

→ **Sistema Intensivo de Suínos Criados ao Ar livre - SISCAL:** este sistema se caracteriza em manter as matrizes suínas durante as fases reprodutivas (gestação e lactação) em piquetes com boa cobertura vegetal. Este sistema tem como vantagem a redução do custo de implantação, porém os índices de produtividade deste sistema são inferiores ao sistema tradicional.

→ **Sistema de alojamento de matrizes em cela:** este sistema se caracteriza por manter as matrizes suínas em celas individuais durante todo o período de gestação e deve ser evitado sempre que possível. Este foi utilizado na produção de suínos nas últimas décadas em função do menor custo das instalações, contudo neste sistema há comprometimento do bem-estar das matrizes.

→ **Sistema de alojamento misto de matrizes:** neste sistema as matrizes são alojadas em dois ambientes distintos, ou seja, logo após o desmame as matrizes são alojadas em celas de gestação, onde permanecem até os 35 dias de gestação e, posteriormente, são transferidas para as baias coletivas, onde permanecem até sete dias antes do parto.

→ **Sistema cobre solta:** este sistema se caracteriza por manter as matrizes suínas em celas de gestação no período de desmame a cobertura e, posteriormente, as matrizes são alojadas em baias coletivas, nas quais permanecem até sete dias antes do parto.

6.4. Procedimentos de manejo no intervalo desmame-cio

→ Agrupar as porcas desmamadas em lotes de cinco a dez porcas, em baias ou em boxes individuais de pré-cobrição, localizadas próximas às baias dos machos;

→ Manter um espaço de 3 m² por porca;

→ Utilizar métodos para reduzir as agressões, tais como: agrupar as porcas por tamanho e lavá-las com água e creolina; introduzir macho junto com as porcas por um ou dois dias e reduzir o estresse;

→ Estimular o cio das porcas no mínimo duas vezes ao dia, com intervalo mínimo de 8 horas, colocando-as em contato direto com o macho;

→ Fornecer ração de lactação à vontade, do desmame até a cobrição;

→ Dispensar atenção especial para as porcas que demorarem mais de 6 dias para manifestar o cio após o desmame.

As fêmeas com intervalo desmame–cio (IDC) maior do que 6 dias costumam ser menos férteis, manifestando estro de menor duração em horas e, em consequência, ovulam mais precocemente.

6.5. Cobrição e gestação

Adotar medidas para que a cobrição seja praticada no momento adequado, para que o ambiente em que são mantidas as fêmeas esteja limpo e bem arejado, e para que lhes seja fornecida alimentação de qualidade e em quan-

tidade adequadas, o que contribui para o aumento da produtividade do rebanho e economia do sistema de produção.

→ Manejar as instalações da cobertura e da gestação, segundo o sistema de uso contínuo;

→ Realizar limpezas diárias com cuidadosa raspagem e varredura das baias;

→ Manter a temperatura interna da instalação na faixa de 16 a 22°C, por meio de correto manejo de janelões, cortinas, aspersores ou ventiladores e das portas e forros das salas, controlando com termômetro instalado na parte central da instalação, a uma altura aproximada de 1,50 m, para facilitar a leitura;

→ Realizar as cobrições em baias específicas com piso adequado. Pode-se utilizar cobertura de 20 cm de maravalha sobre o piso ou alternativas que evitem a abrasividade e o tornem não escorregadio;

→ Conduzir as fêmeas e os machos, com o auxílio de tábuas de manejo, para a baia de cobertura, evitando qualquer procedimento passível de causar estresse;

→ Realizar as cobrições sempre após o fornecimento de ração (arraçoamento) aos animais e nas horas mais frescas do dia, no início e no fim da jornada de trabalho;

→ Realizar a cobertura das leitoas no terceiro ou no quarto cio, com idade mínima de 7 meses e 135 a 140 kg de peso;

→ Realizar a cobertura das porcas de acordo com a recomendação baseada no intervalo entre o desmame e a ocorrência do cio;

→ Antes da cobertura deve-se proceder a adequada limpeza do posterior das porcas;

→ Realizar a inseminação artificial na presença do macho, com duração mínima de 4 minutos, evitando que seja forçada a entrada do sêmen no interior do trato reprodutivo da fêmea;

→ Adotar duas montas ou inseminações por leitoa ou porca, mantendo um intervalo de 24 horas entre elas. A porca com intervalo desmame-cio de até 4 dias pode-se realizar uma terceira cobertura 12 a 24 horas após a segunda;

→ Alojamento das fêmeas, preferencialmente, em gaiolas ou baias individuais após a cobertura e, no caso de alojamento coletivo, mantê-las no mesmo grupo de cobertura. O manejo da cobertura e os cuidados durante a gestação têm influência decisiva na produção de leitões, pois nessas fases ocorrem a fecundação dos óvulos e o desenvolvimento e a fixação dos embriões no útero;

→ Manter as fêmeas em ambiente calmo e com o mínimo de movimento possível, durante os 30 primeiros dias de gestação;

→ Alimentar as fêmeas gestantes em duas refeições diárias, de acordo com a fase de gestação. Em geral, for-

necer às fêmeas 2,0 kg/dia de ração de gestação até os 85 dias após a cobertura e 3,0 kg/dia dos 86 dias de gestação até transferência para a maternidade;

→ Para o controle das infecções urinárias, fornecer mensalmente a fêmea ração de gestação contendo 3,0 kg de acidificante por tonelada, durante 10 dias consecutivos;

→ Fornecer água à vontade, de boa qualidade e com temperatura máxima de 20°C às fêmeas, estimulando o consumo;

→ Aplicar as vacinas recomendadas para a fase de gestação.

Descartar as fêmeas que apresentarem qualquer uma das seguintes ocorrências:

→ Ausência de cio (anestro) em leitoas que não entraram na puberdade nos prazos previstos para o lote durante o período de indução com o macho;

→ Danos severos nos aprumos;

→ Duas repetições seguidas de cio;

→ Dificuldades no parto;

→ Vulva infantil (leitoas);

→ Qualquer ocorrência de doença;

→ Baixa produtividade em pelo menos duas partições;

Transferir as fêmeas para a maternidade 7 dias antes do parto previsto. Recomenda-se a higienização das mesmas antes da transferência para a maternidade. Evitar situações de estresse, sempre utilizando tábua de manejo e realizando esta tarefa em horários de temperatura mais amena.

6.6. Parto e lactação

O parto e a lactação são as fases mais críticas da produção de suínos, portanto, todos os esforços dedicados nas fases anteriores podem ser perdidos se atenção e cuidado especiais não forem dedicados aos recém-nascidos. Por melhor que seja o ambiente fornecido aos leitões após o parto, nunca será melhor do que aquele oferecido pelo útero da mãe. Na maternidade, portanto, é onde se encontra um verdadeiro desafio para garantir bons resultados. A seguir

são descritos os principais pontos de manejo que devem ser seguidos nesta fase de criação.

→ Se for necessário realizar qualquer procedimento com potencial de gerar dor como: corte da cauda, desgastes dos dentes, castração cirúrgica sem anestesia e identificação dos suínos por sistema de mensagem, deve ser utilizada anestesia;

*** A realização destes procedimentos de manejo somente deve ocorrer após avaliação e aprovação do técnico responsável pelo sistema de produção de suínos.**

→ Manejar as salas da maternidade segundo o sistema “todos dentro, todos fora”, ou seja, entrada e saída de lotes fechados de porcas, e proporcionar o vazio sanitário considerando o planejamento de uso das instalações;

→ Alojamento das porcas na maternidade cerca de sete dias antes da data prevista do parto (considerar a data média de previsão de parto do lote);

→ As salas de maternidade devem fornecer dois ambientes distintos: para as porcas, manter as salas com temperatura interna o mais próximo possível de 18°C, usando como referência um termômetro localizado ao centro da sala; para os leitões, os escamoteadores ou pisos aquecidos devem ter temperatura próxima de 34,0°C na primeira semana, reduzindo-se 2,0°C por semana até o desmame, a qual deve ser controlada por meio de termostato instalado no interior de um escamoteador em cada sala;

→ Certificar-se de que todos os equipamentos e produtos necessários para o parto estejam disponíveis e limpos;

→ Fornecer ração de parto, contendo 3,0 a 5,0 kg/ tonelada de sulfato de magnésio (sal amargo) e um antibiótico de largo espectro, a partir do alojamento das porcas na maternidade até cinco dias após o parto;

→ Logo que iniciar o parto, higienizar o úbere e a região posterior da porca com pano umedecido em solução desinfetante, antes de colocar os leitões para mamar, como medida preventiva para diarreia dos leitões;

→ No dia do parto, não fornecer ração para as porcas, deixando apenas água disponível. No dia seguinte ao parto, fornecer cerca de 2,0 kg de ração e aumentar gradativamente até o terceiro. A partir daí, fornecer ração à vontade;

→ Se as fêmeas não se alimentarem no dia seguinte ao parto, medir a temperatura retal. Se apresentar temperatura acima de 39,8°C medicá-las sob orientação do médico veterinário responsável;

→ Normalmente não se deve interferir no parto, a não ser quando a fêmea não conseguir expulsar os leitões.

Nesse caso, deve-se introduzir no canal vaginal uma mão enluvada para exploração e, caso necessário, retirar os leitões com cuidado. Na hipótese de não ter leitão no canal e a porca não apresentar contração uterina, aplicar de 10 a 15 UI de ocitocina;

→ Atenção especial deve ser dada aos recém-nascidos, limpando e secando as narinas e a boca, massageando a região lombar e fazendo-os mamar o colostro. O leitão que nasce com o cordão umbilical curto amarrá-lo imediatamente após o nascimento, enquanto que os demais aguardar 15 a 20 minutos para reduzir a possibilidade de sangramento. Após o corte do cordão umbilical, é importante fazer a desinfecção mergulhando-o em iodo glicerinado num frasco de plástico de boca larga. Porém, o mais importante durante o parto é auxiliar os leitões nas primeiras mamadas. Quanto mais colostro os leitões ingerirem nas primeiras horas de vida, maior será a proteção contra doenças e a chance de sobrevivência. Jamais permitir o resfriamento dos leitões nos dias frios, colocando aquecimento extra, se necessário. O leitão que sofre resfriamento reduz a ingestão de colostro e facilmente torna-se vítima de esmagamento ou inanição;

→ Logo após o parto, recolher a placenta e os leitões mortos, destinando-os segundo as normas vigentes;

→ Dar atenção especial aos leitões mais leves e aos que nasceram por último, principalmente quanto à ingestão de colostro, mantendo-os bem aquecidos para que não sofram resfriamento;

→ Realizar os seguintes procedimentos nos leitões 12 a 24 horas após o nascimento: desgastar os dentes com limas apropriadas, cortar/cauterizar cerca de 50% da cauda e, caso necessário, pesar e identificá-los;

→ Deve-se evitar a identificação dos suínos pelo sistema de mensagem, dando-se preferência à utilização de brinco ou tatuagem;

→ No segundo ou terceiro dia de vida, aplicar 200mg de ferro dextrano;

→ As enxertias de leitões podem ser feitas para homogeneizar o peso e/ou o número de leitões por leitegada. Devem ser feitas até o segundo dia de vida e se limitar a no máximo 2 leitões por leitegada. Normalmente seleciona-se uma porca com bom aparelho mamário, e não primípara, para amamentar os leitões mais leves de um lote. Nos leitões dessa leitegada orientar as mamadas por dois ou três dias, fechando-os nos escamoteadores e soltando-os para mamar a cada hora. Geralmente retira-se um ou dois leitões das porcas que possuem leitões leves, trocando-os com leitões mais pesados;

→ A enxertia de leitões mais velhos, com baixo desenvolvimento, em outras porcas até o segundo dia do parto, pode ser feito, porém, somente entre leitegadas do mesmo lote (mesma sala);

→ Em maternidade com piso compacto, usar uma camada de maravalha na baia ou cela de parição, pelo menos até uma semana após o parto, para propiciar conforto aos leitões, evitar lesões nos joelhos e facilitar a higienização da baia;

→ Cuidar para que as baias e, principalmente, os escamoteadores, permaneçam sempre limpos e secos. Se os escamoteadores não possuírem piso aquecido, manter permanentemente espessa camada de cama (maravalha) ou estrado de madeira;

→ Na maternidade, o auxílio para que os leitões mamem suficiente quantidade de colostro é essencial para evitar mortes por esmagamento ou inanição e para prevenção de doenças;

→ Limpar as salas de maternidade com pá e vassoura, no mínimo duas vezes ao dia. Recomenda-se material de limpeza exclusivo por sala;

→ Fornecer ração pré-inicial aos leitões, em comedouro próprio, a partir do sétimo dia de vida, cuidando para que não fique ração úmida ou suja no comedouro;

→ Durante a lactação, vacinar as porcas, de acordo com o programa de vacinação estabelecido;

→ Desmamar os leitões com idade média superior a 24 dias de uma única vez, e sempre no mesmo dia da semana (quinta-feira), seguindo as datas do fluxo de produção;

→ Caso necessário, pesar os leitões ao desmame, e transferí-los para a creche;

→ No desmame, reunir os leitões com baixo desenvolvimento e colocá-los em uma porca desmamada que será eliminada do plantel (mãe de leite para refugio); e

→ Fazer indução do parto para as fêmeas que não parirem até um dia após a previsão do parto.

6.7. Creche

A transferência dos leitões da maternidade para a creche (desmame) representa um período crítico para os leitões, pois eles deixam a companhia da mãe e de receber leite materno, passando a se alimentar exclusivamente de ração, são transferidos para um novo ambiente e, geralmente, são reagrupados formando um novo grupo social. Por essa razão, os cuidados dedicados aos leitões, principalmente nos primeiros dias de creche, são fundamentais para evitar diarreia, queda no desempenho e mortes, conforme segue:

→ Manejar as salas da creche segundo o sistema “todos dentro, todos fora”, ou seja, com a entrada e a saída de lotes fechados de leitões e realizar vazio sanitário entre cada lote. A sala onde os leitões serão alojados deve estar limpa, desinfetada, com temperatura controlada (26°C) e livre de correntes de ar;

→ Alojjar os leitões na creche no dia do desmame, formando grupos de acordo com a idade, sexo e peso. Caso as baias de creche permitam, manter a mesma família de leitões da maternidade em cada baia;

→ Fornecer espaço suficiente para os leitões, conforme o tipo de baia (3 leitões/m² em baias suspensas e 2,5 leitão/m² nas demais baias). Caso a creche seja de piso compacto de alvenaria, recomenda-se proporcionar cama de maravalha pelo menos nos primeiros 14 dias de alojamento;

→ Manter a temperatura interna na sala próxima de 26°C durante os primeiros 14 dias e próxima de 24°C até a saída dos leitões da creche;

→ Fornecer ração à vontade aos leitões;

→ *Ração pré-inicial 1*: do desmame até os 35 dias de idade;

→ *Ração pré-inicial 2*: dos 36 até os 45 dias de idade;

→ *Ração inicial*: dos 45 dias de idade até a saída da creche;

→ Fornecer ração diariamente, não deixando ração úmida, velha ou estragada nos comedouros;

→ Dispor de bebedouros de fácil acesso para os leitões, com altura, vazão e pressão corretamente reguladas e água potável;

→ Se necessário, vacinar os leitões, de acordo com a recomendação do programa;

Inspecionar cada sala de creche pelo menos três vezes pela manhã e três vezes à tarde, para observar as condições dos leitões, dos bebedouros, dos comedouros, da ração e da temperatura ambiente, tomando cuidado para não assustar os leitões;

→ Nas creches com piso compacto, limpar as baias e corredores das salas com pá e vassoura diariamente, pelo menos duas vezes ao dia;

→ Programar ações corretivas imediatamente, quando for constatada qualquer irregularidade, especialmente problemas sanitários, e, caso necessário, transferir os leitões doentes para a baia enfermária;

→ Registrar em cada sala as medicações usadas individualmente ou em grupos de animais;

→ Pesar e transferir para as baias de crescimento os leitões com idade entre 56 e 63 dias;

→ Prever uma caixa d'água por sala para medicamento/tratamentos coletivos, caso haja necessidade;

→ Sempre manter as cortinas ou janelões com alguma abertura na parte superior, para manter ventilação e higiene na sala.

Grande parte do desempenho dos leitões na creche depende da quantidade de água e ração que eles consomem nos primeiros cinco dias após o desmame. Por esta razão, o conforto ambiental e a facilidade de acesso à água e ao alimento de boa qualidade são fundamentais.

6.8. Crescimento e terminação

O sucesso nas fases de crescimento e de terminação depende de um bom desempenho na maternidade e na creche. Nesta fase, deve-se realizar os seguintes procedimentos:

→ Manejar as salas de crescimento e de terminação segundo o sistema “todos dentro, todos fora”, ou seja, com a entrada e a saída de lotes fechados de leitões de mesma idade;

→ Alojjar os leitões nas baias de crescimento e de terminação no dia da saída da creche, mantendo os mesmos grupos formados na creche, ou refazendo os lotes por tamanho e sexo;

→ Utilizar a lotação mínima de 1 animal/m²;

→ Manter a temperatura das salas entre 16°C e 18°C, de acordo com a fase de desenvolvimento dos animais, monitorando-a com o uso de termômetro;

→ Alimentar seguindo o protocolo de cada programa alimentar;

→ Dispor de bebedouros de fácil acesso para os animais, com altura, vazão e pressão corretamente reguladas, atendendo a especificação do fabricante;

→ Inspecionar cada sala de crescimento e de terminação pelo menos duas vezes pela manhã e duas vezes à tarde, para observar as condições dos animais, dos bebedouros, dos comedouros, da ração e da temperatura ambiente;

→ Limpar duas vezes ao dia as baias de crescimento e de terminação com pá e vassoura;

→ Esvaziar e lavar, semanalmente, as calhas coletoras de dejetos. Depois de lavá-las manter, no fundo, uma lâmina de 5 cm de água, de preferência reciclada;

→ Implementar ações corretivas imediatamente, quando for constatada qualquer irregularidade, especialmente

problemas sanitários; e

→ Registrar as medicações usadas individualmente ou em grupos de animais, respeitando os períodos de carência dos medicamentos.

6.9. Manejo sanitário

A prevenção de doenças em suínos deve ser feita baseada em biossegurança, uso correto de vacinas e, principalmente, por um planejamento de produção que privilegie o bem-estar animal e evite fatores de risco. Em suínos, as doenças que afetam os animais podem ser alocadas em dois grandes grupos:

6.9.1 Doenças epizoóticas

São doenças infecciosas causadas por agentes específicos que se caracterizam por apresentar alta contagiosidade e altas taxas de morbidade e mortalidade, a exemplo da peste suína, doença de Aujeszky e sarna sarcóptica. Para prevenção dessas doenças as ações devem ser direcionadas contra o agente causador.

6.9.2. Doenças multifatoriais

São doenças de etiologia complexa que tendem a persistir nos rebanhos de forma enzoótica, afetando muitos animais, com baixa taxa de mortalidade. Neste grupo, citam-se como exemplo a circovirose suína, a cistite das porcas, a coccidiose, as pneumonias crônicas e a síndrome da diarreia pós desmame. As ações para preveni-las devem ser direcionadas tanto para os agentes infecciosos como para as BPPS. Para isto, deve-se fazer uso de vacinas, instalações e equipamentos adequados, utilizar boas práticas de manejo e higiene para evitar os fatores de risco. O objetivo de tais medidas é manter estas doenças num nível de ocorrência baixo, para que não afetem o bem-estar animal.

6.10. Uso de vacinas

A decisão de quais vacinas devem ser usadas depende do acompanhamento médico veterinário.

Estas são instrumentos de prevenção. Isso não quer dizer que com seu uso, o animal vacinado estará totalmente protegido. Atualmente, existem vacinas no mercado para a maioria das doenças infecciosas dos suínos.

De modo geral, recomendam-se o uso de vacinas nas porcas para proteger as leitegadas contra a colibacilose neonatal, rinite atrofica e pneumonia enzoótica no seguinte esquema:

→ Leitoas de reposição devem receber duas doses durante a primeira gestação, sendo a 1ª entre 60 a 70 dias e a 2ª entre 90 a 100 dias de gestação; nos partos subsequentes basta aplicar somente a 2ª dose entre 90 a 100 dias de gestação. Outra opção é aplicar a 1ª dose da vacina com 10 a 15 dias após a introdução da leitoa no rebanho e a 2ª entre 90 a 100 dias de gestação;

→ Também recomenda-se o uso da vacina contra a parvovirose para proteger os embriões e fetos durante a fase de gestação, no seguinte esquema:

→ **Leitoas:** duas doses a partir dos 160 dias de idade de forma que a segunda dose seja aplicada cerca de 15 dias antes da cobertura;

→ **Porcas:** uma dose 10 dias após o parto;

→ Os machos normalmente são vacinados contra a parvovirose e rinite atrofica uma vez a cada 6 meses;

→ Outras vacinas, atualmente disponíveis no mercado, contra erisipela, leptospirose, pleuropneumonia suínas e mesmo vacinas autógenas, podem ser usadas, mas sua utilização depende de uma avaliação feita pelo médico veterinário responsável;

→ Acredita-se, porém, que a aplicação de muitas vacinas não seja necessária em criações pequenas que privilegiam o bem-estar, devido à baixa pressão infectiva.

6.10.1. Recomendações:

→ Adotar programa mínimo de aplicação de vacinas em cada fase de vida dos animais, para a prevenção das doenças mais importantes, respeitando as instruções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para doenças específicas, como é o caso da vacina contra a peste suína clássica e a doença de Aujeszky, que poderão ser

utilizadas apenas com a permissão do órgão oficial de defesa sanitária;

Conservar as vacinas, mantendo-as em geladeira com temperatura entre 4°C e 8°C, ou conforme a recomendação dos fabricantes.

→ Na aplicação das vacinas, seguir os seguintes procedimentos:

→ Conter os animais para ter segurança do trabalho realizado;

→ Usar uma caixa de isopor com gelo, para manter os frascos de vacina refrigerados;

→ Usar uma agulha para retirar a vacina do frasco e outra para aplicar a vacina nos animais;

→ Desinfetar o local antes da aplicação;

→ Usar agulhas adequadas para cada tipo de animal e para cada via de aplicação (intramuscular ou subcutânea), de acordo com recomendação do fabricante;

→ Desinfetar a tampa de frascos contendo sobras de vacina e retorná-los imediatamente para a geladeira após o uso;

→ Aplicar as vacinas com calma, seguindo as orientações técnicas, para evitar falhas na vacinação e a formação de abscessos no local da aplicação.

6.11. Práticas que privilegiam o bem-estar animal e o controle dos fatores de risco

Estudos ecopatológicos foram realizados com o objetivo de identificar fatores de risco que favorecem a ocorrência de doenças multifatoriais nas diferentes fases de criação dos suínos, bem como estabelecer medidas para corrigi-los ou evitá-los.

Fator de risco representa uma característica do indivíduo ou do seu ambiente que, quando presente, aumenta a probabilidade de aparecimento e/ou agravamento de doenças de rebanho ou outros problemas patológicos. No Brasil, foram identificados fatores de risco na maternidade, associados à ocorrência de diarreia, mortalidade e baixo desempenho dos leitões; na creche, associados à diarreia pós-desmame e vício de sucção; no crescimento e terminação, associados às doenças respiratórias, às micobacterioses e às artrites; e, na reprodução, associados ao tamanho das leitegadas e à infecção pós-parto. Os resultados obtidos nesses estudos, somados àqueles obtidos em outros países, formam uma base de conhecimento para a produção de suínos, evitando-se os fatores de risco e, conseqüentemente,

menor uso de medicamentos.

A seguir serão relacionados os principais fatores de risco ou procedimentos, por fase de produção, que devem ser considerados no controle de doenças multifatoriais, bem como manejos para proporcionar maior conforto aos animais.

6.11.1. Maternidade

O aspecto mais importante na produção de suínos na maternidade é a mortalidade de leitões, cujas causas principais são o esmagamento e a inanição. Além disso, as diarréias, principalmente a colibacilose neonatal e coccidiose, são importantes, pois prejudicam o desenvolvimento dos leitões e, às vezes, também provocam mortes, como é o caso da colibacilose. Os principais fatores a serem observados para reduzir ou evitar a ocorrência desses problemas são:

- Uso de programa de vacinação contra a colibacilose neonatal nas matrizes;
- Transferência da porca para a maternidade 7 dias antes do parto;
- Quando necessário, e justificado tecnicamente, o uso de celas parideiras com área mínima de 3,6 a 4,0 m²;
- Uso de escamoteador com fonte de aquecimento para os leitões (32 a 26°C);
- Instalações bem ventiladas com no mínimo 20% de aberturas laterais, onde deverão ser instalados cortinados ou janelões para evitar correntes de ar no frio;
- Sala de maternidade com forro (madeira ou cortina) para proporcionar melhor conforto térmico (18 a 22°C), reduzindo-se a amplitude térmica na sala;
- Uso de desinfecções sistemáticas da sala com vazão sanitário entre cada lote;
- Assistir aos partos proporcionando os cuidados aos recém-nascidos e, principalmente, orientando os leitões nas mamadas durante os dois primeiros dias de vida;
- Proporcionar ambiente limpo e desinfetado nos primeiros dias após o nascimento, limpando as baias 3 vezes ao dia;
- Alimentar bem as porcas durante a gestação para que estejam em bom estado corporal por ocasião do parto e produzam leitões com peso médio maior que 1,5 kg; e fornecer ração à vontade durante a fase de lactação;
- Fornecer água à vontade para a porca, utilizando bebedouros de reprodutor com vazão maior que 3 litros por minuto.

Outros fatores de risco associados à ocorrência de natimortalidade são:

- Porcas velhas, com seis ou mais partos;
- Leitegadas grandes, com 13 ou mais leitões;
- Partos prolongados, com mais de seis horas de duração.

6.11.2. Creche

Nesta fase, as diarreias, a doença do edema e a infecção por estreptococos são os principais problemas sanitários. Muitos fatores de risco que favorecem a ocorrência dessas patologias já foram identificados. Para evitá-los sugere-se:

- Em região com relevo acentuado construir a creche na encosta norte ou topo de morro;
- Produção em lotes com vazio sanitário de 7 dias para granjas médias e grandes;
- Desmamar os leitões com peso mínimo de 7,3 kg e com idade não inferior a 25 dias;
- Evitar fatores de estresse como mistura de animais, variações térmicas superiores a 6°C, correntes de ar frio, manter boa ventilação no interior dos galpões pelo manejo correto das aberturas;
- Evitar a superlotação das baias e das salas: máximo 2,5 leitões/m² (baia com piso compacto) e 3,0 leitões/m² (baias suspensas e com piso ripado) e no mínimo de 1,4m³ de ar/leitão;
- Incentivar o consumo de ração durante o período de aleitamento, a partir dos 7 dias de idade;
- Usar dieta adequada para a idade de desmame dos leitões. Lembrar que somente a partir dos 42 dias de idade é que os leitões poderão receber ração contendo apenas milho, farelo de soja e núcleo;
- Usar bebedouros adequados para leitões de creche (tipo concha ou chupeta/bite ball com regulagem de altura), de fácil acesso, na altura correta e com vazão de 1,0 a 1,5 litros/minuto).

Com o aparecimento de síndromes distribuídas mundialmente, afetando a saúde dos leitões a partir do desmame, as práticas de manejo na fase de creche vêm sofrendo incrementos destinados ao controle ou redução de seus efeitos. Esse é o caso da Síndrome Multissistêmica do Definhamento e do vício de sucção.

6.11.3. Crescimento e terminação

Os problemas sanitários mais importantes nessas fases são as doenças respiratórias (rinite atrófica e pneumonias) e as infecções por estreptococos, mas as doenças entéricas como a ileíte e as colites também merecem atenção.

Para prevenir essas doenças é necessário observar as seguintes recomendações:

- Em produtores que só terminam os suínos, adquirir os leitões de um único fornecedor;
- Realizar vazio sanitário de 7 dias entre lotes, com lavagem e desinfecção das instalações;
- Não usar galpões com capacidade para abrigar mais de 500 suínos;
- Usar espaço de no mínimo $1\text{m}^2/\text{suíno}$ na terminação;
- Manter boa ventilação no interior dos galpões, mesmo nos dias frios, mas evitar variações térmicas superiores a $6\text{ }^\circ\text{C}$ e correntes de ar frio sobre os animais, por meio do correto manejo das cortinas ou janelões; isso é importante para reduzir a quantidade de poeira e de microorganismos em suspensão;
- Evitar temperaturas inferiores a 15°C na fase de crescimento;
- Proporcionar no mínimo 3m^3 de ar/suíno alojado;
- Realizar controle integrado de moscas na propriedade.

6.11.4. Reprodução

Os principais problemas sanitários que afetam a reprodução da fêmea suína são as infecções inespecíficas do aparelho genital e urinário e a parvovirose. Fatores importantes a serem observados na prevenção dessas infecções e para aumentar o tamanho das leitegadas são:

- Para formação do plantel e reposição de porcas, escolher leitoas filhas de porcas cuja média de nascidos totais/parto seja de pelo menos 11 leitões;
- Utilizar um bom programa de vacina contra a parvovirose;
- Realizar a cobertura em local adequado (baia com espessa camada de cama ou areia); e com tempo de cobertura ou inseminação artificial superior a 4 minutos;
- Evitar temperaturas acima de 28°C no primeiro mês após a cobertura;
- Manter as porcas bem nutridas com escore visual de 3 a 4 antes do parto e de 2 a 3 no desmame;

- Manter taxa de reposição anual de fêmeas 40% para estimular a imunidade de rebanho, mas com o cuidado de não manter porcas improdutivas no plantel para não comprometer a produtividade geral do rebanho;
- Evitar brigas entre as porcas no pós-desmame: usar celas individuais ou criar áreas de fuga;
- Evitar infecções no aparelho geniturinário;
- Manter boa higiene das porcas e machos no período de cio e cobertura;
- Limpar as baias 3 vezes ao dia onde as porcas são alojadas após o desmame;
- Manter as porcas com bons aprumos e sem lesões de casco;
- Cuidado especial deve ser dado ao sistema de fornecimento de água para as porcas, fornecendo bebedouros adequados, vazão de 3 litros/ minuto, com canalização não exposta ao sol.

Um dos problemas que interferem diretamente no desempenho e sobrevivência dos leitões recém-nascidos é a saúde da porca. Os principais fatores de risco identificados que favorecem a ocorrência de problemas com a porca no parto e puerpério são:

- Densidade da urina maior que 1012, indicando baixa ingestão de água;
- Porcas excessivamente gordas, com estado nutricional visual maior ou igual a 4 (escala de 1 a 5) ou espessura de toucinho maior 19 mm;
- Intervalo entre a transferência da porca da gestação para maternidade e o parto menor ou igual a 4 dias.

6.12. Sala hospital

Sala hospital é um local apropriado e separado das outras instalações, destinada a tratar os animais doentes. Os suínos doentes da creche e/ou crescimento-terminação e/ou da gestação coletiva, quando deixados na mesma baia, sofrem competição e são intimidados pelos companheiros. Nessas condições, eles têm poucas chances de recuperação, mesmo que sejam medicados individualmente. Também, suínos doentes sob estresse que sofrem na baia de origem, potencialmente excretam mais agentes patogênicos, facilitando a disseminação da doença entre os companheiros de baia. A separação destes animais numa sala hospital, com menor densidade animal e ambiente mais confortável, além de propiciar maior chance de recuperação, auxilia na prevenção e disseminação da doença no rebanho.

A sala hospital deve fazer parte das instalações e pode ser construída no interior da cerca periférica de isola-

mento, porém respeitando uma distância de 10m. O local dessa instalação deve ser seco, com boa insolação e do lado oposto aos ventos predominantes. Opcionalmente, a sala hospital pode ser anexa à outra instalação, porém com parede cega e área de circulação independente.

A sala hospital pode permitir o alojamento de três categorias de suínos: leitões de creche, suínos de crescimento-terminação e, opcionalmente, reprodutores. Por isso, deve proporcionar três tipos de baias: algumas pequenas para tratamento de suínos doentes com até cinco meses de idade (com capacidade para dois a quatro suínos cada), outras maiores para manutenção dos animais recuperados (com capacidade para seis a oito suíno-cada) e, caso necessário, baias para alojamento de reprodutores. Nas baias menores, fornecer espaço de 1,5m²/animal; nas maiores, 1,2m²/ animal; e para reprodutores, 3,0m² /animal.

Essencialmente, a sala hospital deve ser o local mais higiênico e confortável da granja, ser livre de correntes de ar, ter ambiente térmico que satisfaça as exigências dos animais, ter boa higiene, permitir limpeza adequada e desinfecção das baias e fácil acesso dos suínos à água e alimento, porque ali serão alojados animais doentes. A seguir, são listadas algumas recomendações vinculadas às características dessa instalação:

- O piso deve ser bem drenado aquecido ou revestido com espessa camada de maravalha ou em cama sobreposta com 50 cm de altura;
- Instalar uma caixa d'água exclusiva para a sala hospital, para facilitar a adição de medicamento na água dos animais;
- Cada baia deve dispor de um bebedouro e um comedouro de fácil acesso pelos suínos;
- Os comedouros devem permitir o fornecimento de pequenas quantidades de alimento duas vezes ao dia, para não deixar sobras de alimento (preferencialmente não devem ser automáticos ou semi-automáticos).

Nesta instalação, algumas questões de biossegurança devem ser atendidas:

- Uso exclusivo de materiais de limpeza (pás e vassouras);
- Seringas e agulhas para medicações;
- Calçados para o operador;
- Cachimbo para contenção dos suínos (uso somente tolerado quando houver real risco à integridade do manejador e quando tiverem sido esgotadas outras possibilidades de contenção, visto que o uso do cachimbo causa dor aos animais);

→ Recomenda-se a instalação de um sistema de nebulização que permita fazer desinfecções aéreas.

6.12.1. Manejo da sala hospital

Transferir para a sala hospital os suínos com dificuldade de locomoção, lesões, prolapsos, canibalismo, com sinais clínicos de doença e/ou que estão sendo hostilizados ou agredidos pelos companheiros da baia e com limitações para terem acesso à água, ração ou área de descanso.

→ Na verificação de algum suíno doente proceder da seguinte forma:

→ Identificar o animal com bastão marcador, *spray* ou brinco;

→ Examiná-lo cuidadosamente;

→ Tomar a temperatura retal (normal 38,6°C a 39,5°C);

→ Verificar a frequência respiratória com o animal deitado (normal 25 a 30 vezes/minuto numa temperatura ambiental de 20°C);

→ Se necessário, tratá-lo de acordo com protocolo estabelecido pelo médico veterinário responsável;

→ Analisar o ambiente (conforto, competição) e decidir se ele pode ficar na baia ou se é necessário removê-lo para a sala hospital;

→ Inspeccioná-lo duas vezes ao dia, com tomada da temperatura retal e, havendo necessidade, removê-lo para a baia hospital.

Quanto ao manejo na sala hospital sugere-se:

→ Os suínos devem ser examinados duas vezes ao dia;

→ As baias devem estar secas, limpas, quentes e com boa cama no local de descanso;

→ Apenas uma pessoa deve cuidar dessa instalação (preferencialmente a mesma que cuida do crescimento-terminação);

→ A água deve ser limpa e estar disponível em bebedouro adequado;

→ Fornecer ração duas vezes ao dia em pequenas quantidades, após retirar as sobras;

→ Manter sistema de registro das medicações realizadas e dos destinos dos animais tratados nesta sala.

O tempo médio de recuperação de suínos de creche, crescimento e terminação na sala hospital é de quatro dias, mas muitos leitões podem levar de 1 a 3 semanas, dependendo do problema patológico, do estado em que o animal se encontra e, principalmente, do cuidado e tratamento individualizado fornecido pelo produtor. Vale salientar que para o sucesso na recuperação dos suínos doentes na sala hospital, além do ambiente adequado a ser fornecido, é essencial seguir orientações de tratamento medicamentoso correto, orientado por médico veterinário.

→ Para suínos com dificuldade de locomoção, deve-se prever o fornecimento da água diretamente na boca, utilizando garrafa plástica ou mangueira (a hidratação é fundamental na recuperação de suínos doentes);

→ Se necessário, fornecer aquecimento extra e/ ou usar abafadores nas baias para manutenção da temperatura de conforto;

→ Na sala hospital, fazer desinfecções por nebulização da sala (aparelho costal ou nebulizadores automáticos) 2 a 3 vezes por semana e por pulverização sempre que uma baia estiver vazia. Isto é importante para reduzir a contaminação local e reduzir as chances de disseminação do problema para outras instalações da granja.

Os suínos recuperados, dependendo da disponibilidade de baias, podem ser mantidos até o peso de abate (cerca de 100 kg) ou serem comercializados, depois de expirado os períodos de carência dos medicamentos utilizados. Aqueles que não apresentarem melhora clínica em três dias, o tratamento deve ser modificado sob orientação do médico veterinário ou, caso não tenham chance de recuperação, devem imediatamente ser submetidos à eutanásia, sob supervisão de médico veterinário, de acordo com a Diretriz da Prática de Eutanásia do Concea.

A sala hospital não deve ser vista como um local de “*depósito de animais doentes*”, onde os suínos são alojados apenas para serem descartados ou sacrificados, e sim como local apropriado para recuperação de animais doentes. Experiências práticas indicam uma taxa de recuperação que pode chegar até 80%.

6.13. Limpeza e desinfecção

6.13.1. Limpeza

Os procedimentos de limpeza das instalações devem ser entendidos em dois momentos: a limpeza de rotina diária e a limpeza em instalações vazias, no intervalo entre lotes ou período de vazio das instalações (especialmente

criações que adotam o sistema “todos dentro todos fora”).

Os procedimentos de limpeza em instalações vazias podem ser divididos em duas etapas:

→ A limpeza seca, na qual se usam pá e vassoura para remoção das fezes, restos de ração etc., sem umedecer as superfícies das instalações;

→ A limpeza úmida, na qual se umedece as superfícies das instalações com água e, muitas vezes, utilizam-se detergentes para facilitar a remoção de matéria orgânica incrustada.

Cabe destacar que num programa de limpeza e desinfecção, a fase de limpeza “sempre” precede a desinfecção propriamente dita e a qualidade da limpeza, neste caso, é limitante para o sucesso do processo de desinfecção.

Um programa de limpeza e desinfecção em local onde se encontrem suínos é o conjunto de atividades que tem como objetivo eliminar todos os organismos capazes de causar doenças. A limpeza consiste na remoção de resíduos orgânicos brutos que se acumulam nas instalações dos suínos, visando reduzir a carga microbiana no ambiente de criação e minimizar a exposição dos suínos com o excesso de matéria orgânica que pode, potencialmente, veicular patógenos aos animais.

6.13.1.1. Limpeza diária - rotina

Na limpeza de rotina diária, para atender ao objetivo de minimizar a carga microbiana das instalações e reduzir a exposição dos suínos alojados aos patógenos veiculados pela matéria orgânica ou “sujeira”, devem-se atender os seguintes aspectos:

→ *Fluxo*: quando a rotina de limpeza é feita pela mesma pessoa, esta deve obedecer ao fluxo para iniciar a limpeza, no sentido da fase menos contaminada para a mais contaminada: maternidade → creche → crescimento e terminação → gestação;

→ A limpeza seca diária deve ser feita duas a três vezes ao dia em todas as instalações, especialmente nas fases iniciais da criação como maternidade e creche, pois estas fases requerem mais cuidados higiênicos por serem mais susceptíveis às doenças;

→ Esvaziar e limpar com água sob pressão as calhas e fossas existentes;

→ Retirar das instalações qualquer material remanescente de atividades diversas como sacos de ração, serin-

gas, frascos de produtos, restos de cordão usados para amarrar umbigo, papel toalha etc.;

Lavar e desinfetar as botas ou calçados quando for passar de uma instalação (fase da criação) para outra, ou utilizar botas descartáveis;

→ Utilizar utensílios como vassoura, pá e escova exclusivas para cada fase da criação;

→ Limpar as baias, piso, paredes e divisórias, com pá, vassoura e/ou escova, removendo ao máximo o acúmulo de fezes e urina;

→ Limpar os comedouros, retirando os restos de ração antes de arrear novamente;

→ Retirar fezes dos comedouros sempre que for detectado pelo operador;

→ Manter os bebedouros limpos, especialmente modelos tipo cocho ou concha, que favorecem o acúmulo água e de restos de ração favorecendo a manutenção de microrganismos;

→ Nas fases de maternidade e creche, quando se usa maravalha ou outro substrato para conforto térmico e redução de umidade, este material deve ser removido sempre que estiver molhado e sujo, sendo substituído por maravalha nova e seca;

→ Limpar diariamente os corredores e, em caso de ocorrência de doenças, deve-se ser feita a desinfecção.

6.13.1.2. Limpeza em instalações vazias

6.13.1.2.1. Limpeza seca

→ Iniciar a limpeza seca imediatamente após a saída dos animais;

→ Desmontar e retirar os equipamentos móveis e desmontáveis como comedouros e lâmpadas de aquecimento (escamoteador) para local onde possam ser lavadas, desinfetadas e guardadas em local apropriado para que não haja contaminação até o momento de instalá-los novamente;

→ Limpar piso, paredes e divisórias, conforme orientação acima, para remover o máximo de esterco incrustado nas instalações.

6.13.1.2.2. Limpeza úmida

- Esta fase da limpeza deve ser feita logo após a limpeza seca, no mesmo dia da saída dos animais;
- Molhar todas as superfícies internas das instalações para amolecer e soltar a sujeira, utilizando cerca de 1,5 L por m². Após amolecer a sujeira, lavar as instalações com água e vassoura ou com água sob pressão;
- Na fase de limpeza úmida pode-se adicionar um detergente à água;
- Na escolha do detergente o produtor deve considerar a compatibilidade deste com o desinfetante a ser aplicado na fase posterior, pois alguns desinfetantes não são compatíveis com detergentes (ex. fenóis e cresóis não são compatíveis com detergentes não aniônicos);
- O uso de detergente também se aplica à lavagem dos equipamentos móveis, que pode ser realizada durante o período de impregnação;
- Após a limpeza com detergente, enxaguar as instalações com água e deixar secar.

6.13.1.3. Limpeza dos equipamentos

Esta etapa pode ser realizada junto com a limpeza úmida da sala, momento em que as instalações estão molhadas, facilitando assim o trabalho.

- Desmontar os equipamentos e colocá-los em local limpo e com bom escoamento de água;
- Molhar os equipamentos ou colocá-los em um tanque com água e detergente;
- Deixar um tempo em repouso para soltar a sujeira incrustada;
- Escovar e/ou usar água sob pressão até remover toda a sujeira residual;
- Enxaguar os equipamentos com água abundante.

Deixar escorrer e secar em local limpo, protegido de poeira; montar os equipamentos nas salas após a limpeza e desinfecção das instalações.

6.13.1.4. Uso de água sob pressão

Muitas vezes, quando se faz uso de lava jato (água sob pressão), a fase de limpeza seca não é realizada. Neste caso, o processo de limpeza tem início com o uso de água sob pressão fazendo a remoção da sujeira pelo impacto da pressão da água exercida sobre as superfícies e objetos. Quanto à pressão da água, devem-se levar em consideração os seguintes fatores:

a) A pressão do aparelho lava jato: Para lavar pisos e paredes recomenda-se pressão de impacto de 1 a dez bares, e para equipamentos recomenda-se de 0,6 a 1 bar;

b) Ângulo de abertura do jato: Recomenda-se um ângulo de 25° para limpeza de instalações. Quando aumenta o ângulo do jato a pressão de impacto diminui, por isso recomenda-se ângulo de 50 a 80 graus para instalações com animais;

c) Distância entre o bico de saída do jato e a superfície ou objeto a ser lavado: Recomenda-se distância entre 10 a 30 cm. Quanto maior a distância menor será a pressão de impacto;

d) Débito (volume da água/tempo): Para uma boa limpeza, o débito mínimo recomendado é de 400 L/hora e o máximo é de 3000 L/hora. Quando o débito é inferior a 400L/h, o jato apresenta pouca força mecânica e, quando superior a 3000L/h, a força de recuo é dificilmente suportada pelo operador e gera acúmulo de água nas instalações e grande desperdício. Neste aspecto, deve-se observar a capacidade de escoamento da água nas instalações;

e) Temperatura da água: A água quente aumenta a eficiência da limpeza, pois elimina películas de gordura que ficam aderidas às superfícies como pisos e paredes, reduzindo o tempo gasto na limpeza em cerca de 50%, quando comparada ao processo com água fria. A água atinge no máximo 100°C, mas em forma de vapor e sob pressão (jato de vapor) pode atingir 140°C aumentando o poder de penetração, principalmente em rachaduras e rugosidades.

6.13.2. Desinfecção

6.13.2.1. O uso de desinfetantes

Desinfetante: substância química que mata as formas vegetativas de microrganismos patogênicos, mas não necessariamente suas formas esporuladas.

Cuidados pessoais no uso de desinfetantes: Independente do desinfetante a ser usado, a pessoa responsável pela aplicação do produto deve utilizar Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) para evitar possíveis efeitos adversos pela exposição aos produtos químicos.

6.13.2.2 . Lança-chamas ou Vassoura de fogo:

O lança-chamas é um equipamento comercial que produz uma chama de fogo sob pressão, utilizando gás de cozinha como combustível. A utilização do lança-chamas permite efetiva eliminação de bactérias produtoras de esporos, tais como *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani* e parasitas como *Isospora suis*, que produz oocistos esporulados e, ainda, ectoparasitos como *Sarcoptes scabiei* var. *suis*, que é o agente da sarna suína. O uso do lança-chamas é especialmente recomendável quando, na primeira desinfecção tenha sido usado um desinfetante que não atue bem sobre esporos e oocistos de parasitas. Entretanto, deve-se ter em conta que esta prática de desinfecção requer cuidados na aplicação.

6.13.3. Vazio das instalações

Considera-se o período de vazio das instalações (vazio sanitário) o intervalo de tempo em que as instalações ficam vazias após a limpeza e desinfecção. Nesta fase, as instalações devem ficar fechadas, impedindo o acesso de pessoas e animais. Esta é uma prática importante, cujo objetivo é eliminar microrganismos não atingidos pela desinfecção, mas que se tornam sensíveis à ação de agentes físicos naturais. O tempo de vazio das instalações varia de acordo com as fases de criação:

- **Maternidade e creche:** Recomenda-se, no mínimo, cinco dias de vazio;
- **Crescimento e terminação:** Nestas fases recomenda-se, sempre que possível, vazio mais longo do que cinco dias (instalações mais contaminadas, maior tempo de vazio);
- As instalações devem ser mantidas fechadas, impedindo o acesso de pessoas e animais.

6.14. Preparo dos animais para o transporte

6.14.1. Jejum

É recomendado o jejum dos suínos antes do embarque e este é fundamental, pois: **a)** contribui para o bem-estar dos animais no embarque, transporte e desembarque; **b)** contribui para a redução na taxa de mortalidade nesta etapa da produção; **c)** reduz o número de animais que regurgitam durante o transporte; **d)** confere aumento da segurança alimentar, pois previne a liberação e a disseminação de bactérias (principalmente *Salmonella* spp.) com o derramamento do conteúdo intestinal durante o processo de evisceração; **e)** imprime maior velocidade e facilidade no processo de evisceração dos animais; **f)** reduz o volume de dejetos que chega ao frigorífico; **g)** padroniza o peso vivo e, consequentemente, o rendimento de carcaça quando o produtor é remunerado pelo sistema de pagamento por mérito de carcaça e; **h)** contribui na uniformização da qualidade da carne, principalmente pela manipulação da concentração do glicogênio muscular no momento do abate (TARRANT 1991; GUISE *et al.*, 1995 MURRAY *et al.*, 2001; FAUCITANO 2001; PELOSO 2002). As recomendações e exigências de tempo de jejum variam entre autores e países de acordo com o tempo e distância de transporte, e com o material genético.

Em média, no Brasil, é utilizado o tempo de jejum de no mínimo 8 a 12 horas antes do embarque. Dessa maneira, para o planejamento da prática, é necessário que o pesquisador se informe sobre o horário previsto para o embarque dos animais, a fim de garantir o tempo mínimo necessário de restrição alimentar. Já para o cálculo do tempo total de jejum, deve-se somar o tempo de jejum na granja, tempo de embarque, transporte, desembarque e do período de descanso. No Brasil, seguindo a Instrução Normativa nº3/2000, os animais podem permanecer em jejum alimentar durante o manejo pré-abate nas pocilgas de descanso por até 24 horas. Caso contrário, eles devem ser alimentados em quantidades moderadas e a intervalos adequados. Além da importância já comentada acima, o tempo de jejum ainda pode influenciar no comportamento de brigas, perda de peso dos animais, peso do conteúdo estomacal, incidência de úlceras, prejuízos na qualidade de carne.

6.14.2. Embarque

O embarque dos suínos pode ser considerado como um dos pontos críticos do manejo, em função da forte

interação homem-animal em consequência da mudança brusca de ambiente (da retirada dos animais da baia e do embarque destes animais), devido à ausência de mão-de-obra qualificada e de equipamentos apropriados (tábuas de manejo e embarcadores com rampas com menos de 20° de inclinação e da falta de plataforma hidráulica na carroceria dos caminhões).

Com a finalidade de limitar os efeitos negativos do estresse sobre o metabolismo muscular, recomenda-se que essa operação seja realizada com o mínimo de dano possível aos suínos, sem a utilização de choque elétrico, paus e outros utensílios que possam promover estresse e lesões aos animais. Assim, os animais deverão ser retirados das baias em pequenos grupos (dois a três animais) com a maior calma possível, utilizando-se de tábua de manejo, sendo os animais conduzidos diretamente ao embarque, não devem ficar parados no corredor das baias.

As rampas de embarque não devem superar ângulo de 20° de inclinação, pois foi observado por NANNI COSTA, *et al.* (1996), maior incidência de hemorragias no pernil dos suínos quando embarcados através de rampas com inclinação de 16° em comparação aos embarcados com plataforma hidráulica (24,14%, 14,01% respectivamente).

6.14.3. Período de descanso dos suínos antes de seu uso na pesquisa

Durante o período de descanso, deve-se ter cuidado em não misturar lotes de suínos, colocando-os na mesma baia. Isto acarreta estresse social que vem agravar o estresse decorrente do embarque, transporte e desembarque. Quando da chegada dos suínos às instalações de pesquisa, esses são desembarcados e estão extremamente cansados ou estressados devido ao manejo prévio a que foram submetidos. Assim, esses animais precisam eliminar o excesso de ácido láctico acumulado no músculo e restabelecer o seu equilíbrio homeostático, que somente pode ser alcançado com adoção de períodos de descanso adequados. O tempo ótimo de descanso parece ser ao redor 2-3 horas (VAN DER WAL *et al.*, 1997; MILLIGAN *et al.*, 1998; WARRISS *et al.*, 1998a). Após este período de descanso, os suínos se acalmam e geralmente param de brigar (VAN DER WAL *et al.*, 1997; VAN DER WAL *et al.*, 1999).

6.14.4. Transporte dos suínos da granja ao local da pesquisa

Para as condições brasileiras, há referência e recomendações de densidade no transporte no RIISPOA, Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – (BRASIL 1952) e na Portaria nº 711, que

aprova as Normas Técnicas de Instalações e Equipamentos para Abate e Industrialização de Suínos (BRASIL 1995). Por se tratar de uma questão ética e econômica, os institutos de pesquisas, ensino, organizações não governamentais e as agroindústrias brasileiras desenvolveram diversos programas de bem-estar que têm utilizado as recomendações da Comissão Europeia (EC 1995), na qual é recomendado 235 kg/m^2 ou $0,425 \text{ m}^2$ para suíno de 100 Kg, podendo variar no máximo 20% ($0,510 \text{ m}^2/100 \text{ kg}$ ou 196 kg/m^2), dependendo das condições climáticas e do tempo de transporte.



7. Cuidados Médico-veterinários

A assistência médica veterinária é parte essencial do programa de cuidados aos animais usados em pesquisa. O principal papel do médico veterinário é o de supervisionar o bem-estar e os cuidados clínicos destes animais em todas as fases de sua vida.

O médico veterinário deve ter conhecimento, treinamento e experiência:

- Na área da medicina da Ciência de Animais de Laboratório e qualificação na espécie com a qual irá trabalhar;
- Nas questões éticas e morais que envolvem o uso de animais em pesquisa, ensino e testes;
- No Princípio dos 3 R's;
- Na legislação do país onde está trabalhando;
- Familiarizado com as metodologias de pesquisa;
- Ter bom relacionamento interpessoal – pois trabalhará com grande diversidade de indivíduos (desde o pessoal da limpeza, técnicos que cuidam dos animais, até administradores e pesquisadores).

Um programa de assistência médico-veterinária adequado abrange várias áreas, dentre elas:

- Aquisição de animais e seu transporte;
- Medicina preventiva (incluindo quarentena, biossegurança e vigilância);
- Implementação de programa de monitoramento de saúde;
- Protocolos sobre doenças;
- Cirurgia e cuidados perioperatórios;
- Dor e desconforto;
- Anestesia e analgesia;
- Eutanásia.

8. Analgesia

Considerando-se que o animal em experimentação deve estar livre de dor antes, durante e após a condução da pesquisa, é imperativa a instauração de terapias analgésicas para manter o bem-estar desses animais.

O método terapêutico empregado para a perda da sensibilidade da dor em suínos, assim como nas demais espécies, deve ser determinado com antecedência e levar em conta o tipo de intervenção ou procedimento a ser instaurado e o grau de dor à qual animal será exposto (FANTONI & MASTROCINQUE 2010). A partir dessa definição, a escolha do melhor agente analgésico ou o emprego de diferentes fármacos em conjunto, denominado como anestesia multimodal (LASCELES 1999) serão avaliados e será implantado um protocolo analgésico específico corroborando com a finalidade da pesquisa e as necessidades da espécie em questão, ficando a critério do médico veterinário essa determinação.

9. Anestesia

O objetivo da anestesia é produzir analgesia, relaxamento muscular e proteção neuro-vegetativa para possibilitar a realização de procedimentos clínicos e/ou cirúrgicos, sem a ocorrência de dor e sem deflagrar efeitos adversos importantes (SMITH 2008).

A seleção de um agente anestésico ou de um protocolo anestésico adequado varia de acordo com diversos fatores, tais como: a espécie, raça, idade, estado do paciente, tipo e duração do procedimento, experiência do anestesista, materiais disponíveis, dentre outros (SMITH 2008).

Como para a analgesia, o protocolo de anestesia ficará a critério do médico veterinário responsável.

10. Eutanásia

Em suínos, a prática de eutanásia é indicada nos casos de doenças irreversíveis com impossibilidade de tratamento, relatos de eventos adversos graves durante a condução de estudos ou procedimentos de ensino, fornecimento de amostras biológicas com o propósito científico ou regulatório e quando houver dor ou sofrimento que excedam os níveis tolerados. Para a eutanásia, deve ser seguida a Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA ou outra norma que a substitua.

11. Necropsia

Em experimentação animal, a necropsia é uma ferramenta importante para a conclusão da pesquisa e, segundo a Diretriz Brasileira para o cuidado e uso de animais em ensino e pesquisa (DBCA) do Concea, quando um animal morrer de forma inesperada, ou a eutanásia for realizada devido a complicações imprevistas, deve ser realizada a necropsia e a causa da morte deve ser investigada.

As necropsias, após o óbito ou o procedimento de eutanásia, devem ser realizadas o mais cedo possível após a morte do animal, minimizando as alterações post-mortem que podem mascarar as alterações patológicas (SHARMA 2009). Em contrapartida, se não for possível fazer a necropsia logo após a morte, a carcaça deve ser refrigerada para posterior análise (SOMVANSI 2009).

A necropsia é um procedimento com alto risco de contaminação do ambiente, de outros animais e do homem. Com base nisto, a escolha do local para realização da necropsia deve minimizar os riscos de contaminação (MORENO 2006).

12. Destino de carcaças

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada 306/2004/ANVISA o termo “carcaça de animais” refere-se aos produtos de retaliação de animais, provenientes de estabelecimentos de tratamento de saúde animal, centros de experimentação, de Universidades e unidades de controle de zoonoses e outros similares, com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção. Em contrapartida, são denominados como “cadáveres de animais”, aqueles animais mortos que não oferecem risco à saúde humana, à saúde animal ou de impactos ambientais por estarem impedidos de disseminar agentes etiológicos de doenças. A partir dessa diferenciação os resíduos sólidos são classificados e possuem um destino adequado para cada situação.

Apesar disto, imediatamente após o procedimento de necropsia, a carcaça do animal deve ter destino seguro e dentro das normas preconizadas pelas legislações ambientais no âmbito federal, estadual e municipal, para prover segurança ao pessoal envolvido e impedir o acesso de outros animais e humanos ao local de descarte, promovendo a saúde pública e ambiental.

13. Referências bibliográficas

- ALUJA, S. A. de; CASAS, F. C. **Técnicas de necropsia en animales domesticos**. Ed. Manual moderno, México, 2002. 103 p.
- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION - AVMA. Pregnant Sow Housing, 1 aug 2005.
- ANIMALS, ENGLAND (ANIMAL WELFARE). **The Welfare of Farmed Animals (England) Regulations**, 2007. SI 2007, n. 2078. 20p.
- CDC and NIH [Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health]. **Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets**, 3rd ed., sept 2007. Washington: Government Printing Office.
- CURTIS, S. E. The physical environment and mortality. *In*: Varley, M. A. **The Neonatal Pig: Development and Survival**., ed. CAB Int., Wallingford, UK, 1995, p. 269–285.
- DAMY, S. B.; CAMARGO, R. S.; CHAMMAS, R.; FIGUEIREDO, L. F. P. Aspectos fundamentais da experimentação animal – aplicações em cirurgia experimental. **Rev. Assoc. Med. Bras**, v. 56, n.1, p.103-111, 2010.
- DHHS [Department of Health and Human Services]. 2009. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories**, 5th ed. Chosewood LC, Wilson DE, eds. Washington: Government Printing Office.
- EUROPEAN UNION. Council Directive 2008/120/EC of 18 December 2008 **laying down minimum standards for the protection of pigs**. Official Journal L 47, 18.02.2009 p. 5-13.
- FANTONI, D. T.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e controle de dor aguda. *In*: FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. **Anestesia em cães e gatos**. Editora ROCA: São Paulo, 2010, cap. 35, p. 521-544.
- FASS. **Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching**. Federation of Animal Science Societies, 3rd ed., jan. 2010.
- GALERA, P. D. **Apostila de técnica cirúrgica**. Faculdade de agronomia e medicina veterinária. Universidade de Brasília. p. 84-85, ago. 2005.
- HUMANE FARM ANIMAL CARE - HFAC. **Padrões de Cuidados com Animais. Suínos**. Mar. 2013. 23p.
- JENSEN, P. Maternal behaviour and mother-young interactions during lactation in free-ranging domestic pigs. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v. 20, n. 3-4, p. 297–308, aug. 1988.
- JOHNS HOPKINS UNIVERSITY. **Use of experimental animals at Johns Hopkins University**. 2009. 80p. Disponível em: <http://web.jhu.edu/animalcare/images/bluebook-jan2009revised.pdf>
- LASCELLES, B.D. **Analgesia preoperatorio – opiáceos y AINES**. Waltham Focus, v.9, n.4, p. 2-9, 1999.
- MATTARAIA, V. G. M.; VIDOTTI, C. A.; DAMY, S. B. **Suínos como modelos experimentais**. RESBCAL, São Paulo, v.1 n.4, pg. 336-343, set./out./nov. 2012.
- MORENO, C. B. R. **Manual de técnicas de necropsia “Patología general”**. Universidad Nacional Autónoma de México, 2006.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THE NATIONAL ACADEMIES. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**, 8th Ed. (Guide) effective. Washington, D.C, Jan 1, 2012.
- NCState. **Pigs**. <http://ori.hhs.gov/education/products/ncstate/pig.htm>.
- NIH [National Institutes of Health]. 2002. **Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules**. Disponível em: http://oba.od.nih.gov/rdna/nih_guidelines_oba.html> Acesso em: 13/04/2015.
- NRC (National Research Council). **Nutrient Requirements of Swine**. Eleventh Revised Edition. National Academic Press, Washington, D.C. 20418 USA, 2012.
- NRC. **Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Disposal of Chemicals**. Washington: National Academy Press. 1995.
- **Portal EMBRAPA**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/>.
- SHARMA, A. K. Necropsy technique procedure in cattle and differentiation with small ruminants, pigs, canines and wild animals. *In*: SOMAVNSHI, R.; RAO, J. R. **Necropsy techniques and Necropsy conference manual**. Indian Veterinary Research Institute. p. 1-10, 2009.
- SMITH, R. Introducción a la anestesia. *In*: MUIR III, W. W.; HUBBELL, J. A. E.; BEDNARSKI, R. M.; SKARDA, R. T. **Manual de anestesia veterinaria**. Elsevier: Espanha. 4 ed., 2008. Cap. 1, p. 1 -10.
- SOMVANSI, R. Autolytic changes. *In*: SOMAVNSHI, R.; RAO, J. R. **Necropsy techniques and Necropsy conference manual**.

Indian Veterinary Research Institute. p. 77-87, 2009.

- SWINDLE, M. M. Introduction: Anesthesia and Analgesia Selection. *In*: SMITH, C. **AWIC Special Reference Brief: Swine Anesthesia and Analgesia**, 2000-2010. (2011).

- THURMON, J. C.; SMITH, G. W. Swine. *In*: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Lumb & Jones veterinary anesthesia and analgesia**, 2007.

- USDA ARS [United States Department of Agriculture Animal Research Services]. **ARS Facilities Design Standards**, n. ARS-242.1, 24 sept.2002. Facilities Division, Facilities Engineering Branch, AFM/ARS. Washington: Government Printing Office.

14. Critérios mínimos para instalações de Suínos

Classificação:
OB - Obrigatório
 Considera-se item OBRIGATÓRIO
R - Recomendado.
 Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos	
Áreas de Apoio	
Área administrativa.	R
Recepção de animais (Instalação de Criação).	OB
Quarentena (Instalação de Criação).	OB
Área de eutanásia separada das demais áreas.	OB
Local para descarte de carcaças de acordo com as especificações do Guia do Concea.	OB
Depósitos	
Depósito para estocagem de ração e forragem.	OB
Ração e forragem armazenada sem contato com o piso ou paredes.	OB
Depósito de resíduos isolado das demais áreas.	OB
Depósito de produtos químicos e medicamentos.	OB
Detalhes construtivos/Ambiente	
Instalações que promovam a segurança e o bem-estar dos animais, de acordo com as especificações do Concea.	OB
Instalações para confinamento, semiconfinamento e manejo geral com piso de material antiderrapante.	OB
Paredes, pisos e tetos de materiais que possibilitem a higienização e desinfecção.	OB
Permitir contato físico ou visual com indivíduos da mesma espécie, exceto em casos autorizados pela CEUA ou condições clínicas.	OB
Dimensionamento dos alojamentos das espécies de acordo com as orientações do Concea.	OB
Enriquecimento ambiental, exceto se justificado.	OB
Biossegurança	
Áreas de alojamento e manejo de suínos geneticamente modificados separadas fisicamente das áreas de alojamento dos outros animais, com acesso restrito.	OB
Procedimentos	
Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB

Capítulo 12

Aves



COORDENADOR:

Rui Machado Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

AUTORES:

Clea Camargo Universidade de São Paulo

Paulo Sergio Rosa Universidade do Contestado Campus de Concórdia

Citação recomendada: CAMARGO, C.; ROSA, P. S. (2023) Capítulo 12 - Aves. pp. 760-789, In: MACHADO, R. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	767
2. Instalações	768
2.1. Estrutura física das instalações de criação	768
2.2. Equipamentos das instalações	770
2.2.1. Cortinas:	770
2.2.2. Bebedouros:	770
2.2.3. Comedouros:	771
2.2.4. Sistema de aquecimento:	771
2.2.5. Sistema de ventilação:	771
2.2.6. Sistema de resfriamento:	771
2.3. Outras áreas	772
2.3.1. Área de higienização:	772
2.3.2. Sala de procedimentos e necropsia:	772
2.4. Apoio técnico	772
2.4.1. Fábrica e silos ou depósitos de ração:	772
2.4.2. Escritório:	773
2.4.3. Depósitos gerais:	773
3. Ambiente e manejo geral	774
3.1. Atividades preparatórias para receber as aves na instalação	774
3.2. Densidade de alojamento	775
3.3. Temperatura, umidade do ar e ventilação	775
3.4. Iluminação	776
3.5. Cama	776
3.6. Água e alimentação	777
3.7. Manuseio dos animais, “captura”, “apanha” e transporte	779
3.8. Saúde, bem-estar e biossegurança	780
3.9. Enriquecimento ambiental	781
4. Procedimentos experimentais	782
4.1. Administração de substâncias	782
4.2. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções	782
4.3. Cirurgia experimental	782
4.4. Castração e cecotomia	782
4.5. Debicagem e muda induzida (ou “forçada”)	783
5. Cuidados para aves de reprodução e de postura	784
5.1. Criação em gaiolas	784
5.2. Criação em piso com cama	784
5.3. Poleiros	784
5.4. Manejo reprodutivo	785
5.4.1. Machos:	785
5.4.2. Ninhos:	785
5.4.3. Cuidados gerais:	785

6. Destino de carcaças	786
7. Referências bibliográficas	787
8. Critérios mínimos para instalações de Aves	789

AVES

1. Introdução

O conceito e os princípios gerais do bem-estar animal foram apresentados no capítulo “Introdução Geral” deste guia, devidamente publicado como resolução do Concea.

A espécie contemplada neste capítulo é a das aves domésticas de interesse comercial usadas em ensino e pesquisa, a saber: *Gallus gallus domesticus* L. (frangos de corte/poedeiras). Essas aves pertencem a um grupo de vertebrados endotermos caracterizado pela presença de penas, um bico sem dentes, oviparidade de casca rígida, elevado metabolismo, um coração com quatro câmaras e um esqueleto pneumático resistente e leve. Esses animais têm grande importância econômica e social.

Este capítulo objetiva fornecer diretrizes, recomendações e medidas de bem-estar animal sobre a utilização de frangos de corte e galinhas poedeiras em atividades de ensino e/ ou pesquisa. O uso ético desses animais possibilita a obtenção de resultados fidedignos, acurados, contemporâneos, atribuíveis e reproduzíveis. Apesar de sua importância econômica, as codornas, as galinhas d’Angola, os perus, pombos e outras aves domésticas não são objeto desta obra.

O presente capítulo baseou-se principalmente no conteúdo das seguintes publicações: Protocolo para Produção Integrada de Frangos (2008) elaborado pela União Brasileira de Avicultura, Circular Técnica “Boas Práticas de Produção de Frangos de Corte” da Embrapa Suínos e Aves (2007), Protocolo de Bem-Estar para Frangos de Corte da ABPA (2016) e no Protocolo de Bem-Estar para Aves Poedeiras (2008) da União Brasileira de Avicultura.

2. Instalações

Para a produção de aves para abate e corte, bem como produção de ovos existem muitas edificações, as quais compõem uma unidade de produção avícola (ou “granja”). Nessas unidades, há galpões para criação, fábrica de ração, silos graneleiros e estruturas de apoio administrativo e de gestão sanitária e ambiental (fossa ou crematório etc.). O presente capítulo irá focar nas instalações diretamente ligadas ao bem-estar das aves.

O ambiente físico e as instalações de criação para ensino e pesquisa avícola deverão proporcionar segurança com relação ao risco de lesões, impedir que as aves sejam expostas a condições que possam causar sofrimento desnecessário, ou seja, fornecer proteção e conforto adequados. As instalações devem ser limpas, organizadas, livres de predadores e parasitas, impedir a fuga, proporcionar correto alojamento e evitar o acúmulo desnecessário de resíduos de aves. As condições ambientais são importantes e apresentam implicações sobre a saúde, desempenho e bem-estar dos animais. Portanto, os alojamentos deverão oferecer conforto aos animais por meio de ventilação, temperatura e umidade apropriados. Proteção contra precipitação e insolação diretas deverá ser adotada.

O design das instalações/alojamento deverá facilitar a limpeza do local e dos equipamentos, assim como, a inspeção das aves. As instalações deverão ser livres de materiais que possam ferir as aves. Os equipamentos elétricos deverão ser protegidos, para evitar o contato com as aves e os equipamentos de ventilação, comedouros e bebedouros deverão estar em condições de atender às suas respectivas finalidades. O enriquecimento ambiental (poleiros, ninhos, areia, acesso a áreas externas) deverá ser adotado sempre que possível.

2.1. Estrutura física das instalações de criação

As instalações de instituições de ensino e pesquisa (laboratórios, criatórios, infectórios etc.) que tiverem formatação física diferente daquelas utilizadas na criação comercial deverão ter níveis de biossegurança e de bem-estar igual ou superior ao exigido para granjas comerciais. A seguir, são detalhadas algumas recomendações.

Para as estruturas físicas e alojamentos deverá adequar-se o ambiente físico às categorias/linhagens e/ou idade das aves, observando os seguintes pontos: ambiência comum, telamento, arborização, posicionamento, instalação elétrica e hidráulica, manutenção dos equipamentos, sistema redundante no fornecimento de energia e água. Além disso,

deverá considerar-se os tipos de galpões experimentais de acordo com o tipo de produção (produção no solo ou em gaiolas, baterias e/ou gaiolas metabólicas), tipo de piso, alojamento (convencional fechado ou alternativo com piquetes), incubatórios, infectórios, abatedouros, câmaras climáticas e biotérios. Considerar também os seguintes aspectos: microambientes (áreas de criação de pintinhos, isoladores e incubadores); Iluminação (programas de luz); sistema de ventilação, resfriamento e nebulização; densidade, qualidade do ar e conforto térmico. Para tal, deverão ser seguidas as normativas disponíveis do MAPA.

Os telhados, paredes e pisos das edificações do aviário deverão estar em boas condições. As paredes, forros e os pisos deverão ser de fácil limpeza e desinfecção. Os pisos deverão ter boa drenagem e sua superfície deve ser, preferencialmente, pavimentada e acima do nível do terreno externo. Os galpões deverão ser isolados de modo a impedir o acesso de outros animais e permitir o controle de pragas. As áreas de piso do galpão deverão atender a capacidade de alojamento do lote. A altura mínima do pé direito deve ser superior aos 2,8m. A estrutura dos galpões poderá ser de alvenaria, pré-moldada de concreto, metálica ou de madeira. As telhas poderão ser metálicas (alumínio), de cimento (sem amianto) ou de barro com inclinação mínima de 33%.

Quando a estrutura de pesquisa ou ensino apresenta estrutura similar àquelas utilizadas na criação comercial de frangos, a mureta lateral deverá ter altura de pelo menos 30cm e com um chanfro superior para facilitar a limpeza e não permitir o empoleiramento. Muretas mais altas em galpões climatizados são admissíveis. A tela deverá ser instalada entre a mureta e o telhado, com malha tecnicamente especificada. As paredes das extremidades do galpão poderão ser fechadas, admitindo-se para os climas quentes (sem correntes de vento) que os oitões sejam de tela como nas laterais, desde que providos de cortinas. Os oitões deverão ser protegidos do sol nascente e poente e as paredes pintadas com cores claras, sombreando por meio de vegetação, beirais ou sombrites. Dependendo da região, os oitões poderão ser de madeira, telhas onduladas, fibra de vidro, lâminas de isopor ou alvenaria. O piso interno deve ser preferencialmente de material impermeável e de fácil limpeza. Deverá ter portas nas extremidades (dimensões sugeridas mínimas de 1,50m x 2,10m) para facilitar as práticas de manejo. Essas devem ter pedilúvio. Em caso de pedilúvio fixo, este deve ter dimensões suficientes que garantam a passagem de todos por eles (sugerido que ultrapasse a largura das portas e profundidade de 5cm). Para o uso do pedilúvio móvel (caixas móveis) recomenda-se que tenham dimensões suficientes para abrigar ambos os pés de um indivíduo simultaneamente e com profundidade de 5 cm. A adoção de pedilúvio móvel facilita a limpeza e troca de desinfetante.

Deve(m) existir edificação(ões) de apoio para armazenagem de medicamentos e materiais, realização de ne-

crospia, higienização das mãos. Além disso, há um conjunto de equipamentos que completam a estrutura dos aviários. Dependendo do sistema de climatização adotado e do tamanho da facilidade, recomenda-se haver sistemas de controle de cortinas, bebedouros e comedouros preferencialmente automáticos, ventilação, exaustão, aspersão e aquecimento para permitir o ajuste da ambiência de acordo com a necessidade das aves. Em muitas situações de pesquisa isso é dispensável.

São admissíveis pequenas instalações que simulem sistemas de produção de menor envergadura desde que tenham aprovação pela CEUA e provenham bem-estar aos animais.

2.2. Equipamentos das instalações

Os equipamentos são necessários para assegurar a ambiência adequada e o local de criação das aves deverá propiciar bem-estar e conforto. Todos os dispositivos de controle automático poderão ser montados em um quadro de distribuição com sensores em diferentes pontos da instalação.

2.2.1. Cortinas:

Deve haver cortinas nas laterais do aviário, pelo lado de fora, que poderão ser de plástico especial trançado, lona ou PVC, fixadas na metade da mureta e que ultrapassem o bandô (em aproximadamente 30cm). De forma semelhante, o bandô deverá ser duplo, do mesmo material da cortina, e fixo com vedação total. Nos primeiros dias de vida dos pintos, é recomendável em regiões frias, o uso de sobrecortinas fixadas na parte interna do aviário, de tal forma que sobreponha a tela. O acionamento da cortina pode ser por roda dentada com corrente ou sistema de roldana.

2.2.2. Bebedouros:

Poderão ser de pressão para pintos e do tipo pendular para frangos ou *nipple* automático. No bebedouro infantil, aconselha-se a adoção da calha suspensa pendular (pendurada) para evitar afogamento dos pintinhos. Detalhes de bebedouros usados em gaiolas estão no item 5.1.

2.2.3. Comedouros:

Devem ser de materiais duráveis, de fácil higienização, que comportem o volume suficiente de ração para as aves. Deve-se respeitar a relação nº de animais/equipamento que consta em tabelas dos fabricantes. Poderão ser bandejas, tubulares e ou automáticos com capacidades variadas. A higienização de bebedouros (item 2.2.2) e comedouros deve seguir as orientações do responsável técnico (RT). Excepcionalmente, com autorização pela CEUA, serão admissíveis bebedouros e comedouros manuais.

2.2.4. Sistema de aquecimento:

Permitidos sistemas à lenha (e seus derivados), à diesel, elétricos e a gás. Sendo estes últimos os de preferência, quando usados por meio de campânulas infravermelhas controladas termostaticamente. Recomenda-se a instalação de chaminé para exaustão quando se utilizar sistema à lenha.

2.2.5. Sistema de ventilação:

Poderá ser por meio de ventiladores posicionados no sentido transversal ou longitudinal, à meia altura do pé direito e ligeiramente inclinados para baixo. Poderá também ser realizado por meio de exaustores instalados na extremidade oeste do aviário com as entradas de ar na extremidade oposta. Ambos sistemas poderão ser controlados termostaticamente.

2.2.6. Sistema de resfriamento:

Poderá ser por meio de placas evaporativas (*pad cooling*) ou preferencialmente por nebulização em alta pressão (200 psi), com bicos de poliacetal distribuídos em linhas transversais e longitudinais.

2.3. Outras áreas

2.3.1. Área de higienização:

Deve conter ponto de desinfecção para veículos, pedilúvio na entrada das instalações (galpões e câmaras climáticas), troca de vestimenta (incubatório e abatedouro), salas de banho (infectório e biotérios).

2.3.2. Sala de procedimentos e necropsia:

A sala de necropsia deve ser dotada de mesa própria para procedimentos de necropsia como coleta de parâmetros anatômicos, fisiológicos e/ou digestivos. No caso de coleta de matérias microbiológicas que exigem esterilidade do local, sugere-se a adoção de uma cabine de segurança biológica. Importante haver um vestiário onde o profissional possa se paramentar de forma adequada para a realização do procedimento. As instalações estruturais da sala de necropsia devem prever sistema de drenagem e de ventilação/exaustão conforme normas técnicas.

2.4. Apoio técnico

Embora não sejam mandatórios, esses espaços contribuem para atender critérios técnicos avançados na criação de aves. Contemplam fábrica de ração, escritório e depósitos.

2.4.1. Fábrica e silos ou depósitos de ração:

Para redução dos riscos de contaminação via alimentos (ração) devem-se aplicar as boas práticas de fabricação (BPF) ou adotar as recomendações do fabricante para o controle de temperatura e umidade e realizar o controle integrado de pragas. Os silos da instalação animal devem ser limpos e higienizados adequadamente, no mínimo, a cada intervalo de lote de aves. Eles devem ter vedação que previna a contaminação, o acesso por pragas e animais e a entrada de água. Rações batidas com diferentes tipos de ingredientes devem ser armazenadas em silos diferentes e alterações das características físicas da ração devem ser registradas. Para os casos de impossibilidade de se obter a

estrutura de armazenamento em silos, as rações devem ser embaladas ou acondicionadas de forma a preservar sua qualidade original e evitar contato com pragas, animais e água.

Nos casos que se faz aquisição de ração comercial ou fabricada por terceiros, deve-se certificar da idoneidade do(s) fornecedor(es) e respectivos registros nos órgãos competentes de controle e fiscalização.

Os veículos de transporte de ingredientes e de ração devem estar em boas condições e ser higienizados mensalmente.

2.4.2. Escritório:

Destina-se a fornecer apoio administrativo com local para arquivamento documental exigido pelos órgãos oficiais, almoxarifado de material de expediente e sanitários. Toda a documentação de uso nos testes e experimentos deve ser robusta, completa e em conformidade às boas práticas de documentação.

2.4.3. Depósitos gerais:

Devem-se reservar espaços adequados para guarda de produtos perecíveis (vacinas e inóculos), geralmente sob refrigeração controlada por termômetros de máxima e mínima (ex: câmara fria); equipamentos e materiais de reposição usados na instalação; medicamentos; e resíduos esterilizados produzidos pelos animais e experimentos (ex. tecidos animais como sangue etc.) até o seu descarte definitivo em local apropriado.

3. Ambiência e manejo geral

3.1. Atividades preparatórias para receber as aves na instalação

A aquisição de aves deve ser feita em incubatórios registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e deve considerar a Resolução Normativa 26 do Concea. Quando houver necessidade experimental específica, será permitida a aquisição de aves com mais de um dia de vida. Excepcionalmente, pode-se adquirir animais de produtor dispensado de registro (IN MAPA 36 de 06/12/2012). Os animais devem ser livres das doenças sob controle oficial. Ao serem alojados na instalação animal, os dados das aves adquiridas devem ser registrados em fichas para rastrear as conformidades. As aves devem ser identificadas e agrupadas por lote, o qual deve ser formado apenas por aves da mesma origem e idade, alojadas no mesmo galpão. Deve haver identificação específica para cada lote e recomenda-se a adoção de algum sistema de rastreabilidade desde a sua recepção. O resultado da avaliação clínica da saúde do lote. Nesse caso, os olhos dos pintinhos devem ser brilhantes, os umbigos devem estar bem cicatrizados, o tamanho e a cor devem ser uniformes, as canelas lustrosas e sem deformidades, a plumagem deve estar seca, macia e sem sujidades aderidas à cloaca. A vacinação contra a doença de Marek deve ter sido feita ainda no incubatório. Desde que exista documentação que explicita e justifique a não imunização e principalmente nas situações de aquisição de aves com mais de um dia de idade, admite-se a entrada de animais não-vacinados. Nesse caso, as aves devem ser submetidas a quarentena e vacinações antes de iniciar a pesquisa.

Antes da data de chegada dos pintinhos, o alojamento deve estar limpo, desinfetado e a cama deve estar seca e com altura mínima de 6 cm. Aconselha-se realizar vazio sanitário. Deve-se testar o funcionamento de geradores, aquecedores, ventiladores, bebedouros, comedouros e alarmes. Água e ração deverão estar disponíveis antes da chegada das aves. A quantidade de bebedouros e comedouros deve ser estimada em relação ao número de aves para prevenir competição e a regulagem de altura deles deve ser feita periodicamente, conforme o crescimento das aves. A limpeza de depósitos intermediários e tubulações de água, desde a rede até o ponto de consumo pelas aves deve ser feita antes da chegada de cada lote. Os aquecedores devem ser ligados antes da chegada das aves e a temperatura deve estar estabilizada de modo a aquecer a cama onde as aves permanecerão durante a criação e fornecer o adequado conforto térmico. À chegada dos pintinhos, a temperatura deve estar em torno de 31 a 32°C, a 5 cm acima da cama. O

manuseio das aves jovens deve ser cuidadoso e, ao chegar, elas devem se soltas próximas às fontes de aquecimento, de bebedouros e de comedouros. O uso de sobrecortinas nos alojamentos é aconselhado para melhorar o aquecimento dos galpões quando em épocas frias.

3.2. Densidade de alojamento

O espaço do aviário deve prever o acesso irrestrito do tratador, seja para inspeção ou para retirada de aves doentes ou machucadas. Deve existir espaço suficiente para que a ave expresse seu comportamento natural e tenha liberdade de movimentos. O espaço utilizado pelas aves deve ser aumentado gradativamente, até que todo o aviário esteja ocupado, com os comedouros e bebedouros definitivos uniformemente distribuídos. A densidade de frangos de corte deve ser mantida entre 10 a 18 aves/m² e 45 kg/m². Deve-se priorizar sempre as menores densidades. Excepcionalmente, por força de particularidades experimentais e sob ótimas condições de manejo, podem ser admitidas densidades maiores.

No caso de galinhas poedeiras, em alojamentos de apenas um pavimento, todo coberto por cama, devem ser mantidas no máximo 7 aves/m². Porém, deve-se considerar que a densidade é variável com a época do ano, peso das aves ao final do experimento e a existência de sistema de climatização. Além disso, é recomendável seguir o manual de cada linhagem para atendimento de suas necessidades e permitir alteração quando for do objeto específico da pesquisa.

Dimensões de área e altura de espaço/alojamento galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) devem seguir as diretrizes vigentes.

3.3. Temperatura, umidade do ar e ventilação

A temperatura e a ventilação das instalações devem ser controladas considerando o sistema de criação, a idade, o peso e o estado fisiológico das aves. Para tanto, há tabelas disponíveis na literatura. Assim, a monitoração da qualidade do ambiente deve ser feita para assegurar o bem-estar das aves e dos trabalhadores. Devem-se observar e registrar diariamente a temperatura (máxima e mínima) e a umidade. As faixas de temperatura recomendadas no nível das aves é de 31 a 32°C para a 1ª semana e diminuir 3°C a cada semana, de modo que aos 42 dias se tenha

em torno de 19 a 21°C. A faixa de umidade relativa recomendada é de 40 a 65% e para ajustes mais precisos devem ser seguidas tabelas próprias. Para manter a temperatura dentro da zona de conforto térmico dos animais, devem ser adotadas medidas de manejo adicionais, como: a diminuição da densidade de animais, o aumento da ventilação e o uso de nebulizadores. O RT deve manter atenção diária aos registros e, sempre que preciso promover as intervenções cabíveis para restabelecer condições de ambiência que mantenham o bem-estar das aves.

3.4. Iluminação

O programa de iluminação da instalação deve prover ser uniformidade em todo o aviário e as horas de iluminação devem se ajustar à idade dos pintos, por meio de lâmpadas com energia de 2 a 3 watts/m², provendo o mínimo de intensidade luminosa (5 lux) por pelo menos 8 horas a cada período de 24 horas. Em lotes cujo consumo de ração esteja abaixo do preconizado, é possível a utilização de um programa de luz complementar, desde que as aves tenham pelo menos 4 horas de escuro a cada ciclo de 24 horas.

No caso de poedeiras, a iluminação dependerá do sistema de criação e da idade e linhagem das aves. Recomenda-se seguir o manual de cada linhagem para atendimento das suas necessidades e permitir alteração quando for objeto de pesquisa.

Excepcionalmente e sob supervisão do RT pela instalação, a iluminação abaixo ou acima dos níveis mínimos pode ser usada no controle de anormalidades do comportamento. A iluminação das atividades de limpeza deve ser adequada para a perfeita visualização das sujidades e dos resíduos.

3.5. Cama

A cama deve ter boa qualidade, grande capacidade de absorção de impactos e de umidade e estar distribuída em todo aviário a uma altura uniforme entre 8 a 10 cm, com valores mínimos entre 5 – 6 cm. Para a criação dos pintinhos, deve-se utilizar cama nova, ou colocar pelo menos 2 cm de espessura de cama nova sobre aquela a ser reutilizada. O revolvimento da cama deve ser constante para mantê-la fofa e de prevenir umidade excessiva ou formação de placas ou cascões. Deve-se monitorar a cama para que a umidade não exceda 35%. O material da cama pode ter origem no próprio local ou ser de fornecedor conhecido. Deve-se certificar que o material não possui resíduos tóxicos

como os usados no tratamento químico de preservação da madeira (quando maravalha) ou no controle de pragas agrícolas (quando casca de arroz, amendoim, palha de capim etc.). Após a saída das aves, a cama deve ser retirada e eliminada respeitando a legislação vigente. A reutilização da cama é possível mediante tratamento que minimize os riscos microbiológicos e acompanhamento pelo RT da instalação. Os registros de limpeza/ desinfecção das instalações e de remoção ou tratamento da cama devem ser mantidos e estar disponíveis por no mínimo dois anos.

3.6. Água e alimentação

A posição de bebedouros e comedouros deve assegurar acesso irrestrito e imediato à água e aos alimentos para prevenir competição entre as aves. Analogamente, deve-se minimizar o umedecimento da cama. A regulagem dos equipamentos (manual ou automática) deve ser consistente ao crescimento das aves para prevenir desconforto à alimentação e à dessedentação.

Deve-se observar o consumo de água nos bebedouros, observando se as aves têm acesso fácil a eles, se há bebedouros suficientes. A qualidade da água deve ser monitorada pelo RT da instalação para que não tenha riscos à saúde dos animais, sendo limpa e potável por meio de tratamento com até 5ppm de cloro. Análises físicas, químicas e microbiológicas da água devem ser feitas periodicamente em rotina e sempre que houver suspeita de risco. Em qualquer fase da criação de frangos, deve ser abundante, limpa e fresca (temperatura em torno de 20°C). O consumo de água é variável conforme a idade, temperatura ambiente e o tipo de ração. Considerar um consumo de três litros de água por quilo de ração consumida como um valor de referência na criação de frangos. Águas sem coliformes não necessitam de cloração (ex. as de poços tubulares profundos). O tratamento da água com hipoclorito de sódio deve ser realizado sempre que for detectada a presença de coliformes fecais, em qualquer quantidade. A água fornecida às aves deve ser clorada visando uma concentração residual de 0,2 a 2 ppm (Portaria 2914). É importante ressaltar que a água usada para vacinações das aves não pode ser clorada. Frente à presença de bactérias ou altos níveis de nitrato (superiores a 10 ppm), recomenda-se a realização de análises adicionais que possam indicar com maior exatidão a sua qualidade, de acordo com as características organolépticas (propriedade qualitativa como cor, sabor e odor), físico-químicas e microbiológicas.

A alimentação provida em bases técnicas para atendimento das exigências nutricionais é requisito para assegurar o bem-estar e permitir que o animal expresse normalmente suas funções fisiológicas (fertilidade etc.). O atendi-

mento das exigências nutricionais garantirá a saúde e a higidez das aves. No caso de experimentos em que a temática não seja nutrição, a alimentação desbalanceada impacta na qualidade dos resultados experimentais, mascarando-os. No caso de animais de reprodução (machos e fêmeas), atenção deve ser dada ao controle do peso e a uniformidade seguindo as orientações dos manuais das linhagens em questão. Quando necessário, o jejum alimentar deve ser de, no máximo, 8 a 10 horas, preferentemente feito qualitativamente. Outro cuidado com animais de reprodução é evitar a sobrealimentação, falha de manejo que concorre para agravar os casos de prolapso uterino.

A alimentação ofertada às aves deverá atender às exigências fisiológicas das aves, de acordo com níveis nutrientes, não sendo mandatória a utilização de misturas dietéticas utilizadas como no caso de aves industriais. Para a manutenção ou experimentação com aves localmente adaptadas ou não especializadas, a CEUA deve analisar os níveis nutricionais ofertados pela ração, observando a compatibilidade com as exigências de manutenção das aves assegurando o bem-estar.

Os produtos e ingredientes usados na alimentação devem atender a legislação e sempre que possível, serem submetidos as análises laboratoriais antes do seu uso. Caso se opte pelo uso de rações ou pré-misturas (minerais, vitamínicas etc.) comerciais, essas deverão ter origem em estabelecimentos registrados no MAPA e que sigam BPFs; ter rótulos em suas embalagens, identificando produto, origem, função, prazo de validade. Os níveis de substâncias contaminantes devem estar descritos e, se presentes, em níveis toleráveis. As rações, ingredientes e pré-misturas embalados em sacarias devem ser armazenados em estrados/palletes distantes do piso e afastados das paredes e do teto, separados e classificados por tipo de ingrediente, produto ou ração. No caso de ingredientes classificados como medicamentos, pesticidas ou aditivos deve-se seguir a recomendação do fabricante e respeitar a legislação em relação ao seu manejo e uso (prazos de carência, limites máximos etc.).

Quando da fabricação de rações na propriedade, é necessário seguir normas de Boas Práticas de Fabricação de rações, como aquelas recomendadas pelo Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. É importante salientar que todos ingredientes devem seguir especificações de qualidade, sejam das matérias-primas que compõem as rações, sejam dos processos de fabricação de ingredientes, premixes e rações.

3.7. Manuseio dos animais, “captura”, “apanha” e transporte

As necessidades de manejo dos animais, em especial “a apanha” devem ser feitas sob condições de calma, limpeza e em momentos de descanso das aves. A iluminação deve ser ajustada para prevenir o estresse e minimizar as reações de medo nas aves. A adoção de cortinas de apanha para cobrir as portas é recomendada. No caso de destinação para o abate, o jejum alimentar pré-abate (galpão, transporte e espera no abatedouro) não deve ultrapassar 12 horas, e o de água não deve ultrapassar 6 horas. O manuseio das aves é feito pelo dorso e só permitido carregar duas aves por vez. Para essa “captura” usam-se as duas mãos para prender as asas e evitar suas fraturas. É proibida a apanha pelos pés, asas, cabeça ou pescoço. Aves com menos de 1,8 kg podem excepcionalmente ser apanhadas pelas pernas, onde os carregadores devem respeitar o limite máximo de três animais por mão.

Para poedeiras alojadas em piso, recomenda-se que a contenção para a apanha seja feita pelo dorso do animal, procurando-se manejar as aves sempre em uma posição vertical. Não é permitido maus tratos às aves ou utilizar práticas que causem dor ou sofrimento. As aves devem ser acondicionadas em caixas apropriadas para o transporte. O tamanho das caixas deve seguir as recomendações atualizadas da ABPA e a carga deve estar compreendida dentro das especificações do fabricante da caixa e em conformidade com as suas dimensões. Essa densidade deve ser ajustada segundo as condições climáticas e o peso das aves. Todas as aves devem ter espaço suficiente para deitar sem se amontoar sobre outra ave. O carregamento deve ser preferencialmente nas horas mais frescas do dia ou no período noturno. As pessoas encarregadas de manuseio de aves (apanha, transporte etc.) devem ter treinamento adequado e os registros dessas capacitações devem ser mantidos. Compete ao RT das instalações supervisionar manuseios de animais, despovoamento de galpões e preparo para transporte. As carcaças das aves mortas devem ser removidas da instalação para a devida destinação (vide item 6).

Para prevenir maiores sofrimentos, animais agonizantes devem ser submetidos à eutanásia imediatamente, realizada conforme a Resolução normativa 37/2018 do Concea. Deve ser monitorado o nível de danos com manuseio (apanha etc.) e caso ultrapassem parâmetros estabelecidos, medidas corretivas devem ser adotadas. Os estabelecimentos de abate devem ter instalações e equipamentos apropriados para o desembarque das aves. As aves devem ser descarregadas o mais rápido possível após a chegada e durante a espera, elas devem ser protegidas contra condições climáticas extremas e beneficiar-se de um ambiente adequado. O período de espera no abatedouro não deverá ser superior a duas horas num ambiente com temperatura que preferencialmente não deve exceder os 25°C. Na recepção

e descarregamento, não devem ser utilizadas práticas impróprias que ocasionam dor ou sofrimento às aves.

3.8. Saúde, bem-estar e biosseguridade

Em aves, a importância da medicina preventiva é ainda maior do que em outras criações, o que exige o estabelecimento de muitas medidas de biosseguridade, como: **a)** Inspeção por meio de duas rondas diárias; **b)** Restrição e registro de visitas num livro e controle/ checagem do vazão sanitário. Visitantes devem passar pelos mesmos procedimentos que os funcionários com vestimentas apropriadas e desinfetadas; **c)** uso de equipamentos de proteção individual (uniforme apropriado, botas ou sapatos de uso exclusivo no ambiente de trabalho, óculos ou visor de proteção, touca, máscara, luvas, sapatilhas e jalecos descartáveis) e barreiras sanitárias. Quando os estudos/ aulas exigirem, deve se dispor de equipamentos de proteção coletiva (ex: cabine de segurança biológica, chuveiro automático, lava-olhos, dispositivos de pipetagem, exaustor, desumidificador de ar etc.); **d)** isolamento de acesso por outros animais ao interior das instalações; **e)** impedimento dos funcionários manterem contato com outras espécies de aves.

Sempre que possível, todos os galpões devem operar no sistema “tudo dentro, tudo fora” para que as aves estejam no mesmo grupo de idade. As pesquisas que envolvam estudo da reprodução de aves, conservação genética e ingredientes alimentares, dentre outros, deverão atender níveis de biosseguridade e bem-estar animal que assegurem não haver riscos sanitários e nem sofrimento animal.

As instalações devem ser higienizadas e desinfetadas de acordo com o plano de limpeza. Veículos com trânsito permitido devem ser desinfetados antes de entrar e sair da unidade de produção. Deve haver sistema de desinfecção ou troca dos calçados na entrada dos aviários.

Toda a criação deve estar submetida ao controle sanitário para a doença de Newcastle, Influenza aviária, salmoneloses (BRASIL 2003) e micoplasmoses. Outras enfermidades poderão ser incluídas, caso orientado pelo MAPA. O programa de vacinação contra as doenças aviárias deve atender à situação epidemiológica e sanitária de cada região e estar de acordo com o respectivo Serviço Oficial, de modo que o manejo sanitário adotado terá protocolo e calendário específicos para cada lote. O uso de medicamentos deve ser feito somente com indicação veterinária e os seus períodos de carência devem ser seguidos rigorosamente, mantendo-se registros da sua administração que contenham nome do produto, número do lote/partida, período de carência, período de tratamento, número de animais tratados, quantidade total de medicamento usado e nome da pessoa que administrou o produto. Excepcionalmente e por força

de particularidades experimentais, pode-se admitir a adoção de protocolos zoonos sanitários diferenciados e até mesmo menos rigorosos. Esse caso é aceitável desde que haja documentação que o explicita e justifique e que tenha sido aprovado pela CEUA da instituição.

Óbitos súbitos, sinais clínicos de doenças variadas e desvios de comportamento devem ser prontamente notificados e investigados, a fim de garantir uma pronta e eficiente assistência médica veterinária. Os animais ou o grupo de animais que apresentam suspeita de doença infectocontagiosa devem ser isolados dos demais. As aves mortas devem ser retiradas da instalação e aquelas refugadas ou machucadas devem ser submetidas à eutanásia e dado o devido destino as carcaças. A mortalidade e o número de aves descartadas devem ser monitorados diariamente e caso atinjam níveis além do esperado (acima de 2%, por exemplo), deve-se investigar a(s) causa(s) e implementar imediatamente um plano de ação mitigador. Quando necessário, deve-se fazer eutanásia dos animais, a qual seguirá as recomendações descritas da Diretriz da Prática de Eutanásia do Concea. Registros disso tudo devem ser mantidos.

O programa de bem-estar deve estar embasado no planejamento de ações e na educação/ capacitação dos envolvidos. As Boas Práticas de Manejo devem ser seguidas para garantir conforto, sanidade, ambiência e alimentação adequadas a cada fase de criação e prevenir a ocorrência de situações que causem ansiedade, dor ou estresse nas aves. Esse programa deve ter procedimentos de avaliação e verificação de conformidades de todo o processo, os quais permitam readequação de etapas não-conformes ou que contenham erros.

3.9. Enriquecimento ambiental

O enriquecimento ambiental (poleiros, ninhos, areia, acesso a áreas externas) deve ser adotado sempre que possível e a CEUA deve estimular a sua adoção e propor, sempre que possível, meios de enriquecimento específicos para cada situação. Opções de enriquecimento como sino, pêndulo metálico e tampinhas devem ser consideradas, bem como a adaptação de enriquecimentos usados em aves silvestres cativas, como caixas surpresa (alimento inserido dentro de caixas de papelão), caixas de ovos (alimento inserido dentro das caixas de ovos), itens alimentares inseridos em materiais que permitam a exploração pela ave.

4. Procedimentos experimentais

4.1. Administração de substâncias

Há várias vias de administração de substâncias. A via oral pode ser por gavagem ou pela ingestão da água de bebida ou do alimento. Sempre que possível deve-se adicionar à substância um veículo ou alimento na tentativa de condicionar o animal à ingestão e evitar o estresse causado pela ingestão forçada. Para a administração intramuscular, essa deverá ser realizada no músculo peitoral e em locais diferentes para a redução de estresse. A inoculação subcutânea deverá ser feita na região cervical dorsal ou na face externa da coxa.

4.2. Colheita de tecidos, fluidos, secreções e excreções

A colheita de fluidos em animais vivos exige adequada contenção, realizada por técnico habilitado. Condições também aplicáveis para a obtenção de secreções por meio de swab nasal e cloacal. As biópsias devem ser conduzidas por médico-veterinário. A coleta de tecidos em animais deve ser feita após a eutanásia, a qual deve seguir as recomendações da Resolução normativa 37/2018 do Concea. Quando do uso de ovos embrionados que atingiram mais de 50% do tempo de incubação para eclosão, devem-se considerar os procedimentos técnicos de eutanásia.

4.3. Cirurgia experimental

Os procedimentos cirúrgicos experimentais devem ser realizados dentro de condições ótimas de contenção (física e química) e anestesia.

4.4. Castração e cecotomia

A Castração de machos para produção de “Capões” pode ser realizada desde que com a ave devidamente contida e submetida aos procedimentos de analgesia e anestesia orientados pelo RT. A cecotomia ou cecectomia em

frangos de corte (por incisão abdominal) para ensaios metabólicos em estudos de nutrição deverá ser realizada com anestesia e medicamentos preventivos contra infecções secundárias.

4.5. Debicagem e muda induzida (ou “forçada”)

O Concea estabelece como não recomendáveis tais procedimentos dado o alto potencial de dor e sofrimento envolvido. Excepcionalmente e com aprovação da CEUA estas práticas podem ser aplicadas se compuserem o objeto do estudo experimental.



5. Cuidados para aves de reprodução e de postura

Além dos cuidados e princípios já descritos, cabe ressaltar a existência de recomendações específicas para as galinhas de postura e para os animais em reprodução.

5.1. Criação em gaiolas

A densidade de alojamento deve permitir o movimento das aves e espaço suficiente para se deitar ao mesmo tempo sem haver o amontoamento entre elas. Além disso, o acesso aos comedouros e bebedouros deve ser livre. A recomendação de espaço mínimo deve ser de 40 kg de peso vivo/m² de piso. O espaço recomendado para comedouros e bebedouros deve ser superior à 10 cm/ave (comedouro calha) e 1 bebedouro *nipple* p/ 6aves (cada ave deve ter acesso a no mínimo 2 pontos de bebedouro). A inclinação do piso da gaiola não deve ser superior a 8° ou 13%.

5.2. Criação em piso com cama

As aves nos sistemas de criação com piso devem dispor de espaço suficiente para se movimentar, bater asas, empoleirar ou deitar-se sem dificuldade. A densidade recomendada é de 07 aves/m² (vermelhas) e de 10 aves/m² (brancas). Excepcionalmente, por força de particularidades experimentais podem ser admitidas densidades maiores. A proporção de comedouros e bebedouros recomendada é de 8 cm/ave branca e 10 cm/ave vermelha nos comedouros calha e 1 comedouro tubular para 20 aves. No caso de bebedouros pendulares - 1:50, bebedouros “*nipple*”- 1:8. Desde que assegurados pelos fabricantes, essas relações podem ser maiores.

5.3. Poleiros

Devem haver poleiros como exemplo de enriquecimento em todos os sistemas. O espaço mínimo para cada ave no poleiro deve ser de aproximadamente 15 cm.

5.4. Manejo reprodutivo

5.4.1. Machos:

A introdução de machos deve ser cautelosa de modo a assegurar o bem-estar das reprodutoras. Deve-se manter uma relação machos/fêmeas condizente com as bases técnicas para cada linhagem e obter o controle e a prevenção de brigas e canibalismo. Para reduzir as interações agressivas e prover bem-estar no médio prazo, são excepcionalmente admissíveis práticas como a debicagem e o corte do dedo interior e da crista nos galos. Estas atividades devem ser realizadas por pessoal bem treinado e utilizando-se equipamentos adequados.

5.4.2. Ninhos:

Deve-se assegurar uma relação adequada, conforme fabricantes dos equipamentos e utilizar ninhos de qualidade e o material utilizado como cama deve propiciar conforto e higiene às galinhas. A sua localização deve favorecer o comportamento natural das aves.

5.4.3. Cuidados gerais:

Atenção merece ser dada ao nível de proteína na dieta e aos programas de iluminação, pois suas inconsistências levam a prolapso cloacal. Do mesmo modo, a antecipação da idade reprodutiva (aves leves, postura comercial) com 5% de produção às 16-17 semanas, normalmente aumenta as chances de doenças que acabam comprometendo a curva de produção.

6. Destino de carcaças

O descarte de carcaças assume especial importância pois, esteja ela contaminada por agentes patogênicos ou não, é considerada resíduo sólido (Resolução n. 358, de 29 de abril de 2005, CONAMA e a Lei nº 12.305 de 02/08/2010, DOU). Assim, carcaças de animais, mortos por causa natural ou por eutanásia, devem ser destruídas o mais rápido possível, após a devida necropsia e colheita de material indicada, minimizando o risco de contaminação do ambiente. As carcaças devem ser tratadas por compostagem ou incineradas. O destino de outros resíduos (excretas etc.) do criatório devem atender a legislação pertinente.

7. Referências bibliográficas

- ABREU, P.G.; ABREU, V.M.N.; COLDEBELLA, A.; AMARAL, A.G.; GOMES, R.C.C.; MORAES, S.P. **Enriquecimento ambiental X densidade como estratégia de incrementar o bem-estar de poedeiras pesadas**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2006. 3 p. (Comunicado Técnico n. 448).
- ALMEIDA, A. C.; MOREIRA, N. Glicocorticoides, comportamento e enriquecimento ambiental: avaliação da qualidade de vida em aves silvestres cativas. **Archives of Veterinary Science**, v. 24, n. 3, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v24i3.47726>.
- ALMEIDA, A. C.; PALME, R.; MOREIRA, N. How environmental enrichment affects behavioral and glucocorticoid responses in captive blue-and-yellow macaws (*Ara ararauna*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 201, p. 125-135, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.12.019>.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). Disponível em: <http://www.abpa-br.org>.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Protocolo de Bem-Estar para Frangos de Corte**. São Paulo (SP): ABPA, 2016. 18p. Disponível em: <http://www.abpa-br.org>.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual de atividades 2018**. 177p. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2018/10/relatorio-anual-2018.pdf>. Acesso em: 29mar2018.
- AVILA, V.S. de *et al.* **Boas Práticas de Produção de Frangos de Corte**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007, 28 p. (Circular Técnica n. 51).
- BRASIL. Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009. **Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA**, mediante a regulamentação da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências. Diário Oficial da União de 16 jul. 2009.
- BRASIL. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. **Regulamenta o inciso VII do §1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais**; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União de 9 out. 2010.
- BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. **Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos** e altera a Lei nº 9.605 de 12, de fevereiro de 1998 e dá outras providências. Diário Oficial da União de 3 de agosto de 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Estabelece os Procedimentos para Registro, Fiscalização e Controle de Estabelecimentos Avícolas de Reprodução e Comerciais**. Instrução Normativa nº 56, de 4 de dezembro de 2007. Diário Oficial da União, n. 234, S. 1, p. 11, 6 dez. 2007.
- BRASIL. Resolução Conama nº 358, de 29 de abril de 2005. **Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde** e dá outras providências. Diário Oficial da União de 4 de maio de 2005.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Eutanásia em ovos embrionados de *Gallus Gallus*. *In: Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais* – Conceitos e procedimentos recomendados. Brasília: CFMV, 2013.p. 49.
- EIDE, A.L; GLOVER, J.C. Developmental dynamics of functionally specific primary sensory afferent projections in the chicken embryo. *Anatomy and Embryology*, v. 195, p. 237-250, feb. 1997.
- HUMANE FARMANIMAL CARE (HFAC, 2014). **Galinhas Poedeiras: Padrões de Cuidados com os Animais - Padrões 2014/17BR**. Disponível em: http://certifiedhumane.org/wp-content/uploads/Std14_17BR_Poedeiras_Layers_4L.pdf. Acesso em: 04 out. 2019.
- LUNA, S. P. L. Dor, **Senciência e Bem-Estar em Animais**. *Senciência e Dor. Ciênc. vet. tróp.*, Recife-PE, v. 11, supl. 1, p. 17-21, abr. 2008.
- PRIMARY INDUSTRIES STANDING COMMITTEE - Model Code of Practice for the Welfare of Animals. **Domestic Poultry**, 4th ed. Australia, 2002. SCARM Report 83.
- UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Protocolo de Bem-Estar para Aves Poedeiras**. São Paulo (SP): Diretoria da UBA, Biênio 2006/2008. 28p.

- UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Protocolo para Produção Integrada de Frangos**. 2008. Acesso em: 29mar2018.
- UNIÃO EUROPEIA. DIRECTIVA 2010/63/EU DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 22 de setembro de 2010 relativa à **protecção dos animais utilizados para fins científicos**. ANEXO III Requisitos Relativos a Estabelecimentos e à Prestação De Cuidados E Alojamento Dos Animais. Jornal Oficial da União Europeia, 20 out. 2010.

8. Critérios mínimos para instalações de Aves

Classificação:

OB - Obrigatório

Considera-se item OBRIGATÓRIO

R - Recomendado.

Considera-se item RECOMENDÁVEL aquele que consta como recomendação nas portarias, resoluções, orientações técnicas e Guias de Boas Práticas do Concea.

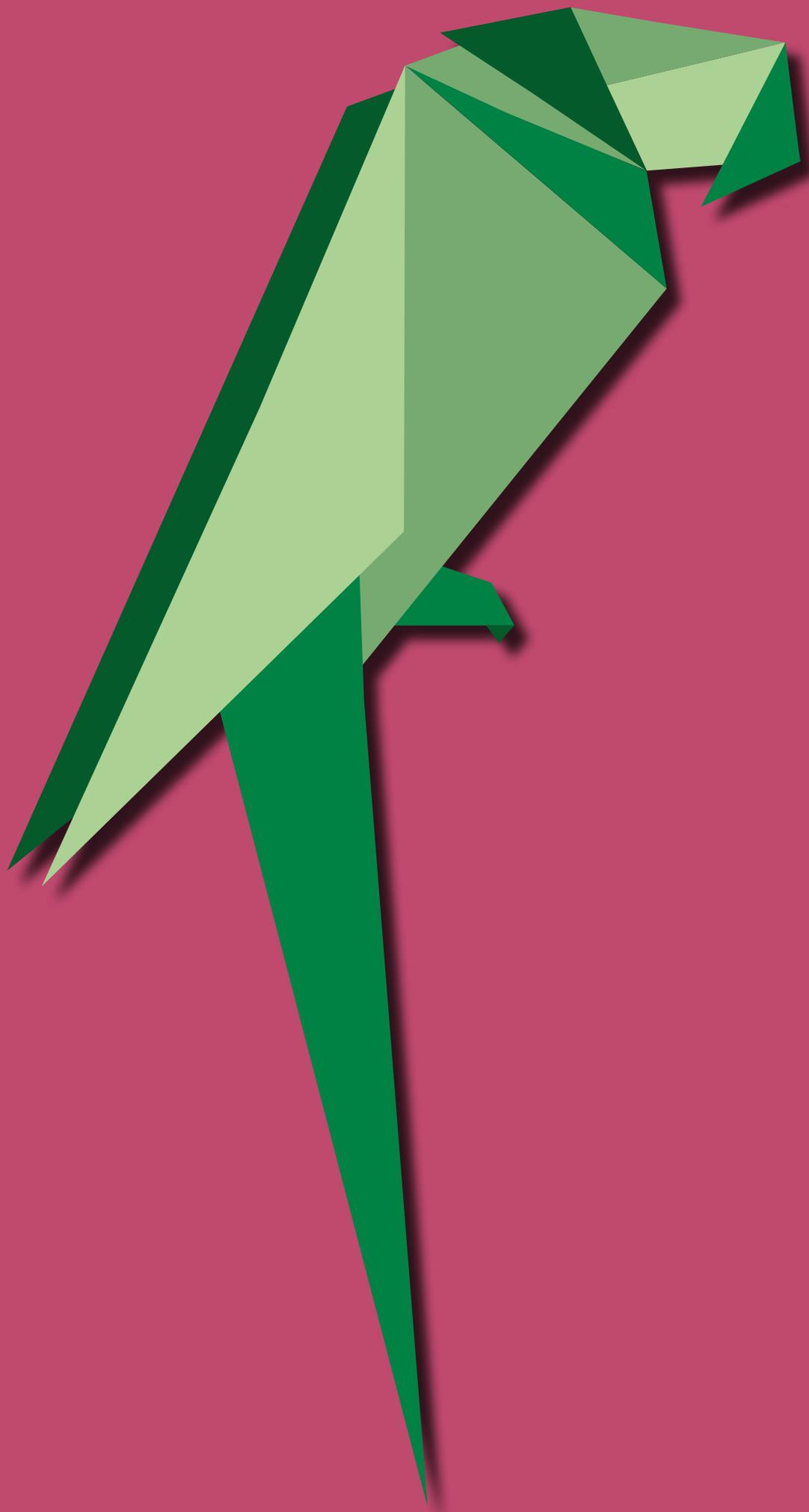
DESCRIÇÃO DO ITEM	CLASSIFICAÇÃO
Ambientes Físicos	
Áreas de Apoio	
Área administrativa.	R
Depósitos	
Depósito para estocagem de ração, forragem e cama.	OB
Ração, forragem e cama armazenada sem contato com o piso ou paredes.	OB
Depósito de resíduos isolado das demais áreas.	OB
Depósito de produtos químicos e medicamentos.	OB
Detalhes construtivos/Ambiente	
Paredes, pisos e tetos de materiais que possibilitem a higienização e desinfecção.	OB
Instalações que promovam a segurança e o bem-estar dos animais, de acordo com as especificações do Concea.	OB
Dimensionamento dos alojamentos das espécies de acordo com as orientações do Concea.	OB
Área para eutanásia separada das demais.	OB
Local para descarte de carcaças.	OB
Procedimentos	
Sistema de transporte de acordo com as especificações do Concea.	OB
Enriquecimento ambiental, exceto se justificado.	OB
Manual de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).	R
Gerenciamento de resíduos sólidos de acordo com a legislação vigente.	OB
Plano de desinfecção das instalações.	OB

Capítulo 13

Estudos conduzidos com
animais silvestres

mantidos fora

de instalações de instituições de
ensino ou pesquisa científica



COORDENADORA:

Norma Vollmer Labarthe Fundação Oswaldo Cruz

AUTORES:

Ana Cristina Vendrametto Varrone Giacomini Universidade de Passo Fundo

Cristiane Schilbach Pizzutto Universidade de São Paulo

Christina Wippich Whiteman Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

Leonardo José Gil Barcellos Universidade de Passo Fundo

Marcelo Lima Reis Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Rogério Ribas Lange Universidade Federal do Paraná

Sandra Helena Ramiro Corrêa Universidade Federal de Mato Grosso

Citação recomendada: GIACOMINI, A.C. V. V.; PIZZUTTO, C. S.; WHITEMAN, C. W.; BARCELLOS, L. J. G.; REIS, M. L.; LANGE, R. R. ; CORRÊA, S. H. R. (2023) Capítulo 13 - Estudos conduzidos com animais silvestres mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica. pp. 790-855. In: LABARTHE, N. V. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Contextualização	797
2. Objetivo	798
3. Justificativa	799
4. Responsabilidades do pesquisador principal ou professor responsável	800
5. Responsabilidades do mantenedouro	803
5.1. Gerais	803
5.2. Pessoa jurídica	803
6. Considerações gerais	805
6.9.1. Répteis:	806
6.9.2. Aves e mamíferos:	806
6.9.3. Anfíbios:	807
6.9.4. Peixes:	808
6.10. Enriquecimento ambiental:	808
7. Instalações temporárias	809
8. Instalações permanentes	810
8.1. Classe Reptilia	810
8.1.1. Gerais	810
8.1.2. Específicos: Tabela 1 – RÉPTEIS	811
8.2. Classe aves	817
8.2.1. Gerais	817
8.2.2. Específicos para Aves - Tabela 2	819
8.3. Classe Mammalia	828
8.3.1. Gerais	828
8.3.2. Específicos - Tabela 3	829
8.4. Pisces (Osteichthyes e Chondrichthyes)	847
8.4.1. Gerais	847
8.4.2. Específicos	850
8.4.2.1. <i>Danio rerio</i> (Zebrafish)	850
8.5. Classe Lissamphibia	851
8.5.1. Específico	851
9. Glossário:	853
10. Referências bibliográficas:	854

ANIMAIS SILVESTRES

1. Contextualização

Este capítulo do Guia trata da adequação das condições de alojamento e de manejo de animais silvestres vertebrados mantidos em condições *ex situ* (cativeiro) para utilização em atividades de ensino e/ou pesquisa científica e que se encontram alojados em locais que não são ou não estão vinculados a instituições de ensino e/ou de pesquisa científica.

As informações aqui prestadas estão de acordo com os dados constantes na Instrução Normativa IBAMA Nº 7, de 30 de abril de 2015.

As instalações animais nas quais estes animais podem ser alojados foram consideradas como: **i)** instalações permanentes; ou **ii)** instalações temporárias. São exemplos:

Instalações permanentes: Jardins zoológicos não destinados a atividades de ensino e/ou pesquisa científica, criadouros comerciais, mantenedouros, criadouros científicos para fins de conservação ou pessoas físicas regularizados por órgãos oficiais de manejo de fauna;

Instalações temporárias: Centros de triagem de fauna silvestre, centros de reabilitação de fauna silvestre nativa, comerciantes de animais vivos da fauna silvestre, hospitais, clínicas ou consultórios veterinários ou locais como setores extras ou de quarentena.

O atendimento a todas as exigências deste capítulo não exime a observância das leis e demais determinações na legislação nacional, em especial as emanadas do Ministério do Meio Ambiente, Ibama, ICMBio, MCTI, Concea, CTNBio e Secretarias de Meio Ambiente estaduais e municipais.

Todos os estudos, obrigatoriamente, devem ter um pesquisador principal ou um professor responsável e não podem ser iniciados antes da aprovação da CEUA. A CEUA responsável pela autorização do estudo deverá ser da instituição credenciada junto ao Concea à qual o pesquisador principal ou o professor responsável é afiliado, pois entende-se que as instalações onde os animais estão alojados não fazem parte de instituições de ensino e/ou de pesquisa científica.

Os relatos de casos atendidos na rotina médico-veterinária não se configuram para este guia por serem relatos de ocorrências e procedimentos de profilaxia ou tratamento veterinário necessários ao animal. Todavia, cabe ressaltar que o pesquisador deverá obter o termo de consentimento formal por parte do responsável pelo animal para que os dados do(s) animal(is) sejam publicados.

2. Objetivo

O objetivo desse capítulo é orientar sobre a condução de atividades de ensino e/ou de pesquisa científica envolvendo animais silvestres cativos alojados em instalações que não são ou não estão vinculadas a instituição de ensino e/ou de pesquisa científica quanto aos aspectos éticos relacionados ao manejo e bem-estar.



3. Justificativa

Milhares de indivíduos de espécies silvestres vivem hoje em condições de cativeiro, pois a cada dia estes animais perdem seus nichos ecológicos e lutam pela sobrevivência em ambientes modificados e sujeitos a alterações por ação antrópica progressiva. Cada uma destas espécies apresenta características específicas e necessidades biológicas diversificadas. Logo, a busca por informações científicas sobre sua biologia, fisiologia, características comportamentais naturais ou estimuladas por alterações ambientais, reações a estímulos físicos ou químicos e demais aspectos a serem pesquisados e entendidos por meio das pesquisas se faz obrigatória para aumentar as possibilidades de sobrevivência e para reduzir as lacunas de conhecimento que dificultam o controle dos impactos sobre sua existência em seu ambiente natural.

Independente da espécie silvestre em questão, toda e qualquer atividade de ensino e/ou pesquisa desenvolvida com estes animais deverá respeitar os princípios e os padrões éticos no que diz respeito ao bem-estar animal.

Considerando que o Concea deve garantir que os animais vertebrados vivos utilizados em qualquer tipo de atividade de ensino e/ou de pesquisa científica tenham sua integridade e bem-estar preservados, a condução dos estudos com esses animais fora das instituições de ensino e/ou de pesquisa científica deve obrigatoriamente se adequar às normas do Concea e às demais regras aplicáveis.

4. Responsabilidades do pesquisador principal ou professor responsável

- 4.1.** Ter qualificação para condução de trabalhos com animais silvestres;
- 4.2.** Ter conhecimento sobre as características particulares e necessidades da espécie silvestre a ser utilizada nas atividades de ensino e/ou de pesquisa científica propostas;
- 4.3.** Garantir que as necessidades etológicas, biológicas, fisiológicas, nutricionais, higiênico-sanitárias e psicológicas dos animais sejam atendidas durante todo o período da pesquisa;
- 4.4.** Garantir que a utilização dos animais não humanos durante o estudo não comprometerá as necessidades básicas de bem-estar e características biológicas dos indivíduos;
- 4.5.** Garantir a exclusão de qualquer exemplar da pesquisa quando este apresentar qualquer indício de agravamento de distúrbios clínicos ou comportamentais que não sejam foco do estudo;
- 4.6.** Garantir que toda a equipe envolvida com a condução do estudo seja qualificada para a execução de suas tarefas;
- 4.7.** Garantir o cumprimento das normas éticas, administrativas e, eventualmente, jurídicas da Instituição mantenedora para a condução da pesquisa;
- 4.8.** Garantir que qualquer alteração ao projeto de estudo original seja comunicada à CEUA que o autorizou, acompanhada de justificativa, previamente à sua implementação ou no prazo máximo de 72 horas após sua implementação;
- 4.9.** Garantir que as atividades desenvolvidas com os animais do estudo tenham a supervisão de um biólogo com registro ativo no Conselho Regional de Biologia pertinente quando se tratar de atividade relacionada ao escopo da biologia;
- 4.10.** Garantir que as atividades desenvolvidas com os animais do estudo tenham a supervisão de um médico veterinário e de um biólogo com registros ativos, respectivamente no Conselho Regional de Medicina Veterinária e no Conselho Regional de Biologia correspondentes, quando as atividades se relacionarem ao escopo de ambas as formações profissionais;
- 4.11.** Garantir a supervisão de médico veterinário ou zootecnista e biólogo da instalação animal responsável por

elas para monitorar os animais em suas áreas de competência, garantindo condições de saúde, de manejo e a qualidade de vida deles durante a sua utilização;

4.12. Garantir a segurança do animal e evitar a ocorrência de acidentes e fugas dos animais durante a execução da pesquisa, sem eximir a responsabilidade da instituição mantenedora do animal;

4.13. A captura de animais que tenham fugido em decorrência das atividades da pesquisa é responsabilidade do pesquisador principal ou do professor responsável. Caso a captura não seja bem-sucedida, o episódio deverá ser comunicado imediatamente à instituição mantenedora e às autoridades competentes, como a CEUA na qual o projeto está aprovado. Exclui-se a responsabilidade do pesquisador principal ou professor responsável quanto à captura quando houver fuga de animais sem relação com as atividades de ensino e/ou pesquisa, mesmo que ocorram durante o período de estudo;

4.14. Ter um plano de contingência para casos de fuga ou de acidentes com outros animais, humanos ou não humanos, relacionados com as atividades de ensino ou pesquisa;

4.15. Garantir que a pesquisa terá recursos financeiros, humanos, e outros que suportem a condução do estudo, durante o período do estudo e até a destinação dos animais, quando cabível;

4.16. Garantir que a legislação vigente referente às seguranças individual e coletiva seja seguida durante todas as etapas da atividade;

4.17. Garantir cuidados médico-veterinários clínicos e cirúrgicos aos animais durante o estudo, quando necessário;

4.18. Garantir que a pesquisa seja realizada dentro de um menor período possível para a obtenção das informações, respeitando o período adequado dos animais quando mantidos na condição de privação de espaço ou condições de manutenção exigidas durante o estudo;

4.19. Acompanhar todos os procedimentos previstos na proposta de acordo com um plano estabelecido antes do início das atividades, garantindo que a estrutura ideal para o estudo e para o atendimento das solicitações deste manual sejam respeitadas;

4.20. Notificar todos os eventos adversos não previstos no projeto do estudo à CEUA e à instituição mantenedora em até 24 horas após o conhecimento do evento, assim como soluções alternativas aos eventuais problemas, sem comprometer o bem-estar dos animais até que haja condição de continuidade do estudo, modificação da proposta inicial ou mesmo interrupção definitiva da pesquisa;

4.21. Garantir que o termo de consentimento da pessoa física ou da instituição responsável pelos animais seja assinado e datado antes de qualquer procedimento com o animal, constando nesta documentação a autorização da CEUA e do Sisbio, quando necessário;

4.22. Cumprir o delineamento da proposta conforme aprovada pela CEUA;

4.23. Será dado ao pesquisador principal ou professor responsável o direito de delegar tarefas. Quando for necessário delegar tarefas do estudo a outros membros da equipe, acordos por escrito devem ser elaborados entre as partes e comunicados ao mantenedor e à CEUA. O pesquisador principal ou professor responsável pode delegar tarefas para pessoas com capacidade técnica e competência; contudo, o pesquisador não pode delegar a responsabilidade pela condução do trabalho, assim como a tomada de decisões durante o processo de estudo e a correta condução das normas de bem-estar até a devida destinação dos animais após o estudo;

4.24. Garantir que seus resultados sejam submetidos à publicação para conhecimento da comunidade científica, assim como a replicação de seus resultados como referência científica.

5. Responsabilidades do mantenedouro

5.1. Gerais

5.1.1. Ter autorização de uso e manejo (AM) de animais silvestres em suas dependências e licença de operação (LO), estando de acordo com as exigências dos órgãos oficiais de manejo de fauna (e.g. Ibama);

5.1.2. Não interromper o projeto sem justificativas. Os exemplos de casos que justificam a suspensão imediata das atividades são: comprometimento de saúde pública, comprometimento do bem-estar animal ou desrespeito à ética;

5.1.3. Facilitar a execução do projeto previamente acordado e autorizado pela devida CEUA;

5.1.4. Permitir a publicação de resultados obtidos durante as pesquisas;

5.1.5. Garantir a exclusão de quaisquer animais que tenham o bem-estar comprometido além do autorizado pela CEUA, por razões de comprometimento da saúde clínica, mental ou alterações comportamentais;

5.1.6. Autorizar ou propiciar, quando for o caso, a realização de necropsia e emissão de laudo por profissional competente de todos os animais participantes das atividades de ensino ou pesquisa científica que venham a morrer. Disponibilizar o laudo ao pesquisador principal ou professor responsável quando for o caso.

5.2. Pessoa jurídica

5.2.1. Disponibilizar um médico veterinário, um biólogo ou um zootecnista para supervisionar os animais em suas áreas de competência garantindo as condições de saúde, de manejo e a qualidade de vida deles durante a execução do projeto;

5.2.2. Disponibilizar material para atendimento emergencial em caso de acidentes com a equipe;

5.2.3. No caso de utilização sequencial de um mesmo indivíduo, exigir que a CEUA autorize a sequência possível dos procedimentos que poderão ser realizados, bem como o intervalo para descanso biológico e fisiológico dos animais;

5.2.4. Atribuir ao responsável técnico das instalações animais a comunicação à CEUA de qualquer não conformidade em relação aos projetos autorizados pela CEUA;

5.2.5. Exigir que os protocolos de analgesia, anestesia, contenções físicas e químicas tenham a anuência do responsável técnico pela instalação animal da instituição antes da proposta ser submetida à apreciação da CEUA;

5.2.6. A aplicação de substâncias ou medicamentos poderá ser feita pelo pesquisador principal, responsável ou membro da equipe desde que devidamente treinado e sob a supervisão do responsável técnico da instalação animal da instituição mantenedora.

6. Considerações gerais

6.1. Toda proposta deve ser apresentada à CEUA institucional por um pesquisador principal ou professor responsável devidamente vinculado a uma Instituição de Ensino ou Pesquisa Científica, que obrigatoriamente deve ser credenciada junto ao Concea;

6.2. Em instituições que não possuam autorização de uso e manejo de fauna ou licença de operação, ou que estejam embargados juridicamente, não são permitidas atividades de ensino ou de pesquisa científica;

6.3. A determinação da destinação dos animais utilizados em pesquisa deverá constar na proposta apresentada à CEUA;

6.4. As atividades de ensino e/ou de pesquisa científica devem ser realizadas com animais alojados em condições mínimas de recinto primário, conforme determinação atualizada do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), que atualmente é a Instrução Normativa Número 7/2015/Ibama;

NOTA: Os animais mantidos em recintos primários de baixa qualidade e fora das conformidades das tabelas 1, 2 e 3 poderão ser incluídos somente em estudos quando o objetivo principal incluir uma avaliação ou melhoria destas condições. Os resultados e conclusões deverão ser formalmente encaminhados aos mantenedores com sugestões para melhorias. Estas pesquisas só poderão ser realizadas mediante justificativa detalhada e autorização específica da CEUA. Além disso, em caso de flagrante de maus tratos ou condições precárias, o pesquisador principal ou o professor responsável deve tratá-lo na forma da legislação vigente no Brasil.

6.5. Os projetos de ensino e/ou de pesquisa científica que objetivem apenas observações, sem qualquer manipulação ou intervenção no manejo dos animais devem ser autorizados pela CEUA pertinente;

6.7. O ritmo circadiano das diferentes espécies deve ser respeitado sempre, de tal forma que propostas de atividades de ensino e/ou pesquisa científica que necessitem incluir mudanças de fotoperíodo deverão incluir justificativas específicas que deverão ser detalhadamente avaliadas pela CEUA pertinente e autorizadas;

6.8. Os relatos de casos atendidos na rotina médico-veterinária não se configuram em atividades de ensino e/ou pesquisa científica por serem relatos de ocorrências e procedimentos de profilaxia ou tratamento veterinário (clínico

ou cirúrgico) do qual o animal necessitava. Cabe salientar que nesses casos qualquer exame ou coleta de material biológico que não tenha a estrita intenção de atender ao animal em questão não poderá ser executado (como a coleta de maior volume de sangue, penas ou tecido);

6.9. As pesquisas que objetivam o isolamento de qualquer espécie animal que viva em estrutura social deverão ocorrer dentro do menor tempo possível. Estes isolamentos devem ser detalhados e justificados na proposta a ser avaliada e autorizada pela CEUA;

6.10. Os animais constantes deste guia foram assim divididos:

6.9.1. Répteis:

Devido à grande variedade de formas e hábitos de vida das espécies que compõem esta classe animal, estabelece-se que os recintos primários devem sempre atender ao que está estabelecido na IN do Ibama que está vigente (veja tabelas). Entretanto, quando for o caso, as serpentes poderão ser mantidas em recintos primários diferentes do estabelecido na IN, e nesses casos, o número de animais por recinto primário não deve ser superior a dois. As dimensões do espaço físico devem ser compatíveis ao tamanho da serpente; o corpo enrolado não pode ocupar mais de 1/3 da área. Para as serpentes arborícolas, a altura do espaço físico deve corresponder no mínimo à metade do comprimento do corpo do animal. As serpentes semiaquáticas ou aquáticas devem ter um local que possam nadar ou banhar-se, mas também a opção de um local que possam permanecer sem estar em contato com a água, mantendo todo seu corpo em ambiente seco.

6.9.2. Aves e mamíferos:

Devido à grande variedade de espécies e hábitos de vida que compõem estas classes animais, estabelece-se que os recintos primários devem sempre atender ao que está estabelecido na IN do Ibama que se encontra vigente (veja tabelas). Entretanto, quando for o caso, o mínimo aceitável é que dentro do espaço físico, o animal possa girar completamente o corpo sobre seu eixo, respeitando a metragem de três vezes o comprimento de seu corpo nas três dimensões (largura, comprimento e altura). Em pelo menos um terço do espaço físico do animal deverá haver abrigos e substratos compatíveis com a necessidade da espécie, assim como folhagens, areia, cascas de árvores etc. Para as

aves, pelo menos três alturas de poleiros roliços com diâmetros compatíveis com a anatomia de cada espécie ofertando conforto para o animal ou plataformas de pouso devem ser previstas, a exceção das aves de hábitos forrageiros, terrícolas ou estritamente aquáticas.

6.9.3. Anfíbios:

As condições mínimas de manutenção de anfíbios seguirão o capítulo “Anfíbios e serpentes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica” publicada pelo CONCEA. A instalação animal deve ser provida de caixas plásticas retangulares de vários tamanhos e alturas, com tampa telada, preferencialmente dotada de grampos de segurança, com um bom encaixe no corpo da caixa. As caixas devem ser adequadas aos hábitos de vida de cada animal. Assim, pererecas, animais arborícolas e trepadores, devem ser colocados em caixas altas, enquanto espécies de chão, tais como pequenas rãs e sapos e espécies semi-fossórias, como alguns microhilídeos, podem ser acondicionados em caixas mais baixas. Os terrários de vidro podem ser utilizados em alguns casos, desde que bem vedados e com tampa telada, sendo ideais para a manutenção de dendrobatídeos.

Para os sapos e as rãs de grande porte, o ideal é a utilização de tanques de alvenaria azulejados, porém tanques plásticos ou de fibra de vidro também são aceitos desde que tenham cerca de 60 cm (largura, altura e profundidade), fechados com tampas teladas montadas com dobradiças, e providos de torneira com bico de rosca a uma altura de cerca de 30 cm e ralo (bem vedado) no chão. Os potes de cerâmica, porcelana ou plásticos, de vários tamanhos e profundidades, são necessários para a colocação de água em cada ambiente, dependendo do tamanho e hábito dos animais. Devem ter boca larga e ser estáveis, já que os anfíbios costumam mergulhar na água desses recipientes para se hidratarem.

Para os animais aquáticos, utiliza-se grandes aquários ou tanques com tampa, providos de uma longa coluna de água (com cerca de 50 cm) e de sistema de filtragem constante. Idealmente, no caso do uso de água tratada, esta deve ser previamente descansada (declorificada).

No caso de pipas, deve-se manter estruturas que permitam aos animais escalar, entretanto, deve-se utilizar tanques cilíndricos de paredes bem lisas e sem transparência, que não ofereçam possibilidade de os animais escalam por cantos. Para esses animais a aeração não é necessária, já que a água deve ser necessariamente trocada após a alimentação, que quase sempre suja muito o ambiente. Caso sejam utilizados terrários de vidro ou caixas plásticas re-

tangulares, deve-se promover uma boa vedação da tampa, já que esses animais escapam com muita facilidade mesmo por pequenas frestas.

Para as cecílias aquáticas, o ambiente ideal é idêntico ao utilizado para peixes, com sistema de filtração externo, cascalho no fundo e aeração, tomando-se apenas o cuidado de se manter uma longa coluna de água e uma boa vedação na tampa. As cecílias de correnteza como as do gênero *Typhlonectes* apreciam a corrente de água que se estabelece por meio da filtração e aeração.

6.9.4. Peixes:

Deverão seguir o item 8.4 deste guia.

6.10. Enriquecimento ambiental:

Devido à grande diversidade de espécies, com necessidades comportamentais e biológicas distintas, fica estabelecido que todos os animais devem receber um espaço físico com complexidade suficiente que permita a expressão da extensa variedade comportamental compatível com a espécie; todos os ambientes deverão conter pelo menos dois itens permanentes de enriquecimento ambiental, possibilitando controle e escolhas no seu ambiente, a exemplo dos pontos de fuga (como galhos, substratos, tocas etc.) e pelo menos três vezes por semana de enriquecimento alimentar (para animais que se alimentam todos os dias); todos os enriquecimentos devem ser ofertados de acordo com as características das espécies e suas necessidades biológicas, objetivando uma maior adaptação do animal, bem como a inclusão de maior mobilidade física, estímulos ao forrageamento, atividades manipulativas e cognitivas (quando couber), reduzindo assim, comportamentos induzidos pelo estresse do cativeiro (DIRECTIVE 2010/63/EU). Qualquer atividade de produção, manutenção ou utilização que necessite alterar o disposto neste item deverá ser detalhada e justificada na proposta a ser encaminhada à CEUA institucional que deverá avaliar a pertinência da proposta.

7. Instalações temporárias

7.1. São consideradas instalações temporárias aquelas onde o animal pode permanecer por um curto período de tempo, apenas o suficiente para sua recuperação ou retorno a suas habilidades naturais de comportamento e sobrevivência. O status de saúde deve ser atestado pelo médico veterinário responsável técnico pela instalação animal.

7.2. Os estudos conduzidos nas condições de manutenção temporária devem respeitar o tempo de permanência adequado, para a recuperação dos espécimes e a pronta necessidade de saída do ambiente temporário em função de alta médica ou encaminhamento para reabilitação. O tempo de permanência adequado é determinado pelo responsável técnico da instalação animal.

7.3. Se houver atividades de ensino e/ou pesquisa com animais que se encontram nas condições de instalações temporárias, aplicam-se as normas pontuadas nos itens 6.9 e 6.10.

8. Instalações permanentes

8.1. Classe Reptilia

Os recintos destinados aos répteis, observadas as particularidades quanto ao comportamento social, alimentar e reprodutivo deverão atender aos seguintes requisitos:

8.1.1. Gerais

8.1.1.1. Os recintos abertos devem proporcionar locais para exposição solar, permitindo que a totalidade do corpo de todos os animais possam ficar expostas; devem existir áreas de sombreamento, que possibilitem o animal se proteger de intempéries climáticas (chuvas, ventos e temperaturas elevadas);

8.1.1.2. Os recintos fechados (terrário ou paludário) deverão possuir iluminação artificial composta de lâmpadas especiais que, comprovadamente, sejam equivalentes às radiações solares, à exceção daqueles de serpentes que se alimentam de organismos inteiros. Independentemente do tipo de lâmpadas usado, o fotoperíodo deve estar de acordo com a necessidade da espécie e da região de origem dos indivíduos, segundo literatura específica;

8.1.1.3. Todos os recintos, abertos ou fechados devem conter “pontos de fuga”, que possibilitem ao animal ter livre acesso para se esconder/proteger, sempre que sentir necessidade;

8.1.1.4. Todos os recintos, abertos ou fechados, devem promover fácil acesso a água potável *ad libitum* para todos os animais; devem promover fácil acesso a comedouros removíveis e laváveis, de fácil higienização e desinfecção, higienizados diariamente;

8.1.1.5. Toda a alimentação ofertada deve respeitar as necessidades nutricionais e as características anátomo-fisiológicas de cada espécie;

8.1.1.6. Todo recinto que abriga fêmeas adultas deverá conter uma área com piso que permita o comportamento de cavar e substrato apropriado para a desova. A possibilidade de oviposição deve ser claramente indicada na proposta encaminhada à CEUA, que deverá avaliar cuidadosamente;

8.1.1.7. Todo recinto deve ter piso de areia, terra, grama, folhiço, troncos, pedras ou combinações de pelo menos

2 itens, respeitando as características de cada espécie, de modo a proporcionar mais conforto para os animais. Exce-
tuam-se aqui, os recintos de quarentena;

8.1.1.8. As paredes e o fundo de tanques ou lagos não deverão apresentar aspereza capaz de acarretar em
lesões nos animais;

8.1.1.9. Os tanques ou espelhos d'água deverão ter pelo menos um dos lados com inclinação máxima de 40°
para facilitar o acesso do animal e evitar o afogamento de filhotes. A água deverá ser corrente, ou renovável;

8.1.1.10. Os recintos fechados deverão ter a temperatura e umidade controladas, mantidas dentro do padrão
considerado ideal para cada espécie, baseando-se em literatura apropriada e com diferentes gradientes de temperatu-
ra. As pedras ou troncos aquecidos deverão ser ofertados em todos os espaços físicos;

8.1.1.11. Os recintos para espécies com hábitos arborícolas devem conter galhos ou equivalentes que possibil-
tem o comportamento arborícola do animal, sem colocar em risco a sua integridade física;

8.1.1.12. Os enriquecimentos ambientais devem seguir o estabelecido no item 6.10.

8.1.2. Específicos: Tabela 1 – RÉPTEIS

As densidades máximas de ocupação estabelecidas determinam as quantidades máximas aceitáveis de espéci-
mes de répteis por área de recinto (IBAMA 2015).

LEGENDA:

(DO) = Densidade Máxima. As densidades máximas de ocupação estabelecidas determinam as quantidades máximas
aceitáveis de espécimes por área de recinto.

a) Ordem Testudines

1: Família Testudinidae (Quelônios terrestres):

As seguintes Densidades Máximas de Ocupação (DO) dos recintos deverão ser atendidas:

Comprimento da Carapaça	DO	Outros aspectos recomendáveis
Até 10 cm	10 animais/1m ²	Necessidade de vegetação
De 10 a 20 cm	10 animais/4m ²	Necessidade de vegetação
Acima de 20 cm	1 animal/2m ²	Necessidade de vegetação

2: Famílias: Chelidae, Emydidae, Kinosternidae, Pelomedusidae e Trionychidae (Quelônios aquáticos e semi-aquáticos de água doce)

→ Em todos os recintos deve-se prover áreas de assoalhamento dentro dos espelhos d'água com troncos e pedras.

As seguintes Densidades Máximas de Ocupação (DO) deverão ser atendidas:

Comprimento da Carapaça	DO	Outros aspectos recomendáveis
Até 10 cm	10 animais/1m ²	60% da área formada por água. Profundidade mínima de 5cm
De 10 a 30 cm	10 animais/4m ²	60% da área formada por água. Profundidade mínima de 20 cm
De 30 a 50 cm	1 animal/1m ²	60% da área formada por água. Profundidade mínima de 30 cm
Mais que 50 cm	1 animal/2m ²	60% da área formada por água. Profundidade mínima de 60 cm

b) Ordem Crocodylia

1: Famílias: Alligatoridae, Crocodylidae e Gavialidae

→ Todos os recintos deverão ter vegetação

→ Nas áreas secas deverá existir folhigo para eventuais desovas

→ Pelo menos 50% da área deverá ser formada por água.

As seguintes Densidades Máximas de Ocupação (DO) deverão ser atendidas:

Comprimento do animal	DO	Outros aspectos recomendáveis
Até 50 cm	01 animal/ 1 m ²	Espelho d'água de profundidade mínima de 30 cm
De 50 a 100 cm	01 animal/ 5 m ²	Espelho d'água de profundidade mínima de 30 cm
De 100 a 200 cm	01 animal/10 m ²	Para cada casal = 50 m ² +10% da área por fêmea introduzida no harém. Espelho d'água de profundidade mínima de 100 cm
De 200 a 300 cm	01 animal/ 15 m ²	Para cada casal = 100 m ² +10% da área por fêmea introduzida no harém. Espelho d'água de profundidade mínima de 110 cm
Acima de 300 cm	01 animal/20 m ²	Para cada casal = 150 m ² +10% da área por fêmea introduzida no harém. Espelho d'água de profundidade mínima de 120 cm

c) Ordem Squamata

1: Sub-ordens: Lacertília e Amphisbaenia

Famílias: Agamidae, Amphisbaenidae, Anguidae, Anniellidae, Chamaeleonidae, Cordylidae, Gekkonidae, Heliodermatidae, Iguainidae, Lacertidae, Scincidae, Teiidae, Varanidae, Xantusidae e Xenosauridae

→ Os recintos devem obrigatoriamente ter vegetação

→ Se abrigar espécies de hábitos semiaquáticos, o alojamento deverá possuir tanque condizente com o tamanho dos animais

As seguintes Densidades Máximas de Ocupação (DO) deverão ser atendidas:

Comprimento do animal	DO	Outros aspectos recomendáveis
Até 15 cm	01 animal/ 1 m ²	30 cm de altura mínima das laterais
De 15 a 30 cm	01 animal/ 2,5 m ²	60 cm de altura mínima das laterais
De 30 a 100 cm	01 animal/ 1 m ²	130 cm de altura mínima das laterais
Acima de 100 cm	01 animal/ 4 m ²	200 cm de altura mínima das laterais

2: Sub-ordem Serpentes

Famílias: Anniidae, Boidae, Colubridae, Elapidae, Leptotyphlopidae, Typhlopidae, Uropeltidae, Xenopeltidae e Viperidae

→ Se abrigar espécies de hábitos semiaquáticos, o alojamento deverá possuir tanque condizente com o tamanho dos animais

As seguintes Densidades Máximas de Ocupação (DO) deverão ser atendidas:

Comprimento do animal	DO	Outros aspectos recomendáveis
Até 50 cm	01 animal/1 m ²	50 cm de altura mínima das laterais
De 50 a 100 cm	01 animal/1,5 m ²	100 cm de altura mínima das laterais
De 100 a 200 cm	01 animal/2 m ²	150 cm de altura mínima das laterais
De 200 a 300 cm	01 animal/3 m ²	150 cm de altura mínima das laterais
Acima de 300 cm	01 animal/4 m ²	200 cm de altura mínima das laterais

3: Segurança

a) Todo o recinto para répteis peçonhentos deverá oferecer o máximo de segurança possível para o animal, o tratador, o técnico e o visitante.

b) O local ou recinto onde os répteis peçonhentos estarão alojados, incluindo no setor extra e quarentenário, deverão ter vedação externa total (incluindo portas fechadas com chave e com vãos protegidos, janelas com molduras de tela fina, ralos de escoamento de água gradeados, conduítes elétricos com aberturas protegidas, respiradouros telados e outras providências que se façam necessárias para evitar fugas). A área de visitação deverá ter possibilidade de isolamento ao público.

c) Os recintos e caixas que alojam répteis peçonhentos deverão ter fichas, uma fixa e uma removível, contendo os seguintes itens em letras grandes e legíveis:

→ Réptil Peçonhento (escrito em vermelho).

→ Nome Vulgar.

→ Nome Científico.

→ Tipo de antiveneno.

→ Código (com números, letras, cores, etc.) para identificar com rapidez o estoque de antiveneno guardado na instituição, ou mantido em hospital de referência, facilitando a identificação em caso de emergência.

→ Nome, endereço e telefone do hospital de referência para tratamento dos acidentes por animais peçonhentos.

d) Em caso de terrários expostos à visitação pública, que utilizem visores de vidro, estes deverão ser laminado ou temperado, capazes de resistir a impactos diretos, com as seguintes espessuras:

→ até 0,25m² - 4 mm;

→ de 0,25 a 1 m² - 5 mm;

→ de 1 a 2 m² - 8 mm; e

→ acima de 2 m² - 10 mm.

e) Quando necessário, o recinto deverá ser dotado de sistema eficiente de cambiamento. Caixas com tampas corredeiras acopladas ao recinto principal fornecerão um manejo seguro e facilidade de transferência sem riscos. As portas de acesso deverão ter fechaduras ou cadeados, com chaves de acesso restrito.

f) Os locais onde répteis peçonhentos são mantidos e manejados deverão possuir um sistema de alarme a ser acionado em caso de acidente.

Da segurança

Normas Básicas de Segurança para a manutenção de répteis peçonhentos em jardim zoológico

1) Considerações Gerais

1.1) O jardim zoológico que mantém ou deseja manter répteis peçonhentos exóticos será o responsável pela posse, em condições ideais de estocagem, em suas instalações ou no hospital de referência para tratamento dos acidentes por animais peçonhentos, de antiveneno específico suficiente (conforme bula, traduzida para o português) para o tratamento de, no mínimo, três acidentados. Esse estoque deverá ser guardado em local seguro e de fácil acesso. O processo de obtenção do antiveneno para reposição deverá ser iniciado pelo menos seis meses antes da data final do prazo de validade e imediatamente, no caso de utilização.

1.2) Em caso de répteis peçonhentos exóticos, manter cópia da bula de antiveneno indicado para tratamento, já traduzida para o português, para que, no caso de acidente, seja encaminhada ao hospital de referência, juntamente com o acidentado e o respectivo antiveneno, no caso deste ser mantido no próprio jardim zoológico. Cópia da tradução da bula também deverá ser fornecida, previamente, ao hospital de referência, para arquivo e consulta em caso de acidente. Além da bula traduzida, o jardim zoológico deverá manter em local de fácil acesso, enviando cópia para o hospital de referência, informações básicas sobre o acidente causado por esses animais e as orientações para o tratamento. Aplica-se às serpentes dos gêneros *Lachesis*, *Micrurus* e *Crotalus*, fora de suas áreas de distribuição original, as mesmas recomendações dos itens 1.1 e 1.2.

1.3) A não observância aos itens 1.1 e 1.2 acarretará a apreensão imediata dos animais pelo Ibama.

1.4) Uma vez autorizada a importação de répteis peçonhentos, o não cumprimento dos itens 1.1 e 1.2, no exato momento da chegada do animal, o Ibama determinará o retorno dos espécimes à sua origem.

1.5) Os zoológicos devem providenciar treinamento específico sobre répteis peçonhentos para os seus funcionários que trabalhem diretamente com estes animais, abordando os seguintes itens:

→ Normas Básicas de Manejo com Répteis em Cativeiro.

→ Normas Específicas de Manejo com Répteis Peçonhentos em Cativeiro.

→ Normas Básicas de Segurança.

→ Normas de Primeiros Socorros e Noções de Envenenamento.

Estes cursos deverão ser ministrados por instituições com tradição de manutenção e manejo de répteis peçonhentos em cativeiro.

2) Quanto ao manejo

2.1) Será obrigatório o uso de equipamento de segurança, quando do manejo direto, sendo considerado como equipamento mínimo necessário, o gancho, o laço de Lutz e um recipiente para contenção temporária do animal. O equipamento deverá estar sempre disposto em locais visíveis, em pontos estratégicos e de fácil acesso.

2.2) Os procedimentos de manejo direto (manuseio, tratamentos, alimentação forçada, sexagem) devem ser executados por, no mínimo, de duas pessoas com experiência. Mesmo em situações de rotina é aconselhável a presença de duas pessoas, pelo menos no mesmo edifício.

3) Normas de Socorro

3.1) Cada zoológico deverá possuir um procedimento interno a ser seguido em caso de acidente, que deverá ser redigido de maneira simples e legível a ser afixado em todos os locais de manejo de répteis peçonhentos, observando-se as seguintes recomendações básicas, conforme modelo abaixo:

Em caso de acidente com répteis peçonhentos, o acidentado deverá:

- Retirar do recinto, imediatamente, a ficha removível de identificação e mantê-la consigo o tempo todo;
- Acionar o alarme e chamar o seu colega de trabalho;
- Permanecer em repouso.

Em caso de acidente com répteis peçonhentos, quem presta socorro deverá seguir o procedimento interno do seu jardim zoológico, observando as seguintes precauções básicas:

- Providenciar a contenção do animal agressor, caso este esteja solto;
- Manter o acidentado em repouso;
- Verificar se o acidentado retirou e possui a ficha removível do recinto do réptil que o picou;
- No caso de acidente com réptil peçonhento exótico, verificar se o antiveneno encontra-se estocado nas de-

pendências do jardim zoológico, levá-lo consigo, junto com a bula traduzida e com as informações básicas sobre o acidente causado por esses animais e as orientações para o tratamento;

→ Providenciar para que o acidentado seja transportado imediatamente para o hospital de referência;

→ Providenciar que o hospital de referência seja acionado, por telefone, para o imediato encaminhamento do acidentado.

3.2) O jardim zoológico deverá providenciar transporte imediato ao hospital de referência.

3.3) Em todo local onde ocorre manejo de répteis peçonhentos e na administração do zoológico (ou em outro local de acesso para funcionários, inclusive durante fins de semana e feriados), deverá ser afixado, com letras grandes e legíveis, o nome, endereço e telefone do hospital de referência para tratamento dos acidentes por animais peçonhentos.

8. 2. Classe aves

Os recintos destinados às aves, observadas as particularidades quanto ao comportamento social, alimentar e reprodutivo deverão atender aos seguintes requisitos:

8.2.1. Gerais

8.2.1.1. Todos os recintos, abertos ou fechados, devem promover água potável *ad libitum* e renovável, para todos os animais;

8.2.1.2. Todos os recintos, abertos ou fechados, devem promover comedouros removíveis e laváveis de fácil higienização e desinfecção, higienizados diariamente;

8.2.1.3. Todos os recintos, abertos ou fechados, devem conter, quando cabível, pelo menos três alturas de poleiros roliços (com diâmetros compatíveis com a anatomia de cada espécie oferecendo conforto para o animal) ou plataformas de pouso, a exceção das aves de hábitos forrageiros, aquáticos e terrícolas;

8.2.1.4. Todos os recintos, abertos ou fechados, quando cabível, devem estar de acordo com o comportamento reprodutivo da espécie, prevendo ninhos, ou substratos para a confecção deles;

8.2.1.5. Os recintos abertos devem proporcionar locais para exposição solar, permitindo que a totalidade do

corpo de todos os animais possam ficar expostas; devem existir áreas de sombreamento, que possibilitem o animal se proteger de intempéries climáticas (chuvas, ventos e temperaturas elevadas);

8.2.1.6. Os recintos fechados deverão possuir iluminação artificial composta de lâmpadas especiais que, comprovadamente, sejam equivalentes às radiações solares. Nestes casos, e quando cabível, o fotoperíodo deve ser respeitado de acordo com a necessidade da espécie e da região de origem dos indivíduos, segundo literatura específica;

8.2.1.7. Todos os recintos, abertos ou fechados devem conter “pontos de fuga”, que possibilitem ao animal ter livre acesso para se esconder e proteger, sempre que sentir necessidade;

8.2.1.8. Toda a alimentação ofertada deve respeitar as necessidades nutricionais e as características anátomo-fisiológicas de cada espécie;

8.2.1.9. Todos os recintos fechados devem manter as temperaturas controladas e dentro do padrão considerado ideal para cada espécie, baseando-se em literatura apropriada;

8.2.1.10. Os tanques ou espelhos d’água deverão ter pelo menos um dos lados com inclinação máxima de 40° para facilitar o acesso do animal e evitar o afogamento de filhotes. A água deverá ser corrente, ou renovável;

8.2.1.11. A densidade de ocupação máxima de recinto coletivo deverá ser igual à soma das densidades de ocupação máxima das famílias abrigadas, exceto quando não ocorra sobreposição considerável dos hábitos de ocupação e uso do recinto onde se deve considerar toda a área do recinto como disponível para cada espécie (por exemplo, espécies arborícolas consorciadas com terrícolas);

8.2.1.12. Enriquecimentos ambientais devem seguir o estabelecido no item 6.10;

8.2.2. Específicos para Aves - Tabela 2

Famílias	DO	Exigências
Accipitridae	2 aves/ 10 m ²	Vegetação arbórea. Piso de terra ou gramado. Espelho d'água para banho.
Pequenos (até 49,5 cm) <i>Accipiter spp.</i> , <i>Asturina spp.</i> , <i>Buteo brachyurus</i> , <i>B. platypterus</i> , <i>B. leucorrhous</i> , <i>Buteogallus aequinoctialis</i> , <i>Circus cinereus</i> , <i>Chondrohierax spp.</i> , <i>Elanus spp.</i> , <i>Gampsonyx spp.</i> , <i>Geranospiza spp.</i> , <i>Harpagus spp.</i> , <i>Helicolestes spp.</i> , <i>Ictinia spp.</i> , <i>Leucopternis spp.</i> (exceto <i>L. polionota</i>), <i>Parabuteo spp.</i> , <i>Ros-trhamus spp.</i> , <i>Rupornis spp.</i>		
Médios (de 49,6 cm a 77 cm) <i>Buteo spp.</i> (exceto os citados acima), <i>Busarellus spp.</i> , <i>Buteogallus meridionalis</i> , <i>B. urubitinga</i> , <i>Circus spp.</i> (exceto <i>C. cinereus</i>), <i>Elanoides spp.</i> , <i>Geranoaetus spp.</i> , <i>Harpyhaliaetus spp.</i> , <i>Leptodon spp.</i> , <i>Leucopternis polionota</i> ; <i>Spizaetus spp.</i> , <i>Spizastur spp.</i>	2 aves/ 20 m ²	Altura mínima do recinto para alojar pequenos: 3 m, médios: 4 m e grandes: 6 m
Grandes (acima de 77 cm) <i>Morphnus spp.</i> E <i>Harpia harpyja</i>	2 aves/ 50 m ²	
Alcedinidae	2 aves/ 5 m ²	Vegetação arbórea. Piso de terra. Pouca sombra. Espelho d'água com 50% da área total do recinto e profundidade de 60 cm. Altura mínima do recinto: 3m.
Pequenos (até 27,5 cm) <i>Chlorocerylespp.</i>		
Grandes (acima de 27,5 cm) <i>Ceryle spp.</i>	2 aves/ 8 m ²	
Anatidae	2 aves/10 m ²	Vegetação ribeirinha e arbustiva. Piso argiloso. Espelho d'água de 60% da área total do recinto, com água renovável
Pequenos (até 60 cm) <i>Dendrocygna spp.</i> , <i>Neochen spp.</i> <i>Anas spp.</i> (exceto <i>A. acuta</i>), <i>Callonetta spp.</i> , <i>Netta spp.</i> , <i>Amazonetta spp.</i> , <i>Mergus spp.</i> , <i>Oxyura spp.</i> , <i>Heteronetta spp.</i>		
Médios (60,1 cm a 90 cm) <i>Anas acuta</i> ; <i>Sarkidionis spp.</i> , <i>Cairina spp.</i>		
Grandes (acima de 90 cm) <i>Coscoroba coscoroba</i> ; <i>Cygnus spp.</i>		
Anhimidae	2 aves/50 m ²	Vegetação ribeirinha e aquática. Piso brejoso e argiloso. Sombra. Espelho d'água com 20% da área total do recinto, profundidade de 60 cm. Altura mínima do recinto: 3m.
Anhingidae	2 aves/15 m ²	Vegetação arbustiva para pouso e confecção de ninhos. Piso de terra. Espelho d'água com 60% da área total do recinto, profundidade de 80 cm.

Apodidae	2 aves/6 m ²	Vegetação arbustiva. Piso de folhiço e terra. Pouco sombreamento. Espelho d'água. Altura mínima do recinto: 3m.
Aramidae Aramus guarauna	2 aves/25 m ²	Vegetação arbustiva e aquática. Piso brejoso. Espelho d'água com 30% da área total do recinto, com profundidade de 80 cm. Altura mínima do recinto: 3m.
Ardeidae	2 aves/10 m ²	Vegetação ribeirinha e aquática. Piso brejoso ou argiloso. Pouca sombra. Espelho d'água com 20% da área total do recinto. Altura mínima do recinto: 3m.
Pequenos (até 60,0 cm) <i>Ardeola spp.</i> , <i>Bubulcus spp.</i> , <i>Egretta spp.</i> , <i>Ixobrychus spp.</i> , <i>Nyctanassa spp.</i> , <i>Nycticorax spp.</i> , <i>Pilherodius spp.</i> <i>Syrigma spp.</i>		
Médios (de 60,1 a 92 cm) <i>Agamia spp.</i> , <i>Ardea purpurea</i> <i>Botaurus spp.</i> , <i>Casmerodius spp.</i> , <i>Tigris- soma fasciatum</i> , <i>Zebrailus spp.</i>		
Grandes (acima de 92 cm) <i>Ardea spp.</i> (exceto as espécies citadas acima), <i>Tigrissoma lineatum</i> .		
Bucconidae	2 aves/6m ²	Vegetação arbustiva. Piso em folhiço. Barreiro para construção de ninhos.
Capitonidae	2 aves/6m ²	Vegetação arbórea. Piso de folhiço. Altura mínima do recinto: 3m.
Cariamidae	2 aves/20 m ²	Vegetação rasteira e arbórea. Piso de terra. Sombreamento. Poleiros para dormir. Altura mínima do recinto: 3m.
Casuariidae	2 aves/ 100 m ²	Vegetação arbustiva e arbórea para sombreamento. Piso parcialmente de folhiço. Espelho d'água para banho. Abrigo contra intempéries. Necessidade de dispositivos de segurança.
Cathartidae	2 aves/ 20 m ²	Vegetação arbórea. Piso de terra ou gramado. Espelho d'água para banho. Altura mínima do recinto: 4m
Médios (de 59 a 99 cm) <i>Cathartes spp.</i> , <i>Coragyps spp.</i> , <i>Sarcoramphus spp.</i>		
Grandes (acima de 100 cm) Vultur. Spp.		
Cochleariidae	2 aves/ 8 m ²	Vegetação ribeirinha e aquática. Piso brejoso ou argiloso. Pouca sombra. Altura mínima do recinto: 2,5 m) Espelho d'água com 20% da área total do recinto.
Ciconiidae Pequenos Médios Grandes	2 aves/ 6 m ² 2 aves/ 10 m ² 2 aves/ 20 m ²	Vegetação ribeirinha e aquática. Piso brejoso ou argiloso. Pouca sombra. Espelho d'água com 20% da área total do recinto.
Columbidae	2 aves/ 1 m ²	Vegetação arbustiva. Piso de terra. Sombreamento. Areia para espojar.
Pequenos (até 19,5 cm) <i>Columbina spp.</i> , <i>Scardafella spp.</i> , <i>Uropelia spp.</i>		
Médios (de 20 cm a 30 cm) <i>Claravis spp.</i> , <i>Geotrygon spp.</i> , <i>Leptotila spp.</i> , <i>Zenaida spp.</i>		
Grandes (acima de 30 cm) <i>Columba spp.</i>		

Cracidae		Vegetação arbórea e arbustiva. Piso de terra e folhiço. Areia para espojar.
Pequenos (até 59,5 cm) <i>Nothocrax urumutum</i> , <i>Ortalis spp.</i> , <i>Penelope superciliaris</i> ,	2 aves/ 6 m ²	
Médios (de 59,6 cm a 77 cm) <i>Penelope spp.</i> , <i>Pipile spp.</i>	2 aves/ 9 m ²	
Grandes (acima de 77 cm) <i>Crax spp.</i> , <i>Mitu spp.</i>	2 aves/ 12 m ²	
Cuculidae	2 aves/ 6 m ²	Vegetação arbustiva. Piso de terra e folhiço. Sombreamento parcial.
Diomedidae	2 aves/ 30 m ²	Piso com parte em areia e parte com vegetação herbácea. Espelho d'água com 50% da área total do recinto, com água salgada renovável. Altura mínima do recinto: 6m.
Eurypygidae	2 aves/ 4 m ²	Vegetação arbustiva e herbácea. Piso de terra/folhiço. Sombreamento. Espelho d'água. Areia para espojar.
Falconidae		Vegetação arbórea. Piso de terra ou gramado. Espelho d'água para banho. Altura mínima do recinto para alojar: pequenos: 3m, médios: 4m e grandes: 5m.
Pequenos (até 35 cm) <i>Micrastur gilvicolis</i> ; <i>Falco spp.</i> (exceto <i>F. femoralis</i> e <i>F. peregrinus</i>)	2 aves/ 10 m ²	
Médios (de 35,1 a 45 cm) <i>Daptrius ater</i> , <i>Falco femoralis</i> , <i>F. peregrinus</i> , <i>Micrastur mirandollei</i> , <i>M. ruficollis</i> e <i>Milvago spp.</i>	2 aves/ 20 m ²	
Grandes (acima de 45 cm) <i>Daptrius americanus</i> , <i>Herpetotheres cacchinans</i> , <i>Micrastur semitorquatus</i> , <i>Polyborus spp</i>	2 aves/ 50 m ²	
Fregatidae	2 aves/ 60 m ²	Vegetação arbustiva para pouso. Piso com parte em areia e parte com vegetação herbácea. Espelho d'água com 50% da área total do recinto e água salgada renovável. Altura mínima do recinto: 6m.
Galbulidae	2 aves/ 6 m ²	Vegetação arbustiva. Piso de folhiço e terra. Barreiro para construção de ninhos.
Gruidae	2 aves/ 25 m ²	Piso de terra, gramado e brejoso. Sombreamento. Água renovável para banhos. Altura mínima do recinto: 2,5m, se recinto fechado.
Pequenos		
Grandes	2 aves/ 50 m ²	
Heliornithidae	2 aves/ 10 m ²	Piso de terra. Sombreamento de 60% da área. Espelho d'água com 60% da área total do recinto, profundidade de 50 cm e margeado por vegetação arbustiva.
Hydrobatidae	2 aves/ 30 m ²	Piso com parte em areia e parte com vegetação herbácea. Espelho d'água com 50% da área total do recinto e água salgada renovável. Altura mínima do recinto: 6m.
Momotidae	2 aves/ 8 m ²	Vegetação arbórea e arbustiva. Piso de terra. Sombreamento. Comedouro no alto. Espelho d'água.
Numididae	2 aves/ 6 m ²	Vegetação arbustiva e arbórea. Piso de terra e folhiço. Areia para espojar.
Opisthocomidae	2 aves/ 15 m ²	Vegetação arbórea. Piso com folhiço e gramíneas. Sombreamento. Espelho d'água com vegetação nas margens.
Pandionidae	2 aves/ 50 m ²	Piso de terra. Galhos para pouso. Espelho d' água. Altura mínima do recinto: 5m.

Pelecanidae	2 aves/ 50 m ²	Vegetação. Piso de terra ou grama. Espelho d'água com 60% da área total do recinto e 1 m de profundidade.
Pelecanoididae	2 aves/ 30 m ²	Piso com parte em areia e parte com vegetação herbácea. Espelho d'água com 50% da área total do recinto e água salgada renovável. Altura mínima do recinto: 6m.
Phaethontidae	2 aves/ 30 m ²	Piso com parte em areia e parte com vegetação herbácea. Espelho d'água com 50% da área total do recinto e água salgada renovável. Paredes escarpadas com buracos para construção de ninhos. Altura mínima do recinto: 6 m.
Phalacrocoracidae	2 aves/ 15 m ²	Vegetação arbustiva para pouso e confecção de ninhos. Piso de terra. Espelho d'água com 60% da área total do recinto e profundidade de 80 cm.
Phasianidae	2 aves/ 2 m ²	Vegetação arbustiva e herbácea. Piso de terra e folhiço. Areia para espojar.
Pequenos (até 54 cm) <i>Colinus spp.</i> , <i>Odontophorus spp.</i> , <i>Coturnix spp.</i>		
Médios (de 54,1 a 87 cm)		
Grandes (acima de 87 cm) <i>Pavo spp.</i>		
Phoenicopteridae	2 aves/ 10 m ²	Vegetação arbustiva para sombra. Piso brejoso e argiloso. Espelho d'água com 20% da área total do recinto. Barreiros para a construção de ninhos
Picidae	2 aves/ 2 m ²	Vegetação arbustiva e arbórea. Piso de terra. Troncos verticais.
Pequenos (até 19 cm) <i>Picumnus spp.</i> , <i>Picoides spp.</i> , <i>Piculus flavigula</i> , <i>P. leucohaemus</i> , <i>Ver-niliornis spp.</i>		
Grandes (acima de 19 cm) <i>Campephilus spp.</i> , <i>Celeus spp.</i> , <i>Colaptes spp.</i> , <i>Dryocopus spp.</i> , <i>Melanerpes spp.</i> , <i>Piculus spp.</i> (exceto <i>P. flavigula</i> e <i>P. leucohaemus</i>)	2 aves/ 4 m ²	
Podicipedidae	2 aves/ 10 m ²	Vegetação aquática ribeirinha. Espelho d'água com 60% da área total do recinto e profundidade de 80 cm. Altura mínima do recinto: 4m.
Procellariidae	2 aves/ 30 m ²	Piso com parte em areia e parte com vegetação herbácea. Espelho d'água com 50% da área total do recinto e água salgada renovável. Altura mínima do recinto: 6m.

Psittacidae		Vegetação arbustiva ou arbórea desejável. Piso de areia, terra ou grama. Sombreamento. Espelho d'água. Troncos e galhos para debicar. Comedouro no alto.
Pequenos (até 24,9 cm) <i>Brotogeris spp.</i> , <i>Forpus spp.</i> , <i>Graydidascalus spp.</i> , <i>Nannopsittaca spp.</i> , <i>Pyrrhura leucotis</i> , <i>P. melanura</i> , <i>P. perlata</i> , <i>P. picta</i> , <i>Touit spp.</i> , <i>Pionites spp.</i> , <i>Pionopsitta spp.</i>	2 aves/ 1 m ²	
Médios (de 25,0 a 55,0 cm) <i>Amazona spp.</i> , <i>Ara sereva</i> , <i>A. couloni</i> ; <i>Aratinga spp.</i> , <i>Deropterus spp.</i> , <i>Diopsittaca spp.</i> , <i>Guaruba guarouba</i> , <i>Myiopsitta spp.</i> , <i>Orthopsittaca spp.</i> , <i>Pionus spp.</i> , <i>Pro-pyrrhura spp.</i> , <i>Pyrrhura spp.</i> (exceto as espécies acima), <i>Triclaria spp.</i>	2 aves/ 5 m ²	
Grandes (acima de 55 cm) <i>Anodorhynchus spp.</i> , <i>Ara spp.</i> (exceto as espécies acima), <i>Cyanopsitta spixi</i>	2 aves/ 10 m ²	
Psophiidae	2 aves/ 10 m ²	Vegetação arbustiva e arbórea desejável, herbácea necessária. Piso de terra com folhiço. Sombreamento.
Rallidae	2 aves/ 3 m ²	Vegetação arbustiva e ribeirinha. Piso de terra e brejoso. Espelho d'água.
Ramphastidae		Vegetação arbórea. Piso de areia, terra ou grama. Espelho d'água. Comedouros no alto.
Pequenos (até 40,5 cm) <i>Aulacorhynchus spp.</i> , <i>Bailloniusspp.</i> , <i>Pteroglossus azara</i> , <i>P. bitorquatus</i> , <i>P. inscriptus</i> , <i>P. mari</i> , <i>P. viridis</i> , <i>Selenidera spp.</i>	2 aves/ 4 m ²	
Médios (de 40,5 a 48 cm) <i>Pteroglossus spp.</i> (exceto as espécies citadas acima), <i>Ramphastos dicolorus</i> , <i>R. Vitellinus</i>	2 aves/ 8 m ²	
Grandes (acima de 48 cm) <i>Ramphastos toco</i> e <i>R. tucanus</i>	2 aves/ 12 m ²	
Rheidae	2 aves/ 100 m ²	Vegetação herbácea e arbustiva. Piso compacto e arenoso. Abrigo contra intempéries. Terreno horizontal.
Spheniscidae	2 aves/ 8 m ²	Piso de cimento liso recoberto 50% da área seca com seixo. Espelho d'água renovável com 40% da área total do recinto e profundidade mínima de 60 cm. Cambiamento de 2 m ² . Condições de climatização (frio e seco).
Strigidae e Tytonidae		Vegetação desejável. Piso de terra. Sombreamento parcial. Poleiros ao abrigo do sol direto. Altura mínima do recinto para alojar pequenos: 2 m, médios e grandes: 3 m
Pequenos (até 28,5 cm) <i>Aegolius. Spp.</i> , <i>Glaucidium spp.</i> , <i>Otus spp.</i> , <i>Speotyto spp.</i>	2 aves/ 2 m ²	
Médios (de 28,5 a 40,5 cm) <i>Asio spp.</i> , <i>Ciccaba spp.</i> , <i>Lophostrix spp.</i> , <i>Rhinopteryx spp.</i> , <i>Strix spp.</i> , <i>Tyto spp.</i>	2 aves/ 6 m ²	
Grandes (acima de 40,5 cm) <i>Bubo spp.</i> , <i>Pulsatrix spp.</i>	2 aves/12 m ²	

Struthionidae	2 aves/ 200 m ²	Vegetação herbácea (gramíneas). Piso compacto e arenoso. Abrigo contra intempéries. Terreno horizontal. Necessidade de dispositivos de segurança
Sulidae	2 aves/ 50 m ²	Piso com parte em areia e parte com vegetação herbácea. Espelho d'água com 50% da área total do recinto e água salgada renovável. Altura mínima do recinto: 6m.
Tinamidae		
Pequenas (até 25 cm) <i>Crypturellus bo-raquira</i> , <i>C. brevirostris</i> , <i>C. maculosa</i> ; <i>C. minor</i> , <i>C. nanus</i> , <i>C. pavirostris</i> , <i>C. soui.</i> , <i>C. tataupa</i>	2 aves/ 3m ²	Para espécie florestal: Vegetação herbácea em parte do recinto. Piso de folhiço. Sombreamento parcial. Poleiros horizontais de diâmetro conveniente para <i>T. solitarius</i> . Terra para espojar. Para espécie campestre: Vegetação de gramíneas. Piso de terra compacto e arenoso. Pouca sombra. Terra para espojar.
Médias (25,1 a 37 cm) <i>Crypturellus spp.</i> (exceto as espécies pequenas), <i>Tinamus guttatus</i>	2 aves/ 6m ²	
Grandes (acima de 37 cm) <i>Tinamus major</i> , <i>T. solitarius</i> , <i>T. tao</i> , <i>Rhynchotus rufescens</i>	2 aves/ 10m ²	
Threskiornithidae	2 aves/ 20m ²	Vegetação arbórea, arbustiva e aquática ribeirinha. Piso brejoso e argiloso. Altura mínima do recinto: 3 m) Espelho d'água com 10% da área total do recinto.
Trochilidae		
Pequenos (até 11 cm) <i>Amazilia spp.</i> , <i>Augastes spp.</i> , <i>Avocettula spp.</i> , <i>Calliphlox spp.</i> , <i>Campylopterus huperythrus</i> ; <i>Chlorostilbon spp.</i> , <i>Chrysolampis spp.</i> , <i>Chrysurnia spp.</i> , <i>Discosura spp.</i> , <i>Doryfera spp.</i> , <i>Florisuga spp.</i> , <i>Heliactin spp.</i> , <i>Heliomaster longirostris</i> ; <i>Hylocharis spp.</i> , <i>Leucippus spp.</i> , <i>Leucochloris spp.</i> , <i>Lophornis spp.</i> , <i>Phaethornis griseogularis</i> , <i>P. idaliae</i> , <i>P. longuemareus</i> , <i>P. gounellei</i> , <i>P. ruber</i> , <i>P. rupurumii</i> , <i>Polytmus spp.</i> , <i>Stephanoxis spp.</i> , <i>Thalurania furcata</i> ; <i>Threnetes spp.</i> , <i>Tophrosipilus spp.</i>	2 aves/ 2m ²	Vegetação herbácea, arbustiva e arbórea. Piso de areia. Sombreamento. Poleiros de galhos finos ou de arame nº 8. Espelho d'água.
Grandes (acima de 11 cm) <i>Anthraco-thorax spp.</i> , <i>Aphantochroa spp.</i> , <i>Campylopterus spp.</i> , <i>Clytolaema spp.</i> , <i>Colibri spp.</i> , <i>Eupetionema spp.</i> , <i>Glaucis spp.</i> , <i>Heliodoxa spp.</i> , <i>Heliomaster spp.</i> (exceto <i>H. longirostris</i>), <i>Heliathryx spp.</i> , <i>Melanotrochilus spp.</i> , <i>Phaethornis spp.</i> (exceto as espécies acima), <i>Polyplanta spp.</i> , <i>Popelairia spp.</i> , <i>Ramphodon spp.</i> , <i>Thalurania spp.</i> (exceto <i>T. furcata</i>), <i>Topaza spp.</i>	2 aves/ 4m ²	

Trogonidae	2 aves/ 8m ²	Vegetação arbórea e arbustiva. Piso de terra. Sombreamento. Espelho d'água. Comedouro no alto.
Ordem Charadriiformes		Vegetação ribeirinha e aquática. Piso brejoso ou argiloso. Pouca sombra. Espelho d'água com 60% da área total do recinto
Pequenos (até 47,5 cm) <i>Burhiniidae</i> ; <i>Charadriidae</i> ; <i>Chionidae</i> ; <i>Glareolidae</i> ; <i>Laridae</i> : <i>Anous spp.</i> ; <i>Chlidonias spp.</i> ; <i>Gelochelidon spp.</i> ; <i>Gygis spp.</i> , <i>Larus atricilla</i> ; <i>L. cirrocephalus</i> ; <i>L. delawarensis</i> ; <i>L. maculipennis</i> ; <i>L. pipixcam</i> ; <i>Phaetusa spp.</i> ; <i>Sterna spp</i> (exceto <i>S. paradisaea</i> e <i>S. maxima</i>); <i>Phalaropodidae</i> ; <i>Recurvirostridae</i> ; <i>Scolopacidae</i> : <i>Tringa spp.</i> ; <i>Actitis spp.</i> ; <i>Catoptrophorus spp.</i> ; <i>Calidris spp.</i> ; <i>Philomachus spp.</i> ; <i>Tryngites spp.</i> ; <i>Numenius spp.</i> ; <i>Limosa spp.</i> <i>Limnodromus spp.</i> ; <i>Gallinago spp.</i> ; <i>Stercorariidae</i> : <i>Stercorarius longicaudus</i> , <i>S. parasiticus</i> ; <i>Thinocoridae</i> .	2 aves/ 8m ²	
Grandes (acima de 47,5 cm) <i>Scolopacidae</i> : <i>Bartramia spp.</i> ; <i>Stercorariidae</i> : <i>Catharacta spp.</i> , <i>Stercorarius pomarinus</i> ; <i>Laridae</i> : <i>Larus belcheri</i> , <i>L. dominicanus</i> ; <i>Sterna maxima</i> , <i>S. paradisaea</i> ; <i>Rynchopidae</i> : <i>Rynchops spp.</i>	2 aves/ 12m ²	
Ordem Passeriformes Pequenos (até 20,5 cm)	2 aves/ 1m ²	Vegetação arbustiva e arbórea. Piso de terra. Sombreamento. Espelho d'água. Comedouro no alto.
Médios (de 20,6 a 34 cm)	2 aves/ 3m ²	
Grandes (acima de 34 cm) Ver relação abaixo	2 aves/ 6m ²	

Relação de passeriformes quanto ao tamanho

A divisão das famílias considerando o tamanho das aves foi feita a partir das medidas (comprimento total) apresentadas pelo livro Ornitologia Brasileira de Helmut Sick, 1997, para aves adultas.

Pequenos (até 20,5 cm) - *Liosceles*; *Melanopareia*; *Psilorhamphus*; *Merulaxis ater*; *Scytalopus*; *Cymbilaimus*; *Frederickena viridis*; *Hypoedaleus*; *Taraba*; *Sakesphorus*; *Biatas*; *Thamnophilus*; *Pygiptila*; *Megastictus*; *Neoctantes*; *Clytoctantes*; *Dysithamnus*; *Thamnomanes*; *Myrmotherula*; *Dochrozona*; *Myrmorchilus*; *Herpsilochmus*; *Microrhophias*; *Stymphalornis*; *Formicivora*; *Drymophila*; *Terenura*; *Cercomacra*; *Pyriglena*; *Rhopornis*; *Myrmoborus*; *Hypocnemis*; *Hypocnemoides*; *Myrmochanes*; *Percnostola*; *Sclateria*; *Myrmeciza*; *Pithys*; *Gymnopithys*; *Rhegmatorhina*; *Myrmornis*; *Hylophylax*; *Skutchia*; *Phlegopsis*; *Chamaeza campenisona*; *C. meruloides*; *C. ruficauda*; *Formicarius*; *Grallaria*; *Hylopezus*; *Mymothera*; *Conopophaga*; *Geobates*; *Geositta Cincloddes fuscus*; *Furnarius*; *Limnormes*; *Phleocryptes*; *Leptasthenura*; *Schizoeacaa*; *Asthenes*; *Spartonoica*; *Schoeniophylax*; *Synallaxis*; *Poecilures*; *Gyalophylax*; *Certhiaxis*; *Cranioleuca*; *Thripophaga*; *Phacellodomus*; *Coryphistera*; *Anumbius*; *Metopothrix*; *Acrobatornis*; *Roraimia*; *Berlepschia*; *Hyloctistes*; *Ancistrops*; *Anabazenops*; *Syndactyla*; *Simoxenops*; *Anabacerthia*; *Philydor*; *Automolus*; *Cichlocolaptes*; *Heliobletus*; *Xenops*; *Megaxenops*; *Sclerurus*; *Lochmias*; *Dendrocincla merula*; *D. longicauda*; *D. stietolaema*; *Sitta-somus*; *Glyphorhynchus*; *Xiphorhynchus picus*; *X. obsoletus*; *X. elegans*; *Lepidocolaptes*; *Phyllomyias*; *Zimmerius*; *Ornithion*; *Camptostoma*; *Phaeomyias*; *Sublegatus*; *Suiriri*; *Tyrannulus*; *Myiopagis*; *Elaenia*; *Mecocerculus*; *Serpophaga*; *Inezia*; *Stigmatura Tachuris*; *Culicivora*; *Polystictus*; *Pseudocolopteryx*; *Euscarthmus*; *Mionectes*; *Leptopogon*; *Phylloscartes*; *Capsiempis*; *Corythopis*; *Myiormis*; *Lophotriccus*; *Atalotriccus*; *Hemitriccus*; *Poecilotriccus*; *Todirostrum*; *Cnipodectes*; *Ramphotricon*; *Rhynchocyches*; *Tolmomyias*; *Platyrinchus*; *Onychorhynchus*; *Myiobius*; *Myiophobius*; *Contopus*; *Lathrotriccus*; *Empidonax*; *Cnemotriccus*; *Pyrocephalus*; *Ochthornis*; *Xolmis velata*; *X. irupero*; *X. dominicana*; *Heteroxolmis*; *Muscisaxicola*; *Lessonia*; *Knipolegus*; *Hymenops*; *Fluvicola*; *Arundinicola*; *Colonia*; *Alectrurus*; *Satrapa*; *Hirundinea*; *Machetornis*; *Attila*; *Casiornis*; *Rhytipterna*; *Sirystes*; *Myiarchus*; *Philohydor*; *Myiozetetes*; *Conopias*; *Myiodynastes luteiventris*; *Legatus*; *Empidomomus*; *Griseotyrannus*; *Tyrannopsis*; *Tyrannus albogularis*; *T. tyrannus*; *Xenopsaris*; *Pachyramphus*; *Tityra semifasciata*; *T. inquisitor*; *Pipra*; *Antilophia*; *Chiroxiphia*; *Ilicura*; *Corapipo*; *Manacus*; *Machaeropterus*; *Xenopipo*; *Chloropipo*; *Neopipo*; *Heterocercus*; *Neopelma*; *Tyranneutes*; *Schiffornis*; *Laniisoma*; *Porphyrolaima*; *Cotinga*; *Xipholena*; *Conioptilon*; *Iodopleura*; *Calyptura*; *Piprites*; *Oxyruncus*; *Phytotama*; *Tachycineta*; *Phaeoprogne*; *Progne*; *Notiochelidon*; *Alticora*; *Neochelidon*; *Stelgidopteryx*; *Alopochelidon*; *Riparia*; *Hirundo*; *Campylorhynchus turdinus*; *Odontorchilus*; *Cistothorus*; *Thyothorus*; *Troglodytes*; *Henicorhina*; *Microcerculus*; *Cyphorhinus*;

Microbates; Ramphocaenus; Polioptila; Catharus; Platycichla flavipes; Anthus; Cyclarhis; Vireolanius; Vireo; Hylophilus; Parula; Geothlypis; Granatellus; Myioborus; Basileuterus; Phaeothlypis; Dendroica; Seiurus; Oporornis; Wilsonia; Setophaga; Coereba; Orchesticus; Schistochlamys; Neothraupis; Cypsnagra; Conothraupis; Lomprospiza; Pyrrhocomia; Thlypopsis; Hemethraupis; Nemosia; Mitrospingus; Orthogonys; Eucometis; Lanio; Tachyphonus; Trichothraupis; Habia; Piranga; Ramphocelus; Thraupis; Cyanicterus; Stephanophorus; Pipraeidea; Euphonia; Chlorophonia; Tangara; Dacnis; Chlophaneus; Cyanerpes; Diglossa; Conirostrum; Tersina; Zonotrichia; Ammodramus; Haplospiza; Donacospiza; Diuca; Poopiza; Sicalis; Emberezoides; Volatinia; Sporophila; Oryzoborus; Amaurospiza; Dolospingus; Catamenia; Tiaris; Arremon; Arremonops; Athlapetes; Charitospiza; Coryphasiza; Gubernatrix; Coryphospingus; Paroaria; Caryothraustes; Periporphyrus; Pitylus grossus; Saltator; Passerina; Porphyrospiza; Pheuctictus; Spiza; Cacicus Chrysopterus; Icterus nigrogularis; Agelaius; Liestes; Sturnella magna; Molothrus; Dolichonyx; Carduelis; Passer; Estrilda.

Médios (de 20,6 a 34 cm) - *Merulaxis stresemanni; Batara; Mackenziaena; Frederickena unduligera; Chamaeza nobilis; Cinclodes pabsti; Pseudoseisura; Clibanornis; Hylocryptus; Dendrocincla turdina; D - fuliginosa; Drymormis, Nasica; Xiphocolaptes; Dendrexetastes; Hylexetastes; Dendrocolaptes; Xiphorhynchus(demais); Campylorhamphus; Xolmis cinérea; X. coronata; Neoxolmis; Muscipipra; Laniocera; Pitangus; Megarynchus; Myiodynastes maculatus; Tyrannus melancholicus; T. dominicensis; Tityra cayana; Phibalura; Tijuca; Carpomis; Lipaugus; Haematoderus; Querula; Procnias; Phoenicircus; Rupicula; Cyanocorax heilprini; C. cayanus; C. cristatellus; C. chrysops; C. cyanopogon; Campylorhynchus griseus; Donacobius; Cichlopsis; Platycichla leucops; Turdus; Mimus; Cissopis; Sericossypha; Embemagra; Pitylus fuliginosus; Psarocolius latirostris; P. oseryi; Cacicus cela; C. haemorrhous; C. solitarius; Icterus (demais gêneros); Xanthopsar; Gymnomystax; Sturnella militaris; Pseudoleistes; Amblyramphus curaeus; Gnorimopsar; Lampropsar; Macroagelaius; Quiscalus; Scaphidura.*

Grandes (acima de 34 cm) - *Gubernetes; Tyrannus savana; Pyroderus; Cephalopterus; Perissocephalus; Gymnoderus; Cyanocorax caeruleus; C. cyanomelas; C. violaceus; Psarocolius decumanus; P. viridis; P. angustifrons; P. bifasciatus.*

8.3. Classe Mammalia

Os recintos destinados aos mamíferos deverão atender aos seguintes requisitos:

8.3.1. Gerais

8.3.1.1. Os recintos abertos devem proporcionar locais para exposição solar, permitindo que a totalidade do corpo de todos os animais possam ficar expostas; devem existir áreas de sombreamento, que possibilitam o animal se proteger de intempéries climáticas (chuvas, ventos e temperaturas elevadas);

8.3.1.2. Os recintos secundários fechados deverão possuir iluminação artificial composta de lâmpadas especiais que, comprovadamente, sejam equivalentes às radiações solares. Nestes casos, e quando cabível, o fotoperíodo deve ser respeitado de acordo com a necessidade da espécie e da região de origem dos indivíduos, segundo literatura específica;

8.3.1.3. Todos os recintos, abertos ou fechados devem conter “pontos de fuga”, que possibilitam ao animal ter livre acesso para se esconder e proteger, sempre que sentir necessidade.

8.3.1.4. Todos os recintos, ao ar livre ou não, devem promover água potável *ad libitum* para todos os animais; devem promover comedouros removíveis e laváveis de fácil higienização e desinfecção, higienizados diariamente;

8.3.1.5. Toda a alimentação ofertada deve respeitar as necessidades nutricionais e biológicas e as características anátomo-fisiológicas de cada espécie;

8.3.1.6. Todos os recintos secundários fechados devem permitir o controle e a manutenção da temperaturas dentro do padrão considerado ideal para cada espécie, baseando-se em literatura apropriada;

8.3.1.7. Os recintos de espécie com hábitos arborícolas devem conter galhos ou algum material equivalente que possibilite o comportamento arborícola do animal, sem colocar em risco a sua integridade física.

8.3.1.8. Os tanques ou espelhos d’água deverão ter pelo menos um dos lados com inclinação máxima de 40° para facilitar o acesso do animal e evitar o afogamento de filhotes. A água deverá ser corrente, ou renovável.

8.3.1.9. Os enriquecimentos ambientais devem seguir o estabelecido no item 6.10.

8.3.2. Específicos - Tabela 3

8.3.2.1. O número de indivíduos por recinto (densidade) corresponde a animais adultos;

8.3.2.2. A área da maternidade poderá sobrepor a área total do recinto;

8.3.2.3. Se a ocupação máxima recomendada aumentar em mais que sua metade, a área do alojamento, tanques e abrigos e o número de cambiamiento e maternidade deverão ser dobrados;

8.3.2.4. Se a ocupação máxima recomendada diminuir em até 40%, as áreas recomendadas poderão diminuir 30%;

8.3.2.5. Na coluna “Número de indivíduos”: considerar, além do número discriminado (número de adultos), uma prole enquanto dependente; cada prole é considerada um adulto.

2: Específicos

Ordem, Família, Gênero	Área m ²	Número de Indivíduos	Tanque	Cambiamiento m ²	Maternidade m ²	Especificações
Ordem Monotremata Família Tachyglossidae Tachiglossus	9	2	-	-	-	Piso de terra com mínimo de 1,5 m de profundidade, sobre material resistente, compatível com a construção de tocas.
Família Tachyglossidae Zaglossus	15	2	-	-	-	Piso de terra com mínimo de 1,5 m de profundidade, sobre material resistente, compatível com a construção de tocas.
Família Ornithorhynchidae Ornithorhynchus	6	2	70% da área do recinto c/ 1 m prof.	-	-5	Piso de terra com mínimo de 1,5 m de profundidade, sobre material resistente, compatível com construção de tocas.
Ordem Didelphimorphia Família Didelphidae Didelphis	4	2	-	-	-	Altura 2 m. Piso de terra. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção. Toca em local alto. Espécies semi-quáticas necessitam de espelho d'água. Espécies terrestres toca no substrato. Manter galhos e troncos.

F. Didelphidae Marmosa, Glironia, Monodelphis, Philander, Lestodelphis, Metachirus, Caluromys, Caluromysiops, Gracilinanus, Marmosops, Micoureus, Thylamys	1,5	2	-	-	-	Altura 1 m (terrário). Piso de terra. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção. Toca em local alto. Espécies semi-aquáticas necessitam de espelho d'água. Espécies terrestres toca no substrato. Manter galhos e troncos.
Família Didelphidae Lutreolina Chironectes	3	2	50% da área do recinto c/0,2 m prof.	-	-	Altura: 1 m (terrário). Piso de terra. Toca em local alto. Manter galhos e troncos.
Ordem Paucituberculata Família Caenolestidae	1,5	2	-	-	-	Altura 1 m (terrário). Piso de terra. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção. Toca em local alto. Espécies semi-aquáticas necessitam de espelho d'água. Espécies terrestres toca no substrato. Manter galhos e troncos.
Ordem Microbiotheria Família Microbiotheriidae	1,5	2	-	-	-	Altura 1 m (terrário). Piso de terra. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção. Toca em local alto. Espécies semi-aquáticas necessitam de espelho d'água. Espécies terrestres: toca no substrato. Manter galhos e troncos.
Ordem Dasyuromorphia Família Myrmecobiidae	2	2	-	-	-	Altura 1 m (terrário). Piso de terra. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção. Toca em local alto. Manter galhos e troncos.
Família Thylacinidae	-	-	-	-	-	Provalmente extinta
Família Dasyuridae	6	2	-	-	-	Altura 1 m. (terrário) Piso de terra com grande disposição de tocas. As tocas deverão ser construídas de maneira tal que permita a contenção. Para espécies arborícolas, manter galhos e troncos.
Ordem Peramelemorphia Família Peramelidae Família Peroryctidae	6	2	-	-	-	Altura 1m (terrário). Piso de terra com grande disposição de tocas. As tocas deverão ser construídas de maneira tal que permita a contenção.
Ordem Notoryctemorphia Família Notoryctidae	2	2	-	-	-	Altura 1 m (terrário). Piso de areia sobre material resistente. As tocas deverão ser construídas de maneira tal que permitam a contenção.

Ordem Diprotodontia Família Phascolarctidae	50	2	-	-	-	Piso de terra. Se fechado o recinto deverá ter altura mínima de 4m. Grande disposição de troncos e galhos. Tocas em estrato superior.
Família Vombatidae	50	2	-	3	-	Piso de terra sobre material resistente.
Família Phalangeridae	5	2	-	-	-	Altura 4 m. Piso de terra. As tocas deverão ser construídas de maneira tal que permitam a contenção. Para espécies arborícolas, grande disposição de troncos e galhos. Tocas em estrato superior.
Família Phalangeridae Trichosurus Phalanger	15	2	-	1	-	Altura 4 m. Piso de terra. As tocas deverão ser construídas de maneira tal que permitam a contenção. Para espécies arborícolas, grande disposição de troncos e galhos. Tocas em estrato superior.
Família Potoroidae	8	2	-	-	-	Altura 2 m. Piso de terra. As tocas deverão ser construídas de maneira tal que permitam a contenção. Para espécies arborícolas, grande disposição de troncos e galhos.
Família Macropodidae Até 3 kg	8	2	-	1	-	Piso de terra. Se recinto fechado, deverá ter altura mínima de 3 m. Para espécies arborícolas, grande disposição de troncos e tocas em estrato superior. Para as espécies terrestres, somente tocas.
de 3 a 8 kg	20	2	-	2	-	Piso de terra. Se recinto fechado, deverá ter altura mínima de 3 m. Para espécies arborícolas, grande disposição de troncos e tocas em estrato superior. Um abrigo com 3 m ² . Para espécies terrestres, somente tocas.
de 8 a 20 kg	50	2	-	4	-	Piso de terra. Se recinto fechado, deverá ter altura mínima de 4 m. Um abrigo com 5 m ² . Para espécies arborícolas, grande disposição de troncos e tocas em estrato superior Para espécies terrestres, somente tocas.
acima de 20 kg	100	2	-	6	-	Piso de terra. Altura de 4 m. Um abrigo com 8 m ²

Ordem Diprotodontia Família Burramyidae						Se recinto fechado, deverá ter altura mínima de 3 m. Piso de terra.
Família Pseudocheiridae	4	2	-	-	-	Para espécies arborícolas disposição de galhos e toca no estrato superior. A toca deverá se construída de maneira tal que permita a contenção. Para espécies semiaquáticas presença de espelho d'água.
Família Petauridae	3	2	-	-	-	Se recinto fechado, deverá ter altura mínima de 1 m.
Família Tarsipedidae Família Acrobatidae						Piso de terra. Para espécies arborícolas disposição de galhos e toca no estrato superior. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção. Para espécies semi-aquáticas presença de espelho d'água.
Ordem Xenarthra Família Bradypodidae						Devido à alimentação altamente especializada, não se recomenda sua manutenção em cativeiro. Os interessados deverão apresentar projeto específico.
Família Megalonychidae	20	2	-	-	-	Piso de terra. Altura mínima de 3 m. Grande disposição de galhos. Necessidade de aquecimento do recinto em regiões frias.
Família Dasypodidae Chlamyphorus	4	2				Piso de terra com 0,8 m de espessura, sobre material resistente compatível com a construção de tocas.
Família Dasypodidae Dasypus, Cabassous, Euphractus, Chaetophractus, Zaedyus, Tolypeutes	20	2	-	-	-	Piso de terra com 1,2 m de espessura, sobre material resistente compatível com a construção de tocas.
Família Dasypodidae Priodontes	90	2	1,0 m ² . Prof. 0,5 m.	-	-	Piso de terra com 3 m de espessura, sobre material resistente compatível com a construção de tocas. Vegetação desejável.
Família Myrmecophagidae Mymercophaga	80	2	espelho d'água com prof. 0,3 m.	2	-	Piso de terra com vegetação arbustiva e touceiras.
Família Myrmecophagidae Tamandua	15	2	-	-	-	Altura mínima de 3 m. Piso de terra. Grande disposição de galhos. Toca em estrato superior.
Família Myrmecophagidae Cyclopes	-	-	-	-	-	Devido à sua alimentação altamente especializada, não se recomenda sua manutenção em cativeiro. Os interessados deverão apresentar projeto específico.

Ordem Insectívora	4	2	-	-	-	Altura 1 m (terrário). Piso de terra com grande disposição de tocas. As tocas deverão ser construídas de maneira tal que permita a contenção. Para espécies aquáticas construir espelho d'água. Para espécies arborícolas, manter galhos e troncos.
Ordem Scandentia Família Tupaiidae	4	2	-	-	-	Piso de terra com grande disposição de galhos e tocas em diferentes substratos. Necessidade de espelho d'água.
Ordem Dermoptera Família Cynocephalidae	50	2	-	-	-	Recinto fechado com altura mínima de 4 m. Piso de terra. Grande disposição de galhos. Tocas situadas no estrato superior. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção.
Ordem Chiroptera Pequena envergadura - até 40 cm	8	6	Tanque 2 m ² / 2 m ³	-	-	Altura de 3 m. Piso de areia sobre material resistente. Toca revestida de tela internamente a 3 m de altura.
Média envergadura de 41 até 100 cm.	25	2	Para piscívoros Tanque ou espelho d'água de 4 m ² com pequenos peixes.	-	-	Altura de 3 m. Piso de areia sobre material resistente. Toca revestida de tela internamente a 3m. de altura. Toca revestida de tela internamente a 3m. de altura.
Grande envergadura - acima de 100 cm.	50	6	-	-	-	Altura de 3m. Piso de areia sobre material resistente. Toca revestida de tela internamente a 3m. de altura
Ordem Primates Família Cheirogaleidae	8	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.

Família Lemuridae	15	Grupo familiar	-	2	2	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Família Megaladapidae	8	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Família Indridae	20	Grupo familiar	-	1	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 3 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Família Daubentonidae	8	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Família Loridae	8	Grupo familiar	-	2	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Família Galagonidae	8	Grupo familiar	-	2	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.

Família Tarsiidae	3	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Família Callitrichidae Callithrix	5	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Callithrix Saguinus	8	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Callimico	10	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Leontopithecus	8	Grupo familiar	-	-	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos. Manejo: Consultar o Comitê Internacional para Recuperação e Manejo das Espécies de Leontopithecus.

Família Cebidae Aotus Saimiri Callicebus	15	Grupo familiar	-	3	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Cacajao Pithecia Chiropotes	20	Grupo familiar	-	4	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 2,5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Cebus	20	Grupo familiar	-	1,5	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 3 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos. Manejo para Cebus apella xantosternos: consultar o Comitê.
Alouatta	30	Grupo familiar	-	1,5	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 3 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Lagothrix Ateles Brachyteles	60	Grupo familiar	-	2	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 5 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.

Família Cercopithecidae Cercopithecus Allenopithecus Miopithecus Chlorocebus Cercocebus Erythrocebus Lophocebus Presbytis Pygathrix Colobus Trachypithecus Procolobus	25	Grupo familiar	-	1	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 4 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção.
Papio Macaca Theropithecus Mandrillus Nasalis Semnopithecus	40	Grupo familiar	-	2	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 4 m. Piso de terra, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. Grande disponibilidade de galhos.
Família Hylobatidae	60	Grupo familiar	-	2	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 4 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo aquecido em regiões frias. O abrigo deverá ser construído de maneira tal que permita a contenção. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias Grande disponibilidade de galhos, troncos e árvores de pequeno porte.
Família Hominidae Pan Pongo	60	Grupo familiar		2 de 3 m ² cada		Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 4 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo de 5 m ² . Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias Grande disponibilidade de galhos, troncos e árvores de médio porte. Disposição de plataformas em diferentes níveis.

Gorilla	200	Grupo familiar	-	2 de 6 m ² cada	-	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 5. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira, que deverá ser recoberto de material macio, quando houver crias. Abrigo de 5 m ² . Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias Grande disponibilidade de galhostroncos e árvores de médio porte. Disposição de plataformas em diferentes níveis.
Ordem Carnivora Família Canidae Canis	60	2	-	2	2	
Dusicyon Pseudalopex Cerdocyon Atelocynus Alopex Vulpes Urocyon Otocyon Nyctereutes	30	2	-	2	1	Piso de terra com grama, ou outra vegetação rasteira. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias. Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. Disponibilidade de troncos e árvores de pequeno porte
Speothos	30	2	1m ² . Prof. 0,4	1		Piso de terra com grama, ou outra vegetação rasteira sobre material resistente, compatível com a construção de tocas. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias. Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. Disponibilidade de troncos e árvores de pequeno porte
Chrysocyon	200	2	-	2 de 3 m ²	-	Piso de terra com grama, ou outra vegetação rasteira. Dois abrigos de 2 m ² . Cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias. Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. Disponibilidade de troncos e árvores de pequeno porte
Cuon, Lycaon	40	2	-	1	1	Piso de terra com grama, ou outra vegetação rasteira. Dois abrigos de 0,8 m ² . O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias. Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. Disponibilidade de troncos e árvores de pequeno porte

Família Felidae Acinonyx	200	2	-	2 de 2 m ²	2	Se fechado, o recinto deverá ter altura mínima de 3 m. Piso de terra com grama, ou outra vegetação rasteira. Disposição de plataformas ou rochas em diferentes níveis. Abrigo de 2 m ² . O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias. Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. Disponibilidade de troncos e árvores de pequeno porte
Neofelis Lynx Lep- tailurus Profelis Prio- nailurus viverrinus Leopardus pardalis	30	2	5,0m ² . Prof. 0,7m/ P. viverrinus	1	1	Se fechado, o recinto deverá ter altura mínima de 2,5 m. Piso de terra com grama, ou outra vegetação rasteira. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias. Abrigo e cambiamento aquecidos em regiões frias. Disponibilidade de troncos e árvores de médio porte.
Pardofelis, Catopu- ma badia, Her- pailurus, Leopardus, Felis, Oncifelis, Ore- ailurus, Otocolobus.	15	2	-	1	1	Se fechado, o recinto deverá ter altura mínima de 2,5 m. Piso de terra com grama, ou outra vegetação rasteira. Grande disponibilidade de troncos e tocas em diferentes níveis. Em regiões frias recomenda-se tocas aquecidas. Essas tocas deverão ser construídas de maneira tal que possam ser fechadas, servindo assim de cambiamento. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias.. Disponibilidade de troncos e árvores de pequeno porte
Panthera tigris, leo, onca, uncia, Puma concolor	70	2	10,0 m ² . Prof. 1,0 m p/ P. tigris e P. onca	2 de 4 m ²	4	Se fechado, o recinto deverá ter altura mínima de 3,0 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Disposição de troncos e tocas. O cambiamento deverá ser recoberto de material macio quando houver crias. Disponibilidade de árvores de médio porte.

Família Herpestidae	25	2	Se aquático 8 m 2 prof. 0,5 m	2	2	Se fechado, o recinto deverá ter altura mínima de 2 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente, compatível com a construção de tocas. Para espécies arborícolas, grande disposição de troncos e tocas em estrato superior. Disponibilidade de árvores de pequeno porte
Família Hyaenidae	50	2	-	2 de 2 m ²	2	Piso de terra com grama ou outra 2 vegetação rasteira. Dois abrigos de 1m cada. Grande disposição de troncos e plataformas. Disponibilidade de árvores de pequeno porte
Família Mustelidae Mustela, Vormela, Martes, Lyncodon, Ictonyx, Poecilogale, Galictis, Spilogale.	20	2	3 m ² . Prof. 0,3 m.	Toca	1	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira compatível com a construção de tocas. A toca deverá ser construída de maneira tal que permita a contenção. Disponibilidade de árvores de pequeno porte
Gulo, Mellivora, Meles, Arctonyx, Taxidea	50	2	3 m ² . Prof. 0,50 m.	2	2	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente. Disposição de galhos e arbustivas.
Eira, Mephitis, Conepatus, Melogale, Mydaus, Amblonyx	15	2	3 m ² . Prof. 0,3 m.	2	2	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente. Disposição de galhos e arbustivas.
Lutra, Lontra, Aonyx, Lutrogale	60	Grupo familiar	40% do recinto. Prof.1,5 m.	2	2 m ² com tanque de 1 m ² .	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente, compatível com a construção de tocas.
Pteronura	120	Grupo familiar	40% do recinto. Prof. 2 m	3	3 m ² c/ tanque de 1 m ² . Prof. 0,8 m.	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente, compatível com a construção de tocas.
Enhydra	40	Grupo familiar	60% do recinto. Prof. 1,5 m.	4	2 m ² com tanque de 1 m ² . Prof. 0,8 m.	Animal marinho. Especificações para tanque de água salgada.
Família Otariidae	-	-	-	-	-	Consultar a IN 3/2018
Família Odobenidae	-	-	-	-	-	Consultar a IN 3/2018
Família Phocidae	-	-	-	-	-	Consultar a IN 3/2018
Família Procyonidae Procyon, Bassaricyon, Bassariscus, Potos.	20	2	2 m ² . Prof. 0,3 m. Água corrente	1	1	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 3 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira e arbustiva. Disponibilidade de galhos e tocas em estrato superior.

Nasua, Nasuella	30	Grupo familiar	-	2		Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 3,0 m. Disponibilidade de galhos e tocas em estrato superior.
Família Ursidae Ailuropoda	1500	2	15 m ² . Prof. 1,5 m.	6	12	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 4 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira e de material resistente. Disponibilidade de troncos e plataformas em diferentes níveis. Abrigo de 6m ² . Em regiões quentes, o recinto precisa ser resfriado.
Ailurus	40	2	-	2	2	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 3 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Disponibilidade de galhos e de árvores de pequeno porte. Abrigo de 0,8 m ² , em lugar alto.
Tremarctos, Ursus arctos, Ursus americanus, Helarctos malayanus, Melursus ursinus.	200	2	15 m ² prof. 1 m.	6	10	Se fechado, o recinto deverá apresentar altura mínima de 4 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira e de material resistente. Disponibilidade de rochas ou plataformas em diferentes níveis. Disponibilidade de troncos e árvores de médio porte.
Ursus maritimus	300	2	50% do recinto. Prof. 4 m.	6	10	Se fechado, o recinto deverá ter altura mínima de 4m. Grande disponibilidade de rochas ou plataformas em diferentes níveis.
Família Viverridae	25	2	Se aquático: 5 m ² . Prof. 0,5 m.			Se fechado, o recinto deverá ter altura mínima de 2,5 m. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente. Se cavadores, a espessura da camada de terra deverá ser de 1,5 m. Para espécies arborícolas, grande disposição de galhos e tocas em estrato superior.
Ordem Proboscidea Família Elephantidae	1500	2	100 m ² . Prof. 2,0 m.	2 de 60 m ² cada. Altura mínima, 6 m.	100	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira resistente. Cambiamento em concreto com pontos de fuga para os tratadores. Portas de trilho reforçado.
Ordem Perissodactyla F. Equidae	300	2	-	8 m ²	10	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Se possível vegetação arbórea. Abrigo de 5m ² .
Família Tapiridae	300	2	30% do recinto. Prof. mínima 1,5m.	5 m ²	10	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira resistente. Se possível vegetação arbórea. Abrigo de 5m ² .

Família Rhinocerotidae	600	2	Para R. unicornis, tanque de no mínimo 50% da área do recinto. Para as outras espécies, pequeno lamaçal.	25	25	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira resistente. Se possível, vegetação arbórea. Cambiamento reforçado.
Ordem Hyracoidea Família Procaviidae	15	Grupo familiar	-	1	-	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente, compatível com a construção de tocas.
Ordem Tubulidentata Família Orycteropodidae	70	2	-	3	-	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente, compatível com a construção de tocas.
Ordem Artiodactyla Família Suidae Família Tayassuidae	40	6	Espelho d'água	2	-	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira e de material resistente. Um abrigo de 4 m ² . Disponibilidade de árvores de pequeno porte
Família Hippopotamidae Hippopotamus	300	2	60% da área do recinto. Prof. média 2,0 m.	8	40 m ² . Tanque 20 m ² . Prof. 1,5 m.	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira resistente e de material resistente. Um abrigo de 10m ² .
Hexaprotodon	200	2	60% da área do recinto. Prof. 1,5 m.	3	20 m ² . Tanque 10,0 m ² . Prof. 1,0 m.	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira resistente e de material resistente. Um abrigo de 5 m ² .
Família Camelidae Camelus	200	2	-	10 m ² . Altura 4,0 m.		Piso de terra com grama ou outra 2 vegetação rasteira resistente. Um abrigo de 10m com 4m de altura. Piscina de areia de 20m ² . Disponibilidade de árvores de médio porte.
Lama Vicugna	100	2	-	5 m ² Altura 2,5 m.		Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Um abrigo de 10 m ² com 2,5 m de altura. Disponibilidade de árvores de médio porte.
Família Tragulidae	30	2	-	1 m ² com barreira visual sólida.	1	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Um abrigo de 1 m ² Disponibilidade de árvores de médio porte.

Família Giraffidae Giraffa	600	2	-	20 m ² . Altura interna de 7 m. Barreira visual sólida.	20	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira resistente. Comedouro e bebedouro localizados adequadamente quanto às necessidades do animal. Um abrigo de 10m ² com 7 m de altura interna.
Okapia						Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira resistente. Comedouro e bebedouro localizados adequadamente quanto às necessidades do animal. Um abrigo de 8 m ² com 3 m de altura interna.
Família Moschidae	100	2	-	2 m ² com barreira visual sólida.	2	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Abrigo de 2 m ² . Desejável vegetação arbórea, arbustiva e pontos de fuga.
Família Cervidae Hydropotes, Muntiacus, Elaphodus, Mazama, Hippocamelus, Pudu, Capreolus	100	4	5,0 m ² . Prof. 0,20 m.	4 m ² com barreira visual sólida.	5	Substrato ideal: gramíneas ou folhas. Abrigo de 10m ² , podendo ser árvores ou cobertura. Adaptar pontos de fuga. Altura mínima da barreira: 2m. Se as cercas forem constituídas por tela, os mourões deverão estar por fora da mesma. Os recintos não deverão ter cantos vivos.
Axis, Dama, Cervus, Elaphurus, Odocoileus, Ozotocerus, Rangifer.	500	4	Espelho d'água de 5 m ² . Prof. máxima 0,3 m.	10 m ² com barreira visual sólida.	20	Substrato ideal: gramíneas. Abrigo de 10m ² , podendo ser árvores ou cobertura. Adaptar pontos de fuga. Altura mínima da barreira: 2m. Se as cercas forem constituídas por tela, os mourões deverão estar por fora da mesma. Os recintos não deverão ter cantos vivos.
Alces	500	2	20% da área do recinto. Prof. 1 m.	20 m ² . Altura: 3 m. Barreira visual sólida.	20	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Desejável vegetação arbórea, arbustiva e pontos de fuga. Abrigo de 10m ² , com altura interna de 3m. Se as cercas forem constituídas por tela, os mourões deverão estar por fora da mesma. Os recintos não deverão ter cantos vivos.
Blastocerus	500	4	Lago: 15 m ² . Prof. 1 m.	2 de 20 m ² cada. Barreira visual sólida.	20	Substrato ideal: gramíneas. Abrigo de 10m ² , podendo ser árvores ou cobertura. Adaptar pontos de fuga. Altura mínima da barreira: 2m. Se as cercas forem constituídas por tela, os mourões deverão estar por fora da mesma. Os recintos não deverão ter cantos vivos.
Família Antilocapridae	200	2	-	5 m ² . Barreira visual sólida.		Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Desejável vegetação arbórea, arbustiva e pontos de fuga. Abrigo de 3 m ² .

Família Bovidae Tetragelaphus, Boselaphus, Kobus, Hippotragus, Oryx, Addax, Damaliscus, Alcelaphus, Connochaetes, Burdocas, Ovibos, Sigmoceros, Hemitragus, Capra, Pseudois, Ammotragus, Ovis.	300	2	Banhado de 50 m ² . Prof. 0,5 m.	8 m ² . Barreira visual sólida.		Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Desejável vegetação arbórea, arbustiva e pontos de fuga. Abrigo de 5 m ² .
Neotragus, Madoqua, Dorcatragus, Antilope, Aepyceros, Ammodorca, Litocranius, Gazella, Antidorcas, Procapha, Pantholops, Saiga, Naemorhedus, Oreomys, Rupicapra, Tetracerus, Cephalophus, Sylvicapra, Redunca#, Pelea, Oreotragus, Ourebia, Raphiceros.	200	2	15 m ² . Prof. 0,2 m.	3 m ² . Barreira visual sólida.		Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Desejável vegetação arbórea, arbustiva e pontos de fuga. Abrigo de 3 m ² .
Taurotragus, Bubalus, Syncerus, Bos, Bison.	600	2	80 m ² . Prof. 0,5 m.	8 m ² . Barreira visual sólida.		Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Desejável vegetação arbórea, arbustiva e pontos de fuga. Abrigo de 4 m ² .
Ordem Pholidota	15	2	-	-	-	Piso de terra sobre material resistente, compatível para a construção de tocas. Para espécies arborícolas, disposição de troncos.
Ordem Rodentia Roedores pequenos (até 1 kg) Ver relação no final dessa tabela.	2	2	-	-	-	Terrário. Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Disposição de galhos e tocas.

Roedores médios (de 1 até 8 kg) Apodontia, Atherurus, Bathyergus, Capromys, Cavia, Chaetomys, Coendú, Cryptomys, Cynomys, Dasyprocta, Echinoprocta, Erethizon, Geocapromys, Georychus, Helio-phobius, Hydromys, Lagidium, Lagostomus, Marmota, Myoprocta, Ondatra, Pdetes, Petaurista, Protoxerus, Quemiztia, Ratufa, Rheithrosciurus, Thecurus, Thryonomys, Trichys	15	2	Adaptar tanque, se aquático.		-	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira. Tocas. Se arborícola: disposição de galhos.
Roedores grandes (acima de 8 kg) Agouti, Castor, Dinomys, Dolichotis, Hydrochoeris, Hystrix, Myocastor	70	Grupo familiar	20% do recinto.	8 m ²	-	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira.
Ordem Lagomorpha Família Ochotonidae	4	2	-	-	-	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente. Abundância de tocas. Vegetação arbustiva.
Família Leporidae	8	2	-	-	-	Piso de terra com grama ou outra vegetação rasteira sobre material resistente. Abundância de tocas. Vegetação arbustiva

Relação de roedores pequenos (até 1 kg)

Abrocoma, Acomys, Aconaemys, Aeretes, Aeromys, Akodon, Allactaga, Alactagullus, Alticola, Ammodillus, Ammospermophilus, Andinomys, Anisomys, Anomalurops, Anomalurus, Anotomys, Apodemus, Arvicanthis, Arvicola, Atlantoxerus, Baiomys, Bandicota, Batomys, Beamys, Bolomys, Blanfordimys, Blarinomys, Brachiones, Brachytarsomys, Brachyuromys, Callosciurus, Callospermophilus, Calomys, Calomyscus, Cannomys, Cardiocranius, Carpomys, Carterodon, Celaenomys, Cercomys, Chilomys, Chinchilla, Chinchillula, Chiromiscus, Chiropodomys, Chrotomys, Clethrionomys, Clyomys, Colomys, Conilurus, Crateromys, Cricetomys, Cricetulus, Cricetus, Crossomys, Crunomys, Ctenodactylus, Ctenomys, Dacnomys, Dactylomys, Daptomys, Dasymys, Delanymys, Dendromus, Dendroprionomys,

Deomys, Desmodilliscus, Desmodillus, Dicrostonyx, Diomys, Diplomys, Dipodomys, Dipus, Dolomys, Dremomys, Dryomys, Echimys, Echiothrix, Eligmodontia, Eliomys, Eliurus, Ellobius, Eozapus, Epixerus, Eropeplus, Euchoreutes, Euneomys, Eupetaurus, Euryzygomatomys, Exilisciurus, Felovia, Funambulus, Funisciurus, Galea, Gatamiya, Geomys, Geosciurus, Gerbillus, Glaucomys, Glirulus, Glyphotes, Golunda, Grammomys, Graphiurus, Gymnuromys, Gyomys, Hadromys, Haeromys, Hapalomys, Heliosciurus, Heterocephalus, Heterogeomys, Heteromys, Holochilus, Hoplomys, Hybomys, Hylopetes, Hyomys, Hyosciurus, Hyperacrius, Hypogeomys, Ichthyomys, Idiurus, Iomys, Irenomys, Isothrix, Jaculus, Jucelinomys, Kannabateomys, Kerodon, Kunsia, Lachnomys, Lagurus, Lariscus, Leggadina, Leimacomys, Lemniscomys, Lemmus, Lenomys, Lenoxus, Leporillus, Leptomys, Liomys, Lonchothrix, Lophiomys, Lophuromys, Lorentzimys, Macrogeomys, Macrotarsomys, Macruromys, Malacomys, Malacothrix, Mallomys, Massoutiera, Mastacomys, Mayermys, Melanomys, Melasmothrix, Melomys, Menetes, Meriones, Mesembriomys, Mesocricetus, Mesomys, Microcavia, Microdipodops, Microhydromys, Micromys, Microsciurus, Microtus, Microxus, Millardia, Mindanaomys, Monodia, Muriculus, Mus, Muscardinus, Mylomys, Myomimus, Myopus, Myosciurus, Myospalax, Myotomys, Myoxus, Mystromys, Nannosciurus, Napaeozapus, Neacomys, Nectomys, Nelsonia, Neofiber, Neohydromys, Neotoma, Neotomodon, Neotomys, Nesokia, Nesomys, Nesoromys, Neusticomys, Notiomys, Notomys, Nyctomys, Ochrotomys, Octodon, Octodontomys, Octomys, Oenonys, Onychomys, Orthogeomys, Oryzomys, Otomys, Otonictomys, Otospermophilus, Oxymycterus, Pachyuromys, Papagomys, Pappogeomys, Paradipus, Parahydromys, Paraleptomys, Paraxerus, Parotomys, Pectinator, Pelomys, Perognathus, Peromyscus, Petaurillus, Petinomys, Petromus, Petromyscus, Phaenomys, Phenacomys, Phloeomys, Phodopus, Phyllotis, Pithecheir, Pitymys, Plagiodontia, Platacanthomys, Podoxymys, Pogonomelomys, Pogonomys, Proechimys, Prometheomys, Prosciurillus, Psammomys, Pseudohydromys, Pseudomys, Pseudoryzomys, Pteromys, Pteromyscus, Punomys, Pygeretmus, Rattus, Reithrodon, Reithrodontomys, Rhabdomys, Rhagomys, Rheomys, Rhinosciurus, Rhipidomys, Rhizomys, Rhombomys, Rhynchomys, Saccostomus, Salpingotus, Scapteromys, Sciurillus, Sciurotamias, Sciurus, Scolomys, Scotinomys, Sekkeetamys, Selevinia, Sicista, Sigmodon, Solomys, Spalacopus, Spalax, Spermophilopsis, Spermophilus, Steatomys, Stenocephalemys, Stylodipus, Sundasciurus, Synaptomys, Syntheosciurus, Tachyoryctes, Tamias, Tamiasciurus, Tamiops, Tatera, Taterillus, Thallomys, Thammomys, Thomasomys, Thomomys, Thrinacodus, Tokudaia, Trogopterus, Tryphomys, Tylomys, Typhlomys, Uranomy, Uromys, Vandeleuria, Vernaya, Wiedomys, Wilfredomys, Xenomys, Xenuromy, Xeromys, Xerus, Zapus, Zelotomys, Zenkerella, Zygodontomys, Zygogeomys, Zyzomys

8.4. Pisces (Osteichthyes e Chondrichthyes)

8.4.1. Gerais

Os recintos destinados aos peixes deverão atender aos seguintes requisitos:

1) Os recintos serão classificados nos seguintes sistemas de tratamento d' água:

1.1) Sistema fechado: quando o recinto possuir reciclagem total da água, da ordem mínima de 4 vezes o volume total do recinto/dia, com renovação mínima de 20% do volume total/mês.

1.2) Sistema semiaberto: quando o recinto possuir reciclagem total da água, da ordem mínima de 4 vezes o volume total do recinto por dia, com uma renovação constante mínima de 20% do volume total por semana.

1.3) Sistema aberto: quando ocorre um mínimo de 100% de renovação do volume de água do recinto por dia, com o descarte da mesma.

2) O recinto não poderá ter um volume de água inferior a 70 litros e uma área superficial inferior a 0,24 m², independentemente do sistema utilizado.

3) Quando o recinto for de sistema fechado, o mesmo deverá conter equipamentos que efetuem de forma adequada a filtração (mecânica, biológica e, quando necessária, química), iluminação, manutenção de temperatura (quando necessária), circulação de água e aeração, de forma a promover uma qualidade físico-química da água compatível com os requisitos normais das espécies nele expostas. Estes equipamentos poderão tratar a água de um recinto isolado ou um conjunto de recintos. Neste último caso o sistema deverá apresentar mecanismos de esterilização da água de retorno do sistema.

4) Quando o recinto for de sistema semi-aberto, além de atender as exigências acima, deverá apresentar sistema de distribuição e drenagem de água.

5) Quando o recinto for de sistema aberto, deverá possuir equipamentos que possibilitem o armazenamento prévio da água (para decantação de substâncias e materiais poluentes, minimizando seus possíveis efeitos nocivos nos recintos), além de sua distribuição e drenagem contínua.

6) A fonte de fornecimento de água deverá apresentar padrões constantes de qualidade, seguindo as normas vigentes da legislação específica (Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005, e suas alterações) enquadrada no mínimo na classe 2.

7) O recinto (em conjunto ou individualmente) deverá possuir mecanismos que permitam a limpeza adequada e periódica dos detritos depositados no fundo do recinto.

8) O recinto (em conjunto ou individualmente) deverá possuir equipamentos para controlar as seguintes variáveis físico-químicas: temperatura, pH, dH, amônia, nitrito, nitrato, O₂D e densidade, quando necessário.

8.1) Os valores dos parâmetros acima deverão estar de acordo com as necessidades particulares das espécies expostas em cada recinto.

8.2) Deverá ser mantido livro de registro destes parâmetros, individualizados por recinto e cuja análise deverá ter uma frequência mínima semanal.

9) O recinto (em conjunto ou individualmente) deverá possuir obrigatoriamente sistema de aeração de emergência com capacidade mínima suficiente para manter os sistemas de circulação ou aeração em funcionamento, em caso de panes elétricas, de forma a evitar mortalidade em decorrência de flutuações no oxigênio dissolvido. O funcionamento e a manutenção do equipamento de emergência deverão ser verificados pelo Ibama quando da realização das vistorias.

10) A infraestrutura dos recintos deverá possuir instalações para quarentena e setor extra em quantidades de recintos não inferior a 20% dos existentes para exibição, com tamanhos variados e compatíveis com as espécies expostas. A qualidade da água dos recintos de quarentena e setor extra deverá possuir as variáveis físico-químicas adequadas para as espécies alojadas.

2. Específicos:

1) As densidades máximas de ocupação (DO) para peixes, exceto elasmobrânquios, deverão seguir os seguintes parâmetros:

a) Peixes com até 7 cm de comprimento: 5 litros de água/indivíduo;

b) Peixes de 7 a 20 cm de comprimento: 70 litros de água/indivíduo;

c) Peixes de 20 a 60 cm de comprimento: 500 litros de água/indivíduo;

d) Peixes acima de 60 cm de comprimento: 1000 litros de água/indivíduo;

e) Peixes acima de 80 cm de comprimento, o tanque deverá ter as seguintes dimensões:

→ Comprimento do Tanque (CT) = 2 vezes o comprimento do peixe (CP);

→ Largura do Tanque (LT) = 1,5 vezes o comprimento do peixe (CP);

→ Altura do Tanque (HT) = comprimento do peixe (CP).

2) Para elasmobrânquios, o tanque para exposição deverá ter as seguintes características:

→ Comprimento do tanque deve ser de 6 vezes o comprimento do peixe para espécies de natação descontínua e, de 8 vezes o comprimento do peixe para as espécies de natação contínua. No caso de arraias pode ser considerada a largura do peixe;

→ Largura do Tanque = 3 vezes o comprimento do peixe;

→ Altura do Tanque = 2 vezes o comprimento do peixe.

2.1) O tanque de toque para elasmobrânquios deverá ter os seguintes parâmetros:

a) O tanque de toque deverá possuir profundidade mínima de 120 cm.

b) As espécies de elasmobrânquios utilizadas no tanque de toque deverão possuir, no mínimo, 50 cm de comprimento. No caso de arraias pode ser considerada a largura do peixe;

c) Elasmobrânquios de até 100 cm de comprimento: 25.000 litros de água/indivíduo;

d) Elasmobrânquios de até 200 cm de comprimento: 50.000 litros de água/indivíduo;

e) Elasmobrânquios acima de 200 cm de comprimento: 100.000 litros de água/indivíduo;

f) A iluminação deve ocorrer durante todo o período de exposição ao público e com intensidade mínima de 1w/l;

g) O sistema deve ser semiaberto ou aberto, com circulação de água de, no mínimo, quatro vezes o volume do tanque por dia.

h) O acesso ao público e o procedimento de toque deverão ser monitorados e, poderão ocorrer por uma única lateral do tanque de toque, que corresponda, no máximo, a 25% do perímetro do recinto.

i) Para o acesso ao tanque de toque, é necessária a assepsia das mãos, não utilizando substâncias saponáceas ou demais substâncias que prejudiquem a qualidade da água circulante do recinto.

3) O sistema de filtragem e aeração utilizados, bem como a manutenção da qualidade físico-química da água (pH, O₂D, NH₃, NO₂, NO₃) indicada para a espécie alojada devem ser adequados para a densidade ocupacional do recinto.

4) O recinto para espécies de recifes de coral e costão rochoso deverá possuir abrigos (refúgios) em quantidade suficiente às espécies alojadas.

8.4.2. Epecíficos

8.4.2.1. *Danio rerio* (Zebrafish)

Muitas espécies de peixes de água doce e salgada são utilizadas em pesquisas, considerando a diversidade natural e os interesses regionais do país. Uma espécie em especial, *Danio rerio* merece destaque por ser amplamente utilizada em pesquisas em diversas áreas do conhecimento. Também conhecido por peixe zebra ou zebrafish, o *Danio rerio* é um pequeno teleósteo tropical de água doce, pertencente à família Cyprinidae, de origem asiática. Apresenta a complexidade de um animal vertebrado e a simplicidade de reprodução, pois os ovos são transparentes e o desenvolvimento embrionário ocorre rapidamente em 48 horas pós-fecundação.

Devido à homologia genética de 70% com seres humanos, os peixes-zebra vem sendo utilizado como modelo animal em pesquisas nas áreas de fisiologia, toxicologia, genética, embriologia, metabolismo, oncologia, neurociência e farmacologia. A tabela a seguir sintetiza as condições de manutenção específicas para essa espécie.

	Parâmetros	Valores	Frequência verificação	Referência
Água	Declorada	(convencional ou tratada com anticloro ou água destilada por osmose reversa com 60 mg do sal Instant Ocean®/L)	-	Westerfield (2000)
	Temperatura	25 – 29°C	Diária	Westerfield (2000)
	pH	6,8 – 7,5	Diária	Brand <i>et al.</i> (2002)
	Oxigênio dissolvido	6 ppm (mg/L)	Diária	Matthews <i>et al.</i> (2002)
	Condutividade	180 - 350 µS	Diária	Brand <i>et al.</i> (2002)
	Amônia	Zero	Semanal	Vargesson <i>et al.</i> (2007)
	Nitrito	Zero	Semanal	Vargesson <i>et al.</i> (2007)
	Nitrato	100 - 200 mg/L	Semanal	Brand <i>et al.</i> (2002)
	Dureza	75 – 200 mg/L CaCO ₃	Mensal	Wurts (2002)
	Alcalinidade	50 – 100 mg/L	Mensal	Lawrence <i>et al.</i> (2010)
Filtração	Contínua com filtro de carvão ativado (interno ou externo)			Matthews <i>et al.</i> (2002)

Fotoperíodo	14 horas claro / 10 horas escuro	-	-	Matthews <i>et al.</i> (2002)
Densidade (animais/L)	Adultos	1 - 2 peixes/ L		Vargesson (2007)
	Juvenis	5 peixes/ L		Matthews <i>et al.</i> (2002)
	Larvas	20 larvas/ 400mL		Matthews <i>et al.</i> (2002)
	Embriões	20 embriões/ 100mL		Matthews <i>et al.</i> (2002)
Alimentação	Adultos: ração flocada comercial com suplementação de artêmia ou <i>Paramecium</i>		Duas vezes ao dia	Matthews <i>et al.</i> (2002)
	Larvas: ração flocada comercial com suplementação de artêmia ou <i>Paramecium</i>		2 -3 vezes ao dia	Matthews <i>et al.</i> (2002)
Enriquecimento ambiental	Plantas naturais ou artificiais, tocas para refúgio, substrato (pedras, areia)			Reed <i>et al.</i> (2010)

8.5. Classe Lissamphibia

As determinações para os anfíbios basearam-se nas estabelecidas pela *Directive 2010/63/EU* (2010).

8.5.1. Específico

Caudados Aquáticos			
Comprimento do corpo (do focinho à cloaca) - cm	Área de superfície aquática mínima (cm ²)	Área de superfície aquática mínima para cada indivíduo adicional no grupo (cm ²)	Profundidade mínima da água (cm)
Até 10	262,5	50	13
De 10 - 15	525	110	13
De 15 - 20	875	200	15
De 20 - 30	1837,50	440	15
Acima de 30	3150	800	20

Anuros Aquáticos			
Comprimento do corpo (do focinho à cloaca) - cm	Área de superfície aquática mínima (cm ²)	Área de superfície aquática mínima para cada indivíduo adicional no grupo (cm ²)	Profundidade mínima da água (cm)
Abaixo de 6	160	40	6
De 6 - 9	300	75	8
De 9 - 12	600	150	10
Acima de 12	920	230	12,5

Anuros Semiaquáticos				
Comprimento do corpo (do focinho à cloaca) - cm	Tamanho mínimo do recinto* (cm ²)	Área mínima para cada indivíduo adicional no grupo (cm ²)	Altura mínima do recinto** (cm)	Profundidade mínima da água (cm)
Até 5,0	1500	200	20	10
De 5 – 7,5	3500	500	30	10
Acima de 7,5	4000	700	30	15

* Um terço de terra firme, dois terços de água suficiente para os animais mergulharem
 ** Medido a partir da superfície da área de terra firme até à parte interna do topo do terrário

Anuros Semi Terrestres				
Comprimento do corpo (do focinho à cloaca) - cm	Tamanho mínimo do recinto* (cm ²)	Área mínima para cada indivíduo adicional no grupo (cm ²)	Altura mínima do recinto** (cm)	Profundidade mínima da água (cm)
Até 5,0	1500	200	20	10
De 5 – 7,5	3500	500	30	10
Acima de 7,5	4000	700	30	15

* Dois terços de terra firme, um terço de área aquática suficiente para os animais submergirem
 ** Medido a partir da superfície da área de terra firme até à parte interna do topo do terrário

Anuros arborícolas			
Comprimento do corpo (do focinho à cloaca) - cm	Tamanho mínimo do recinto* (cm ²)	Área mínima para cada indivíduo adicional no grupo (cm ²)	Altura mínima do recinto** (cm)
Até 3,0	900	100	30
Acima de 3,0	1500	200	30

* Dois terços de terra firme, um terço de área aquática suficiente para os animais submergirem
 ** Medido a partir da superfície da área de terra firme até à parte interna do topo do terrário

9. Glossário:

- 1. Autorização de uso e manejo (AM):** ato administrativo emitido pelo órgão ambiental competente que permite o manejo e o uso da fauna silvestre;
- 2. Centro de triagem de fauna silvestre:** empreendimento de pessoa jurídica de direito público ou privado, com finalidade de receber, identificar, marcar, triar, avaliar, recuperar, reabilitar e destinar fauna silvestres provenientes da ação da fiscalização, resgates ou entrega voluntária de particulares, sendo vedada a comercialização;
- 3. Centro de reabilitação da fauna silvestre nativa:** empreendimento de pessoa jurídica de direito público ou privado, com finalidade de receber, identificar, marcar, triar, avaliar, recuperar, reabilitar e destinar espécimes da fauna silvestre nativa para fins de reintrodução no ambiente natural, sendo vedada a comercialização;
- 4. Criadouro científico para fins de conservação:** empreendimento de pessoa jurídica, ou pessoa física, sem fins lucrativos, vinculado a plano de ação ou de manejo reconhecido, coordenado ou autorizado pelo órgão ambiental competente, com finalidade de criar, recriar, reproduzir e manter espécimes da fauna silvestre nativa em cativeiro para fins de realizar e subsidiar programas de conservação e educação ambiental, sendo vedada a comercialização e exposição;
- 5. Criadouro científico para fins de pesquisa:** empreendimento de pessoa jurídica, vinculada ou pertencente a instituição de ensino ou pesquisa, com finalidade de criar, recriar, reproduzir e manter espécimes da fauna silvestre em cativeiro para fins de realizar ou subsidiar pesquisas científicas, ensino e extensão, sendo vedada a exposição e comercialização a qualquer título;
- 6. Criadouro comercial:** empreendimento de pessoa jurídica ou produtor rural, com finalidade de criar, recriar, terminar, reproduzir e manter espécimes da fauna silvestre em cativeiro para fins de alienação de espécimes, partes, produtos e subprodutos;
- 7. Enriquecimento Ambiental:** alterações no ambiente de um animal cativo com o objetivo de criar oportunidades para que comportamentos típicos da espécie em questão possam ser demonstrados;
- 8. Enriquecimento Alimentar:** alterações na forma de apresentação da alimentação ofertada para um animal cativo com o objetivo de estimular o forrageio e criar novas oportunidades comportamentais durante a alimentação;
- 9. Fauna silvestre nativa:** todo animal pertencente a espécie nativa, migratória e qualquer outra não exótica, que tenha todo ou parte do seu ciclo de vida ocorrendo dentro dos limites do território brasileiro ou águas jurisdicionais brasileiras;
- 10. Jardim zoológico:** empreendimento de pessoa jurídica, constituído de coleção de animais silvestres mantidos vivos em cativeiro ou em semiliberdade e expostos à visitação pública, para atender a finalidades científicas, conservacionistas, educativas e socioculturais;
- 11. Mantenedouro de fauna silvestre:** empreendimento de pessoa física ou jurídica, sem fins lucrativos, com a finalidade de criar e manter espécimes da fauna silvestre em cativeiro, sendo proibida a reprodução, exposição e alienação.

10. Referências bibliográficas:

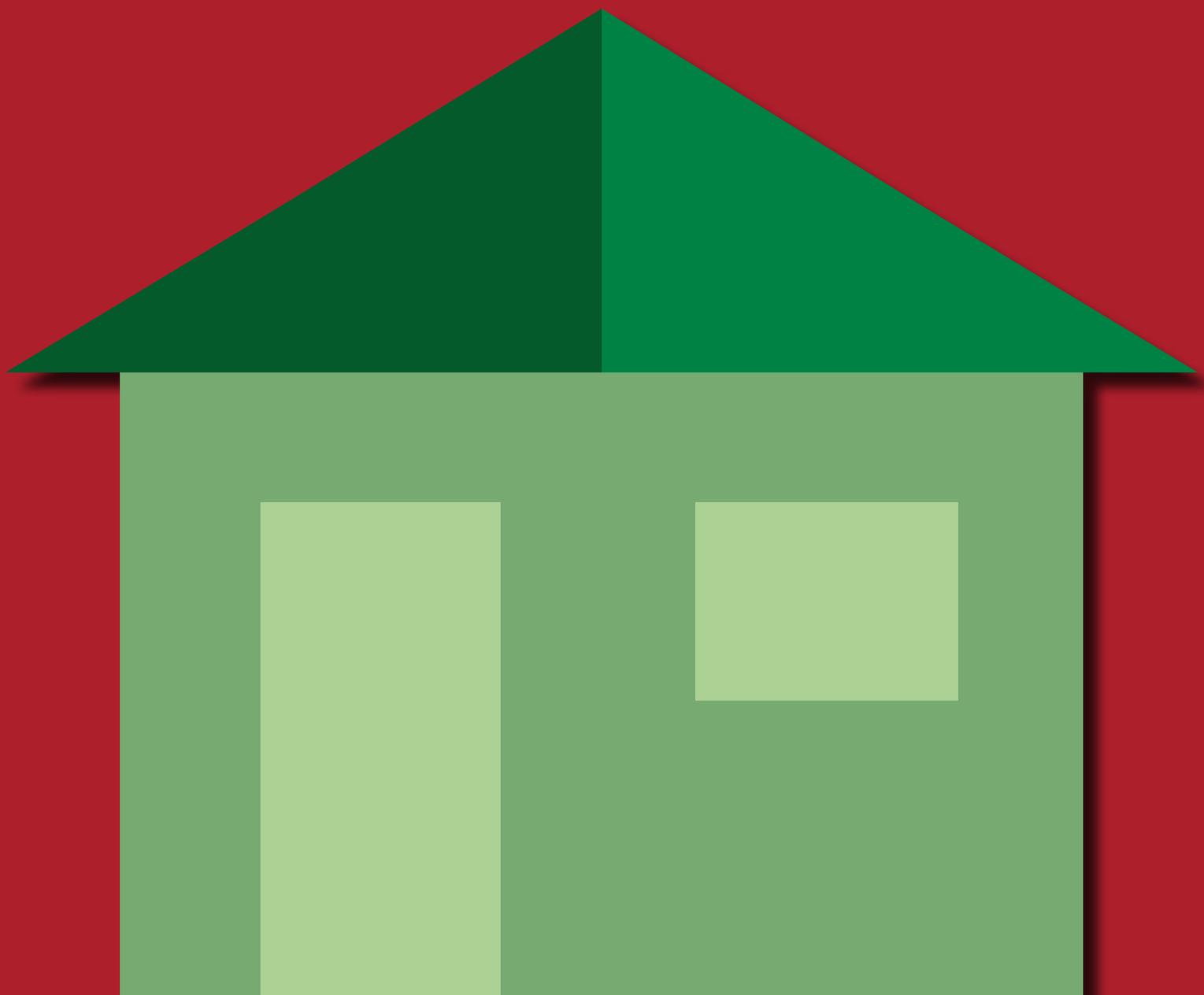
- BRASIL. Instrução Normativa IBAMA nº 07, de 30 de abril de 2015. **Institui a normaliza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro**, e define, no âmbito do IBAMA, os procedimentos autorizados para as categorias estabelecidas. Diário Oficial da União de 11 de maio de 2015, S. 1, p. 75.
- EUROPEAN UNION (Directives). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council, of 22 September 2010 - on the protection of animals used for scientific purposes. 20 oct. 2010. 47 p.

Capítulo 14

Estudos conduzidos com
animais domésticos

mantidos fora

de instalações de instituições de
ensino ou pesquisa científica



COORDENADORA:

Norma Vollmer Labarthe Fundação Oswaldo Cruz

AUTORES:

Cleber Tailor Melo Carneiro Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Greyce Lousana Sociedade Brasileira de Profissionais em Pesquisa Clínica

Luciano Doretto Júnior Centro de Pesquisas em Animais do Brasil

Norma Vollmer Labarthe Fundação Oswaldo Cruz

Citação recomendada: CARNEIRO, C. T. M; LOUSANA, G.; DORETTO JÚNIOR, L.; LABARTHE, N. V. (2023) Capítulo 14 - Estudos conduzidos com animais domésticos mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica. pp.856-881. In: LABARTHE, N. V. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Contextualização	863
2. Objetivo	864
3. Glossário	865
4. Justificativa	870
5. Responsabilidades do patrocinador	871
6. Responsabilidades do pesquisador principal	872
7. Responsabilidades dos pesquisadores	874
8. Operacionalização dos estudos conduzidos a campo com animais de espécies domésticas	876
9. Referências Bibliográficas	878
10. Anexos	879

ANIMAIS DOMÉSTICOS

1. Contextualização

Estudos conduzidos a campo com animais de espécies domésticas são aqueles realizados com indivíduos de espécies domésticas livres ou mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica. Tais estudos devem, obrigatoriamente, ser de responsabilidade de uma instituição credenciada pelo Concea. Animais silvestres de vida livre ou mantidos em cativeiro são objeto de outras publicações do Concea.

São considerados exemplos de estudos conduzidos a campo com animais de espécies domésticas, aqueles que podem ocorrer nas clínicas veterinárias, nas casas dos responsáveis, em organizações não governamentais (ONGs), em Centros de Controle de Zoonoses, em hospitais veterinários, em locais públicos com animais errantes, em propriedades rurais não estruturadas para finalidade de pesquisa, e outras que não as estruturadas com a finalidade de pesquisa.

O objetivo principal desse tipo de estudo é avaliar um produto ou um procedimento investigacional novo ou com novos objetivos, embora possa incluir outros estudos. Busca-se envolver a maior diversidade de raças, idades e condições de vida.

Esses estudos, obrigatoriamente, têm um pesquisador principal e não podem ser iniciados antes da aprovação da CEUA pertinente.

Relatos de casos atendidos na rotina da clínica veterinária não se configuram em estudos conduzidos a campo por serem relatos de ocorrências e procedimentos considerados profilaxia ou tratamento veterinário do qual o animal necessitava. Todavia, o pesquisador principal deverá obter o termo de consentimento formal por parte do responsável pelo animal para que imagens de pacientes ou partes dele, de procedimentos terapêuticos ou de histopatologias sejam publicados.

2. Objetivo

O objetivo desse capítulo é orientar os pesquisadores e os patrocinadores e definir os requisitos mínimos necessários para a condução dos “Estudos conduzidos a campo com animais de espécies domésticas” quanto aos aspectos éticos relacionados ao manejo e bem-estar dos animais utilizados durante um estudo.

Demais legislações vigentes, tais como leis ou decretos federais e as emanadas pelo MCTI, Concea, MAPA, MMA, IBAMA, ICMBio e outros órgãos oficiais deverão ser atendidas, sempre que aplicável.

3. Glossário

3.1. Animal: qualquer vertebrado vivo, não humano, das espécies classificadas no filo Chordata, subfilo Vertebrata, como disposto na Lei nº 11.794, de 8 de outubro 2008 ou nas disposições normativas do Concea.

3.2. Animal comunitário: é o animal do estudo mantido e cuidado por um grupo de pessoas de uma vizinhança.

3.3. Animal do estudo: é o indivíduo de espécie doméstica que participa de um estudo conduzido a campo para a avaliação dos efeitos de um produto ou procedimento de uso veterinário, seja ele do” grupo tratado “ou do” grupo controle“, quando aplicável, ou qualquer outro tipo de estudo a campo.

3.4. Animal doméstico: todos aqueles animais que, por meio de processos tradicionais e sistematizados de manejo ou melhoramento zootécnico, tornaram-se domésticos, apresentando características biológicas e comportamentais em estreita dependência de seres humanos, podendo apresentar fenótipo variável diferente da espécie silvestre.

3.5. Animal sem responsável: é o animal do estudo pelo qual não há responsável identificável. São eles os animais domésticos errantes, ferais ou não, organizados em colônias ou não. Animais comunitários não são animais sem responsável, uma vez que um representante da comunidade deverá autorizar sua utilização.

3.6. Boas práticas: padrão de qualidade ética e científica para a elaboração, condução, monitoramento, registro, auditoria, análise, emissão de relatórios e notificações dos estudos conduzidos a campo, envolvendo a participação de animais. A aderência a esse padrão assegura a garantia pública da integridade dos dados, bem como o cumprimento dos requisitos de bem-estar e proteção do animal, da equipe envolvida na condução dos estudos, do ambiente e das cadeias alimentares humanas ou de outros animais, em conformidade com o estabelecido por leis ou decretos federais, pelo MCTI, Concea, MAPA, MMA, IBAMA, ICMBio e outros órgãos oficiais.

3.7. CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais. A CEUA, obrigatoriamente, é uma comissão de uma instituição

credenciada junto ao Concea, que tem a missão de cumprir e fazer cumprir o disposto na Lei nº 11.794/2008 e demais normativos aplicáveis à produção, manutenção ou utilização de animais vertebrados não humanos, das espécies classificadas no filo Chordata, subfilo Vertebrata, como disposto na Lei nº 11.794/2008, em atividades de ensino ou pesquisa científica. A CEUA deve examinar os projetos previamente ao seu início para determinar a compatibilidade com a legislação aplicável. A CEUA responsável pela autorização para execução de um projeto que objetive um estudo conduzido a campo envolvendo animais é a da instituição à qual o pesquisador principal pertence.

3.8. Concea: Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal.

3.9. Espécie alvo: espécie animal, (incluindo-se classe ou raça, quando aplicável), para a qual o resultado do estudo se destina, ou o produto ou o procedimento investigacional é ou poderá ser indicado.

3.10. Estudo clínico: Esses estudos objetivam avaliar os efeitos de um produto ou um procedimento investigacional de uso veterinário novo ou com novos objetivos, a ser utilizado em animais das espécies domésticas classificadas como filo Chordata, subfilo Vertebrata.

3.11. Evento adverso: qualquer ocorrência médica desfavorável que ocorra nos animais do estudo durante o uso de um produto ou procedimento investigacional, independentemente de ter ou não relação causal com o produto. As ocorrências desfavoráveis que ocorram em seres humanos, relacionadas com o manuseio do produto sob investigação, também devem ser consideradas como evento adverso.

3.12. Evento adverso grave (EAG): para fins deste guia, é qualquer evento que resulte em qualquer um dos seguintes desfechos:

3.12.1. Óbito;

3.12.2. Evento adverso potencialmente fatal (na opinião do notificante, coloca o indivíduo sob risco imediato de morte devido ao evento adverso ocorrido);

3.12.3. Incapacidade/invalidez persistente ou significativa;

3.12.4. Exige internação hospitalar ou cuidados veterinários específicos e de forma continuada ou ainda prou-

que uma interação previamente estabelecida;

3.12.5. Anomalia congênita ou defeito de nascimento;

3.12.6. Evento clinicamente significativo;

3.12.7. Suspeita de transmissão de agente infeccioso por meio do produto ou intervenção do estudo.

3.13. Instalação animal: aquela na qual são produzidos, mantidos ou utilizados animais para atividades de ensino ou pesquisa científica. A instalação deve possuir infraestrutura adequada para atender aos requisitos ambientais, sanitários e de bem-estar animal para a espécie utilizada. São exemplos: instalações para roedores e lagomorfos, fazendas experimentais, canil, pocilga, baia, piquete, curral, galpão, granja, tanque ou lagos para peixes, viveiros, etc.

3.14. IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.

3.15. ICMBio: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade.

3.16. MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

3.17. MCTI: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

3.18. MMA: Ministério do Meio Ambiente.

3.19. Patrocinador: um indivíduo, empresa ou instituição pública ou privada, responsável pela implementação, gerenciamento e fomento de um estudo a campo com animais domésticos.

3.20. Período de carência ou período de retirada: é o intervalo de tempo entre a suspensão da administração de um produto investigacional e o momento em que os resíduos de relevância toxicológica quantificados no animal do estudo (seus produtos ou excretas) estejam abaixo do estipulado como limite de segurança conforme disposto pelo MAPA ou em guias reconhecidos internacionalmente. Este conceito só é aplicável aos animais de produção, mantidos em instalações cujo objetivo é a produção de alimentos.

3.21. Pesquisador principal: pessoa responsável por todos os aspectos relacionados à condução de um estudo conduzido a campo e por garantir que os animais do estudo recebam os cuidados veterinários necessários e com qualidade.

3.22. Pesquisador-Patrocinador: pessoa física, responsável pela condução e coordenação de estudo conduzido a campo, realizado mediante a sua direção imediata de forma independente, sem patrocínio ou patrocinada por entidades nacionais ou internacionais de fomento à pesquisa, ou outras entidades com ou sem finalidade lucrativa. As obrigações de um pesquisador-patrocinador incluem tanto aquelas de um patrocinador como as de um pesquisador principal ou pesquisador, quando for o caso. Os docentes, orientadores de trabalhos acadêmicos de alunos, de graduação ou de pós-graduação, são considerados pesquisadores-patrocinadores quando não houver patrocinador formal.

3.23. Pesquisador: toda e qualquer pessoa qualificada que utilize animais em atividades de pesquisa científica.

3.24. Procedimento investigacional: qualquer procedimento seja ele de natureza observacional, cirúrgica, diagnóstica, de manejo populacional ou melhoramento zootécnico, dentre outros, que envolva animais no processo de investigação. Os procedimentos investigacionais devem ser detalhados no projeto.

3.25. Produto investigacional: qualquer produto avaliado em um estudo clínico, para investigar sua segurança, eficácia, qualidade, resíduos, ou ainda, seus efeitos terapêutico, diagnóstico, preventivo, nutricional, de embelezamento ou qualquer outro efeito, quando administrado ou aplicado em um ou mais animais. O produto investigacional pode ser novo (não registrado pelo MAPA e não disponível no mercado internacional); registrado pelo MAPA; registrado pelo MAPA para outros usos ou; não registrado pelo MAPA, mas disponível no mercado internacional.

3.26. Projeto do estudo: um documento assinado e datado pelo pesquisador principal e pelo patrocinador, quando aplicável, que descreve todas as atividades científicas ou didáticas. São exemplos dos aspectos relacionados ao estudo que devem ser detalhados: justificativa; revisão de literatura; delineamento metodológico; equipe envolvida; considerações estatísticas; cronograma; critérios de inclusão e exclusão dos animais do estudo; métodos e procedimentos a serem utilizados e outras informações pertinentes.

3.27. Responsável pelo animal: pessoa física ou jurídica, pública ou privada, que mantém um ou mais animais sob seus cuidados. No caso de animais comunitários, um responsável da comunidade deverá assumir a responsabilidade pelo animal.

3.28. Responsável Técnico: médico veterinário, devidamente inscrito no Conselho de Medicina Veterinária, responsável por garantir ao consumidor a qualidade dos produtos e dos serviços prestados, respondendo ética, civil e penalmente pelos seus atos profissionais uma vez caracterizada sua culpa por negligência, imprudência, imperícia ou omissão.

3.29. Termo de Consentimento: processo documentado (escrito, datado e assinado) pelo qual o responsável pelo (s) animal (is) do estudo ou seu representante, de forma voluntária, permite que seu (s) animal (is) participe (m) de um estudo. A minuta do termo de consentimento deve ser apresentada e aprovada pela CEUA institucional pertinente. O termo de consentimento aprovado pela CEUA deve ser obtido antes que qualquer procedimento seja realizado com qualquer animal do estudo (Modelo Anexo 1). Quando o animal se enquadrar em “sem responsável”, o termo de consentimento poderá ser dispensado, a critério da CEUA. Entretanto, quando a CEUA avaliar um projeto envolvendo esses animais, deverá certificar-se de que os pesquisadores têm experiência com este tipo de estudo e deverá monitorar o estudo minuciosamente.

3.30. Termo de responsabilidade do Responsável Técnico do produto investigacional: processo documentado (escrito, datado e assinado) pelo qual o responsável técnico do produto investigacional declara que o produto cumpriu com as etapas necessárias para o desenvolvimento farmacotécnico e com as provas de segurança e estabilidade aplicáveis para uso na espécie referida (Modelo Anexo 2).

4. Justificativa

Considerando que uma das missões do CONCEA é garantir que os animais utilizados em qualquer tipo de pesquisa científica tenham sua integridade e bem-estar preservados, a condução dos estudos fora dos ambientes controlados das instalações para utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa também devem se adequar às normas do CONCEA e às demais regras aplicáveis.

Para os casos de estudos conduzidos em instalações animais, cujo objetivo é a produção, manutenção ou utilização de animais para atividades de ensino ou pesquisa, este capítulo do GUIA BRASILEIRO PARA PRODUÇÃO, MANUTENÇÃO E UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA ATIVIDADES DE ENSINO OU PESQUISA não se aplica.

5. Responsabilidades do patrocinador

Nos estudos do patrocinador, esse será responsável:

→ Por garantir a existência de um sistema de gestão da qualidade que permita a aderência aos requisitos do projeto, a rastreabilidade dos dados, a segurança dos profissionais envolvidos com a pesquisa e a integridade e bem-estar dos animais utilizados durante a pesquisa;

→ Por possuir acordos por escrito com o pesquisador principal, garantindo que todo o “estudo conduzido a campo com animais de espécies domésticas”, atende aos requisitos deste Guia, do projeto aprovado pela CEUA, das boas práticas e das regulamentações aplicáveis;

→ Pelo fornecimento ao pesquisador principal e pela retenção de uma via do Termo de Responsabilidade do Responsável Técnico do produto investigacional que garanta que o mesmo cumpriu com as etapas necessárias para o desenvolvimento farmacotécnico e com as provas de segurança e estabilidade aplicáveis para a utilização em animais;

→ Pela garantia de que haverá um médico veterinário para prestar os cuidados médicos necessários aos animais do estudo durante a pesquisa;

→ Por garantir que nenhum estudo será conduzido sem a prévia autorização da CEUA pertinente;

→ Por garantir que os responsáveis pelos animais do estudo ou seus representantes tenham assinado e datado o Termo de Consentimento conforme aprovado pela CEUA pertinente;

→ Por garantir que eventos adversos serão devidamente tratados e que o pesquisador principal fará os devidos registros na documentação do projeto;

→ Pela elaboração e cumprimento de um plano de monitoramento das pesquisas; e

→ Por garantir que o período de carência seja cumprido em estudos conduzidos a campo com animais de espécies domésticas, quando aplicável. Quando o período de carência não for devidamente estabelecido, medidas apropriadas para garantir a segurança ambiental, individual e comunitária devem ser garantidas.

Será dado ao patrocinador, o direito de terceirizar um ou mais de seus serviços. Quando isso ocorrer, acordos por escrito devem ser elaborados entre as partes. No caso da terceirização, o patrocinador delega funções, mas não delega suas responsabilidades.

6. Responsabilidades do pesquisador principal

São responsabilidades do pesquisador principal por um estudo conduzido a campo com animais de espécies domésticas:

- Ter qualificação e experiência para a condução do estudo a ser conduzido a campo;
- Conhecer as boas práticas, as regulamentações emanadas pelo MAPA, Concea e demais órgãos aplicáveis;
- Garantir o cumprimento das normas locais para a condução de estudo conduzido a campo;
- Garantir que nenhum estudo conduzido a campo será iniciado sem a prévia autorização da CEUA da instituição (credenciada no Concea) do pesquisador principal;
- Garantir que qualquer alteração ao projeto de estudo original seja comunicada à CEUA que o autorizou, acompanhada de justificativa, previamente à sua implementação ou no prazo máximo de 72 horas de sua implementação;
- Garantir que as atividades desenvolvidas com os animais do estudo terão a supervisão de um médico veterinário com registro ativo no Conselho Regional de Medicina Veterinária correspondente;
- Garantir que a pesquisa terá recursos financeiros, humanos, e outros que suportem a sua condução;
- Garantir que quando um produto ou o procedimento investigacional for usado ele conta com estudos prévios que minimizem os riscos aos animais;
- Garantir que a utilização dos animais não comprometerá as necessidades básicas de bem-estar animal características de cada espécie estudada;
- Garantir que o termo de consentimento do responsável pelo animal do estudo (pessoa física ou jurídica) ou seu representante será assinado e datado antes de qualquer procedimento com o animal. Exceção feita aos animais sem responsável, quando a CEUA deverá avaliar e monitorar criteriosamente;
- Garantir cuidados médico-veterinários aos animais durante o estudo, quando necessário;
- Garantir que o estudo conduzido a campo não se configure em repetição de outros já realizados e publicados, sem a clara intenção de buscar novas informações;
- Garantir a implementação de um sistema de gestão da qualidade que permita a rastreabilidade dos dados do

estudo; e

→ Garantir que toda a equipe envolvida com a condução do estudo é qualificada para a execução de suas tarefas.

Será dado ao pesquisador principal, o direito de delegar tarefas. Quando isso ocorrer, acordos por escrito devem ser elaborados entre as partes. O pesquisador principal delega tarefas para pessoas com capacidade técnica e competência, e não a responsabilidade pela condução do estudo.

No caso de estudos do pesquisador/patrocinador, o pesquisador arcará com as responsabilidades de pesquisador ou de pesquisador principal, quando aplicável, e de patrocinador, mesmo que as tarefas sejam delegadas a outros profissionais competentes.

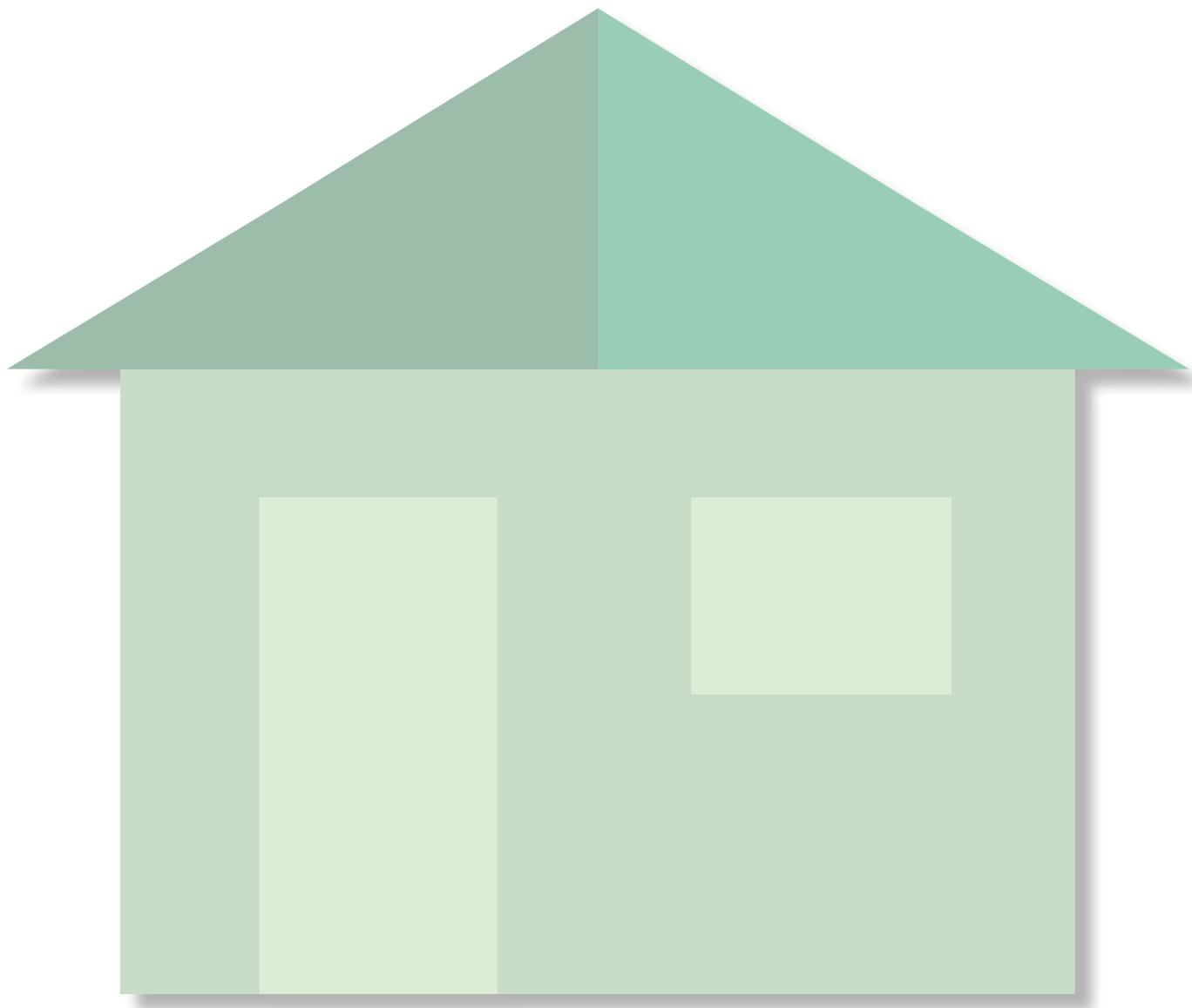
7. Responsabilidades dos pesquisadores

São responsabilidades de todos os pesquisadores envolvidos em um estudo conduzido a campo com animais de espécies domésticas:

- Ter qualificação e experiência para a realização das atividades a serem desenvolvidas no estudo a ser conduzido a campo;
- Conhecer as boas práticas clínicas, as regulamentações emanadas pelo MAPA, Concea e demais órgãos aplicáveis;
- Garantir o cumprimento das normas locais para a condução do estudo conduzido a campo;
- Executar o estudo a campo de acordo como previsto, evitando qualquer desvio, exceto, para proteger os animais do estudo. Nesse caso, a CEUA que autorizou o estudo, bem como o pesquisador principal e o patrocinador devem ser comunicados e devem justificar as razões pelas quais os requisitos não foram atendidos;
- Garantir que nenhum estudo conduzido a campo será iniciado sem a prévia anuência da CEUA da instituição (credenciada no Concea) do pesquisador principal;
- Garantir que as atividades desenvolvidas com os animais do estudo terão a supervisão de um médico veterinário com registro ativo no Conselho Regional de Medicina Veterinária correspondente;
- Garantir que a pesquisa terá recursos financeiros, humanos, e outros que suportem a sua condução;
- Garantir que quando um produto ou o procedimento investigacional for usado ele conta com estudos prévios que minimizem os riscos aos animais;
- Garantir que a utilização dos animais não comprometerá as necessidades básicas de bem-estar animal características de cada espécie alvo estudada;
- Garantir que o termo de consentimento do responsável pelo animal do estudo (pessoa física ou jurídica) ou seu representante será assinado e datado antes de qualquer procedimento com o animal. Exceção feita aos animais sem responsável, quando a CEUA deverá avaliar e monitorar criteriosamente;
- Garantir cuidados médico-veterinários aos animais durante o estudo, quando necessário;
- Garantir que o estudo conduzido a campo não se configure em repetição de outros já realizados e publicados, sem a clara intenção de buscar novas informações. Garantir a implementação de um sistema de gestão da qualidade

que permita a rastreabilidade dos dados do estudo; e

→ Garantir que toda a equipe envolvida com a condução do estudo é qualificada para a execução de suas tarefas.



8. Operacionalização dos estudos conduzidos a campo com animais de espécies domésticas

Considerando que os estudos conduzidos a campo não compreendem ambientes controlados, é importante que se observem os seguintes requisitos para a sua condução:

- Um projeto de pesquisa devidamente assinado e datado por um pesquisador principal;
- O pesquisador principal deve garantir que o produto ou procedimento investigacional tenha dados de segurança que permitam seu uso na espécie alvo, em conformidade com o projeto, dadas as peculiaridades de cada pesquisa. Essa garantia poderá ser evidenciada pelo termo de responsabilidade do responsável técnico do produto indicado pelo patrocinador ou, quando não houver patrocinador, poderá ser evidenciada pelas informações contidas em artigos científicos publicados em periódicos com corpo editorial;
- O pesquisador principal deve garantir que o procedimento investigacional a ser realizado possui estudos prévios que garantam a minimização dos riscos;
- Quando o produto investigacional já possuir registro e for utilizado no estudo para uma nova indicação, ou posologia, ou forma farmacêutica, a CEUA responsável pela avaliação do estudo, deverá observar criteriosamente a forma de monitoramento proposta pelo pesquisador principal;
- Caso o estudo conduzido a campo tiver um patrocinador, esse deverá emitir um termo de responsabilidade técnica assinado pelo RT do produto investigacional. Caso o produto investigacional seja comercializado, o termo de responsabilidade técnica poderá ser dispensável, a critério da CEUA institucional que avaliará o projeto;
- O projeto de pesquisa deve ser avaliado e autorizado pela CEUA da instituição do pesquisador principal, antes do seu início;
- A CEUA que avaliará os projetos de estudos conduzidos a campo é a da instituição credenciada no Concea à qual o pesquisador principal pertence;
- Uma vez que o projeto tenha sido aprovado pela CEUA institucional, o pesquisador deve obter a assinatura do responsável pelo animal ou animais do estudo ou seu representante no termo de consentimento, antes da realização

de qualquer procedimento. Exceção feita aos animais sem um responsável, situação na qual a CEUA deverá monitorar o estudo criteriosamente;

→ O pesquisador principal deve garantir que os animais incluídos no estudo serão mantidos nas melhores condições de manejo possíveis, considerando-se a realidade local, para que sua integridade seja preservada durante todo o período do estudo;

→ O pesquisador principal deve orientar o responsável pelo animal do estudo ou seu representante, sobre os procedimentos necessários para a condução do projeto;

→ O pesquisador principal ou membros de sua equipe devem acompanhar todos os procedimentos previstos no estudo, de acordo com um plano estabelecido antes do início do projeto;

→ O pesquisador deverá notificar todos os eventos adversos não previstos no projeto do estudo à CEUA, ao pesquisador principal e ao patrocinador, quando houver;

→ O pesquisador deverá notificar todos os eventos adversos graves à CEUA, ao pesquisador principal e ao patrocinador, quando houver, em até 24 horas após o conhecimento do evento;

→ Caso qualquer responsável por um animal do estudo ou seu representante queira retirar seu animal do estudo, o pesquisador deve fazer todos os esforços para compreender as razões para essa retirada e não poderá, em hipótese alguma, coagir o responsável a manter o animal no estudo;

→ Os óbitos, abandonos de estudo, perdas de seguimento e demais intercorrências devem ser registrados na documentação do estudo conduzido a campo;

→ O pesquisador principal deve garantir, durante todo o estudo, que os cuidados veterinários sejam prestados aos animais, sempre que necessário;

→ Ao final do estudo conduzido a campo, um relatório consolidado deve ser encaminhado para a CEUA que o autorizou;

→ No caso de danos causados aos animais do estudo pelo uso do produto ou procedimento investigacional, o pesquisador principal e o patrocinador, quando houver, devem prever a assistência medicoveterinária necessária; e

→ Originais de todos os documentos gerados por um estudo conduzido a campo (ou cópias, quando os originais forem arquivados pelo patrocinador) devem ser mantidos em arquivo pelo pesquisador principal, por período mínimo de 5 anos (cinco anos) a contar do momento de sua finalização, devendo ficar disponíveis para as auditorias aplicáveis.

9. Referências Bibliográficas

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26, de 9 de julho de 2009. **Aprova o Regulamento Técnico para a Fabricação, o Controle de Qualidade, a Comercialização e o Emprego de Produtos Antimicrobianos de Uso Veterinário**. Diário Oficial da União de 10 de julho de 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Sanitária. Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 21 de fevereiro de 2003. **Aprova o Regulamento para Registro, Fiscalização e Controle Sanitário dos Estabelecimentos de Incubação, de Criação e Alojamento de Ratitas**, complementares à Instrução Normativa Ministerial nº 04, de 30 de dezembro de 1998.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry**. Good Clinical Practice. VICH GL 9. FDA-USA, may 9, 2001. 31p. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/ucm052417.pdf>. Acesso em: 26 ago 2014.
- INTERNATIONAL COOPERATION ON HARMONIZATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF VETERINARY MEDICAL PRODUCTS (VICH, 2000). **Good Clinical Practices**, VICH Topic GL9 (GCP). London, 4 jul. 2000.

10. Anexos

ANEXO 1

MODELO

TERMO DE CONSENTIMENTO

Título do projeto:

Nome do pesquisador principal:

Razão social e CIAEP instituição da CEUA que aprovou:

Objetivos do estudo:

Procedimentos a serem realizados com os animais: (nº de visitas, o que será realizado e quando, descrição do que será feito com os animais etc.)

Potenciais riscos para os animais:

Cronograma:

Benefícios:

Descrever os benefícios do estudo para o animal e, se for o caso, para outros animais que poderão se beneficiar com os resultados do projeto.

Se houver algum benefício para a sociedade, o pesquisador também deve mencionar.

Esclarecimentos ao proprietário sobre a participação do animal neste projeto

Sua autorização para a inclusão do (s) seu (s) animal (is) nesse estudo é voluntária. Seu (s) animal (is) poderá(ão) ser retirado (s) do estudo, a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a ele (s).

A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada.

Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares.

O Médico Veterinário responsável pelo (s) seu (s) animal (is) será o (a) Dr (a) _____, inscrito (a) no CRMV sob o n _____. Além dele, a equipe do Pesquisador Principal _____ também se responsabilizará pelo bem-estar do (s) seu (s) animal (is) durante todo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato com o Pesquisador Principal ou com a sua equipe pelos contatos:

Tel. de emergência:

Equipe:

Endereço:

Telefone:

Declaração de consentimento

Fui devidamente esclarecido (a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao (s) animal (is) pelo (s) qual (is) sou responsável. Fui também informado que posso retirar meu (s) animal (is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do (s) meu (s) animal (is) identificado (s), a seguir, neste projeto.

Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

(Cidade/UF), dd/mm/aaaa

Assinatura do Responsável

Assinatura do Pesquisador

Responsável:

Nome:

Documento de Identidade: (quando aplicável):

Identificação do (s) animal (is) (repetir tantas vezes quantos foram os animais)

Nome:

Número de identificação:

Espécie:

Raça:

ANEXO 2

TERMO DE RESPONSABILIDADE DO RESPONSÁVEL TÉCNICO DO PRODUTO INVESTIGACIONAL

Eu, _____, responsável técnico (RT), registrado no Conselho de classe sob o número _____, da empresa _____, estabelecida à Rua _____, nº _____, cidade _____, UF _____, inscrita no CNPJ sob o nº _____, declaro para os devidos fins que o produto ora apresentado para estudo a ser conduzido a campo cumpriu com as etapas necessárias para o desenvolvimento farmacotécnico e com as provas de segurança e estabilidade aplicáveis para uso na (s) espécie (s) _____, conforme o projeto nº _____.

É a expressão da verdade.

Nome:

Data e Local:

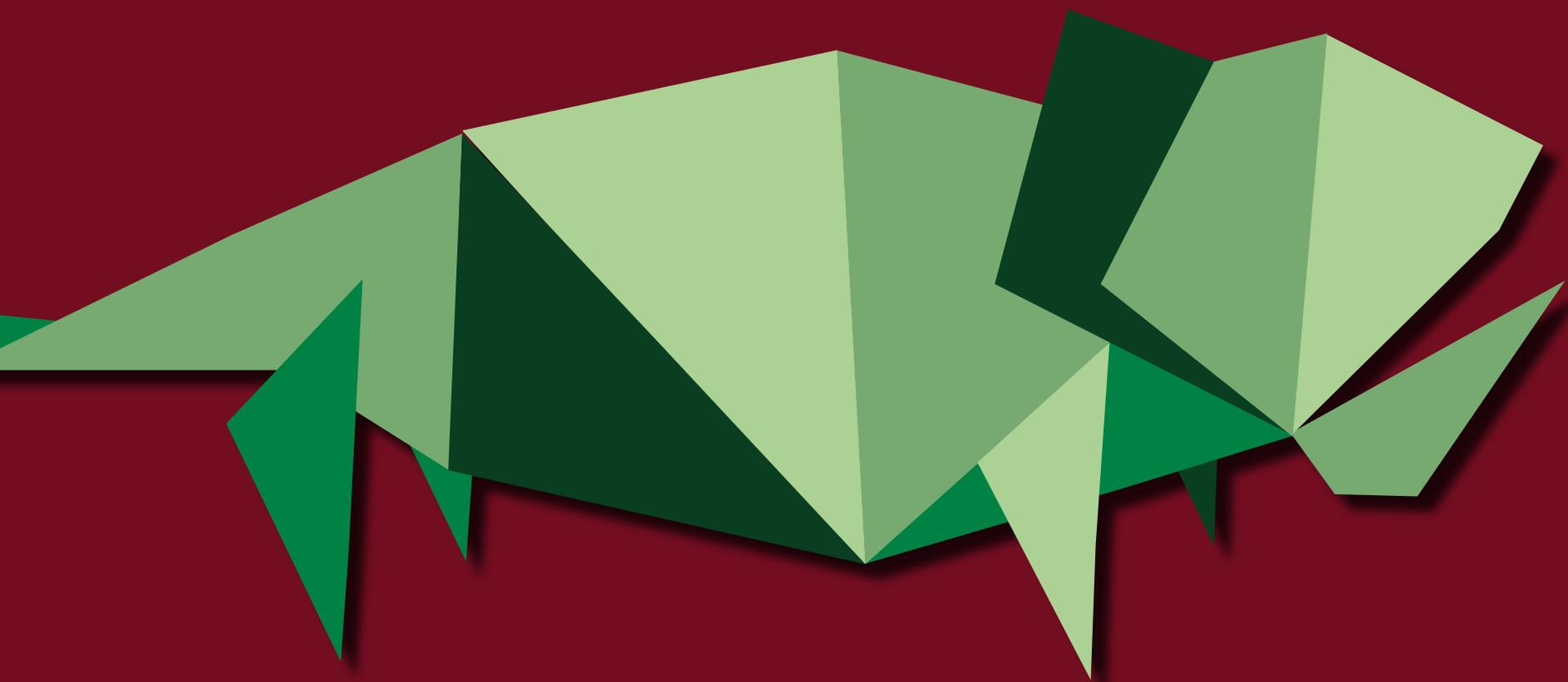
Contatos: (telefones e e-mail)

Assinatura e carimbo:

Capítulo 15

Anfíbios e répteis sob condições *ex situ*





COORDENADOR:

Luís Fábio Silveira Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

AUTORES:

Cybele Sabino Lisboa Zoológico de São Paulo e Universidade Federal de São Carlos

Danusa Camanduchy Maia Instituto Butantan

Gustavo Henrique Pereira Dutra Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Renata Ibelli Vaz Universidade de São Paulo

Thatiane Cristina Antunes Instituto Butantan

Citação recomendada: LISBOA, C. S.; MAIA, D. C.; DUTRA, G. H. P.; VAZ, R. I.; ANTUNES, T. C. (2023) Capítulo 15 - Anfíbios e répteis sob condições ex situ. pp. 882-965. In: SILVEIRA, L. F. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

1. Introdução	889
2. Legislação vigente pertinente à pesquisa científica, ensino e uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro	890
3. Manejo e bem-estar	892
4. Requisitos mínimos para manutenção de anfíbios sob condições <i>ex situ</i>	895
4.1. Características gerais dos anfíbios	895
4.2. Alojamento	897
4.3. Condições ambientais	902
4.4. Qualidade da água e do substrato	904
4.5. Dieta e nutrição	905
4.6. Cuidados com girinos	906
5. Requisitos mínimos para manutenção de répteis sob condições <i>ex situ</i>	908
5.1. Características gerais dos répteis	908
5.2. Condições ambientais	910
5.2.1. Temperatura	910
5.2.2. Fotoperíodo e iluminação	913
5.2.3. Umidade	915
5.3. Alojamento, disponibilidade de água e alimentação	915
5.3.1. Quelônios	916
5.3.2. Crocodilianos	919
5.3.3. Lagartos e anfisbenas	920
5.3.4. Serpentes	924
6. Contenção física e transporte rápido	929
6.1. Anfíbios	930
6.2. Quelônios	932
6.3. Crocodilianos	933
6.4. Lagartos e anfisbenas	934
6.5. Serpentes	935
7. Métodos de identificação	937
7.1. Anfíbios	937
7.2. Répteis	938
8. Principais patologias e recomendações clínicas	939
8.1. Avaliação clínica	939
8.2. Internação de animais durante tratamento veterinário intensivo	941
8.3. Principais patologias em anfíbios	942
8.4. Principais patologias em répteis	945
9. Procedimentos veterinários	951
9.1. Anfíbios	951
9.2. Répteis	952
10. Destinação dos animais após utilização	957
11. Manejo sanitário e biossegurança	960
12. Referências bibliográficas	963

ANFÍBIOS E RÉPTEIS SOB CONDIÇÕES *EX SITU*

1. Introdução

A manutenção *ex situ* de anfíbios e répteis no Brasil pode ter diversas finalidades, tais como pesquisa científica, educação ambiental, ensino, conservação, triagem, reabilitação e até mesmo comercial. Assim, instituições com diferentes escopos e estruturas podem ser mantenedoras desses grupos de animais. Contudo, independente da finalidade ou das condições da instituição, os cuidados básicos na manutenção de répteis e anfíbios devem seguir determinadas regras, atendendo alguns requisitos mínimos para promover o bem-estar desses animais durante sua permanência *ex situ*, seja ela temporária ou definitiva. Caso o mantenedor ou pesquisador não tenha condições de atender tais requisitos, não se recomenda manter esses animais em cativeiro.

Anfíbios e répteis são animais com características particulares quanto à anatomia, comportamento e fisiologia, as quais direcionarão o manejo adequado. Embora apresentem características muito distintas entre si, alguns hábitos apresentados pelos anfíbios e répteis fazem com que os estudos em campo desses animais sejam comumente realizados em conjunto, constituindo-os em um grupo chamado herpetofauna. Esse grupo possui uma alta diversidade de espécies e, embora existam práticas gerais recomendadas para o manejo desses animais, é necessário conhecer a biologia de cada espécie que pretende-se trabalhar e levar em consideração o comportamento individual, o qual pode variar. Sendo assim, o objetivo do presente capítulo é apresentar os requisitos mínimos para o manejo de anfíbios e répteis em condições *ex situ*, fornecendo o embasamento geral para que técnicos, mantenedores e pesquisadores adotem práticas adequadas e éticas aos animais sob seus cuidados. Os principais componentes para propiciar o bem-estar animal e diminuir condições estressantes em cativeiro são dieta e condições ambientais e estruturais apropriadas para que o animal possa expressar ao máximo seu comportamento natural. O manejo adequado implica em resultados de pesquisa confiáveis, em sucesso reprodutivo para a conservação e no avanço do conhecimento sobre a biologia e comportamento das espécies. Sendo assim, utilizando-se das regras básicas de manutenção que serão abordadas ao longo deste capítulo, além de cumprir o papel ético do ser humano em relação ao animal, o objetivo da manutenção, de acordo com cada instituição, terá maior chance de ser atingido.

2. Legislação vigente pertinente à pesquisa científica, ensino e uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro

Para o uso e manutenção de fauna silvestre em cativeiro exigências legais devem ser cumpridas. Como a finalidade da manutenção dependerá do objetivo de cada instituição cabe ao profissional identificar qual norma é aplicável às diferentes atuações.

Lei nº 11.794, de 08 Outubro de 2008: estabelece procedimentos para o uso científico de animais e cria o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea). É indispensável a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs) para o credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais. Projetos de ensino ou pesquisa devem, obrigatoriamente, passar por avaliação e aprovação de uma CEUA, a qual implementa as normas de controle da experimentação animal editadas pelo Concea.

Lei Complementar nº 140, de 8 de dezembro de 2011: fixa normas para a cooperação entre a União, os Estados, o Distrito Federal e os Municípios nas ações administrativas decorrentes do exercício da competência comum à proteção ambiental. Uma das ações que passa a ser também de responsabilidade dos Estados é o controle da apanha de espécimes da fauna silvestre, ovos e larvas destinadas à implantação de criadouros e à pesquisa científica e aprovar o funcionamento de criadouros da fauna silvestre. Assim, a manutenção da fauna silvestre em cativeiro prevista para mais de 24 meses é obtida através de determinações dos órgãos estaduais do Meio Ambiente, onde os mesmos podem oficializar um Acordo de Cooperação envolvendo o Governo Estadual e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

Instrução Normativa ICMBio nº 03, de 01 de setembro de 2014: normatiza o Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), pelo qual o pesquisador solicita autorização para atividades que envolvem a coleta e transporte de material biológico, assim como a manutenção temporária de espécimes de fauna silvestre em cativeiro (até 24 meses) para fins científicos ou didáticos. O pesquisador responsável deverá realizar o cadastro no sistema SISBio, juntamente com a instituição ao qual está vinculado. Caso considerar necessário, o ICMBio poderá solicitar o

posicionamento do Comitê de Ética.

Resolução Normativa Conceia nº 19, de 25 de novembro de 2014: regula a vinculação de centros públicos ou privados que realizam procedimentos em animais vivos em atividades de ensino, extensão, capacitação, treinamento, transferência de tecnologia, ou quaisquer outras com finalidade didática, ao sistema legal que regula o funcionamento do Conceia.

Instrução Normativa IBAMA nº 07, de 30 de abril de 2015: institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro, definindo condições específicas, considerando espécies, medidas administrativas e de infraestrutura. O processo de autorização e de fiscalização possui algumas etapas e é realizado por meio do Sistema Nacional de Gestão da Fauna Silvestre (SisFauna) ou de acordo com o órgão ambiental de cada Estado. No caso do Estado de São Paulo, tal processo é realizado por meio do Sistema Integrado de Gestão da Fauna Silvestre (GEFAU), instituído pela Resolução SMA nº 92/2014.

Lei nº 13.123 de 20 de maio de 2015: dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade, incluindo espécies e populações mantidas sob condições *ex situ*. Essa Lei cria o Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), para o qual é necessário o cadastramento obrigatório, de todas as pesquisas, experimentais ou teóricas, realizadas com o patrimônio genético brasileiro.

Resolução Normativa Conceia nº 37 de 15 de fevereiro de 2018: Baixa a diretriz que se refere aos procedimentos de eutanásia realizados em animais incluídos em atividades de ensino ou de pesquisa científica.

Resolução CONAMA nº 487 de 15 de maio de 2018: define padrões de marcação de animais silvestres. Todos os animais mantidos em razão de uso e manejo em cativeiro deverão estar devidamente marcados.

Resolução CONAMA nº 489 de 26 de outubro de 2018: é responsável por definir as categorias de atividades ou empreendimentos (criadouro científico, conservacionista, zoológico etc.) e determinar medidas gerais para a autorização de uso e manejo, em cativeiro, da fauna silvestre e da fauna exótica.

3. Manejo e bem-estar

O manejo de anfíbios e répteis em cativeiro é desafiador, uma vez que o comportamento desses animais não é muito bem compreendido. Além disso, sinais de dor, estresse e de doenças não são facilmente reconhecidos e/ou diagnosticados (ALWORTH & HARVEY 2007; BENN *et al.*, 2019). Com isso, reforça-se ainda mais a necessidade de um estudo extensivo da biologia e do comportamento do animal antes da manutenção do mesmo, bem como o uso deste guia, a fim de evitar a perda de indivíduos.

Pouco se sabe sobre estresse em anfíbios e répteis em cativeiro e apenas recentemente começaram a surgir estudos nessa linha de pesquisa (MICHAELS *et al.* 2014). O estresse é um processo fisiológico normal de resposta a diversos agentes estressores ambientais e psicológicos, desencadeado por hormônios. Essa resposta é a forma pela qual o animal reage na tentativa de se ajustar às novas condições ou retornar ao estado pré-estímulo, sendo que um agente estressor pode desencadear uma resposta aguda ou crônica. No primeiro caso, tanto o agente estressor quanto as respostas fisiológicas do animal são temporárias e o animal consegue voltar ao estado pré-estímulo rapidamente (ORSINI & BONDAN 2006; DICKENS E ROMERO, 2013; WAEYENBERGE *et al.* 2018). Já o estresse crônico leva a uma resposta sustentada por mais tempo na qual o animal não consegue se ajustar às novas condições nem retornar à condição pré-estresse. Essa nova condição pode prejudicar a aptidão e bem-estar do animal, podendo até mesmo levá-lo a óbito. Portanto, para um manejo adequado, é necessário aprender a reconhecer os agentes estressores prejudiciais, os quais podem ser variados.

Os poucos estudos realizados para avaliar o bem-estar de anfíbios em cativeiro resultam da investigação dos níveis do hormônio do estresse (ou glicocorticoides) do indivíduo em cativeiro. Por exemplo, um agente estressor crônico leva ao aumento de níveis de corticosterona, causando uma imunossupressão e, conseqüentemente, torna os indivíduos mais susceptíveis a infecções por patógenos (SILVESTRE 2014). Esses resultados são válidos, mas devem ser interpretados com cautela. A falta de dados referenciais desses níveis hormonais em diferentes contextos, para a maioria das espécies, pode dificultar a interpretação de amostras isoladas em termos de bem-estar em cativeiro. Isto porque sabe-se que o aumento dos níveis desse hormônio é associado, inclusive, a comportamentos normais, tais como reprodução, resposta imune e plasticidade adaptativa (MICHAELS *et al.*, 2014).

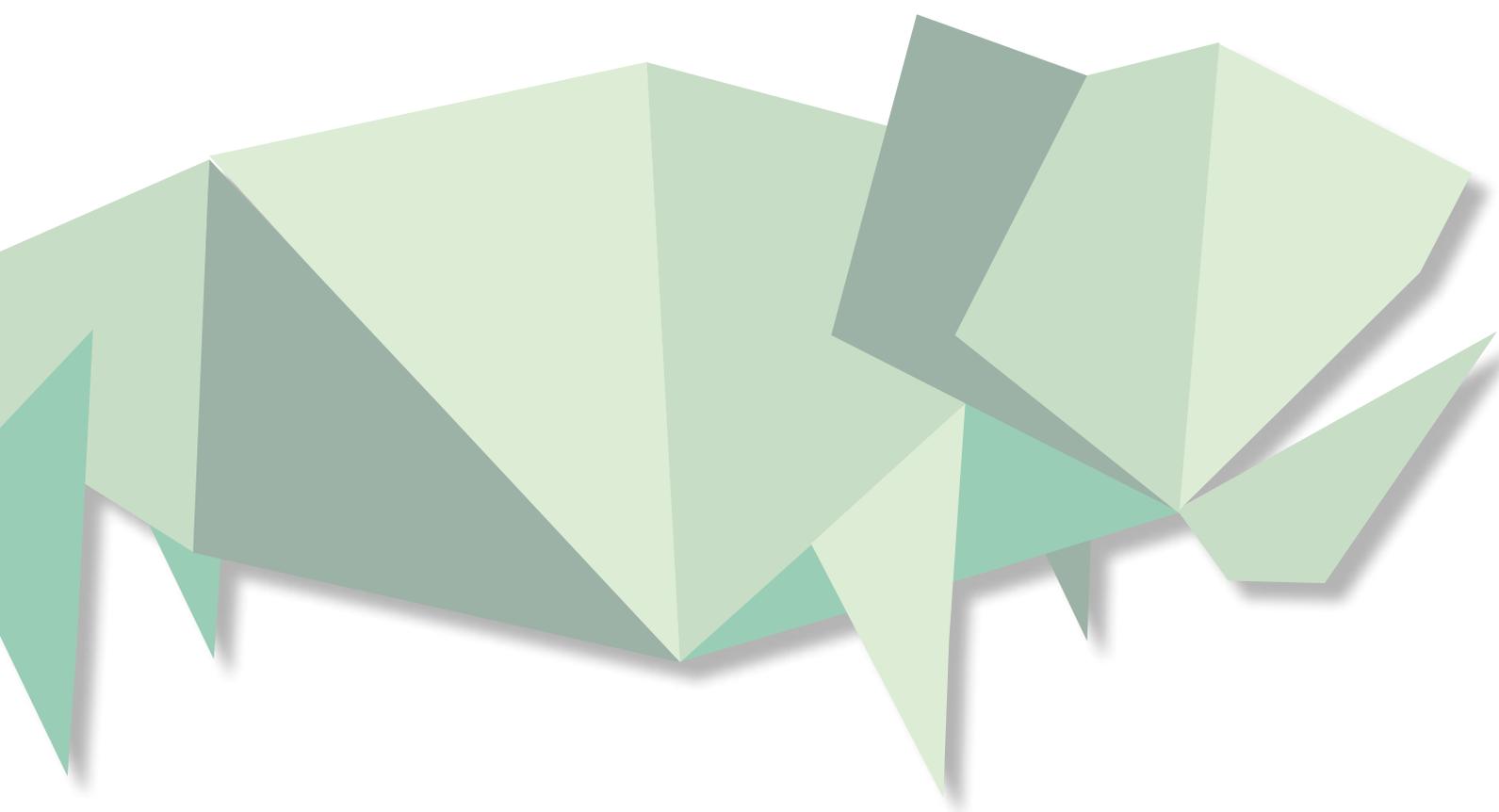
Considerando essa carência de medidores eficazes de estresse e bem-estar, é recomendável que diversas

medidas sejam analisadas em conjunto para uma avaliação mais direcionada dos procedimentos de manejo. Algumas condições como crescimento do indivíduo, escore corporal adequado, coloração da pele, ausência de doenças e expressão do comportamento natural, tais como forrageamento, alimentação, termorregulação ou reprodução (se este for o objetivo do mantenedor), podem ser indicativos de bem-estar. Ademais, sinais físicos e comportamentais tais como abrasões, mudança de coloração, apatia, acuamento, falta de apetite, agitação, podem ser indicativos de estresse e, conseqüentemente, de uma falha no manejo. Esses sinais frequentemente levam a complicações clínicas, portanto, quanto antes forem percebidos, maiores as chances de evitar a instalação de patologias severas e, conseqüentemente, o óbito dos animais.

Frente ao exposto, é recomendável manter uma rotina de inspeção diária para observação dos indivíduos, além do monitoramento do histórico do indivíduo por meio de fichas de registro de atividades. A partir desse acompanhamento, algumas medidas de intervenção, tais como mudanças no manejo ou atendimento veterinário, podem ser tomadas em tempo hábil. Portanto, o responsável pelos cuidados dos animais deve se comprometer a despender atenção ao comportamento e às respostas do animal frente ao manejo, as quais podem ser imediatas ou a longo prazo. Uma forma de minimizar o estresse de animais em cativeiro é o fornecimento de enriquecimento ambiental para uma conseqüente melhora nas funções biológicas dos animais. Para aves e mamíferos, além das condições ambientais, é comum a oferta de itens de entretenimento para estimular a melhora dessas funções. No entanto, para anfíbios e répteis, a oferta de ambientes mais diversos ou de itens alimentares distintos, que permitam estimular o comportamento exploratório, parecem ser mais efetivos (ORSINI & BONDAN 2006; MICHAELS *et al.* 2014; BENN *et al.* 2019).

Os objetivos para se manter répteis e anfíbios em cativeiro podem modular algumas condutas no manejo. Entende-se que a realidade das instituições é consideravelmente diferente, por exemplo, uma instituição que mantém poucos exemplares de uma determinada espécie, que serão expostos para fins de educação ambiental, conseguirá manter estruturas mais complexas e promover uma observação mais detalhada de cada indivíduo. Já uma instituição que recebe 100 exemplares provenientes de uma apreensão, de uma única vez, terá maior dificuldade em fornecer um ambiente complexo, como o explicado anteriormente. Também entende-se que, durante a realização de pesquisas científicas, muitas vezes há necessidade de mudar certos padrões no manejo e condições de alojamento para atingir o objetivo almejado, como por exemplo, alterar frequências alimentares ou submeter animais a temperaturas fora do padrão. De qualquer maneira, o pesquisador ou o mantenedor deve ter sempre em mente que o bem-estar animal é primordial e, nesse sentido, deve sempre propor e aplicar soluções de acordo com sua realidade para cumprir com essa

obrigação, atentando-se aos requisitos apresentados nos tópicos 4 e 5. Além disso, em relação à pesquisa científica, o pesquisador deve considerar que, caso o animal não esteja em uma condição confortável, esse estresse poderá alterar os resultados da pesquisa realizada.



4. Requisitos mínimos para manutenção de anfíbios sob condições *ex situ*

No Brasil, a manutenção *ex situ* de anfíbios para fins de pesquisa ocorre principalmente em universidades e institutos, os quais utilizam uma variedade de espécies para diferentes propósitos. A representação de anfíbios em zoológicos ou outras instituições para fins de educação ou conservação ainda é relativamente baixa, haja vista que as normativas para uso e manejo de fauna silvestres em cativeiro não contemplam anfíbios. Entretanto, esse campo tende a crescer, pois com a crise global dos anfíbios e aumento de espécies na lista vermelha de animais ameaçados, medidas integradas de conservação deverão ser cada vez mais requeridas, sendo então necessário o conhecimento adequado para a realização do manejo *ex situ* de anfíbios.

4.1. Características gerais dos anfíbios

Os anfíbios, com cerca de 8.150 espécies existentes (FROST 2020), são representados pelos anuros (sapos, rãs e pererecas; Ordem Anura), cecílias (ou cobras-cega; Ordem Gymnophiona) e salamandras (Ordem Caudata). Os anuros são o grupo de maior representatividade no Brasil e no mundo e, conseqüentemente, o mais comum em cativeiro. Uma das características mais marcantes dos anfíbios é a pele, pois apresenta propriedades peculiares que são essenciais para o equilíbrio fisiológico do organismo. A pele desses animais é altamente permeável, tendo um papel importante na respiração cutânea por meio de trocas gasosas e na proteção contra dessecação por meio da regulação hídrica. Além disso, na pele estão presentes glândulas mucosas que produzem mucopolissacarídeos, capazes de manter a pele, de grande parte das espécies, sempre úmida. Esta umidade é essencial para viabilizar a respiração cutânea, evitar a perda de água do indivíduo por evaporação e, portanto, impedir a desidratação. Ademais, vale destacar que os anfíbios não bebem água como outros animais, e a absorção de água se dá através da pele, em especial, na mancha pélvica. Estas características fazem com que grande parte das espécies tenha forte associação a ambientes aquáticos ou úmidos, sendo assim, um dos requisitos mais importantes na manutenção de anfíbios em cativeiro é a manutenção da umidade no recinto.

A pele, a qual é renovada frequentemente e auto-ingerida rotineiramente pelos anfíbios, também é um impor-

tante mecanismo de defesa contra predadores e microorganismos patogênicos. Além de ser uma barreira física, essa defesa se dá pela produção e excreção de substâncias como alcalóides e peptídeos pelas glândulas granulares (popularmente conhecidas como glândulas de veneno) e pela presença de uma comunidade de microorganismos simbióticos (chamada de microbiota cutânea) presentes na superfície da pele. Essa microbiota, além de competir por espaço e nutrientes com os patógenos, também produz peptídeos antimicrobianos que inibem a infecção do hospedeiro por microorganismos patogênicos. A estrutura da microbiota cutânea (composição e riqueza de espécies microbianas) pode ser alterada por diversos fatores ambientais (temperatura, umidade, substrato etc.) e do próprio anfíbio (comportamento, estresse etc.) o que pode aumentar a susceptibilidade do indivíduo a doenças. Além disso, a composição das glândulas granulares e da microbiota também podem ser moduladas de acordo com a condição nutricional e tipos de itens alimentares ingeridos pelo animal. Sendo assim, condições que favoreçam a estabilidade dessa microbiota e da produção das substâncias pelas glândulas granulares e mucosas devem ser consideradas no manejo em cativeiro, sendo de extrema importância para a saúde dos animais.

Além da pele, outra característica que faz com que os anfíbios, de forma geral, sejam dependentes de ambientes aquáticos, é a reprodução. Os ovos dos anfíbios são desprovidos de casca, portanto normalmente os mesmos são depositados na água, onde eclodem as larvas, também chamadas de girinos. Os girinos se desenvolvem em ambiente aquático até completarem a metamorfose e migrarem para o ambiente terrestre, sendo essa “vida dupla” outra característica marcante do grupo. Existem diversos modos reprodutivos, sendo este descrito o mais comum, porém algumas espécies de anfíbios não possuem fase larval ou os girinos se desenvolvem dentro do próprio ovo. Após a metamorfose, algumas espécies passam a viver no ambiente terrestre enquanto outras continuam a viver no meio aquático e, portanto, continuam a depender de fontes de água por toda a vida adulta. Desta forma, caso o intuito da manutenção seja a reprodução, deve-se conhecer a biologia reprodutiva da espécie em questão e, se for o caso, oferecer fontes de água apropriadas para o depósito dos ovos.

Os anfíbios, quando adultos, são caçadores de insetos e outros invertebrados, sendo esta a base principal de sua dieta. No entanto, algumas espécies de grande porte podem se alimentar de pequenos vertebrados, como roedores ou até mesmo outros anfíbios. Já os girinos, além de viverem em ambientes diferentes, possuem aparato bucal e sistema digestório completamente diferente dos adultos, portanto sua dieta também é diferenciada. A maioria das larvas de anfíbios é herbívora, se alimentando predominantemente de algas. Porém algumas espécies podem se alimentar de outros recursos como pequenos insetos e, oportunisticamente, de outros girinos. Sendo assim, caso a instituição tenha

interesse em manter girinos em cativeiro, deve-se pesquisar sobre os hábitos alimentares da espécie em questão para prover itens alimentares corretos e evitar canibalismo.

O período de atividade de grande parte das espécies está concentrado nas estações mais quentes e úmidas do ano, uma vez que esses animais são ectotérmicos e dependem de fontes externas de energia para manutenção de sua temperatura corpórea e, conseqüentemente, funcionamento do metabolismo. Há uma faixa de temperatura na qual cada espécie de anfíbio desempenha suas atividades de forma ótima. Normalmente, temperaturas muito elevadas não são favoráveis para os anfíbios por facilitar a desidratação. Assim, geralmente, as espécies possuem hábitos predominantemente crepusculares/noturnos, que é quando as temperaturas estão mais favoráveis. Por esses motivos, os locais com maior diversidade de anfíbios são aqueles com florestas tropicais úmidas, em altitudes mais baixas. Entretanto, existem muitas espécies que se adaptaram a lugares mais frios e de maiores altitudes, ou aquelas que são mais ativas em épocas mais frias do ano. Há ainda espécies que ocorrem em ambientes mais secos, porém, nesses locais, a diversidade é menor quando comparadas a florestas tropicais úmidas. As espécies que habitam esses ambientes extremos possuem diversas estratégias para poderem suportar o frio ou o calor intenso.

Todos esses pontos abordados são relevantes e devem ser levados em consideração para o manejo de anfíbios em cativeiro, pois conhecer os hábitos e a fisiologia das espécies permitirá oferecer condições adequadas para que os indivíduos possam expressar seu comportamento natural, minimizando agentes estressores e propiciando o bem-estar animal.

4.2. Alojamento

Existem diversos tipos de recintos para alojamento de anfíbios como terrários, aquários ou até mesmo caixas d'água. A seleção do recinto dependerá do tamanho dos indivíduos, dos hábitos de cada espécie e do objetivo de manutenção dos animais. A escolha do material estrutural é uma exigência primordial e os recintos devem ser, obrigatoriamente, feitos de um material que não libere substâncias tóxicas, impermeáveis, de fácil higienização, para que não seja substrato para proliferação de fungos e bactérias. Nesse caso, os materiais mais indicados são vidro, plástico e até mesmo tanques de alvenaria lisos ou azulejados, não sendo a madeira um material aceitável. Normalmente, para fins de pesquisa, a quantidade de indivíduos, o espaço disponível e a limitação de pessoal, exigem maior praticidade na manutenção, assim, a utilização de caixas plásticas é mais viável. No entanto, caso seja possível, o uso de recintos

de vidro é preferível, por ser um material que, quando comparado com plástico, é mais difícil de ser contaminado e absorve menos substâncias químicas quando higienizado, além de ser mais duradouro. Em qualquer uma das opções, é extremamente importante que os recintos sejam a prova de fuga, ou seja, que possuam tampas ou barreiras físicas que impeçam a fuga do animal e de suas presas, além de fornecer ventilação adequada e permitir a passagem de luz (ver tópico 4.3). Nesse caso, recomendamos a utilização de tampas teladas e com travas, principalmente para espécies que escalam, uma vez que os indivíduos podem forçar a tampa para fugir. É importante sempre verificar o fechamento correto da tampa e possíveis aberturas pelas quais os animais possam passar, pois os anfíbios têm uma grande capacidade de se espremer e passar por espaços menores do que seu tamanho.

Em relação ao substrato, deve-se oferecer tipos condizentes com as características de cada espécie. Em instituições de pesquisa, é comum observar recintos de animais desprovidos de substrato. Isto é uma prática que deve ser alterada, pois o substrato, além de ser importante para manutenção da umidade interna do recinto e ser uma proteção entre o chão do recinto e o animal, é muito importante para a manutenção da microbiota cutânea e para estimular o comportamento natural dos animais. Sabe-se que a microbiota de anfíbios pode ser adquirida, e a estabilidade é mantida, a partir do contato constante com microrganismos presentes nesse substrato (LOUDON *et al.*, 2014). Sendo assim, a utilização de um substrato adequado é de extrema importância, principalmente para espécies terrestres e fossoriais que tem o hábito de se enterrar.

Além do substrato, a ambientação do recinto deve ser priorizada, contendo itens que permitam que os indivíduos se sintam confortáveis, tais como refúgios, vegetação ou troncos, de acordo com a necessidade da espécie. A vegetação também auxilia na manutenção da umidade do recinto. Deve-se atentar para o tipo de vegetação, a qual não pode ser tóxica ou com espinhos, evitando injúrias aos animais. Além disso, refúgios e vegetação podem ser estimulantes para a reprodução dos indivíduos, dependendo da espécie. Tanto vegetação quanto substratos podem ser adquiridos facilmente em locais que vendem materiais para jardinagem. Pesquisas científicas cuja metodologia proponha a ausência de itens ambientais essenciais aos animais devem ser revistas e ajustadas para propiciar o bem-estar dos indivíduos. Além disso, vale lembrar que um animal mantido sem essas condições mínimas, muito provavelmente ficará estressado, aumentando seus níveis de hormônios de estresse, além de poder ter sua microbiota cutânea afetada, o que poderá implicar negativamente no resultado da pesquisa.

Como para anfíbios não há normativa específica que determine tamanho mínimo de recinto e densidade máxima de ocupação (indivíduos por recinto), aqui serão fornecidas recomendações básicas para que o mantenedor/pesqui-

sador possa elaborar o recinto da forma que melhor atenda a espécie. O tamanho do recinto pode variar bastante e, de forma geral, caixas plásticas ou aquários de aproximadamente 56 L costumam atender bem espécies pequenas e médias, enquanto que caixas de 180L atendem espécies de grande porte. Porém cabe ao mantenedor avaliar o que melhor se encaixa para a finalidade, considerando a quantidade de indivíduos a ser mantida e o comportamento da espécie. Abrasões rostrais, por exemplo, podem ser um sinal de que o recinto está pequeno ou com ambientação inadequada.

→ **Espécies aquáticas (ex. famílias Pipidae, Typhlonectidae):** A largura do recinto deve ser o suficiente para que os indivíduos consigam se movimentar ou nadar livremente e toda a base deve ser preenchida com água, sem necessidade de área seca. O tamanho da coluna d'água deve ser estabelecido de acordo com a espécie, sendo que o mínimo deve ser o dobro do comprimento do animal, o suficiente para que os indivíduos fiquem totalmente submersos. Para o gênero *Pipa* recomenda-se ao menos 50cm de coluna, quando o intuito for a reprodução (JARED *et al.*, 2015). O fundo do tanque pode ser preenchido com cascalho de rio, tocas e folhas secas para que os animais possam se refugiar. Também é recomendável fornecer vegetação aquática, ou mesmo plantas cujas raízes possam ficar submersas. A altura do recinto pode ser cerca de 15 cm acima da coluna d'água, o suficiente para evitar que os animais saltem para fora do tanque, não havendo, nesse caso, necessidade de tampa.

→ **Espécies semi-aquáticas (ex. gênero *Pseudis*, famílias Hylodidae, Leptodactylidae, Ranidae):** O recinto deve, obrigatoriamente, ter uma parte destinada a água e uma área seca, com largura suficiente para que os indivíduos consigam se movimentar ou nadar livremente. O tamanho da coluna d'água deve ser estabelecido de acordo com a espécie, sendo que o mínimo deve ser o suficiente para que os indivíduos fiquem totalmente submersos. Em alguns casos, como o gênero *Pseudis*, a coluna deve ser no mínimo o dobro do comprimento do animal. A área seca pode ser composta por uma plataforma feita com pedras, cascalhos, tijolos de cerâmica, plástico, entre outros, atentando-se para que a transição entre os ambientes seja adequada para que o animal consiga sair da água com facilidade. Em recintos construídos de alvenaria, os dois ambientes podem ser feitos em desnível, com uma rampa de acesso. O fundo do tanque e a área seca podem ser preenchidos com cascalho de rio, troncos, tocas e folhas secas para que os animais possam se refugiar. Também é recomendável fornecer vegetação aquática, ou mesmo plantas cujas raízes possam ficar submersas. A altura do recinto deve considerar o tamanho dos animais e a capacidade do salto, que costuma ser

alto. Recomenda-se ao menos 30 cm acima da coluna d'água para espécies de pequeno e médio porte e ao menos 50 cm para as de grande porte. No caso das espécies semi-aquáticas, há necessidade de tampa e mesmo assim a altura do recinto não pode ser baixa, para evitar que durante os saltos eles se machuquem. Os refúgios no ambiente aquático auxiliam a manter os animais mais calmos e a evitar saltos excessivos.

→ **Espécies fossoriais e semi-fossoriais (ex. famílias Siphonopidae, Microhylidae, Ceratophryidae):** Os recintos para esse animais podem ser mais baixos, sendo importante priorizar comprimento e largura, para que os mesmos consigam se locomover e forragear com facilidade. O mais importante para esse grupo é o fornecimento de um substrato com camada suficiente para que os animais possam se enterrar. No caso das cecílias, que são fossoriais obrigatórias, essa camada deve conter ao menos 20 cm de altura e o substrato pode ser composto por terra vegetal ou húmus de minhoca, sempre úmido, mas não encharcado, sendo que o mesmo não deve ser revolvido para que as galerias não sejam desfeitas. Já para os microhylídeos, *Ceratophrys* ou *Proceratophrys*, que se enterram superficialmente, a camada de substrato mínima deve ser o suficiente para cobrir o corpo todo do animal, podendo também ser utilizada terra vegetal ou húmus de minhoca, mantendo-o sempre úmido. Pó de fibra de coco pode ser misturado ao substrato para auxiliar na manutenção da umidade e evitar a compactação do mesmo, sendo recomendado revolver o substrato quando necessário. Tanto para os fossoriais quanto para os semi, a superfície do substrato pode ser enriquecida com folhas secas, cascas de árvore ou de coco para serem utilizados como refúgio. Mesmo permanecendo enterrados grande parte do tempo, esses animais podem escalar, assim, o uso de tampa é obrigatório.

→ **Espécies terrícolas (ex. famílias Bufonidae, Dendrobatidae):** Para essas espécies também é importante priorizar comprimento e largura que sejam suficientes para os animais caminharem e darem pequenos saltos. Os recintos devem possuir tampa e a altura irá variar conforme o tamanho da espécie, sendo recomendado no mínimo o dobro da altura das espécies maiores. Já para espécies menores, como dendrobatídeos por exemplo, é recomendado no mínimo 40cm de altura, não ultrapassando 80cm, uma vez que esses animais costumam escalar as paredes de vidro e podem sofrer quedas. Os anfíbios terrícolas passam a maior parte do tempo em contato com o substrato, assim, esse é um item importante a ser selecionado. Exemplos de substratos que podem ser usados são: terra vegetal, musgo desidratado, casca de pinus, folhas secas, fibra de coco ou húmus de minhoca, mantendo-os sempre úmidos. Deve-se atentar para que o animal não ingira o substrato durante a alimentação, o que pode causar séria impactação. Para

ambientação do recinto, é necessário o fornecimento de refúgios, os quais podem ser naturais, como casca de coco ou de árvore, ou artificiais, como canos de PVC. Também recomenda-se o fornecimento de itens diversos, principalmente para as espécies mais ativas que passam boa parte do tempo forrageando, tais como troncos baixos e vegetação, os quais também pode ser utilizados como refúgio.

→ **Espécies arborícolas (ex. famílias Hylidae, Phyllomedusidae):** Para esses animais a altura do recinto deve ser priorizada, uma vez que passam a maior parte do tempo apoiadas nas laterais do recinto ou em estruturas verticais. Entretanto, a largura e o comprimento devem ser compatíveis com o tamanho do salto dos indivíduos e tampas também são prioritárias. Como as espécies arborícolas geralmente passam grande parte do tempo fora do substrato, nem sempre há necessidade de fornecer substrato, mas isso deve ser avaliado caso a caso, uma vez que o substrato colabora para outras funções do ambiente, como umidade por exemplo. Porém, a ambientação vertical é essencial. Deve-se oferecer troncos, galhos, canos de PVC, bambus, ou qualquer material que permita que o indivíduo fique na parte mais superior do recinto. Para essas espécies, também é essencial o fornecimento de vegetação, uma vez que esse é um dos principais meios de refúgio, além de utilizarem as folhas como objetos para escalarem. Tocas feitas como bambus ou canos PVC também são importantes para esse grupo, especialmente aquelas espécies que têm preferência por se manterem entocadas.

Quanto à densidade ocupacional, essa questão varia muito entre as espécies e entre os próprios indivíduos. Tanto anfíbios juvenis quanto adultos podem ser mantidos em grupos, desde que de tamanhos aproximados, porém a quantidade de indivíduos por grupo dependerá do tamanho e complexidade ambiental do recinto, assim como da resposta dos indivíduos. Deve-se levar em consideração a possibilidade de ocorrer canibalismo ou predatismo. Algumas espécies têm costume de predação outros anfíbios e outros vertebrados, mas mesmo aquelas que não tem, podem eventualmente apresentar esse comportamento. Portanto, deve-se evitar manter indivíduos de tamanhos muito diferentes no mesmo recinto. Espécies de porte pequeno, como os dendrobatídeos por exemplo, convivem muito bem em grupos grandes. Já adultos de espécies maiores, como *Rhinella* e *Leptodactylus*, recomenda-se manter no máximo dois indivíduos a cada 0,6m², aproximadamente. A resposta dos indivíduos em relação ao convívio em grupo, normalmente aparece após algumas semanas, quando o animal pode demonstrar os sinais de estresse mencionados anteriormente. Nesse caso, o animal deve ser separado imediatamente.

Anfíbios não costumam mostrar respostas imediatas agressivas entre si quando são colocados em um mesmo recinto, salvo algumas situações. Por exemplo, machos de algumas espécies em época de reprodução, como sapo-martelo (*Boana faber*) ou rã-pimenta (*Leptodactylus labyrinthicus*) possuem esporões e podem ferir gravemente seu adversário durante uma briga. Como essas espécies são noturnas, as brigas acontecem a noite e o mantenedor só perceberá no dia seguinte, assim, a manutenção de machos no mesmo recinto deve ser evitada ou feita com cautela. Ao manter machos de espécies territorialistas, deve-se também ter o cuidado de não colocar os recintos dos indivíduos lado a lado, pois esse contato visual constante pode ser um agente estressor para o animal. Caso não seja possível o distanciamento, deve-se colocar uma barreira visual entre os recintos.

4.3. Condições ambientais

A temperatura do ar adequada para a manutenção de anfíbios será aquela de acordo com a área de ocorrência da espécie e o período preferencial de atividade ao longo do ano. De uma forma geral, espécies de florestas montanas, como de Mata Atlântica por exemplo, mantêm suas atividades adequadamente em cativeiro em uma faixa de temperatura entre 18-24°C, porém suportam temperaturas mais baixas ou mais altas que essas. Anfíbios de florestas tropicais, como a Amazônia, requerem temperaturas mais altas, entre 24-30°C. De qualquer forma, é recomendado que se pesquise sobre a faixa de temperatura e umidade na qual a espécie desempenha melhor suas funções e deixar o ambiente nessas condições. Caso a instalação, na qual os animais forem mantidos, esteja localizada dentro da área de distribuição geográfica de coleta dos indivíduos, a temperatura não precisa ser controlada, podendo ficar sob as mesmas condições ambientais naturais. Em caso de necessidade de ajuste de temperatura podem ser utilizados aquecedores ambientais (elétricos ou de cerâmica) ou ar-condicionado. É possível também utilizar lâmpadas infra-vermelhas focalmente em algum ponto do recinto, mas a uma distância segura para que a temperatura não se eleve demais.

Em relação à umidade, como mencionado anteriormente, esse é um dos fatores críticos para o manejo dos anfíbios. A umidade relativa do ar (UR) determina o quão rápido o animal perderá água de seu corpo para o ambiente. Controlar a umidade do laboratório, como um todo, pode ajudar, mas o crucial é garantir a umidade dentro do recinto dos animais. Isso pode ser feito utilizando borrifadores manuais com água desclorificada ou mesmo umidificadores elétricos com o vapor voltado para dentro do recinto. Recintos com tanques de água grande conseguem manter melhor a umidade do ar, uma vez que a água evapora. Recomendamos que a umidificação do recinto deva ser feita ao menos

duas vezes ao dia ou mais, caso a UR externa esteja muito baixa. Pode acontecer também da UR externa estar elevada, porém dentro do recinto a umidade estar baixa, portanto é sempre bom verificar se o substrato está úmido, e caso não esteja, umidificar. Além disso, é importante não deixar o substrato encharcado para espécies terrestres. Se muito úmido, microorganismos patogênicos podem se desenvolver no substrato e causar doenças no animal.

Em relação ao fotoperíodo, o mesmo deve ser controlado de acordo com a distribuição geográfica da espécie e as estações do ano na qual os indivíduos estão sendo mantidos. O fotoperíodo se refere à quantidade de luz que o ser vivo é exposto diariamente, compondo o ciclo claro e escuro, o qual apresenta flutuações sazonais: no verão o período claro é mais longo, enquanto no inverno essa situação se inverte ou se iguala, dependendo da região. Anfíbios normalmente são mantidos em recintos fechados ou laboratórios, assim, o fotoperíodo natural pode ser fornecido por meio de janelas ou clarabóias, porém, se não houver essa possibilidade, deve-se utilizar lâmpadas em substituição. O fotoperíodo artificial pode ser controlado por timer, ou então, caso o objetivo da manutenção não exija a rigorosidade do fotoperíodo, tais como reprodução ou estudo específico, o mesmo pode ser mantido mantendo as luzes acesas no horário comercial e apagadas a noite.

Quanto à necessidade de fornecimento de radiação UVB para anfíbios, esse assunto ainda é pouco estudado. Sabe-se que algumas espécies diurnas se beneficiam dessa radiação na sintetização de vitaminas que são importantes para a manutenção fisiológica do animal, porém para a maioria das espécies, não há estudos suficientes. Assim, a utilização de radiação UVB deve ser feita com cautela, por poucas horas ao dia ou então localizadas em um ponto específico do recinto para que o animal possa regular de forma comportamental. O tipo de lâmpada UVB recomendada para anfíbios é a 2.0 (esse assunto será melhor discutido no tópico de répteis 5.2.2). Uma solução utilizada por diversos zoológicos do mundo, em substituição à essa lâmpada, são as lâmpadas de halogênio (10K, 12V, 50W) modificadas, com a remoção cuidadosa da lente de proteção. Essa modificação fornece luz ultravioleta de espectro total (PRAMUK & GAGLIARDO 2012).

As recomendações aqui fornecidas são adequadas para o manejo de anfíbios, porém algumas pesquisas preveem em sua metodologia ajustes nas condições ambientais, as quais devem ser controladas de acordo com a necessidade da pesquisa. Deve-se ter em mente que alguns fatores, como hidratação do indivíduo por exemplo, podem interferir drasticamente nos resultados da pesquisa.

4.4. Qualidade da água e do substrato

A água utilizada para os anfíbios deverá ser potável e livre de cloro. Em municípios com água tratada, a mesma apresenta parâmetros potáveis, porém a quantidade de cloro é muito alta, por isso, é recomendável a instalação de um filtro de carvão ativado na torneira, o mesmo utilizado para consumo humano. Outra maneira de eliminar o cloro é deixando a água descansar por 24hs para evaporação do mesmo. Água mineral também pode ser utilizada. Para anfíbios terrestres, a oferta de água pode ser realizada em cochos ou tanques, e deve ser uma quantidade suficiente para que o animal consiga submergir metade do corpo. Algumas espécies terrestres, como os dendrobatídeos, não são boas nadadoras, assim, a quantidade de água não pode ser muito profunda e maior que o comprimento do animal, pois o mesmo pode se afogar. A água disponível para consumo deverá ser trocada, no mínimo, 2 vezes por semana, ou sempre que a mesma estiver suja.

Para espécies aquáticas e girinos, o controle da qualidade da água é ainda mais crítico, sendo recomendada a utilização de filtro com filtragem mecânica (retém impurezas), química (elimina cloro) e biológica. Filtros do tipo cânister atendem bem essa necessidade. Quando não for possível a instalação de filtro, a água deve ser trocada diariamente ou em dias alternados, caso os parâmetros da água permitam espaçar a frequência. Alguns parâmetros importantes a serem considerados, e que podem ser medidos com testes básicos de aquarismo, são: pH, cloro, dureza, oxigênio dissolvido, nitrito e, principalmente, amônia. A amônia é liberada naturalmente pelos indivíduos por conta dos restos metabólicos e também é produzida por animais mortos em decomposição, sendo que, em níveis excessivos, pode intoxicar o anfíbio e levar a óbito imediatamente. Tanto nitrito quanto amônia podem ser controlados pela filtragem biológica. É importante conhecer as necessidades de cada espécie, pois alguns parâmetros como pH, dureza e oxigênio dissolvido podem ser diferentes de acordo com o ambiente de ocorrência, os quais devem ser corrigidos se for necessário.

Quanto ao substrato, o mesmo deverá ser trocado conforme a necessidade de cada espécie, pois algumas sujam mais que outras, porém recomenda-se que seja trocado com uma frequência mínima de 1 vez por mês. Já as fezes, devem ser retiradas sempre que houver. Para animais coletados para pesquisa é recomendado que o substrato seja proveniente do local de coleta dos animais. No entanto, deve-se garantir que o local não tenha registros de infecção pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* ou por outros microrganismos patogênicos. Caso contrário, deve-se utilizar outros tipos de substratos ou autoclavar o material. No caso de animais utilizados em programas de conservação, que visam a reintrodução, o substrato deverá ser autoclavado antes de ser utilizado, caso não seja do local de origem.

4.5. Dieta e nutrição

Os itens alimentares mais comuns para anfíbios adultos em cativeiro são grilos, baratas, cupim, larvas de inseto e drosófilas. Para espécies maiores também podem ser incluídos neonatos de ratos e camundongos e peixes de água doce. Idealmente deve-se oferecer uma dieta o mais variada possível, pois essa diversidade é importante para o desempenho das funções fisiológicas do animal, uma vez que a porcentagem de nutrientes varia entre as presas. De fato, alguns estudos têm demonstrado que a composição, tanto da microbiota cutânea quanto das secreções glandulares, podem ser alteradas dependendo do tipo de dieta dos animais. Além disso, a má-nutrição pode causar, a longo prazo, doenças como lipidose corneal, doença metabólica do osso, síndrome da língua curta, anorexia, entre outras. Porém, os estudos sobre dieta de anfíbios e as proporções dos componentes como cálcio, fósforo, vitaminas, minerais, proteínas e gorduras ainda são escassos. Alguns estudos mostram que a proporção de proteínas normalmente é de 30 a 60% e a proporção de gordura é de 40 a 70%. No entanto, essa proporção dependerá da espécie em questão. Já a proporção de cálcio: fósforo deverá ser 1:1.

Para anfíbios mantidos por períodos superiores a três meses, recomenda-se a suplementação vitamínica e mineral na dieta, tais como vitaminas A, B1, D3, E e cálcio, uma vez que os insetos produzidos em biotérios são deficientes nutricionalmente. Exemplos de marcas de suplementos indicados para anfíbios são: RepCal Calcium; Repashy Calcium Plus; RepCal Herptivite. Estes suplementos devem ser polvilhados nos itens alimentares antes do seu oferecimento para o anfíbio.

A frequência de alimentação dependerá da espécie, do tamanho e do metabolismo do anfíbio. Normalmente, anuros de porte menor e de alto metabolismo, como os dendrobatídeos e também filhotes e juvenis, se alimentam de pequenos insetos e devem ser alimentados diariamente. Anuros maiores, como *Rhinella* e *Boana* por exemplo, e com metabolismo mais lento, podem ser alimentados a cada 2 ou 3 dias. No caso de espécies mais sedentárias, como *Ceratophrys*, a alimentação pode ser semanal, ou até mesmo quinzenal em casos de indivíduos acima do peso. Além disso, a presa deve ser de um tamanho adequado em relação à boca e ao tamanho do anfíbio. A quantidade de itens varia muito por indivíduo mas, para os indivíduos maiores, podem ser ofertados de 5 a 15 insetos por vez, enquanto para os anfíbios menores, que se alimentam de presas pequenas como drosófilas, a oferta pode ser *ad libitum*. Os insetos podem ser oferecidos em cochos altos (no caso das pererecas que podem acessar o pote com facilidade), na pinça ou soltos diretamente no terrário. Os anfíbios utilizam prioritariamente a visão para caça, portanto os insetos devem ser

ofertados sempre vivos. Existe a necessidade de verificar os hábitos de cada espécie: para as diurnas, muitas vezes os anfíbios se alimentam na hora, porém para as noturnas, é necessário contabilizar e retirar as sobras no dia seguinte.

Para cecílias fossoriais, a alimentação pode ser realizada semanalmente, com bolas de carne bovina ou de frango (JARED *et al.* 2015) e insetos mortos. Os itens podem ser fornecidos na entrada das galerias, onde o animal os localizará pelo olfato. Minhocas também podem ser introduzidas no substrato e servir como alimentação complementar, além de colaborarem para o equilíbrio do substrato. Para os pipídeos aquáticos, a alimentação deve ser baseada em pedaços de peixe, minhocas picadas ou peixes vivos, ofertados diretamente na água (ZIPPEL 2006).

4.6. Cuidados com girinos

A grande maioria das larvas de anfíbios é aquática, ou seja, os girinos eclodem do ovo e permanecem no ambiente aquático até a metamorfose. Assim, o manejo depende da qualidade da água, a qual já foi discutida no item 4.4, e deve ser seguida conforme recomendado para espécies aquáticas. Os girinos podem ser mantidos em aquários de vidro, caixas plásticas, bacias ou até caixas d'água, com quantidade de água suficiente para os indivíduos ficarem totalmente submersos e conseguirem se movimentar livremente. O tamanho da coluna d'água deve ser estabelecido de acordo com a espécie. Os girinos podem ser mantidos em grupos, mas caso a espécie seja canibalista ou que os co-específicos inibam o crescimento do outro, deve-se manter os indivíduos isolados em pequenos recipientes. Os girinos devem ser mantidos em ambiente aquático até a liberação dos membros anteriores, logo após o desenvolvimento dos membros posteriores. Nessa fase inicia-se o processo de absorção da cauda (o girino passa a ser chamado de imago), e deve ser fornecido um refúgio seco, com acesso facilitado, para que o mesmo consiga sair da água quando necessário. O imago pode também ser transferido para um pote fechado, com tampa telada ou com furos pequenos para ventilação, com um coluna rasa de água (que cubra completamente o indivíduo) e algum item para que o mesmo consiga escalar, como pedra ou planta.

Quanto à alimentação, deve-se conhecer não só o tipo de dieta de cada espécie, mas também como deve ser ofertado esse alimento de acordo com as estratégias alimentares e o tamanho dos itens. Os girinos são, em sua maioria, herbívoros raspadores, e se alimentam a partir da raspagem de algas, cianobactérias e detritos em pedras, rochas ou no substrato. Neste caso é importante a oferta de itens alimentares que fiquem no fundo do recinto ou presos à alguma superfície, como pedras, porém na parte inferior do recinto. Existem ainda espécies onívoras (que se alimentam

principalmente de fito e zooplâncton) que capturam seu alimento na coluna d'água. Neste caso é importante que o item alimentar oferecido fique na coluna d'água e não afundem no recinto. Exemplos de itens alimentares utilizados para larvas de anfíbios são algas (*Spirullina*) e ração de peixes em flocos ou peletes, que devem ser oferecidos diariamente. Em caso de recintos que não tenham sistema de filtragem, a água deve ser trocada após a alimentação, que pode ficar ofertada ao longo do dia. Durante a fase de imago, a oferta de alimento deve ser interrompida, pois neste período ele irá obter suas reservas energéticas a partir da absorção da cauda, além das mudanças do sistema digestório acontecerem nesse momento. Ao complementar a metamorfose, o juvenil passa a receber a dieta dos adultos. Vale ainda ressaltar que alguns girinos são endotróficos, ou seja, a metamorfose ocorre dentro do ovo e o indivíduo eclode já metamorfoseado. Neste caso, o girino irá se manter a partir das reservas energéticas presentes no vitelo, dentro do ovo.

5. Requisitos mínimos para manutenção de répteis sob condições *ex situ*

No Brasil, a manutenção *ex situ* de répteis também ocorre com frequência para fins de pesquisa em universidades e institutos, principalmente serpentes, e para fins comerciais, destinados ao mercado *pet* e também ao setor alimentício. Diferente do que acontece com anfíbios, os répteis são bem representados em instituições para fins de educação, como por exemplo zoológicos, ou até mesmo em escolas. Também chegam com frequência em centros de triagem, vítimas do tráfico de animais selvagens, tanto espécies nativas quanto exóticas. Já para a manutenção e criação de espécies ameaçadas para fins de conservação, a representatividade em cativeiro ainda é baixa.

5.1. Características gerais dos répteis

Os répteis são divididos em quatro ordens: Testudines (quelônios: cágados, tartarugas e jabutis), Rhynchocephalia (tuatara), Squamata (serpentes, lagartos e anfisbênias) e Crocodylia (jacarés, crocodilos e gaviais) (UETZ *et al.*, 2019). A pele recoberta por escamas queratinizadas é uma característica bem marcante nesses animais, sendo que, no caso dos quelônios, também estão presentes escudos epidérmicos na carapaça e, nos crocodilianos, placas ósseas em seu dorso. A pele dos répteis têm como principal função proteger o organismo contra fatores externos, formando uma barreira física que permite maior resistência às condições ambientais (ZUG *et al.*, 2001). A renovação das células epiteliais ocorre constantemente e, no caso dos Squamata e dos quelônios aquáticos (casco), o processo de troca epitelial é induzido por hormônios tireoidianos, ocorrendo a renovação total da pele periodicamente. Além disso, a pele recoberta por escamas, entre outros fatores que auxiliam a evitar a desidratação, permite a ocupação desses animais em ambientes mais desérticos. No entanto, a maior diversidade está presente em florestas tropicais, nas quais a umidade cumpre um papel importante para a riqueza de espécies.

Assim como os anfíbios, os répteis são animais ectotérmicos, ou seja, a regulação de sua temperatura interna depende de fontes obtém energia térmica via metabolismo em algumas situações específicas como, por exemplo, as pítons que geram calor para incubar seus ovos através da liberação de energia térmica por meio de contrações musculares. Recentemente, também foi descoberto que o lagarto-teiú (*Salvator merianae*), durante a estação reprodutiva,

passa a utilizar o metabolismo para regular sua temperatura interna, assim como fazem os animais endotérmicos (TATTERSALL *et al.*, 2016). De qualquer forma, a temperatura é um fator determinante ao período de atividade e área de ocorrência dos répteis, os quais normalmente requerem temperaturas mais elevadas para um funcionamento mais eficiente de seu metabolismo. Assim, a maior diversidade de espécies de répteis está nas regiões tropicais e a maioria das espécies são mais ativas nas épocas mais quentes do ano. Em vista do exposto, a temperatura ambiental e a umidade são pontos primordiais para o sucesso do manejo de répteis em cativeiro, os quais permitirão que outras atividades funcionais e fisiológicas sejam desempenhadas corretamente.

As serpentes e os lagartos são os grupos com maior diversidade dentre os répteis, tanto em relação ao número de espécies (3.700 espécies de serpentes e 6.600 de lagartos) quanto aos hábitos. São animais normalmente associados a ambientes terrestres, com espécies arborícolas, terrícolas e fossoriais, mas também existem diversas espécies com hábitos semi-aquáticos e espécies estritamente aquáticos, principalmente no grupo das serpentes. As anfisbênias, das quais são conhecidas por volta de 195 espécies, possuem hábitos extremamente fossoriais (vivem sob a terra), o que dificulta inclusive o desenvolvimento de estudos para melhorar o conhecimento sobre a história natural dessas espécies, portanto, pouco se sabe sobre elas.

Os crocodilianos, com sua baixa diversidade de espécies (25 reconhecidas atualmente), possuem morfologia bem semelhante entre si, a qual é adaptada para ocupar ambientes aquáticos. Já os quelônios, facilmente reconhecidos devido à presença de um casco (formado pelo plastrão e carapaça), possuem uma diversidade com cerca de 350 espécies, sendo que a maioria possui hábitos aquáticos, exceto os jabutis, que são terrestres. Dos Rhynchocephalia, atualmente é reconhecida apenas uma espécie de tuatara, a qual é endêmica da Nova Zelândia e, embora seja externamente semelhante a um lagarto, vem de uma linhagem filogenética diferente, com diversas particularidades em sua estrutura óssea e em seu comportamento. Como essa espécie não está presente em instituições brasileiras, não abordaremos sobre o seu respectivo manejo *ex situ* neste capítulo.

5.2. Condições ambientais

5.2.1. Temperatura

A necessidade de se manter uma temperatura corpórea adequada através das condições ambientais disponíveis em natureza é um processo constante para os répteis e outros animais ectotérmicos. A termorregulação é um processo combinado de ações comportamentais e fisiológicas, que permite que os répteis mantenham a temperatura corpórea dentro de uma faixa de preferência característica de cada espécie (DAWSON 1975) e até de populações, pois diferentes populações de uma mesma espécie podem ter preferências termais diferentes. A forma de realizar trocas de energia térmica com o ambiente varia entre as espécies, sendo que existem aquelas que não controlam a temperatura corporal e a mantêm sempre próxima da temperatura ambiental (animais termoconformadores). Essas espécies normalmente são associadas a ambientes constantemente sombreados, subterrâneos ou aquáticos e podem viver apenas em climas sub ou tropicais, onde não existam grandes variações de temperatura. Porém, grande parte das espécies de répteis apresenta comportamentos que permitam controlar a troca de energia térmica, que envolvem ações como a seleção de locais com temperaturas favoráveis e mudança de postura corporal (animais termoreguladores ativos). Uma forma bem comum de observar esses animais termorregulando é quando eles se expõem ao sol para obter energia por meio de radiação, em um comportamento chamado assoalhamento. Nem todas as espécies têm o hábito ou oportunidade de assoalhar e, além da radiação, existem outros meios de trocar energia térmica, tais como por condução, a partir do contato com superfícies aquecidas, ou então apenas pela própria temperatura do ar, por meio de convecção (POUGH 1991). Por esses meios também ocorre o contrário, ou seja, a perda de energia do animal para superfícies mais frias ou para o ar frio.

Em vista do exposto, o mantenedor deverá fazer um planejamento de como fornecer as temperaturas recomendadas aos répteis sob seus cuidados. É preciso também levar em consideração o clima em que o mantenedouro está localizado e as espécies que serão mantidas para avaliar a necessidade de instalar aquecedores ou não. Também é preciso avaliar os recursos financeiros, a estrutura do recinto ou laboratório e a quantidade de animais que serão mantidos, para optar por formas viáveis, seguras e funcionais no dia-a-dia.

Em condições naturais, os animais possuem opções que permitem realizar os diferentes comportamentos de termorregulação. Em condições *ex situ*, essas opções devem ser recriadas; assim, conhecer o hábito e a temperatura de

preferência da espécie é fundamental para direcionar a forma correta de oferecer a temperatura ideal para o animal em cativeiro. Embora cada espécie tenha uma faixa de temperatura ótima para desempenho de suas atividades e algumas sejam mais tolerantes que outras, de forma geral, em cativeiro, répteis terrestres podem ser mantidos em uma faixa de temperatura ambiental entre 21-29°C (até 32°C para espécies de climas mais quentes). Deve-se sempre permitir as flutuações diárias e sazonais dentro dessas faixas de temperatura. Por exemplo, no inverno, a temperatura pode ser mantida em uma faixa entre 21-24°C (noite-dia) e no verão entre 23-29°C (noite-dia). Além disso, é recomendável, se possível, criar ambientes heterogêneos, fornecendo áreas mais aquecidas dentro do recinto, entre 32- 38°C para animais de clima tropical e de no máximo 43°C para animais de deserto, assim como pontos mais frescos. A oferta de diferentes gradientes focais de temperatura dentro de um recinto é importante para que o animal tenha opções para escolher a mais favorável naquele determinado momento. Manter répteis expostos constantemente a temperaturas entre 15-21°C por período prolongado pode ser prejudicial à saúde dos mesmos, uma vez que tal faixa de temperatura é muito baixa para permitir o funcionamento adequado do sistema imunológico e digestivo, e muito alta para induzir a hibernação (DIVERS & STAHL 2018). Vale ressaltar que a faixa de temperatura aqui recomendada é para permitir a manutenção adequada e o bem-estar dos animais, sendo que para finalidades específicas, tais como reprodução, pesquisa científica ou tratamento veterinário, deverá ser feita uma avaliação caso a caso.

Para répteis terrestres, em recintos fechados ou laboratórios com vários indivíduos, pode-se realizar a climatização do espaço como um todo, utilizando aquecedores de cerâmica, elétricos ou a óleo, sempre com proteções e distanciamento suficientes para que o animal não tenha contato com o aquecedor ou mesmo com algum ponto que cause calor excessivo. A temperatura do ambiente deve ser monitorada por meio de termômetros e também pode ser controlada por termostatos, que acionam os aquecedores de acordo com a faixa pré-estabelecida. Os gradientes de temperatura secundários, mencionados anteriormente, podem ser fornecidos por meio de lâmpadas focais infravermelhas, ou de aquecimento, próprias para répteis, também sempre com proteção e distanciamento suficientes, ou então por meio de pedras ou tapetes aquecidos. Esses últimos são indicados para lagartos e serpentes com hábitos terrícolas e de pequeno porte, não sendo indicado para animais arborícolas ou de grande porte, para os quais as lâmpadas são mais eficientes. É recomendável sempre verificar a temperatura da pedra aquecida, pois é comum ocorrer acidentes com animais que se queimam em peças desreguladas. Outro ponto que deve ser levado em consideração é que a pedra não deve ser fornecida como a principal fonte de aquecimento, apenas complementar, pois a mesma não é suficiente para garantir a temperatura adequada do animal em casos de temperaturas ambientais muito baixas, uma vez

que o animal perderá energia térmica por convecção.

Para répteis terrestres mantidos em recintos externos, tais como serpentes, lagartos ou jabutis, a climatização deve ser providenciada em pontos específicos para que o animal possa buscar conforto térmico, a qual pode ser fornecida em tocas de pedra, alvenaria ou madeira com aquecedores de cerâmica ou lâmpadas infravermelhas, devidamente protegidos e distanciados. Um ponto positivo de recintos abertos é a possibilidade do animal obter energia térmica diretamente do sol, porém o recinto deve ser provido com sombras e pontos mais frescos que permitam que o animal se desloque quando atingir a temperatura adequada. Em regiões de clima muito frio, como no sul do país, por exemplo, é preciso analisar com cautela a decisão por recintos abertos para répteis terrestres, a não ser que se tenha a opção de mantê-los em uma área fechada durante o inverno.

Para répteis aquáticos, como quelônios e crocodilianos, a temperatura da água é o ponto central, embora deva existir uma preocupação com a temperatura do ar também. O aquecimento na água, quando necessário, pode ser provido por meio de resistências elétricas, trocadores de calor ou aquecedores de água, dimensionadas de acordo com o tamanho do tanque. Já para a temperatura do ar, em caso de recintos fechados, as recomendações anteriormente mencionadas podem ser seguidas, porém, em caso de recintos externos, a climatização é provida naturalmente pela radiação solar ou pela cobertura de nuvens no céu. Devido às variadas condições a que esses animais podem ser mantidos, às diferenças de tamanho entre filhotes e adultos, e também pela alta flexibilidade e tolerância em sobreviver sob diversos regimes de temperatura, é difícil estabelecer temperaturas específicas para o manejo desses animais em cativeiro. Deve-se levar em consideração também a área de ocorrência dos animais, uma vez que espécies originárias de clima tropical não toleram temperaturas baixas em cativeiro, enquanto espécies de clima subtropical ou temperado possuem maior tolerância. Portanto, aqui recomendamos as faixas de temperatura que melhor estimulam o comportamento natural e respostas fisiológicas dos indivíduos, as quais são entre 22-26°C para a água e entre 24-35°C para o ar. Em recintos externos, os quais são mais comuns para manejo de quelônios e crocodilianos em cativeiro no Brasil, não há como controlar a temperatura do ar, porém este não é um problema, desde que alguns pontos sejam considerados. É importante que o recinto esteja localizado de forma a permitir radiação solar ao longo do ano todo, com pontos estratégicos de assoalhamento, e também com pontos de sombra, criando oportunidades para a termorregulação.

5.2.2. Fotoperíodo e iluminação

Para os répteis, o fotoperíodo controla uma série de funções fisiológicas e padrões comportamentais, tais como produção de hormônios, crescimento, hibernação ou reprodução. Muitas espécies de lagartos, como iguanas e dragões-barbado por exemplo, possuem o olho pineal, um órgão fotossensível localizado no topo da cabeça, que auxilia a perceber as mudanças do fotoperíodo com mais sensibilidade. Deve-se levar em consideração a origem do animal para estabelecer o fotoperíodo correto, assim como também a finalidade da manutenção. Caso o objetivo seja a reprodução, o controle rigoroso do fotoperíodo sazonal pode ser essencial, principalmente se o animal for de uma região latitudinal diferente.

Em natureza, o fotoperíodo é comandado pela luz solar e, em cativeiro, caso seja possível, o fornecimento de iluminação natural é a melhor opção, como no caso de recintos abertos. Já em recintos fechados ou laboratórios, o fotoperíodo natural pode ser fornecido por meio de janelas ou clarabóias, porém, se não houver essa possibilidade, deve-se utilizar lâmpadas em substituição. A luz solar natural, além do fotoperíodo, fornece radiações de espectro UVA (320 e 400 nm) e UVB (280 e 320 nm), essenciais para o equilíbrio fisiológico de grande parte das espécies de répteis, além da radiação infravermelha que fornece energia térmica. Existe uma série de variáveis que impedem o estabelecimento de um protocolo único de fornecimento de luz UV para répteis em cativeiro, uma vez que existem comportamentos e respostas fisiológicas específicas, além da intensidade de radiação variar ao longo do dia e cada espécie preferir horários ou condições específicas. Além disso, a maioria dos protocolos disponíveis são experimentais, portanto a frequência, tempo de exposição e intensidade da radiação devem ser analisadas caso a caso. A seguir será realizada uma abordagem geral sobre o assunto, que dará a base técnica necessária ao mantenedor ou ao pesquisador, porém, para detalhes mais específicos, recomendamos a leitura complementar de (BAINES *et al.* 2016).

A radiação UVA fornece o espectro de luz visível aos répteis que estimula comportamentos como apetite e reprodução do animal. Já a radiação UVB, participa fundamentalmente da ativação da vitamina D3, produzida pelo próprio organismo do animal. Essa vitamina é necessária para absorção do cálcio no trato intestinal, ou seja, caso ela seja deficiente, o animal pode apresentar doenças osteo-metabólicas e outras desordens fisiológicas causadas pela falta de cálcio. A radiação UV também é benéfica em outros aspectos, pois age contra bactérias, fungos e vírus alojados na pele, auxilia na modulação do sistema imune, fortalece as funções de barreira física da pele e estimula o aumento da síntese de pigmentos epidérmicos. A intensidade e necessidade de radiação UVB variam muito entre as espécies,

sendo que algumas requerem mais exposição a essa radiação do que outras. Isso varia de acordo com a capacidade da espécie em utilizar apenas a vitamina D3 proveniente da dieta, como é o caso de algumas serpentes e lagartos noturnos ou então espécies fossoriais, para as quais a necessidade do uso de luz UVB ainda é incerta. Porém, para a maioria das espécies, principalmente diurnas e crepusculares, a luz UVB é essencial. Deve-se levar em consideração que materiais como vidro e plástico bloqueiam os raios ultravioletas, portanto, para fazer efeito, tanto a iluminação natural quanto artificial, devem ser fornecidas diretamente ou protegidas por tela.

Para a iluminação artificial, existem lâmpadas disponíveis no mercado com diferentes graus de intensidade. As lâmpadas 2.0 fornecem 2% de radiação UVB e são indicadas, por exemplo, para serpentes diurnas de zona temperada. Lâmpadas 5.0 (5% de UVB) ou 7.0 (7% de UVB) são indicadas para répteis diurnos de clima subtropical e tropical, enquanto as lâmpadas 10.0 (10% de UVB) são indicadas para répteis diurnos de regiões desérticas. As lâmpadas artificiais devem ser mantidas a uma distância mínima do animal, de acordo com a potência da lâmpada, para que a mesma possa cumprir a sua função. Quanto mais afastada, menor a intensidade de luz UVB. A distância pode variar de 20 a 80 cm, mas a informação deve ser obtida com o fabricante da lâmpada. Outro ponto a ser considerado é o fato dessas lâmpadas perderem a eficiência com o passar do tempo, assim é recomendada a troca, no mínimo, anualmente. Sob radiações naturais, o próprio organismo equilibra a quantidade de vitamina D3 sintetizada, porém, sob radiações artificiais, a excessiva exposição deve ser evitada, pois pode ocasionar danos aos olhos, à pele ou mesmo ao sistema reprodutor. Assim, recomenda-se que a luz artificial seja oferecida em uma zona específica do recinto para que o animal possa buscá-la voluntariamente.

Como alternativa ao uso de lâmpadas, animais mantidos em recintos fechados ou laboratório, principalmente lagartos diurnos, podem ser submetidos a banhos de sol em caixas de madeira teladas. Como mencionado, a frequência, a intensidade e o tempo de exposição variam conforme a espécie, mas de maneira geral, nessas condições, recomenda-se o banho de sol no mínimo duas vezes por semana, de 20 a 60 minutos, até as 10h da manhã ou em horários com a temperatura mais amena. Durante esse processo, o responsável deve manter sempre pontos de sombra e borrifar a caixa com frequência para evitar superaquecimento, além de observar constantemente o comportamento do animal. Deve-se recolher o animal imediatamente caso o mesmo demonstre inquietação ou procura por sombra.

5.2.3. Umidade

A umidade relativa do ar (UR) para répteis terrestres ou semi-aquáticos também depende de cada espécie e do ambiente de origem, podendo ser monitorada por meio de um higrômetro para auxiliar no controle. A umidade incorreta por períodos prolongados pode levar a problemas de saúde, sendo que baixa UR pode causar dissecção (troca irregular ou retenção de pele) ou problemas respiratórios, enquanto que umidade excessiva pode beneficiar a proliferação de fungos e bactérias que acometem os animais. Em recintos fechados é importante manter o equilíbrio entre umidade e ventilação do ambiente.

De maneira geral, a UR para espécies desérticas pode variar em uma faixa de 10-30%, para espécies de clima temperado ou semiárido entre 30-50% e para espécies de clima tropical entre 50-80% ou entre 60-80%. Porém, algumas espécies têm necessidades específicas, como por exemplo a cobra-papagaio (*Corallus caninus*), espécie amazônica que precisa ser mantida a altas taxas de UR, entre 80-90%.

A umidade pode ser providenciada por meio de vaporizadores, umidificadores, borrifadores manuais ou fontes com água corrente dentro do recinto. Dependendo do hábito da espécie, a umidade no recinto pode ser fornecida também em pontos específicos, como tocas com substrato úmido. Algumas espécies arborícolas, tanto serpentes quanto lagartos, ingerem primariamente a água depositada na própria pele ou na superfície de plantas, rochas ou pedras, por isso é importante borrifar os alojamentos e os animais diariamente, ou mais vezes em caso de UR muito baixa.

5.3. Alojamento, disponibilidade de água e alimentação

Os temas abordados anteriormente se aplicam para os répteis de uma forma geral, porém, alojamento, água e alimentação serão abordados separadamente para cada grupo específico, uma vez que os requerimentos são diferentes entre eles. As informações aqui contidas, principalmente sobre tamanho de recinto e densidade máxima de ocupação, não excluem as exigências determinadas na IN 07/2015 (para as instituições que se enquadram à mesma) e tampouco nas legislações estaduais (quando houver), as quais devem ser de responsabilidade do mantenedor consultá-las e segui-las, independentemente deste capítulo. Na IN 07/2015 também estão inclusas as regras para distanciamento do público quando o objetivo da manutenção é contemplar a exposição dos animais e visitação pública.

5.3.1. Quelônios

Dentro do grupo dos quelônios é possível encontrar espécies de hábitos terrestres, como os jabutis, espécies aquáticas e semi-aquáticas dulcícolas, como os cágados e as tartarugas, e espécies como as tartarugas marinhas, que deixam o ambiente marinho apenas para realizar postura. O tamanho das espécies varia bastante, desde espécies pequenas como jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e muçua (*Kinosternon scorpioides*), até as de grande porte como as tartarugas-amazônicas (*Podocnemis expansa*) e jabutis-gigantes (gêneros *Aldabrachelys* e *Chelonoidis*), por exemplo.

Alojamento e água:

Para jabutis adultos, recintos externos são mais aconselháveis, pois são animais que requerem bastante espaço para caminhar e costumam ser bastante ativos durante o dia. Ademais, recintos externos favorecem a incidência de luz solar e outras condições ambientais (ver tópico 5.2). O recinto deve ser composto por abrigos com aquecimento e sombra, sendo recomendável a ambientação com vegetação arbustiva e arbórea, quando possível. Por serem animais muito ativos e curiosos, recomenda-se a oferta de itens de enriquecimento ambiental e comportamental. Como fonte de água deve ser fornecido ou bebedouro com troca diária de água ou tanques rasos de profundidade suficiente para atingir a metade da altura do animal. A troca da água deverá ser diária ou quando necessário. Para algumas espécies, dependendo do hábito, é possível fornecer tanques mais profundos, porém deve-se atentar para a facilidade de saída do tanque. No geral, jabutis apreciam lameiros, poças de água, banhos de chuva e de mangueiras para se hidratarem, principalmente os de florestas úmidas, como *Chelonoidis denticulata*, por exemplo.

Quanto ao solo, deve ser fornecido um substrato macio e firme ao mesmo tempo, como terra, grama, areia ou folhiço. Esse é um ponto importante no manejo de jabutis, uma vez que eles precisam sustentar o peso do casco e um solo incorreto ou liso pode acarretar em problemas locomotores. Solo incorreto também pode levar a incidência de problemas como pododermatite, uma inflamação da pele na sola das patas, que pode acometer especialmente animais de porte maior. O solo adequado deve garantir um local para postura no caso de existirem fêmeas no recinto, tanto para espécies terrestres quanto para as aquáticas. Muitas espécies de quelônios nidificam em terra ou areia; na ausência de substrato adequado para cavar, a fêmea fica com os ovos retidos, o que pode acarretar sérios problemas de saúde ao animal, como apatia, infecção de cavidade celomática causada por ruptura do oviduto, obstrução urinária ou intestinal, entre outros (SYKES 2010).

Espécies aquáticas e semi-aquáticas requerem a presença de um tanque de água no recinto, que considere não só o porte da espécie que será alocada, mas também o número de indivíduos. Para espécies adultas, recintos externos também são mais recomendados. A profundidade do tanque varia de acordo com o hábito da espécie, sendo que algumas, como *Phrynops* por exemplo, necessitam de tanques mais profundos para natação, enquanto outras não são boas nadadoras, como *Kinosternon* ou *Mata mata*, que normalmente caminham no fundo do tanque, portanto, precisam ser mais rasos. Além disso, é importante que o tanque não tenha uma superfície áspera, que possa causar lesões nos membros dos animais. Muitas espécies de quelônios aquáticos têm o hábito de assoalhar, portanto é necessária a presença de pontos de assoalhamento no tanque, tais como troncos ou rampas. As rampas também são necessárias para permitir a saída dos animais do tanque, a qual deve ter um ângulo suficiente e/ou também pedras ou outros materiais que permitam o animal ter apoio para sair com tranquilidade e não escorregar.

A qualidade da água é um ponto fundamental para manejo de cágados e tartarugas, sendo o tratamento com sistema de filtragem o mais adequado. A alimentação desses animais também é fornecida diretamente no tanque e isso impactará na qualidade da água, uma vez que haverá aumento na carga de matéria orgânica nesse tanque e, conseqüentemente, no aumento do crescimento de bactérias e amônia. Aqueles recintos que não contam com um sistema de filtragem devem ser submetidos a trocas frequentes de água, preferencialmente após as alimentações. A qualidade da água terá impacto direto na saúde e qualidade de vida dos quelônios aquáticos, refletindo inclusive no aspecto do casco, por isso recomenda-se o uso de água tratada e a troca sempre que possível. Parâmetros ideais devem ser avaliados conforme a espécie, sendo que algumas requerem ambientes mais ácidos que outras.

Quanto ao tamanho dos recintos, recomenda-se ao menos uma área de 0,5m² para cada 0,1m de comprimento de casco, tanto para quelônios terrestres quanto para aquáticos ou semi-aquáticos. A altura da cerca do recinto deve ser ao menos o dobro do comprimento do animal e, no caso de espécies aquáticas, as paredes devem ser lisas, levando em consideração que algumas espécies podem escalar. Em caso de recintos com múltiplos animais, as medidas e os recursos devem ser proporcionalmente maiores, de acordo com o número de indivíduos (DIVERS & STAHL 2018). Em sua maioria, os quelônios são animais fáceis de se manter em grupos, mas deve-se atentar ao comportamento dos indivíduos e de cada espécie. Espécies como muçã (*Kinosternon scorpioides*) e cágado-do-nordeste (*Mesoclemmys tuberculata*), por exemplo, têm comportamento territorialista e brigas podem ocorrer frequentemente, sendo que no último exemplo, até fêmeas apresentam esse comportamento. Machos de jabuti-tinga (*Chelonoidis denticulata*) tendem a realizar disputas quando há muitos indivíduos em um mesmo recinto.

Animais de menor porte podem ser mantidos em caixas d'água adaptadas e até em caixas plásticas, por curtos períodos de tempo, desde que seja fornecido espaço para o animal nadar e ponto de assoalhamento. Filhotes, tanto de jabutis quanto de tartarugas, podem ser mantidos em recintos internos para um maior controle de temperatura, porém as recomendações gerais de alojamento são as mesmas dos adultos, em condições adaptadas, e os mesmos devem ser submetidos a banhos de sol com frequência.

Alimentação:

A qualidade da dieta é fundamental para garantir o crescimento saudável e a saúde dos animais. Uma dieta deficiente nutricionalmente, no início do desenvolvimento do indivíduo, muitas vezes pode acarretar em osteopatias e má formação de casco, dentre outras alterações de crescimento e de saúde a longo ou curto prazo (DONOGHUE & MCKEOWN 1999). Quando necessário, a suplementação vitamínica ou mineral pode ser realizada, porém com muita cautela. A deficiência por vitamina A, por exemplo, é um problema comum em juvenis de quelônios aquáticos e semiaquáticos (DONOGHUE & MCKEOWN 1999), porém o excesso pode causar sérias intoxicações (POUGH 1991; DONOGHUE & MCKEOWN 1999). Assim, a oferta de uma dieta balanceada é a melhor forma de evitar doenças associadas a hipo ou hipervitaminoses.

Grande parte dos quelônios é onívora, tanto terrestres quanto aquáticas, por isso é importante garantir o fornecimento tanto de proteína animal quanto vegetal, sendo que as proporções e os itens variam de acordo com a espécie. Entre os jabutis existem muitas espécies com tendências mais herbívoras enquanto que, entre os aquáticos, algumas espécies tendem a ser mais carnívoras; o cágado-de-barbicha (*Phrynops hilarii*) irá consumir mais carne que o tigre d'água (*Trachemys dorbigni*), por exemplo. Existem rações comerciais que podem ser utilizadas para complementar a dieta dos animais, mas a dieta fresca deve ser a fonte primária.

Exemplos de itens vegetais que podem ser oferecidos são verduras de cores escuras (catalonia, escarola, couve, agrião, espinafre, etc.) e legumes (cenoura, batata-doce, abobrinha, abóbora, etc.). Vegetais como brócolis e couve-flor podem ser oferecidos, porém com muita moderação, uma vez que possuem substâncias que dificultam a absorção de iodo. Frutas não apresentam valores nutricionais muito elevados, mas devem ser adicionadas à dieta, uma vez que estimulam o consumo, principalmente de jabutis que são atraídos por cores. Exemplos de frutas que podem ser oferecidas são tomate, melão, melancia, banana, mamão, entre outras. Algumas flores também são bem aceitas e nutritivas, como malvaisco, hibisco ou pétalas de rosa, porém outros tipos de flores devem ser avaliadas quanto à

toxicidade antes de oferecer. Quanto aos itens de origem animal, podem ser ofertados carne bovina, ovo cozido, peixe, crustáceos, minhocas ou insetos.

Entre os quelônios aquáticos, a dieta pode ser oferecida de duas vezes por semana ou até mesmo diariamente, dependendo do metabolismo da espécie, da faixa etária e da época do ano. Filhotes devem ser alimentados diariamente, assim como os jabutis nas épocas mais quentes do ano. Nos meses mais frios há uma redução no metabolismo e na atividade dos animais, que deve ser acompanhada pela redução da frequência alimentar.

Animais terrestres nunca devem comer direto do substrato para não correrem o risco de ingerirem substrato junto com a dieta, pois há um risco muito grande de impactação do trato gastrointestinal, portanto a dieta deve ser fornecida em cochos. Já para as espécies aquáticas, a dieta deve ser fornecida diretamente na água para que fique em suspensão e os animais façam a apreensão dos itens.

5.3.2. Crocodilianos

O grupo dos crocodilianos é relativamente uniforme no que diz respeito à morfologia e hábitos gerais das suas espécies. Todos os crocodilos, aligáttores, jacarés e gaviais são aquáticos, com tamanhos que variam desde jacarés com média de 1,2m, como o *Paleosuchus palpebrosus*, até grandes espécies como o jacaré-açu (*Melanosuchus niger*), que pode passar dos 5m, e o crocodilo-marinho (*Crocodylus porosus*), a maior de todas, com registros superiores a 7m.

Alojamento e água:

Por tratar-se de predadores de porte avantajado, o alojamento de crocodilianos deve ser feito em um recinto grande o suficiente para permitir o manejo seguro dos indivíduos adultos e obrigatoriamente com espaço adequado para atender as necessidades físicas e comportamentais dos animais. O ideal é que o recinto seja aberto e que apresente pelo menos metade da sua área formada pelo tanque. Além disso, o recinto deve possuir vegetação e locais tanto expostos ao sol quanto sombreados. O substrato pode ser de terra e folhiço e deve permitir que as fêmeas construam ninhos, se for o caso. Quanto à metragem do recinto e do tanque, recomenda-se, para um casal, que a parte seca seja no mínimo 3x de largura e 4x de comprimento maior do que o comprimento rostro-cloacal (CRC) do maior animal e, que o tanque seja 4x de largura e 5x de comprimento maior do que o CRC. Ou seja, para um casal com 1m de CRC, o recinto deve ter no mínimo 12m² de área seca e 20m² de tanque. Quanto à profundidade, essa deve ser minimamente

duas vezes maior que a altura do maior animal. Para cada animal introduzido no grupo, deve ser adicionado 10% de área seca e 20% de área de tanque.

Por serem animais aquáticos, recomenda-se atenção à qualidade da água, com o uso de sistemas de filtragem, ou troca de água frequente dos tanques, para evitar o surgimento de doenças infecciosas, tanto cutâneas quanto sistêmicas (NEVAREZ 2006; Lott *et al.*, 2018). Quanto ao aquecimento, ver tópico 5.2.1.

Recomenda-se atenção aos recintos que abriguem mais de um indivíduo ou casal, pois há chance de surgimento de conflitos entre os animais por diversos fatores, sendo o principal deles para estabelecer dominância, especialmente entre os machos durante a época reprodutiva. Algumas espécies apresentam comportamento social mais gregário do que outras e a manutenção de grupos deve sempre ser bem planejada.

Alimentação:

Os crocodilianos são carnívoros estritos e podem se alimentar de uma variedade de presas. É possível utilizar tanto carne bovina, suína ou frango em pedaços, quanto pequenas presas inteiras, como peixes, roedores e aves. As presas inteiras são mais vantajosas pois apresentam maior valor nutricional (DONOGHUE & MCKEOWN 1999). Filhotes também podem ser alimentados com insetos e crustáceos.

A dieta pode ser oferecida de uma a três vezes por semana, dependendo da estação do ano, ou diariamente para filhotes. Em recintos com múltiplos indivíduos é possível utilizar técnicas de condicionamento operante com reforço positivo para garantir que todos os animais se alimentem sem conflito. O condicionamento operante tem sido utilizado com sucesso como ferramenta de manejo e acompanhamento clínico veterinário em diferentes instituições ao redor do mundo, não só no cuidado de crocodilianos, como de outros grupos de répteis (HELLMUTH *et al.*, 2012; BURGARDT 2013).

5.3.3. Lagartos e anfisbenas

O grupo dos lagartos conta com uma grande diversidade de espécies, com os mais diversos hábitos e dietas, e podem ser encontrados em diferentes habitats. Em relação ao tamanho dos lagartos, existem desde pequenas espécies, como as lagartixas, até médias e grandes, como iguanas e lagartos-monitores. Existem espécies arborícolas, terrícolas, fossoriais, semi-aquáticas, diurnas, crepusculares e noturnas. Já as anfisbenas, são exclusivamente fosso-

riais e de pequeno porte. Dada a diversidade de espécies, o conhecimento sobre a biologia da espécie a ser mantida é essencial para direcionar o manejo.

Alojamento:

Recintos para lagartos devem fornecer condições para que o animal seja capaz de expressar seus comportamentos naturais (BURGHARDT 2013). Os recintos podem ser localizados tanto em ambientes fechados quanto abertos, dependendo da finalidade. Nos fechados, caso o objetivo não seja a exposição pública, os animais podem ser mantidos em caixas plásticas ou terrários de madeira, de tela, de vidro ou alvenaria, sendo que a estrutura depende da necessidade da espécie e a ventilação é um ponto muito importante. Deve-se utilizar tampas que sejam feitas de material que permita não só a ventilação, mas também a passagem de luz (ver tópico 5.2.2), como por exemplo, tampas teladas e que sejam a prova de fugas. As dimensões ideais do recinto devem considerar os hábitos da espécie, ou seja, para aquelas terrícolas ou fossoriais o comprimento e largura devem ser mais amplos do que a altura, enquanto para as arborícolas, todas as medidas devem ser prioritárias. É recomendável que os recintos possuam, no mínimo, área de 0,2m² para cada 0,1m de comprimento total de lagartos terrícolas ou fossoriais e 0,2m³ de volume para cada 0,1m de lagartos arborícolas. Aumentar a ocupação do recinto não quer dizer necessariamente que deve-se multiplicar esses requerimentos pelo número de exemplares, uma vez que eles compartilharão o espaço, porém o aumento de espaço e recursos são necessários, caso sejam mantidos múltiplos animais no mesmo recinto (DIVERS & STAHL 2018). É importante que o recinto tenha dimensões apropriadas para garantir não só a movimentação dos indivíduos alocados, mas a formação de um gradiente de temperatura em seu interior (ver tópico 5.2.1) e também acesso à radiação UV (ver tópico 5.2.2).

Muitas espécies do grupo apresentam comportamento territorialista de disputa por parceiros sexuais ou até por recursos. Por essa razão é preferível não alocar muitos animais em um mesmo recinto, dando preferência para grupos menores em recintos maiores; em geral casais, ou um macho com poucas fêmeas. Caso demonstrem adversidades, os indivíduos devem ser separados. Obviamente, cada situação deve ser avaliada usando-se como parâmetro a biologia e comportamento da espécie alvo. O lagarto-rabo-de-macaco (*Corucia zebrata*), por exemplo, é uma espécie que forma grupos familiares e exibe comportamento territorialista direcionado a indivíduos de grupos externos.

Substrato/ Ambientação:

O substrato é um item de especial importância para a maior parte das espécies de lagartos, especialmente para aquelas de hábitos terrícolas, como o lagarto-teiú (*Salvator merianae*) e o lagarto-de-língua-azul (*Tiliqua scincoides*), por exemplo. Também é imprescindível para as espécies fossoriais e semi-fossoriais, como *Calyptommatus leiolepis* ou *Diploglossus lessonae*, e para todas as anfisbenas. O substrato auxilia na expressão de comportamentos naturais e favorece a manutenção das condições ambientais, tal como manutenção da umidade adequada no recinto. Um substrato adequado também permite um local de nidificação para fêmeas de espécies ovíparas que enterram os ovos, como por exemplo iguanas (*Iguana iguana*) e dragões-barbados (*Pogona vitticeps*); sem a possibilidade de fazer postura, elas ficam com os ovos retidos e podem desenvolver diferentes problemas de saúde (FUNK 2002; SYKES 2010; KNOTEK *et al.*, 2017).

Diferentes tipos de substratos podem ser utilizados em recintos para lagartos, seja ele um recinto externo ou um terrário. É possível utilizar grama, areia especial para répteis, terra vegetal, húmus de minhoca, casca de pinus, fibra de coco, folhiço ou uma combinação desses substratos criando um ambiente heterogêneo. Em manutenções temporárias pode-se utilizar vermiculita, porém indica-se a tentativa de utilização dos outros substratos citados anteriormente. Em alguns casos, dependendo do hábito da espécie, pode ser utilizado papel ondulado ou papel toalha, principalmente para animais em tratamento. O substrato deve ser trocado conforme a necessidade, porém restos de fezes devem ser retirados diariamente.

A vegetação natural é outra forma de garantir a manutenção da umidade dentro de um recinto ou terrário. Além disso, a vegetação também contribui para a criação de um ambiente confortável para os animais e pode ser utilizada diretamente na estrutura, como poleiro, e para criação de pontos de sombra ou abrigo. Deve-se atentar, no entanto para o habitat de origem da espécie a ser trabalhada no momento da montagem do terrário; espécies de ambientes florestais requerem uma densidade maior de vegetação; enquanto espécies de ambientes desérticos requerem menor cobertura vegetal, e maior exposição solar (STAHL 1999).

Outros itens de ambientação também devem ser disponibilizados no recinto, conforme a necessidade da espécie. Tocas e abrigos são requisitos essenciais e podem ser confeccionadas com madeira, canos de PVC, tijolos de cerâmica vazados, cascas de árvore e de frutos secos, caixas de papelão, etc. A oferta de rochas e troncos baixos também auxiliam a enriquecer o ambiente, principalmente para espécies terrícolas que costumam escalar e se movimentar em estratos baixos. Para espécies arborícolas, tais como iguanas e diversos membros da família Gekkonidae, é imprescindível.

dível o fornecimento de troncos ou galhos de espessura e altura adequada para o indivíduo.

Água:

Todos os recintos devem ter uma fonte de água potável que deve ser trocada pelo menos duas vezes por semana, ou conforme necessidade. O tamanho da fonte de água deve corresponder ao tamanho do animal, uma vez que algumas espécies, além de beberem a água, também a absorvem pela cloaca, submergindo toda a parte posterior do corpo no tanque de água. Algumas espécies também têm o costume de defecar na água e outras costumam se banhar quando estão em processo de ecdise. Além do tamanho do tanque adequado e da umidade do ar apropriada, a prática de borrifar o recinto e os animais também auxilia para que a ecdise aconteça sem prejuízos.

Algumas espécies, como as pertencentes à família Chamaeleonidae e outras espécies de floresta, ingerem água condensada das folhas e diretamente do seu próprio corpo; por isso é imprescindível borrifar o recinto e os animais com água diariamente (DONOGHUE & MCKEOWN 1999). Para alguns lagartos desérticos essa prática também é recomendada, uma vez que eles possuem canalículos na pele que permitem captar a água da chuva ou vaporizada do ar e direcionar diretamente para sua boca.

Alimentação:

Há uma diversidade muito grande de tipos de dietas dentro do grupo dos lagartos. De qualquer maneira, a saúde dos animais - sejam eles carnívoros como os lagartos-monitores, herbívoros como a iguana, onívoros como o lagarto-teiú ou exclusivamente insetívoros como as lagartixas - está fortemente relacionada à oferta de uma dieta de qualidade.

A maior dificuldade encontrada em cativeiro para as espécies insetívoras é garantir o fornecimento energético e de micro e macronutrientes ideal, pois os insetos criados em laboratório, apesar de apresentarem conteúdos satisfatórios de gordura e proteína, geralmente são muito deficientes em cálcio (DONOGHUE & MCKEOWN 1999). Dessa forma, há a necessidade de suplementação de cálcio, que juntamente com o aporte de radiação UVB vai garantir a produção de vitamina D, crescimento dos ossos e manutenção saudável do animal. Recomenda-se oferecer a maior variedade possível de itens alimentares, dentre grilos, baratas e larvas de insetos, e realizar a suplementação de uma a duas vezes por semana, de modo semelhante ao indicado para anfíbios (item 4.5). Os suplementos comerciais utilizados também são os mesmos. Uma vez que muitos lagartos se orientam preferencialmente pela visão, é indicado que

os insetos sejam oferecidos vivos para que os animais tenham estímulos para caçar. O tamanho da presa, e o volume oferecido vai depender do porte do lagarto que está sendo alimentado, e podem ser realizadas duas ou três alimentações distribuídas na semana.

Para as espécies herbívoras ou onívoras, a proporção dos itens e a frequência da alimentação deve ser elaborada conforme a espécie. Itens vegetais que podem ser oferecidos são verduras de cores escuras (catalonia, escarola, couve, agrião, espinafre, etc.) e legumes (cenoura, batata-doce, abobrinha, abóbora, etc.). Vegetais como brócolis e couve-flor podem ser oferecidos, porém com muita moderação, uma vez que possuem substâncias que dificultam a absorção de iodo. Frutas não apresentam valores nutricionais muito elevados, mas devem ser adicionadas à dieta, uma vez que estimulam o consumo, podendo ser oferecidos tomate, melão, melancia, banana, mamão, entre outras. Algumas flores também são bem aceitas e nutritivas, como malvaisco, hibisco ou pétalas de rosa, porém outros tipos de flores devem ser avaliadas quanto à toxicidade antes de oferecer. Quanto aos itens de origem animal, os quais também servem para as espécies carnívoras, podem ser ofertados carne bovina, carne de frango, ovo cozido, peixe, crustáceos, minhocas, insetos ou roedores.

Assim como os jabutis, os lagartos também apresentam risco de ingestão do substrato do recinto caso não sejam tomadas algumas precauções, portanto a dieta deve ser sempre oferecida em cochos ou sobre pedras e nunca diretamente sobre o substrato. A ingestão de material estranho pode causar impactação gástrica.

5.3.4. Serpentes

Existe uma grande variedade de serpentes, tanto em relação ao tamanho quanto aos hábitos. Existem espécies de pequeno porte e fossoriais, como as da família Typhlopidae; de médio porte, esguias e de hábitos semi-aquáticos, terrícolas ou arborícolas como as das famílias Dipsadidae e Colubridae; de médio porte, peçonhentas, de hábitos terrícolas ou arborícolas, como as das famílias Elapidae e Viperidae; de médio a grande porte, de hábitos semi-aquáticos, terrícolas ou arborícola, como as das famílias Boidae e Pythonidae; entre muitas outras. O comportamento e as respostas fisiológicas dos indivíduos e das espécies também variam, existindo aquelas mais agressivas e assustadas e outras mais calmas; algumas com metabolismo mais lentos e outras mais aceleradas. Todos esses fatores devem ser considerados para o adequado direcionamento do manejo em cativeiro.

Alojamento:

Pode ser tanto em serpentários fechados quanto abertos, dependendo da finalidade. Nos fechados, caso o objetivo não seja a exposição pública, os animais podem ser mantidos em caixas plásticas ou terrários de madeira, vidro ou alvenaria, sendo ideal apenas um por caixa, a não ser que o tamanho do recinto e o comportamento dos indivíduos permitam o alojamento de mais indivíduos. Deve-se utilizar tampas que sejam feitas de material que permita não só a passagem de luz, mas também a ventilação, como por exemplo, tampas teladas e que sejam a prova de fugas. As dimensões ideais do recinto devem considerar os hábitos da espécie, ou seja, para as terrícolas ou semi-aquáticas, o comprimento e largura devem ser mais amplos do que a altura, enquanto que para as arborícolas, todas as medidas devem ser prioritárias. Para situações de pesquisa científica, ou outras situações temporárias, recomenda-se que o tamanho do recinto seja, no mínimo, suficiente para que a serpente ocupe até 1/3 da área da caixa no momento em que estiver enrolada.

Para situações de manutenção permanente, as dimensões do recinto são diferentes e devem ser levadas em consideração para construção de novos serpentários e para adequação dos já existentes. A manutenção de serpentes em recintos pequenos ainda é uma prática vista como normal e aceita por muitos mantenedores, uma vez que esses animais se alimentam normalmente nessas condições e não apresentam sinais claros de estresse, acreditando que isso se deve pelo sedentarismo e outras falsas crenças em relação ao comportamento das serpentes. Entretanto, é visível a mudança de comportamento que muitas serpentes, mesmo as consideradas sedentárias, apresentam quando são transferidas para recintos maiores, explorando mais o ambiente e permanecendo mais a vista, sem demonstrar necessidade de ficar entocada o tempo todo (observação pessoal), sendo o acucamento um dos sinais de estresse. Estudos recentes têm levantado a necessidade de mudar tais padrões aceitos para serpentes, ressaltando a importância de fornecer recintos com espaço e estímulos suficientes para que o animal exerça o máximo possível de comportamento natural, incluindo a capacidade de reter ou esticar completamente seus corpos (WARWICK *et al.*, 2019). Com isso, os recintos devem ter, minimamente, comprimento ou altura suficientes (de acordo com o hábito da espécie) para que as serpentes consigam se esticar completamente. Quando possível, é recomendável que os recintos possuam área de 1,2m² para cada metro de serpente de hábitos terrícolas ou semi-aquáticos ou 1,2m³ de volume para cada metro de serpente de hábitos arborícolas. Aumentar a ocupação do recinto não quer dizer necessariamente que deve-se multiplicar esses requerimentos pelo número de exemplares, uma vez que eles compartilharão o espaço, porém o aumento de espaço e recursos são necessários, caso sejam mantidos múltiplos animais no mesmo recinto (DIVERS & STAHL

2018).

No caso de serpentários abertos, localizados em áreas externas delimitadas, as exigências por espaços maiores devem ser ainda mais criteriosas, uma vez que os animais estarão expostos às condições climáticas naturais, necessitando de mais opções para termorregulação, sendo primordial a presença de pontos aquecidos, abrigos e áreas sombreadas (ver tópico 5.2). As recomendações de tamanho de recinto devem seguir minimamente as fornecidas acima (1,2m² para cada metro de serpente). Para as laterais, quando não houver cobertura, é necessária que a altura mínima seja ao menos 50% maior do que o comprimento da serpente, por exemplo, para serpentes de 1m as laterais devem ter 1,5 m, para serpentes de 2m, devem ter entre 3 a 4m. De qualquer forma, quando possível, é recomendável que o serpentário aberto tenha cobertura de tela, pensando na possibilidade de predadores potenciais, como aves e gambás, adentrarem ao recinto.

Substrato e ambientação:

O substrato é um item de relevância significativa, pois, além de estimular comportamentos naturais e auxiliar a manutenção do microclima do recinto, muitas serpentes vivem a maior parte do tempo em contato com o solo. Em serpentários abertos podem ser utilizados substratos naturais como areia, terra, grama, folhiço, associados a substratos artificiais, simulando o habitat natural dos animais. É importante que o substrato seja adequado à desova para recintos que alojam fêmeas ovíparas adultas. Em recintos fechados podem ser utilizados terra vegetal, fibra de coco, húmus de minhoca, casca de pinus, folhiço. Caso não seja uma serpente fossorial ou semi-fossorial, as caixas ou terrários dos serpentários fechados também podem ser forradas com papelão ondulado, facilitando a higienização de rotina em locais com muitas serpentes.

Independente do substrato, os itens de ambientação devem ser disponibilizados no recinto conforme a necessidade da espécie. Tocas são requisitos essenciais para a maioria das serpentes e podem ser confeccionadas com madeira, canos de PVC, cascas de árvore e de frutos secos, caixas de papelão, etc. Deve-se atentar para que o acesso à serpente seja disponível, mesmo ela estando entocada, e que a toca tenha tamanho suficiente para que ela não fique presa. A oferta de pedra e troncos baixos também auxiliam a enriquecer o ambiente e ter opções para auxílio durante a ecdise. Para as serpentes arborícolas, é imprescindível o fornecimento de troncos ou galhos de espessura e altura adequada para o indivíduo.

Água:

Todas as caixas e recintos necessitam de uma fonte de água que precisa ser potável e trocada no mínimo uma vez por semana ou sempre que houver necessidade. Os serpentários abertos devem possuir uma fonte de água corrente ou tanque de água que deve ser trocada diariamente. O escoamento da água precisa ser telado a fim de evitar a fuga dos animais. Os bebedouros e as paredes de tanques e lagos devem ser lisos para facilitar a limpeza. Algumas espécies arborícolas ingerem água acumulada na própria pele, por isso é importante borrifar os alojamentos e os indivíduos diariamente.

O tamanho da fonte de água deve ser compatível com o tamanho e hábito da serpente, sendo que, para algumas, é suficiente apenas um recipiente para beber água. Algumas serpentes, mesmo as terrícolas, em algumas situações tem o hábito de entrar na água para se banhar, assim é importante oferecer um recipiente ou tanque que as comporte. Já para as semi-aquáticas, isso é o mínimo obrigatório em situações temporárias, sendo que em situações permanentes, o tanque deve ter comprimento e profundidade suficientes para o animal conseguir se esticar e nadar.

Alimentação:

Serpentes são animais exclusivamente carnívoros que possuem notável variedade de itens alimentares, porém em cativeiro, as presas mais comuns a serem ofertadas são roedores. É necessário que a presa oferecida seja procedente de locais capacitados de criação e que o tamanho seja adequado para a serpente. Esses animais ingerem a presa inteira e cada espécie possui uma dieta e uma frequência de alimentação que varia conforme o metabolismo da mesma. Geralmente serpentes com metabolismo mais lento, como bóideos e viperídeos, e que se alimentam de volumes maiores, podem se alimentar mensalmente com cerca de 10% do seu peso em alimento (fracionado em mais de uma presa), porém isso não é uma regra. Serpentes com metabolismo mais acelerado, como dipsadídeos e colubrídeos, ou que se alimentam de presas menores ou que são digeridas mais rapidamente como anfíbios, peixes e lesmas podem ser alimentadas quinzenalmente ou semanalmente. De qualquer forma, para animais mantidos por longo prazo, é importante acompanhar a massa corpórea, tanto de adultos quanto de juvenis, para possibilitar ajustes necessários na dieta. Após a alimentação o manejo das serpentes deve ser evitado para que as mesmas não venham a regurgitar. Em recintos múltiplos é fundamental que as serpentes sejam separadas em pontos diferentes para que não haja disputa de alimento. Serpentes em ecdise não devem ser alimentadas.

Por diversos fatores algumas serpentes podem se recusar a se alimentar voluntariamente. Após a certifi-

cação de que o animal não possui nenhuma patologia, o mesmo pode ser alimentado de forma forçada com o auxílio de uma pinça, com uma presa pequena e em menor quantidade do que seria oferecido normalmente. A presa deve ser abatida de forma ética e umedecida com água ou óleo mineral antes de introduzir no esôfago da serpente. É necessário que a contenção da serpente e o procedimento sejam realizados por profissionais capacitados. A decisão por uma alimentação forçada deve levar em consideração o metabolismo da serpente e perda de massa corpórea, cabendo ao técnico avaliar a necessidade de entrar com o procedimento.

6. Contenção física e transporte rápido

A contenção física de animais em cativeiro é uma prática comum, devido à necessidade de realização de exames, experimentos, tratamento veterinário, acompanhamento biométrico, troca de recinto etc. Porém essa manipulação pode induzir habituação a estímulos iminentes, estresse ou até mesmo danos físicos ao animal. Sendo assim, recomenda-se que a contenção seja restrita e realizada somente quando necessário, buscando sempre que possível, outras alternativas para realizar determinados procedimentos sem a necessidade de contenção.

A contenção física de répteis, principalmente de algumas espécies mais perigosas, sempre levou em consideração que certos riscos fazem parte do processo e que o manipulador inevitavelmente estará exposto. Entretanto, essa prática deve ser revista, uma vez que existem técnicas que minimizam tais riscos e permitem atingir o mesmo objetivo. É de fundamental importância conhecer a tática de defesa e o comportamento do animal para evitar acidentes, tanto ao manipulador quanto ao próprio animal, sendo que esse conhecimento é o que direciona a contenção física adequada e o manipulador deve estar confiante para executar o procedimento. O tempo de manipulação é um fator crítico, portanto o procedimento deve ser o mais breve possível, sempre observando e respeitando as respostas do animal durante a contenção, sendo que alguns indivíduos são mais agitados que outros. Deve-se ressaltar que para a contenção da maioria dos animais não há necessidade de força (exceto os de médio e grande porte), uma vez que a técnica correta, associada à agilidade, precisão e atenção, devem ser suficientes para imobilizar o animal. O excesso de força pode levar a injúrias ao animal, tais como quebra de ossos ou até mesmo a asfixia. Também deve-se ressaltar que a contenção deve ser feita em locais com a temperatura amena.

Para transporte rápido ou restrição por poucas horas, tanto para anfíbios quanto para répteis, é recomendável a utilização de caixas plásticas com travas (ou também de madeira no caso de répteis), de tamanho suficiente para que o animal tenha a movimentação restringida, para evitar ficar se debatendo e se machucar, além de necessitarem ser resistentes de acordo com a força do animal. As caixas devem conter furos para ventilação ou telas, atentando-se para que o animal não consiga passar por eles, e sempre ser mantidas em locais frescos. Caso a caixa seja transparente, é recomendável envolvê-la com um pano para minimizar o estresse. No caso de anfíbios, a caixa deve ter uma película de água ou então estar preenchida com musgo ou algodão úmidos e, para transporte rápido, também podem ser utilizados sacos plásticos preenchidos com ar e com algumas folhas úmidas. No caso de répteis, exceto animais de grande

porte, crocodilianos e serpentes peçonhentas, o animal pode ser alocado em um saco de pano bem amarrado, o que ajuda a mantê-lo bem mais calmo. Para viagens longas ou transporte aéreo, devem ser seguidas as recomendações da Associação Internacional de Transporte Aéreo (International Air Transport Association – IATA).

Nos próximos tópicos serão fornecidas recomendações básicas de contenção, específicas para cada grupo, porém elas não eximem a necessidade de um treinamento prático ser realizado por uma pessoa experiente. Vale ressaltar que existem técnicas diferentes para contenção de um mesmo grupo, porém cabe ao manipulador avaliar a situação do momento e também com qual técnica se sente mais confiante para garantir a segurança do animal e a sua própria.

6.1. Anfíbios

A defesa dos anfíbios frente a uma contenção envolve principalmente a tentativa de fuga, sendo que algumas espécies apresentam esporões nas patas e outras, mais raramente, podem morder. A principal preocupação deve ser em relação à pele dos anfíbios. Para contenção física desses animais, deve-se utilizar luvas de procedimento sem pó, de preferência de látex, vinil ou nitrilo, sendo recomendável molhar as mesmas antes da contenção. A luva protegerá o animal de injúrias em seu tegumento e da contaminação por microrganismos ou produtos químicos. Ao mesmo tempo, irá proteger o manipulador também da contaminação por microrganismos e de secreções tóxicas presentes na pele de alguns animais. Luvas novas deverão ser utilizadas para animais de diferentes recintos para evitar a contaminação cruzada por patógenos.

A contenção física de girinos, caso o objetivo seja transporte de um recinto para outro, pode ser realizada utilizando algum material do tipo rede, concha, colher etc. Caso seja necessário a contenção manual para realização de procedimentos, deve-se apoiar o girino na palma de uma mão, e com a outra segurar gentilmente seu corpo. Em qualquer um dos casos, deve-se manter o animal em contato com a água. Caso seja necessário realizar a contenção fora da água, esse procedimento deverá ser realizado o mais rápido possível.

Anuros adultos e juvenis pequenos, ao serem manipulados para troca de recinto, devem ser envoltos com ambas as mãos, como em um casulo, para que o mesmo fique seguro, não havendo necessidade de contenção. Em casos nos quais a contenção seja obrigatória para algum procedimento ou o indivíduo seja de médio ou grande porte, a contenção pode ser realizada segurando a cintura com o dedo indicador e o polegar, imobilizando as patas traseiras, e com a outra mão deve-se apoiar o ventre do animal. Também pode-se apoiar o ventre do animal na palma de uma

das mãos, e com a outra, prender gentilmente o animal, colocando os dedos na frente dos ombros para que ele não consiga ir para frente. Deve-se lembrar que os ossos desses animais são muito sensíveis, assim, não se deve utilizar força alguma na contenção, apenas precisão na técnica. Algumas espécies maiores conseguem utilizar a mão do manipulador como apoio para impulso, sendo assim, deve-se tentar deixar as patas traseiras sem contato com a mão do manipulador. Caso o motivo da manipulação seja coleta de sangue da veia abdominal, deve-se segurar o animal de forma que o dorso do animal fique em contato com a mão do manipulador. Deve-se levar em consideração que muitas espécies são escorregadias, necessitando, portanto, bastante atenção a esse ponto.

Na necessidade de manipulação para abertura bucal de anfíbios, deve-se segurar a cabeça do animal de forma que o corpo fique apoiado na mesma mão. Os dedos, polegar e indicador, irão segurar a cabeça, o dorso do animal ficará apoiado na palma da mão e os outros dedos devem envolver o ventre do animal. Com a outra mão, abrir a boca com o auxílio de um material rígido, porém que não cause dano ao animal. Um exemplo é o uso de cartões de papelão, plástico ou palheta de guitarra, no entanto o material deve ser um material limpo, sem risco de contaminar o animal. Caso o animal seja de grande porte, o manipulador deve segurar com as duas mãos, enquanto outra pessoa realiza a abertura bucal.

Salamandras podem ser examinadas sendo apoiadas na mão no manipulador, sem a necessidade de contenção, no entanto, caso seja necessário, deve-se segurar o animal apoiando o ventre na palma de uma das mãos, e com a outra, prender gentilmente o indivíduo, colocando os dedos na frente dos ombros para que ele não consiga ir para frente. Durante a contenção de salamandras deve-se tomar cuidado com a cauda do animal, pois algumas espécies podem fazer autotomia (liberar a cauda, como estratégia de fuga). No caso de cecílias, a forma de restrição dependerá do objetivo da manipulação. Caso a manipulação seja rápida, para mudança de recinto ou checagem geral das condições do animal, o indivíduo poderá ser manipulado gentilmente, sem necessidade de contenção. Caso seja necessária uma manipulação mais restrita, deve-se segurar o animal com as duas mãos, uma em sua parte mais anterior, logo atrás da boca, e outra em sua parte mais posterior.

6.2. Quelônios

Os quelônios possuem como principais formas de defesa a mordida, tentativa de fuga ou encolhimento dentro do casco. Algumas espécies podem morder, como *Trachemys*, e algumas causar sérios ferimentos, como é o caso da tartaruga-mordedora (*Chelydra serpentina*). Outras dificilmente morderão, porém deve-se sempre levar em consideração essa possibilidade, uma vez que o bico córneo possui bastante força.

Com isso, para a contenção física de tartarugas, como *Trachemys* por exemplo, é recomendável segurar pelo casco na metade do corpo ou com uma das mãos de apoio na parte traseira do casco. Já cágados, como *Phrynops*, podem ser segurados com as duas mãos, de forma que cada mão fique em cada lateral do casco do animal, uma próxima à pata dianteira e outra próxima à traseira. Porém, cabe a pessoa ajustar a posição das mãos da forma que estiver mais seguro para evitar quedas e mordidas. Quelônios aquáticos podem empurrar a mão do manipulador com as patas ou então ter o casco escorregadio, sendo assim, deve-se segurar o animal firmemente e de modo que dificulte qualquer ação.

As tartarugas-mordedoras possuem pescoço longo, de forma que podem conseguir alcançar as mãos do manipulador erguendo o pescoço para cima ou para os lados, alcançando até metade do casco. Sendo assim, recomenda-se que segure a tartaruga na base da cauda com uma das mãos, e com a outra, apoie o seu ventre, pois esses animais não conseguem virar o pescoço para baixo. Com exceção desses animais, nenhum outro quelônio deve ser contido pela cauda.

Caso a contenção tenha como objetivo algum exame invasivo, seja na cauda, nas patas ou no pescoço, deve-se segurar gentilmente esses locais e puxar para fora do casco, porém com atenção redobrada para não deslocar/quebrar nenhum osso do animal, sempre respeitando seu tempo. Enquanto ele estiver oferecendo resistência, não se deve puxar, apenas quando sentir relaxamento do membro. Pode-se também segurar a cabeça do indivíduo dentro (tartarugas) ou ao lado (cágados) do casco com o auxílio de um pano, para que o mesmo fique mais confortável e assim diminuir o risco de acidentes tanto para o animal quanto para o manipulador.

No caso de contenção de quelônios grandes como jabutis, tartarugas marinhas e tartarugas-amazônicas pode-se conter o animal com uma das mãos segurando o casco logo acima do pescoço, e com a outra mão, segurar na parte de trás do casco, logo acima da cauda. Caso o animal seja muito pesado, o mesmo deverá ser contido por duas ou mais pessoas. Para realização de exames nesses animais, aconselha-se colocar o animal com o ventre apoiado

em algum objeto alto, como por exemplo um pneu ou uma caixa, de forma que as patas fiquem no ar e o animal não consiga se apoiar em nenhuma superfície. Não é recomendado manter o animal de costas por mais tempo do que o absolutamente necessário. Tal posição não é natural e é estressante para o animal.

6.3. Crocodilianos

Todo crocodiliano tem o potencial de causar acidentes graves, uma vez que possuem extrema força em sua mordida. Filhotes também mordem, porém, causam ferimentos leves, assim, o manejo de qualquer crocodiliano consiste principalmente em imobilizar a boca. Filhotes podem ser contidos por apenas uma pessoa e, até determinado tamanho, com apenas uma mão. Nesse caso, a contenção é semelhante a um lagarto, segurando o osso mandibular atrás da boca e mantendo as patas traseiras junto à base da cauda do animal. A boca pode ser fechada com fita adesiva ou borracha.

Animais jovens e adultos devem ser contidos por duas pessoas ou mais, de acordo com o tamanho do exemplar. Recomenda-se que a equipe organize a função de cada um antes de iniciar o procedimento e que cada um reconheça suas próprias limitações físicas antes de se comprometer na função, lembrando que algumas etapas exigem força, dependendo do tamanho do animal. Cada passo da contenção deve ser feito sempre com calma e firmeza, respeitando sempre o animal, uma vez que eles se agitam com cada procedimento. Portanto, em qualquer etapa, deve-se aguardar o animal se acalmar para prosseguir para o próximo passo e também sempre manter uma distância segura do mesmo. É importante fazer o planejamento da contenção de acordo com o recinto e com o tanque do animal. A seguir, serão fornecidas etapas para uma maneira de contenção segura e eficiente, a qual recomendamos.

Para crocodilianos de médio porte (até 2,5m aproximadamente) pode ser utilizado um cambão. Primeiramente deve-se laçar o animal com o cambão na região do pescoço, junto com uma das patas dianteiras. Isso fará com que seja mais difícil para o animal girar em torno do próprio corpo e evitar qualquer lesão em seu pescoço. Enquanto o animal é mantido no cambão por uma pessoa, a outra cobre os olhos com uma toalha ou pano, com o auxílio de um cabo, de forma que ele não consiga ver a movimentação ao redor. Após isso, com o auxílio de um outro cambão menor, essa segunda pessoa fecha sua boca, mantendo-o firme (um cambão no pescoço/pata e outro na boca) enquanto uma terceira pessoa imobiliza a boca com uma fita de borracha ou fita adesiva resistente. Após essa imobilização, ao menos duas pessoas montam em cima do dorso do animal, porém, deve ser avaliada a quantidade de pessoas de acordo com

o tamanho do mesmo. A pessoa que estiver na parte da frente, deve pressionar a cabeça do crocodiliano para o chão, deslizando as mãos em direção ao rosto e posteriormente segurar a boca do animal, já fechada. A segunda pessoa deve segurar as patas traseiras junto à base da cauda do animal, pressionando-as com as pernas.

Para crocodilianos de grande porte, não é recomendável o uso de cambão, e sim de cordas, com auxílio de estruturas fixas para segurá-las. Os passos são semelhantes, porém a imobilização do animal deve ser feita completamente com cordas, antes de realizar o acesso ao mesmo. Deve-se ressaltar que quanto maior o animal, mais estressado o mesmo fica e mais ele demora para retornar ao seu estado fisiológico equilibrado, assim, as contenções devem ser ao máximo evitadas e devem ser muito espaçadas entre elas.

6.4. Lagartos e anfisbenas

Muitas espécies de lagartos, ao serem manipuladas, podem fazer autotomia caudal, ou seja, liberar a cauda como estratégia de fuga, portanto essas espécies não devem jamais ser contidas pela cauda. Outra tática bem comum de lagartos e anfisbenas ao ser contidos é a mordida. Algumas espécies, como a iguana, podem dar chicoteadas com a cauda e, essa e outras arborícolas, também podem arranhar.

Normalmente, lagartos médios e grandes devem ser contidos segurando a parte posterior do osso mandibular com uma das mãos e com a outra mão segurar a cintura, pressionando as coxas para trás, de forma a ficarem paralelas à base caudal do animal. Nesse caso, também é recomendável apoiar o tronco do animal para que ele não fique se retorcendo. Em espécies menores, esse procedimento pode ser feito com apenas uma mão, utilizando a palma da mão para apoiar o dorso do animal e deixá-lo mais firme. Alguns indivíduos ficam menos agitados se, ao invés de conter atrás da mandíbula, segurar o peitoral com a palma da mão, de forma que o animal não consiga morder a mesma. No caso das anfisbenas, a contenção também deve ser realizada segurando com os dedos a parte posterior do osso mandibular e com a outra mão segurar o restante do corpo.

Para espécies de grande porte e que podem morder, podem ser utilizadas luvas de raspa de couro. Porém deve-se atentar ao fato de que essas luvas podem prejudicar a sensibilidade da mão do manipulador, o que pode fazer com que a contenção seja mais forte do que o necessário, podendo causar injúrias ao animal, ou mais fraca que o necessário, fazendo com que ele se solte do manipulador. Caso o animal seja muito agitado pode-se utilizar toalhas para cobrir sua cabeça e seus olhos antes de realizar a contenção ou durante o procedimento, o que fará com que ele se mantenha

mais calmo. O uso da toalha também pode ser feito para enrolar um lagarto de médio/grande porte, mantendo suas patas pressionadas contra o corpo, sendo útil para transportes rápidos.

6.5. Serpentes

As serpentes possuem diversas maneiras de se defender, sendo que algumas podem causar sérios acidentes ou até mesmo a morte, como no caso das peçonhentas ou então das grandes construtoras. Com isso, as medidas de segurança devem ser rigorosas e respeitadas. Em caso de exposição pública, medidas para serpentes peçonhentas estão disponíveis na IN 07/15 do IBAMA. Serpentes não-peçonhentas podem morder, dar chicoteadas com a cauda ou então constringir o manipulador, sendo assim, uma contenção precisa e com segurança deverá ser sempre aplicada.

Para serpentes de pequeno e médio porte, os equipamentos que podem ser utilizados na contenção são: gancho, laço de Lutz, pinção ou tubo transparente (de acrílico ou de borracha firme). O tamanho dos equipamentos e a resistência dos mesmos deve ser escolhido conforme o tamanho do indivíduo e o comportamento da espécie.

O gancho pode ser utilizado tanto para transferir o animal de um local para outro quanto para auxílio na contenção manual. Alguns animais são mais fáceis de serem mantidos no gancho do que outros, por isso há necessidade de prática, principalmente para algumas espécies de Colubridae ou Dipsadidae. Já o pinção, raramente é necessário utilizar em cativeiro, sendo normalmente utilizado para serpentes finas e leves, que estejam a uma altura fora do alcance da pessoa. O mesmo deve ser utilizado com muita leveza, uma vez que pode causar acidente na coluna da serpente.

Para auxílio na contenção manual, o gancho deve ser levemente pressionado no crânio da serpente contra o chão, de forma que o animal não consiga se voltar para morder a pessoa, e a pessoa deverá conter a cabeça imediatamente. Esse processo é mais fácil com serpentes em uma caixa. Para contenção da cabeça, a pessoa deve segurar o osso quadrado (atrás da boca) com o dedo indicador e com o polegar, apoiando o “pescoço” na palma da mão e, com a outra mão deve-se segurar o resto do corpo do animal. Caso o animal seja de médio ou grande porte, como no caso de boídeos e pítons, recomenda-se que a contenção seja realizada com 2 ou mais pessoas, conforme o tamanho. Neste caso, uma pessoa segura a cabeça do animal com uma mão e com a outra mão o primeiro terço do corpo, restringindo a movimentação, e os outros manipuladores seguram o restante do corpo.

Para serpentes peçonhentas, a contenção manual direta só deve ser realizada em casos extremamente necessários e inevitáveis, ou em casos de instituições que fazem extração de veneno. Quando houver a necessidade de

conter manualmente a cabeça de um viperídeo, recomenda-se o auxílio do gancho ou do laço de Lutz e na contenção utilizar três dedos: o polegar e o médio seguram o osso quadrado, enquanto o indicador apoia o crânio. Procedimentos corriqueiros com serpentes peçonhentas, como medicação, avaliação clínica, biometria ou até mesmo alimentação forçada, podem ser realizados utilizando o laço de Lutz em alguns casos e o tubo transparente em qualquer uma dessas situações.

Não se deve nunca abrir o recinto sem saber a localização da serpente; tampouco deve-se limpar o recinto com a serpente dentro dele. A limpeza deverá ser realizada após a transferência da serpente para um outro recinto seguro (como uma outra caixa ou balde com tampa).

7. Métodos de identificação

Existem diversos métodos de marcação para identificação de répteis e anfíbios, tanto invasivos quanto não-invasivos, e a escolha do método deve ser de acordo com o propósito de manutenção dos indivíduos e com a espécie. Para instituições que preveem o uso e manejo de animais em cativeiro, a marcação é obrigatória e deve ser seguida conforme a Resolução CONAMA 487/2018. Já para animais destinados a pesquisas temporárias, a identificação individual normalmente é necessária para realização de experimentos, porém a marcação permanente nem sempre é necessária. Vale ressaltar que alguns métodos de marcação invasivos podem causar estresse e dor no animal, portanto devem ser acompanhados de procedimentos que minimizem ou eliminem esses fatores (NARAYAN *et al.*, 2012), incluindo uso de medicamentos para controle da dor e, sempre que possível, optar por métodos não-invasivos.

7.1. Anfíbios

Um método bastante eficiente e não-invasivo para a identificação individual de anfíbios em cativeiro é a foto-identificação. Esse método se baseia em tirar fotos das características e marcas naturais dos animais. Assim, quando necessário reconhecer determinado indivíduo, basta basear-se nas fotos tiradas. No entanto, deve-se atentar ao fato de que, em alguns casos, as cores e marcação naturais dos animais podem mudar com o tempo, fazendo-se necessário o acompanhamento periódico e renovação das fotos, principalmente de filhotes e jovens. Também é recomendado tirar fotos dos indivíduos da mesma espécie a partir do mesmo ângulo, para facilitar a identificação posterior.

Entretanto, muitas espécies não possuem marcas naturais que permitam sua identificação, assim, o método anterior não se faz eficiente. Um método que tem sido cada vez mais utilizado e se mostrando eficiente é o implante de elastômero. Esse método se baseia em injetar, no tecido subcutâneo do animal, um elastômero colorido. A partir da injeção de diferentes cores em diferentes posições é possível criar um código para cada indivíduo. No entanto, poucos são os estudos verificando se há alguma contraindicação no uso do elastômero em anfíbios, por causar algum dano ao animal a curto ou a longo prazo. Sabe-se que o elastômero pode vir a alterar a microbiota cutânea dos anfíbios, aumentando a abundância de fungos na pele desses animais (ANTWIS *et al.*, 2014), porém, como são poucos os estudos, ainda não há conclusões significativas em relação a esse método. Sendo assim, sugerimos que o elastômero seja usa-

do somente se não for possível identificar os animais utilizando foto-identificação e se a marcação for imprescindível.

Por fim, para identificação de anfíbios adultos, pode-se utilizar microchip ou nanochip, porém esses métodos são pouco utilizados pois se restringe a espécies de médio e grande porte. Além disso, assim como o elastômero, a aplicação dos chips pode causar alteração na microbiota do animal. Para a identificação dos indivíduos, também há a possibilidade de manter os animais em recintos individuais, quando a marcação não for obrigatória e quando o experimento ou a atividade permitir, lembrando que as caixas devem ser identificadas.

7.2. Répteis

Um dos métodos de identificação não-invasivos para répteis é a foto-identificação, que pode ser utilizada para todos os grupos, porém, assim como para anfíbios, é indicada somente para espécies que possuam marcas naturais. Em pesquisas, para répteis também é comum a manutenção individual em recintos, sendo essa também uma forma de identificação dos exemplares - também quando a marcação não for obrigatória e quando o experimento ou a atividade permitir. Para quelônios, também é possível utilizar um tipo de marcação temporária e não-invasiva, que consiste em utilizar esmaltes coloridos para marcar o casco e cada indivíduo ter seu próprio código de pintura. Os esmaltes saem com o tempo, portanto devem ser renovados de acordo com o tempo da pesquisa ou com a necessidade de identificação. Esse método também é bastante útil para animais que vivem em grupos e estão passando por algum tratamento, facilitando o reconhecimento imediato.

Entre os métodos invasivos, o mais utilizado em animais mantidos em instituições de manutenção permanente, como zoológicos por exemplo, é o microchip, que deve ser aplicado no tecido subcutâneo dos animais. É um método muito eficaz, sendo um dos mais indicados para répteis, porém, algumas vezes, pode parar de funcionar. Sendo assim, quando possível, sugere-se a aplicação de outra metodologia de marcação juntamente com o microchip. Outro método invasivo e eficiente utilizado para quelônios é a chanfra, ou corte de escudos marginais, que consiste em lixar diferentes escudos de diferentes indivíduos, para que seja criado um código individual. Esse método deve ser previamente aprovado por Comitê de Ética no Uso de animais e feito apenas na impossibilidade de uso de outra técnica de identificação; nesse caso, deve ser realizado com cautela, com materiais esterilizados e assepsia do local.

8. Principais patologias e recomendações clínicas

Muitas doenças que acometem anfíbios e répteis podem ser minimizadas em cativeiro através do manejo e tratamento adequados. No entanto, pouco ainda se sabe sobre diagnóstico e tratamento de muitas dessas doenças, embora esse campo seja um pouco mais avançado para répteis do que para anfíbios. Como discutido anteriormente, a preocupação com a saúde e bem-estar do animal deve ser primordial e, em centros de pesquisa, o pesquisador deve ter em mente que animais debilitados podem contribuir negativamente para o resultado da pesquisa. Assim, o mantenedor deve estar atento às mudanças comportamentais e fisiológicas do animal para poder investigar se o animal está doente devido a algum patógeno ou se há algum problema no manejo realizado.

As doenças de anfíbios e répteis podem ser causadas por vírus, fungos, bactérias e parasitas. Esses animais também podem adoecer devido a problemas no manejo, como por exemplo, falhas nutricionais, problemas na qualidade da água, recinto não adequado ao tipo de habitat, etc. Aqui iremos abordar as principais doenças que acometem os anfíbios e répteis em cativeiro e indicar tratamentos e diagnósticos, quando conhecidos (para mais informações sobre doenças em anfíbios, ver Pessier and Mendelson III 2017). Vale ressaltar, que, durante o tratamento veterinário, é fundamental reconhecer e oferecer condições mínimas necessárias para que o animal tenha conforto ambiental e suporte fisiológico suficientes para que o estresse não comprometa a eficácia do tratamento, a qual depende de uma associação entre manejo biológico e veterinário.

8.1. Avaliação clínica

Alguns fatores são importantes e devem ser levados em consideração em uma avaliação mais aprofundada das condições dos animais. Idealmente, deve-se ter o suporte de um médico veterinário na manutenção de animais, pois, caso necessário, o veterinário poderá realizar um diagnóstico preciso e orientar caso seja necessária a realização de algum tratamento.

A anamnese e o exame físico são um bom ponto de partida, com o reconhecimento de que o manejo tem um papel importante em quase todos os processos de doenças. Muitas vezes, é útil um hemograma completo para procu-

rar evidências de infecção/inflamação crônica e uma análise bioquímica plasmática para estreitar as preocupações dos sistemas orgânicos. Ultrassonografia, endoscopia e/ou outras imagens diagnósticas podem ser úteis para identificar lesões internas e orientar a coleta de amostras. Uma vez que os resultados dos testes de diagnóstico iniciais estejam disponíveis, é possível selecionar testes de diagnóstico específicos e mais apropriados para o agente em questão.

A avaliação clínica em anfíbios e répteis para a investigação de sinais e sintomas consiste em inspeção visual de características comportamentais e fisiológicas tais como consciência, apetite, habilidade para apreender alimento, deglutição, mobilidade, marcha, propriocepção, reflexo visual, padrão respiratório, secreções, flutuação (para testudines aquáticos), fezes e urina, palpação inguinal, auscultação em algumas espécies, percussão (exemplo, da carapaça), abertura da boca para verificar mucosa, oximetria de pulso (interdigital em algumas espécies), temperatura cloacal, membros (aumentos de volume, articulações) e avaliação dos olhos e narinas. Deve-se atentar à condição do escore corpóreo do animal de forma a verificar se o mesmo se encontra acima do peso ou anoréxico.

A cavidade bucal dos répteis deve sempre ser examinada, particularmente procurando evidência de inflamação, infecção, gota úrica e corpos estranhos. Observação da coloração da membrana mucosa deve ser realizada, pois a mesma é normalmente rosa clara, embora algumas espécies normalmente apresentem colorações escuras. Membranas pálidas são frequentemente observadas nos casos de anemia, enquanto as hiperêmicas podem ser associadas com sepsis ou toxemia. Icterícia não ocorre, mas sim biliverdinemia resultante de doença hepática severa. Edema submandibular pode ser resultante de trauma, estomatites ou doença ósseo-metabólica.

Outros exames clínicos visuais importantes são a verificação do bico córneo ou dentes (para verificar lesões ou supercrescimento), pálpebras (para verificar distensões ou inflamações), ouvidos (para procurar sinais de edema associados com abscedação) e olhos (que devem ser claros e brilhantes). Conjuntivites, ulceração corneal e opacidades são apresentações clínicas frequentes, sendo assim o exame oftálmico é importante. O casco de quelônios deve ser examinado para verificar sua dureza, conformação, trauma e infecção. Infecção do casco pode se apresentar como perda e amolecimento de escudos com eritema, petéquias, descarga purulenta ou caseosa e odor pútrido. Infecções profundas usualmente envolvem os ossos da carapaça e causa osteomielite.

Em relação ao exame clínico no tegumento dos animais, deve-se procurar por lesões, inchaços ou abscessos. A pele deve ser examinada para pesquisa de parasitas, particularmente carrapatos e larvas de moscas, disecdise, trauma e infecção. Tanto para répteis quanto para anfíbios, a coloração e qualidade da pele são pontos importantes a serem observados, uma vez que a mudança de cor, opacidade ou desidratação da pele podem ser sinais secundários

de alguma doença.

8.2. Internação de animais durante tratamento veterinário intensivo

Caso necessário, o animal deverá ser internado (especificamente para instituições de manutenção permanente). A internação permite o correto ambiente terapêutico, fluidoterapia prolongada e medicação. Terrários de internação devem ser diferentes dos recintos de manutenção, pois necessitam de um controle maior de doenças e recuperação. Eles devem ser eliminados após o uso ou adequadamente desinfetados antes que um novo paciente seja hospitalizado. Isto significa que os acessórios e enriquecimentos ambientais durante o período de internação para tratamento intensivo devem ser geralmente reduzidos. Deve-se sempre desinfetar recintos de tratamento veterinário e isolar agentes infecciosos potenciais. Recintos com limpeza inadequada ou muito pequenos podem levar a lesões dérmicas pela imobilidade do animal.

O controle e eficácia de resposta imune a agentes infecciosos podem depender se o animal é ou não mantido dentro da temperatura ótima preferida e com hidratação estabilizada. É impensável que um anfíbio ou um réptil consigam lutar com uma infecção ativa, ou contra doenças metabólicas, abaixo da temperatura ótima preferida e sem a hidratação adequada. Répteis internados perdem a capacidade de termorregulação, portanto são altamente suscetíveis a queimaduras e hipertermia. Pacientes imóveis são particularmente vulneráveis, portanto devem ser cuidadosamente monitorados com relação à injúria térmica em potencial se eles forem incapazes de escapar das fontes de calor.

Répteis semi-aquáticos debilitados (ou em recuperação anestésica) podem ser mantidos fora da água, em ambiente úmido até que o risco de afogamento tenha passado. Quando forem mantidos fora da água, nebulização regular é recomendada. Esteiras plásticas podem ajudar a limitar o contato com o solo em ambientes úmidos onde o solo e excrementos podem predispor a infecções dérmicas. Isso é especialmente importante para pacientes com movimentos limitados.

8.3. Principais patologias em anfíbios

→ Doenças causadas por fungos:

Alguns fungos podem causar infecções cutâneas nos anfíbios e como diagnóstico deve-se realizar exames clínicos visuais para verificação de problemas comportamentais, diminuição do escore corporal, troca excessiva e descoloração de pele e lesões cutâneas, além de realização de histopatologia, citologia e biópsia cutânea. Dentre os fungos, o *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), causador da doença quitridiomicose, é um fungo de grande importância veterinária, pois é considerado uma das principais ameaças às populações e espécies de anfíbios ao redor do mundo. Vale ressaltar que a quitridiomicose age em sinergia com outros fatores e, muitas vezes, o animal só adoece se estiver com a imunidade comprometida, o que pode ocorrer quando houver desequilíbrio em qualquer um dos pontos abordados ao longo deste capítulo. O **diagnóstico laboratorial** pode ser feito através de histopatologia e de métodos moleculares como qPCR. Para a coleta de amostras, deve-se passar um cotonete estéril (*swab*) por 5 vezes, na região inguinal de cada membro posteriores do animal e nas membranas interdigitais de todos os membros (LAMBERTINI *et al.*, 2013). Ainda não há **tratamento** para indivíduos *in situ*, porém é possível tratar os animais cativos de forma eficaz. O tratamento que tem se mostrado mais eficiente é a realização de banhos com o antifúngico Itraconazol. Existem outros antifúngicos, porém o itraconazol é o fármaco mais recomendado. Além disso, existem protocolos com variações do tempo de tratamento e da concentração do medicamento. Portanto sugere-se que o mantenedor pesquise sobre os tipos de protocolos e aplique qual for o mais adequado para a espécie em questão (para especificação quanto ao tratamento ver cap 8 de (PESSIER & MENDELSON III 2017; JONES *et al.*, 2012; MORENO *et al.*, 2015). Vale ressaltar que os antifúngicos podem ser tóxicos para certas espécies e também para girinos, portanto recomenda-se que o tratamento seja feito em etapas, utilizando poucos animais por vez e não recomenda-se a realização dos banhos em girinos.

Um importante passo no tratamento desta doença é garantir **cuidados sanitários** adequados como a higiene do recinto e do laboratório. Este fungo é altamente contagioso, de modo que apenas uma gota de água pode contaminar o local. O Bd pode persistir no ambiente por muito tempo, assim, o mantenedor deverá tomar cuidados específicos em relação ao recinto dos animais. Após o tratamento, os indivíduos deverão ser colocados em recintos limpos e desinfetados. É muito importante que todos os dias, durante o tratamento, o responsável lave o recinto do animal e o desinfete com hipoclorito. Sendo assim, recomenda-se que o mantenedor possua, para revezamento, duas caixas, dois potes de

água e duas tocas de PVC para cada indivíduo ou recinto. Enquanto o(s) indivíduo(s) está(ão) em uma das caixas, a outra estará sendo desinfetada e deixada secando para ser utilizada no dia seguinte. Durante o tratamento recomenda-se atenção em relação ao substrato utilizado. O substrato deverá ser descartado diariamente para evitar que o animal se contamine ao entrar em contato com o substrato novamente. Espécies arborícolas e algumas espécies terrícolas não necessitam de substrato durante o tratamento. Porém, para aquelas espécies que utilizam muito o substrato para se enterrar, sugere-se que utilize um pouco de substrato, que deverá ser trocado diariamente, para que o indivíduo fique o menos estressado possível. É importante que o responsável troque de luvas sempre que for manusear indivíduos diferentes para evitar contaminação cruzada.

→ **Doenças causadas por vírus:**

Um dos vírus conhecidos por causar doenças em anfíbios é o **Ranavirus**. Esse vírus pode acometer não só anfíbios mas também répteis e pode afetar o tecido cutâneo e órgãos internos dos animais. Os sinais clínicos mais comuns são letargia, anorexia, edemas, úlceras cutâneas e dificuldade respiratória. O **diagnóstico laboratorial** pode ser realizado através de histopatologia, citologia e de métodos moleculares como qPCR (para mais informações ver {MILLER *et al.*, 2015}). Apesar de grande importância veterinária por ser associado com declínios populacionais de anfíbios ao redor do mundo, pouco ainda se sabe sobre **tratamentos** eficazes. Assim, caso o animal esteja possivelmente contaminado por ranavirus, sugere-se isolar os animais doentes e aplicar cuidados sanitários mais rigorosos, para um controle maior na disseminação e evitar a transmissão da doença para outros indivíduos. Por fim, pode-se aplicar tratamentos com antibióticos para controlar e evitar potenciais infecções secundárias causadas por bactérias oportunistas.

→ **Doenças causadas por bactérias:**

No geral, bactérias fazem parte da microbiota normal dos animais e as doenças bacterianas são normalmente consideradas infecções secundárias, de forma que a bactéria da microbiota normal se torna patogênica ou há a infecção por bactérias patogênicas caso o animal se encontre imunossuprimido. Sendo assim, o diagnóstico de doenças bacterianas também é desafiador. Uma das doenças bacterianas bastante importante para anfíbios é a síndrome das patas vermelhas. Essa síndrome pode ser causada por diversas bactérias como *Aeromonas hydrophila*; bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bordetella*, *Alcaligenes*, e *Serratia*. Outra doença bacteriana de interesse veterinário em anfíbios é a micobacteriose, causada por bactérias do gênero *Mycobacterium*. Assim como outras doenças

bacterianas, a micobacteriose é caracterizada por lesões na pele dos animais e septicemia. O **diagnóstico** de doenças bacterianas pode ser realizado através da coleta de amostras do local de lesão na pele e realização de cultura bacteriana ou sequenciamento molecular. O **tratamento** é a utilização de antibióticos, porém deve-se avaliar com muita cautela a necessidade e o protocolo de tratamento, uma vez que o medicamento terá ação não só sobre a bactéria patogênica, mas poderá alterar toda a comunidade microbiana simbiótica do anfíbio. Por fim, todo o **cuidado sanitário** mencionado nas doenças por fungos e vírus também devem ser tomados caso o animal esteja com alguma doença bacteriana (isolamento, limpeza e desinfecção constante e rigorosos).

→ **Doenças causadas por parasitas:**

Assim como as bactérias, parasitas intestinais fazem parte da microbiota normal dos indivíduos, sendo comum encontrar animais parasitados em natureza. Porém, ao se manter animais em cativeiro, deve-se ter atenção em relação a infecções parasitárias. Isto porque, por estar em um ambiente pequeno, sem troca e renovação constante do substrato, o animal se reinfecta constantemente, aumentando assim a sua carga parasitária. O **diagnóstico** normalmente é realizado através de exame de fezes já o **tratamento** pode ser realizado através da administração de vermífugos, porém, como ainda pouco se sabe sobre o papel e composição da microbiota intestinal, a utilização de vermífugos deve ser avaliada com muita cautela. Antes de entrar com tratamento, é indicado avaliar o contexto geral e a presença de sinais clínicos. Em caso de carga parasitária elevada, associada a sinais clínicos, o responsável deverá pesquisar qual é o melhor vermífugo para determinado tipo de parasita, porém, assim, como no caso de antibióticos, os vermífugos podem alterar toda a microbiota intestinal e causar danos ao equilíbrio fisiológico do animal. Portanto, considerando esses pontos, a higiene constante do recinto é primordial, para evitar que os parasitas presentes no substrato ou no recinto como um todo causem uma hiperinfestação no animal; especialmente aqueles parasitas com ciclos de vida direto, como no caso do nematoda *Rhabdias*.

→ **Doenças nutricionais:**

A alimentação é parte essencial de um bom manejo e equilíbrio fisiológico dos animais cativos (ver tópico 4.5). Por isso, é extremamente importante que o mantenedor pesquise sobre as necessidades nutricionais das espécies que estão sob seus cuidados e alternativas para melhorar a nutrição desses animais, pois uma dieta deficiente pode não só afetar resultados de pesquisa, como também alterar aspectos comportamentais, reprodutivos e fisiológicos dos animais

e causar doenças. Assim, é indicado o controle constante do escore corporal do animal e realização de exames clínicos visuais para verificar qualquer sinal de ocorrência de doenças nutricionais. A doença metabólica do osso pode estar associada à hipocalcemia ou hipovitaminose. Deficiência de cálcio e vitamina D podem causar osteodistrofia fibrosa, fraturas patológicas e malformação vertebral secundária. Há ainda a doença conhecida como “síndrome da língua curta”, uma metaplasia escamosa, causada por deficiência de vitamina A, onde há perda de glândulas mucosas da língua, o que faz com que o animal não consiga pegar os itens alimentares. Assim, sugere-se que o mantenedor tente oferecer dietas variadas, utilize suplementos vitamínicos e forneça iluminação adequada (quando indicado) para que o animal possa sintetizar as vitaminas e nutrientes necessários. Essas recomendações são importantes para manutenções definitivas, mas também sugeridas para manutenções temporárias de mais de 3 meses. Porém, é importante ressaltar que o excesso de vitaminas pode ser igualmente prejudicial.

8.4. Principais patologias em répteis

Répteis são sujeitos a um grande número de doenças infecciosas. O tempo mínimo de quarentena para um réptil deve ser de 90 dias (especificamente para instituições de manutenção permanente). Nesse caso, todos os pacientes devem ser isolados para prevenir a transmissão de potenciais patógenos e assumir que todos carregam doenças, mesmo que clinicamente sadios. Todos os répteis devem sofrer uma triagem de protoparasitológico de fezes quando entrarem na enfermaria. É recomendável a colheita de suabes priorizando o isolamento de *Salmonella* sp, *Mycoplasma* sp. e *Mycobacterium* sp. Testes sorológicos para *Mycoplasma* são particularmente importantes para os testudinídeos e *Paramixovírus* para serpentes e lagartos.

→ Infecções bacterianas:

Existem várias pressões seletivas importantes que afetam o crescimento bacteriano num réptil hospedeiro, incluindo nutrição, temperatura, necessidade de transferência para um novo hospedeiro, competição com outros micróbios e o sistema imunológico do hospedeiro. A manifestação de doença infecciosa pode ser altamente dependente da temperatura nos répteis, bem como a sua resposta ao agente. Diversas bactérias podem causar doenças em répteis, portanto, amostras devem ser coletadas adequadamente para realização de diagnóstico. As amostras podem ser obtidas de secreções, biópsia, sangue e fezes, por exemplo, dependendo do objetivo da investigação. Deve ser assumido

que todos os répteis internados carregam *Salmonella*. Isso automaticamente aumenta as precauções de higiene, devendo-se sempre manusear estes animais utilizando luvas.

Répteis respondem aos processos infecciosos produzindo localmente granulomas heterofilicos iniciais, com células epitelióides, gigantócitos e fibroplasia circunscrita. Desta forma, a apresentação rotineira dos processos infecciosos cursa com a formação de tumorações, ou exsudatos caseosos. Ao clínico, antes do uso indiscriminado de antibióticos, cabe a excisão cirúrgica e asséptica destas lesões, se possível com cápsulas fibrosas, e encaminhar o material para um exame inicial de gram e posterior cultura e antibiograma.

O uso de antibióticos deve limitar-se aos casos em que há indicações específicas de doença bacteriana. Danos à microbiota intestinal pelo uso de antibióticos oferecem oportunidade para espécies invasoras. É comum o uso imediato e preventivo de antibióticos para esses animais, porém seu uso empírico deve ser limitado apenas aos casos em que é provável que um atraso na terapia tenha um impacto negativo significativo na saúde do paciente, e amostras de diagnóstico devem ser coletadas antes do início da terapia. A terapia antibiótica sempre deve ser realizada em conjunto com terapias simultâneas e mudanças no manejo, abordando a capacidade do paciente de combater a infecção. Os níveis de antibióticos sub-terapêuticos podem ter impactos negativos significativos na saúde do paciente e também ter implicações significativas na saúde pública, uma vez que o uso de antibióticos subterapêuticos geralmente aumenta significativamente a resistência a classes totalmente diferentes de antibióticos.

→ **Doenças causadas por vírus:**

Diversos vírus podem afetar répteis, sendo que, para a grande maioria, o diagnóstico normalmente é realizado por exame de PCR. Recomenda-se que sejam feitos exames hematológicos, de fezes, suabes orais e cloacais, lavados gástricos, colônicos e traqueais para citologia, cultura e antibiograma. A histopatologia é mandatária para o diagnóstico viral e deve ser feita sempre que houver morte com obrigatória necrópsia. Através da histopatologia pode-se visualizar inclusões intranucleares (para os DNA vírus) ou intracitoplasmáticas (para os RNA vírus), que devem estar associados às lesões nos órgãos-alvos juntamente com o diagnóstico molecular ou de microscopia eletrônica. Estes procedimentos são rotineiros em instituições de manutenção permanente, porém normalmente não ocorrem em instituições de pesquisa. No entanto, recomendamos que sempre que um animal vier a óbito seja realizada uma necrópsia, assim, o pesquisador poderá saber a causa da morte e realizar mudanças no manejo.

Os principais vírus encontrados em répteis são:

Adenovírus: em quelônios causam doença sistêmica, necrose hepática, enterocolite necrotizante. Nos Squamatas é relativamente comum, causando sinais neurológicos e gastrointestinais, culminando com estomatites, pneumonia e necrose hepática.

Herpesvírus: em quelônios, alguns tipos podem causar problemas respiratórios e outros fibropapilomatose, com lesões dérmicas arborizadas na pele e fibromas internos. Também tem aqueles que causam lesões como estomatite, rinite, glossite e hepatite/necrose hepática. Em lagartos e serpentes foram identificados de lesões orais, de pele, necrose hepática, necrose de células endoteliais. Em crocodilianos, há relatos de herpesvírus em crocodilos de água salgada com sinais clínicos de conjuntivite, faringite, proliferação linfoide sistêmica, encefalite e nódulos na pele.

Iridovírus (ranavirus): os iridovírus, especialmente os ranavirus, acometem várias espécies de Squamata, como agamídeos e iguanídeos, causando lesões orais, lesões dérmicas e necrose hepática. Um tipo de iridovirus pode levar a uma doença de inclusão eritrocitária, com manifestações clínicas de anemia, lesões orais e blefaroespasmos. Em quelônios, os ranavírus acometem principalmente jabutis, causando descarga nasal, conjuntivite, estomatite ulcerativa, hepatite, pneumonia e enterite.

Paramixovírus: foram isolados de muitas diferentes espécies de serpentes (principalmente viperídeos) e lagartos com grave pneumonia e sinais neurológicos centrais, e em jabutis, também com dermatite.

Picornavírus: acometem quelônios causando estomatite, rinite, conjuntivite e vacuolização renal.

Papilomavírus: encontrado em lagartos, causando lesões papilomatosas na pele.

Parvovírus: foram identificados em lagartos e serpentes, com lesões associadas aos adenovírus, com sinais gastrointestinais, neurológicos e respiratórios.

Reovírus: tem sido isolado de várias espécies de Squamata, causando pneumonia, enteropatias, hepatopatia, sinais neurológicos e lesões de pele.

Bornavírus: tem sido isolado de lesões orais e cloacais, sangue, glândulas de veneno e cérebro de viperídeos e pitonídeos com doenças neurológicas.

Sunvírus: têm sido isolados de lesões orais, cloacais, fígado, rins, pulmões e cérebro de pitonídeos com sinais neurológicos e pneumonia.

Arenavírus (reptarenavírus): antigamente conhecido como vírus do corpúsculo de inclusão de boídeos e pitoníneos, causa problemas neurológicos.

Coronavírus: isolado em boídeos e pitonídeos com sintomas de pneumonia, estomatite e faringite.

Poxvírus: acomete crocodilianos dos gêneros *Caiman* e *Crocodylus*, causando lesões de pele branco-acinzentadas papulares.

Flavivírus (Vírus do Nilo do Oeste): foram isolados de *Alligator* e *Crocodylus* com sinais neurológicos (tremores, desorientação, opistótono), estomatite, lesões cutâneas linfocitárias.

No Brasil, o diagnóstico de doenças virais específicas para répteis está concentrado nas universidades em projetos ligados a pós-graduação. No entanto, alguns laboratórios comerciais realizam diagnósticos moleculares para gêneros de vírus como Herpesvírus, Adenovírus e Paramixovírus.

→ **Infecções fúngicas:**

O diagnóstico de doenças fúngicas precisa ser feito com uma compreensão da ecologia microbiana do paciente e incluem técnicas baseadas em cultura e PCR. Quando lesões visíveis estão presentes, a citologia ou a histologia costumam ser importantes. O método mais comum de identificação é a morfológica, porém a taxa de erro é alta, assim é altamente recomendável que os testes de diagnóstico molecular sejam considerados para qualquer doença fúngica grave.

Existe uma falta de disponibilidade de testes imunológicos validados para fungos em répteis, e atualmente os testes disponíveis para doenças fúngicas buscam diretamente o fungo específico. Gêneros comumente isolados em infecções fúngicas de répteis são *Cryptococcus*, *Blastomyces* e *Histoplasma*.

→ **Infecções parasitárias:**

O diagnóstico de parasitas em seus hospedeiros definitivos, onde ovos, oocistos, cistos ou larvas são produzidos, é muito mais fácil do que o diagnóstico de parasitas em hospedeiros intermediários. Muitos desses estágios de diagnóstico do parasita são eliminados nas fezes. A flotação fecal é muito útil para o diagnóstico de coccídios entéricos, assim como muitos nematóides, cestóides (se os ovos foram liberados de proglotídeos) e, às vezes, pentastomídeos (causador de pneumonia grave em serpentes).

O exame microscópico direto das fezes por esfregaço fecal direto em solução salina é a melhor maneira de detectar protozoários entéricos móveis. Os hemoparasitas podem ser detectados com esfregaços de sangue corados

com a mancha de Wright ou Giemsa ou uma combinação. Alguns parasitas sanguíneos são intracelulares e outros são extracelulares. Amostras de sangue adicionais devem ser armazenadas congeladas para identificação molecular.

Os pseudoparasitas são parasitas encontrados durante exames de pacientes ou fezes de um réptil, mas o parasita é realmente de outro hospedeiro. Por exemplo, se répteis são alimentados com ratos, ovos de helmintos podem aparecer em exames fecais que são parasitas dos ratos (presas) e não dos répteis. Os pseudoparasitas são comuns e podem ser facilmente confundidos com os verdadeiros parasitas, uma distinção importante porque os primeiros não requerem tratamento.

Para o diagnóstico de *Cryptosporidium* gástrico (causador de gastrite, emese em serpentes e lagartos), as biópsias gástricas são o padrão-ouro. Para espécies intestinais, a biópsia deve ser do intestino. Se os animais de uma coleção estão morrendo, a necropsia e o exame histopatológico do tecido gástrico e intestinal são úteis na determinação da causa. Os répteis alimentados com ratos podem ter resultados de exames fecais falso-positivos porque os ratos abrigam suas próprias espécies de *Cryptosporidium* e causam problemas para o diagnóstico com base na falta de diferenças morfológicas daquelas parasitas dos répteis.

Quanto ao tratamento, assim como para anfíbios, é recomendável avaliar a necessidade com cautela, uma vez que alguns vermífugos podem ser extremamente tóxicos para alguns répteis e, muitas espécies, especialmente as herbívoras, dependem da microbiota intestinal para o equilíbrio do organismo. Em caso de carga parasitária elevada, associada a sinais clínicos, o responsável deverá pesquisar qual é o melhor vermífugo para determinado tipo de parasita, porém, assim, como no caso de antibióticos, os vermífugos podem alterar toda a microbiota intestinal e causar danos ao animal.

→ **Doenças nutricionais:**

São diversas as doenças causadas por desordens nutricionais, inclusive essas desordens podem ser apenas o início para uma cascata de eventos. Em quelônios, por exemplo, cascos moles pobremente mineralizados são usualmente resultado de hiperparatireoidismo secundário nutricional de deficiências dietéticas de cálcio, excesso de fósforo, ou perda de espectro luminoso (radiação UVB). Em répteis terrestres, essa deficiência leva a doenças ósseo-metabólicas, provocando o aumento de volumes articulares. Fraturas de membros de répteis em cativeiro podem estar relacionadas a traumas, como por exemplo quedas ou contenção inadequada, porém podem ser também devido ao hiperparatireoidismo secundário nutricional ou renal.

Casco piramidal em jabutis historicamente tem sido ligado com excesso de proteína na dieta, embora a causa possa ser multifatorial. A gota úrica visceral é outra desordem que, além da desidratação, também pode ser desenvolvida a partir de uma dieta excessiva em proteína animal para animais herbívoros ou onívoros.

9. Procedimentos veterinários

Coleta de sangue, analgesia, anestesia e eutanásia são práticas comuns, tanto em instituições de pesquisa, quanto de manutenção permanente. O responsável pela execução desses procedimentos deve estar devidamente treinado. A coleta de sangue pode ser utilizada para pesquisa científica, acompanhamento de aspectos fisiológicos dos indivíduos e diagnóstico de algumas doenças. Analgesia e anestesia podem ser necessárias para procedimentos invasivos ou então para procedimentos demorados, uma vez que o animal contido fisicamente por muito tempo pode ficar estressado e ter consequências negativas. Embora a dor nesses animais seja um campo pouco estudado, há algo patente e que deve ser considerado primordial: assumir que tudo o que é doloroso ao ser humano, é doloroso ao animal. Todos os profissionais que manuseiam animais tem a obrigação ética desta premissa. Tratar a dor diminui a morbidade e a mortalidade das enfermidades.

Em alguns casos, para determinados procedimentos com répteis de grande porte e que possuem muita força, a sedação ou a anestesia também podem ser indicadas. Por fim, a eutanásia deverá ser realizada somente se o animal estiver debilitado a ponto de não conseguir se recuperar ou em casos de procedimentos para pesquisa científica devidamente aprovada por CEUA.

A seguir, descreveremos brevemente alguns procedimentos veterinários para anfíbios e répteis, porém recomenda-se fortemente que o responsável pesquise e se capacite sobre o assunto antes de qualquer intervenção. Para eutanásia desses animais, devem ser seguidas as diretrizes constantes em normativa vigente publicada pelo Concea.

9.1. Anfíbios

→ **Coleta de sangue:**

Exames de sangue em anfíbios são muito realizados em pesquisa, porém pouco se sabe sobre diagnósticos de doenças por exames sanguíneos. De qualquer forma, caso seja necessário realizar exames de sangue, aconselha-se que verifique qual é a quantidade máxima permitida de coleta dependendo do tamanho e peso do animal. Como regra geral, até 1% do peso do animal poderá ser coletado de indivíduos saudáveis. Não se recomenda a retirada de sangue de animais com peso inferior a 50g. A utilização de anestésico é recomendada. A veia mais utilizada para coleta de

sangue é a abdominal. Somente médicos veterinários ou pessoas treinadas deverão realizar esse procedimento.

→ **Anestesia:**

Aqui descreveremos brevemente alguns pontos importantes sobre anestesia em anfíbios, no entanto, antes de iniciar qualquer procedimento anestésico, indicamos a leitura do artigo de (MITCHELL 2009) (*Anesthetic Considerations for Amphibians*). De forma geral, a anestesia em anfíbios deve ser feita por um profissional capacitado, utilizando um fármaco que atinja o objetivo da forma mais segura possível para o animal, sendo indicado nesse tópico o fármaco de predileção. A anestesia poderá ser realizada colocando o animal em um pote plástico contendo solução de tricafina metanosulfato (MS-222) na concentração de 2 g/L em água. O animal deve permanecer nessa solução até que a anestesia seja alcançada, o que normalmente demora cerca de 8 a 12 minutos. Para a preparação da solução anestésica, algumas medidas devem ser tomadas, como por exemplo, a água utilizada deverá ser de alta qualidade, sem cloro, amônia e nitrito e com pH neutro. Se o animal for aquático, a água do próprio recinto poderá ser utilizada. Em outros casos, água de torneira desclorada ou solução Ringer para anfíbios podem compor a solução anestésica. Além da qualidade da água, a oxigenação da mesma também é uma medida importante. Neste caso deve-se arejar a água utilizando bombas de ar de aquário. Por fim, deve-se manter uma temperatura adequada durante a anestesia, de preferência semelhante à faixa preferida da espécie. A indução anestésica pode ser verificada a partir do relaxamento muscular, falta de resposta a estímulos de dor, perda de reflexos e diminuição na frequência respiratória. Após a anestesia, o indivíduo deve ser lavado com água e deixado em um recinto com temperatura e umidade controladas para total recuperação.

9.2. Répteis

→ **Coleta de sangue:**

Deve ser realizada por pessoas capacitadas. Em jabutis, as veias mais utilizadas para venipunção são jugular, coccígeo, braquial e seio subcarapacial. A veia coccígea dorsal é provavelmente a mais comumente usada das veias caudais. A coleta de sangue também pode ser realizada a partir do sítio subcarapacial. Em tartarugas marinhas, o seio dorsal cervical é frequentemente utilizado. Em tartarugas de água doce, o seio pós-occipital pode também ser acessado imediatamente caudal ao crânio. Uma variedade de outros sítios de venipunção tem sido discutidos incluindo

veias braquial, femural e interdigital. Em serpentes e lagartos, a venipunção pode ser realizada na veia caudal, ventral e centralmente pouco abaixo da cloaca. Em machos, deve-se considerar o distanciamento suficiente para não atingir o hemipênis. A cardiocentese é relativamente fácil de ser realizada e ela pode ser alcançada com uma agulha inserida diretamente ao coração. Porém, essa é uma prática que deve ser desestimulada pelo risco de contaminação pericárdica, hemopericárdio com tamponamento cardíaco, risco de miocardite ou endocardite, além de evidente arritmia. Para as serpentes da família Boidae e Pythonidae, o sítio paravertebral também pode ser acessado com o auxílio de um ou mais manipuladores. Em crocodilianos é recomendável a coleta de sangue da artéria caudal, introduzindo a agulha entre as escamas, na região lateral ou ventral da cauda.

→ **Analgesia:**

Para avaliar a dor e analgesia em répteis, parâmetros comportamentais e fisiológicos devem ser empregados. A formulação de um etograma espécie-específico requer muitas horas ou talvez dias de observação ou filmagem para avaliar as sutis diferenças comportamentais para o desenvolvimento de uma escala analógica de dor. As alterações fisiológicas paramétricas podem ser usadas para avaliar se o paciente está sentindo estresse (liberação de catecolaminas) devido a dor. No entanto, a maioria dos dados são escassos e alguns fármacos que funcionam bem em uma espécie, funcionam pobremente em outras.

O conhecimento de vias de absorção, distribuição e eliminação para a classe reptilia é muito importante para a terapêutica com analgésicos. Alguns medicamentos quando aplicados nos membros posteriores, são drenados e seguem imediatamente para o fígado (através da veia porta hepática) e sofrerão metabolização de primeira passagem, desta forma, os metabólitos do fármaco estarão presentes em maior quantidade que o princípio ativo. Não se deve jamais utilizar a cauda para a aplicação, pois o sangue das veias da cauda e crurais seguem para a veia porta-renal. A administração oral de analgésicos não é utilizada em répteis, por causa do lento tempo de trânsito gastrointestinal retardando o início da absorção, o pico de eficácia e a depuração. Uma exceção a isso é o uso oral (possivelmente na sonda de esofagostomia) de tramadol.

Analgésicos testados em répteis com bons resultados são: tramadol, morfina, petidina, fentanil (adesivos transdérmicos e medicamentos injetáveis) e tapendatol. Já o butorfanol, que outrora fora definido como analgésico de eleição para répteis em livros textos clínicos, mostrou-se ineficaz como analgésico em experimentos com quelônios, lagartos e serpentes. Tramadol é uma alternativa analgésica promissora aos opióides tradicionais em répteis. O bu-

torfanol e a morfina causam depressão respiratória profunda em tartarugas, enquanto que a depressão respiratória é menor com tramadol. Por isso, a monitoração da respiração dos pacientes que recebem estes opióides é imperativa. Até o momento não existem dados publicados demonstrando eficácia analgésica associada à administração de drogas anestésicas, como cetamina, dexmedetomidina, medetomidina, midazolam ou propofol em répteis. O uso destes fármacos é extremamente exitoso como medicação pré-anestésica, neuroleptanalgesia, sedação e indução pré-anestésica. Anti-inflamatórios também podem atuar como analgésicos, tais como carprofeno e o meloxicam.

Alguns anestésicos locais podem ser utilizados, como lidocaína 2% e bupivacaína. Qualquer bloqueio local diminuirá significativamente a quantidade necessária de outros agentes anestésicos, bloqueando a cascata inicial da dor no nível periférico. Para todos os anestésicos locais, a transmissão da dor é bloqueada enquanto durar o bloqueio do nervo anestésico local, mas a inflamação e a dor ainda desenvolver-se-ão no local da lesão (inflamação pela cirurgia, por exemplo) e serão transmitidas ao sistema nervoso central após a cessação do efeito do bloqueio. Por isso, a abordagem na analgesia cirúrgica deve ser balanceada e multimodal. As abordagens multimodais são as melhores para o controle da dor, utilizando opióides para o sistema nervoso central e periférico anti-inflamatórios nos tecidos periféricos.

→ **Anestesia:**

Excetuando as situações emergenciais, um réptil deve ser submetido a anestesia preferencialmente normohidratado e isso deve fazer parte da conduta e preparação metabólica deste paciente. Desta forma, animais que serão submetidos a anestesia necessitam de uma adequada avaliação pré-anestésica básica, como hematologia, com especial cuidado na avaliação do eritrograma, proteinograma, bioquímica sérica. Um perfil básico de bioquímica sérica deveria incluir aspartato aminotransferase, ácido úrico, glicemia, potássio e sódio e uréia, para determinação da osmolaridade, no mínimo, para suprir o paciente. Exames de imagens podem auxiliar na avaliação de qualquer anormalidade morfológica no coração/pericárdio, e avaliação pulmonar. Neste sentido, um exame de ultrassonografia é útil, com foco especial no coração, para avaliar o movimento cinético das trabéculas, verificar a quantidade de líquido pericárdico, se o órgão não está tamponado ou se há alguma massa no miocárdio ou nas cavitações.

Aqui não se trata de estabelecer protocolos para a condução de procedimentos anestésicos, mas sim de criar alertas para mitigar erros ou riscos anestésicos desnecessários. O melhor protocolo anestésico para o paciente é aquele que o paciente precisa, de acordo com o procedimento a ser feito; não há razão para se fazer um bloqueio de plexo sob anestesia inalatória geral para se cortar uma unha ou se colher um sangue do paciente; tampouco jamais se pode

pensar numa cirurgia cavitária ou ortopédica no paciente réptil utilizando anestesia dissociativa (que jamais auferirá analgesia visceral).

O médico veterinário deverá utilizar uma medicação pré-anestésica, que poderá incluir dissociativos como ti-letamina, cetamina, benzodiazepínicos como midazolam (adrenolítico e miorelaxante de ação central), diazepam ou zolazepam, agonistas adrenérgicos α_2 como dexmedetomidina. Também pode-se usar opióides preemptivamente, porém sempre lembrando que estes causam depressão respiratória. Como fármacos indutores que irão promover hipnose, o propofol. Para a manutenção do plano anestésico geral, anestesia inalatória com isoflurano ou sevoflurano. Procedimentos nos membros ou sistema urogenital baixo, anestesia espinal com anestésicos locais e/ou morfina sem conservantes, ou bloqueios guiados por localizador de nervos periféricos.

Répteis submetidos à anestesia geral, seja ela de que modalidade for (inalatória, intravenosa parcial ou intravenosa total) diminuem sensivelmente a respiração. Desta forma, é imperiosa a ventilação assistida ou mesmo controlada do paciente, sob risco de hipercapnia. Durante o procedimento anestésico, a temperatura deve ser constante, mas hipertermia aumentará sensivelmente a pressão parcial de gás carbônico no sangue do réptil e conseqüente acidose severa. A ventilação, com o animal intubado, é uma premissa, mas deve ser feita com extrema gentileza, ou com ventiladores ajustados. A ventilação pode ser realizada com oxigênio ou ar comprimido medicinal, mas o clínico deve estar ciente que a elevada fração inspirada de oxigênio vai suprimir o ímpeto do paciente respirar voluntariamente. Recomenda-se, após a sutura, retirar o paciente do oxigênio e mantê-lo a uma fração inspirada de oxigênio de 21% (ar ambiente) mantendo sua ventilação.

Pacientes anestesiados com anestesia geral devem ser sistematicamente monitorados com, no mínimo, um monitor multiparamétrico contendo eletrocardiografia, temperatura, oximetria de pulso e pressão não invasiva. O médico veterinário deve fazer a vaporização do halogenado com um vaporizador calibrado, para a segurança do paciente. Recomenda-se também a monitoração da oximetria de pulso com um transdutor por transfectância com curva pletismográfica, para se colocar em repouso na mucosa oral ou cloacal do réptil. Doppler vascular auxilia na avaliação de pulsos carotídeos de répteis anestesiados. O clínico deve ter em mente que répteis anestesiados podem fazer shunt intracardíaco direito-esquerdo, recirculando sangue na grande circulação, mantendo o anestésico por mais tempo circulante e demorando o retorno.

Pacientes só devem ser extubados após movimentação voluntária muscular de membros e respiração voluntária. No retorno anestésico, já com fração inspirada de oxigênio de 21%, a ventilação assistida deve ser intercalada

da monitoração dos primeiros movimentos respiratórios voluntários. Imperativo que o médico veterinário atente que o sentido da anestesia e de perda de reflexos protetores é rostro-caudal e o retorno dos reflexos é caudo-cranial. Animais que apresentem reflexo palpebral estão em plano superficial, o ideal é que répteis percam o reflexo corneal, o tônus muscular da língua, mas não percam o reflexo cloacal (ele pode estar diminuído, mas não perdido). A respiração estará em apnéia, a frequência cardíaca começa a diminuir, o pulso é forte e certamente o animal tem hipotensão. Se o animal estiver bem monitorado, ao se fazer um estímulo doloroso, a frequência cardíaca aumenta, e a pressão também. O animal nesta fase tem tônus muscular relaxado.

Para procedimentos rápidos, pouco cruentos, devemos minimizar o tempo de permanência do animal anestesiado. A regra é clara: se o clínico utilizou fármacos que deprimem a ventilação do paciente, como opióides ou propofol (que causa apnéia), esse paciente deverá ter sua ventilação assistida, com sistema de anestesia avalvular, aberto. Caso o médico veterinário utilize modalidades de anestesia local associada, isso favorecerá a diminuição do requerimento anestésico. Ademais, para procedimentos álgicos ou para pesquisa de campo com répteis (exames radiográficos ou de imagem, colheita de material biológico, pesquisa epidemiológica de populações, etc.), recomenda-se protocolos com dissociativos, dissociativos com benzodiazepínicos, dissociativos com agonistas α_2 adrenérgicos em baixa dosagem e, preferencialmente, nestes casos, protocolos anestésicos reversíveis, como o uso de Flumazenil para reversão dos benzodiazepínicos, atipamezole ou mesmo ioimbina para reversão dos efeitos dos agonistas α_2 adrenérgicos e naloxona para reversão dos efeitos de opióides como o butorfanol.

Excetuando-se a anestesia de serpentes peçonhentas, que pode ser feita adaptando-se a saída de gases frescos e anestésicos ao tubo de contenção, jamais deve ser feita a indução de anestesia geral com anestésicos inalatórios na máscara, pois muitos répteis fazem apnéia e dificilmente entrarão em plano, poluindo o ambiente cirúrgico com halogenado. A sequência da medicação pré-anestésica, indução e manutenção é a mais adequada.

10. Destinação dos animais após utilização

Uma importante etapa na manutenção de animais em cativeiro é a destinação adequada dos animais após seu uso. A utilização de animais para pesquisa, na maioria das vezes, é provisória, e a destinação correta dos animais ao final da pesquisa é de extrema importância. Já a utilização de animais para fins educacionais ou para conservação é, normalmente, uma manutenção permanente que não necessita a destinação do animal. No caso da manutenção para conservação há a possibilidade de ser provisória, caso o objetivo seja uma reintrodução. Sendo assim, caso haja a necessidade de destinação, o doador deverá seguir as regras que serão explicadas adiante.

Existem diversos tipos de destinação, a qual deve ter prévia aprovação do CEUA local e do SISBIO, e a escolha correta dependerá do tempo no qual os animais foram mantidos em cativeiro e das condições sanitárias e de biossegurança nas quais os animais foram mantidos. As destinações, seguindo a ordem que devem ser consideradas e estar previstas na licença de coleta, são:

1) Doação de animais vivos para instituições de manutenção permanente (por exemplo: zoológicos, aquários, criadouros, centros de conservação, etc.): Neste caso deve-se entrar em contato com a instituição escolhida e explicar que há disponibilidade de doação de determinado número de indivíduos de determinada espécie. Além disso, deve-se explicar qual o tipo de experimento no qual o animal foi utilizado e quais os possíveis efeitos da pesquisa a longo prazo nos animais. Sugere-se que ambas as partes assinem um documento oficial de doação;

2) Doação de animais vivos para outras pesquisas: É muito comum que pesquisas distintas utilizem a mesma espécie animal e, muitas vezes, há a possibilidade de o animal poder ser utilizado em mais de um experimento. Sendo assim, sugere-se que o doador entre em contato com colegas pesquisadores e grupos de pesquisa sobre a disponibilidade de animais para doação para pesquisa (lembrando que a doação de répteis e anfíbios para manutenção como *pet*, no Brasil, é proibida). Assim poderão ser evitadas coletas desnecessárias de animais na natureza. Neste caso, o doador também deverá expor qual o tipo de experimento foi utilizado e quais os possíveis efeitos da pesquisa a longo prazo nos animais. Também é importante que ambas as partes assinem um documento oficial de doação;

3) Eutanásia e destinação da carcaça para depósito em coleções de museus: Apesar da importância de informações geradas a partir de animais depositados em coleções, muitas vezes esse tipo de destinação é realizado sem necessidade, enquanto que outra destinação poderia ser mais adequada. Por isso sugerimos que antes deste tipo de destinação, tente as duas destinações anteriores. No caso de depósito em coleções de museu também há a necessidade de o doador entrar em contato com o representante da coleção escolhida para encaminhar as carcaças. O doador deverá perguntar ao adotante qual é o procedimento de eutanásia e de armazenamento que o curador sugere para depósito em sua coleção. Neste caso também se sugere que ambas as partes tenham um documento oficial de doação.

4) Eutanásia e descarte da carcaça: a eutanásia com descarte dos animais deverá ser considerada somente se nenhuma alternativa de destinação anterior tenha sucesso ou caso o animal apresente alguma enfermidade e não seja possível ser depositado em coleções. Neste caso, deve-se realizar a eutanásia de forma que não cause sofrimento para o animal e a carcaça deverá ser descartada em lixo infectante, seguindo as regras da sua instituição;

5) Soltura de animais de pesquisa: a soltura de animais após realização de pesquisas é mais comum do que deveria, porém é uma prática que deve ser utilizada somente em casos específicos e caso nenhuma destinação anterior foi possível, pois é extremamente danosa não só para o animal, como também para o meio ambiente. Animais mantidos em cativeiro por um longo período de tempo tendem a se ajustar às condições do ambiente artificial e, ao serem soltos, podem não sobreviver novamente na natureza. Além disso, o mais importante em relação à soltura é a transmissão de patógenos do laboratório para o ambiente. Normalmente em um biotério de pesquisa há diversas espécies animais, de diferentes localizações, sendo mantidas ao mesmo tempo, para diferentes pesquisas. Sendo assim, o risco de transmissão de patógenos entre espécies é alto. Conseqüentemente, se uma soltura for realizada, há um risco potencial real de transferir microrganismos não nativos (e potenciais patógenos) para a localização de soltura. Portanto, a soltura de animais de pesquisa não é adequada e outras estratégias de destinação deverão ser priorizadas. No entanto, caso necessário, a soltura de animais de pesquisa só poderá ser realizada caso a manutenção em cativeiro tenha sido realizada por um curto período de tempo (máximo 1 mês em cativeiro) e caso o animal não tenha sido utilizado em experimentos com substâncias químicas ou outras substâncias que podem alterar a fisiologia do animal. Além disso, medidas sanitárias e de biossegurança deverão ser seguidas durante a manutenção desses animais (ver tópico 11).

Por fim, os animais deverão ser soltos no mesmo local onde foram coletados;

6) Reintrodução: alguns projetos de conservação têm como objetivo final a reintrodução de indivíduos na natureza. Neste caso, a manutenção desses animais deverá seguir medidas sanitárias e de biossegurança adequadas (ver tópico 11). Caso os animais que serão reintroduzidos tenham nascidos em cativeiro, sugere-se que os mesmos sejam soltos ainda em estágio juvenil, para que os indivíduos não se ajustem ao cativeiro e tenham maiores chances de sobrevivência na natureza. Por fim, a soltura deverá ser realizada em local de ocorrência da espécie e deverá ser feito monitoramento dos indivíduos após a soltura;

7) Soltura de animais apreendidos e de resgate: neste caso, deve-se seguir as diretrizes e procedimentos da Instrução Normativa ICMBio nº 23/2014.

8) Translocação: a translocação tem como objetivo a captura de animais de uma determinada área para posterior soltura em outra área, desde que seja condizente com a distribuição geográfica da espécie. Caso a translocação seja imediata, deve-se seguir protocolos de uso de EPI's para evitar causar qualquer dano ao animal. Também deve-se atentar ao fato de que patógenos de um determinado local podem não ocorrer em outro, sendo assim, uma avaliação prévia sobre potenciais patógenos presentes tanto no local de captura, quanto no local de destino devem ser realizadas. Ademais, uma avaliação das condições físicas do animal que será translocado deverá ser realizada. Caso não seja possível a translocação imediata, o animal deverá ser transportado para um laboratório e medidas como as mencionadas no item de “reintrodução” deverão ser seguidas.

11. Manejo sanitário e biossegurança

Ações de biossegurança e manejo sanitário são o conjunto de precauções tomadas para minimizar o risco de introdução de agentes patogênicos em uma população animal, humana ou na natureza. Sendo assim, desde a coleta dos animais até a destinação final, o responsável deve se conscientizar que cabe a ele tomar todas as medidas razoáveis e práticas para evitar ou minimizar o risco de patógenos entrarem, emergirem, estabelecerem ou se espalharem, tanto na própria instituição, quanto no ambiente natural, prezando também pela segurança do próprio técnico e dos animais sob seus cuidados. Com isso, nesse tópico serão fornecidas recomendações que visam subsidiar tais medidas que podem ser seguidas tanto para manutenção temporária de animais quanto na permanente.

Em todas as atividades com os animais, a utilização de luvas descartáveis é obrigatória, e é recomendada a troca das mesmas ao manipular diferentes animais. O uso de avental ou uma roupa específica para o cuidado dos animais também é recomendável.

É importante que todos os materiais que terão ou tiveram contato com animais sejam higienizados e desinfetados com alvejante doméstico (hipoclorito de sódio de 3 a 6%) a uma diluição de 10% ou 200mg/L, por 15 minutos. Além disso, existe uma variedade de desinfetantes que podem matar ou reduzir a virulência de agentes infecciosos, tais como amônia quaternária, álcool 70%, clorexidina e Virkon[®], os quais devem ser selecionados de acordo com o propósito. Muitos desinfetantes não são eficazes na presença de material orgânico e a limpeza mecânica com detergentes é recomendada antes da aplicação de desinfetantes. Após a desinfecção, todos os materiais devem ser enxaguados com água limpa para remover todo o resíduo químico e aguardar a evaporação e eliminação de qualquer odor antes de serem utilizados com os animais.

Assim como discutido anteriormente, os recintos devem ser à prova de fugas e as portas do laboratório devem ficar sempre fechadas, para evitar introdução de animais em locais que não são de origem. Não é permitido se alimentar dentro da sala de manutenção dos animais. No caso de experimentação, deve-se evitar realizar procedimentos na mesma sala de manutenção dos animais.

Durante a manutenção dos animais, deve-se verificar as condições de limpeza dos recintos e deve-se realizar uma higienização adequada. Todos os dias deve-se verificar a qualidade da água de consumo dos animais e, se necessário, trocá-la por água limpa. Também deve-se limpar as fezes diariamente ou quando necessário e lavar os recintos

com frequência, utilizando desinfetantes sempre que houver necessidade. Em laboratórios ou instituições que possuem mais de uma espécie animal, é importante fazer uma distinção de equipamentos de uso para cada espécie (por exemplo: esponjas, pinças, potes, etc.) para evitar contaminação cruzada.

Todo o descarte de resíduo sólido proveniente de biotérios, laboratórios, criadouros, etc., deverá ser acondicionado em lixo branco infectante e descartado conforme regras de sua instituição. Em locais que não tenham tratamento de esgoto, é recomendável que a água utilizada para lavar materiais, recintos e a água de consumo dos animais (quando trocada), sejam previamente desinfetadas antes do descarte para evitar transporte de patógeno pela água para o meio ambiente. Essa desinfecção poderá ser realizada deixando a água de descarte, por 15 minutos, em um compartimento com alvejante doméstico (hipoclorito de sódio de 3 a 6% a uma diluição de 10% ou ou 200mg/L) antes de descartar essa água no sistema de esgoto.

No caso de instituições de manejo permanentes e com um grande número de espécies em seu plantel, deve-se realizar uma quarentena com os animais recém-chegados para evitar a entrada de novos patógenos no plantel. Nessa quarentena deve-se realizar exames veterinários para as principais doenças que acometem a espécie em questão, cabendo destacar a quitridiomicose para anfíbios, e os animais deverão ficar isolados por um período mínimo de 60 dias (LYNCH 2000). Para animais que não utilizem frequentemente o substrato, como serpentes, anfíbios e lagartos arborícolas, pode-se utilizar papel toalha, jornal ou papelão como substrato, para facilitar a limpeza durante a quarentena.

No caso de manejo para reintrodução, os animais deverão ser mantidos em quarentena permanente, desde a chegada até a saída do animal (para mais informações sobre biossegurança na manutenção de anfíbios ver (PESSIER & MENDELSON III 2017 e PRAMUK & GAGLIARDO 2012). Já em relação a pesquisas, sabemos que o tempo no qual o animal permanece em cativeiro é crucial para o andamento da pesquisa, não sendo possível realizar quarentenas. Sendo assim, o cuidado com o manejo sanitário e as medidas de prevenção de transmissão de patógenos deverão ser redobrados.

No caso de quarentenas, deve-se utilizar diferentes calçados para entrar na quarentena ou utilizar um pedilúvio com desinfetante no qual o mantenedor deverá pisar antes de entrar no local na quarentena. É importante a utilização de um tapete que deve ficar submerso no pedilúvio, para a remoção de sujeiras na sola do calçado, além da desinfecção. Deve-se atentar que esses compartimentos ficam sujos com frequência, portanto é importante renovar o desinfetante constantemente, caso contrário, poderá não ter efeito na desinfecção do calçado.

Medidas básicas de manejo sanitário e biossegurança em quarentenas e instituições de pesquisa:

- Desinfecção de calçados em pedilúvio ao entrar e sair da quarentena ou utilização de sapatos específicos dentro da quarentena;
- Higienização das mãos e antebraços na entrada da quarentena;
- Utilização de avental ou roupas específicas;
- Uso de luvas descartáveis durante qualquer procedimento dentro da quarentena e troca das mesmas entre o manejo de cada recinto;
- Desinfecção de todo material que entra ou sai da quarentena;
- Manutenção da limpeza e desinfecção da quarentena, principalmente chão e superfícies;
- Higienização e desinfecção de materiais utilizados no manejo dos animais;
- Utilização de materiais individuais para cada espécie e/ou indivíduo;
- Higienização, limpeza e desinfecção dos recintos;
- Desinfecção e descarte apropriado de resíduos sólidos e líquidos;
- Descarte apropriado de materiais perfuro-cortantes;
- Não encostar em superfícies ou partes do corpo, com as luvas, durante o manejo dos animais;
- Monitoramento diário ou a cada dois dias de todos os indivíduos;
- Realização de exames para verificar presença de agentes patogênicos;
- Tratamento de animais doentes ou infectados.

12. Referências bibliográficas

- ALWORTH, L.C.; HARVEY, S.B. IACUC Issues Associated with Amphibian Research. **ILAR Journal**, v. 48, n. 3, p. 278-289, 01 July 2007.
- ANTWIS, R.E.; PURCELL, R.; WALKER, S.L.; FIDGETT, A.L.; PREZIOSI, R.F. Effects of visible implanted elastomer marking on physiological traits of frogs. **Conserv Physiol**, v. 2, n.1, cou042, 2014 Oct. 3. Doi:10.1093/conphys/cou042.
- BAINES, F.; CHAELL, J.; DALE, J.; GARRICK, D.; GILL, I.; GOETZ, M.; SKELTON, T.; SWATMAN, M. How much UV-B does my reptile need? The UV-Tool, a guide to the selection of UV lighting for reptiles and amphibians in captivity. **Journal of Zoo and Aquarium Research**, v. 4. n.1, p. 42-63, 2016.
- BENN, A.L.; MCLELLAND, D.J.; WHITTAKER, A.L. A Review of Welfare Assessment Methods in Reptiles, and Preliminary Application of the Welfare Quality Protocol to the Pygmy Blue-Tongue Skink, *Tiliqua adelaidensis*, Using Animal-Based Measures. **Animals**, v. 9, n. 27, p.1-22, 17 Jan 2019. Doi: 10.3390/ani9010027.
- BRASIL. 2015. Lei nº 13.123 de 20 de maio de 2015. **Regulamenta o inciso II do § 1º e o § 4º do art. 225 da Constituição Federal, o Artigo 1, a alínea j do Artigo 8, a alínea c do Artigo 10, o Artigo 15 e os §§ 3º e 4º do Artigo 16 da Convenção sobre Diversidade Biológica, promulgada pelo Decreto nº 2.519, de 16 de março de 1998; dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade**; revoga a Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001; e dá outras providências.
- BRASIL. Resolução Normativa do Concea nº 50, de 13 de maio de 2021. **Dispõe sobre os critérios e procedimentos para emissão, extensão, revisão, suspensão, reativação, renovação e cancelamento do Credenciamento Institucional para Atividades com Animais em Ensino ou Pesquisa - CIAEP das instituições que produzem, mantém ou utilizam animais em atividades de ensino ou pesquisa científica, a vinculação dos centros públicos ou privados que utilizam animais em atividades de ensino a instituições credenciadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimental Animal – Concea**. Diário Oficial da União de 19/05/2021, Edição: 93, Seção 1, p. 143.
- BRASIL. Lei Complementar nº 140, de 8 de dezembro de 2011. **Fixa normas, nos termos dos incisos III, VI e VII do caput e do parágrafo único do art. 23 da Constituição Federal, para a cooperação entre a União, os Estados, o Distrito Federal e os Municípios nas ações administrativas decorrentes do exercício da competência comum relativas à proteção das paisagens naturais notáveis, à proteção do meio ambiente, ao combate à poluição em qualquer de suas formas e à preservação das florestas, da fauna e da flora**; e altera a Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 de dezembro de 2011.
- BRASIL. Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008. **Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais**; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 de outubro de 2018.
- BRASIL. Resolução Normativa nº 37, de 15 de fevereiro de 2018. **Baixa a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – Concea**.
- BURGHARDT, G.M. Environmental Enrichment and Cognitive Complexity in Reptiles and Amphibians: Concepts, Review and Implications for Captive Populations. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 147, p. 286-298, Aug. 2013.
- CONSELHO FEDERAL DE BIOLOGIA. Resolução do Conselho Federal de Biologia nº 301, de 08 de dezembro de 2012. **Dispõe sobre os procedimentos de captura, contenção, marcação, soltura e coleta de animais vertebrados *in situ* e *ex situ*, e dá outras providências**.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução CFMV nº 100, de 11 de maio de 2012. **Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências**.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE [CONAMA. 2018 (a)]. Resolução nº 487, de 15 de maio de 2018. **Define os padrões de marcação de animais da fauna silvestre, suas partes ou produtos, em razão de uso e manejo em cativeiro de qualquer tipo**. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=736>. Acesso em: 03/05/2020.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE [CONAMA. 2018 (b)]. Resolução nº 489, de 26 de outubro de 2018. **Define as categorias de atividades ou empreendimentos e estabelece critérios gerais para a autorização de uso e manejo, em cativeiro, da fauna silvestre e da fauna exótica**. Diário Oficial da União de 29/10/2018. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/47542644/do1-2018-10-29-resolucao-n-489-de-26-de-outubro-de-2018-47542603. Acesso em: 03/05/2020.
- DAWSON, W. R. On the physiological significance of the preferred body temperatures of reptiles. In **"Perspectives of Biophysical Ecology"**. (D. M. Gates and R. Schmerl, eds). Springer-Verlag, New York, p. 443-473, 1975.
- DICKENS, M.J.; ROMERO, L.M. A consensus endocrine profile for chronically stressed wild animals does not exist. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 191, p. 177-189, 2013 Sep. 15. Doi: 10.1016/j.ygcen.2013.06.014.
- DIVERS, S.J. E STAHL, S.J. (eds.). **Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery**. 3ªed. Elsevier Health Sciences. 2018. 1537 p.
- DONOGHUE, S.; MCKEOWN, S. Nutrition of Captive Reptiles. **The Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 2, n.1, p. 69-91, 1999.
- FROST, D.R. 2020. **Amphibian Species of the World**: an Online Reference. Version 6.1. American Museum of Natural History, New York, USA. [Doi.org/10.5531/db.vz.0001](https://doi.org/10.5531/db.vz.0001). Disponível em: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. Acesso em: 20

de abril de 2020.

- FUNK, R. S. Lizard Reproductive Medicine and Surgery. *Vet Clin Exot Anim*. 5: 579–613.
- Hellmuth, H.; Augustine, L.; Watkins, B. e Hope, K. 2012. Using Operant Conditioning and Desensitization to Facilitate Veterinary Care with Captive Reptiles. *Vet Clin Exot Anim*. 15: 425-443, 2002.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa IBAMA nº 07, de 30 de abril de 2015. **Institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro, e define, no âmbito do IBAMA, os procedimentos autorizativos para as categorias estabelecidas**. Diário Oficial da União de 11/05/2015, S. 1, p. 75.
- INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Instrução Normativa do ICMBio nº 3, de 1º de setembro de 2014. **Fixa normas para a utilização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBio [...]**. Diário Oficial da União nº 168 de 2/9/2014, S. 1, p. 60.
- INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Instrução Normativa do ICMBio nº 23, de 31 de dezembro de 2014. **Define procedimentos para a destinação de animais silvestres apreendidos [...]**. Diário Oficial da União de 2 de janeiro de 2015, S. 1, p. 115.
- JARED, G.A.C.S., GREGO, K.F.; ANTONIAZZI, M.M.; SANT’ANNA, S.S.; SANTOS, S.M.A.; MATTARAIA, V.G.M. **Anfíbios**. In: MATTARAIA, V.G.M. Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica: fascículo 6: anfíbios e serpentes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica. 1 ed. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2015. p. 40-52.- JONES, M.E.B.; PADDOCK, D.; BENDER, L.; ALLEN, J.L.; SCHRENZEL, M.D.; PESSIER, A.P. Treatment of chytridiomycosis with reduced-dose itraconazole. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 99, n.3, p. 243-249, 2012 Jul. 25.
- KNOTEK, Z.; CERMAKOVA, E. E OLIVERI, M. Reproductive Medicine in Lizards. **Vet Clin Exot Anim**, v.20, p. 411–438, 2017.
- LAMBERTINI, C., RODRIGUEZ, D., BRITO, F.B., SILVA-LEITE, D. E TOLEDO, L.F. Diagnóstico do fungo quitrídio: *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Herpetologia Brasileira**, v. 2, n.1, p. 12-17, 2013.
- LOTT, M.J.; MOORE, R.L.; MILIC, N.L.; POWER, M.; SHILTON, C.M. E ISBERG, S.R. Dermatological conditions of farmed Crocodylians: A review of pathogenic agents and their proposed impact on skin quality. **Veterinary Microbiology**, v. 225, p. 89-100, 2018.
- LOUDON A. H. *et al.* Microbial community dynamics and effect of environmental microbial reservoirs on red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*). **The ISME Journal**, v. 8, p. 830 – 840, 2014.
- LYNCH M. Amphibian quarantine protocols: Melbourne Zoo. Attachment 6. In: **Speare R and Steering Committee of Getting the Jump on Amphibian Disease**. Developing management strategies to control amphibian diseases: Decreasing the risks due to communicable diseases. School of Public Health and Tropical Medicine, James Cook University: Townsville. 2001, p. 157-161.
- MICHAELS, C.J.; DOWNIE, J.R.; CAMPBELL-PALMER, R. The importance of enrichment for advancing amphibian welfare and conservation goals: A review of a neglected topic. **Amphibian & Reptile Conservation**, v. 8, n. 1, p. 7–23, 2014.
- MILLER D.L.; PESSIER A.P.; HICK P.; Whittington, R.J. Comparative Pathology of Ranaviruses and Diagnostic Techniques. In: GRAY M. J., CHINCHAR, V. G. (eds) **Ranaviruses**. Lethal Pathogens of Ectothermic Vertebrates. Springer, Cham. 2015, p. 171-208.
- MITCHELL, M. Anesthetic Considerations for Amphibians. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 18, n. 1, p. 40–49, 2009.
- MORENO, L.F., MORÃO, P. E TOLEDO, L.F. Tratamento de anfíbios infectados pelo fungo quitrídio do gênero *Batrachochytrium*. **Herpetologia Brasileira**, v. 4, n. 2, p. 30-34, 2015.
- NARAYAN EJ, COCKREM JF, HERO JM. Urinary corticosterone metabolite responses to capture and handling in two closely related species of free-living Fijian frogs. **General and Comparative Endocrinology**, v. 173, n.2, p. 371-377, 2012.
- NEVAREZ, J. Crocodylian Differential Diagnosis. In: MADER, D.R. (ed.). **Reptile Medicine and Surgery**. 3. ed. Saunders-Elsevier, St. Louis. 2006, p. 705–714.
- ORSINI, H.; BONDAN, E.F. Fisiopatologia do estresse em animais selvagens em cativeiro e suas implicações no comportamento e bem-estar animal – revisão da literatura. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v. 24, v.1, p. 7-13, 2006.
- PESSIER, A.P. AND J.R. MENDELSON III (eds.). **A Manual for Control of Infectious Diseases in Amphibian Survival Assurance Colonies and Reintroduction Programs**, Ver. 2.0. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group: Apple Valley, MN. 2017.
- POUGH, F.H. **Recommendations for the Care of Amphibians and Reptiles in Academic Institutions**. ILAR News. V. 33, n.4, p. S5-2, Jan. 1991. 57 p.
- PRAMUK, J.B.; GAGLIARDO, R. General Amphibian Husbandry. In: POOLE, V.A.; GROW, S. (eds.). **Amphibian Husbandry Resource Guide**, Edition 2.0. Association of Zoos and Aquariums, Silver Spring, MD. 4 Apr. 2012. 238 p.
- SILVESTRE, A. M. How to assess stress in reptiles. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 23, n. 3, p. 240-243. 2014.
- STAHL, S.J. General Husbandry and Captive Propagation of Bearded Dragons, *Pogona vitticeps*. **Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians**, v. 9, n. 4, p. 12-17. 1999.
- SYKES, J.M. Updates and Practical Approaches to Reproductive Disorders in Reptiles. **Vet Clin Exot Anim**, v. 13, p. 349-373, 2010.
- TATTERSALL, G.J.; LEITE, C.A.C.; SANDERS, C.E.; CADENA, V.; ANDRADE, D.; ABE, A.S.; MILSOM, W.K. Seasonal reproductive endothermy in tegu lizards. **Science Advances**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 26 Jan. 2016.
- UETZ, P.; FREED, P.; HOŠEK, J. (eds.). **The Reptile Database**. 2019. Disponível em: <http://www.reptile-database.org>. Acesso em: 20/04/2020.
- WARWICK, C., ARENA, P.; STEEDMAN, C. Spatial considerations for captive snakes. **Journal of Veterinary Behavior**, v. 30, p.

37-48, 2019.

- ZIPPEL, K. Further Observations of Oviposition in the Surinam Toad (*Pipa Pipa*), with Comments on Biology, Misconceptions, and Husbandry. **Herpetological Review**, v. 37, n. 1, p. 60–68, 2006.

- ZUG, G.R.; VITT, L.J.; CALDWELL, J.P. **Herpetology**: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. 2ed. Academic Press, USA, 2001. 629 p.

Capítulo 16

Animais silvestres de vida livre



COORDENADOR:

Luís Fábio Silveira Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

Citação recomendada: LUSTOSA, A. P. G.; SOUSA, A. E. B. A.; PIRES, A. D.; GOMES, C. G.; LUGARINI, C.; PAVANELLI, C. S.; ABRAHÃO, C. R.; SOARES, C. M.; ZAWADZKI, C. H.; PALUDO, D.; BENEDITO, E.; SILVA, F. E.; PAIM, F. P.; MIRANDA, F.; REIS, I.J.; BICCA-MARQUES, J. C.; SOUZA, M. A.; VALENÇA-MONTENEGRO, M. M.; SERAFINI, P. P.; BALESTRA, R.A.M.; VALADÃO, R.M.; GRAÇA, W. J. (2023) Capítulo 16 - Animais silvestres de vida livre. pp. 966-1105. In: SILVEIRA, L. F. (coord.). VIANA, A. A.B.; DE ANGELIS, K.; BRAGA, L.M.G.M. (organizadores) **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica/Concea**. 1ª ed. Brasília/DF. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1107p.

SUMÁRIO

Peixes	972
1. Introdução	973
2. Autorização, licenças e legislação vigente	974
3. Planejamento e cuidados	976
4. Métodos utilizados e efeitos adversos	977
4.1. Técnicas de captura passiva	977
4.2. Técnicas de captura ativa	978
4.3. Técnica de coleta de dados	981
4.3.1. Métodos de coleta de peixes em suas fases iniciais de desenvolvimento (ovos larvas e jovens)	982
4.4. Marcação e recaptura	983
4.7. Transporte	985
5. Procedimentos de soltura, translocação, introdução, reintrodução, repovoamento populacional de peixes	987
6. Manutenção de peixes em condições experimentais e biotérios	988
6.1. Tipos de instalações	989
6.2. Exigências e condições para manutenção de peixes em biotérios	989
7. Analgesia, anestesia e eutanásia	990
8. Métodos alternativos	992
10. Considerações finais	994
Herpetofauna	996
1. Introdução	997
2. Legislação vigente referente às autorizações e licenças	998
3. Métodos de captura	1001
4. Contenção, transporte e manutenção temporária (curto espaço de tempo)	1015
4.1. Quelônios	1015
4.2. Crocodilianos	1016
4.3. Anfíbios	1016
4.4. Serpentes não peçonhentas e lagartos	1016
4.5. Serpentes peçonhentas	1016
4.6. Ovos	1017
4.7. Girinos	1017
5. Marcação	1018
6. Soltura	1023
7. Eutanásia	1024
8. Considerações éticas e populacionais	1025
Aves	1026
1. Introdução	1027
2. Autorizações, licenças e legislação vigente	1028
3. Planejamento e cuidados	1031
4. Métodos utilizados e efeitos adversos	1033

5. Procedimentos de soltura, translocação, introdução, reintrodução, revigoramento populacional de aves	1054
ANEXO 1: Legislação de referência	1055
Cingulatas e Pilosas	1057
(tatus, preguiças e tamanduás)	1057
1. Introdução	1058
2. Autorizações	1059
3. Planejamento e cuidado	1060
4. Métodos de captura utilizados para Pilosas e Cingulatas	1061
4.1. Tamanduás	1061
4.2. Preguiças	1061
4.3. Tatus	1062
5. Contenção química	1064
6. Emergências/anestésicas	1065
6.1. Bradipneia e apneia	1065
6.2. Parada cardíaca	1065
6.3. Hipertermia	1066
6.4. Exame clínico e sexagem	1067
6.5. Colheita de amostras	1067
6.6. Pesagem e Biometria	1067
6.7. Marcação	1068
6.7.1. Manutenção em cativeiro	1068
6.8. Medicina preventiva	1069
Primatas	1070
1. Introdução	1071
2. Responsabilidade: não maltrate e não prejudique	1073
2.1. Responsabilidades com os animais com os quais os pesquisadores trabalham	1074
2.2. Responsabilidades com o ecossistema onde os animais vivem	1076
2.3. Responsabilidades com as pessoas cujas vidas e culturas são afetadas pela atividade	1077
3. Autorizações e licenças	1080
4. Diretrizes e conduta para observação em campo	1082
5. Diretrizes e conduta para a captura de animais de vida livre	1087
6. Diretrizes e conduta para a coleta de espécimes	1091
7. Referências bibliográficas	1094

PEIXES

AUTORES:

Carla Simone Pavanelli Universidade Estadual de Maringá

Claudemir Martins Soares Universidade Estadual de Maringá

Cláudio Henrique Zawadzki Universidade Estadual de Maringá

Evanilde Benedito Universidade Estadual de Maringá

Weferson Júnio da Graça Universidade Estadual de Maringá

1. Introdução

Os peixes são o grupo mais diverso entre os vertebrados, com cerca de 35.000 espécies sendo mais da metade marinhos e os demais de água doce, salobras e outras ambientes de transição planeta (ALBERT & REIS 2011; ESCHMEYER & FONG 2018). A ictiologia é o ramo da zoologia de vertebrados que se dedica ao estudo da biologia e ecologia dos os peixes.

Para fornecer subsídios a estes diferentes setores, os peixes têm sido utilizados de diferentes maneiras em procedimentos de cunhos científicos e didáticos. O objetivo deste capítulo é orientar a utilização justificada desses animais, levando em consideração os benefícios científicos ou educacionais e seus potenciais efeitos sobre o bem-estar dos animais, conforme preconizado pela legislação pertinente. Para tanto, abordamos os principais métodos utilizados por biólogos, ictiólogos e afins, em atividades de ensino e pesquisa envolvendo peixes em vida livre. Também são apresentadas orientações e recomendações que priorizem o bem-estar animal e minimizem a dor, o sofrimento e as suas consequências negativas.

2. Autorização, licenças e legislação vigente

De modo geral, no Brasil, as pesquisas envolvendo a biodiversidade, incluindo os peixes, são autorizadas por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), que é administrado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). A Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 fixa normas, atualmente nº 03/2014, para a realização de coleta de material biológico e para a realização de pesquisas em unidades de conservação federais e cavernas. As autorizações emitidas pelo SISBio “NÃO eximem o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso”.

O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), no que se refere à biodiversidade aquática, deve ser consultado para conhecimento dos procedimentos legais para atividades de aquarofilia, gestão pesqueira e períodos de defeso. Além disso, o licenciamento ambiental também é concedido pelo IBAMA, que emite autorizações específicas para captura, coleta e transporte de material biológico, no âmbito do licenciamento ambiental de empreendimentos, e para importação/exportação de fauna, ameaçada de extinção ou não. Os órgãos estaduais e municipais de meio ambiente, dentro das suas competências, que podem variar de estado para estado, fornecem autorizações mais específicas, sobretudo para captura em unidades de conservação, e devem ser igualmente consultados previamente ao início dos procedimentos envolvendo peixes de vida livre.

Além das licenças e autorizações citadas acima, as instituições que utilizam animais em atividades de ensino e pesquisa devem seguir as diretrizes e resoluções do Concea, em especial a “Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino e Pesquisa Científica - DCBA”. As atividades de ensino ou de pesquisa científica que incluem animais não podem ser iniciadas antes da aprovação formal e autorização da CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais, com constituição, deveres e responsabilidades regidos pela Lei Federal no 11.794/2008) da instituição do pesquisador principal ou professor responsável.

Atualmente, grande parte das revistas científicas exige a apresentação da autorização de pesquisa e da CEUA, o que assegura que a pesquisa foi desenvolvida conforme a legislação e que os pesquisadores mantêm padrões de procedimentos eticamente aceitáveis. Encorajamos os pesquisadores a publicar os efeitos negativos de suas investigações, para estimular o aperfeiçoamento de metodologias.



3. Planejamento e cuidados

Para a otimização do número de animais a serem coletados na natureza, de modo que sejam em quantidade suficiente para gerar dados confiáveis, e, por outro lado, não ter coleta de indivíduos em demasia, os estudos ecológicos devem ser conduzidos com hipóteses claras, com delineamentos amostrais adequados e pré-definidos, de forma que dados sejam coletados com critérios e com finalidades bem determinados, tanto em relação à coleta como a análises estatísticas a serem utilizadas para que as questões levantadas sejam respondidas adequadamente (FELIX & HACKRADT 2006).

Algumas características comportamentais dos indivíduos são indicadoras do baixo bem-estar dos peixes durante os procedimentos de amostragem, transporte e manejo, como comportamentos estereotipados, repetitivos e não característicos da espécie (nadar na superfície ou em posição oblíqua, por exemplo). Dependendo do estágio de maturação, pode-se observar ainda a liberação espontânea de gametas por ambos os sexos. Atividades humanas que potencialmente comprometem o bem-estar dos peixes incluem ainda não apenas aquelas relacionadas diretamente aos procedimentos e métodos científicos, mas são ainda influenciadas por alterações antropogênicas no ambiente, pesca comercial, recreacional, aquicultura, além da comercialização de espécies ornamentais. Todas essas atividades, quando investigadas cientificamente, necessitam ser, obrigatoriamente, conduzidas à luz da ética na experimentação animal (HUNTIGFORD *et al.*, 2006).

Dentro dos princípios éticos de experimentação animal, o número de indivíduos, sempre que possível, deve ser reduzido (BUCHANAN *et al.*, 2012). Neste sentido, nos casos em que os animais poderão ser devolvidos ao ambiente, após a amostragem e o manejo na obtenção em campo de informações biológicas, deve-se observar com rigor e agilidade que os processos biológicos sejam garantidos. Para tanto, é necessário que o animal seja retirado do ambiente aquático somente quando todos os aparatos estiverem prontos para a obtenção das informações necessárias do espécime (dados biométricos, coleta de sangue etc) e que seu manuseio seja o mínimo possível, considerando que a perda de escamas ou mesmo ferimentos na pele poderão permitir a entrada de microrganismos nos tecidos do animal, podendo levá-lo a óbito. Para tanto, os profissionais envolvidos devem ser capacitados visando à redução do estresse durante o procedimento e o retorno do animal em condições saudáveis.

4. Métodos utilizados e efeitos adversos

4.1. Técnicas de captura passiva

São equipamentos utilizados para captura que não são movidos ativamente por homens e/ou máquinas. Os mais comuns são: rede de espera, espinhel, anzol de galho e armadilhas (ex. covos, armadilhas luminosas) (LAGLER 1978; HUBERT 1996; UIEDA & CASTRO 1999). HUBERT *et al.* (2012) separam a técnica de captura passiva em três grupos: **(1)** emalramento, **(2)** aprisionamento e **(3)** “angling gears” fiscados por anzol. No emalramento os peixes ficam enrolados em uma malha feita de materiais naturais ou artificiais, no aprisionamento os organismos entram em uma área fechada através de um ou mais funis que impedem a fuga e no “angling gears” os peixes são fiscados por um anzol. Abaixo são apresentadas as principais técnicas que foram compiladas a partir de (UIEDA & CASTRO 1999), (GROSSER & BECKER 2005) e (HUBERT *et al.*, 2012) e que são aceitas pelo Concea em condições experimentais, desde que graus aceitáveis de bem-estar dos animais sejam sempre obrigatoriamente, almejados.

Rede de espera: De diferentes tamanhos e malhas, são indicadas para ambientes de águas lânticas e são recomendadas para captura de espécies que se deslocam ativamente. Estas devem ser firmemente fixadas com cordas em troncos, galhos ou estacas, ou com a utilização de pesos nas extremidades. As redes de espera podem ser colocadas na superfície, em meia água ou no fundo, dependendo do ambiente e das espécies que devem ser amostradas. A diferença no tamanho das malhas varia de acordo com o tamanho do peixe, que é o objetivo da amostragem. O tamanho das malhas pode variar muito, tanto regionalmente quanto conforme os objetivos da coleta, mas geralmente medem de 1,5 cm entre nós adjacentes, conhecidas como lambarizeiras, a malhas de 20 cm entre nós adjacentes para captura de peixes de maior porte. As redes podem ser de pano simples ou de pano triplo, também conhecidas como feiticeiras. Este é um dos métodos mais utilizados, o grau de injúria que será causado aos peixes depende do tempo de exposição da rede, da espécie capturada e da presença de predadores locais, como jacarés, botos, piranhas e aeglas, entre outros. Desta forma, para minimizar ou evitar a ocorrência destas injúrias, é obrigatório que as redes sejam vistoriadas com alta frequência.

Espinhel: Consiste em um ou, geralmente, mais anzóis que, presos a uma linha de pesca, são amarrados em cordas que são geralmente fixadas a uma das margens. No anzol pode ser utilizada isca morta ou viva. No caso de

iscas vivas, deve-se observar que o peixe utilizado deve ser nativo da bacia onde se está realizando a pesca, evitando assim a introdução ou translocação de espécies não nativas. Este método é bastante utilizado para captura de peixes piscívoros (traíras, dourados, pintados, jaús etc.), mas também podem ser utilizados para captura de peixes frugívoros, com a utilização de frutos, grãos etc. A injúria causada depende do tempo que o peixe permanece até ser retirado do anzol, sendo obrigatório, portanto, que este tipo de aparelho seja vistoriado com alta frequência. Da mesma forma, é obrigatório que esta técnica e este apetrecho de pesca sejam aplicados somente em casos em que não existam quaisquer alternativas. Além disso, que todos os esforços devam ser aplicados para reduzir os riscos de injúria (como anzóis circulares por exemplo) e prática de eutanásia segundo as normas do Concea.

Anzol de galho: Método similar ao espinhel, porém a linhada com anzol é fixada em um galho da vegetação marginal. A injúria causada depende do tempo que o peixe permanece até ser retirado do anzol, sendo obrigatório, portanto, que este tipo de aparelho seja vistoriado com alta frequência. Da mesma forma, é obrigatório que esta técnica e este apetrecho de pesca sejam aplicados somente em casos em que não existam quaisquer alternativas. Além disso, que todos os esforços devam ser aplicados para reduzir os riscos de injúria (como anzóis circulares por exemplo) e prática de eutanásia segundo as normas do Concea.

Armadilha (covo): São estruturas que podem ser feitas de metal, linha de pesca, bambu, garrafas plásticas etc., que têm uma ou mais entradas em forma de funil e podem ser dos mais diferentes tamanhos, de acordo com a espécie objeto da coleta. Comumente são colocadas iscas (minhocas, ração, milho, vísceras, frutos etc.) no interior dessas armadilhas (SANCHES & SEBASTIANI 2009). Existem também as armadilhas luminosas que são utilizadas para captura de peixes de águas turvas ou predadores visuais. Este método de coleta normalmente preserva os peixes vivos, assim aqueles que não são foco do estudo podem ser liberados.

4.2. Técnicas de captura ativa

Consistem em métodos de captura que necessitam do manuseio por seres humanos ou por máquinas, os principais são: anzol de mão, vara, pesca elétrica, puçá, peneira, rede de arrasto e tarrafa. Fornecemos as principais técnicas com informações compiladas de (UIEDA & CASTRO 1999) e (GROSSER & BECKER 2005), aceitas pelo Concea, desde que graus aceitáveis de bem-estar dos animais sejam sempre, obrigatoriamente, almejados.

Arrasto de fundo: Consiste no deslocamento de um saco de rede pela água, rebocado por uma embarcação, capturando na sua passagem espécimes maiores do que a abertura de malha da rede, os quais vão se acumulando no fundo do saco. As redes de arrasto de barcos comerciais são geralmente de maior tamanho que as artesanais e são puxadas por arrastões, barcos que são equipados para esta operação. Normalmente são utilizados junto ao fundo dos ambientes, no entanto, em alguns casos podem ser realizados à meia água, ou até superfície, dependendo da espécie-alvo. O equipamento principal para esta atividade é um ou dois guinchos que enrolam e desenrolam os cabos das portas. As portas são placas mais ou menos planas que ficam presas transversalmente ao cabo do alado e das asas e que mantêm a rede aberta durante o arrasto. Em ambientes de alta profundidade e pressão, devido à mudança súbita, o dano aos peixes é alto, bem como à diversidade local, com a captura indiscriminada de muitas espécies que não são alvo da pesca. Além deste tipo de injúria por mudança de pressão, o uso deste equipamento pode causar outras injúrias, especialmente quando o saco fica muito cheio, os guinchos levantam o arrasto por muito tempo, e o peso dos peixes de cima causam lesões nos peixes de baixo. Nem sempre os animais sobrevivem ao processo. Torna-se obrigatório, portanto, que medidas sejam tomadas para evitar isso, como diminuição nas dimensões do saco, vistoria frequente do equipamento, em tempo de triar e liberar no ambiente as espécies de peixes e fauna associada que não são alvo da pesca.

Peneiras e puçás: Podem ser de diferentes dimensões e de malhas usualmente pequenas, com o pano da malha podendo formar um saco para a apreensão dos peixes. Geralmente são equipamento de fácil manuseio por uma ou duas pessoas, dependendo do tamanho e composição do material de arcabouço. São normalmente utilizados em regiões de ambientes aquáticos com vegetação marginal. Também podem ser utilizados em rios ou riachos rasos e pedregosos, onde uma ou duas pessoas posicionam a peneira ou puçá contra a correnteza, enquanto removem a vegetação e rochas, logo anteriormente à peneira ou puçá, de forma que os peixes possam cair na rede. O nível de danos é pequeno, podendo aqueles indivíduos não objeto do estudo serem retornados ao ambiente.

Pesca com anzol e linha: Pode ser a tradicional linha de mão (linha, chumbada e anzol), ou varas de bambu ou fibra (de vidro ou carbono), com molinetes ou carretilhas. Este é um método altamente seletivo e o grau de injúria varia de acordo com a espécie capturada. Recomenda-se utilizar anzóis de tamanho adequado para a espécie alvo, dando preferência, sempre que possível, a anzóis sem fisga. Da mesma forma, é obrigatório que esta técnica e este apetrecho de pesca sejam aplicados somente em casos em que não existam quaisquer alternativas. Além disso, que todos os esforços devam ser aplicados para reduzir os riscos de injúria (como anzóis circulares por exemplo) e prática

de eutanásia segundo as normas do Conceia.

Pesca de arpão: É uma técnica de pesca submarina a qual geralmente envolve o uso de um arpão arremessado por uma arma de pressão, bem como equipamento de mergulho associado, como máscara, *snorkel* e nadadeiras (FRISCH *et al.*, 2008). Na maioria dos países a pesca com arpão se sobrepõe às áreas de pesca comercial, mas poucos dados são disponíveis sobre seus potenciais impactos à biodiversidade (COSTA NUNES *et al.*, 2012). O nível de dano aos peixes capturados é obviamente alto, resultando quase sempre em morte do animal, portanto, deve levar em conta o estabelecido na RN 37 Conceia. Desta maneira, é obrigatório que esta técnica e este apetrecho de pesca sejam aplicados somente em casos em que não existam quaisquer alternativas. Além disso, que todos os esforços devam ser aplicados para reduzir os riscos de injúria e prática de eutanásia segundo as normas do Conceia.

Pesca elétrica: Método indicado para riachos com até 1 m de profundidade e com águas de baixa a moderada velocidade de fluxo. O manuseio do equipamento deve ser feito por pessoas com treinamento, pois acidentes podem ser fatais. Existem diferentes equipamentos, mas o princípio é a geração de um campo elétrico com descargas, de acordo do tipo de ambiente, de 300 a 500W, dependendo da condutividade elétrica da água. Conforme o objetivo do estudo e do tamanho da área estudada, podem ser utilizadas redes de bloqueio acima e abaixo dos locais amostrados para evitar a fuga dos peixes. Além disso, é possível realizar a pesca elétrica embarcada para amostragens em ambientes maiores. Para tanto, utiliza-se um puçá energizado e a embarcação funciona como polo oposto. O nível de injúria aos espécimes varia de acordo com a espécie e o tamanho do indivíduo, e com a amperagem da descarga. Portanto, é obrigatório, uma averiguação cuidadosa da condutividade da água, do volume total do corpo d'água sob efeito, e das dimensões da descarga e recomendada para reduzir as probabilidades de mortalidade dos animais. A não ser que seja este o objetivo do procedimento. Neste caso, aplicam-se as recomendações do Conceia relativas à eutanásia. Normalmente, a metodologia de captura causa paralisia em indivíduos de pequeno porte (menores que cinco cm de comprimento total). Em caso de paralisia, em pouco tempo (dependendo do tamanho) os indivíduos retornam às suas condições normais e, se necessário, podem ser imediatamente libertados.

Redes de arrasto: Usualmente utilizadas em ambientes com fundo arenoso e para a captura de peixes de pequeno porte em zonas rasas e marginais. São de altura, comprimento e malhas de tamanhos variados. São dotadas, em sua região mediana, de uma dilatação que forma um saco, onde concentram-se os peixes coletados. Necessitam, para o seu manuseio, de ao menos duas pessoas que se deslocam em direção à margem, cercando os peixes. O nível de danos aos peixes é menor quanto maior é o tamanho do animal, portanto cuidados devem ser dispensados para

que animais pequenos, ou que não sejam alvo do estudo, sejam devolvidos ao ambiente com o menor grau de injúria e sofrimento possíveis.

Redes de cerco: Podem ser as mesmas redes de arrasto, diferindo na forma de sua utilização. Para tanto, pode ser empregado um barco, onde seus coletores realizam um cerco a um banco de macrófitas aquáticas, ou parte dele, que pode ser separada com um facão. A rede envolve o banco de macrófitas ou a parte separada dele, a qual é arrastada gradativamente pelos lados da rede ao barco, recolhendo os peixes que nadam próximo às raízes das macrófitas. São peixes geralmente jovens e/ou peixes de pequeno porte. Portanto, a malha utilizada para este método deve ser pequena, de 5 a 10 mm. Cuidados devem ser dispensados para que animais pequenos, ou que não sejam alvo do estudo, sejam devolvidos ao ambiente com o menor grau de injúria e sofrimento possíveis. Existem riscos aos coletores devido à possível presença de serpentes e outros animais peçonhentos, enquanto o nível de danos aos peixes é pequeno, podendo aqueles indivíduos não objeto do estudo serem retornados ao ambiente.

Tarrafa: É uma rede de pesca circular, com pequenos pesos distribuídos em torno de toda a circunferência da malha e munida de um cabo fino no centro, pelo qual a rede é puxada. A tarrafa é arremessada de tal maneira que, ao se abrir após o lançamento, tenha seu diâmetro estendido ao máximo possível antes de cair na água. Ao entrar em contato com a coluna d'água, a rede afunda imediatamente, fechando-se e aprisionando os peixes. As Tarrafas podem ter malhas geralmente de 1 a 10 cm e diâmetros variando de 8 a 25 m. Cuidados devem ser dispensados para que animais que não sejam alvo do estudo sejam devolvidos ao ambiente com o menor grau de injúria e sofrimento possíveis. Este método não é recomendado para locais muito profundos ou com correntezas muito fortes, devido à possibilidade de enroscar a malha no substrato, fazendo com que o coletor tenha de se arriscar entrando na correnteza ou mergulhando para soltar a tarrafa. O fato de o coletor usualmente amarrar a corda da tarrafa em um dos braços para o arremesso também traz riscos ao coletor quando este está sobre superfície escorregadia, podendo ser puxado sobre rochas ou ser levado pela correnteza. O nível de dano aos peixes é pequeno, podendo aqueles indivíduos não objeto do estudo serem retornados ao ambiente.

4.3. Técnica de coleta de dados

Consiste em métodos de observação visual para coleta de dados comportamentais. Caso seja acompanhada pelo uso de equipamentos de pesca e captura, deve-se observar as recomendações acima. Exige que o pesquisador

tenha conhecimento de técnicas de mergulho, pois erros podem ser letais. As principais técnicas e equipamentos nesse tipo de estudo de peixes são:

→ Mergulho livre, o pesquisador utiliza máscara, nadadeiras e tubo respirador; esse método limita o tempo de observação de acordo com a capacidade física do mergulhador; método recomendado para locais rasos, por exemplo, riachos ou recifes;

→ Mergulho autônomo, também conhecido como “scuba”, o pesquisador utiliza equipamentos que possibilitam independência da superfície, permite que o pesquisador tenha mais tempo para observação ou coleta de exemplares, o tempo é limitado pela capacidade do cilindro de oxigênio;

→ Mergulho dependente, onde o mergulhador depende de fontes de ar provenientes da superfície, permitindo operações a grandes profundidades e por longo tempo; este método é recomendado para estudos com maior tempo de duração.

4.3.1. Métodos de coleta de peixes em suas fases iniciais de desenvolvimento (ovos larvas e jovens)

Os peixes, dentre os vertebrados, correspondem a um dos grupos que apresenta uma das mais numerosas e diversas estratégias reprodutivas (BLACKBURN 2015). Desde a coorte inicial até o desenvolvimento dos jovens, os comportamentos e, conseqüentemente, a ocupação dos diversos habitats aquáticos garantem aos peixes sucesso nas diferentes táticas exibidas (BROWN-PETERSON *et al.*, 2011). Estas variações se refletem nas suas formas de reprodução e conseqüentemente nos seus estágios iniciais de desenvolvimento. Assim, ovos e larvas de peixes podem ser encontrados em locais distintos, que requerem formas adequadas de aparelhos de coleta destas na natureza. Os ovos, larvas e jovens variam em tamanho, morfologia, distribuição horizontal e vertical, e ainda em diferentes disponibilidades temporais e susceptibilidades a vários aparelhos de coleta (NAKATANI *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2016).

Durante o processo de coleta de campo, o método de captura mais adequado a ser empregado depende das características físicas do local de amostragem. Em ambientes lênticos ou semi lóticos, utiliza-se a captura ativa, com as redes sendo rebocadas por um barco. Por outro lado, em ambientes lóticos é empregada a captura passiva, com redes presas em pontos fixos (NAKATANI *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2016). Em ambos podem ser causados danos físicos às larvas, normalmente decorrentes de pressão excessiva da água nos aparelhos de coleta, ou de pressão mecânica

sobre elas, no acondicionamento nos frascos etc. Estes danos podem dificultar ainda mais o processo de identificação, que já é excessivamente difícil, e podem destruir o material, exigindo que nova coleta seja realizada. É preciso cuidado neste aspecto, dimensionando corretamente a amostragem, para evitar a retirada de indivíduos além das necessidades da pesquisa.

Captura ativa: Utilização de redes de ictioplâncton com formato cônico, com malha 0,5 mm, com diâmetro da boca conhecido para o cálculo do volume filtrado em m³, a partir da aferição de um fluxômetro acoplado no centro da boca da rede. A rede pode ser usada de duas formas: arrastadas na sub superfície ou com um trenó no fundo, por uma embarcação em baixa e velocidade constante durante 10 minutos.

Captura passiva: Nesta modalidade as redes cônicas são dispostas transversalmente aos rios, presas a uma corda fixada de uma margem a outra. As redes, dependendo da largura e profundidade dos rios, podem ser presas em até três pontos (margens e meio) na sub superfície e fundo por um tempo determinado, que pode ser variável em função da velocidade e quantidade de material carregado pela correnteza.

Captura com rede de arrasto e “peneirão”: Nos casos de ambientes com bancos de macrófitas e junto às margens, pode-se usar redes de arrasto e “peneirões” (redes com moldura fixa) confeccionados com tecido de malha de 0,5 mm. Estes equipamentos são introduzidos sob a vegetação aquática flutuante e marginal, podendo ser com uso de embarcações ou manualmente, e erguidos rapidamente, seguido da separação de larvas e jovens do material vegetal.

4.4. Marcação e recaptura

Técnica que tem sido utilizada em estudos de parâmetros populacionais a fim de estimar o tamanho da população de uma espécie (SOUTHWOOD & HENDERSON 2000), suas taxas de crescimento e sobrevivência (PRADEL 1996; PINE *et al.*, 2003). Para peixes também podem ser utilizadas nos estudos da história natural, abordando aspectos como preferência de hábitat, área de vida, padrões de movimentos e território de forrageamento (TRAJANO 2001; MENDES 2006). Diferentes métodos de marcação podem ser empregados, podendo ser internos (tinta acrílica ou *Passive Integrated Transponder* {PIT} tag) ou externos (etiquetas). Durante o período de manipulação, o peixe deve ter sido anestesiado para diminuir o nível de estresse e injúria, conforme informado no item 7 deste capítulo. No entanto, sempre há o risco de mortalidade dos indivíduos durante este processo, o que deve ser considerado antes do procedimento, procurando dimensionar muito bem todas as variáveis possíveis para se evitar isso. Além disso, dependendo

do local do corpo do animal onde a marca será inserida, a possibilidade do procedimento causar dor e injúrias é menor (colocação de marcas externas nas nadadeiras, por exemplo). Por outro lado, em casos de marcação interna, pode haver diferentes graus de dor envolvidos. Em todos os casos, há necessidade de manipulação direta dos animais, o que sempre gera stress, e em alguns casos pode gerar injúria e morte, se não houver maiores cuidados por parte do manipulador. Nos casos em que seja desnecessária, ou mesmo inviável a anestesia, como em estudos populacionais que normalmente envolvem a marcação de centenas ou mesmo milhares de indivíduos, recomenda-se ainda mais cuidado na inserção das agulhas (para marcas internas de tinta e de PIT *tag*), para que o ponto que vá receber a marca não sofra injúria desnecessária, além daquela decorrente da própria inserção da marca. Cuidado adicional é recomendável no momento de recondução dos animais ao ambiente em que foram capturados. Caso haja injúrias moderadas a severas, que seja avaliada a necessidade de cuidados profiláticos. Recomenda-se a manutenção dos peixes em recintos separados por alguns minutos, para sua observação e monitoramento, antes de soltá-lo no corpo d'água. O animal só deve ser liberado quando já estiver demonstrando bom nível de atividade, que é capaz de lidar com os desafios do ambiente, e já estiver recuperado do stress da manipulação (o que pode ser observado diretamente pelo seu comportamento, seu nível de atividade e taxa de batimento opercular). E isto deve ser feito sempre nos mesmos locais onde se deu a captura, sem que existam riscos à sobrevivência do animal que está sendo retornado ao ambiente (de acordo com normas e recomendações do Concea). Exemplos de métodos:

→ Tinta acrílica, solúvel e não tóxica, que é injetada na região subcutânea do peixe, normalmente no pedúnculo caudal (SUZUKI *et al.*, 2010);

→ *Passive Integrated Transponder* (PIT) *tag*, marcador interno que é introduzido no peixe com uma seringa ou através de uma incisão. O tamanho do transmissor depende do tamanho do peixe e o equipamento emite sinais (radio telemetria) que são recebidos por equipamentos portáteis ou por antenas fixas (CASTRO-SANTOS *et al.*, 1996);

→ Etiquetas externas, por serem aplicadas externamente ao corpo dos peixes, são de fácil detecção e dispensam o uso de equipamentos especiais para a sua identificação. Os exemplos destes tipos de etiquetas incluem fitas, linhas, fios, placas, discos etc. (McFARLANE *et al.*, 1990).

Os métodos de recaptura dependem do objetivo do estudo e das espécies marcadas, mas pode ser utilizado com qualquer um dos métodos citados anteriormente.

4.7. Transporte

Deve ser feito de acordo com os objetivos do estudo, destacando-se que é necessária a licença prévia do SISBIO para coleta e transporte e, se amostragem for realizada em Unidades de Conservação Estaduais ou Municipais, ainda é necessária uma autorização dos órgãos relacionados. Após a coleta e eutanásia (quando devidamente justificada e aprovada por CEUA no âmbito do projeto), seguindo o estabelecido nesse capítulo, os peixes podem ser conservados em formaldeído, álcool etílico, nitrogênio líquido ou gelo. Para estudos com peixes vivos, os exemplares devem ser acondicionados em recipientes com aeração, que pode ser manual ou através de aeradores artificiais. O transporte de peixes vivos deve ser feito com bastante cuidado, pois situações estressantes como excesso de luminosidade, variação de temperatura e falta de oxigênio podem levar os indivíduos à morte.

Durante o transporte e manejo devem ser observadas as seguintes recomendações:

1) A qualidade da água e os fatores limnológicos associados são críticos para a manutenção da homeostase do animal. Durante o manejo, transporte ou manutenção, deve-se buscar a redução do stress aos níveis mínimos, no que se refere às concentrações de O_2 , CO_2 , N_2 (dissolvidos na água), bem como salinidade, pH, temperatura, luminosidade e de qualquer outro estímulo adverso;

2) Utilizar recipientes adequados, em conformidade com a espécie e o tamanho do indivíduo;

3) A densidade/biomassa de indivíduos deve ser adequada para que não ocorra comportamentos anormais como agressividade, ferimentos, canibalismo e mesmo gerando infestações parasitárias que conduzirão o indivíduo à morte. É necessário considerar as características biológicas e ecológicas dos organismos no que se refere à tendência de formar cardumes ou territorialidade. Outro aspecto refere-se à não alocação de indivíduos presa e predadores conjuntamente;

4) Se necessário manter o(s) indivíduos por período prolongado, fornecer alimento adequado à espécie e ao tamanho. Práticas associando alimento à captura e ao transporte têm mostrado bons resultados na redução do estresse durante estes procedimentos (PEDRAZZANI *et al.*, 2007);

5) O transporte dos peixes vivos, quando inevitável, deve minimizar todo o procedimento que expõe os peixes a estímulos que alterem sua fisiologia (excesso de O_2 , contato com oxigênio do ar, por exemplo);

6) As mudanças drásticas do ambiente natural para confinamento em caixas de estocagem e/ou de transporte leva a alterações nos níveis de adrenalina e cortisol dos peixes, alterando seu metabolismo. Devido a isso, fazem-se

necessárias práticas que amenizem tais efeitos, como o jejum prévio para o transporte e manutenção dos peixes em ambiente adequado para finalizar a depuração (esvaziamento do trato digestivo) antes do transporte, para que haja menor consumo de O_2 , e menor excreção de CO_2 , amônia e fezes, contribuindo assim para a manutenção da qualidade da água durante o transporte;

7) Para o transporte de peixes por longas distâncias, é indicado o uso de recipientes adequados, como caixas térmicas com aeradores ou sacos plásticos com $\frac{1}{3}$ de água e $\frac{2}{3}$ de O_2 comprimido. Os sacos plásticos devem ser acondicionados em caixas de isopor ou de papelão revestidas de isopor e estes não devem estar expostos diretamente ao sol (KUBITZA 2009);

8) A carga de peixes possível de ser transportada (em sacos plásticos ou em caixas de transporte) depende de diversos fatores: **a)** da temperatura da água; **b)** previsão do tempo necessário para o carregamento, para a viagem e para a soltura no destino; **c)** do tamanho ou peso médio dos peixes a serem transportados; **d)** da espécie de peixe **e)** da fase de desenvolvimento; dentre outros. Quanto mais baixa for mantida a temperatura da água, quanto maior for o tamanho dos peixes e quanto mais rápido for o transporte, maior pode ser a carga de peixes no transporte (em kg/m^3 ou em g/litro).

5. Procedimentos de soltura, translocação, introdução, reintrodução, repovoamento populacional de peixes

A pesquisa de peixes em vida livre pode envolver procedimentos de soltura de diferentes tipos. Por ser esta uma forma de intervenção com impactos negativos potencialmente severos para o indivíduo ou para as comunidades de destino, projetos de pesquisa que envolvam soltura devem sempre ter objetivos claramente vinculados à melhoria do estado de conservação da espécie-alvo, de populações ou ao restabelecimento de funções ou processos ecológicos. Deve-se considerar ainda os princípios de bem-estar e saúde animal, tanto do indivíduo a ser solto quanto daqueles existentes no local de soltura. Esses princípios devem estar acima de outros interesses, sejam eles científicos ou de qualquer outra ordem. É importante ressaltar que a soltura de animais carrega riscos e problemas reais e, em geral, traz poucos benefícios à conservação e ao próprio animal liberado. Por essa razão, não é aceitável que qualquer atividade de soltura seja realizada com fins didáticos.

Além do exposto acima, projetos científicos que envolvam soltura devem avaliar condições essenciais para sua realização: distribuição geográfica original da espécie-alvo, existência de seu hábitat preferencial, controle das ameaças que levaram a espécie a um declínio populacional, seleção adequada dos indivíduos a serem soltos (incluindo idade, sexo, condição física, sanitária, comportamental e variabilidade genética), marcação, tipo de soltura e monitoramento pós-soltura.

6. Manutenção de peixes em condições experimentais e biotérios

O emprego de experimentos em condições controladas é uma forma eficaz e prática de se responder de forma mais clara e objetiva as hipóteses levantadas, pois permite o controle das variáveis e a manipulação daquelas em que há o interesse de entender seus mecanismos e efeitos (GRANZOTTI & GOMES 2016). Neste sentido, os peixes são mantidos em cativeiro, ou utilizados por um certo período, para diversas áreas de pesquisas, sejam elas relativas a estudos de cunhos ecológicos, biológicos, genéticos, fisiológicos, zootécnicos, veterinários ou farmacológicos. Tais experimentos também podem ser em campo, seja em condições de cultivo, seja com manipulação de partes de ambientes naturais (UIEDA & CASTRO 1999).

Para estudos de desenvolvimento embrionário dos peixes e de suas fases iniciais (larvas e jovens), a reprodução em condições controladas permite se ter a idade conhecida e com controle das variáveis mais importantes, como temperatura (ANJOS & ANJOS 2006), e segurança na identificação da espécie. Isso ajuda a resolver o obstáculo encontrado na identificação do material coletado em ambientes naturais, devido ao elevado número de espécies, aliado à grande similaridade morfológica (NAKATANI *et al.*, 2004) nas suas fases iniciais de desenvolvimento. Esta similaridade aumenta na razão inversa ao estágio de desenvolvimento e entre espécies próximas, como congêneres ou pertencentes à mesma família. Estudos em laboratório são base para que sejam feitas descrições que levam a chaves taxonômicas adequadas e servirão para a correta identificação do ictioplâncton dos ambientes naturais.

Aspectos desejáveis que favorecem a adaptação de espécies ao cativeiro:

- 1) Apresentar conhecimento de sua biologia, ecologia e comportamento;
- 2) Ter suas técnicas de cultivo (estocagem, nutrição, manejo) e manutenção em cativeiro conhecidas;
- 3) Reproduzir-se naturalmente ou responder à reprodução induzida por hormônios, apresentando boas taxas de sobrevivência;
- 4) Apresentar conhecimento das faixas adequadas dos principais parâmetros de qualidade de água para que se possa implementar as condições de bem-estar dos indivíduos;
- 5) Ter suas necessidades nutricionais básicas conhecidas e que, de preferência, aceite ração artificial ou alimento vivo que seja de fácil produção e de baixo custo;

- 6) Ser pouco susceptível a doenças e que sejam conhecidas suas principais enfermidades e forma de tratá-las;
- 7) Apresentar relativa facilidade na obtenção de indivíduos da espécie. Espécies de importância econômica, normalmente, são de mais fácil aquisição em pisciculturas comerciais.

Ressalta-se ainda que muitos estudos podem ser realizados com espécies cujo único acesso é o ambiente natural. Nesse caso, deve ser considerada a solicitação das licenças ambientais, para captura e manutenção em biotérios. As recomendações para se trabalhar com esses animais estão descritas na Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA.

6.1. Tipos de instalações

Um ponto de grande importância para o estabelecimento de protocolos de manutenção em cativeiro e experimentação, que atendam requisitos mínimos de bem-estar, é o conhecimento da biologia da espécie em questão, que pode ter especificidades únicas. Assim, devem ser utilizadas instalações que levem ao bem-estar animal, de modo que as questões a serem respondidas nas pesquisas possam ser estudadas com segurança e confiabilidade nos resultados. A manutenção dos peixes, dependendo do estudo e características da espécie nos biotérios, ocorre em aquários de diferentes dimensões, “hapas”, “bags”, caixas d’água, tanques-rede e tanques escavados.

Conforme outras normas e recomendações do Concea, sempre que possível e necessário, devem ser proporcionados métodos de enriquecimento dos recintos, além de atentar às necessidades básicas de manutenção da qualidade da água, realizar controle das condições de oxigenação e temperatura e monitorar os fatores físicos e químicos da água, segundo os conhecimentos destes parâmetros para cada espécie e nas suas diferentes fases.

6.2. Exigências e condições para manutenção de peixes em biotérios

O Concea descreve, em suas normas, sobre as condições das salas de aquários para pesquisa ou ensino nas áreas biológicas ou biomédicas para os lambaris (*Astyanax altiparanae* e *Astyanax fasciatus*), as tilápias (gêneros *Tilapia*, *Coptodon*, *Sarotherodon* e *Oreochromis*) e o zebrafish (*Danio rerio*). Estes critérios podem ser adaptados para a utilização de outras espécies de peixes em condições experimentais, respeitando suas características de necessidades de condições ambientais, fisiológicas, comportamentais, proximidade taxonômica e de fase de desenvolvimento.

7. Analgesia, anestesia e eutanásia

Evidências anatômicas, fisiológicas, comportamentais, evolutivas e farmacológicas têm demonstrado que os peixes experimentam sentimentos como dor e medo, além de outros, de maneira similar aos demais vertebrados (HUNTINGFORD & WRIGHT, 1989; BRAITHWAITE & HUNTINGFORD, 2004; VOLPATO *et al.*, 2009; ROSE *et al.*, 2014). Assim, os peixes têm potencialmente a capacidade de sofrer e apresentar outros sentimentos, isto é, são seres sencientes (PEDRAZZANI *et al.*, 2007; RUCINQUE *et al.*, 2017). O aumento dos batimentos branquiais, a produção de feromônios de alarme, fuga imediata ou imobilização são alguns sinais que indicam que os peixes estão com medo. Em experimentação, ou mesmo em ambientes de fuga restrita ao animal, mudanças no ritmo e no padrão natatório, busca por refúgios, redução ou alteração no comportamento predatório e alimentar são algumas características comportamentais exibidas pelos peixes quando em situação de perigo ou estresse acentuado.

Durante o manuseio dos indivíduos, durante as práticas de campo, transporte ou mesmo na obtenção da biometria, uma maior movimentação deles pode promover ferimentos na pele e/ou perda de escamas, propiciando a manifestação de patógenos e/ou posterior morte.

O emprego de anestésicos que visem reduzir o stress, a dor ou mesmo imobilizar o animal durante os procedimentos em campo ou em laboratório e aqueles que visem promover a eutanásia de forma rápida e sem sofrimento têm sido tema de interesse e de pesquisas entre biólogos e ecólogos (FARNSWORTH & ROSOVSKY 1993; CUNHA *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2018; BALDISSEROTTO *et al.*, 2018). O uso de anestésicos, segundo normas do Concea, é imprescindível nos casos de eutanásia em coletas a campo ou em experimentos com peixes. No Brasil, segundo a Resolução Normativa do Concea no 37, o não uso de anestesia apenas é permitido, como método restrito, quando, por questões de comprovada incompatibilidade experimental, diante da total impossibilidade de uso de outros métodos que possam comprovadamente interferir nos resultados da pesquisa e o uso de anestésicos não for possível. Nestes casos deve-se usar um método físico que assegure rápida destruição do cérebro, por perfuração ou esmagamento após o atordoamento, reduzindo assim o sofrimento.

Para tanto, 2-phenoxyethanol tem sido utilizado como na anestesia leve, enquanto a benzocaína na anestesia profunda (INOUE *et al.*, 2004). Em outros casos o óleo de cravo, que tem como principal componente o eugenol (4-allyl-2-metox-yphenol) tem sido utilizado amplamente (GRIFFITHS 2000; SMALL 2004), devido à facilidade de ser

adquirido. Pesquisas têm sido desenvolvidas nos últimos anos avaliando a eficácia da anestesia e os possíveis efeitos em peixes com o uso de óleos essenciais (OEs) (CUNHA *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2018; BALDISSEROTTO *et al.*, 2018). Os resultados obtidos têm demonstrado que determinadas concentrações para cada espécie de peixe apresentam potencial para anestesia rápida e que a composição química do OEs promove diferentes efeitos sanguíneos e plasmáticos (SOUZA *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2017), reforçando que esforços devem ser empreendidos em mais essa alternativa de obtenção de anestésicos. Entretanto, os anestésicos mais comumente utilizados e que figuram entre os recomendados pelo Concea, são a benzocaína, o MS-222 (TMS ou metanosulfonato de triclaína), o eugenol e o óleo de cravo da Índia (Z AHL *et al.*, 2012; HAWKINS *et al.*, 2016; BRAZ *et al.*, 2017). Estes são de uso prático por serem empregados por diluição na água para agirem por imersão dos peixes a serem anestesiados e/ou eutanasiados.

Nos casos em que a eutanásia se faz necessária, seguir o preconizado pela Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - Concea e ainda, se necessário, consultar protocolos internacionais (BATT *et al.*, 2005; AVMA 2013), que descrevem cada agente e método necessário e adequado ao objetivo da pesquisa ou atividade em que o peixe será submetido.

Para experimentos em que há incompatibilidade experimental no uso de superdosagem de anestésicos para a eutanásia, devido ao comprovado comprometimento dos resultados do estudo ou contaminação química dos tecidos, e para aqueles que porventura a carcaça será destinada ao consumo humano, é possível o emprego, embora aceito com restrição, da percussão mecânica (pressão e perfuração da cabeça atingindo o cérebro), da eletrocussão e da insensibilização por secção de medula, seguida por sangria das brânquias (PEDRAZZANI *et al.*, 2008). Esses métodos promovem uma insensibilização rápida dos peixes e devem ser conduzidos por pessoa experiente, aplicada com precisão e técnica, atingindo o local e a intensidade correta e permitindo a eutanásia imediata.

Em situações específicas, mais de um método de eutanásia pode ser empregado por profissional habilitado e, após o procedimento, é importante realizar a confirmação da morte, evitando assim sofrimento numa eventual recuperação do indivíduo.

Destaca-se ainda que, em experimentos em que seja necessária a implantação de marcas ou chips, o uso de anestésico deve ser implementado e o procedimento realizado por profissional experiente. Estes devem ser adequados à espécie e ao tamanho/peso do indivíduo de tal forma que não produza dor, sofrimento, estresse ou que não provoque redução das habilidades do indivíduo, produzindo maior risco de predação.

8. Métodos alternativos

Com base no princípio dos 3R de origem da língua inglesa (*Replace*: Substituição, *Reduce*: Redução e *Refine*: Refinamento), que visa minimizar o uso de animais em experimentação e sob a luz do principal objetivo de aplicação de reduzir a dor, o sofrimento e a morte dos organismos, sempre que disponível, métodos alternativos que visem substituir o uso de peixes para pesquisa e ensino devem ser utilizados. Métodos observacionais são amplamente estimulados, embora seja sabido que para determinados estudos a presença do investigador pode ser um fator determinante nos resultados da pesquisa.

Métodos de marcação e recaptura também podem ser uma alternativa na redução do número de indivíduos mortos, entretanto devem ser escolhidos dentre aqueles que não produzam prejuízo ao organismo, como dor e medo, não aumentem os riscos de predação ou afetem a escolha do parceiro e conseqüentemente o sucesso reprodutivo (FARNSWORTH & ROSOVSKY 1993).

Nem sempre, porém, os métodos alternativos substituem totalmente o estudo no organismo. Alguns deles tornam os experimentos mais precisos, de forma a diminuir o número de organismos a serem utilizados no experimento em campo, laboratório ou mesmo empregados para o ensino.

Coletar e armazenar dados permitirá em breve a elaboração de uma base de dados que auxiliará na elaboração de modelos para redução da quantidade de peixes a serem sacrificados para fins de conservação e estudos de biologia e ecologia. A viabilidade de uma análise de *big-data* foi explorada em um conjunto de informações referentes ao uso de mamíferos (ratos, cobaias, coelhos, cães e macacos) em toxicologia e os resultados obtidos demonstraram ser um poderoso método analítico (CLARK & HARTMANN 2018). Embora estes bancos de dados estejam em crescimento contínuo, é necessário que mais pesquisas sejam implementadas em biomas e ecossistemas ainda não estudados e cuja composição de espécies é ainda desconhecida.

Por outro lado, os peixes têm sido empregados como modelos alternativos em pesquisas com roedores, como é o caso do paulistinha ou zebrafish, *Danio rerio* (REIS-PINTO et. al, 2012; MUSSULINI et al., 2013). Estes organismos, de crescimento rápido, preenchem uma lacuna importante no estudo de doenças humanas e para a análise e seleção de compostos candidatos a medicamentos. Para tanto, os procedimentos aqui destacados também devem ser aplicados aos animais utilizados em experimentação laboratorial. Este campo deve ampliar-se nos próximos anos, uma vez que biotérios têm sido implementados nas instituições para criação e crescimento.

9. Ensino

É de fundamental importância que estudantes, dos diferentes níveis de formação, sejam orientados sobre a ciência e suas implicações, especialmente no que se refere ao bem-estar e eutanásia dos peixes (PEDRAZZANI *et al.*, 2008). Desta forma, torna-se imprescindível que seja fomentada a inserção no ensino de temas relacionados às noções básicas de bem-estar animal, no que se refere às boas práticas de amostragem e manejo e dissecação (quando necessário), conforme regulamentações do Concea. Devem ser incentivadas e buscadas constantemente, e sempre que possível, alternativas que substituam os animais por modelos, vídeos, fotos, organismos fixados ou conservados.

Neste sentido, destacam-se os seguintes pontos a serem considerados:

- 1)** Enfatizar a importância do bem-estar animal;
- 2)** Relacionar os conceitos morais, éticos e a ciência animal à interação homem-animal;
- 3)** Orientar sobre a avaliação do bem-estar animal durante as futuras atividades profissionais relacionadas à pesquisa e ao ensino;
- 4)** Informar sobre a legislação relacionada ao bem-estar animal de animais de experimentação em laboratório e silvestres;
- 5)** Divulgar as tendências nacionais e internacionais sobre o tema;
- 6)** Estimular uma postura crítica nos temas relacionados ao bem-estar animal no que concerne à captura, manejo, experimentação e eutanásia;
- 7)** Buscar a otimização do uso do mesmo animal em atividades de ensino e/ou pesquisa, depois de alcançado o objetivo fundamental de um projeto.

10. Considerações finais

Tendo em vista tudo o que foi mencionado acima, temos a considerar que várias preocupações são relevantes na coleta, utilização e manuseio de peixes de vida livre. A principal delas é retirar o animal do seu ambiente natural apenas quando necessário, com propósitos planejados e calculados. Sempre que for preciso fazê-lo, seguir as orientações fornecidas pela legislação, solicitar as licenças dos órgãos ambientais e as autorizações dos atores diretamente relacionados com o ambiente ou animais a serem explorados. Isso deve ser considerado em todos os casos, desde a coleta com eutanásia, com manipulação e retorno ao ambiente, ou captura e transporte de animais vivos. A legislação sobre Espécies Exóticas e Espécies Ameaçadas também devem ser consideradas, além das já elencadas aqui no que se refere às espécies, em adição às referentes às Unidades de Conservação, tanto em níveis Federal, Estadual, Municipal ou Privado, que devem ser rigorosamente obedecidas para os ambientes. Todos os projetos envolvendo qualquer etapa com animais em vida livre devem ser previamente submetidos e aprovados pelos respectivos CEUAs (BUCHANAN *et al.*, 2012).

HERPETOFAUNA

AUTORES:

Rafael Martins Valadão Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Isaiás José dos Reis Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

Rafael Antônio Machado Balestra Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Carlos Roberto Abrahão Universidade estadual de Londrina

Ana Paula Gomes Lustosa Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Augusto de Deus Pires Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

1. Introdução

A herpetologia é o ramo da zoologia que estuda os anfíbios e os répteis (STORER *et al.*, 2003). Os anfíbios (Classe Amphibia) são representados mundialmente por 8366 espécies viventes, a maioria representadas por sapos, rãs e pererecas (7387 espécies da Ordem Anura), seguidos em número de espécies pelas salamandras (766 espécies da Ordem Caudata) e as cobras cegas ou cecílias, que são representadas pela ordem Gymnophiona, com 213 espécies viventes (FROST 2021). Desse total, foram registradas para o Brasil 1188 espécies, sendo 1144 sapos, 5 salamandras e 39 cobras-cegas (SEGALLA *et al.*, 2021).

Os répteis, por sua vez, representam 11.570 espécies viventes apropriadamente descritas pela ciência. Esse grupo animal é representado pelos crocodilianos (26 spp), quelônios (361 spp), tuatara (1 sp), lagartos (7.059 spp), anfisbenas (202 spp) e serpentes (3.921 spp) (Uetz & Hošek 2021). No Brasil são registradas 795 espécies de répteis, com representantes de todos os grupos, exceto tuatara, representado por uma única espécie semelhante a um lagarto e restrita a região da Nova Zelândia. O Brasil é o terceiro país do mundo em diversidade de répteis (UETZ & HOŠEK 2018), representado por 6 espécies de jacarés (Ordem Crocodylia), 36 quelônios e 799 esquamados (Squamata), grupo animal formado pelos “lagartos” (276), serpentes (405 spp) e cobras-de-duas-cabeça (72 spp) (COSTA & BÉRNILS 2018).

Diante dessa grande diversidade de espécies, hábitos de vida e ambientes que usam, a herpetofauna oferece uma gama de possibilidades de estudos relacionados a seus grupos animais. Dessa maneira, nosso objetivo aqui é apresentar de maneira sucinta: **1.** Legislação vigente referente às autorizações e licenças para estudos e atividades didáticas com anfíbios e répteis silvestres em vida livre; **2.** métodos de captura; **3.** Contenção, transporte e manutenção temporária (coleta - curto espaço de tempo); **4.** Marcação; **5.** Soltura; e **6.** Eutanásia; e **7.** Considerações éticas e populacionais, indicando os principais métodos utilizados no Brasil, boas práticas na aplicabilidade do método e suas restrições, visando sobretudo priorizar o bem-estar animal objetivando minimizar o sofrimento animal (dor e estresse).

2. Legislação vigente referente às autorizações e licenças

2.a) Lei nº 11.794 de 08 de outubro de 2008: Essa Lei, conhecida como Lei Arouca, ao estabelecer os procedimentos para o uso de animais, sejam eles silvestres ou domésticos, para fins científicos e/ou didáticos, dispõe que, no caso de atividades educacionais, as mesmas ficam restritas a duas situações distintas: em estabelecimentos de ensino superior e em estabelecimentos de educação profissional técnica de nível médio circunscritos à área biomédica. A partir desse marco legal, o conjunto de legislação voltada à regulamentação do uso de animais em pesquisa científica e ações educacionais se pauta nos pressupostos emanados no mesmo, de modo a manter um nexos legal.

2.b) Lei nº 13.123 de 20 de maio de 2015: Essa Lei, conhecida como Lei de Acesso à Biodiversidade, dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade; revoga a Medida Provisória no 2.186-16, de 23 de agosto de 2001; e dá outras providências. Para tanto, essa Lei cria o SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado), sendo que tal Sistema se constitui em uma ‘Plataforma Eletrônica de Cadastramento Obrigatório’, de todas as pesquisas, experimentais ou teóricas, realizadas com o patrimônio genético brasileiro. Tal Plataforma foi criada pelo Decreto Regulamentador da Lei da Biodiversidade, a saber, o Decreto nº 8.772/2016. Consta que o SisGen está disponível na página do Ministério do Meio Ambiente e o link para o manual de uso é https://sisgen.gov.br/download/Manual_SisGen.pdf.

2.c) Ao criar e implantar o Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio): O ICMBio estabelece as normas sobre a realização das seguintes atividades, com finalidade científica ou didática, no território nacional, na plataforma continental, no mar territorial e na zona econômica exclusiva:

- Captura ou marcação de animais silvestres *in situ*;
- Manutenção temporária de espécimes silvestres em cativeiro;
- Transporte de material biológico (no território nacional, quando o mesmo é oriundo de pesquisa autorizada no SISBio);

→ Realização de pesquisa em UC Federal e/ou em Caverna Natural Subterrânea.

2.d) Em vista da proibição dada pela Lei Arouca, no tocante ao fato de que o uso de animais em atividades educacionais somente podem ser realizadas no escopo do ensino superior e/ou no escopo do ensino profissional técnico de nível médio, na área biomédica, O Concea editou normativa para possibilitar que os centros públicos ou privados, que realizam procedimentos em animais vivos, em atividades de ensino, extensão, capacitação, treinamento, transferência de tecnologia, ou quaisquer outras com finalidade didática, possam atuar. E tal atuação somente será possível por meio da vinculação de tais centros ao Concea, mediante a formalização de instrumentos de cooperação com instituição de ensino previamente credenciada ao Concea.

2.e) O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis - IBAMA e o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio estabelecem, em suas normativas, os procedimentos para o uso compartilhado de informações e para a complementaridade das ações no que se refere ao manejo e à conservação da fauna silvestre, notadamente no que concerne no manejo de populações de fauna silvestre em vida livre, muito comum quando se trata, por exemplo, do manejo *in situ* de populações de quelônios amazônicos e de populações *in situ* de jacarés. Essas normativas preveem, inclusive, que o uso compartilhado de informação poderá abranger inclusive o seu aproveitamento para o licenciamento ambiental e para o controle sobre os recursos faunísticos exercidos pelo IBAMA e para as ações de autorização, monitoramento e conservação da biodiversidade promovidas pelo ICMBio. Conceitua, também, o PLANO DE MANEJO DE FAUNA EM VIDA LIVRE da seguinte forma: “instrumentos de gestão aprovados pelo IBAMA a serem utilizados no ordenamento das ações para o manejo da fauna silvestre não ameaçada de extinção em vida livre visando o uso ou o controle populacional das espécies da fauna silvestre ou exótica, bem como ações para retorno à natureza, introdução, reintrodução e monitoramento”.

2.f) A DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM ATIVIDADES DE ENSINO OU DE PESQUISA CIENTÍFICA – DBCA tem como finalidade apresentar os princípios e as condutas que permitem garantir o cuidado e o manejo eticamente correto de animais produzidos, mantidos ou utilizados em atividades de ensino ou de pesquisa científica. Esta diretriz traz orientações para pesquisadores, professores, estudantes, técnicos, instituições, Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUAs e todos os demais envolvidos no cuidado e/ou no manejo de

animais produzidos, mantidos ou utilizados em atividades de ensino o de pesquisa científica.

2.g) A legislação do CFBio dispõe sobre os procedimentos que são recomendáveis, no caso do profissional biólogo, no tocante às ações de captura, contenção, marcação, soltura e coleta de animais vertebrados *in situ* e *ex situ*, e dá outras providências. Interessante ressaltar que: “A coleta de espécime animal, quando for imprescindível ao alcance dos objetivos dos estudos, pesquisa, atividades de ensino e serviço em geral deve ser realizada com minimização do sofrimento, por meio de métodos que produzam inconsciência rápida e subsequente morte sem evidência de dor ou agonia, ou utilizando anestésicos em doses suficientes para produzir a perda indolor da consciência, seguida de parada cardiorrespiratória. São listados os métodos inaceitáveis, quando o objetivo é a morte com o mínimo de sofrimento ao animal. São eles: **a)** embolia gasosa, **b)** traumatismo craniano, **c)** incineração *in vivo*, **d)** hidrato de cloral (para pequenos animais), **e)** cloreto de potássio sem anestesia profunda, **f)** clorofórmio, **g)** gás cianídrico e cianuretos, **h)** descompressão, **i)** afogamento, **j)** exsanguinação (sem sedação prévia), **k)** imersão em formalina e álcool, produtos de limpeza, solventes e laxativos; **l)** bloqueadores neuromusculares (uso isolado de nicotina, sulfato de magnésio, cloreto de potássio e todos os curarizantes), **m)** estricnina, **n)** decapitação (exceto roedores de laboratório e peixes com utilização restrita e justificada), **o)** congelamento rápido sem anestesia profunda; **p)** hipotermia e resfriamento (excetos em peixes, anfíbios e répteis).

2.h) As resoluções do CFMV e do CFBio também dispõem, no tocante a atuação do Médico Veterinário e dos Biólogos, sobre os procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências.

3. Métodos de captura

Na maioria dos estudos com anfíbios e répteis, seja para inventários, monitoramento, obtenção de material biológico para caracterização da dieta, determinação de condições sanitárias, estudos genéticos, dentre tantos outros processos de investigação científica com o grupo, a captura se faz necessária para correta identificação da grande maioria das espécies.

Durante os procedimentos de captura é de grande relevância destacar que, além de conhecer o método, sua aplicabilidade exige responsabilidade e cuidado, visando garantir o bem-estar tanto animal, quanto dos pesquisadores e auxiliares de campo, já que a herpetologia agrupa indivíduos com potencial de causar acidentes graves, como no caso de alguns anfíbios que secretam substâncias tóxicas, serpentes peçonhentas e crocodilianos.

Considerando a diversidade desses animais e variação dos ambientes ocupados pelos anfíbios e répteis, diversas são as metodologias de captura e, muitas vezes, em estudos como inventários e ecologia de comunidades, é necessária a combinação de diversas dessas metodologias bem como a adaptação dos métodos citados abaixo para um ambiente em específico. Destaca-se a importância e a necessidade de esterilização dos materiais envolvidos na captura e manejo dos animais para evitar a disseminação de parasitos potenciais causadores de doenças, como por exemplo o fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), descrito como sendo a causa da alta mortalidade e do declínio populacional de algumas espécies de anfíbios (*Canadian Herpetofauna Health Working Group 2017*)

3.a) Busca Ativa

Descrição do método: O método consiste no pesquisador móvel que busca, nos mais variados ambientes, as espécies de anfíbios e répteis. Dependendo do objetivo do estudo, pode-se ater somente aos espécimes visíveis no ambiente ou realizar uma procura mais detalhada em abrigos em rochas, serapilheira, termiteiros, troncos podres, entre raízes, no interior de bromélias, dentre outros. Além disso, ela pode ou não ser delimitada por tempo pré-estabelecido (Procura Livre Limitada por Tempo – PLT); por um transecto (Transecções lineares) de comprimento pré-estabelecido; em quadrantes ou parcelas (delimitados ou não por lona plástica ou tela tipo “mosquiteira” e considerando-se (ou não) registros auditivos.

É uma das principais metodologias para amostragem de anfíbios, serpentes e crocodilianos, sendo uma

metodologia complementar em estudos com quelônios, sobretudo espécies terrestres; lagartos e cobras-de-duas-cabeças.

Para anfíbios utiliza-se, normalmente, a captura manual para adultos. Para inventários de estágios larvais o uso de peneiras e/ou puçás são fundamentais. O mesmo é realizado para serpentes não peçonhentas e filhotes de crocodilianos. Já para as espécies com risco de acidente ofídico de interesse médico, são utilizados para auxílio da captura os ganchos metálicos, pinçães e laço. Esses dois últimos petrechos de captura devem ser utilizados com cautela e por pesquisadores com experiência na aplicabilidade do método, sobretudo na captura de serpentes e grandes lagartos, já que podem ferir e até causar a morte do animal por estrangulamento ou lesão cervical (laço). Já para crocodilianos de maior porte, laço é o método mais indicado para captura, o qual é formado por um cabo de aço preso em uma corda longa e resistente a tensão, para que o animal seja subjugado da maneira mais segura e adequada, tanto para o pesquisador quanto para o animal.

Boas práticas: O pesquisador na aplicação desse método deve primar pelo cuidado durante o manuseio dos espécimes, pois, na maioria dos casos são organismos sensíveis. Cuidados especiais devem ser dados às salamandras e aos lagartos, os quais costumam apresentar o comportamento de autotomia (perda da cauda) em caso de estresse agudo, o que tem efeito na sobrevivência do animal após soltura, comportamento reprodutivo e interações de dominância com outros indivíduos da mesma espécie. O uso de luvas tipo raspa de couro (serpentes, lagartos e crocodilianos), luvas descartáveis (demais espécies). No caso de estudos nos quais se faz necessária uma busca mais minuciosa, no momento de se revirar troncos e rochas, aconselha-se que as mesmas sejam devolvidas na posição original, pois ainda que o(s) animal(ais) seja(m) capturado(s) (anfíbio ou réptil), certamente o abrigo é compartilhado com outras espécies que não são alvos do estudo. No caso da vasculha em bromélias é altamente recomendável que se altere o mínimo possível o ambiente, tendo em vista que a remoção das bromélias e a coleta das mesmas é uma prática inaceitável, com exceção dos casos em que a identificação da planta seja um objetivo do estudo. Destaca-se ainda que se o espécime localizado for eventualmente coletado, a bromélia tornar-se-á um nicho vago a ser ocupado por outro espécime e, certamente, é um recurso limitante e muito importante para as espécies bromelícolas no local.

Sobretudo em estudos com anfíbios, o uso de repelentes de insetos e protetores solares nas áreas das mãos deve ser utilizado com cautela, já que a pele altamente permeável desses animais, para a maioria das espécies, os torna particularmente sensíveis a esses produtos. Cabe destacar ainda as toxinas presentes na pele de algumas espécies, nesses casos, tanto para o pesquisador como para as espécies capturadas posteriormente, indica-se o uso

de luvas descartáveis que devem ser trocadas após a captura de animais cuja toxina é reconhecidamente prejudicial a outras espécies.

3.b) “Viração”

Descrição do método: Essa é uma variação do método de busca ativa direcionado exclusivamente para quelônios, sobretudo do gênero *Podocnemis*. O método é aplicado em praias de desova nas quais as fêmeas são posicionadas, após término da desova, em decúbito dorsal com o objetivo de impedir que voltem ao curso d’água. Esse método é comumente utilizado quando o objetivo de estudo está relacionado à caracterização de padrões reprodutivos dessas fêmeas, relações alométricas entre os animais e seus ninhos, bem como relações genéticas, parasitológicas e/ou ecotoxicológicas entre fêmeas e seus respectivos filhotes.

Boas práticas: Deve-se impactar ao mínimo o comportamento das fêmeas nas áreas de desovas, de maneira que o acampamento, iluminação e ruído nessas áreas devem ser minimizados. Além disso, as fêmeas devem ser “viradas” somente após o término do processo de desova, que pode durar até três horas a partir da escolha do local do ninho até o completo fechamento do mesmo. O período em decúbito dorsal da fêmea deve ser o menor possível, já que se trata de uma posição na qual o animal apresenta dificuldade no processo respiratório, sobretudo em um momento de exaustão animal devido ao processo de desova e alto estresse devido a vulnerabilidade do animal em terra. O número de fêmeas viradas por noite deve ser programado de maneira que se termine todo processo investigativo até, no máximo, o meio da manhã, pois devido as altas temperaturas a partir desse horário e o superaquecimento pode ser fatal. Casos de óbito de alguns animais, cujo número de “virações” foi superior à capacidade de processamento pela equipe, não são tão raros. Após o fim dos procedimentos é altamente recomendável que os animais sejam liberados às margens do rio e sejam acompanhados até total submersão na água.

Restrições: Frente ao impacto desse método no processo reprodutivo da espécie, recomenda-se seu uso exclusivamente em estudos cujo objetivos estejam relacionados a aspectos da biologia reprodutiva.

3.c) Pesquisa e/ou manejo conservacionista com ovos e filhotes

Descrição do método: Em quelônios, os trabalhos de pesquisas/manejo estão relacionados ao monitoramento e manejo de ovos e filhotes de espécies de quelônios amazônicos da família Podocnemididae ou do gênero *Trachemys* na região sul, sendo raras essas práticas para outras espécies brasileiras.

Pressupõe-se que o sistema natural de reprodução de quelônios seja o mais adequado para as espécies, por ter evoluído por seleção natural nos últimos milhões de anos. Assim, a técnica de transferência de ninhos em atividades de manejo deve ser adotada como estratégia de conservação exclusivamente em casos extremos, nos quais é possível a manutenção *in situ* dos ninhos de populações localmente ameaçadas pelo processo de predação dos ninhos ou risco de alagamento dos mesmos, e conseqüente morte por afogamento dos filhotes.

Em casos de populações nas quais grande número de fêmeas desova em poucas praias (“tabuleiros de desova”), o trabalho de vigilância dos ninhos visando impedir a predação humana é facilitado. Porém, em locais nos quais as populações estão localmente ameaçadas é necessário o salvamento do maior número possível de ninhos. Os ninhos sujeitos a inundações repentinas (repiquetes) ou em locais de alagamento por influência de marés, podem ser salvos pela transferência para áreas mais altas, mas na mesma praia de origem.

Existem casos nos quais o objetivo da investigação científica necessita de um controle especial, no qual o objetivo é relacionar dados da fêmea aos seus respectivos filhotes. Visando um melhor controle do experimento, a transferência de ninhos ou coleta de ovos para incubação artificial é recomendada.

Diversos artigos têm demonstrado que a transferência de ninhos realizada em áreas comprovadamente alteradas permite protegê-los contra a predação humana e de eventuais predadores, aumentando a taxa de eclosão dos filhotes. Em algumas dessas áreas, caso nenhuma proteção for realizada, a predação pode variar de 87,7% a 100% dos ninhos.

A transferência de ovos de quelônios do local de desova para um diferente local de incubação está sujeita a três principais problemas que podem afetar o sucesso da eclosão e o desempenho dos filhotes:

→ A morte do embrião é causada por movimentos bruscos de rotação dos ovos, que rompem a fixação do embrião em relação à câmara de ar do ovo. Esse problema pode ser evitado se alguns cuidados forem tomados.

→ Alteração da razão sexual e redução da sobrevivência dos filhotes pelas novas condições ambientais. Em quelônios, diversas condições do micro-habitat do ninho podem afetar características dos filhotes como sexo, tamanho, mobilização de nutrientes, capacidade natatória, sobrevivência, entre outros. Se os cuidados forem tomados durante a transferência o problema é minimizado ou evitado.

→ Os filhotes, quando adultos, não conseguem retornar a seus locais de nascimento para a desova. O desenvolvimento de técnicas moleculares na década de 1990 comprovou não só que as fêmeas de tartarugas marinhas retornavam anualmente às mesmas praias para desovar, como também que essas eram as praias onde elas tinham

nascido. Acredita-se que o mesmo ocorra com os quelônios da Amazônia da família Podocnemididae. Caso seja verdade, a transferência de ninhos para “maternidades” distantes da praia de nascimento compromete o comportamento desses quelônios.

É importante ressaltar que outros problemas oriundos da transferência de ninhos de quelônios podem ocorrer. Recentemente, foi descoberto que as “tartarugas-da-amazônia”, bem como outros quelônios, apresentam complexo sistema de comunicação por som, incluindo o cuidado parental pós-eclosão, por meio da agregação de filhotes com adultos para a migração em massa. Essa migração em massa pode ser para proteger os filhotes, pois dilui a pressão de predação. Sendo assim, a transferência de ninhos para locais artificiais de incubação e a posterior soltura dos filhotes longe de sua praia de origem podem aumentar a predação de filhotes, por causa da ausência de adultos durante a migração.

Outro problema relacionado à prática de translocação de ninhos é a seleção negativa de filhotes. Fêmeas de tartarugas diferem em sua preferência de local de nidificação. Se os ninhos que foram transferidos são de fêmeas que nidificam em áreas sujeitas à inundação, é possível que isso influencie a pressão de seleção dos filhotes, alterando o pool gênico da população. A descendência de fêmeas que desovam em áreas passíveis de alagamento, que poderia ser eliminada, passa a ter significativa representação para as gerações seguintes.

A fim de evitar a mortalidade embrionária induzida pela movimentação dos ovos, a transferência deve ser realizada nas primeiras 24 horas após a postura. Em situações em que não for realizada a transferência nesse período, mas existir possibilidade de alagamento dos ninhos, antes da eclosão dos filhotes, deve-se optar por deixar o ninho intacto o máximo de dias possível, até que passe o período crítico de 28-29 dias. Após o 30º dia de incubação, o risco de danos com a transferência dos ninhos é novamente reduzido. Não é exatamente a movimentação dos ovos que causa a mortalidade embrionária, mas a rotação ou vibração brusca.

Ovos de quelônios são suscetíveis à desidratação. Portanto, a transferência dos ninhos deve ser realizada nas horas mais frias do dia – entre 5 e 9 da manhã ou após as 17 horas. Preferencialmente, a coleta e a transferência dos ovos devem ser realizadas sequencialmente, no menor tempo possível. No entanto, nos casos em que não for possível transferir os ovos logo após a coleta, esses devem ser guardados em uma caixa de isopor, em local fresco, e a transferência realizada nas horas com temperatura amena. O ninho a ser transferido deve ser aberto cuidadosamente, bem como a retirada dos ovos. Os ovos não podem sofrer agitações ou vibrações bruscas, pois esses fatores podem causar o deslocamento dos embriões.

O transporte dos ovos deve ser realizado preferencialmente em caixas de isopor de até 25 litros, nas horas de temperatura mais amena. Para evitar que os ovos balancem durante o transporte devem ser posicionados, desde o fundo da caixa, sobre camadas de vermiculita, areia (preferencialmente, do próprio ninho), capim seco ou embalagens de ovos de galinha. Os ninhos não devem ser misturados.

A abertura de novas cavidades para o transplante dos ninhos também deve ser realizada nas horas mais frias do dia. A areia quente e solta da área a ser escavada deve ser retirada e, caso necessário, molhada. Para a abertura dessa cavidade pode ser utilizada uma cavadeira até a profundidade recomendada para a espécie. Em seguida, fazer o acabamento da câmara do ninho, utilizando as mãos, para dar o formato de uma bota onde serão colocados os ovos. A câmara deve ser construída com as características do ninho natural.

A profundidade de cada cavidade destinada ao transplante do ninho varia de acordo com a espécie e o tamanho da fêmea. Ninhos de *Podocnemis erythrocephala* devem ter profundidade de 20 cm, de *Podocnemis sextuberculata* 25 cm, de *Podocnemis unifilis* de 25 a 30 cm e de *Podocnemis expansa* de 80 a 100 cm de profundidade. O diâmetro das câmaras deve ser em torno de 20-25 cm. O ideal é que em cada região seja utilizada a média local para as profundidades e diâmetro/largura das câmaras dos ninhos.

O transplante dos ninhos deve ser feito nas horas mais frias do dia. Os ovos devem ser retirados das caixas de isopor e transplantados na câmara do novo ninho com o máximo cuidado. Os ovos devem ser colocados na mesma posição em que se encontravam e na ordem inversa em que foram retirados do ninho natural. Ovos de diferentes ninhos não devem ser misturados. Para o fechamento do ninho artificial, primeiro colocar a areia úmida (que estava no fundo do ninho) e cobrir os ovos, totalmente, sem nenhuma pressão.

O tempo médio de incubação da *P. expansa* é de 50 dias, de *P. unifilis* é de 60 e de *P. sextuberculata* é de 65 dias. Quando os filhotes estão próximos da eclosão, saem dos ovos e permanecem na câmara do ninho por 5 a 7 dias. Durante esse período, é possível identificar os ninhos nos quais os filhotes já saíram dos ovos, devido ao afunilamento da areia no topo do ninho. Alguns projetos de quelônios aceleram a saída dos filhotes, que são retirados dos ninhos nesse momento. Essa estratégia de manejo, mesmo não sendo recomendada, permite a contagem dos filhotes nascidos vivos naquele ninho.

Tendo em vista que, em algumas localidades, *P. expansa* apresenta cuidado parental, já que as fêmeas “esperam” os filhotes na beira da praia de desova, a soltura dos filhotes manejados, independentemente se oriundos de ninhos naturais ou transferidos, deve ser feita prioritariamente nesse local. Para facilitar essa logística, os filhotes

de diversos ninhos podem ser soltos, juntos, na praia onde tiver ocorrido o maior número de coleta de ninhos. Caso a coleta tenha sido feita em grande área, será necessária a escolha de diversas praias de soltura, dando preferência àquelas com maior número de ninhos.

Apesar de controversa no meio acadêmico, essa técnica tem garantido aumento dos estoques populacionais em vários locais onde foi adotada, merecendo ser considerada em programas de conservação de quelônios amazônicos da família Podocnemididae. Ressalta-se que a estratégia de conservação ideal de proteção de ninhos de quelônios é mantê-los nos locais originais. Quando não é possível adotar essa estratégia, deve-se optar pela transferência dos ninhos ameaçados para áreas da praia original. Somente nos casos em que nenhuma das opções é possível, deve-se optar pela transferência para praias artificiais. O cuidado na transferência do ninho, evitando horários quentes do dia, movimentos bruscos dos ovos e transplante em área inadequada para a incubação dos ovos, é fator crucial para o sucesso dessa técnica. É importante lembrar que a disponibilidade e o interesse da comunidade devem ser considerados no momento de decidir qual estratégia será utilizada, sendo que essa decisão deve ser tomada em conjunto com os agentes de praia e os comunitários interessados.

Para crocodilianos, tanto nos estudos sobre biologia reprodutiva com ninhos como no manejo conservacionista com espécies localmente ameaçadas, todo o processo de investigação deve impactar o mínimo possível a área de estudo e os ninhos. Considerando o cuidado parental da fêmea durante todo o período de incubação dos ovos bem como após a eclosão dos filhotes, é muito importante para o sucesso reprodutivo da espécie que a translocação de ovos não seja realizada exclusivamente em áreas de alagamento potencial de ninhos, mas também em regiões com altas taxas de predação por animais domésticos nas quais as populações de crocodilianos estejam ameaçadas e sua incubação deve ser realizada em ambiente controlado, como em estudos relacionados a biologia reprodutiva na qual a coleta de ovos no ninho é fundamental.

3.d) Monitoramento de sítios reprodutivos de quelônios

O objetivo do monitoramento de sítios reprodutivos em quelônios é realizar pesquisas relacionadas à amostragem e monitoramento de ninhos, ovos e filhotes, sobretudo para espécies de Podocnemididae.

Monitorar o sítio reprodutivo mais importante e acessível da região de acordo com a espécie de interesse do monitoramento. A(s) espécie(s)-alvo será(ão) definida(s) via de regra considerando aquela(s) que seja(m) mais abundante(s) ou utilize(em) sítios reprodutivos relativamente próximos à(s) comunidade(s) envolvidas nos projetos/programas,

quando for o caso e, eventualmente, constituam espécie(s) que possa(m) sofrer maior pressão de uso. Sem precedente de proteger o local, o indicador principal é o número de ninhos da(s) espécie(s)-alvo, por meio de contagem direta de ninhos no(s) sítio(s) reprodutivo(s) monitorado(s).

Deve-se percorrer toda a extensão do sítio reprodutivo ou até três km, fazendo busca ativa durante o período de maior número de desovas da(s) espécie(s)-alvo, que via de regra consiste no terço médio do período de nidificação (pico de desova), mas que em cada localidade deverá ser reconhecido com base na observação de séries históricas de desovas na região. Pelas manhãs ou finais da tarde, por 15 dias sequenciais durante o pico do período de desova da espécie, os ninhos devem ser contados.

Para esse objetivo do “componente sítios reprodutivos de Podocnemididae”, predita-se a marcação de uma amostra de ninhos para acompanhamento dos mesmos até a eclosão dos ovos. Recomenda-se a visita periódica aos sítios de desova para registro da situação dos ninhos: ninho alagado, ninho predado, ninho coletado/extraído, ninho com ovos eclodidos ou filhotes emergidos. Na sequência recomenda-se abrir os ninhos, de preferência aqueles cujos filhotes já emergiram para evitar o manuseio de eventuais imaturos, com isso deve-se contabilizar os ovos que eclodiram ou não, dos filhotes eclodidos vivos (utilizar as cascas para contar, caso os filhotes tenham emergido do ninho), filhotes eclodidos e mortos (natimortos).

Recomenda-se que a amostragem seja de até 45 ninhos, ou para distribuir em uma área (“especializar”) o sítio pode-se dividir a área de desova em três partes para marcação dos 15 primeiros ninhos encontrados de cada trecho durante o período de desova, seguindo o melhor período com maior (pico) abundância de ninhos, para posteriormente os mesmos serem abertos após 60 dias de incubação (a depender da espécie escolhida) contados desde a postura. Anualmente, deve-se fazer o acompanhamento dos indicadores “número de ninhos, número de ovos e a taxa de sucesso de eclosão dos ovos” do sítio reprodutivo escolhido para o monitoramento.

3.e) Armadilhas de Interceptação e Queda (AIQ)

Descrição do método: Também chamado de *pitfall traps*, essa técnica de captura consiste em recipientes enterrados no solo, que podem ser interligados por uma cerca-guia também enterrada no solo. A disposição, suas dimensões volumétricas e número de recipientes utilizados varia de acordo com o objetivo do estudo, sendo a metodologia mais comum para estudo com anfíbios, lagartos, cobras-de-duas-cabeças e serpentes terrestres. Dentre as vantagens do método está a captura de animais raramente capturados pelo métodos de busca ativa, como pequenos

lagartos e anfíbios de folhiço, espécies com hábitos semi-fossoriais e espécies cuja camuflagem dificulta sua detecção visual indicada como metodologia complementar em estudos com quelônios terrestres e semi-aquáticos, que possuem o hábito de se deslocarem entre cursos d'água temporários ou apresentarem o comportamento de estivarem nos períodos mais secos do ano em regiões semiáridas.

Boas práticas: Além das indicadas no item 2.a, a periodicidade de vistoria das armadilhas, sendo obrigatório no mínimo uma vistoria diária, preferencialmente nas primeiras horas do dia; e idealmente duas vistorias, sendo uma ao final da tarde. Destaca-se também os cuidados com a armadilha, no caso de amostragens em ambientes ensolarados, indica-se o sombreamento do balde, normalmente, nesses casos, utiliza-se a tampa do balde apoiada sobre uma estrutura de madeira sobre o balde para proporcionar o sombreamento nas horas mais quentes do dia. Além disso, em regiões com sazonalidade marcada (Caatinga, Cerrado, Pantanal, por exemplo) indica-se o uso de um recipiente com água no interior do balde nos períodos mais secos do ano, alternativamente pode se utilizar galhos de folhas verdes para manter a umidade local e servir de abrigo para as espécies nos horários de maior exposição solar. No período chuvoso a água deixa de ser um fator limitante e passa a ser um risco aos espécimes presentes nos recipientes, já que, em caso de acúmulo no interior dos baldes o risco de afogamento é alto. Como método aplicado para minimizar esse risco indica-se o uso de recipientes com pequenos furos, de maneira a permitir o escoamento do excesso de água e não permitir a fuga de animais vermiformes de pequeno porte, quando instalados em ambientes não alagados, além do uso de alguma placa flutuante (cortiça ou isopor) para que o animal possa se apoiar até que a água escoe (em caso de recipientes furados) ou até a chegada do pesquisador para vistoria, que deve ser repetida após uma chuva forte. Durante a operação da metodologia, recomenda-se a retirada de todos os detritos do interior do recipiente e, quando for o caso, escoamento do excesso de água. Além dos detritos, durante a revisão das armadilhas devem ser retirados de seu interior todos os seres vivos capturados, não são raros os casos de mortes de anfíbios e pequenos répteis por aranhas, escorpiões e formigas. Já durante a interrupção dos trabalhos em campo, entre amostragens, os recipientes devem ser completamente vedados e a cerca-guia retirada ou enrolada, de maneira a permitir o fluxo de animais nos períodos em que as armadilhas não estiverem em operação. Ao final do estudo, todas as armadilhas devem ser retiradas e os buracos nos quais os recipientes estavam enterrados devem ser completamente cobertos para evitar a morte de outros animais que porventura caiam na cova.

Restrições: O uso de qualquer substância química no interior do recipiente para conter ou causar a morte do animal não é aceitável, já que nem todos os animais capturados serão coletados, ainda que sejam posteriormente

coletados deve-se escolher um método que reduza o estresse e dor animal. Além disso, o método não é específico para o grupo animal em questão, capturando-se também pequenos mamíferos, filhotes de aves terrícolas e diversos invertebrados. O método não deve ser usado em áreas onde trafegam animais de grande porte como bovinos ou equinos, pois podem causar acidentes nestes animais. Pessoas que transitam nestes locais devem ser avisadas e os locais de armadilha sinalizados mesmo que as armadilhas estejam inativas.

3.f) Armadilhas de funis ou covos

Descrição do método: Metodologia comumente utilizada para captura de quelônios semi-aquáticos, grandes lagartos e/ou serpentes. Esse método consiste em uma estrutura formada por aros metálicos ou plásticos que sustentam uma rede em seu entorno. Com diferentes formatos os covos possuem uma ou mais entradas em forma de funil invertido, por onde o animal entra, atraído por isca e/ou guiado por uma cerca, tendo dificuldade para sair por meios próprios. Em ambiente terrestre essa metodologia é associada as armadilhas de interceptação e queda, sendo os funis instalados junto às cercas-guias da AIQ.

Boas práticas: Para o uso dessa metodologia em ambiente terrestre, recomenda-se a sua instalação em ambiente sombreado de maneira que o sol e calor não causem estresse ou a morte do animal, recomenda-se ainda a fixação da armadilha ao solo para que não seja levada por predadores. Para os ambientes aquáticos sua instalação deve ter a maior parte da estrutura submersa e uma área para respiração do animal, a qual deve estar por todo o período de operação emersa, evitando o afogamento dos animais presos no covão. Em ambientes com oscilações do nível da água e/ou no período chuvoso, recomenda-se o uso de boias no interior do covão para que este acompanhe a oscilação do nível d'água. Tanto em ambiente terrestre quanto aquático a revisão deve ser diária.

3.g) Armadilhas adesivas

Descrição do método: Também chamada de armadilhas de cola, são pranchas de material adesivo, originalmente utilizadas para captura de roedores urbanos. Elas são estrategicamente colocadas sobre troncos, cipós e galhos, para espécies arborícolas; em ambientes rochosos para espécies majoritariamente saxícolas e próximos a tocas para espécies que não possuem o hábito de deslocar-se por grandes áreas.

Boas práticas: Priorizar a instalação em ambientes sombreados, fazer uso de solvente orgânico para retirada do animal coletado da armadilha e limpar minuciosamente a cola presente no animal antes do processo de

soltura. Avaliar a viabilidade do método e utilizar somente em situações em não haja outras alternativas de captura.

Restrições: Esse método de captura é considerado como de aplicabilidade proibida em répteis pelo anexo I da Portaria CFBio nº 148/2012, devido a altas taxas de mortalidade.

3.h) Abrigos artificiais

Descrição do método: O método consiste em espalhar abrigos (pedaços de troncos, telhas, canos etc.) pelo ambiente e posteriormente, visitar os mesmos para captura dos animais abrigados. Método muito utilizado para lagartos e serpentes em dunas e demais formações abertas.

Boas práticas: Retirar todos os abrigos após o término dos estudos em campo, visando não impactar o ambiente, quando no uso de madeira não devem ser utilizados troncos “tratados”, os quais liberam substâncias tóxicas no ambiente.

3.i) Redes

Descrição do método: Método aplicado exclusivamente para amostragem de quelônios na herpetologia, que variam em tamanho de malha, quantidade de malha, formato, comprimento e largura. As redes comumente chamadas de malhadeira (*trammel net*, transmalha ou feiticeira) é composta por três redes unidas nas extremidades, de maneira que as malhas externas possuam entre-nó de maior e é construída em fio mais espesso e a malha interna, com distância entre-nó menores, é até um terço mais alta que as externas, de maneira que enquanto as redes externas são mantidas esticadas na coluna d’água e quando o animal a atravessa, independente do lado de aproximação, ele fica preso em uma bolsa formada pela rede central. Outra variação são as chamadas redes de arrasto, compostas de uma única malha, assemelham-se aos arrastos utilizados na pesca. Além dessas variações, um método comumente aplicado nos estudos com quelônios amazônicos são as redes localmente denominadas “capa-saco” e consiste em uma rede de náilon que pode ter diferentes distâncias entre nós e diâmetros do fio, na qual quanto maior for a distância entre nós e mais espesso for o fio, maior será o indivíduo capturado. Em cada extremo da rede existe um pedaço de madeira denominado localmente de calão (50 a 60 cm de diâmetro). Em cada calão se amarra uma corda que fixa a rede numa árvore da beira do rio. Em seguida, são instalados os pesos e boias ao longo da rede, que é solta em um local fundo, de correnteza, formando um saco. Os animais, ao entrarem no saco, normalmente não conseguem mais sair devido à força da correnteza.

Boas práticas: A revisão das redes deve ser em intervalos de no máximo 3 horas, para evitar o afoga-

mento dos animais capturados.

Restrições: Não aplicar a metodologia no período noturno devido a possibilidade de captura de jacarés, os quais vêm a óbito durante o período de vistoria de quatro horas.

3.j) Pesca

Descrição do método: Método comumente utilizado na captura de quelônios do grupo podocnemidídeos e menos frequentemente utilizado para outros grupos de quelônios. Nesses casos são constituídos por boia, linha de náilon e anzol, comumente chamado de cambuim.

Boas práticas: Devem ser utilizados anzóis de tamanho pequeno, sem fisga e oxidável. Anzóis maiores podem causar hemorragias graves e atingir órgãos vitais como olhos e sistema nervoso; a ausência de fisga visa facilitar a retirada do anzol caso esse fixe nos tecidos do trato digestório do animal e caso haja o rompimento da linha, com o uso de anzol oxidável ele se corroerá e se soltará do animal. Sua instalação ainda deve ser evitada em locais com grande concentração de troncos e rochas já que, o animal pode se afogar caso a linha se embarace nessas estruturas.

Restrições: Deve ser utilizado apenas nos casos em que outros métodos não possam ser utilizados. Dentre as ressalvas da aplicabilidade do método está a possibilidade de o anzol prender-se aos tecidos do trato digestório do animal. Em caso de ferimento, o animal deve ser tratado de forma adequada, sendo desejável a presença de um médico veterinário na equipe. Para ferimentos graves, que possam comprometer o bem-estar animal de forma irreversível, deve-se realizar a eutanásia.

3.l) Armas de fogo e de ar comprimido.

Descrição do método: O uso de arma de fogo é restrito às condições de campo, sendo uma maneira efetiva para coletar muitas espécies de lagartos saxícolas e serpentes e lagartos arborícolas, entretanto, os herpetólogos que coletam com uma arma de fogo devem ter experiência com o método e estar devidamente licenciados/autorizados. A morte do animal por arma de fogo deve ser rápida. A munição utilizada deve ser apropriada para as espécies a serem coletadas e, caso o animal não venha a óbito prontamente com o tiro, deve ser eutanasiado rapidamente.

Boas práticas: O uso de arma de fogo ou de ar comprimido para captura de lagartos é aceitável somente quando os animais possuem porte médio ou grande e em situações onde a captura manual é dificultada ou outro método de captura com uso de armadilha seja inviável, como em terrenos rochosos por exemplo. Contudo, deve-se utilizar

calibre e grão compatíveis com o tamanho corporal do espécime.

Restrições: O pesquisador deve possuir porte de arma de fogo, que tem validade de até cinco anos e deve ser requisitado na Polícia Federal. É um método aceito com restrição, e deve seguir a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

3.m) “Coleta por terceiros”

Descrição do método: Método comumente utilizado no passado para coleta, principalmente, de serpentes. No método, moradores locais eram equipados com baldes com tampa, contendo solução de formalina de 15 a 20%, para que guardassem os animais que eventualmente encontrassem mortos ou que matassem por prevenção, defesa ou retaliação. Entretanto, há que se considerar que após a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998, comumente chamada “lei de crimes ambientais”, em seu artigo 29, na seção “Dos crimes contra a fauna” fica clara a criminalização dessa prática.

Boas práticas: Caso se identifique um potencial parceiro local, o mesmo deve ser adequadamente orientado e treinado, ser incluso na equipe da autorização para atividades com finalidade científica ou didática emitida através do SISbio, de forma que o titular da autorização, ao efetuar tal procedimento, se responsabilizará integralmente pelas ações dos seus membros de equipe.

Restrições: da forma como o método vem sendo tradicionalmente realizado, o mesmo se mostra legalmente proibido.

3.n) Entrevistas

Descrição do método: A aplicação de entrevistas como forma de coleta de dados em pesquisas científicas é um procedimento utilizado desde a década de 70. Anfíbios e répteis são grupos animais que habitam o imaginário popular e as entrevistas são importantes ferramentas durante estudos com herpetofauna. Diversas são as lendas e crendices, alguns grupos são usados tradicionalmente no consumo de subsistência em comunidades tradicionais ou ainda com finalidade medicinal além do potencial de acidentes de interesse clínico para humanos e animais domésticos. De maneira geral, a entrevista pode ser do tipo “não estruturada” (aberta ou não diretiva); “estruturada” (diretiva ou fechada) e “semi-estruturada” (semidiretiva ou semi-aberta). Guias de campo, fotografias, gravações, dentre outros artefatos, podem ser utilizados na identificação das espécies, ambientes ou documentação de saberes locais sobre o

grupo.

Boas práticas: É altamente recomendável que seja previamente agendado com a comunidade uma reunião prévia, a qual deverá ser informada que o estudo pretendido está devidamente autorizado. Além disso, as reuniões que se fizerem necessárias deverão ser documentadas por escrito, sendo que, ao término do estudo, todos os resultados e implicações do mesmo deverão ser apresentados na forma de oficinas. O entrevistador deve ser imparcial, não tentar ajudar durante as entrevistas, se necessário for fazer isso indiretamente através de conversas que estimulam a pessoa a refletir sobre o tema. Respeitar a vontade do entrevistado, permanecer no local apenas quando desejado, parar a entrevista assim que solicitado ainda que para a conclusão da mesma seja necessário voltar mais de uma vez na residência. Não se recomenda fazer a entrevista na presença de terceiros, quando isso acontecer, dar continuidade à conversa mas não à entrevista. Não permitir que mais de uma pessoa responda à mesma entrevista. Não é recomendado conduzir uma entrevista sozinho. Quando se fizerem necessárias fotografias, filmagens ou gravação, isso deve estar apropriadamente autorizado por escrito. Divulgar nomes reais não é recomendado em nenhum momento do trabalho. É muito importante deixar claro que os entrevistados poderão se retirar dos trabalhos a qualquer momento sem nenhuma penalidade e que a identidade deles não será divulgada.

Restrições: Em comunidades indígenas, além das licenças relacionadas à fauna, são necessárias autorizações junto à liderança grupal, que o projeto esteja protocolado junto ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Nacional do Índio (FUNAI) para liberação da entrada em terras indígenas, envio de solicitação para autorização de pesquisa ao Departamento do Patrimônio Imaterial do Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) bem como é necessário o parecer de Comitê de Ética em Pesquisa específico.

4. Contenção, transporte e manutenção temporária (curto espaço de tempo)

Na grande maioria dos estudos com anfíbios e répteis em vida livre os métodos de contenção contemplam artifícios mecânicos.

Sempre que possível, a identificação, marcação (se for o caso) e coleta de materiais devem ser realizadas no local da captura. Entretanto, em alguns casos, após a captura, os espécimes capturados necessitam ser transportados para correta identificação ou procedimentos que necessitam de um ambiente mais controlado para a realização de atividades mais complexas. Nesses casos, a contenção, acondicionamento, condição do mantenedouro, transporte e manutenção após procedimentos para posterior soltura, são momentos muitas vezes negligenciados, porém altamente relevantes ao bem estar animal.

4.1. Quelônios

Recomenda-se que o acondicionamento do animal seja realizado em sacos de contenção confeccionados em tecido de algodão fino e macio em cor clara, de maneira a permitir ventilação e conforto para o animal. Devido ao estresse proveniente do processo de captura e transporte, deve-se transportar somente um indivíduo por saco de contenção, quando se tratar de exemplar adulto, evitando assim ferimentos e possível transmissão de patógenos e parasitos. Por esses motivos, sempre que possível, entre uma amostragem e outra deve ser realizada a higienização do saco para posterior reutilização. No caso de filhotes em trabalhos ou manejo reprodutivo, frequentemente utilizado para espécies do gênero *Podocnemis*, recomenda-se o transporte em caixas plásticas vazadas (caixa “hortifrúti”), sendo indicado o transporte (por curtos período de tempo) de no máximo 700 filhotes por engradado, para evitar o ferimento ou morte por pisoteio, pelo mesmo motivo, não se transportar tais recipientes com água, evitando o risco de afogamento.

4.2. Crocodilianos

O transporte de crocodilianos deve ser realizado somente em casos especiais. Trata-se de animais cujo cuidado parental é existente, são animais territorialistas e agressivos. Nesses casos, deve-se realizar a imobilização do animal por meio de cordas ou fitas adesivas, amarrando a boca, membros anteriores, posteriores e dependendo das dimensões do animal, a cauda também deve ser amarrada junto ao corpo do animal. Indica-se vendar o animal para reduzir o estresse da captura, transporte e manejo. No caso de filhotes, quando o transporte é imprescindível, recomenda-se que os mesmos sejam transportados em caixas de contenção em grupos, pois isso diminui o estresse por tratar-se de animais gregários nessa fase da vida.

4.3. Anfíbios

Para anfíbios recomenda-se o transporte em sacos plásticos descartáveis, tomando cuidado para a manutenção de uma temperatura amena e arejamento suficiente no interior do recipiente.

4.4. Serpentes não peçonhentas e lagartos

Sacos plásticos descartáveis para animais de pequeno porte e sacos em tecido ou caixas de transporte para animais maiores.

4.5. Serpentes peçonhentas

Caixa de contenção. É importante que os recipientes sejam limpos entre uma serpente e outra, evitando a transmissão de parasitas e patógenos e a identificação de perigo no recipiente deve ser ressaltada caso este fique desassistido por algum momento.

4.6. Ovos

O transporte de ovos deve ser realizado em recipientes de isopor, visando o controle da temperatura, em vermiculita hidratada ou outro substrato que estabilize o ovo e impeça sua desidratação.

4.7. Girinos

Os girinos devem ser transportados em recipientes resistentes à perfuração, preferencialmente com água do local nos qual foi capturado mantendo-se o controle da temperatura e adicionando aeradores para transportes que levem mais de 2 horas.

5. Marcação

A marcação de anfíbios e répteis é um método necessário em estudos nos quais a diferenciação entre indivíduos já capturados de indivíduos não capturados anteriormente se faz necessária. Existem ainda os casos em que a individualização dentro de uma espécie é fundamental, como em estudos nos quais o acompanhamento individual é objetivo da investigação, tanto para obtenção de dados relacionados ao seu crescimento, período reprodutivo, maturidade sexual, padrões de movimentação, preferência de micro-habitat, dentre outros fatores para a compreensão da dinâmica/ecologia populacional ou comportamental.

Considerando-se a heterogeneidade de formas de vida dos organismos agrupados dentro dos estudos em herpetologia, os métodos de marcação são muito variados. Alguns específicos para determinados grupos, outros de aplicação mais geral. Cabe destacar que, em estudos de inventário, no qual o produto são listas de espécies, e outros estudos nos quais o método de captura/marcação/recaptura não se faz necessário, não se recomenda a marcação dos indivíduos, já que a os métodos disponíveis de marcação causam dor ou estresse nos animais. Ressalta-se o cuidado na utilização de material esterilizado nos procedimentos de marcação e desinfecção do local antes e após a marcação, sempre primando pela biossegurança por parte do pesquisador e seus auxiliares. A permanência da marcação também deve ser considerada ao determinar qual tipo de marcação deve ser usado, sendo que métodos de curta duração como pintura ou de marcação permanente como o *microchip* nem sempre são adequados em todas as situações. Por fim, os métodos de marcação devem ser considerados quanto à sua invasibilidade e possíveis alterações no comportamento de forrageamento ou que torne o animal mais suscetível à predação, quando não houver método alternativo. Métodos que possam causar alterações no comportamento ou sobrevivência do animal são considerados depois, somente então pode-se considerar os métodos invasivos que causam dor ou sofrimento aos animais, ainda que por curto período.

5.a) Etiquetas

Descrição do método: As etiquetas (“tags” ou lacres) podem ser confeccionados em plástico ou metal. A metodologia é largamente utilizada em quelônios, sendo que, preferencialmente, estes artifícios devem ser arrebitados nos escudos marginais da carapaça; e em crocodilianos, preferencialmente arrebitados na crista caudal de escama simples. Sua desvantagem é que ao longo do tempo as plaquetas podem se soltar devido à decomposição do plástico

ou oxidação do metal.

5.b) Furos ou corte nos escudos marginais

Descrição do método: Metodologia tradicional de marcação aplicada para os quelônios, de uso justificável quando da inexistência de métodos alternativos. Nos estudos nos quais a marcação seja imprescindível e a diferenciação entre indivíduos não se faz necessário, para reduzir o impacto desta marcação, deve-se realizar esta técnica apenas em um escudo marginal da carapaça, preferencialmente o nono (considerando contagem no sentido anti-horário a partir do escudo nugal, quando existente), por interferir o menos possível no comportamento reprodutivo. Nos casos em que a individualização dos espécimes é necessária, diversas combinações numéricas ou alfanuméricas são possíveis. Os escudos que fazem a união da carapaça com o plastrão (ponte) nunca devem ser marcados. São áreas altamente irrigadas e dependendo da profundidade do corte pode atingir a cavidade celomática do animal

Boas práticas: Deve-se evitar a marcação das escamas que compõem a região da ponte, região na qual há a união da carapaça e do plastrão, já que existe o risco de, dependendo da profundidade do corte, atingir a cavidade celomática do animal.

5.c) Pintura

Descrição do método: Este é um método de marcação provisório, podendo durar de três a seis meses, dependendo do grupo alvo da marcação. Em quelônios e crocodilianos ela pode ser útil quando pretende-se estudar o comportamento de espécies que têm o hábito de realizar a termorregulação sobre troncos ou pedras às margens de rios e lagos, já que permite a identificação do indivíduo sem a necessidade de captura. Em outros grupos, ela é indicada para estudos de curta duração, nos quais há diferenciação entre capturas e recapturas.

Boas práticas: Os animais podem ser pintados com tinta atóxica à prova d'água. Recomenda-se manter os animais em cativeiro até que a tinta esteja completamente seca, processo que pode durar de 24 a 48 horas entre a captura e a soltura. Cabe destacar que cores podem atrair predadores e influenciar no sucesso reprodutivo do espécime.

Restrições: Substância com pH ácido.

5.d) Brincos

Descrição do método: Método comumente utilizado para marcação de mamíferos de pequeno porte, é uma metodologia tradicional de marcação em filhotes de jacarés, os quais possuem as cristas das escamas caudais pequenas, considerando-se as dimensões das etiquetas para marcação de animais adultos. Seu uso é justificável quando da inexistência de métodos alternativos.

Boas práticas: Nesses casos, a aplicação dos brincos é realizada na membrana interdigital do membro posterior do animal, entre o terceiro e quarto dedo. Nesses casos, a aplicação dos brincos é realizada na membrana interdigital do membro posterior do animal, entre o terceiro e quarto dedo. Deve-se realizar assepsia do local, aplicar anestésico local e fixar bem o brinco de maneira que o brinco não interfira na articulação das falanges do animal.

5.e) Implante visível de elastômero fluorescente (VIFE)

Descrição do método: Inicialmente desenvolvido para promover marcas internas visíveis externamente para animais aquáticos o reconhecimento dos indivíduos é possível através do uso de diferentes localidades do corpo e combinações de cores. Dessa maneira, sua aplicabilidade é indicada a animais de pele translúcida como os anfíbios e alguns répteis, sendo inviável a utilização do método em serpentes, lagartos, quelônios e crocodilianos com pele altamente queratinizada. O método consiste na injeção do polímero em tecido transparente ou translúcido com uma seringa hipodérmica, o material consiste em um polímero líquido pastoso fluorescente que depois de aplicado subcutaneamente, solidifica-se, porém, se mantendo flexível e visível, dentro de 24 horas a temperatura ambiente.

5.f) Cintas

Descrição do método: Método comumente utilizado em anfíbios e lagartos. O método consiste na marcação com linha confeccionada em algodão colorido amarrado na cintura do animal. O método pode ser adaptado adicionando uma combinação de miçangas de cores diferentes para identificação individual dos espécimes.

Boas práticas: Avaliar a efetividade e impacto do método ao animal considerando-se seu comportamento e características ambientais de seu hábitat. Momentos de muda de pele em répteis devem ser evitados, deve-se respeitar a proporcionalidade entre as dimensões do animal a ser marcado e as missangas utilizadas além de avaliar o uso de cores, sobretudo em período reprodutivo.

Restrições: Cuidados especiais devem ser tomados de maneira que as cintas não lesionem os espécimes.

mes marcados.

5.g) Rádios transmissores (VHS e satélite)

Descrição do método: Metodologia utilizada para monitorar indivíduos a fim de realizar estudos sobre a área de vida, movimentação e seleção de hábitat, com alta eficiência. Os rádios transmissores de sinais de GPS via satélite permitem com maior praticidade e acurácia o monitoramento de espécimes, haja vista que não há a necessidade de incursões em campo para a recepção dos sinais, sendo que estes são registrados via internet em softwares específicos instalados nos computadores dos pesquisadores, que identificam os pontos de registros, os deslocamentos (rotas) e alguns sistemas coletam também dados de atividades como a termorregulação por assoalhamento ou estado de hibernação, e até mesmo informam o óbito do espécime monitorado. O custo desta metodologia é relativamente alto e o tempo de permanência do rádio ou do sonar varia entre os fabricantes, a depender do tamanho da bateria.

Boas práticas: As dimensões e o local de instalação do rádio não devem dificultar consideravelmente o deslocamento e cópula dos animais. Deve-se aplicar um método no qual o aparato desprenda-se do animal ao término do estudo e possa ser recuperado.

5.h) Carretéis (*thead-bobbings*)

Descrição do método: O método consiste em um carretel com linha que se desenrola, do interior para a borda, na medida em que o animal ao qual está fixado se locomove. Comumente utilizado para se estimar a área de vida de pequenos répteis e anfíbios, aplicando-se satisfatoriamente a muitas espécies de quelônios terrestres e semiaquáticos para estudos relacionados a padrões de movimento, orientação, seleção de hábitat e intensidade de uso.

Boas práticas: Recomenda-se que se pinte o final da linha, a qual fica na área externa do carretel, para que se possa averiguar se o mesmo desenrolou até o final ou se rompeu antes desse momento. As dimensões dos carretéis não devem dificultar consideravelmente ou inviabilizar o deslocamento dos animais. Seu uso fica limitado em áreas densamente vegetadas, pois o animal pode ficar embaraçado na linha do carretel, e, em casos de animais aquáticos, vir a óbito por afogamento. Destaca-se ainda que o aparato deve ser fixado de maneira a soltar-se ao final do estudo ou no processo de mudança de pele, preferencialmente com a utilização de material biodegradável.

5.1) *Transponder/microchip*

Descrição do método: Este talvez seja o método de marcação mais eficiente para quelônios, crocodilianos e demais répteis de médio/grande porte. A aplicação do método se dá a partir de uma pequena incisão utilizando-se um bisturi ou seringa própria para este tipo de procedimento. É recomendado que, após a marcação, o animal permaneça pelo menos 24 horas em cativeiro para confirmar o sucesso da marcação, uma vez que o *microchip* pode ser expulso pelo furo de inoculação do mesmo, através de uma reação inflamatória nesse período.

Boas práticas: É oportuno ressaltar que o anexo III da Portaria CFBio 148/2012 sugere que o *microchip* deve ser introduzido na região umeral em quelônios. Pela incisão introduz-se o *microchip* com a seringa ou com uma pinça até que este esteja posicionado no espaço subcutâneo. *Transponders* devem ser introduzidos na cavidade celomática. Em todos os casos, deve ser observada a necessidade de uso de método analgésico.

6. Soltura

A soltura do animal deve ser realizada idealmente no local *in situ* da sua captura e preferencialmente próximo ao horário no qual o animal foi capturado. Nesses casos, quando o animal é transportado para outra área para procedimentos mais complexos que necessitem uma estrutura específica mais controlada que em situações em campo, é indicado registrar-se dados como: horário de captura, coordenada geográfica, características do local de captura e relacionar tais anotações ao indivíduo capturado por meio de rótulos adicionados no recipiente ao qual o animal será transportado. Após soltura, o pesquisador deve acompanhar o animal e certificar-se de que esteja em perfeitas condições de deslocamento e, preferencialmente, até que se abrigue.

7. Eutanásia

Ao contrário de alguns grupos animais como a maioria das aves e grandes mamíferos; e assim como nos peixes, a sistemática da herpetofauna brasileira ainda está sob definição, de maneira que, ao considerarmos a lista brasileira de anfíbios (SEGALLA *et al.*, 2016) foram descritas mais de 250 novas espécies entre 2006 e 2016. Da mesma maneira, considerando-se a lista de répteis (COSTA & BÉRNILS 2018) quase 100 espécies novas foram descritas para o país entre 2006 e 2016.

Destaca-se que métodos não letais de coleta de dados como fotografia, gravações de imagens e sons e até mesmo análises moleculares atualmente disponíveis, não são suficientes para identificação segura da maioria das espécies de anfíbios e répteis. Além disso, está consolidado como pré-requisito em publicação herpetológica a exigência do número de tombo em coleção científica, para a grande maioria dos grupos, como material testemunho.

Nos casos em que a eutanásia é necessária e imprescindível para o processo de investigação científica, recomenda-se seguir as diretrizes da prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal - CONCEA. De acordo com essa normativa, os métodos de eutanásia podem ser classificados como “recomendados”, “aceitos com restrições” ou “inaceitáveis”.

Cabe ressaltar que alguns dos fármacos citados são controlados pelo ministério da saúde, como barbitúricos e alguns anestésicos injetáveis, sendo alguns restritos ao ambiente hospitalar como os anestésicos inalatórios, sendo inaplicáveis em trabalhos desenvolvidos em campo. O mesmo vale para armas de fogo, que possuem legislação específica para o porte em campo. Lembrando que, todos os métodos representam risco a quem aplica, portanto devem ser usados com cautela e experiência em sua aplicabilidade.

8. Considerações éticas e populacionais

Do ponto de vista ético, o número de indivíduos a serem coletados varia de acordo com o objetivo do estudo e dos resultados que são esperados do mesmo. Em estudos relacionados a taxonomia e sistemática por exemplo, (SIMMONS 2002) indica a coleta de 20 espécimes por espécie, já que englobar a variação regional do táxon é fundamental para sua definição e diferenciação dos demais. Em casos de inventários de herpetofauna, recomenda-se a coleta de até três indivíduos por área, preferencialmente um adulto macho, adulto fêmea (em casos de dimorfismo sexual), e um filhote. Outro fator importante na definição do número de espécimes coletados é seu estado de conservação, o qual pode ser obtido na lista global (IUCN), nacional (MMA) e/ou estaduais (OEMAs). Há que se levar em consideração ainda a situação de conservação da área de estudo. A pressão de coleta biológica em atividades com finalidade científica e didática pode ser desconsiderada em áreas nas quais a intervenção antrópica é minimizada ou restrita, como nos casos de unidades de conservação de proteção integral. Entretanto, em pequenos fragmentos, altamente impactados, a pressão de coleta de um número considerável de indivíduos de anfíbios ou répteis na população pode ser considerável e impactar negativamente a comunidade ou população. Enfim, não existe um número ideal no qual deve-se restringir o estudo ou prática educacional com necessidade de coleta animal, dados como experiência da equipe executora do trabalho, objetivo do estudo, situação da área de estudo e estado de conservação da espécie devem ser considerados.

Por fim, cabe ressaltar que o procedimento de eutanásia não está limitado apenas ao momento da morte do animal. O tempo entre coleta e eutanásia deve ser o mais curto possível e os cuidados com o bem-estar animal devem se iniciar desde a captura, passando pela contenção, manuseio e transporte adequados, minimizando-se os estímulos visuais, auditivos e táteis. A busca pelo bem-estar animal deve-se considerar todos estes preceitos e também considerar as novas tecnologias e inovações que auxiliem no desenvolvimento deste campo que é tão dinâmico quanto imprescindível para um profissional ético.

AVES

AUTORES:

Antônio Emanuel Barreto Alves de Sousa Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres

Camile Lugarini NGI ICMBio Juazeiro

Patrícia Pereira Serafini Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Manuella Andrade de Souza Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Danielle Paludo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Camila Garcia Gomes Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

1. Introdução

A amostragem, captura e manipulação de aves em vida livre possuem particularidades se comparadas às condições em laboratório ou cativeiro, por envolver ambiente não controlado. Os riscos devem ser previamente conhecidos e minimizados, uma vez que nem sempre é possível eliminá-los inteiramente. As lesões ou traumatismos podem comprometer o comportamento, a reprodução e a sobrevivência dos indivíduos. A mortalidade pode afetar a estabilidade ou existência de populações silvestres, especialmente para aquelas pequenas e ameaçadas de extinção.

O Brasil é um dos países com maior diversidade de aves, tendo sido registradas 1.971 espécies (PACHECO *et al.*, 2021). A Classe Aves é diversa anatômica, comportamental e fisiologicamente e o pesquisador deve ter conhecimento sobre os melhores métodos, necessidades e tolerância do seu grupo alvo, arcando com o ônus da responsabilidade final pelas técnicas ou procedimentos escolhidos. É imperativo, portanto, que os projetos de pesquisa que envolvam aves em vida livre incluam pelo menos um membro da equipe com experiência em investigações ornitológicas em campo (GAUNT & ORING 1999).

Neste capítulo abordamos os principais métodos utilizados por biólogos, ecólogos, médicos veterinários e afins, em atividades de ensino e pesquisa envolvendo aves em vida livre, apresentando orientações e recomendações que priorizem o bem-estar animal e minimizem a dor, o sofrimento e as suas consequências negativas.

2. Autorizações, licenças e legislação vigente

De modo geral, no país, as pesquisas envolvendo a biodiversidade, incluindo as aves, são autorizadas por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), que é administrado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). A legislação vigente, fixa normas para a realização das seguintes atividades com finalidade científica ou didática no âmbito do ensino superior: coleta de material biológico; captura e marcação de animais silvestres *in situ*; manutenção temporária de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; transporte de material biológico; e realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em cavidade natural subterrânea. Esta autorização não exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.

As aves correspondem ao grupo faunístico mais estudado sistematicamente, pois inclui espécies relativamente abundantes, conspícuas, acessíveis e fáceis de capturar. Mais de 60.000 projetos foram submetidos ao SISBio de 2007 a 2020, sendo que 22% desse total abrange a Classe Aves. No processo de autorização por meio do SISBio, o ICMBio busca a substituição dos métodos que causem dor ou sofrimento aos animais, sempre que existam métodos alternativos que possibilitem atingir os objetivos propostos e que sejam comprovadamente eficazes para as espécies contempladas na solicitação.

O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e os órgãos estaduais e municipais de meio ambiente emitem autorizações específicas para captura, coleta e transporte de material biológico de aves em vida livre, no âmbito do licenciamento ambiental de empreendimentos ou para controle e manejo ambiental da fauna sinantrópica nociva, de espécies invasoras e fauna em aeroportos federais e instalações militares, com o objetivo de reduzir o risco de colisões com aeronaves. Os órgãos estaduais de meio ambiente, dentro da sua competência, ainda controlam a apanha de espécimes da fauna silvestre, ovos e larvas destinadas à implantação de criadouros e à pesquisa científica.

No caso de coleta de espécimes com o uso de armas de fogo, o pesquisador deve possuir porte de arma de fogo, que tem validade de até cinco anos e deve ser requisitado na Polícia Federal. A pólvora negra utilizada para armar redes de canhão também é um material controlado.

Por último, mas não menos importante, para realizar o anilhamento de aves e outras técnicas de marcação associadas é necessário seguir a legislação vigente, que dispõe sobre as atividades de anilhamento e seus procedimentos executados no âmbito do Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres (SNA), que é coordenado pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres (ICMBio/CEMAVE). A autorização de anilhamento deve ser solicitada por meio do SNA.Net. Para obter a autorização de anilhamento, é necessário possuir registro de anilhador sênior. O anilhador sênior tem pelo menos um ano de experiência comprovada com a técnica de anilhamento, métodos de captura e identificação das espécies de aves silvestres. O anilhador júnior é um aprendiz na técnica do anilhamento, não podendo, portanto, anilhar aves em campo sem o devido acompanhamento e orientação de um anilhador experiente. O anilhador sênior tem a obrigação de relatar o uso das anilhas, assim como marcadores auxiliares e recuperações (encontro de aves anilhadas).

Se a marcação de aves em vida livre não for associada ao uso de anilhas metálicas fornecidas pelo CEMAVE (por exemplo, se o pesquisador pretende utilizar apenas anilhas coloridas de plástico, para diferenciar os indivíduos alvo do seu estudo) ou a bandeirolas do PASP (Pan American Shorebird Program), cujos códigos também são fornecidos pelo CEMAVE, não se faz necessária a emissão da autorização de anilhamento, sendo a atividade de marcação, nesse caso, autorizada por meio do SISBio.

Além das licenças e autorizações citadas acima, as instituições que utilizam animais em atividades de ensino e pesquisa devem seguir as diretrizes e resoluções do Concea, em especial a “Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino e Pesquisa Científica - DCBA”. As atividades de ensino ou de pesquisa científica que incluem animais não podem ser iniciadas antes da aprovação formal e autorização da CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais, com constituição, deveres e responsabilidades regidos pela Lei nº 11.794/2008) da instituição do pesquisador principal ou professor responsável. É facultado ao ICMBio solicitar ao pesquisador o parecer da CEUA, quanto ao uso de animais na sua pesquisa, para a análise da solicitação de autorização ou licença permanente junto ao SISBio.

Atualmente, a maioria das revistas científicas exige a apresentação da autorização de pesquisa e da CEUA, o que assegura que a pesquisa foi desenvolvida de acordo com a legislação e que os pesquisadores mantêm padrões

de procedimento éticos. Encorajamos os pesquisadores a publicar os efeitos negativos de suas investigações, para estimular o aperfeiçoamento de metodologias, visto que outros podem encontrar os mesmos problemas.

No Anexo 1 é apresentado um quadro síntese da legislação vigente que baseou esse capítulo.

3. Planejamento e cuidados

Pesquisas envolvendo aves em vida livre podem utilizar uma diversidade de métodos, que variam quanto à sua natureza, grau de intervenção e impacto sobre os organismos estudados. Para minimizar os riscos e impactos, pesquisas que envolvam aves em vida livre devem satisfazer três condições:

a) Os dados devem ser coletados conforme um protocolo de amostragem, que seja estritamente compatível com os objetivos almejados pela pesquisa. Particularmente devem ser observados a extensão da escala espacial e a sua duração temporal, bem como o número de indivíduos que precisam ser manipulados e o tipo de manipulação a ser realizada;

b) Devem afetar minimamente os indivíduos e populações, visando o bem-estar das aves;

c) Deve-se pensar previamente em métodos alternativos às técnicas mais invasivas.

Faz parte do planejamento e desenho do estudo, de acordo com Gaunt e Oring (GAUNT & ORING 1999):

i) Escolher táxons apropriados para responder às perguntas propostas.

ii) Antes de iniciar o projeto, os pesquisadores devem estar familiarizados com o grupo a ser estudado e sua sensibilidade e resposta à perturbação, à captura e ao cativeiro, caso seja necessário mantê-lo temporária ou permanentemente.

iii) Os procedimentos e métodos devem ser planejados e escolhidos para responder às perguntas adequadamente.

iv) A amostragem adequada implica no número mínimo de espécimes necessários para que a investigação científica seja estatisticamente válida, o que depende da natureza do estudo e extensão de variação nos parâmetros a serem utilizados, proporcionando validade investigativa e estatística. Estudos de campo requerem amostragem maiores do que estudos de laboratório, porque pesquisadores de campo têm menos controle sobre condições que produzem variação. Cálculos e modelagens podem ajudar a definir o tamanho da amostra, ressaltando-se que não é recomendável submeter espécimes a efeitos adversos de amostragem sem a real necessidade.

v) Deve-se evitar ou minimizar o estresse e a dor. Caso não seja possível evitar dor leve, momentânea ou estresse para os animais, os procedimentos devem ser conduzidos com sedação ou analgesia apropriados, por profis-

sional habilitado. Coletas ou eutanásia devem ser realizadas somente quando não houver alternativa, respeitando as recomendações do CONCEA.

vi) Caso necessário, as condições de manutenção temporária em cativeiro devem ser apropriadas para satisfazer os padrões de higiene, nutrição, densidade, composição e proteção contra estresse.

vii) A manutenção e alimentação dos animais deve ser coordenada por pessoas treinadas e experientes, priorizando-se biossegurança, alimentação, instalações adequadas e bem-estar.

viii) Deve-se maximizar o aproveitamento de espécimes pela preservação das peles, carcaças, esqueletos, amostras de DNA e tecidos específicos.

ix) Se o propósito de um experimento é alterar o comportamento, potencial reprodutivo ou sobrevivência, a interferência não deve ser maior do que aquela necessária para testar a hipótese acuradamente.

x) O pesquisador titular da autorização deve assegurar que toda a equipe sob sua responsabilidade tenha sido apropriadamente treinada. Os integrantes devem solicitar auxílio sempre que surgir alguma dúvida. Além disso, deve-se considerar que existem inúmeros amadores apaixonados pela ornitologia, que podem se envolver em pesquisas como voluntários, entretanto, restrições e treinamento devem ser impostos pelo pesquisador responsável.

4. Métodos utilizados e efeitos adversos

O estudo de aves em vida livre envolve diferentes métodos, variando quanto ao tipo, grau de intervenção e efeito adverso, tais como: sobrevoo, observação, filmagem, gravação, captura, marcação, obtenção de amostras biológicas, coleta de espécimes, bioacústica, dentre outros.

Os trabalhos de campo com maiores efeitos adversos às aves em vida livre são: visitas a ninhos, censos aéreos e/ou uso de drones, exploração ou passagem em áreas sensíveis, aproximação, captura e manipulação de aves.

Descrevemos a seguir alguns métodos e como minimizar o efeito e impacto sobre os indivíduos e população.

4.a) Observação, fotografia, filmagem e gravação sonora de aves em vida livre são muito utilizadas em estudos etológicos e populacionais. São métodos preconizados para a ciência cidadã, em que leigos obtêm registros de ocorrência e os cadastram em repositórios on-line (e.g. wikiaves, ebird, ARA, inaturalist). Também tem se destacado como atividade turística a observação de aves, despertando o interesse de amadores de aves no mundo inteiro. Para se ter uma ideia, somente nos Estados Unidos existiam, em 2011, 47 milhões de observadores em atividade no país (CARVER 2013). No Brasil, apesar da falta de estatísticas oficiais, sabe-se que é uma atividade que tem atraído cada vez mais adeptos e o principal site direcionado à comunidade brasileira de observadores de aves, o Wikiaves, conta atualmente com mais de 38.000 usuários e mais de 3,6 milhões de registros de aves, o que o coloca como um dos principais repositórios relacionados às aves no mundo. É um ótimo exemplo de como a ciência cidadã pode ser uma grande aliada da ciência tradicional, contribuindo com o aumento do conhecimento sobre a distribuição das espécies de aves no país. Estas atividades são de menor impacto para as aves, entretanto exigem aproximação cuidadosa e uma conduta visando o respeito ao bem-estar das aves e ao ambiente que elas ocupam. Aproximações indevidas de pessoas podem causar estresse às aves, possivelmente porque elas percebem os humanos como predadores. Por ser, algumas vezes, utilizado em associação à técnica de *playback*, pode ter efeitos adversos cumulativos (ver efeitos adversos no item 4.b). Para parametrizar essa atividade, siga as recomendações do Código de Ética do Observador de Aves e observe a legislação vigente.

4.b) A técnica de *playback* (reprodução eletrônica do canto de uma ave, com finalidade de atraí-la), bastante utilizada por pesquisadores e observadores de aves, também pode ter efeitos negativos sobre a avifauna se não for usada

com bom senso e moderação. Dentre os principais efeitos conhecidos, citam-se: redução no tempo de forrageamento, aumento no gasto de energia com defesa do território (LANGHAM *et al.*, 2006; SEN, 2009), alterações hormonais e no comportamento reprodutivo (WINGFIELD 1985; WINGFIELD *et al.*, 1990), aumento no tempo de construção do ninho (MOTA & DEPRAZ 2004) e alteração no comportamento vocal (HARRIS & HASKELL 2013).

4.c) Visitas a ninhos: Aproximações descuidadas, especialmente se forem frequentes, podem resultar na diminuição de sucesso reprodutivo em aves terrestres e aquáticas por: fuga de adultos, expondo ovos e filhotes às intempéries e à ação de predadores; esmagamento por pisoteio de ninhos na superfície do solo; e abandono de ninhos (ROA 2017). Além disso, podem provocar a destruição dos habitats (SEKERCIOGLU 2002).

Listamos abaixo algumas recomendações para os pesquisadores que trabalham com aves em vida livre, visando reduzir ao mínimo possível o impacto das atividades listadas nos itens 4.a a 4.c. As recomendações são baseadas em (SEKERCIOGLU 2002), (ABA 2003), (MENQ 2014) e (ROA 2017):

- Manter silêncio e evitar movimentos bruscos;
- Usar roupas camufladas e procurar manter-se camuflado com a vegetação, para ser notado o mínimo possível pelas aves;
- Manter distância e não se aproximar mais quando for notado pelas aves;
- Permanecer sempre que possível em estradas, trilhas e caminhos existentes na área;
- Evitar o máximo possível aproximar-se de ninhos e filhotes, colônias de nidificação, dormitórios, áreas de descanso, áreas de forrageamento e arenas de exibição;
- Ter cuidado especial com espécies ameaçadas ou raras;
- Usar lentes de aproximação para observação, fotografia e filmagem;
- Evitar o uso de *flash* durante a fotografia ou filmagem;
- Evitar o uso de lanternas de alta intensidade de luz para observar, filmar ou fotografar aves noturnas, pois esses equipamentos deixam as aves desorientadas;
- Minimizar o uso de *playback*, não exagerar no volume (lembre-se que as aves ouvem melhor que os humanos) e reproduzir os cantos em intervalos reduzidos;
- Não reproduzir o som de uma espécie por mais de dois minutos (se a ave responder antes disso não há necessidade de continuar tocando) e dar intervalos de pelo menos três minutos entre uma reprodução e outra;

→ Estabelecer uma distância mínima (pelo menos 200m para aves florestais e 400m para rapinantes) entre os pontos selecionados para *playback*, evitando, assim, atrair o mesmo indivíduo em áreas diferentes;

→ Evitar o uso de *playback* na mesma área por vários dias consecutivos;

→ Evitar o uso de *playback* durante período reprodutivo e quando envolver espécies ameaçadas ou raras;

→ A aproximação a ninhos baixos ou na altura do solo deve ser feita tangencialmente, com um desvio de 3-4 m;

→ Se bandeiras ou fitas forem utilizadas para marcar locais de ninhos, não podem bloquear o acesso aos pais e nem chamar a atenção de predadores;

→ Em ninho que exige escalada e ascensão vertical ficar o mais breve possível ao redor do mesmo para evitar que os ovos percam calor no período de ovipostura, que os filhotes passem muito tempo sem serem alimentados ou que os pais abandonem o ninho;

→ Durante pesquisas em ninhais expostos à insolação, como o de aves marinhas, deve-se evitar permanecer por períodos prolongados, pois isso pode causar exposição excessiva de ovos e filhotes ao sol e a predadores, devido ao afastamento dos pais.

4.d) Sobrevoos: Voos baixos para observação e realização de censo perturbam as aves, especialmente espécies coloniais e com ninhos abertos e em áreas de dormitórios. Algumas vezes os efeitos podem ser observados somente se a perturbação for crônica. Recomenda-se o seu uso em casos específicos, como para cobrir grandes extensões ou alcançar áreas remotas, ou para seguir técnicas já desenvolvidas e padronizadas, como por exemplo os censos aéreos de aves limícolas migratórias desenvolvidos por (MORRISON & ROSS 1989), em que a perturbação é proposital. Nos demais casos, a aproximação gradual, primeiramente circulando os objetos de estudo à distância, voando ao redor, na periferia e não diretamente sobre a área sensível são cuidados importantes. Recomenda-se voo lento e silencioso e com atenção contínua para sinais de alterações nas populações.

4.e) Aproximação e proximidade a áreas sensíveis: Tanto a proximidade quanto a passagem de pessoas podem causar efeitos negativos (e.g. abandono da área e exposição a predadores) em aves coloniais como pinguins e gaivotas. A atitude do pesquisador, o horário das visitas e sua duração são fatores importantes. Recomenda-se evitar atividades durante os horários de descanso das aves, no momento em que elas se recolhem para seus dormitórios e no momento da alimentação de filhotes nos ninhos. A utilização de telescópio para observação de colônias ou áreas

circundantes pode representar uma alternativa. Drones, vants, gravadores automáticos e armadilhamento fotográfico podem minimizar o efeito do observador e maior número de dados coletados num curto espaço de tempo, aumentando o poder de testes estatísticos pelo número de réplicas.

4.f) Captura: As aves são provavelmente o grupo de animais que são mais capturados, manipulados e marcados em atividades científicas (ROOS 2010). Pesquisadores capturam aves para marcação, coleta de espécimes destinados a coleções científicas, manutenção temporária em cativeiro e obtenção de material biológico e medidas morfométricas, para responder perguntas sobre os temas: inventários, demografia, deslocamentos, migrações, saúde, reprodução, dieta, comportamento, genética, vigilância epidemiológica, monitoramento ambiental, dentre outros.

Independente do objetivo, o pesquisador deve utilizar sempre o método de captura mais adequado ao táxon alvo da sua pesquisa. Além do instrumento adequado, capturar aves exige conhecimento, destreza e cuidado, visando garantir o bem-estar dos indivíduos capturados e evitar dor, estresse, sofrimento ou morte. Portanto, é fundamental que o pesquisador responsável, ao montar sua equipe de campo, assegure-se que os integrantes possuam conhecimento e experiência nos métodos e instrumentos de captura e propicie treinamento constante para aqueles que ainda não tem.

Abaixo listamos alguns métodos de captura mais utilizados na ornitologia, bem como algumas recomendações específicas.

4.f.1) Redes ornitológicas ou redes de neblina: São as armadilhas mais utilizadas para capturar aves, sendo bastante versáteis e eficientes para a captura de aves pequenas terrestres (como os beija-flores e Passeriformes) e aves limícolas. Também são bastante utilizadas para Sternidae e Rynchopidae. O método é muito eficiente para aves de sub-bosque ou de ambientes abertos, contribuindo para a detecção de espécies crípticas (BIBBY *et al.*, 2000), entretanto para aves maiores que 200 g, outros métodos podem ser mais eficientes. Para aves que habitam o estrato superior florestal as redes de dossel ou bandeira são uma ótima opção, entretanto o esforço de instalação, abertura e revisão é maior. Para aves terrestres de pequeno porte, recomendamos o uso de redes com malhas de 32 mm e dimensões de 12 m de comprimento e 2,5 a 3,0 m de altura, dispostas individualmente ou em linhas, a depender das condições do ambiente e do desenho amostral. Para aves limícolas e costeiras de pequeno porte recomendamos redes com malhas de 38 mm.

4.f.2) Redes de canhão: São muito utilizadas para captura de aves gregárias, especialmente limícolas

e aquáticas. Seu uso requer conhecimento sobre o comportamento das aves e envolve a manipulação de material explosivo, sendo recomendável o uso somente por pessoas com experiência e treinamento específico. A rede de elástico é um instrumento alternativo mais seguro, cujo princípio é semelhante à rede de canhão, porém sem uso de material explosivo.

4.f.3) Armadilhas de laço, arapucas, alçapões, covos e a captura manual com puçás, luvas de raspa de couro ou mesmo com mãos livres são métodos mais simples e eficientes na captura de aves. Também podem ser utilizadas armadilhas de arame (*Young* ou *Tomahawk*) armadas sobre o solo para captura de tinamídeos e ralídeos (GHI-ZONI-JR & GRAIPEL 2005), dentre outros. Existem certos tipos de armadilhas em que são colocadas cevas, chamas ou iscas para aumentar sua eficiência de captura. Animais vivos podem ser utilizados para atrair aves difíceis de serem capturadas (e.g. pombas e pardais para atração de aves de rapina ou aves de rapina para *mobbing*). Aqueles que usam esses procedimentos são responsáveis pelo bem estar de todos os animais envolvidos, reconhecendo-se que as iscas estarão sujeitas a estresse e morte. Deve-se reduzir seu estresse, dando comida e água, por exemplo.

4.f.4) Coleta de ovos: A coleta de ovos, quando devidamente autorizada, deve ser feita com extremo cuidado e, em condições que viabilizem a incubação e eclosão, caso esse seja o objetivo. Apresentamos a seguir algumas recomendações importantes que o pesquisador deve observar durante a coleta de ovos, segundo Armando (ARMANDO *et al.*, 2015):

→ Manusear os ovos com as mãos limpas e com luvas de procedimento.

→ Retirar os ovos preferencialmente após a saída do indivíduo adulto que está incubando no ninho, de forma rápida, para que ele não perceba a movimentação.

→ É importante que a equipe permaneça em campo após a coleta dos ovos, observando o comportamento do indivíduo, para verificar se ele vai abandonar o ninho ou não. Em caso de abandono do ninho, todos os ovos devem ser coletados.

4.f.5) Recomendações gerais: Listamos a seguir alguns procedimentos gerais que devem ser seguidos para reduzir riscos à equipe e às aves e aumentar o sucesso na captura, independentemente do método ou instrumento utilizado:

→ O pesquisador responsável ou membros da equipe deve sempre portar em suas atividades de campo a autorização compatível com a atividade a ser exercida, válida e emitida por órgão competente e apresentá-las aos órgãos de fiscalização sempre que for solicitado.

→ A equipe deve manter silêncio, organização e limpeza durante os trabalhos de captura e manipulação de aves.

→ A quantidade de armadilhas usadas para a captura deve estar adequadamente dimensionada ao número de aves que se deseja capturar e à capacidade da equipe em retirar as aves da armadilha e manipulá-las com segurança, em menor tempo possível e zelando pelo seu bem-estar. Para redes de neblina, recomendamos o uso de no máximo 10 redes por anilhador sênior.

→ As armadilhas devem permanecer armadas apenas o tempo necessário para captura das aves. Finalizado o trabalho em campo, todas as armadilhas devem ser desmontadas e recolhidas.

→ Redes abertas para espécies diurnas devem ser fechadas ao entardecer para evitar captura de espécies noturnas ou morcegos, e vice-versa.

→ A segurança das aves deve vir em primeiro lugar: se a capacidade da equipe em revisar as armadilhas e processar as aves não é suficiente, deve-se fechá-las; locais com predação ou visualização/escuta de predadores devem ser excluídos ou monitorados constantemente pelos pesquisadores.

As redes e outras armadilhas, devem, se possível, estar sombreadas ou posicionadas de maneira a evitar exposição ao sol.

→ As armadilhas não devem ser operadas em condições climáticas desfavoráveis, como chuva, vento, frio ou calor excessivos. Evite operá-las em temperatura do ambiente inferior a 0° C ou superior a 35° C.

→ Deve-se evitar o uso de redes de neblina ou outros métodos de captura nos horários mais quentes do dia, especialmente em ambientes abertos. Da mesma forma, frio extremo causa problemas principalmente para espécies pequenas.

→ As armadilhas devem ser revisadas com frequência, para que as aves não fiquem expostas à ação de predadores e às intempéries, evitando o sofrimento e danos desnecessários. Para redes de neblina o ideal é realizar a vistoria a cada 15 a 30 minutos, aumentando a frequência em ambientes abertos. Quanto maior o tempo na armadilha, maior a possibilidade de lesão ou morte do espécime.

→ As aves devem ser retiradas das armadilhas, transportadas e manipuladas com o máximo de cuidado e no menor tempo possível. É mais seguro para as aves permanecerem em caixas ou sacos de transporte do que na armadilha, portanto, priorize retirá-la da armadilha com brevidade.

→ Deve-se estabelecer prioridade de processamento de aves capturadas. As aves mais sensíveis são:

Trochilidae, Pipridae, outros Passeriformes de pequeno porte (abaixo de 15 g). Também é importante dar preferência às aves recapturadas.

→ Após o processamento, a soltura da ave deve ser realizada próximo ao local de captura, de forma delicada, próximo ao solo. De maneira alguma, a ave deve ser arremessada para o alto.

→ As aves capturadas devem ser constantemente monitoradas quanto a sinais de estresse (e.g. respiração ofegante, com a cauda balançando ou abrindo o bico constantemente, moleza no corpo, penas eriçadas, olhos fechados). Aves com estes sinais não devem ser manipuladas, pois podem morrer. O pesquisador deve soltá-las, colocando-as em um local sombreado e fresco, monitorando-as até que se recuperem e voem. Algumas aves, entretanto, fazem tanatose e o pesquisador deve ficar atento às espécies susceptíveis (e.g. *Elaenia obscura*, *Hemitriccus margaritaceiventer*), não confundindo com sinais de estresse.

→ Lesões, ferimento e mortalidade de aves podem ocorrer em campo, mesmo com pesquisadores experientes, devendo ser evitados ou minimizados. Equipes sem treinamento adequado são a maior causa de mortalidade de aves em atividades de captura e anilhamento (RALPH *et al.*, 1993). A mortalidade e ferimentos não devem ultrapassar 1% (SPOTSWOOD *et al.*, 2012). Caso a mortalidade ultrapasse esse patamar, o pesquisador deve adotar medidas urgentes para reverter a situação, reavaliando o método, revisando as armadilhas com maior frequência, redimensionando a equipe de campo, reduzindo o esforço amostral ou investindo em treinamento.

→ Em caso de ferimento, a ave deve ser tratada de forma adequada, sendo desejável a presença de um médico veterinário na equipe. Para ferimentos graves e algumas fraturas, que possam comprometer o bem-estar animal de forma irreversível, deve-se realizar a eutanásia, seguindo as diretrizes do Concea.

→ Caso a ave venha ao óbito, o pesquisador deve, sempre que possível, encaminhar o espécime para coleção científica ornitológica, em conformidade com a autorização obtida.

→ É recomendável que a equipe utilize equipamentos de proteção individual, como luvas, máscaras e/ou macacões descartáveis, durante todos os procedimentos de captura, transporte e manipulação das aves, para sua própria segurança e para a segurança das aves.

→ Quando a atividade de captura for realizada em locais onde há visitação pública, a equipe deve explicar a importância do trabalho para pesquisa e conservação das aves. Oriente as pessoas a não tocar nas armadilhas e nas aves, entretanto, recomendamos a socialização das etapas da pesquisa com leigos, para sensibilizá-los a sua conservação.

Alguns procedimentos de captura em campo são inaceitáveis, por motivos legais, ou por comprometer a segurança e bem-estar das aves, como, por exemplo:

→ Capturar aves sem a devida autorização emitida pelo órgão competente ou em desacordo com a autorização obtida.

→ Utilizar armadilha tipo “sangra”, um tipo de arapuca utilizada no Nordeste Brasileiro para captura de avoantes (*Zenaida auriculata*) (BEZERRA *et al.*, 2012). Na abertura de uma das laterais dessa armadilha é colocada uma estrutura chamada “pente”, um conjunto de varetas afiadas com as pontas voltadas para o interior. Quando a armadilha captura muitas aves ao mesmo tempo, ocorrem ferimentos pelas pontas afiadas do “pente”; daí o nome popular de “sangra”.

→ Utilizar substâncias aderentes para captura de aves, como cola ou “visgo” (látex cozido, extraído de certas árvores, com grande poder aderente), por ser prejudicial à ave e de difícil remoção. Em alguns casos o visgo pode causar cegueira na ave capturada e até mesmo óbito.

→ Utilizar técnicas físicas e/ou químicas não recomendadas pelo Concea para eutanásia e coleta.

→ Utilizar tranquilizantes ou drogas químicas para facilitar a visualização ou captura de aves, ressalvados os casos em que esse procedimento seja necessário e devidamente autorizado.

→ Destruir proteções de ninhos, quando da captura de filhotes.

4.g) Transporte: As aves, após retiradas das armadilhas, devem ser transportadas até o local onde serão manuseadas para coleta de dados (e.g. estação de anilhamento), em sacos de contenção ou caixas de transporte. Os sacos de contenção devem ser confeccionados em tecido leve, recomendando-se o uso de tecido de algodão fino e macio e de cor clara (não branca), que permita boa ventilação e conforto para a ave durante o transporte e manutenção. Devem ter dimensões adequadas ao tamanho da ave capturada (a ave deve ficar confortável dentro do saco, sem que sua cauda fique dobrada), além de um sistema de fechamento eficiente, para evitar fuga. É recomendável utilizar os sacos de transporte do lado avesso para evitar que a anilha ou membros das aves enrosquem nos fios do saco, ocasionando fraturas. Os sacos podem ser identificados com fitas ou outro tipo de marcação com o horário de captura ou em casos especiais, como Trochilidae ou aves estressadas, para priorizar uma ordem de processamento. Nunca transportar mais de uma ave dentro do mesmo saco, pois aumentam as chances de ferimentos e de transmissão de patógenos e parasitos. Isso não vale para aves limícolas e gregárias, que normalmente são transportadas juntas em caixas de transporte.

Na estação de anilhamento, os sacos devem ser pendurados na sombra e afastados uns dos outros, propiciando a ventilação necessária. Durante o processamento, procurar manter os sacos pendurados em ordem temporal, e nunca em contato direto com o solo ou outra superfície. Os sacos de contenção sempre devem ser higienizados antes de serem reutilizados. Trata-se de uma medida importante para evitar a disseminação de patógenos ou parasitas entre as aves capturadas. Recomenda-se lavar com detergente e desinfetante a base de amônia ou cloro.

Para aves gregárias, muitos indivíduos de uma mesma espécie são capturados de uma só vez. Neste caso, geralmente, são utilizadas caixas de transporte para acondicionamento dos indivíduos. As caixas devem ser confeccionadas com material que permita a livre circulação de ar. É preferível caixas de plástico com furos na parte superior e tapete antiderrapante. As caixas devem ter dimensões adequadas ao tamanho das aves capturadas. A caixa de transporte deve ser devidamente higienizada antes da sua reutilização. As caixas de transporte com as aves capturadas devem ser mantidas na sombra antes e durante a sua manipulação.

Para atividades de pesquisa em que é autorizado o transporte de aves da área de captura até as instalações da instituição de pesquisa ou cativeiro, o pesquisador deve seguir as mesmas recomendações, ou seja, utilizar caixas de transporte individuais, compatíveis com o tamanho da ave e previamente higienizadas.

O transporte em veículos deve ser feito em condições que permita a livre circulação de ar, preferencialmente evitando-se os horários mais quentes do dia e de modo seguro, sem que a caixa se desloque durante o trajeto. As caixas podem ser de madeira ou plástico, preferencialmente com furos na parte superior, o que mantém o ambiente escuro e proporciona segurança às aves transportadas; e portas de guilhotina. As caixas podem ser recobertas com um tecido para diminuir o estímulo visual e evitar estresse, não esquecendo de mantê-las arejadas. Quando envolver longas distâncias, a caixa de transporte deve ter tamanho suficiente para que a ave possa se mover, girar e descansar. Em alguns casos pode-se utilizar poleiro. Além disso, deve-se garantir o fornecimento de água e alimento às aves durante a viagem prolongada (idealmente nos momentos de parada do veículo), bem como o monitoramento das condições de cada animal transportado.

Quando o transporte é realizado de um estado para outro, faz-se necessário que o pesquisador providencie um atestado sanitário, bem como a Guia de Trânsito Animal (GTA), emitida pelo médico veterinário devidamente habilitado ou defesa sanitária animal. Para transporte internacional é necessária a emissão da licença CITES de importação e exportação, conforme determina a legislação vigente, além da autorização zoosanitária de ambos os países e da Receita Federal. Uma vez que a maioria dos museus e zoológicos rotineiramente transportam espécimes por fronteiras inter-

nacionais, normalmente eles são familiarizados com os procedimentos. Pesquisadores individuais são encorajados a trabalhar com tais instituições, pois não é possível realizar importação ou exportação de espécimes vivos como pessoa física.

Quando o transporte envolver trecho aéreo, é necessário que o pesquisador verifique previamente a disponibilidade de voos, bem como as regras estabelecidas por cada companhia aérea para o transporte de animais. Os espécimes podem ser transportados como carga viva ou na cabine da aeronave, idealmente em caixas de transporte individualizadas ou com parede de proteção entre os espécimes, evitando contato físico e visual.

O transporte de ovos, quando devidamente autorizado, deve ser feito com extremo cuidado, visando garantir a viabilidade da incubação e eclosão, no caso de ovos férteis. As recomendações elencadas a seguir são baseadas em Armando (ARMANDO *et al.*, 2015):

→ Se realizar a ovoscopia para verificar o estágio de desenvolvimento embrionário, tenha o cuidado de utilizar equipamento adequado a fim de evitar superaquecimento do ovo. Utilize lâmpada fria ou *led*.

→ Se a incubação ainda não foi iniciada no ninho, os ovos devem ser transportados em uma caixa contendo algodão em grande quantidade, para evitar choques e mantê-los intactos, ou em uma incubadora portátil desligada.

→ Se a incubação foi iniciada e os ovos estão férteis, o transporte deve ser realizado em chocadeira portátil na temperatura ideal para o grupo em que se está trabalhando e mantidos assim até o destino final.

→ Caso seja necessário marcar os ovos, utilizar lápis, pois a tinta de canetinhas pode ser tóxica ao embrião.

→ Transportar a caixa ou chocadeira com o máximo de cuidado, preferencialmente de forma suspensa, segurando-a com as mãos, para minimizar impactos e trepidação e a consequente quebra do ovo e morte do embrião.

→ Quando envolver longas distâncias, é importante prever baterias sobressalentes para manter a temperatura adequada da chocadeira durante o deslocamento até o destino final.

→ Em caso de transporte aéreo, o pesquisador deve entrar em contato com as companhias aéreas para conhecer as regras estabelecidas para o transporte de ovos e garantir que não passem pelo raio X no aeroporto.

4.h) Marcação: Assim como as pesquisas laboratoriais, muitas pesquisas de campo requerem que indivíduos sejam marcados para individualização e identificação futura. A individualização é proporcionada por diversos tipos de marcadores, como anilhas, *microchips*, bandeirolas, colares, mochilas, medalhas, etiquetas, dentre outros. Em geral, não existem marcadores sem efeitos adversos, entretanto estes efeitos podem ser minimizados pela escolha do mar-

gador ideal.

Para a escolha do marcador, idealmente, deve-se seguir as premissas:

- a) O marcador deve imputar menor interferência no comportamento, fisiologia, longevidade, vida social e nenhum desconforto imediato ou em longo prazo.
- b) A marcação deve ser rápida e de fácil aplicação.
- c) O código de marcação deve ser prontamente visível e distinguível.
- d) A marcação deve permanecer pelo período necessário para responder às perguntas da pesquisa.
- e) O registro dos dados deve ser feito com acurácia e precisão.

4.h.1) Anilhamento é um método amplamente utilizado para estimar as taxas de sobrevivência individual ao longo de anos, recrutamento e grau de dispersão entre habitats (RALPH *et al.*, 1993). Consiste em utilizar anilhas numeradas, usualmente de alumínio ou ligas metálicas. No Brasil as anilhas são fornecidas pelo CEMAVE, após emissão da autorização de anilhamento. Para a leitura das anilhas os animais devem ser recapturados.

As anilhas devem ter o seu diâmetro ligeiramente superior ao diâmetro do tarso da ave, devendo o pesquisador conferir o diâmetro do tarso da ave capturada antes de anilhar. Anilhas apertadas ou muito folgadas podem ocasionar problemas sérios às aves, como edema, ferimentos, “efeito garrote”, necrose, ou perda do membro, que podem levar à morte. Caso tenha anilhado com o tamanho errado, retire o marcador e, se não houver lesão, coloque um adequado. Os tamanhos de anilhas recomendados estão disponíveis no site do CEMAVE.

Os anilhadores devem estar familiarizados com a técnica de anilhamento e as particularidades do objeto de estudo, diminuindo a chance de ferimentos, no momento da colocação ou futuramente. Duas ou mais anilhas de alumínio não devem ser aplicadas no mesmo membro, pois podem engatar-se e causar lesões. Cuidado com ninhegos, pois o diâmetro do tarso pode se modificar após a saída do ninho. Outras recomendações importantes:

→ Quando houver dúvida quanto à identificação precisa de sua espécie, não marcar com anilha metálica. As aves marcadas com identificação errada da espécie irão colocar em descrédito os bancos de dados, gerando informações errôneas para o governo e para a sociedade. Fotografias podem servir de comprovação da correta identificação e atualmente existem repositórios de *e-vouchers* (e.g. Atlas de Registros de Aves Brasileiras - ARA).

→ O pesquisador tem a responsabilidade de informar ao SNA.Net as recuperações, mesmo que sejam fruto de anilhamento de outro pesquisador.

→ Os anilhadores não devem trocar anilhas de aves, a não ser que estejam apagadas ou que estejam interferindo na condição de vida daquele espécime. Também não se deve anilhar uma ave previamente anilhada.

→ Recomenda-se utilizar para aves limícolas anilhas com liga incoloy, que aumenta a durabilidade das inscrições

→ Não utilizar anilhas de alumínio para psitacídeos, pois eles podem quebrar com o bico ao tentar retirar e lesionar o membro. Utilizar anilhas de aço inoxidável.

4.h.2) Anilhas coloridas plásticas são frequentemente colocadas em um ou ambos os membros inferiores da ave, para o reconhecimento à distância, sem a necessidade de recapturá-las. São marcadores muito utilizados para estudos de comportamento e ecologia. Quando usadas em combinação com anilhas de alumínio, as anilhas plásticas devem ser do mesmo tamanho. Possuem poucos efeitos adversos, entretanto podem afetar o acasalamento, a dominância ou agressividade de algumas espécies. Existem no mercado anilhas de celulóide, que desbotam para diminuir estes efeitos, ou à prova de radiação UV para prolongar a utilização.

4.h.3) Bandeirolas são muito utilizadas para aves migratórias de longas distâncias, especialmente limícolas. As bandeirolas seguem a coloração do país em que a ave foi marcada, obedecendo o protocolo PASP (Pan American Shorebirds Program). Para alguns países as bandeirolas são usadas em associação a anilhas coloridas. No Brasil é utilizada a bandeirola azul escuro com código impresso em branco, associada a uma anilha colorida azul escuro. As bandeirolas proporcionam avistamento em longas distâncias com binóculos ou lunetas, sem necessidade de recaptura. O uso de bandeirolas em filhotes é desencorajado. Para a utilização deve-se consultar o CEMAVE, que distribui o código para a fabricação de bandeirolas.

4.h.4) Tinturas, canetas ou corantes são usados especialmente para aves aquáticas coloniais e pernaltas, e em estudos de curta duração. Também podem ser utilizados *sprays* com partículas fluorescentes visíveis sob luz ultravioleta. Lembre-se que a composição da fórmula do *spray* pode ter influência sobre o ambiente. Ácido pícrico não é recomendável pelo perigo de explosão e toxicidade. Tintas à base de álcool ou detergente não devem ser usadas, pois podem interferir na impermeabilidade das penas e termorregulação dos indivíduos. Os corantes podem causar mortalidade dos embriões de ovos, portanto priorize a marcação de ovos com lápis grafite. Lembre-se que as cores podem causar atração de predadores.

4.h.5) Colares ou anilha para pescoço são amplamente utilizadas para marcar anatídeos e mais recentemente para psitacídeos. São marcadores efetivos e possuem poucos efeitos adversos sobre psitacídeos (SENAR et

al., 2012), sendo utilizados inclusive para espécies ameaçadas. Por outro lado, em regiões muito frias existe a possibilidade de haver congelamento na área do colar, podendo ocasionar morte da ave. Esse tipo de marcador pode interferir na seleção sexual (FAIR *et al.*, 2010).

4.h.6) Marcadores alares (etiquetas ou anilhas) são aplicados em aves de grande porte, permitindo o seu avistamento à distância, com auxílio de binóculos ou lunetas, e permanecem na ave por períodos de tempo relativamente grandes. São utilizados para estudos de comportamento social, migração e fidelidade ao local de nascimento e de invernagem. De modo geral, estes marcadores possuem efeitos adversos que podem afetar a sobrevivência, predação, comportamento reprodutivo e habilidades por até quatro anos após a marcação. Etiquetas são aplicadas por perfuração do patágio ou instaladas ao redor da asa, podendo causar alguma calosidade e as penas na área da etiqueta podem não ser substituídas na época da muda. Por conta de ferimentos causados por anilhas alares metálicas, a marcação de pinguins com esse tipo de marcador está suspensa desde 2016, sendo atualmente recomendado o uso de *microchips*.

4.h.7) Discos nasais e “selas” numeradas e/ou coloridas são aplicadas em cada orifício do bico e apertadas através da abertura nasal, especialmente em anatídeos. Possuem altas taxas de perda do marcador, redução do sucesso reprodutivo e lesões (FAIR *et al.*, 2010), com morte devido ao emaranhamento com a vegetação submersa, além de interferirem na corte. Não é um método recomendado, podendo ser substituído pelos colares.

4.h.8) Transmissores (rádio-transmissores VHF, UHF, via satélite, GPS, geolocalizadores) são muito utilizados para o rastreamento à distância da posição da ave, útil para estudos de deslocamento, atividade, uso de hábitat, dentre outros. Os transmissores podem ter efeitos adversos na sobrevivência, sucesso reprodutivo, capacidade energética e comportamento. Ao utilizar este tipo de marcador, é preciso tomar cuidado para não comprometer a capacidade aerodinâmica das aves. Existe também o risco de aves se machucarem, caso os transmissores venham a ficar presos na vegetação, além do risco envolvido na auto-remoção do transmissor. Quando os transmissores representarem alterações substanciais na qualidade de vida da ave e nos resultados da pesquisa, a técnica não deve ser utilizada.

As características da espécie-alvo devem ser consideradas na escolha do transmissor, como massa corpórea, taxa de captura, comportamento e sensibilidade a distúrbios, além da facilidade de manuseio. Quanto menor o transmissor, menor é a potência e a sua durabilidade. Para espécies mergulhadoras ou de voo rápido, a força de arrasto deve ser considerada.

Os métodos de fixação de transmissores variam muito e deve-se avaliar a adoção de providências ne-

cessárias para o controle da dor e incômodo causado pelo método. São necessários cuidados específicos na fixação, visando evitar o desacoplamento prematuro. O método de fixação irá influenciar diretamente na massa total do transmissor. As proporções da massa corporal muitas vezes são arbitrárias, visto que poucos estudos testaram o efeito de cargas extras no desempenho e comportamento de diferentes espécies. Isso também pode estar relacionado com a discrepância encontrada na literatura. (GAUNT & ORING 1999) sugerem que a massa do transmissor não deve ultrapassar 10% da massa corporal, e idealmente, não deve exceder a 5%. Já (KENWARD 2001) é mais conservador: transmissores acoplados às penas retrizes (cauda) não devem ultrapassar 2% da massa corpórea, não se deve ultrapassar 3% para transmissores acoplados com colares e 5% para transmissores com arreios. Cabe ao pesquisador pensar o custo-benefício da proporção corporal do transmissor e tempo de rastreamento, sendo responsável por observar e relatar os efeitos adversos dos transmissores. Mais informações podem ser encontradas em (KENWARD 2001) e (CANDIA-GALLARDO *et al.*, 2010).

4.h.9) Marcadores eletrônicos como *microchips* são inseridos sob a pele, idealmente na musculatura peitoral, com assepsia prévia. Por se tratar de um método que causa injúria, deve-se avaliar a necessidade do uso de analgésicos, conforme o caso e métodos profiláticos antes da liberação do animal.

Como recomendações gerais que o pesquisador deve observar durante as atividades de marcação de aves em vida livre, destacam-se:

- Observar e atender à legislação pertinente à atividade de marcação de aves em vida livre no Brasil.
- Utilizar um marcador que seja adequado à espécie.
- Marcações com anilhas metálicas padrão CEMAVE, só devem ser realizadas se a espécie for corretamente identificada.
- As anilhas e bandeirolas devem ser fechadas corretamente. Deixar anilhas e bandeirolas abertas, facilita o enroscamento na vegetação e pode ocasionar a morte.
- Não colocar marcadores em aves feridas gravemente. Nessa situação, a ave deve ser devidamente tratada e solta, se tiver condições de voo. Se o ferimento for leve, a marcação pode ser feita, evitando-se a região ferida.

4.i) Obtenção de Amostras Biológicas

A obtenção de amostras biológicas pode estar relacionada a diferentes propósitos e pode ajudar a responder perguntas de diferentes áreas da ornitologia. A obtenção de material biológico com fins de pesquisa de patógenos, por

exemplo, é importante para a saúde humana, ambiental e animal. Além disso, as amostras biológicas são importantes para pesquisas envolvendo biogeografia, filogenética, ecologia e interações entre parasito-hospedeiro.

Além de aumentar o tempo de contenção e manipulação da ave, a obtenção de material biológico pode trazer efeitos letais e subletais. Os efeitos da coleta de sangue ainda são controversos, entretanto sabe-se que pode diminuir a sobrevivência no primeiro ano de vida de aves marinhas, a depender do volume de sangue obtido (BROWN & BROWN 2009), e que efeitos subletais também podem ser observados (VAN OERS & CARERE 2007). A fumigação para obtenção de ectoparasitos também tem efeitos colaterais especialmente se consorciada à coleta de sangue (BROWN & BROWN 2009). Os efeitos são maiores em aves com alto metabolismo (*e.g.* beija-flores), e que estejam com grande intensidade de parasitos ou em períodos com grande demanda de energia (*e.g.* reprodução e muda) (FAIR *et al.*, 2010).

Alguns cuidados gerais para obtenção de material biológico de aves de vida livre estão listados abaixo:

→ Os procedimentos a serem adotados devem estar de acordo com as questões a serem respondidas pelo estudo.

→ A obtenção de amostras biológicas deve ser realizada minimizando o sofrimento, dor, aflição momentânea ou dano passageiro, considerando os princípios da biossegurança e de assepsia, utilizando métodos que permitam a diminuição do nível de consciência e estresse, com dosagens adequadas de anestesia quando necessária, causando efeito calmante com pouco ou nenhum impacto sobre as funções motoras ou mentais do animal. Bloqueios visuais e olfativos podem auxiliar a acalmar os animais e facilitar a obtenção de amostras.

→ O uso da fumigação deve ser evitado caso a ave esteja em reprodução ou muda de penas.

Os pesquisadores devem ser treinados para realizar os procedimentos de obtenção de amostras biológicas, podendo utilizar espécimes em cativeiro primeiramente, sempre recorrendo a métodos menos invasivos ou cruentos.

4.i.1) Amostras de sangue podem ser obtidas a partir das veias braquial, ulnar, metatársica ou jugular, dependendo do tamanho da ave. Recomendamos, baseando-se em (FAIR *et al.*, 2010) e (OWEN 2011):

→ Não ultrapassar o volume de no máximo 1% do peso vivo ou 2% do peso vivo a cada 14 dias.

→ Não recomendamos utilizar seringa para obter sangue da veia ulnar em aves de pequeno porte. Utilizar somente agulhas pequenas e tubos capilares para evitar hematomas, que são mais frequentes neste acesso venoso e que podem representar perda de sangue e dificultar o voo. Para aves com até 7 g, preencher 1/3 a 1/2 de um tubo capilar (70 µl). Para aves de 7 a 15 g (*e.g.* *Hemitriccus margaritaceiventer*) pode-se coletar um ou dois tubos capilares.

Para aves de 50 g (e.g. *Turdus rufiventris*) no máximo oito capilares podem ser coletados. Para aves de 100 g pode-se coletar no máximo 1 ml (contando-se aqui extravasamentos e hematomas).

→ Para coleta de sangue a partir da veia ulnar (ideal para aves com menos de 100 g), a ave é contida com a mão esquerda (para destros) e a asa esquerda estendida pelo indicador e dedo médio. Deve-se fazer assepsia com álcool 70% na região da articulação úmero-radio-ulnar, onde se visualiza a veia ulnar. É preciso ter cuidado para não exagerar no álcool, para não afetar a impermeabilidade das penas, termorregulação e voo da ave. Realiza-se um pique com uma agulha 13x4,5 e remove-se a agulha na mesma direção da inserção, o que evita hematomas. Coloca-se um capilar para a coleta de sangue e, após a retirada do capilar, fecha-se a asa da ave (com ou sem o uso de gaze ou algodão para auxiliar a hemostasia). Caso o sangramento não pare espontaneamente, aplique pressão no local da venipunção ou pó hemostático, encontrado em farmácias veterinárias (pode-se utilizar nitrato de prata ou permanganato de potássio, encontrados em farmácia humana). O capilar pode ser selado com uma massinha de modelar (em casos em que se necessite o plasma ou soro) ou imediatamente transferido para micro ou criotubos.

→ Em aves com mais de 800 g pode-se utilizar seringa de 1 a 3 ml acoplada a uma agulha 13x4,5, coletando-se o sangue da veia braquial, veia metatársica ou jugular a depender da espécie. Para a jugular posiciona-se a ave contida em decúbito lateral esquerdo, para acesso a veia jugular direita, que é mais calibrosa. Psitacídeos movem as asas quando contidos e facilmente se observam hematomas. Aves de rapina não movem as asas, facilitando a obtenção de amostras, entretanto o acesso à veia metatársica também é fácil. Columbiformes e psitacídeos podem estar com o inglúvio cheio, o que dificulta o acesso à veia jugular, logo, outro acesso deve ser procurado.

→ Não recomendamos o corte de unha (com exceção de Trochilidae), pois interfere na habilidade de empoleiramento e coleta uma quantidade de sangue inexpressiva.

→ Não realize punção cardíaca, uma vez que possui alto risco de morte para a ave. Tal técnica só é recomendada para aves que acabaram de morrer.

→ Para a obtenção de soro (sem anticoagulante) ou plasma (capilares heparinizados ou com EDTA) pode-se utilizar os próprios capilares, centrifugando-os (durante 15 min à 2000 a 3000 x g) em microcentrifugas, quebrando-se o capilar logo após a papa de células; o soro ou plasma podem ser armazenados em microtubos, conservados a -20°C até o processamento.

→ O sangue obtido nunca deve ser exposto ao sol e deve ser conservado em solução adequada ou em baixa temperatura (utilizar *cooler* e gelo reciclável ou botijão de nitrogênio caso seja necessário).

→ Esfregaços sanguíneos podem ser requeridos para contagem diferencial de células ou busca de hemoparasitos. Utilize duas lâminas limpas e realize o esfregaço imediatamente após a coleta, fixando-o em metanol 100% após a lâmina estiver seca. Acondicione em caixa de lâminas.

→ Para estudos moleculares (e.g. genéticos ou pesquisa de patógenos) pouca quantidade de sangue é necessária, portanto, não obtenha mais sangue do que o necessário. O sangue pode ser armazenado em soluções tampões, álcool 100% PA, papel filtro ou cartões FTA. As amostras podem ser mantidas em temperatura ambiente (álcool 100% PA, papel filtro ou cartões FTA) ou refrigeradas (álcool 100% PA ou soluções tampões). Para RNA indica-se a utilização de nitrogênio líquido (e posterior armazenagem em freezer -80°C até o processamento) e soluções tampões (ver CHIARI & GALTIER 2011; SCHWOCHOW *et al.*, 2012). Para estudos de hormônios, amostras seriadas podem ser necessárias (consultar FAIR *et al.*, 2010; OWEN, 2011).

→ Alternativamente pode-se coletar penas (bulbo da pena), casca de ovo (para DNA maternal) para estudos genéticos e de isótopos estáveis, enquanto as excretas são uma alternativa para análise de hormônios, apesar de não tão precisas e com necessidade de extensiva validação.

4.i.2) Penas (rêmiges, retrizes e coberteiras) podem ser obtidas, entretanto a quantidade de penas a ser coletada deve considerar o não comprometimento da capacidade de voo.

4.i.3) Excretas são utilizadas para análise de estrutura trófica de comunidades e condições físicas do ambiente (SABINO & DUCA 2011). As amostras podem ser obtidas a partir do saco de contenção ou durante a manipulação das aves. Sugerimos colocar as amostras de excreta em criotubos com tampa de rosca com álcool 70%, para estudos morfológicos de invertebrados contidos na dieta. As excretas também podem ser utilizadas para levantamento de ovos e oocistos de parasitos, neste caso as amostras podem ser armazenadas refrigeradas por até 7 dias ou em formol 3% e processadas para exames de flutuação ou sedimentação. Para amostras de excreta de aves de pequeno porte pode-se manter as excretas acondicionadas em microtubos contendo solução fisiológica (refrigeradas), e utilizar a técnica de Sheather modificada (SANTOS *et al.*, 2011) para analisar excretas em baixa quantidade.

4.i.4) *Pellets* e regurgitos são muito utilizados para determinação da dieta de aves de rapina e aves marinhas. As restrições ou recomendações estão mais ligadas à aproximação e manipulação das aves, do que à obtenção dos *Pellets*. Os eméticos, como tártaro emético (mais comum), apomorfina e ipecac apesar de serem utilizadas, possuem efeitos tóxicos para as aves (e.g. tártaro emético é absorvido, sendo difícil determinar a dose correta); por isso a utilização de análise de excreta deve ser priorizada em detrimento do uso de eméticos. Para obter o conteúdo alimentar

não recomendamos o uso de ligaduras no pescoço para ninhegos, pois causa alta mortalidade e pode ser substituída por análise fecal.

Métodos bioquímicos para análise da dieta que inclui análise de isótopos estáveis e análise quantitativa de ácidos graxos estão cada vez mais em uso. A última acessa a dieta de organismos marinhos, baseada no fato que a gordura apresenta sinais de itens predados, apresentando informações mais precisas que os isótopos estáveis (FAIR *et al.*, 2010).

4.i.5) Ectoparasitos incluem ácaros, carrapatos, piolhos (especialmente Mallophaga) e outros insetos (*e.g.* Hippoboscidae e Diptera), que podem se alimentar de sangue, fluidos ou penas. Para a amostragem deve ser considerada não somente o encontro do parasito, como os microhabitats propícios para todos os instares de cada espécie dos diferentes artrópodes. (ARZUA & VALIM 2010) descrevem detalhadamente a amostragem qualitativa e quantitativa de ectoparasitos.

O tempo de manuseio é um fator limitante para a inspeção e a devida amostragem de ectoparasitos. Pode-se utilizar a remoção manual, com pinças ou mesmo agulhas pequenas (*e.g.* Trombiculidae) embebidas em álcool. Cuidados devem ser tomados na utilização de álcool ou no corte de penas para obtenção das amostras, não comprometendo a capacidade de voo e impermeabilização. Para técnicas quantitativas de amostragem de ectoparasitos, como *dust-ruffling* cuidados devem ser tomados com as mucosas e a toxicidade do produto. O tempo para a ação do pó é de 5 a 10 minutos. A postura e comportamento da ave devem ser observados quando a ave está sob o efeito do produto. As câmaras de fumigação utilizam produtos com toxicidade, como clorofórmio, acetato de etila ou éter durante no mínimo 5 minutos. Observar a reação das aves e da equipe, pois estes produtos são voláteis e podem causar efeitos como sonolência. Caso a ave se apresente mole e sem reação, retire-a da fumigação e a deixe descansar no saco de transporte, antes de soltá-la. A lavagem do corpo é um procedimento recomendado somente para aves mortas.

4.i.6) Suabes cloacais e orofaríngeos podem ser obtidos para proceder ao estudo da microbiota e pesquisa molecular de patógenos como, por exemplo, vírus da Influenza, Newcastle, doença do Oeste do Nilo, herpes-vírus, *Salmonella* e *Chlamydia*. A obtenção de múltiplos suabes da mesma área pode promover sangramento e lesões de mucosa, além de diminuir a quantidade de células obtidas. Tenha bom senso no número de suabes a serem coletados por espécime. A obtenção de suabe orofaríngeo é dificultada em aves que têm bico com forte preensão, como os psitacídeos. Além disso, algumas técnicas de abertura de bico podem causar lesão na mucosa e no bico.

4.j) Coleta de indivíduos e ovos

A coleta de espécime animal implica na remoção definitiva do indivíduo do ambiente natural (ICMBio 2014). As pesquisas podem envolver a coleta de aves para a identificação acurada dos espécimes e pesquisas filogeográficas, genéticas, de dinâmica e estrutura populacional, anatomia e fisiologia comparadas, patologia, distribuição geográfica e ecologia.

Cada animal serve como um voucher da espécie em questão naquele determinado lugar e tempo e provê uma rigorosa documentação, que pode ser reexaminada estruturalmente ou bioquimicamente no futuro. É importante que além da conservação da pele e esqueleto, o espécime possua informações contundentes (ossificação, condições de gordura e das gônadas, peso, estado reprodutivo, alimentação, rota migratória, exposição a poluentes, padrão demográfico, distinção genética) e representação de tecidos e órgãos, como tecidos moles e conteúdo estomacal (FAIR *et al.*, 2010).

É imprescindível destinar o material biológico coletado a uma instituição científica, depositando-o em coleção biológica (ICMBio 2014). A coleta do maior número de espécimes possível não é justificada atualmente; a simples deposição em coleções não deve ser a justificativa a coleta. O motivador deve ser o objetivo do estudo em questão, ressaltando-se que as comparações requerem uma série de indivíduos para conclusões confiáveis. Espécimes depositados também não garantem obter as informações básicas de diferentes espécies (sexo, idade, plumagens alternativas ou formativas, variações geográficas e sazonais). Além disso, os espécimes testemunhos devem ser depositados em coleções, pois a Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica recomenda a descrição de táxons baseada em espécimes. Além da coleta, as coleções ornitológicas têm armazenado importantes informações por meio de fotografia, tecidos, bem como arquivos de vocalizações.

Para atividades didáticas, a coleta de aves em vida livre dificilmente se justifica, considerando o caráter mais geral da aprendizagem e a existência de métodos alternativos em aulas práticas e de campo. Deve ser priorizado o uso de aves domésticas (*e.g.* pombos ou galinhas) já abatidos ou eutanasiados para outras finalidades em estudos de anatomia e fisiologia e nas práticas de taxidermia, montagem de esqueleto etc. Em campo, é possível realizar uma série de atividades de ensino sobre estudo de aves que não envolvem eutanásia, tais como identificação via observações, *playback*, registro por fotos ou gravação de sons e demonstrações de métodos de captura de exemplares, com soltura imediata, como já abordado neste capítulo. Também podem ser obtidos exemplares que venham a óbito em centros de triagem e zoológicos, excelentes fontes de material para implantação de coleções didáticas ou para uso em práticas de

montagem e armazenamento de peças. A coleta é uma atividade muito particular, que deve ser utilizada com critério e não deve comprometer a viabilidade de populações, sobretudo de espécies ameaçadas de extinção.

Caso o pesquisador realize coleta de espécimes e ovos, recomendamos:

→ O método a ser empregado deve ser o mesmo utilizado para eutanásia, ou seja, de uma forma indolor, rápida ou instantânea e sem sofrimento. Ainda, é necessário evitar danos nas partes do corpo necessárias para atingir o objetivo da pesquisa;

→ Deve-se minimizar ao máximo os estímulos visuais, auditivos e táteis no momento da coleta. Quando houver dificuldade de contenção física ou risco para os operadores, deve-se realizar contenção química com sedativos, analgésicos e/ou anestésicos. A via de injeção deve causar mínimo estresse e o uso de dardos e armas de captura/coleta podem ser necessários. Também podem ser úteis os fármacos administrados por via oral, misturados nos alimentos ou água;

→ O método deve ser confiável, irreversível e compatível com as necessidades da espécie e da pesquisa;

→ Todos os sinais a seguir devem ser verificados para confirmar a morte do animal: ausência de movimento respiratório (apneia); ausência de batimentos cardíacos (assistolia), preferencialmente, por meio do uso de estetoscópio, ou equipamento que o substitua, como, por exemplo, *doppler* ultrassom; ausência de pulsação, mucosas pálidas e perda do reflexo corneal ou àqueles próprios da espécie;

→ São consideradas características indesejáveis nos métodos de eutanásia: métodos cruentos, uso de vácuo, uso isolado de miorrelaxantes. Além disso, a ave não pode estar consciente antes da parada cardíaca e respiratória;

→ Tiro com arma de fogo é restrito às condições de campo, sendo uma maneira efetiva para coletar muitas espécies. Ornitólogos que coletam aves com uma arma de fogo devem ter experiência com o seu uso e devem estar devidamente licenciados/autorizados. A morte por arma de fogo deve ser rápida. A arma e a munição utilizadas devem ser apropriadas para a espécie a ser coletada. Deve-se evitar causar inúmeros ferimentos nas aves e maximizar a probabilidade de recuperar o espécime. Se a ave não morrer prontamente com o tiro, deve ser eutanasiada rapidamente. Cuidados devem ser tomados para não danificar a pele e o espécime;

→ Captura com redes de neblina seguida de eutanásia é recomendável para coleta de espécimes em vegetação densa, pois a arma de fogo é menos efetiva;

→ Os métodos de eutanásia podem ser divididos em físicos ou químicos. Dentre os químicos, os mais frequentes são os agentes injetáveis, os quais são preferíveis em detrimento da compressão torácica e deslocamento cervical.

É difícil utilizar gases anestésicos em campo, por isso desencorajamos a anestesia inalatória. Entretanto, o propósito do estudo científico pode obstar o uso dos primeiros;

→ Quando a via intravenosa for impraticável para a eutanásia, pode-se utilizar a via intraperitoneal. Como pela via intraperitoneal os animais permanecem por tempo mais prolongado no estágio II (excitação), eles devem ser colocados em espaços pequenos, como o saco de transporte, e em silêncio para evitar traumas;

→ Qualquer fármaco que produza um estado de anestesia geral pode ser utilizado. Entre os de uso mais comum destacam-se o tiopental, o pentobarbital e o propofol. Desde que a inconsciência tenha sido confirmada, os anestésicos gerais podem ser seguidos por métodos complementares, como bloqueadores neuromusculares e/ou cloreto de potássio, que causam apneia e assistolia, respectivamente. Em nenhuma hipótese os bloqueadores neuromusculares e/ou cloreto de potássio devem ser utilizados em animais sem a confirmação da inconsciência;

→ Ao utilizar um método físico, o procedimento deve ser apropriado à espécie e a aplicação do método deve ser precisa. A experiência, a prática do operador e a eficiência dos equipamentos utilizados também são críticas para o procedimento. A equipe deve ter qualificação e capacitação para manusear os animais e aplicar o método de eutanásia de forma a minimizar o estresse nos animais;

→ Remoção permanente de grandes números de animais de dormitórios ou agregação reprodutiva devem ser terminantemente evitados. Da mesma forma, devem ser evitadas coletas de fêmeas nidificantes;

Deve-se procurar informações em todas as coleções acessíveis antes de propor atividades de pesquisa para coleta, visto que os espécimes de interesse já podem estar disponíveis;

→ A coleta pode ter efeitos irreversíveis para populações em rápido declínio ou população reduzida.

Maiores informações sobre captura, marcação e coleta de amostras biológicas de aves silvestres podem ser obtidas no Manual de Anilhamento de Aves Silvestres (ICMBio 2020).

5. Procedimentos de soltura, translocação, introdução, reintrodução, revigoramento populacional de aves

A pesquisa de aves em vida livre pode envolver procedimentos de soltura de diferentes tipos. Por ser esta uma forma de intervenção com impactos negativos potencialmente severos para o indivíduo ou para as comunidades de destino, projetos de pesquisa que envolvam soltura devem sempre ter objetivos claramente vinculados à melhoria do estado de conservação da espécie-alvo, de populações ou ao restabelecimento de funções ou processos ecológicos. Deve-se considerar ainda os princípios de bem-estar e saúde animal, tanto do indivíduo a ser solto quanto daqueles existentes no local de soltura. Esses princípios devem estar acima de outros interesses, sejam eles científicos ou de qualquer outra ordem. É importante ressaltar que a soltura de animais carrega riscos e problemas reais e, em geral, traz poucos benefícios à conservação e ao próprio animal liberado. Por essa razão, não é aceitável que qualquer atividade de soltura seja realizada com fins didáticos.

Além do exposto acima, projetos científicos que envolvam soltura devem estar em conformidade com as diretrizes da IUCN para reitroduções e outras translocações para fins de conservação (IUCN 2013), bem como avaliar condições essenciais para sua realização: distribuição geográfica original da espécie-alvo, existência de seu habitat preferencial, controle das ameaças que levaram a espécie a declínio populacional, seleção adequada dos indivíduos a serem soltos (incluindo idade, sexo, condição física, sanitária e comportamental), marcação, tipo de soltura e monitoramento pós-soltura.

ANEXO 1: Legislação de referência

Apresentamos a legislação citada no presente capítulo, com os respectivos links, para facilitar o acesso por parte do leitor. Ressaltamos a necessidade de atenção a possíveis futuras revisões das normas legais vigentes.

→ **Decreto Federal nº 3607, de 21/09/2000:** Dispõe sobre a implementação da Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites), e dá outras providências.

→ **Decreto Federal nº 3665, de 20 de novembro de 2000:** Dá nova redação ao Regulamento para a Fiscalização de Produtos Controlados (R-105), do Ministério da Defesa, que regula o fabrico, comércio, transporte e uso dos materiais controlados.

→ **Instrução Normativa IBAMA 27, de 23/12/2002:** Dispõe sobre os procedimentos do Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres - SNA.

→ **Instrução Normativa IBAMA nº 140, de 18/12/2006:** Institui o serviço de solicitação e emissão de licenças do Ibama para a importação, exportação e reexportação de espécimes, produtos e subprodutos da fauna e flora silvestre brasileira, e da fauna e flora exótica, constantes ou não nos anexos da Convenção Internacional sobre o Comércio das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites).

→ **Instrução Normativa IBAMA nº 141/2006, de 19/12/2006:** Regulamenta o controle e o manejo ambiental da fauna sinantrópica nociva.

→ **Instrução Normativa IBAMA nº 08, de 07/08/2017:** Estabelece os procedimentos para a solicitação e emissão de Autorização para Captura, Coleta e Transporte de Material Biológico (Abio) no âmbito dos processos de licenciamento ambiental federal.

→ **Instrução Normativa ICMBio nº 03, de 01/09/2014:** Regulamenta a coleta de material biológico para fins científicos e didáticos (no âmbito do ensino superior) e a execução de pesquisa em unidades de conservação e cavernas.

→ **Lei Complementar nº 140, de 08/12/2011:** Fixa normas para a cooperação entre a União, os Estados, o Distrito Federal e os Municípios, nas ações administrativas decorrentes do exercício da competência comum relativas à proteção das paisagens naturais notáveis, à proteção do meio ambiente, ao combate à poluição em qualquer de suas formas e à preservação das florestas, da fauna e da flora; e altera a Lei nº 6938, de 31 de agosto de 1982.

→ **Lei Federal nº 11.794, de 08/10/2008:** Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.

→ **Lei Federal nº 12.725, de 16/10/2012:** Dispõe sobre o controle da fauna nas imediações de aeródromos.

→ **Resolução Normativa CONCEA nº 13/09/2013:** Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal -CONCEA.

CINGULATAS E PILOSAS (TATUS, PREGUIÇAS E TAMANDUÁS)

AUTORES:

Flávia Miranda Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

1. Introdução

A magnaordem Xenarthra consiste em um pequeno clado de mamíferos, que possui mais de 30 espécies viventes de tatus, preguiças e tamanduás (GIBB 2016). Sua origem é incerta, mas antecede os 60 milhões de anos (SIMPSON 1980; DELSUC *et al.*, 2012).

No Brasil o gênero *Bradypus* é constituído de três espécies distintas: preguiça-de-bentinho (*Bradypus tridactylus*), restrita à região amazônica e preguiça-comum (*Bradypus variegatus*), de mais ampla distribuição, ocorrendo nas Américas Central e do Sul, desde a Costa Rica, incluindo Equador, Colômbia, Venezuela, Peru, Bolívia, Argentina e praticamente todo o Brasil. Já a preguiça-de-coleira (*Bradypus torquatus*), é uma espécie brasileira e endêmica da Mata Atlântica, e atualmente está listada como vulnerável pela IUCN (SUPERINA *et al.*, 2010).

As preguiças têm o corpo com reduzida massa muscular, cauda bastante curta, membros posteriores curtos e anteriores longos, ambos providos de três longas garras, ferramenta imprescindível para a sua locomoção no estrato arbóreo, além de ser instrumento de defesa e de acesso aos alimentos (MIRANDA 2014).

Os tatus representam a ordem Cingulata, um antigo e primitivo grupo de mamíferos que, provavelmente, originou-se na América do Norte e migrou para a América do Sul, há cerca de 65 milhões de anos. Providos de carapaça, que tem como função a proteção contra predadores (MCDONOUGH & LOUGRY 2001), são caracterizados por terem o corpo coberto por escudos dérmicos, que cobrem a cabeça, dorso e laterais e em algumas espécies a cauda e as pernas (EMMONS 1990). Esta ordem é composta pela família Dasypodidae, composta por 9 gêneros com 21 espécies. Destes, 5 gêneros e 11 espécies ocorrem no Brasil (AGUIAR 2008). Uma espécie é endêmica, o tatu bola do nordeste (*Tolypeutes tricinctus*), que pode ser encontrado somente na caatinga e cerrado.

2. Autorizações

Os procedimentos relativos à captura, manejo e marcação seguem sob a aprovação e consentimento legal da Autoridade Federal Brasileira. A autorização para atividades com finalidade científica é expedida pelo Ministério do Meio Ambiente – MMA, através do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBIO. Sistema de Autorização e Informações em Biodiversidade – SISBIO.

3. Planejamento e cuidado

Para a realização de contenções químicas bem-sucedidas, detalhes da anatomia e fisiologia destas espécies devem ser levados em consideração (MIRANDA 2007). Antes de realizar a sedação destes animais, deve-se manter em mãos um kit de traqueostomia, para utilização em caso de emergências respiratórias, uma vez que a abertura da boca é pequena, dificultando a intubação, especialmente nos tamanduás.

Uma vez administrado o fármaco, procura-se minimizar os estímulos externos (ruídos, conversas, contatos etc.). Procura-se observar o animal, e o monitoramento é iniciado assim que o animal esteja em decúbito, e não respondendo aos estímulos (tempo de indução). Antes de manipular qualquer animal anestesiado, deve-se assegurar que este animal está em plano anestésico. Em seguida as garras devem ser contidas (esparadrapo, atadura etc.) para evitar possíveis acidentes.

Uma vez comprovado que se pode manipular o animal sem risco, este deverá ser colocado em decúbito lateral, com a cabeça e pescoço ligeiramente estirados para que este possa respirar com tranquilidade. No caso dos tatus, este procedimento não se torna viável, requerendo maior observação e monitoramento na sua contenção. A boca deverá estar posicionada em uma posição inferior ao pescoço, caso haja salivação. Antes de seguir com o manejo do animal, deve se comprovar que o animal respira com tranquilidade e verificar se as mucosas estão rosadas (MIRANDA *et al.*, 2006). É de suma importância que o animal seja mantido em uma área de silêncio, protegida de frio ou calor, evitando o contato direto com o sol. Estas espécies possuem uma temperatura corporal muito baixa, que pode variar, em condições normais, entre 32 e 34° C. Após o monitoramento inicial, deve-se aplicar uma pomada oftálmica lubrificante, para prevenir a desidratação da córnea, após o que se deve colocar uma venda sobre os olhos para minimizar o efeito dos estímulos externos. A língua pode ser gentilmente umedecida com solução fisiológica. No caso de contenção química com zarabatana ou arma anestésica (tamanduá bandeira) a área de aplicação do dardo deve ser cuidadosamente examinada. Caso necessário, limpar e desinfetar a área de aplicação.

4. Métodos de captura utilizados para Pilosas e Cingulatas

4.1. Tamanduás

Durante o processo de captura de tamanduás, o animal deve ser avistado e cercado pela equipe e contido farmacologicamente, utilizando-se dardo anestésico comercial Telinject® ou fabricação manual, lançado através de zarabatana nas musculaturas dos membros anteriores ou posteriores. Utiliza-se para sedação a associação de fármacos anestésicos como Cloridrato de Cetamina e Midazolam (MIRANDA; SUPERINA; JIMENEZ 2006), em dosagem suficiente para um manejo seguro do animal por 30 - 45 minutos, sem que este fique completamente inconsciente. Esses fármacos possuem uma alta margem de segurança e são recomendados para a utilização em animais selvagens, principalmente mamíferos.

Equipamentos e fármacos de emergência, capazes de melhorar a capacidade cardio-respiratória como Aminofilina, Doxapram, bem como a Atropina e Adrenalina, estão disponíveis e com doses previamente calculadas, com intervalos de 10 kg, entre 20, 30 e 40 kg de massa corporal. As alterações das doses dos anestésicos e outros fármacos devem ser realizados conforme a necessidade para atender a todas as situações emergenciais.

Durante o procedimento anestésico, inclui-se o monitoramento do ritmo e frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal e saturação de oxigênio através do uso de aparelho de oximetria de pulso (Nellcon®). Outros procedimentos podem ser realizados durante a imobilização, tais como aplicação de *transponder*, morfometrias como comprimento total, tamanho de garra, comprimento de cauda etc. Também podem ser realizadas avaliações clínicas, sexagem, colheita de sangue, amostras de fezes, *swabs*, coleta de ectoparasitos e biópsias de pele. As amostras de sangue podem ser coletadas em seringas de 20 ml, das veias cefálica ou femoral interna.

4.2. Preguiças

Para captura em vida livre, devem ser realizadas campanhas para coleta de informações preliminares a respeito da distribuição da ocorrência da espécie na área de estudo, através de indícios indiretos (marcações, fezes) e diretos

como a visualização do animal. Este levantamento prévio é necessário para traçarmos o planejamento da captura. Quando um animal é visualizado, um membro da equipe acessará à copa das árvores para ter acesso ao animal, pelo método de escalada, o que exige um escalador com habilidade em contenção física e conhecimento da biologia da espécie. Após a contenção física, o animal deve acomodado dentro de um saco de tecido medindo 1.5m x 1.5m, garantindo a segurança e conforto do animal que será transportado até o chão com o auxílio de uma corda. Para um manejo seguro e a possibilidade de contenção física das preguiças, as garras dos membros anteriores e posteriores do animal serão enroladas com fita do tipo Vetrap para mantê-las fechadas.

Após a contenção física do animal, pode ser realizada a contenção química. A eleição do manejo ficará a cargo do procedimento realizado. O manejo sem sedação de *Bradypus* é bastante tranquilo pois a espécie não aparenta o estresse. Já as *Choloepus* requerem um manejo mais detalhado, e a contenção química é recomendada para ambas as espécies. O monitoramento anestésico e clínico dos parâmetros fisiológicos do animal deve ocorrer durante todo e qualquer procedimento. O monitoramento cardíaco deve ser realizado por meio de auscultação com o uso de estetoscópio, a frequência respiratória será mensurada com o uso de um oxímetro de pulso que deve ser acoplado na extremidade da língua do animal e a avaliação de temperatura retal deve ser feita com termômetro digital. Os parâmetros devem ser avaliados a cada dez minutos e todas as informações referentes a contenção química deve ser relatada em uma ficha anestésica. Este procedimento deve ser realizado por um médico veterinário. Após a estabilidade dos parâmetros fisiológicos acima citados, poderá realizada a coleta de material biológico do animal. Para marcação é possível o uso de *microchip* ou *nanochip*; ambos devem ser aplicados via subcutânea no dorso do animal. Caso o animal seja monitorado por um radiotransmissor, este não poderá ultrapassar 6% do peso total do animal. Ao final de todos os procedimentos, o animal receberá reversor anestésico, encerrando o estado de anestesia do animal e possibilitando sua soltura no mesmo local de captura.

4.3. Tatus

As diversas espécies de tatus podem ser contidas com auxílio de luvas de raspa de couro, segurando o animal firmemente, pelas laterais da armadura, e com atenção aos movimentos das suas garras. Este procedimento se torna inviável para o tatu canastra, que pesa, em média, 40 kg. O tatu-bola pode ser contido após o fechamento da sua carapaça, minimizando assim o estresse da contenção e o risco de acidentes. Mas este procedimento impossibilita o

exame clínico e a aplicação de medicamentos, necessitando ser anestesiado o indivíduo. Os protocolos anestésicos devem ser previamente estabelecidos para o manejo a ser realizado e as doses extrapoladas por alometria. A eleição do protocolo, irá permitir ou não a reversão da anestesia.

5. Contenção química

Para a realização de contenções químicas bem-sucedidas, detalhes da anatomia e fisiologia destas espécies devem ser levados em consideração (MIRANDA 2007). Antes de realizar a sedação destes animais, deve-se manter em mãos um kit de traqueostomia, para utilização em caso de emergências respiratórias, uma vez que a abertura da boca é pequena, dificultando a intubação.

Uma vez administrado o fármaco, procura-se minimizar os estímulos externos (ruídos, conversas, contatos etc.). Procura-se observar o animal, e o monitoramento é iniciado assim que o animal esteja em decúbito, e não respondendo aos estímulos (tempo de indução). Antes de manipular qualquer animal anestesiado, deve-se assegurar que este animal está em plano anestésico. Em seguida as garras devem ser contidas (esparadrapo, atadura etc.) para evitar possíveis acidentes.

Uma vez comprovado que se pode manipular o animal sem risco, este deverá ser colocado em decúbito lateral, com a cabeça e pescoço ligeiramente estirados para que este possa respirar com tranquilidade. No caso dos tatus, este procedimento não se torna viável, requerendo maior observação e monitoramento na sua contenção. A boca deverá estar posicionada em uma posição inferior ao pescoço, caso haja salivação. Antes de seguir com o manejo do animal, deve-se comprovar que o animal respira com tranquilidade e verificar se as mucosas estão rosadas (MIRANDA *et al*, 2006). É de suma importância que o animal seja mantido em uma área de silêncio, protegida de frio ou calor, evitando o contato direto com o sol. Estas espécies possuem uma temperatura corporal muito baixa, que pode variar, em condições normais, entre 32 e 34°C.

Após o monitoramento inicial, deve-se aplicar uma pomada oftálmica lubrificante, para prevenir a desidratação da córnea, após deve-se colocar uma venda sobre os olhos para minimizar o efeito dos estímulos externos. A língua pode ser gentilmente umedecida com solução fisiológica. Caso necessário, limpar e desinfetar a área de aplicação.

6. Emergências/anestésicas

6.1. Bradipneia e apneia

O diagnóstico se baseia em:

- Frequência respiratória baixa ou ausente
- Mucosas de coloração azulada ou acinzentada
- Saturação de oxigênio < 80%.

Possíveis causas:

- A própria substância anestésica
- Obstrução das vias respiratórias, posição inadequada da cabeça ou do pescoço, excesso de salivagem ou regurgitação, edema laríngeo ou obstrução das vias respiratórias pela língua, pressão sobre o diafragma por conteúdo intestinal e ou saturação por CO₂.

Tratamento:

- Interromper a administração de substâncias anestésicas. No caso de anestesia inalatória, fechar o circuito anestésico, esvaziar o circuito de gases e manter o aporte de oxigênio. Verificar se não há obstrução das vias respiratórias por postura anormal da cabeça ou do pescoço, pela língua ou por excesso de salivagem, vômito ou corpo estranho, ventilar o animal manualmente ou com bolsa de reanimação, fornecer oxigênio por meio de máscara, administrar o antagonista apropriado. Em ultimo caso Realizar traqueostomia, tomando cuidado para não incisar a glândula salivar.

6.2. Parada cardíaca

O diagnóstico se baseia em:

- Pulso ou batimento cardíaco débil ou ausente
- Mucosas cianóticas
- Maior tempo de retorno capilar

→ Extremidades frias.

Causas:

→ Parada respiratória induzida pela substância ou desequilíbrio ácido-básico.

Tratamento:

→ Interromper a administração da substância anestésica. Assegurar-se de que o animal pode respirar antes de iniciar uma massagem cardíaca. Começar com massagem cardíaca externa. Aplicar pressão firme de 40 a 60 ciclos/min sobre a área cardíaca. Um assistente deve palpar a artéria femoral, para se assegurar de que está realizando as massagens adequadamente. Se possível, utilizar desfibrilador.

→ Administrar 0,02 mg/kg de uma solução de epinefrina 1:1.000 (1 mg) intravenosa ou intracardíaca e continuar com a massagem externa.

→ Administrar 20 ml/kg de soro lactato de Ringer por via intravenosa.

→ Se não houver resposta rápida, repita a administração de epinefrina a intervalos de 5 min.

6.3. Hipertermia

Diagnóstico:

→ É considerado hipertermia quando a temperatura retal for $> 37^{\circ}\text{C}$.

Causas:

→ Produção de calor interno por excesso de atividade física (contenção física).

→ Aquecimento por calor externo (imobilização em dias quentes).

→ Comprometimento do centro regulador de temperatura por ação de substâncias.

→ Inibição da atividade termorreguladora devido à anestesia.

Tratamento:

→ Manter o animal na sombra.

→ Colocar panos molhados em água fria ou bolsas de gelo sobre as axilas, as virilhas e o abdome do animal.

→ Administrar enema de água fria.

→ Administrar 20 m/kg de solução de lactato de ringer preferivelmente fresca por via intravenosa.

→ Aferir a temperatura a cada 5 a 10 min para analisar a eficiência dos procedimentos. Se a temperatura permanecer alta, continuar molhando o animal.

6.4. Exame clínico e sexagem

Após a aferição dos parâmetros clínicos, os animais devem ser submetidos ao exame clínico detalhado para averiguar o estado de saúde aparente e ou a presença de lesões, fraturas ou até mesmo possíveis sinais característicos das doenças investigadas.

Diferentemente da maioria das espécies de mamíferos onde é possível distinguir machos e fêmeas, através da presença dos órgãos reprodutivos visíveis, os xenarthras, apresentam uma característica diferenciada, onde nos machos os testículos são internos, intra-abdominais. Faz-se necessário a realização de um procedimento de sexagem muito minucioso para as espécies de tamanduás e preguiças, que requer, na maioria das vezes, a realização de anestesia, por um técnico capacitado para tal procedimento.

6.5. Colheita de amostras

A coleta de sangue deve ser realizada pela punção da veia cefálica, safena medial ou safena lateral e o volume de sangue coletado poderá corresponder até 1% do peso do animal. Para a coleta de sangue devem ser utilizadas agulhas descartáveis de calibre de acordo com o tamanho da espécie capturada.

6.6. Pesagem e Biometria

Deve ser coletado dados de morfometria do animal como; comprimento da cabeça, comprimento total do corpo, comprimento total de cauda, comprimento total da garra, circunferência da cabeça, circunferência de focinho, circunferência de tórax, e a realização da pesagem.

6.7. Marcação

Os animais capturados devem ser identificados. Os métodos de marcação mais utilizados são o *transponder* (microchip e nanochip) por via subcutânea na região sub escapular. A marcação por tatuagem é bastante utilizada na parte interna de membros posteriores. A marcação com brinco, facilita a visualização do animal à distância, mas não pode ser utilizada em todas as espécies de xenarthra pois os mesmo possuem um orelha diminuta.

6.7.1. Manutenção em cativeiro

Pouco se sabe sobre a manutenção de tatus em cativeiro, devido à variedade de espécies. Os recintos devem ser construídos observando-se os dados de conhecimento básico sobre a espécie, como área de vida, comportamento, reprodução etc. Comparada a outros mamíferos, essa ordem possui uma temperatura corpórea baixa, sendo que a maioria dessas espécies não tolera o frio. Assim, muito embora as instalações devam ser adaptadas para cada espécie, as temperaturas entre 27 a 28° C provavelmente sejam adequadas à manutenção da maioria delas (Miranda e Costa, 2006). Já é sabido que estes animais usam a toca para auxiliar na termoregulação, e que tocas mais profundas são feitas no verão, e as mais rasas no inverno. Em cativeiro este animal não poderá utilizar esta ferramenta, sendo de grande importância que os recintos sejam aquecidos ou resfriados dependendo da temperatura atmosférica. Embora o tamanho do recinto possa variar conforme a espécie, é imperativo que o seu piso seja de terra, sobre material resistente. O substrato pode ser composto de areia, mesclado com terra e contendo vegetações com fortes raízes para dar estabilidade nas construções das tocas (rasas ou artificiais). Para os vermilinguas, o recinto para tamanduá-mirim, deve conter no mínimo 15m² por animal, 3m de altura e possuir um abrigo elevado com área de alimentação. Apesar da espécie descer e explorar o chão, devemos prover abrigos e estruturas altas para que o animal passe a maior parte do tempo se deslocando em troncos. O piso do recinto deve ser de terra, de preferência com grama ou qualquer outra forração. Troncos velhos (podres) devem ser fornecidos para que os tamanduás desgastem as unhas e que possam forragear. Recintos com árvores devem ter manutenção diferenciada.

6.8. Medicina preventiva

A melhor conduta a ser tomada com os animais em cativeiro é o manejo preventivo. Os animais devem ser mantidos em recintos e manejo adequados, com uma nutrição balanceada e um bom programa de medicina preventiva. Não há indicação de nenhuma vacina para as espécies de cingulatas e pilosas. Exames coproparasitológicos e vermifugações devem ser realizados de forma rotineira, assim como uma contenção anual com um exame clínico completo, realização de exames complementares e coleta de material para armazenamento. A anotação e manutenção dos dados são também de grande importância. Os animais que vierem a óbito devem ser submetidos a um exame necroscópico.

Os animais recém chegados às instituições, assim como os possíveis candidatos de retorno à natureza, devem ser submetidos a um rigoroso programa de quarentena. A quarentena tem a função de impedir que novos patógenos sejam introduzidos na coleção ou, no caso de animais que serão liberados, que estes patógenos sejam introduzidos no ambiente.

A quarentena deve estar fisicamente separada dos outros recintos da instituição. Deve haver uma pessoa designada para trabalhar somente nesta área, usando roupas e botas exclusivas para a quarentena. Todo o material utilizado para a limpeza da quarentena, assim como os procedimentos como a alimentação e a manipulação dos animais devem ser realizados dentro da mesma. Não se deve introduzir um novo animal até que todo o processo de quarentena seja concluído. Caso haja contato com algum novo animal, a contagem do tempo deve se iniciar do zero.

Os animais que entram no processo de quarentena só devem ser anestesiados quando tiverem condições físicas para tal. Alguns animais muito debilitados, ou provenientes de vida livre, podem não suportar o estresse de uma contenção física ou química. Nestes casos, pode-se realizar durante 15 dias apenas o exame físico visual, determinação de condição corporal, estresse, estado geral e exame coproparasitológico. E então, se o animal estiver em boas condições, realizar a contenção (MIRANDA *et al.*, 2007). O principal problema, quando o animal é recebido de vida livre, é a sua adaptação à nova dieta. Muitos animais vêm a óbito por inanição. É de suma importância a oferta de cupins para tamanduás recém chegados da natureza. Para as preguiças, deve-se oferecer diferentes tipos de folhas que compõe a dieta. Para os tatus, é muito importante verificar a espécie envolvida, pois cada espécie possui uma dieta apropriada.

PRIMATAS

AUTORES:

Júlio César Bicca-Marques (primatas) Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Fernanda Pozzan Paim Universidade Federal de Minas Gerais

Felipe Ennes Silva Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá

Mônica Mafra Valença-Montenegro Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

1. Introdução¹

Os pesquisadores geralmente seguem um conjunto de princípios éticos definidos em resoluções e políticas sobre o tratamento dos primatas não-humanos na pesquisa, especialmente em estudos biomédicos no contexto de cativeiro. Por outro lado, pesquisas em ambiente natural, como em estudos de observação do comportamento, têm sido alvo de um menor escrutínio público e de regulamentação ética mais superficial do que a pesquisa laboratorial. Os “3Rs” – Reposição (também chamado Substituição), Redução e Refinamento – normalmente exigido das instituições que solicitam permissão para realizar atividades de pesquisa ou ensino com primatas em cativeiro, geralmente têm pouca aplicabilidade para estudos em campo. Pesquisas com populações de vida livre que envolvam captura, manipulação, marcação, coleta invasiva de amostras biológicas ou experimentação são exceções.

Os estudos de primatologia em campo envolvem considerações éticas complexas, que incluem tanto os primatas não-humanos quanto as populações humanas que habitam os locais de estudo e seu entorno. Essas considerações requerem nossa reflexão sobre os efeitos positivos e negativos da presença dos pesquisadores nestes locais (FEDIGAN 2010). Essa realidade exige o reconhecimento de nossa responsabilidade de respeitar o bem-estar das pessoas e dos animais e seus habitats. Ela também situa nossa responsabilidade em relação aos sujeitos de estudo no contexto das culturas locais, sociedades em geral e do ambiente global onde vivemos (CURTIS & SETCHELL 2003; MACKINNON & RILEY 2010; MALONE *et al.*, 2010).

Dessa forma, o presente texto visa estabelecer normas que promovam o desenvolvimento de pesquisas com primatas não-humanos em campo que atendam adequadamente esse cenário ético contemporâneo de preocupação com o bem-estar animal. Além de salientar um conjunto de questões éticas que devem ser consideradas nas pesquisas em campo, este texto destaca um conjunto de práticas que devem ser adotadas para enfrentá-las. Ele também fornece uma base para a análise de amostras biológicas por pesquisadores de laboratório que colaboram com os pesquisadores de campo, e para a escolha das práticas de pesquisa pelos pesquisadores e a avaliação de projetos e manuscritos por revisores, membros de comitês editoriais, editores e financiadores. O texto visa promover a responsabilidade dos agentes envolvidos, seja como educadores, seja como cientistas no estudo, conservação e respeito das populações

1. Parte do texto foi extraída e traduzida do “Code of Best Practices in Field Primatology (2014)” da International Primatological Society e American Society of Primatologists.

silvestres de primatas não-humanos, seus habitats e as populações humanas locais. Portanto, recomenda-se que a elaboração de projetos de pesquisa de campo siga uma abordagem de análise de risco (STRIER 2010) que considere os impactos positivos e negativos de suas dimensões éticas (MACKINNON & RILEY 2010).

2. Responsabilidade: não maltrate e não prejudique

Responsabilidades com os animais para pesquisa ou ensino:

No nível mais básico, os pesquisadores de campo têm obrigações éticas fundamentais com as espécies que estudam e as pessoas com as quais trabalham ou interagem durante o desenvolvimento de um estudo. Um objetivo primordial de um código de ética que defenda princípios de “responsabilidade” e “de não maltratar e não prejudicar” é concentrar a atenção nos animais com os quais os pesquisadores trabalham e nas pessoas cujas vidas e culturas são afetadas por esse trabalho. Uma ponderação responsável das obrigações éticas primárias em comparação com o objetivo de obter novos conhecimentos e outras responsabilidades (e.g., frente a patrocinadores ou clientes, membros da população humana local, os animais ou o sistema ecológico estudado) pode até mesmo levar à decisão de não realizar um determinado estudo ou proposta didática, ou de interromper um projeto de ensino e/ou pesquisa em andamento. Tais obrigações éticas incluem:

- a)** Evitar causar danos ou infringir a lei, entendendo que o desenvolvimento do conhecimento pode promover mudanças positivas ou negativas para os animais estudados ou as pessoas envolvidas diretamente nos projetos ou indiretamente via interação com os envolvidos;
- b)** Garantir o bem-estar dos primatas não-humanos e humanos;
- c)** Refletir sobre os possíveis benefícios e efeitos negativos da presença de pesquisadores e seus métodos de campo nos sujeitos do estudo, no ecossistema, na biodiversidade local e na população humana local;
- d)** Avaliar a real necessidade de realizar coletas invasivas de amostras biológicas e de espécimes, avaliando se os resultados científicos gerados pela pesquisa apresentarão a menor intervenção possível na(s) população(ões) de primatas não-humanos, e considerando a geração de efeitos positivos para a conservação da(s) espécie(s) alvo;
- e)** Buscar ativamente o aconselhamento das pessoas da área de estudo com o objetivo de estabelecer uma relação de trabalho que seja benéfica para todos os envolvidos, inclusive os primatas alvo das atividades de pesquisa e/ou ensino;
- f)** Trabalhar para a conservação de longo prazo das populações de primatas não-humanos e seus habitats. Isso deve incluir a divulgação de resultados científicos da pesquisa, mas também das ameaças específicas e dos problemas

de conservação mais urgentes enfrentados pela população ou espécie de estudo.

A lista a seguir inclui as principais questões que os pesquisadores de campo e educadores em atividades de campo devem considerar durante a elaboração, implementação e disseminação de seus projetos de pesquisa e/ou ensino com primatas.

2.1. Responsabilidades com os animais com os quais os pesquisadores trabalham

Os profissionais devem respeitar as diretrizes específicas para o uso de animais desenvolvidas por organizações profissionais reconhecidas, tais como *International Primatological Society*, *American Society of Primatologists*, *American Psychological Association*, *American Society of Mammalogists*, *Animal Behavior Society/Association for the Study of Animal Behaviour*, *Society for Neuroscience*, entre tantas outras. No Brasil, as diretrizes específicas são regulamentadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea), integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia, constituindo-se em instância colegiada multidisciplinar de caráter normativo, consultivo, deliberativo e recursal. Essas diretrizes são geralmente aplicáveis à pesquisa com primatas. As considerações especiais que se aplicam ao trabalho com primatas incluem:

a) Os profissionais devem aceitar a responsabilidade de proteger os primatas não-humanos, e essa responsabilidade deve ser evidente no tratamento e em protocolos de ensino e/ou pesquisa em campo, laboratório e outros ambientes. Os pesquisadores podem e devem ser os principais defensores do tratamento humano dos primatas e da sua conservação.

b) Os profissionais devem aceitar a obrigação de respeitar as regulamentações internacionais, federais, estaduais e municipais relevantes sobre o bem-estar dos animais cativos e de vida livre.

c) Os profissionais devem consultar as políticas da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre o uso de primatas na pesquisa biomédica. Indivíduos de espécies ameaçadas não devem ser coletados em ambiente natural para uso em pesquisa biomédica, exceto se a pesquisa apresentar potencial para melhorar a saúde e a conservação das próprias espécies. Considerando que espécies na categoria “Menos Preocupante” da IUCN podem se tornar ameaçadas no futuro, a decisão de coletar indivíduos de espécies atualmente categorizadas nos níveis mais baixos de risco

para uso na pesquisa biomédica deveria ser considerada cuidadosamente com relação a alternativas, vantagens e desvantagens, e todas as regulamentações internacionais, federais, estaduais e municipais relevantes sobre o bem-estar dos animais cativos e de vida livre.

d) Em todos os casos, os benefícios potenciais de qualquer pesquisa devem ser avaliados com relação aos potenciais riscos aos primatas não-humanos objetos do estudo. O sacrifício de primatas silvestres para coletar dados biomédicos, genéticos, fisiológicos ou outra informação, deve ser evitado. Essa recomendação deve ser seguida quando existirem outros métodos de coleta de dados, mesmo aqueles com maior custo financeiro, logístico ou mais demorados. Se a coleta for considerada necessária, após a avaliação cuidadosa de todas as alternativas possíveis e de acordo com as regulamentações nacionais e institucionais, é indispensável que essa se restrinja ao menor número possível de indivíduos para garantir a validade da pesquisa. Há um debate atual sobre a coleta de espécimes-tipo para a identificação taxonômica de populações. Embora alternativas devam ser sempre consideradas, a coleta de *vouchers* é fundamental em alguns casos (CLEMANN *et al.*, 2014; KRELL & WHEELER 2014; MINTEER *et al.* 2014; ROCHA *et al.*, 2014; DUBOIS 2017; GUTIÉRREZ & PINE 2017; HOPE *et al.* 2018) e decisões e estratégias de conservação podem ser prejudicadas se baseadas num conhecimento limitado acerca da taxonomia, ocorrência e distribuição das espécies. No entanto, cada decisão acerca da coleta de *vouchers* para o estudo com primatas deve ser considerada de acordo com o contexto do estudo, a região, os estudos precedentes com a população em questão, quando for o caso etc. Este tópico será mais detalhado na seção 7 “Diretrizes e conduta para a coleta de espécimes” abaixo.

e) A captura e outras formas de manipulação de primatas não-humanos em ambiente natural também requerem uma avaliação cuidadosa e o respeito aos costumes locais e às regulamentações municipais, estaduais, nacionais e internacionais (JOLLY *et al.*, 2011).

f) Os custos e benefícios de habituar grupos de primatas não-humanos que vivem no interior de unidades de conservação e de outras áreas protegidas, onde a probabilidade de contato com a população humana local é relativamente baixa (exceção pode ser dada às unidades de conservação de uso sustentável), devem ser comparados aos custos e benefícios de habituar grupos que vivem mais próximos do ser humano.

e) Coleta não-invasiva, ou minimamente invasiva, de amostras deve ser usada sempre que possível. A decisão de conduzir amostragem invasiva ou letal deve ser embasada por publicação ou relatório científico, e justificada no que se refere aos impactos positivos para a conservação das espécies estudadas.

f) O número de indivíduos usados em qualquer procedimento que envolva captura, amostragem invasiva,

manutenção em cativeiro, marcação com colares ou outros métodos, uso de equipamento de rádio telemetria ou coleta com objetivo taxonômico, quando absolutamente necessário, deve ser o menor possível que permita a obtenção de resultados de pesquisa válidos e aplicáveis para a conservação.

g) O estresse e o sofrimento animal devem ser mantidos no menor nível possível em todos esses procedimentos. Os pesquisadores que capturarem ou manipularem primatas silvestres deverão empregar procedimentos que evitem ou minimizem a dor e o desconforto em todas as etapas do processo. Eles também devem desenvolver um plano criterioso e cuidadoso de ação ou intervenção no caso de um animal ferido necessitar de cuidado veterinário ou eutanásia seguindo o disposto nas normativas do Concea. A captura deveria ser usada apenas quando não há outro método alternativo para obter as informações ou amostras biológicas necessárias. Se a captura não puder ser evitada, os pesquisadores devem minimizar o contato direto com os primatas e usar protocolos validados para prevenir a transmissão bidirecional de doenças, além de possuir recursos humanos, logísticos e instrumentais para solucionar quaisquer situações de emergência à semelhança do descrito acima. Os animais de estudo devem ser expostos ao menor número de pesquisadores possível.

h) Os estudos que envolverem experimentos de campo, tais como *playback* de vocalizações, modelos de predadores, tarefas de resolução de problemas ou outras manipulações, devem minimizar os riscos aos animais (CUTHILL 1991). A pesquisa experimental de campo deve adotar protocolos experimentais minimamente perturbadores, que resultem em novos conhecimentos e, quando possível, serem conduzidos com espécies que não estejam ameaçadas de extinção.

2.2. Responsabilidades com o ecossistema onde os animais vivem

Os profissionais devem considerar cuidadosamente as consequências de sua presença e de suas atividades de pesquisa e/ou ensino nos animais e seu ambiente. Em atividades em que os animais estão em cativeiro este cuidado deve incluir o conhecimento sobre a história natural da espécie para, quando necessário, melhorar o manejo e enriquecer o ambiente destes animais, pois o seu bem-estar físico e psicológico são essenciais para a sua saúde e a validade dos resultados da atividade de ensino e/ou pesquisa. Já no caso de estudos de campo, estes podem resultar em consequências potencialmente negativas para os sujeitos do estudo e seu ambiente que podem aumentar o seu risco à caça, incluindo a transmissão de doenças, a liberação de lixo e outros resíduos da atividade humana, os efeitos

da abertura de trilhas e do tráfego de pessoas sobre a vegetação, a influência da presença de observadores humanos, a habituação e a suplementação alimentar dos animais (GOLDBERG 2008; KÖNDGEN *et al.* 2008; PUSEY *et al.* 2008; WALSH 2008; FEDIGAN 2010; STRIER 2010; BEZANSON *et al.* 2013; GRUEN *et al.* 2013). O corte de vegetação para a abertura de trilhas, especialmente de árvores adultas, deve ser minimizado e devem ser adotadas práticas para reduzir a erosão do solo nas trilhas. Materiais biodegradáveis devem ser usados para marcar trilhas e árvores, especialmente naqueles casos nos quais o pesquisador não planeja continuar a pesquisa por longos períodos. Nesses casos, o pesquisador deve incluir a remoção das marcações após a conclusão da pesquisa. Os pesquisadores devem considerar as diferentes implicações de estudos de curto- ou de longo-prazo em suas respectivas áreas de estudo. Ambos os modelos possuem custos e benefícios. A presença quase constante de pesquisadores em projetos de longo-prazo faz com que alguns macacos não saibam o que é viver sem a presença de observadores humanos. Os pesquisadores precisam estar cientes dessa pegada ecológica (STRIER 2010). Porém, essa presença quase constante de pesquisadores pode resultar em um aumento na proteção dos primatas contra a caça, dessa forma superando os custos potenciais da pegada ecológica. O mesmo ocorre com relação à predação por predadores silvestres, pois esses tendem a evitar a aproximação de humanos.

2.3. Responsabilidades com as pessoas cujas vidas e culturas são afetadas pela atividade

O ambiente atual das atividades de ensino e pesquisa de campo representa uma paisagem de complexidade crescente para o desafio de compatibilizar as necessidades dos primatas não-humanos com as necessidades e interesses humanos. A habilidade de integração no contexto cultural local é um fator geralmente essencial para o sucesso de pesquisas de campo em primatologia (MACKINNON & RILEY 2013). Os pesquisadores de campo devem reconhecer que existem muitos conhecimentos da cultura tradicional local e regional que podem auxiliar a melhorar o desenvolvimento e os resultados da pesquisa. Algumas tradições locais podem ter efeitos positivos na sobrevivência dos primatas não-humanos e das florestas das quais esses dependem. Além disso, antes de ir a campo ou logo após a chegada em campo, é aconselhável conhecer como os membros das culturas e populações humanas locais percebem e tratam as diferentes espécies de primatas não-humanos – por exemplo, como ancestrais a serem respeitadas, ou como pragas que atacam as culturas agrícolas a serem eliminadas. Por fim, é essencial explicar a importância do estudo e os deta-

lhes do projeto para as populações locais antes do início da atividade de ensino e/ou pesquisa, pois elas são importantes mandatárias do sucesso do produto dos projetos a serem executados. Dentre as responsabilidades atribuídas aos profissionais em campo, destaca-se:

a) Os profissionais devem pensar cuidadosamente sobre os possíveis impactos negativos dos resultados científicos no bem-estar das populações humanas locais ao conduzir e divulgar a pesquisa. Os profissionais de campo devem se informar antecipadamente se os anfitriões e informantes desejam permanecer anônimos ou serem publicamente reconhecidos, e respeitar tais desejos.

b) Os profissionais de campo devem obter o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) se a atividade de ensino e/ou pesquisa envolver sujeitos humanos (i.e., uma pessoa sobre a qual o pesquisador obtém informação via intervenção ou interação ou o uso de dados pessoais identificáveis). A legislação brasileira regulamenta esse aspecto e exige que as universidades e institutos de pesquisa nacionais possuam Comitês de Ética em Pesquisa para avaliar essa dimensão dos estudos que envolvem seres humanos (Resolução CNS). Os protocolos de solicitação de permissão para desenvolver tais pesquisas requerem que os pesquisadores avaliem cuidadosamente os aspectos operacionais dos estudos propostos, os seus riscos potenciais aos participantes e os meios para mitigá-los, assim como a comprovação da existência prévia ou do compromisso de obtenção dos TCLEs. A amplitude do TCLE dependerá da natureza do projeto e do tipo de dados pessoais a serem obtidos, bem como de possíveis regulamentações estaduais, municipais ou institucionais porventura mais restritivas do que a regulamentação brasileira. Além disso, vale ressaltar que o processo de consentimento informado é dinâmico e contínuo; ou seja, ele deve ter início na concepção do projeto e continuar durante toda a sua implementação por meio do diálogo e negociação permanentes entre as partes envolvidas, se necessário. Os profissionais devem esclarecer aos participantes das atividades de pesquisa e/ou ensino os possíveis impactos das diferentes escolhas ou informações fornecidas (por exemplo, informação autoincriminatória de caçadores que capturam ou matam primatas ilegalmente, imagens de armadilhas fotográficas que podem ser usadas para envergonhar ou perseguir membros das populações locais) e deixar claro que a confidencialidade pode não ser garantida em algumas situações, a despeito do esforço do pesquisador.

c) Os profissionais de campo que estabelecem vínculos fortes e duradouros (i.e. alianças) com informantes, assistentes ou anfitriões devem respeitar as obrigações de franqueza e consentimento informado e, simultaneamente, negociar cuidadosa e respeitosamente os limites do relacionamento.

d) Apesar de os profissionais de campo terem ganhos pessoais oriundos de seus estudos, esses ganhos

não devem resultar da exploração de pessoas, grupos, animais ou materiais culturais e biológicos. Eles devem reconhecer sua dívida com as sociedades com as quais trabalham e sua obrigação de retribuir seus anfitriões de maneira adequada, que reflita as expectativas e regulamentações das populações envolvidas. Essa reciprocidade deve incluir, desde que consentidas pela comunidade em geral e suas lideranças, apresentações sobre conservação da biodiversidade voltadas para as audiências infantil e da 3ª idade (DOLINS *et al.* 2010; KUHAR *et al.* 2010) ou esforços sinceros de apoiar o ingresso de membros colaboradores locais em suas universidades e instituições.

e) A caça de subsistência é recorrente em algumas regiões do Brasil. Esse é o caso, por exemplo, da Amazônia, onde a carne de caça pode representar uma importante fonte de proteína para populações que vivem em áreas mais remotas. Embora muitos pesquisadores não aprovelem a caça, do ponto de vista da ética conservacionista, mesmo nessas situações, eles não devem difamar essas práticas ancestrais e culturais legítimas. Difamá-las normalmente não é a melhor abordagem de colaborar com as populações locais ou de compartilhar e aprender os respectivos valores das culturas. Contudo, o pesquisador deve estudar se essas práticas são sustentáveis e identificar mecanismos para reduzir a pressão de caça e promover a conservação em longo-prazo das populações de primatas afetadas.

3. Autorizações e licenças

O planejamento de pesquisas científicas e/ou atividades de ensino envolvendo coleta de material biológico de primatas e/ou *vouchers* para depósito em coleções científicas requer, necessariamente, a submissão do respectivo projeto para análise técnico-científica e ética. O descumprimento desta etapa implica em penalidades previstas em Lei.

No Brasil, qualquer pesquisa ou atividade didática envolvendo captura e coleta de primatas precisa ser autorizada pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), administrado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Todos os instrumentos legais, referentes às atividades de pesquisa e didáticas que envolvem o uso dos recursos naturais e o acesso às unidades de conservação federais, são regulamentados em normas estabelecidas pelo ICMBio. O Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros (CPB) – um dos 14 centros de pesquisa do ICMBio – tem entre suas atribuições analisar solicitações e emitir autorizações para atividades com finalidade científica ou didática envolvendo primatas brasileiros. O CPB também coordena o planejamento estratégico para a conservação dos primatas brasileiros, incluindo a avaliação do estado de conservação das espécies e a elaboração e implementação dos Planos de Ação Nacional para a conservação dos táxons ameaçados de extinção. É de atribuição do CPB, portanto, a análise do cumprimento de normas estabelecidas pelo ICMBio, bem como dos possíveis impactos nas populações de primatas, de todas as atividades (científicas ou didáticas) que envolvam captura, manipulação, marcação, coleta invasiva de amostras biológicas, experimentação e manejo de primatas, realizadas ou não em unidades de conservação (UCs). Porém, a autorização ou não das atividades em UCs federais também se obtém por intermédio do SISBio. Nos casos em que as atividades sejam realizadas em UCs das esferas estadual, municipal ou de propriedade privada (Reserva Particular do Patrimônio Natural), também é necessário obter autorização dos respectivos órgãos gestores.

Além da autorização emitida pelo SISBio, toda atividade envolvendo primatas no que se refere ao ensino e à pesquisa científica, incluindo criação, utilização, manipulação e eutanásia deverá, necessariamente, ter aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). É obrigação de toda instituição de ensino e/ou pesquisa em território nacional, que utilize primatas e outros vertebrados, requerer o credenciamento da CEUA junto ao Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea), de acordo com o disposto na Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. A CEUA tem como atribuições cumprir e fazer cumprir o disposto na legislação nacional pertinente; examinar

os procedimentos de pesquisa; expedir certificados que se fizerem necessários perante órgãos de financiamento de pesquisa, periódicos, entre outros; notificar o Concea e as autoridades sanitárias a natureza de qualquer acidente com os animais das instituições credenciadas; e paralisar a atividade de ensino ou pesquisa quando constatado qualquer irregularidade ou procedimento em descumprimento à Lei Federal n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008. A transgressão de disposições reguladas pela Lei implica em penalidades administrativas, incluindo advertência, multa, interdição temporária, suspensão de financiamentos e interdição definitiva da Instituição responsável pela atividade.

A maioria dos periódicos científicos e muitas agências financiadoras de pesquisas exigem, além da autorização emitida pelo SISBio, o número do parecer emitido pela CEUA. Este protocolo visa garantir que a pesquisa seja planejada e executada em acordo com a legislação vigente e dentro de procedimentos éticos aceitáveis, assegurando o bem-estar e o menor impacto possível em indivíduos e populações de primatas. É obrigatório, portanto, que a equipe responsável pela pesquisa reflita sobre os efeitos positivos e negativos do trabalho, incluindo os métodos aplicados aos sujeitos da pesquisa, ao ecossistema, à biodiversidade e à população humana local. É de responsabilidade dos pesquisadores, e da instituição à qual a pesquisa é designada, informar da forma mais clara e objetiva possível para a CEUA, toda e qualquer circunstância que tenha implicações éticas na execução do trabalho.

4. Diretrizes e conduta para observação em campo

Pesquisas e atividades didáticas de campo com primatas envolvem uma série de métodos e protocolos que são determinados pelo profissional, e a escolha das melhores práticas depende das perguntas que se pretende responder, do grupo taxonômico e do ambiente onde a espécie está inserida. Para reduzir possíveis impactos na população de primatas e em seu ambiente, uma série de condições com implicações éticas deve ser levada em consideração.

O protocolo de amostragem deve considerar os objetivos da pesquisa, sendo compatível à extensão das escalas espacial e temporal do estudo, bem como o número de espécies, grupos ou indivíduos amostrados. O bem-estar animal e o menor impacto possível nos sujeitos do estudo devem ser sempre priorizados durante o planejamento e a execução da atividade. Se possível, o pesquisador deve optar por métodos menos invasivos para minimizar ou eliminar possíveis impactos negativos.

Diversos métodos são conhecidos e aplicados mundialmente em pesquisas não-invasivas com primatas (i.e. quando há coleta de dados sistemáticos e que não requerem contato físico com os animais). Especialmente para primatas de vida livre, a coleta de dados comportamentais e ecológicos geralmente depende de um processo de habituação dos grupos de estudo à presença de pessoas. Isso significa que um tempo extra, precedente ao início da coleta de dados, deve ser empregado para acostumar os primatas à presença humana até que ela seja ignorada; ou seja, até que os primatas não apresentem sinais de desconforto, estresse ou comportamento de fuga. Para primatas africanos não expostos à atividade de caça, o tempo para habituação varia de uma semana (bushbabies: *Galago* spp.) até cinco anos (bonobos, chimpanzés e gorilas: *Pan paniscus*, *Pan troglodytes* e *Gorilla gorilla*, respectivamente) (WILLIAMSON & FEISTNER 2003). Embora não haja um estudo comparativo demonstrando o tempo de habituação para primatas neotropicais, a habituação da maioria das espécies pode durar de poucas semanas até um ano. Uma vez que várias espécies de primatas podem reconhecer faces humanas, é altamente recomendável que, ao menos durante os estágios iniciais do processo de habituação, o trabalho seja conduzido pelas mesmas pessoas. Uma série de recomendações deve ser observada para assegurar a mínima intervenção dos pesquisadores nos hábitos dos primatas:

- a) Manter uma atitude discreta, evitando ruídos e roupas com cores chamativas.
- b) A visibilidade dos primatas pode variar de acordo com o tipo de terreno, altura e densidade da vegeta-

ção. Dentro do possível, os responsáveis pela habituação não devem ficar muito próximos dos primatas, mantendo uma distância mínima de 10 m, utilizando binóculos para manter contato visual e registrar o comportamento.

c) Não falar alto e não gesticular bruscamente. No caso do uso de gravadores para registro de informações, usar tom de voz baixo.

d) Uma vez que muitas espécies de primatas são suscetíveis a diversas doenças que afligem o ser humano, qualquer risco de transmissão deve ser evitado. Desta forma, deve-se evitar qualquer trabalho de habituação ou de coleta sistemática de dados quando constatadas doenças infecto-contagiosas nos observadores.

e) Recolher qualquer tipo de resto de material de pesquisa ou ensino (ex. fitas de marcação) e alimentos consumidos durante o trabalho.

Detalhes sobre conduta de pesquisadores, escolha de área e grupos de estudo, e utilização de sistema de trilhas, fatores que afetam a habituação e suas implicações éticas podem ser consultadas em Williamson & Feistner (2003).

Há uma ampla variedade de métodos e protocolos utilizados em pesquisas de campo e ensino da primatologia no Brasil e no mundo quando o primata é o alvo de interesse para observação ou quando o alvo é o ambiente onde ele está inserido. Uma série de práticas e condutas são recomendadas de acordo com cada método, devendo ser consideradas antes do início de qualquer atividade de ensino e/ou pesquisa com primatas:

a) Dados comportamentais: Os métodos de coleta de dados comportamentais mais amplamente utilizados por primatólogos em todo mundo, tanto em cativeiro como para animais de vida livre, consistem em observações repetidas em intervalos pré-estabelecidos. Tais métodos visam registrar o comportamento de vários ou todos os indivíduos do grupo social (amostragem de varredura) ou de um único indivíduo (animal-focal) (ALTMANN 1974; FORTES & BICCA-MARQUES 2005). Considerando-se a necessidade do registro de comportamentos em intervalos pré-estabelecidos, o pesquisador deve locomover-se em meio à vegetação da forma mais discreta possível, evitando movimentos bruscos que possam assustar os animais. O uso de binóculos com lentes de qualidade é imprescindível para garantir a boa visualização dos animais, assegurando que o dado comportamental seja registrado com precisão e mantendo distância dos primatas. Embora não haja um consenso sobre a distância mínima adequada entre primatas e seus observadores humanos, uma vez que a visibilidade depende do tipo de vegetação e do comportamento da espécie, deve ser considerado que movimentos bruscos de afastamento ou emissão de vocalização de alarme são indicativos de que

os observadores devem se afastar do indivíduo ou do grupo de primatas de estudo.

b) Levantamentos populacionais: levantamentos populacionais consistem basicamente no emprego de censos, cujo método de amostragem de distâncias é o mais amplamente utilizado (BUCKLAND *et al.* 1993, 2001). Em geral, o método é aplicado em estudos focados em conservação visando estimar o tamanho populacional das espécies. Nos casos de monitoramento de longo prazo, ele permite registrar a flutuação da população ao longo do tempo, indicando seu declínio, aumento ou estabilidade (PERES 1999; PAIM *et al.*, 2019). Tais parâmetros servem de base para a avaliação do estado de conservação das espécies, como a Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN 2012). O método consiste em percorrer trilhas pré-estabelecidas de forma uni- ou bidirecional com o objetivo de registrar os primatas avistados e coletar dados sistemáticos, como a distância da trilha até o primeiro animal avistado ou o centro do grupo encontrado e o número de indivíduos dentre outras variáveis de interesse de cada projeto. Uma vez que a atitude discreta e o deslocamento de forma lenta e silenciosa (~1 km/h) são premissas do método, já que os dados devem ser coletados na posição inicial do animal e antes do movimento de fuga, possíveis impactos ou distúrbios para os primatas são provavelmente mínimos. Ainda assim, é recomendável que as etapas de medição e contagem dos indivíduos sejam realizadas da forma mais discreta possível. Por outro lado, as etapas prévias que antecedem a coleta de dados em trilhas são mais preocupantes com relação aos possíveis distúrbios aos animais. As trilhas usadas pelos pesquisadores podem ser pré-existentes e já usadas pela população humana local ou por pesquisadores anteriores. No entanto, a situação mais comum envolve a necessidade de abertura e/ou demarcação de novas trilhas para o estudo, as quais são geralmente distribuídas de forma aleatória na área de interesse. Ruídos e movimentos bruscos gerados durante tal processo são praticamente inevitáveis e podem afugentar os primatas da área durante algum tempo. Recomenda-se que a instalação das trilhas seja realizada da forma mais breve possível e que seja removida vegetação somente do espaço suficiente para uma pessoa passar sem dificuldade. Árvores de grande porte e espécies frutíferas, que podem ser importantes fontes de alimento para os primatas e outras espécies de suas comunidades, não devem ser removidas. É recomendado que o início da coleta sistemática de dados seja realizada, pelo menos, uma semana após a abertura das trilhas para reduzir o risco de viés decorrente do possível afugentamento dos primatas da área de estudo mencionado acima. A literatura abordando este tema é vasta. O trabalho de (ROSS & REEVE 2003) apresenta informações detalhadas sobre o planejamento, a execução e a análise de dados de amostragem de distâncias.

c) Gravação de vocalizações e playback: Equipamentos de áudio para gravação ou reprodução de

vocalizações de primatas são úteis para uma ampla variedade de estudos comportamentais, taxonômicos e populacionais. Parâmetros bioacústicos podem contribuir significativamente para a compreensão das relações taxonômicas em nível de espécie, pois podem ser espécie-específicos como os aspectos morfológicos, anatômicos ou bioquímicos (SICK 1979; VIELLIARD 1996). A análise de parâmetros de vocalizações de espécies filogeneticamente próximas pode auxiliar na elucidação de questões em taxonomia ou biogeografia, sendo uma importante ferramenta especialmente em estudos que incluem espécies ameaçadas (PAIM & QUEIROZ 2009). Para estudos populacionais, o uso de *playback* pode ser aplicado em conjunto com o método de amostragem de distâncias, uma vez que essa associação pode auxiliar na detecção de grupos inteiros, especialmente daquelas espécies que vivem em grupos sociais pequenos, como *Callicebus* spp. e *Alouatta* spp. (SALCEDO *et al.*, 2014; GESTICH *et al.*, 2017). Entretanto, é preciso avaliar se a espécie alvo do estudo responde ao estímulo antes da seleção de métodos envolvendo *playback*. O macaco-prego-do-peito-amarelo (*Cebus xanthosternos*), por exemplo, não responde aos chamados de *playback* (KIERULFF *et al.*, 2004). Para a aplicação de tais métodos, há uma ampla variedade de marcas e modelos de equipamentos, incluindo gravadores, microfones e reprodutores de som, com qualidade e custo variáveis. Alguns cuidados são recomendados para o uso dos equipamentos em estudos com *playback*:

i) Para a gravação de vocalizações, aproximar-se a uma distância máxima de 20 m e direcionar o microfone para o animal que estiver vocalizando. É importante salientar que existem microfones direcionais com alta capacidade e qualidade de registro.

ii) Para o uso de *playback*, manter distância mínima de 100 m dos animais no momento da emissão das vocalizações, não exagerando no volume e reproduzindo os sons a intervalos de, pelo menos, 5 minutos.

iii) Evitar utilizar *playback* durante o período de cópulas ou de fêmeas em período de lactação.

iv) Evitar o uso de *playback* em dias consecutivos. Recomenda-se um intervalo mínimo de 3 dias para que o método seja aplicado na mesma área.

Ao constatar sinais de fuga ou medo por parte dos animais, parar imediatamente o *playback*.

d) Estudos envolvendo a ceva dos primatas: cevar (prover alimento para) os primatas para facilitar a sua captura (ver 5a, abaixo), acostamá-los a visitar estações de ceva (de oferta de alimento), entre outros objetivos, é uma estratégia comum na Primatologia. Tais estudos devem fornecer alimentos *in natura* e sem excesso para evitar o consumo de substâncias e/ou quantidades potencialmente prejudiciais à saúde dos primatas. Também se deve evitar que os primatas se tornem dependentes do alimento fornecido e parem de seguir a sua rotina diária normal. A duração do pe-

ríodo de ceva também deve levar em consideração o risco desse processo aumentar o sucesso reprodutivo da espécie acima da capacidade de suporte do ambiente. Por fim, há necessidade de prever um período após o final da coleta de dados no qual o alimento fornecido seja sistematicamente reduzido, visando extinguir o hábito dos primatas de visitar o(s) local(is) de ceva em busca do alimento.

e) Métodos em ecologia florestal: Questões focadas em ecologia florestal são de interesse de primatólogos, uma vez que estas ajudam a elucidar padrões de distribuição geográfica, uso do habitat, ecologia alimentar, uso medicinal de plantas, entre outros aspectos. Desta forma, muitos estudos requerem amostragem do ambiente onde os primatas estão inseridos, seja em áreas contínuas ou fragmentadas, dentro ou fora de unidades de conservação. A delimitação de parcelas botânicas para levantamentos florísticos, a instalação de coletores para análise de biomassa vegetal e o acompanhamento fenológico estão entre os métodos mais comumente empregados por primatólogos em campo. O número de parcelas ou unidades amostrais instaladas deve ser adequada para responder às perguntas de interesse. Testes estatísticos podem ser empregados para determinar a suficiência amostral. Uma vez que a instalação de parcelas e unidades amostrais, bem como seu monitoramento, implicam na geração de ruído e movimentos bruscos da equipe, deve-se considerar o menor número possível destas unidades. Pesquisas de curto prazo podem utilizar materiais biodegradáveis para a marcação de árvores ou outros pontos amostrais. Como alternativa, o material de marcação pode ser recolhido ao final da pesquisa. Pesquisas de longo prazo podem usar materiais permanentes, como placas e pregos de alumínio, que devem ser fortemente fixados no substrato para garantir que os primatas não os removam. É altamente recomendável que os pesquisadores se certifiquem da ausência de primatas na área antes do início do trabalho para evitar que as perturbações decorrentes da implementação do método causem impactos negativos nos grupos da área. Informações mais detalhadas sobre métodos, amostragem e diferentes equipamentos utilizados em questões de ecologia florestal aplicadas em estudos com primatas podem ser consultadas em (GANZHORN 2003) e (SETCHELL & CURTIS 2003).

5. Diretrizes e conduta para a captura de animais de vida livre

A captura de primatas de vida livre é uma das atividades mais desafiadoras na área da Primatologia, uma vez que pode incluir longos períodos de ceva e habituação dos animais às armadilhas, complexa logística em campo e equipe qualificada. Dados provenientes de capturas são de extrema relevância para a obtenção de material biológico e medidas morfométricas, necessários para trabalhos que envolvem saúde e epidemiologia, comportamento, ecologia, genética, taxonomia e monitoramento. É imprescindível que a equipe siga minuciosamente o protocolo de pesquisa aprovado pelo SISBio e pela CEUA para o sucesso da atividade e para garantir o bem-estar dos animais. O protocolo deve seguir algumas recomendações:

a) Ceva: Para capturas passivas, o período de ceva pode ser essencial para a habituação dos primatas às plataformas e armadilhas. O tempo dedicado a esta etapa da captura pode variar de 15 dias a 6 meses dependendo da espécie. Recomenda-se que as plataformas estejam camufladas na vegetação arbórea e sejam instaladas na altura em que os animais costumam se deslocar na copa. Armadilhas que são acionadas por contato, como as do modelo *Tomahawk*, devem ter suas portas travadas durante todo o período da ceva, para que não fechem acidentalmente e, assim, venham a ferir os animais. As iscas devem ser compostas, preferencialmente, por itens usuais da dieta da espécie alvo, tais como frutas frescas e invertebrados. As iscas devem ser disponibilizadas no início da manhã e retiradas ao final do dia para descarte. Recomenda-se o uso de luvas descartáveis durante a manipulação dos alimentos para evitar contaminação.

b) Escolha das armadilhas: A escolha da armadilha depende do tamanho e do comportamento da espécie. Para espécies de pequeno porte, como os calitriquídeos, as armadilhas mais eficientes são compostas por gatilho manual, como proposto por (ENCARNACIÓN *et al.*, 1990) e (WATSA *et al.*, 2015). A distância entre a plataforma e a tocaia deve permitir a boa visualização da armadilha pelo pesquisador, mas estar longe o suficiente para não comprometer a aproximação dos animais. Para espécies de médio porte, como os cebídeos, armadilhas de modelo *Tomahawk* são eficientes e seguras. O modelo escolhido deve ser de tamanho suficiente para que o animal fique preso e consiga

se movimentar sem dificuldade. Armadilhas com 40 x 40 x 70 cm (largura, altura e comprimento) são ideais para *Saimiri* spp., *Cebus* spp. e *Sapajus* spp. (PAIM & RABELO 2015). Como o fechamento da armadilha ocorre via contato do animal com um gatilho no seu interior, recomenda-se que as plataformas sejam vistoriadas a cada 3 h para evitar que os animais fiquem presos por períodos longos.

c) Captura com uso de dardos: Algumas espécies dificilmente entram em armadilhas, sendo o método de busca ativa e uso de dardos anestésicos o mais indicado. Esse é o caso dos atelídeos (THORINGTON *et al.*, 1979; RODRÍGUEZ-LUNA & CORTÉS-ORTIZ 1994; KARESH *et al.*, 1998). A projeção do dardo pode ser realizada com zarabatanas, pistolas ou rifles. Para primatas neotropicais com peso acima de 5 kg, especialmente aqueles que ocupam os estratos superiores da floresta, o mais indicado é a injeção de dardos com auxílio de rifle com propulsão à base de CO₂ comprimido e injeção com butano. Esse é o método mais moderno e silencioso. O tipo de droga e a dosagem variam de acordo com o peso do animal, devendo ser observados protocolos estabelecidos, como o recomendado pelo Ministério da Saúde (2017) e, no caso das espécies ameaçadas, aqueles definidos pelos Planos de Ação Nacional coordenados pelo ICMBio.

d) Anestesia e colheita de material biológico: Os procedimentos de anestesia e, preferencialmente, também, de colheita de material biológico, devem ser conduzidos por um veterinário com experiência na manipulação de primatas e seguir o protocolo apresentado ao SISBio e à CEUA. O volume de sangue coletado deve ser cuidadosamente observado e adequado ao peso do animal, especialmente no caso de fêmeas, pela possibilidade de gravidez, e de juvenis. A colheita de sangue, especialmente para primatas com peso inferior a 5 kg, cujo calibre de veias e artérias é muito pequeno, deve ser conduzida por um veterinário experiente (VERONA & PISSINATTI 2014). Outros materiais biológicos, como pelos, urina, fezes, ectoparasitos, sêmen e secreções devem ser coletados seguindo os protocolos estabelecidos pelos laboratórios que realizarão tais análises, e possuir aprovação prévia do SISBio e da CEUA. Durante todo o procedimento de colheita de materiais biológicos, os sinais vitais do animal deverão ser monitorados por um veterinário. Após a finalização do protocolo, o animal deverá permanecer em repouso em ambiente confinado e distante do movimento da equipe de pesquisa. Sua liberação no mesmo local de captura deve ser realizada apenas após a confirmação da completa recuperação de suas capacidades motora e cognitiva.

e) Marcação individual: Algumas pesquisas exigem a marcação temporária ou definitiva dos animais, especialmente as que tem foco em comportamento e necessitam do reconhecimento dos animais em nível sexo-etário ou mesmo individual. Diversos métodos de marcação têm sido empregados em primatas, como tatuagem, tintura, colares e *microchip*, cuja escolha depende do tipo de dado que se pretende coletar e da duração do projeto. A depender da invasividade do método empregado, a marcação deve ocorrer com o animal anestesiado (NETO 2014).

(i) Tatuagem: É um método permanente de marcação que consiste em tatuar um código específico para cada animal (letras, números ou a combinação de ambos), geralmente realizado no lado interno da coxa, após a tricotomia. Por ser uma região de difícil visualização em animais durante as atividades na copa das árvores, deve-se optar, quando necessário, pelo uso de marcações temporárias como tinturas ou tricotomia de pelos, ou colares, conforme descrito abaixo.

(ii) Tricotomia e tintura: Ambos os métodos são temporários e pouco invasivos. Eles permitem avistar os animais a curtas ou médias distâncias. Por essas razões são recomendados em estudos de curto prazo e que não necessitem de recaptura ou que a recaptura seja possível e segura para o bem-estar animal. A tricotomia consiste em raspar uma parte do pelo da cauda e/ou dos membros. Para tanto, é necessária a criação de códigos/padrões individuais. A tintura consiste no mesmo princípio da tricotomia, utilizando-se tintas para coloração de cabelos em humanos, sendo possível criar códigos com cores, tanto nos membros como na cauda do primata. Cuidado deve ser tomado para verificar se a espécie não tem seu sistema de reconhecimento de conspecíficos e de membros do mesmo grupo ou família baseado na coloração da pelagem. Neste caso, não é recomendável a aplicação de tintura de pelos.

(iii) Colares: O uso de colares de contas é uma alternativa mais duradoura que pode substituir a tricotomia ou tintura. O colar é preso no pescoço do animal, sendo utilizado um código para cada indivíduo baseado em uma combinação de formas e/ou cores das contas. O colar deve ser fixado de forma firme e justa ao pescoço (porém com uma folga para não estrangulá-lo no presente ou no futuro, se o primata for marcado antes de atingir o tamanho adulto), o suficiente para o animal não conseguir retirá-lo ou colocá-lo na boca, e para que o mesmo não corra o risco de ficar preso em galhos. Também deve ser leve para não atrapalhar em sua locomoção e alimentação. A desvantagem do método é que é indicado principalmente para indivíduos adultos, uma vez que filhotes e juvenis poderão ser estrangulados ao crescerem se o cuidado acima não for realizado ou se ele não for efetivo.

(iv) *microchips*: São úteis em pesquisas em que seja possível e/ou necessário recapturar o animal para, por exemplo, monitorar os seus parâmetros biológicos. Os *microchips* são inseridos subcutaneamente na

região interescapular e apresentam um código único que pode ser lido apenas com um leitor específico. Para primatas neotropicais, recomenda-se o tamanho de 2 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento. Existem diversos modelos, mas recomenda-se o uso dos que são apresentados em embalagens individuais esterilizadas e com aplicador próprio descartável.

f) Uso de radiotransmissores: O uso de radiotransmissores gera informações sobre a localização e o deslocamento dos animais, permitindo a identificação do uso da área e das suas rotas, assim como para fins de monitoramento. Estes podem ser utilizados na forma de colar fixo no pescoço do animal, devendo-se ter os mesmos cuidados àqueles com os colares de contas; isto é, não deixando apertado ou frouxo demais para não provocar ferimentos ou, em casos extremos, levar o indivíduo a óbito, e nem correr o risco de extravio do equipamento. Por estas razões, o uso de radiotransmissores é indicado somente para indivíduos adultos. Outra maneira de se utilizar radiotransmissores em primatas é na forma de “mochila” com fixação pelos membros anteriores e peito do animal. O potencial impacto negativo do equipamento nas atividades do indivíduo deve ser considerado, assim como o número de espécimes que recebem o equipamento, minimizado. Há uma série de modelos com diferentes capacidades, aplicações e custos, emitindo sinais VHF/UHF e/ou de GPS. Alguns destes equipamentos requerem o uso de uma bateria que pode tornar o equipamento a ser carregado pelo primata excessivamente pesado. O peso dos radiotransmissores para uso em primatas não deve exceder o limite de 5% do peso do animal (*American Society of Mammalogists* 1998). Consequentemente, essa exigência limita o número de modelos aplicáveis a várias espécies, como os calitriquídeos. O equipamento escolhido deve ser compatível com as perguntas da pesquisa e garantir o bem-estar dos animais.

6. Diretrizes e conduta para a coleta de espécimes

A regulamentação para a coleta de material zoológico no Brasil e a sua disponibilização, acesso e uso dos dados e informações geradas estão previstos nas normativas do ICMBio. Essas normativas também determinam as diretrizes para a utilização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBio. Toda a fundamentação legal envolvendo a coleta de material biológico está especificada no Manual do SISBio (ICMBio 2015). Dentro desta estrutura se insere a coleta de qualquer material biológico destinado a atividades de pesquisa e didáticas com primatas no Brasil. Conforme mencionado anteriormente, a emissão da autorização de coleta de espécimes via SISBio é de atribuição do CPB e das unidades de conservação federais, quando apropriado. Essas instâncias administrativas requerem o cumprimento das normas da IN, a necessidade da coleta diante da sua justificativa (i.e. espécie pouca ou não representada em coleções zoológicas), do objetivo e dos resultados esperados do estudo, os métodos de coleta com relação ao impacto nas populações de primatas e seus habitats, e as implicações para a conservação.

A coleta de espécimes *in situ* consiste na retirada definitiva do indivíduo de seu habitat natural (ICMBio 2014). Sua destinação inclui cativeiro (zoológicos ou criadouros), coleções científicas, ou outra, dependendo do contexto da pesquisa ou da atividade em questão. A autorização de coleta emitida pelo SISBio já contempla o transporte do material do local da coleta ao seu destino – ambos informados na autorização. No entanto, esse processo é válido apenas para o território nacional. O transporte de material biológico para o exterior está inserido no âmbito da Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (CITES). Nesses casos há necessidade de obtenção de licença CITES emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

A coleta de espécimes para fins científicos é prevista para diferentes grupos taxonômicos (normativas do Concea). Para vertebrados, a importância de *vouchers* e das coleções científicas é demonstrada para pesquisas em taxonomia, sistemática, biogeografia, morfologia, biologia molecular entre outras (CLEMANN *et al.*, 2014; HOLMES *et al.*, 2016; DUBOIS 2017; HOPE *et al.*, 2018). Alguns autores sugerem que a coleta de *vouchers* pode agravar o problema da perda de biodiversidade e aumentar as chances de extinção. Por exemplo, (MINTEER *et al.*, 2014) atribuem um papel importante da coleta na extinção e declínio populacional de algumas espécies e defendem o uso de alternativas

para a descrição de espécies e outros estudos taxonômicos. Tais alternativas incluem fotografias, áudios e análises moleculares provenientes de amostras não invasivas. Embora essas alternativas sejam importantes para complementar o nosso conhecimento acerca da biodiversidade, vários autores têm demonstrado que elas não substituem a coleta de *vouchers* (CLEMANN *et al.*, 2014; KRELL & WHEELER 2014; ROCHA *et al.*, 2014; DUBOIS 2017; GUTIERREZ & PINE 2017; HOPE *et al.*, 2018).

No caso da pesquisa científica envolvendo o campo da Zoologia no Brasil, a coleta de *vouchers* é regulamentada pela legislação vigente, autorizada via SISBio, para então ser avaliada e autorizada pelos Comitês de Ética da instituição ao qual o pesquisador está vinculado. Diante desse processo, o número de indivíduos a ser coletado por localidade também é avaliado e ajustado de acordo com a finalidade e a justificativa do estudo em questão.

Considerando todas as etapas discutidas acima, caso a coleta de espécimes seja realizada, os seguintes critérios são fundamentais:

a) Restringir a coleta à quantidade mínima de espécimes por população/localidade e respeitar o número máximo permitido na autorização SISBio.

b) Caso seja necessário coletar mais do que um indivíduo, é preferível considerar coletas em diferentes áreas, aumentando a representatividade geográfica da amostragem, do que focar em uma única região.

c) Os métodos de coleta e eutanásia devem ser confiáveis, irreversíveis e minimamente traumáticos, respeitando as Diretrizes da Prática de Eutanásia do Concea, e devem ser consideradas as particularidades das espécies em estudo (veja a descrição de métodos de coleta na seção anterior). Neste sentido, é imprescindível que a eutanásia seja realizada por um veterinário. Embora técnicas de captura tenham sido estudadas e aprimoradas para alguns grupos de primatas (*e.g.* calitriquídeos), para muitos a coleta com arma de fogo ainda é o método mais utilizado por ser mais rápido, seguro e eficiente. Do ponto de vista técnico, devem ser considerados o tamanho e especificidades da arma, o tamanho dos cartuchos e do chumbo, de acordo com o tamanho do espécime e, principalmente, a presença de um atirador com muita experiência. Do ponto de vista legal, há a necessidade de obtenção de licença, registro e porte de arma de fogo para fins de coleta de material zoológico junto à Polícia Federal.

d) Embora já especificado na autorização de coleta emitida pelo SISBio, é importante ressaltar que todo o material coletado deve ser depositado em coleções científicas. Deve ser atribuído um código de campo por espécime e, posteriormente, o número de tomo de museu ou coleção científica de instituição fiel depositária para garantir a disponibilização pública do material. Desta forma, todo o material (pele, crânio, tecido, sangue, vísceras etc.) deve ser

devidamente identificado de acordo com estes códigos de referência.

e) O pesquisador é o responsável pelo cuidado e tratamento de todo o material coletado e deve garantir que o mesmo chegue íntegro até a instituição destinatária. Nesse sentido, a taxidermia e organização do material deve ser realizada em campo para reduzir o risco de sua deterioração. Na maioria das vezes é imprescindível a presença de um técnico taxidermista.

f) Uma vez que um indivíduo será removido da população, o pesquisador também deve coletar, preparar e identificar todo o material proveniente desse espécime. Mesmo que esse material não seja usado no contexto do estudo em questão, ele estará disponível para estudos futuros. Por exemplo, para um estudo direcionado a questões taxonômicas, provavelmente os focos principais serão a pele e os ossos, e tecidos para análises moleculares. No entanto, pode se obter muita informação difícil de registrar em estudos de comportamento via análise do conteúdo estomacal, assim como acessar detalhes da anatomia dos sistemas (*e.g.*, digestório e reprodutivo) que podem elucidar importantes aspectos da ecologia, comportamento e evolução das espécies. Desta forma, este material deve, sempre que possível, ser preparado ainda em campo, seguindo a mesma organização para sua identificação. Novamente, é de responsabilidade do pesquisador garantir seu armazenamento adequado em uma coleção científica para promover a sua disponibilização para pesquisas futuras.

7. Referências bibliográficas

- AGUIAR, J.M.; FONSECA GABd. Conservation status of the Xenarthra. *In*: VIZCAÍNO, S.F.; LOUGHRY, W.J., eds. **The Biology of the Xenarthra**. Gainesville: University Press of Florida. 18 May 2008. p. 215-231.
- ALBERT, J. S.; REIS, R. E. Introduction to Neotropical Freshwaters. *In*: ALBERT, J. S.; REIS, R. E. (Eds). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley: University of California Press, 2011. p. 1-19.
- ALTMANN, J. Observational Study of Behavior: Sampling Methods. **Behaviour**, v. 49, p. 227-267, 1974.
- AMERICAN BIRDING ASSOCIATION. **The American Birding Association's Code of Birding Ethics**. ABA Member Handbook, p. 24.2003. Disponível em: <http://americanbirding.org/abaethics.pdf>. Acesso em: 15 de março de 2018.
- AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS. Guidelines for the capture, handling, and care of mammals as approved by the American Society of Mammalogists. **Journal of Mammalogy**, v. 74, p. 1416-1431, 1998.
- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. **AVMA Guidelines for the euthanasia of animals**. Schaumburg, AVMA. 2013. 102p.
- ANJOS, H. D. B.; ANJOS, C. R. Biologia reprodutiva e desenvolvimento embrionário e larval do cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* Schultz, 1956 (Characiformes: Characidae), em laboratório. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 32, n.2, p. 151-160, 2006.
- ARMANDO, A. P. R. N.; AZEVEDO, T.; BARBOSA, M.; KOOJI, R.; LINS, L. V.; MEDEIROS, R. C. S.; ROSSATO, R. M.; SANTOS, F. R. & SILVEIRA, L. F. **Protocolo de coleta de ovos do pato-mergulhão. Plano de Ação Nacional para Conservação do pato-mergulhão**. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília-DF. 4p. 2015.
- ARZUA, M.; VALIM, M. P. Bases para o estudo qualitativo e quantitativo de ectoparasitos em aves. *In*: VON MATTER, F.; STRAUBE, F. C.; C NDIDO JR., J. F.; PIACENTINI, V.; ACOORDI, I. (Ed.). **Ornitologia e Conservação: ciência aplicada, técnica de pesquisa e levantamento**. Rio de Janeiro: Technical Books. p. 347-365. 2010.
- BALDISSEROTTO, B.; BARATA, L. E. S.; SILVA, A. S.; LOBATO, W. F. F.; SILVA, L. L.; TONI, C.; SILVA, L. V. F. Anesthesia of tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminae) with the essential oils of *Aniba rosaeodora* and *Aniba parviflora* and their major compound, linalool. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n.1, e170128. 2018.
- BARTMANN, W. Haltung und Zucht von grossen Ameisenbären, *Myrmecophaga tridactyla*, im Dortmunder Tierpark. **Zoologischer Garten NF 53**, n.1, p.1-31, 1983.
- BATISTA, J.S.; MOURA, M. O; LOPES, K.R; COSTA, W.P. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira em tatu peba (*Euphractus sexcintus*) criados em cativeiro. IX Congresso e XIV Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens-ABRAVAS. p.40. 2005.
- BATT, J.; BENNETT-STEWARD, K.; COUTURIER, C.; HAMMELL, L.; HARVEY-CLARK, C.; KREIBERG, H.; IWAMA, G.; LALL, S.; LITVAK, M.; RAINNIE, D.; STEVENS, D.; WRIGHT, J.; GRIFFIN, G. **Guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing**. Canadian Council on Animal Care. 2005. 87p.
- BEST, C.R.C., HARADA, A.Y. Food habits of the silky anteater (*Cyclopes didactylus*) in the central Amazon. **Journal of Mammalogy**, v. 66, p.780-781, 1985.
- BEZANSON, M.; STOWE, R.; WATTS, S.M. Reducing the ecological impact of field research. **American Journal of Primatology**, v.75, p. 1-9, 2013.
- BEZERRA, D. M. M.; ARAUJO, H. F. P.; ALVES, R. R. N. Captura de aves silvestres no semiárido brasileiro: técnicas cinegéticas e implicações para conservação. **Tropical Conservation Science**, v. 5, n .1, p. 50-66, 2012.
- BIBBY, C.J.; BURGESS, N.D.; HILL, D.A.; MUSTOE, S. **Bird Census Technique**. 2nd. Edition. London: Academic Press, 2000. 302 p.
- BLACKBURN, D. G. Evolution of vertebrate viviparity and specializations for fetal nutrition: a quantitative and qualitative analysis. **Journal of Morphology**, 276(8): 961-990, 2015.
- BONATO, V. **Ecologia e historia natural de tatus do cerrado de Itirapina, São Paulo (Xenarthra: Dasypodidae)**. 2002, 80 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- BOUBLI, J. P. *et al.* On a new species of titi monkey (Primates: PlecturoCebus Byrne et al., 2016), from Alta Floresta, southern Amazon, Brazil. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 132, p. 117–137, Mar. 2019.
- BRAITHWAITE, V.A.; HUNTINGFORD, F.A. Fish and welfare: do fish have the capacity for pain perception and suffering? **Animal**

Welfare, v.13, p. 587-592, 2004.

- BRASIL. Resolução Normativa do Concea nº 50, de 13 de maio de 2021. **Dispõe sobre os critérios e procedimentos para emissão, extensão, revisão, suspensão, reativação, renovação e cancelamento do Credenciamento Institucional para Atividades com Animais em Ensino ou Pesquisa - CIAEP das instituições que produzem, mantêm ou utilizam animais em atividades de ensino ou pesquisa científica, a vinculação dos centros públicos ou privados que utilizam animais em atividades de ensino a instituições credenciadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimental Animal – Concea.** Diário Oficial da União de 19/05/2021, Edição: 93, Seção 1, p. 143.
- BRASIL. Decreto Federal nº 10.030, de 30 de setembro de 2019. **Aprova o Regulamento de Produtos Controlados pelo Comando do Exército.** Diário Oficial da União de 1º de outubro de 2019 – Edição extra.
- BRASIL. Decreto Federal nº 3.607, de 21 de setembro 2000. **Dispõe sobre a implementação da Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (CITES), e dá outras providências.** Diário Oficial da União de 22/09/2000.
- BRASIL. Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016. **Regulamenta a Lei nº 13.123, de 20/05/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético [...].** Diário Oficial da União de 12/05/2016.
- BRASIL. Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016. **Regulamenta a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015.**
- BRASIL. Lei Complementar nº 140, de 8 de dezembro de 2011. **Fixa normas para a cooperação entre a União, os Estados, o Distrito Federal e os Municípios nas ações administrativas decorrentes do exercício da competência comum relativas à proteção das paisagens naturais notáveis, à proteção do meio ambiente, ao combate à poluição em qualquer de suas formas e à preservação das florestas, da fauna e da flora; e altera a Lei nº 6938, de 31 de agosto de 1982.** Diário Oficial da União de 9/12/2011 e retificado em
- BRASIL. Lei Federal nº 12.725, de 16 de outubro de 2012. **Dispõe sobre o controle da fauna nas imediações de aeródromos.** Diário Oficial da União de 17/10/2012.
- BRASIL. Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008. **Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 de outubro de 2018.
- BRASIL. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. **Esta Lei dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético [...].** Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2015/Lei/L13123.htm.
- BRASIL. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015 [Lei da Biodiversidade]. **Dispõe sobre bens, direitos e obrigações relativos ao acesso ao patrimônio genético do País [...].** Diário Oficial da União de 14/5/2015.
- BRAZ, R. S.; SILVA, I. O.; TESSER, M. B.; SAMPAIO, L. A.; RODRIGUES, R. V. Benzocaína, MS-222, eugenol e mentol como anestésicos para juvenis de tainha Mugil liza. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.43, n. 4, p. 605-613, 2017.
- BROWN, M. B.; BROWN, C. R. Blood sampling Reduces annual survival in Cliff Swallows (*Petrochelidon pyrrhonota*). **The Auk**, v. 126:853-861, 1 Oct. 2009.
- BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D. M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B. J.; LOWERRE-BARBIERI, S. K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, v. 3, p. 52-70, Apr. 2011.
- BUCHANAN, K.; BURT DE PERERA, T.; CARERE, C.; CARTER, T.; HAILEY, A.; HUBRECHT, R.; JENNINGS, D.; METCALFE, N.; PITCHER, T.; PÉRON, F.; SNEDDON, L.; SHERWIN, C.; TALLING, J.; THOMAS, R. & THOMPSON, M. Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching. **Animal Behaviour**, v. 83, p. 301-309, 2012.
- BUCKLAND, S.T.; ANDERSON, D.R.; BURNHAM, K.; LAAKE, J.L.; BORCHERS, D.L.; THOMAS, L. **Introduction to distance sampling: Estimating Abundance of Biological Populations.** Oxford: Oxford University Press, 2001.
- BUCKLAND, S.T.; BURNHAM, K.P.; ANDERSON, D.R.; LAAKE, J.L. **Distance Sampling: Estimation of Abundance of Biological Populations.** London: Chapman and Hall, 1993.
- CANDIA-GALLARDO, C.; AWADE, M.; BOSCOLO, D.; BUGONI, L. Rastreamento de aves através de telemetria por rádio e satélite. *In*: VON MATTER, F.; STRAUBE, F. C.; C NDIDO JR., J. F.; PIACENTINI, V.; ACOORDI, I. (Ed.). **Ornitologia e Conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento.** Rio de Janeiro: Technical Bools Editora. 2010. p.255-280.
- CARNEIRO, P. C. F.; KAISELER, P. H. S.; SWAROFISKY, E. A. C.; BALDISSEROTTO, B. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: water quality and blood parameters. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 2, p. 283-288, 2009.
- CARVER, E. **Birding in the United States: A Demography and Economic Analysis.** Adendum to the 2011 National Survey of Fishing, Hunting, and Wildlife-Associated Recreation. Report 2011-1. U.S. Fish & Wildlife Service. Division of Economics. Arlington,

VA. 2013. 16p.

- CASSANO, C.R, 2006: **Ecologia e conservação da preguiça-de-coleira (*Bradypus torquatus* Illiger, 1811) no sul da Bahia**. Orientadora: Maria Cecília Kierulff. Coorientador: Alexandre Schiavetti. (Dissertação de Mestrado em Zoologia). Ilhéus-BA, mar. 2006. Universidade Estadual de Santa Cruz, 106 p.
- CASTRO-SANTOS, T., HARO, A.; WALK, S. A. Passive Integrated Transponder (PIT) tag system for monitoring fishways. **Fisheries Research**, v. 28, p. 253-261, 1996.
- CHEBEZ, J.C. **Los que se van: especies argentinas en peligro**. Buenos Aires: Editorial Albatros, 1994. 604 p.
- CHIARI, Y.; GALTIER, N. RNA extraction from sauropsids blood? Evaluation and improvement of methods. **Amphibia-Reptilia**, p. 136-139. 2011.
- CLARK, M.; STEGER-HARTMANN, T. A big data approach to the concordance of the toxicity of pharmaceuticals in animals and humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 96, p. 94-105. 2018.
- CLEMANN, N. *et al.* Value and impacts of collecting vertebrate voucher specimens, with guidelines for ethical collection. **Memoirs of Museum Victoria**, v. 72, p. 141–151, 2014. doi: 10.24199/j.mmv.2014.72.09.
- CONSELHO FEDERAL DE BIOLOGIA. Portaria CFBio nº 148, de 8 de dezembro de 2012. **Regulamenta os procedimentos de captura, contenção, marcação e coleta de animais vertebrados previstos nos Artigos 4º, 5º, 6º e 8º da Resolução CFBio nº 301/2012**.
- CONSELHO FEDERAL DE BIOLOGIA. Resolução CFBio nº 301, de 8 de dezembro de 2012. **Dispõe sobre os procedimentos de captura, contenção, marcação, soltura e coleta de animais vertebrado *in situ* e *ex situ*, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, S. 1, de 28/12/2012.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Lei**. Disponível em: <http://portal.cfmv.gov.br/lei/index/id/326>.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução do CFMV nº 1000, de 11 de maio de 2012. **Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências**. Diário Oficial da União de 17/05/2012, S. 1, p. 124-125.
- BRASIL. Resolução Normativa Conceia nº 37, de 15 de fevereiro de 2018. - **Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - Conceia**. Diário Oficial da União de 22/02/2018, S. 1, p. 05.
- BRASIL. Resolução Normativa Conceia nº 34, de 27 de julho de 2017. **Institui o Capítulo “Peixes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica para fins de estudo biológico ou biomédico I - Lambari (*Astyanax*), Tilápia (*Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis*) e Zebrafish (*Danio rerio*) do Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica**.
- BRASIL. Resolução Normativa Conceia nº 55, de 5 de outubro de 2022. **Atualiza o texto da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos – DBCA**. Diário Oficial da União de 7/10/2022, Ed. 192, S. 1, p. 10.
- COSTA, A.; GARCIA, D.; CLARO-GARCIA, A.; BALCONI, A.; MIRANDA, D. C. C.; LEME, G. L. A.; PINE, M. B.; DE SOUZA, A.; BIALETZKI, A.; ORSI, M. Metodologia de coleta, triagem e identificação de ovos, larvas e juvenis. *In*: ORSI, M. L., ALMEIDA, F. S., SWARÇA, A. C., CLARO-GARCÍA, A., VIANNA, N. C. GARCIA, D. A. Z., BIALETZKI, A. (Eds.). **Ovos, larvas e juvenis dos peixes da bacia do rio Paranapanema. Uma avaliação para a conservação**. Duke Energy -Triunfal, 2016, ed. 1, cap. 4, p. 31-36.
- COSTA, H.C. & BÉRNILS, R.S. 2018. Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. *Herpetologia Brasileira* 7(1):11-57.
- CUNHA, J. A.; SCHEEREN, C. A.; SALBEGO, J.; GRESSLER, L. T.; MADALUZ, L. M.; BANDEIRA JUNIOR, G.; BIANCHINI, A. E., PINHEIRO, C. G.; BORDIGNON, S. A. L.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Essential oils of *Cunila galioides* and *Origanum majorana* as anesthetics for *Rhamdia quelen*: efficacy and effects on ventilation and ionoregulation. *Neotropical Ichthyology*, v. 15, n.1, e160076. 2017.
- CURTIS, D.J.; SETCHELL, J.M. Introduction. *In*: SETCHELL, J.M.; CURTIS, D.J. **Field and Laboratory Methods in Primatology: A Practical Guide**. (eds.) Cambridge University Press: Cambridge. 2003.
- CUTHILL, I. Field experiments in animal behaviour: methods and ethics. **Animal Behavior**, v. 42: 1007-1014, 1991.
- DALPONTE, J.C.; SILVA, F.E.; SILVA-JÚNIOR, J. de S. New species of titi monkey, genus *CalliCebus* Thomas, 1903 (Primates, Pitheciidae), from Southern Amazonia, Brazil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 54, n. 32, v 457-472, 2014.
- DEREURE, J.; BARNABÉ, C; VIEÉ, J.C.; MADÉLENA, T.F.; RACCURT, C. Trypanosomatidae from wild mammals in the neotropical rainforest of French Guiana. **Ann trop med parasitologia**, p. 157, 2001.
- DINIZ, L.S.M.; EO. COSTA; OLIVEIRA, P.M.A. Clinical disorders in armadillo (*Dasypus, edentate*) in capitive. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 44, p.577-582, 1997.

- DINIZ, L.S.M.; OLIVEIRA, P.M.A. Clinical problems of sloths (*Bradypus* sp. and *Choloepus* sp) in captivity. **J. Zoo. Wildl. Med.**, v. 30, p. 76-80, 1999.
- DOLINS, F.L.; JOLLY, A.; RASAMIMANANA, H.; RATSIMBAZAFY, J.; FEISTNER, A.T.C.; RAVOAVY, F. Conservation education in Madagascar: three case studies in the biological diverse island continent. **American Journal of Primatology**, v. 72, p. 391-406, 2010.
- DUBOIS, A. The need for reference specimens in zoological taxonomy and nomenclature. **Bionomina**, v. 12, p. 4–38, 2017. Doi: 10.11646/ bionomina.12.1.2
- EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2ª Ed. Eduem, Maringá. 2006. 199 p.
- EISENBERG, J.F.; REDFORD, K.H. **Mammals of the Neotropics**, Volume 1: The Northern Neotropics: Panama, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guyana. Chicago: The University of Chicago Press. 1999. 449 p.
- EMMONS, L.; FEER, F. **Neotropical rainforest mammals: a Field guide**. University of Chicago Press, Chicago. 1990. 396 p.
- ENCARNACIÓN, F.; SOINI, P.; TAPIA, J.; AQUINO, R. La captura de Callitrichidae (*Saguinus* y *Cebuella*) en la - Amazonia Peruana. *In: La Primatología en el Peru: Proyecto Peruano de Primatología*. Castro-Rodríguez NE (ed.) Lima: Proyecto Peruana de Primatología, p. 1–24. 1990.
- ENCKE, B. **Sieben Jahre Tamanduas (*Tamandua tetradactyla*) Im Krefelder Zoo**. Zool Garten NF, v. 48, p. 19-30. 3001, 1978.
- ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. **Species by family/subfamily**. 2018. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>.
- FAIR, J.; PAUL, E.; JONES, J. **Guidelines to the Use of Wild Birds in Research**. Washington, D. C. The Ornithological Council. 2010. 215p.
- FARNSWORTH, E. J.; ROSOVSKY, J. The ethics of ecological field experimentation. **Conservation Biology**, v. 7, n. 3, p. 463-472, 1993.
- FEDIGAN, L.M. Ethical issues faced by field primatologists: asking the relevant questions. **American Journal of Primatology**, v. 72, p. 754-771, 2010.
- FELIX, F. C. F.; HACKRADT, C. W. Importância do planejamento amostral em estudos ecológicos: um estudo de caso no litoral do paraná. **Estudos de Biologia**, v. 28, n.65, p. 69-75, 2006.
- FONSECA, G. A. B.; A. B. RYLANDS; C. M. R. COSTA; R. B.; MACHADO, Y. L. R. LEITE (Eds.). **Livro vermelho dos mamíferos brasileiros ameaçados de extinção**. Belo Horizonte: Biodiversitas. 1994. 460 p.
- FRISCH, J.; BAKER, R.; HOBBS, J.P.A.; NANKERVIS, L. A quantitative comparison of recreational spearfishing and linefishing on the Great Barrier Reef: implications for management of multi-sector coral reef fisheries. **Coral Reefs**, v. 27, p. 85-95, 2008.
- FROST, D.R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. 28 jun. 2021.Version 6.0. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.
- FROST, D.R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. 1 out. 2018. Version 6.0. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.
- GANZHORN, J.U. Habitat description and phenology. *In: Field and Laboratory Methods in Primatology: A Practical Guide*. Setchell JM & Curtis DJ (eds.) Cambridge: Cambridge University Press, p. 40-56, 2003.
- GAUNT, A. S.; ORING, L. W.; ABLE, K. P.; ANDERSON, D. W.; BAPTISTA, L. F.; BARLOW, J. C.; WINGFIELD, J. C. **Guidelines to the use of wild birds in research**. The Ornithological Council, Washington, D. C. Tradução: Fontana, C. S. Museu de Ciências e Tecnologia, PUCRS, Porto Alegre/RS. 1999. 115p.
- GESTICH, C.C.; CASELLI, C.B.; NAGY-REIS, M.B.; SETZ, E.Z.F.; CUNHA, R.G.T. Estimating primate population densities: the systematic use of playbacks along transects in population surveys. **American Journal of Primatology**, v. 79, p. 1-9, 2017.
- GHIZONI-JR, I. R.; GRAIPEL, M. E. Capturas acidentais de vertebrados em estudos com pequenos mamíferos no estado de Santa Catarina, Sul do Brasil. **Biotemas**, v. 18, n. 1, p. 163 – 180, 2005.
- GILMORE, D.P.; DA-COSTA, C.P.; DUARTE, D.P.F. An update on the physiological of two and three –toed sloths. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 129-46, 2000.
- GOLDBERG, T.L. Commentary on “Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes” by Kondgen et al. 2008, *Current Biology* 18: 260-264. **American Journal of Primatology**, v. 70, p. 716-718, 2008.
- GRANZOTTI, R. F.; GOMES, L. C. Princípios básicos para testes de hipóteses com uso de experimentos manipulativos em ecologia: relato de um experimento de predador-presa. **Arquivos do MUDI**, v. 20, n. 2, p. 1-10, 2016.
- GRIFFITHS, S. P. The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal Rockpool fishes. **Journal of Fish**

Biology, v. 57, p. 1453-1464, 2000.

- GROSSER, K. M.; BECKER, F. G. Métodos e estudo em peixes. *In*: TIMM, L. L.; CADERMATORI, C. V. (Orgs.). Caderno La Salle XI, Canoas, v. 2, n. 1, p. 161-172, 2005.
- GRUEN, L.; FULTZ, A.; PRUETZ, J. Ethical issues in African great ape field studies. **ILAR Journal** 54: 24-32, 2013.
- GUIDELINES FOR THE TREATMENT OF ANIMALS IN BEHAVIORAL RESEARCH AND TEACHING. **Animal Behavior**, v. 61, n.1, p. 271-275, Jan 2001. Doi: 10.1006/anbe.2000.1652. PMID: 11170716.
- GUTIÉRREZ, E.E.; PINE, R.H. Specimen collection crucial to taxonomy. **Science** (80-), v. 355, p. 1275–1275, 24 Mar. 2017. Doi: 10.1126/science. aan0926.
- HARRIS, J. B. C.; HASKELL, D. G. Simulated Birdwatchers' playback Affects the Behavior of Two Tropical Birds. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, e77902, 2013.
- HAWKINS, P.; PRESCOTT, M. J.; CARBONE, L.; DENNISON, N.; JOHNSON, C.; MAKOWSKA, I. J.; MARQUARDT, N.; READMAN, G.; WEARY, D. M.; GOLLEDGE, H. D. R. A Good Death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. **Animals**, v. 6, n. 50, p. 1-28. 2016.
- HOLMES, M.W. *et al.* Natural history collections as windows on evolutionary processes. **Molecular Ecology**, v. 25, p. 864–881, 2016. Doi: 10.1111/mec.13529.
- HOPE, A.G.; SANDERCOCK, B.K.; MALANEY, J.L. Collection of Scientific Specimens: Benefits for Biodiversity Sciences and Limited Impacts on Communities of Small Mammals. **Bioscience**, v. 68, p. 35-42, 2018. Doi: 10.1093/biosci/bix141.
- HUBERT, W. A. Passive capture techniques. *In*: Murphy, B.R. & Willis, D.W. (Eds.) **Fisheries techniques**. 2nd ed. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 1996. p. 157-181.
- HUBERT, W. A.; POPE, K. L.; DETTMERS, J. M. Passive capture techniques. *In*: ZALE, A. V.; PARRISH, D. L.; SUTTON, T. M. (Eds.) **Fisheries techniques**, 3rd edition. American Fisheries Society, Bethesda, 2012. p. 223-265.
- HUNTINGFORD, F. A.; ADAMS, C., BRAITHWAITE, V. A.; KADRI, S.; POTTINGERŞ, T. G.; P. SANDOE; P.; TURNBULL, J. F. Current issues in fish welfare. **Journal of Fish Biology**, v. 68, 332-372, 2006.
- HUNTINGFORD, F.A.; WRIGHT, P. J. How sticklebacks learn to avoid dangerous feeding patches. **Behavioural Processes**, v. 19, p. 181-189, 1989.
- INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **Biodiversidade Pampeana**, v. 2, p. 10-15, 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa 146, de 10 de janeiro de 2007. **Estabelece os critérios para procedimentos relativos ao manejo de fauna silvestre (levantamento, monitoramento, salvamento, resgate e destinação) em áreas de empreendimentos [...]**Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/IN0146-100107.PDF>.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa IBAMA nº 27, de 23 de dezembro de 2002. **Dispõe sobre os procedimentos do Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres - SNA**. Diário Oficial da União de 24/12/2002.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa IBAMA nº 141, de 19 de dezembro de 2006. **Regulamenta o controle e o manejo ambiental da fauna sinantrópica nociva**. Diário Oficial da União de 20/12/2006.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa IBAMA nº 08, de 14 de julho de 2017. **Estabelece os procedimentos para a solicitação e emissão de Autorização para Captura, Coleta e Transporte de Material Biológico (Abio) no âmbito dos processos de licenciamento ambiental federal**. Diário Oficial da União em 07/08/2017, Ed. 150, S. 1, P. 71.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa IBAMA nº 140, de 18 de dezembro de 2006. **Institui o serviço de solicitação e emissão de licenças do Ibama [...]**. Diário Oficial da União nº 242 de 19/12/2006.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa Ibama nº 146, de 10 de janeiro de 2007. **Estabelece os critérios para procedimentos relativos ao manejo de fauna silvestre [...]**. Diário Oficial da União de 11/01/2007. Alterada pela Portaria 10, de 22 de maio de 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa nº 154, de 01 de março de 2007. **Regulamenta a coleta de material biológico para fins científicos e didáticos (no âmbito do ensino superior) e a execução de pesquisa em unidades de conservação e cavernas**. Diário Oficial da União nº 42, de 02/03/2007,

S. 1, p. 57-59.

- INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE E INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa nº 01, de 8 de dezembro de 2014. **Estabelece procedimentos entre o ICMBio e o IBAMA para o manejo e a conservação de espécies da fauna silvestre brasileira.** Diário Oficial da União de 19/12/2014, S. 1, p. 253.
- INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Instrução Normativa nº 03, de 01 de setembro de 2014. **Fixa normas para a utilização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO** [...]. Diário Oficial da União nº 168, Seção 1, p. 60, dia 02/09/2014. Acesso em: 06/03/2018. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/acesso-a-informacao/legislacao/instrucoes-normativas>.
- INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (Sisbio). In: **Rev. Hist.** (Costa. Rica). ICMBio, 2015. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/sisbio/>. Acesso em: 28 abr. 2019.
- INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. SOUSA, A. E. B. A. de; SERAFINI, P. P. **Manual de Anilhamento de Aves Silvestres**. 3ª ed. rev. e ampl. Brasília, ICMBio, Cemave. 2020. 113p.
- INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. Projeto PRODES (2018). **Projeto de Estimativa de Desflorestamento da Amazônia**. Disponível em: <http://www.dpi.inpe.br/prodesdigital/prodes.php>. Acessado em: 5 out. 2018.
- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE'S RED LIST OF THREATENED SPECIES. **The IUCN Red List Categories and Criteria**, v. 3.1., 2nd Edition. IUCN, 2012. 32 p. ISBN: 978-2-8317-1435-6. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 20 Apr. 2019.
- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE'S RED LIST OF THREATENED SPECIES [IUCN/SSC]. **Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations**. Version 1.0. Switzerland: IUCN Species Survival Commission, viii. 57p. 2013.
- JOLLY, C.J.; PHILLIPS-CONROY, J.E.; MULLER, A.E. Trapping primates. In: SETCHELL, J.M.; CURTIS, D.J. **Field and Laboratory Methods in Primatology: a Practical Guide**. (eds.) Cambridge University Press: Cambridge, p. 133-146, 2011.
- KARESH, W.B.; WALLACE, R.B.; PAINTER, R.L.; RUMIZ, D.; BRASELTON, W.E.; DIERENFELD, E.S.; PUCHE, H. Immobilization and health assessment of free-ranging black spider monkeys (*Ateles paniscus chamek*). **American Journal of Primatology**, v. 44, n. 2, p. 107-23, 1998.
- KENWARD, R. E. **A Manual of Wildlife Radio Tagging**. Academic Press, London, UK. 311 p. 2001.
- KIERULFF, M.C.M.; SANTOS, G.R.; CANALE, G.; GUIDORIZZI, C.E.; CASSANO, C. The use of camera-traps in a survey of the buffy headed capuchin monkey, *Cebus xanthosternos*. **Neotropical Primates**, v. 12, n. 2, p. 56–59, 2004.
- KÖNDGEN, S.; HUHL, H.; N'GORAN, P.K.; WALSH, P.D.; SCHENK, S.; ERNST, N.; BIEK, R.; FORMENTY, P.; MATZ-RENSIN, K.; SCHWEIGER, B.; JUNGLEN, S.; ELLERBROK, H.; NITSCHKE, A.; BRIESE, T.; LIPKIN, W.I.; PAULI, G.; BOESCH, C.; LEENDERTZ, F.H. Pandemic human viruses cause decline in endangered great apes. **Current Biology**, v. 18, p. 1-5, 2008.
- KRELL, F.T; WHEELER, Q.D. Specimen collection: plan for the future. **Science**, v. 344, p. 815–816, 2014 May. Doi: 10.1126/science.344.6186.815. PMID: 24855246.
- KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes. Parte 7 - Boas práticas no transporte de peixes vivos. **Panorama da Aquicultura**, v. 19, n. 114, p. 14-23, Jul./Ago. 2009.
- KUCHAR, C.W.; BETTINGER, T.L.; LEHNHARDT, K.; TRACY, O.; COX, D. Evaluating for long-term impact of an environmental education program at the Kalinzu Forest Reserve, Uganda. **American Journal of Primatology**, v. 72, p. 407-413, 2010.
- LAGLER, K. F. Capture, sampling and examination of fishes. In: BAGENAL, T. (Ed.). **Methods for assessment of fish production in fresh waters**. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. p. 7-47. 1978.
- LANGHAM, G. M; CONTRERAS, T. A.; SIEVING, K. E. Why pishing works: titmouse (*Paridae*) scolds elicit a generalized response in bird communities. **EcoScience**, v. 13, p. 485–496, 2006.
- LANGHAM, G. M; CONTRERAS, T. A.; SIEVING, K. E. Why pishing works: titmouse (*Paridae*) scolds elicit a generalized response in bird communities. **EcoScience**, v. 13, p. 485–496, 2006.
- LOPES, J. M.; SOUZA, C. F.; SCHINDLER, B.; PINHEIRO, C. G.; SALBEGO, J.; SIQUEIRA, J. C.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Essential oils from *Citrus x aurantium* and *Citrus x latifolia* (Rutaceae) have anesthetic activity and are effective in reducing ion loss in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 2, e170152. 2018.
- MACKINNON, K.C.; RILEY, E.P. Contemporary ethical issues in field primatology. In: MACCLANCY, J.; FUENTES, A. **Ethics in the Field: Contemporary Challenges**. (eds.) Berhahn: New York, p. 98-107, 2013.

- MacKinnon, K.C.; Riley, E.P. Field primatology of today: current ethical issues. **American Journal of Primatology**, v. 72, p. 749-753, 2010.
- Malone, N.; Fuentes, A.; White, F.J. Subjects of knowledge and control in field primatology. **American Journal of Primatology**, v. 72, p. 779-784, 2010.
- MARGARIDO, T.C. **Dieta e utilização de hábitat do tatu-canastra (*Priodontes maximus* Kerr, 1792) numa área de cerrado do Brasil Central**. [M.S. thesis]. Brasília: Universidade de Brasília, 1997. 200 p.
- MCBEE, K.; BAKER, R.J. ***Dasybus novemcinctus***. **Mammalian Species**, v.162. Northampton: 1982, p.1-9.
- MCDONOUGH, C.; LOUGRY, W.J. Armadillo. In: MACDONALD, D. (Ed). **The new encyclopedia of mammals**. Oxford University Press, 2001, p. 796-799.
- McFARLANE, G. A.; WYDOWSKI, R. S.; PRINCE, E. D. External tags and marks, historical review of the development of external tags and marks. **American Fisheries Society Symposium**, v. 7, p. 9-29, 1990.
- Medri, I.M. **Área de vida e uso de hábitat de tamanduá-bandeira - *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 - nas Fazendas Nhumirim e Porto Alegre, Pantanal da Nhecolândia, MS**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2002.
- MENDES, L. F. História natural dos amborés e peixes-macaco (Actinopterygii, Blennioidei, Gobioidae) do Parque Nacional Marinho do Arquipélago de Fernando de Noronha, sob um enfoque comportamental. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 3, p. 817-823, 2006.
- MENQ, W. **Payback em aves de rapina**. Aves de rapina Brasil: Informações sobre a biologia, ecologia e etologia das aves de rapina do território brasileiro. 2014. Disponível em: <http://www.avesderapinabrasil.com/playback.htm>. Acesso em: 20 de março de 2018.
- MENQ, W. **Payback em aves de rapina**. Aves de rapina Brasil: Informações sobre a biologia, ecologia e etologia das aves de rapina do território brasileiro. 10 jul. 2014. Disponível em: <http://www.avesderapinabrasil.com/playback.htm>. Acesso em: 20 de março de 2018.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. 2 ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2017.
- MINTEER, B.A.; COLLINS, J.P.; LOVE, K.E.; PUSCHENDORF, R. Avoiding (re)extinction. **Science**, v. 344, p. 260. 2014.
- MIRANDA, F. **Manutenção de tamanduás em cativeiro**. São Paulo: Ed. Cubo, 2012.
- MIRANDA, F. R. **Pesquisa de anticorpos contra bactérias do gênero *Brucella* spp, *Leptospira* spp, *Chlamydomyces* spp em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus, 1758), da RPPN SESC Pantanal, Parque Nacional da Serra da Canastra e Parque Nacional das Emas**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2008. 116 p.
- MIRANDA, F. R.; SUPERINA, M. **Manual clínico ena del oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*)**. Conservation Land Trust – Manual técnico, Argentina. P 23. 2006.
- MIRANDA, F. R.; VELOSO, R.; SUPERINA, M.; ZARA, F.J. Food habits of wild silky anteaters (*Cyclopes didactylus*) of São Luis do Maranhão, Brazil. **Edentata**, n. 8-10, p. 1-5, 2009.
- MIRANDA, F.; SUPERINA, M. New distribution records of the silky anteater *Cyclopes didactylus* (Mammalia, Pilosa, Cyclopedidae) in coastal northeastern Brazil. **Mastozool. Neotrop.**, v.17, n. 2, p. 381-384, Jul-dez. 2010. Sociedade Argentina para el Estudio de los Mamíferos, Tucumán, Argentina.
- MIRANDA, F.R.; CORREA, S.H.; TEIXEIRA, R.H.; FEDULLO, D.; DIAS, J C. Retrospective study of causes death in giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). In: **Fundação Parque Zoológico de São Paulo**. (FPZSP) - from 1964 to 2003. San Diego: American Association of Zoo Veterinarians, 2004.
- MIRANDA, F.R.; KLUYBER, D.; TEIXEIRA, R.H.; DEJUSTE, C. Avaliação sanitária dos Tamanduás cativos no Brasil. In: **CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DE FAUNA SILVESTRE NA AMAZÔNIA E AMÉRICA LATINA**, 7., 2006, Ilhéus. Anais... Ilhéus, 2006.
- MIRANDA, F.R.; MESSIAS, A. Xenarthras (Tamanduás, Tatu e preguiça). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. cap. 26.
- MIRANDA, F.R.; SUPERINA, M.; OROZCO, M.; JIMÉNEZ, I. **Manual de cuarentena del oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*)**. Conservation Land Trust – Manual técnico, Argentina. 2006.
- MONTGOMERY, G. G.; SUNQUIST, M.E. Habitat selection and use by two-toed and three-toed sloths. In: **The Ecology of**

- Arboreal Folivores.** Washington D.C. Smithsonian Institution Press. p. 329-359, 1978.
- MONTGOMERY, G. G.; Y. D. LUBIN. Prey influences on movements of Neotropical anteaters. *In*: PHILLIPS, R. L.; JONKEL, C. **Proceedings of the 1975 Predator Symposium**, Montana Forest and Conservation Experiment Station: University of Montana, p.103-131. 1977.
 - MORRISON, R. I. G.; R. K. ROSS, R. K. **Atlas of Nearctic shorebirds on the coast of South America.** Canadian Wildlife Service Special Publication, Ottawa, Ontario. 1989.
 - MOTA, P. G.; DEPRAZ, V. A test of the effect of male song on female nesting behaviour in the serin (*Serinus serinus*): a field playback experiment. **Ethology**, v. 110, p. 841–850, 2004.
 - MUSSULINI, B. H. M.; LEITE, C. E.; ZENKI, K. C.; MORO, L.; BAGGIO, S.; RICO, E. P.; ROSEMBERG, D. B.; DIAS, R. D.; SOUZA, T. M.; CALCAGNOTTO, M. E.; CAMPOS, M. M.; BATTASTINI, A. M.; OLIVEIRA, D. L. Seizures induced by pentylenetetrazole in the adult zebrafish: a detailed behavioral characterization. **PLoS ONE**,v. 8, n. 1, e54515. 2013.
 - MUTLOW, A.G.; DRYDEN, M.W.; PAYNE, P.A. Flea (*Pulex simulans*) infestation in captive giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.3, n.37, p. 427-429, 2006.
 - NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; MAKRAKIS, M. C.; PAVANELLI, C. S. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação.** EDUEM. Maringá. 2001. 378 p.
 - NAKATANI, K.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V. Eggs and larvae of fishes in the Upper Paraná River floodplain. *In*: AGOSTINHO, A. A.; RODRIGUES, L.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M.; MIRANDA, L. E. (Eds.). **Structure and functioning of the Paraná River and its floodplain.** Maringá: EDUEM, p. 157-161, 2004.
 - NETO, L.L.S. Métodos de Marcação e Identificação. *In*: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária.** (eds.) Roca: São Paulo, p. 46-62, 2014.
 - NUNES, J. A. C.; MEDEIROS, D. V.; REIS-FILHO, J. A.; SAMPAIO, C. L. S.; BARROS, F. Reef fishes captured by recreational spearfishing on reefs of Bahia State, northeast Brazil. **Biota Neotropica**, v. 12, n.1, p. 179-185, 2012.
 - OWEN, J. C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review. **Journal of Field Ornithology**, v. 82, n. 4, p. 339-354, 2011.
 - PACHECO, J.F. *et al.* Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee - second edition. **Ornithology Research**, v. 29, p. 94-105, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s43388-021-00058-x>.
 - PAIM, F.P.; EL BIZRI, H.R.; PAGLIA, A.P.; QUEIROZ, H.L. Long-term population monitoring of the threatened and endemic black-headed squirrel monkey (*Saimiri vanzolinii*) shows the importance of protected areas for primate conservation in Amazonia. **American Journal of Primatology**, p. 1-10, 2019. Doi: 10.1002/ajp.22988.
 - PAIM, F.P.; QUEIROZ, H.L. **Diferenças nos parâmetros acústicos das vocalizações de alarme das espécies de Saimiri Voigt, 1831 (Primates, Cebidae) na Floresta de Várzea – Reserva Mamirauá.** Uakari, v. 5, n., p. 49-60, 2009.
 - PEDRAZZANI, A. S.; MOLENTO, C. F. M.; CARNEIRO, P. C. F.; FERNANDES-DE-CASTILHO, M. Senciência e bem-estar de peixes: Uma visão de futuro do mercado consumidor. **Panorama da Aquicultura**, p. 24-29, jul.-ago. 2007.
 - PEDRAZZANI, A. S.; OSTRENSKY NETO, A.; CARNEIRO, P. C. F.; GAYER, M. V.; MOLENTO, C. F. M. Opinião pública e educação sobre abate humanitário de peixes no município de Araucária, Paraná. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 976-983, 2008.
 - PERES, C.A. General guidelines for standardizing line-transect surveys of tropical forest primates. **Neotropical Primates**, v. 7, n1, p. 11-16, jan. 1999.
 - PIACENTINI, V. Q.; ALEIXO, A.; AGNE, C. E.; MAURICIO, G. N.; PACHECO, J. F.; BRAVO, G. A.; BRITO, G. R. R.; NAKA, L. N.; OLMOS, F.; POSSO, S.; SILVEIRA, L. F.; BETINI, G. S.; CARRANO, E.; FRANZ, I.; LEES, A.C.; LIMA, L. M.; PIOLI, D.; SCHUNCK, F.; AMARAL, F. R.; BENCKE, G. A.; COHN-HAFT, M.; FIGUEIREDO, L. F. A.; STARUBE, F. C.; CESARI, E. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee / Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 23, n. 2, p. 91-298, 2015.
 - PINE, W. E.; POLLOCK, K. H.; HIGHTOWER, J. E.; KWAK, T. J.; RICE, J. A. A review of tagging methods for estimating fish population size and components of mortality. **Fisheries Research**, v. 28, n.10, p. 10-23, 2003.
 - PRADEL, R. Utilization of capture-mark-recapture for the study of recruitment and population growth rate. **Biometrics**, 52: 703-709, 1996.
 - PUSEY, A.E.; WILSON, M.L.; COLLINS, D.A. Human impacts, disease risk, and population dynamics in the chimpanzees of Gombe National Park, Tanzania. **American Journal of Primatology**, v. 70, p. 738-744, 2008.
 - QUEIROZ, H.L. **Preguiças e Guaribas: Os Mamíferos Folívoros Arborícolas do Mamirauá.** Sociedade Civil Mamirauá/ MCT

- CNPq, 1995, 160p.
- RALPH, C. J.; GEUPEL, G. R.; PYLE, P.; MARTIN, T. E.; DESANTE, D. F. **Handbook of field methods for monitoring landbirds**. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-144. Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Albany, 1993. 41 p.
- REDFORD, K. H. **Emas National Park and the plight of the Cerrados**. *Oryx*, v. 19, n. 4, p. 210-214. 1985.
- REDFORD, K. H.; EISENBERG, J.F. **Mammals of the neotropics**, volume 2. The Southern Cone: Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay. University of Chicago Press. Chicago. 1992.
- REIS-PINTO, F. C.; BARBALHO, P. G.; MANGOLIN, R. F. P.; MAURER-MORELLI, C. V. Análise temporal dos transcritos dos genes *bdnf* e *ntkr2* em cérebro de zebrafish induzido à crise epiléptica por pentilenotetrazol. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 18, n. 4, p. 107-113, 2012.
- ROA - Rede de Observação de Aves. **Código de Boas Práticas para Observação de Aves**. Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores. 2017. Disponível em: <http://www.azores.gov.pt/Gra/srrn-natureza/conteudos/projectos/2017/Junho/Codigo+de+Boas+Praticas+para+a+Observacao+de+Aves.html>. Acesso em: 20 de março de 2018.
- RODRIGUES, F.H.; MEDRI, I.M.; DE MIRANDA, G.H.B.; CAMILO-ALVES, C.; MOURÃO, G. Anteater behavior and ecology. *In*: LOUGHRY, W.J.; VIZCAÍNO, S.F., eds. **The Biology of the Xenarthra**. Gainesville: University Press of Florida. p 257-268, 2008.
- ROOS, A. L. Capturando aves. *In*: VON MATTER, F.; STRAUBE, F. C.; C NDIDO JR., J. F.; PIACENTINI, V.; - - - ACOORDI, I. (Ed.). **Ornitologia e Conservação: ciência aplicada, técnica de pesquisa e levantamento**. Rio de Janeiro: Technical Books. p. 77-104, 2010.
- ROSE, J. D.; ARLINGHAUS, R.; COOKE, S. J.; DIGGLES, B. K.; SAWYNOK, W.; STEVENS, E. D.; WYNNE, C. D. L. Can fish really feel pain? **Fish and Fisheries**, v. 15, p. 97-133, 2014.
- ROSS, C.; REEVE, N. Survey and census methods: population distribution and density. *In*: SETCHELL, J.M.; CURTIS, D.J. (eds.) **Field and Laboratory Methods in Primatology: a Practical Guide**. Cambridge University Press: Cambridge, p. 90-109, 2003.
- RUCINQUE, D. S.; SOUZA, A. P. O; MOLENTO, C. F. M. Perception of fish sentience, welfare and humane slaughter by highly educated citizens of Bogota, Colombia and Curitiba, Brazil. **PLoS ONE**, v. 12, n.1, 2017. e0168197.
- SABINO, U.; DUCA, C. Utilização do tártaro emético no estudo de dieta de aves. **Natureza on line**, v. 9, n. 3, p. 144-145, 2011.
- SALCEDO, R.A.; MEJIA, M.; SLOCOMBE, K.; PAPWORTH, S. Two case studies using playbacks to census Neotropical Primates: *CalliCebus discolor* and *Alouatta palliata aequatorialis*. **Neotropical Primates**, v. 21, n. 2, p. 200-204, 2014.
- SANCHES, E. G.; SEBASTIANI, E. F. Atratores e tempo de submersão na pesca artesanal com armadilhas. **Biotemas**, v. 22, n. 4, p. 199-206, 2009.
- SANCHES, T.; MIRANDA, F.R., MATUSHIMA, E. **Manutenção de tamanduás em cativeiro**. Editora Cubo 202 in press. 2011.
- SANTOS, T.; OLIVEIRA, J. B.; VANGHAN, C.; SANTIAGO, H. Health evaluation of an ex situ population of raptors (Falconiformes and Strigiformes) in Mexico: diagnosis of internal parasites. **Revista de Biología Tropical**, v. 59, n. 3, v. 1265-1274, 2011.
- SCHAUERTE, E.; OSMANN, L. Manutenção de tamanduás em cativeiro. Editora Cubo, p. 202 in press, 2011.
- SCHWOCHOW, D.; SERIEYS, L. E. K., WAYNE, R. K.; THALMANN, O. Efficient recovery of whole blood RNA- a comparison of commercial RNA extraction protocols for hightroughput applications in wildlife species. **Biotechnology**, v. 12, p. 33, 2012.
- SEGALLA, M.V.; BERNECK. B; CANEDO, C.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C.A.G.; GARCIA, P.C.A.; GRANT, T.; HADDAD, C.F.B.; LOURENÇO, A. C.; M NGIA, S.; MOTT, T.; NASCIMENTO, L. B.; TOLEDO, L. F.; WERNECK, F. P.; LANGONE, J. Brazilian Amphibians: List of Brazilian Amphibians. **Herpetologia Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 121-216, 2016.
- SEGALLA, M.V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C.A.G.; GRANT, T.; HADDAD, C.F.B.; GARCIA, P.C.A.; BERNECK, B.V.M.; LANGONE, J. Brazilian Amphibians: List of Species. **Herpetologia Brasileira**, v. 5, n. 2, p. 34-46, 2016.
- SEKERCIOGLU, C. H. Impacts of birdwatching on human and avian communities. **Environmental Conservation**, v. 29, n.3, p. 282-289, 2002.
- SEN, S. K. The ethics and science of bird call playback. 2009. Disponível em: <https://www.kolkatabirds.com/callplayback.html>. Acesso em: 20 de maio de 2018.
- SENAR, J. C.; CARRILLO-ORTIZ, J.; ARROYO, L. Numbered neck collars for long-distance identification of parakeets. **Journal of field ornithology**, v. 83, n. 2, p. 180-185. 2012.
- SETCHELL, J.M.; CURTIS, D.J. **Field and Laboratory Methods in Primatology: A Practical Guide**. Cambridge: Cambridge University Press. 2003. 343 p.
- SHAW, J. H.; T. S. CARTER. Giant Anteaters – Getting too close to this toothless creature could result in a fatal embrace. **Natural History**. v. 89, p. 62-67. 1980.

- SICK, H.A. A Voz como caráter taxonômico em aves. **Boletim do Museu Nacional do Rio de Janeiro**, v. 294, p. 1-11, 1979.
- SILVA, J.C.R.; CORREA, S.H. Manejo sanitário e Biossegurança. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. cap. 72.
- SIMMONS, J. E. Herpetological collecting and collections managements. **Herpetological Circular**, n. 42, 2002.
- SMALL, B. C. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. **Aquaculture**, v. 238: 469-481, 2004.
- SOUTHWOOD, T. R. E.; HENDERSON, P.A. **Ecological Methods**. Third Edition, Blackwell Science, USA. 2000. 575 p.
- SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; SALBEGO, J.; LOPES, J. M.; VAUCHER, R. A.; MOURÃO, R. H. V.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B. Physiological responses of *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. **Neotropical Ichthyology**, v. 15, n.1, 2017. e160083.
- SOUZA, C. F.; SALBEGO, J.; GRESSLER, L. T.; GOLOMBIESKI, J. I.; FERST, J. G.; CUNHA, M. A.; HEINZMANN, B. M.; CARON, B. O.; GLANZNER, W. G.; GONÇALVES, P. B. D.; BALDISSEROTTO, B. *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), submitted to a stressful condition: effect of dietary addition of the essential oil of *Lippia alba* on metabolism, osmoregulation and endocrinology. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, n. 4, p. 707-714, 2015.
- SPOTSWOOD, E. N.; GOODMAN, K. R.; CARLISLE, J.; CORMIER, L. R.; HUMPLE, D. L.; RUSSEAU, J.; GUERS, S. L.; BARTON, G. G. How safe is mist netting? evaluating the risk of injury and mortality to birds. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, p. 29-38, 2012.
- SPOTSWOOD, E. N.; GOODMAN, K. R.; CARLISLE, J.; CORMIER, L. R.; HUMPLE, D. L.; RUSSEAU, J.; GUERS, S. L.; BARTON, G. G. How safe is mist netting? evaluating the risk of injury and mortality to birds. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, p. 29-38, 2012.
- STORER, T.I.; USINGER, R. L.; STEBBINS, R.C.; NYBAKKER, J.N. **Zoologia Geral**. São Paulo: Companhia editora nacional. 2003. 816 p.
- STRIER, K.B. Long-term field studies: positive impacts and unintended consequences. **American Journal of Primatology**, v. 72, p. 772-778, 2010.
- SUPERINA, M.; AGUIAR, J. **A reference list common names for the edentates- edentata**. Washington, n. 7, p. 33-44, 2006.
- SUPERINA, M.; MIRANDA, F.; PLESE, T. Maintenance of *Xenarthra* in captivity. In: Ed. Vizcaino, S.F.; Loughry, W.J. **The Biology of Xenarthra**. University Press of Florida. 2008. p.232-243.
- SUPERINA, M.; MIRANDA, F.R.; ABA, A. The 2010 Anteater Red List Assessment. **Edentata**, v. 11, n. 2, p. 96, 2010.
- SUZUKI, F. M.; ZAMBALDI, L. P.; POMPEU, P. S. Uso de marcação e recaptura para estimar a abundância e densidade de *Trichomycterus brasiliensis* (Siluriformes, Trichomycteridae) em poções do córrego da Bexiga, Carrancas, Minas Gerais, Brasil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão** (N. Sér.) 28, p. 89-104, 2010.
- THORINGTON, J.R.R.W.; RUDRAN, R.; MACK, D. Sexual dimorphism of *Alouatta seniculus* and observations of capture techniques. In: EISENBERG, J.F. (ed.). **Vertebrate ecology in the northern neotropics**. Smithsonian Institution Press: Washington, 1979. p. 97-106.
- TRAJANO, E. Habitat and population data of troglobitic armored cave catfish, *Ancistrus cryptophthalmus* Reis, 1987, from central Brazil (Siluriformes: Loricariidae). **Environmental Biology of Fishes**, v. 62, p. 195-200, 2001.
- UETZ, P., FREED, P.; HOŠEK, J. (eds.). **The Reptile Database**. 2021. Atualizada em 19/05/2021. Disponível em: <http://www.reptile-database.org>.
- UETZ, P.; HOŠEK, J. **The Reptile Database** (06/03/2018). 2018. Disponível em: www.reptile-database.org.
- UIEDA, V. S.; CASTRO, R. M. C. Coleta e fixação de peixes de riachos. In: CARAMASHI, E. P.; MAZZONI, R.; PERES-NETO, P. R. (Eds.) **Ecologia de Peixes de Riachos**. Rio de Janeiro, Brasil: Série Oecologia Brasiliensis, PPGE-UFRJ. VI, p. 1-22, 1999.
- VAN OERS, K.; CARERE, C. Long-term effects of repeated handling and bleeding in wild caught Great Tits *Parus major*. **Journal of Ornithology**, v.148 (Supplement 2), p. 185-190, 2007.
- VERONA, C.E.; PISSINATTI, A. Primates - Primatas do Novo Mundo (Sagui, Macaco-prego, Macaco-aranha, Bugio e Muriqui). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. (eds.) **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. Roca: São Paulo, 2014. p. 723-743.
- VIELLIARD, J.M.E. The current state of bioacoustical phylogeny. **Bioacoustics**, v. 6, p. 310-311, 1996.
- VOLPATO, G. L.; GIAQUINTO, P. C.; CASTILHO, M. F.; BARRETO, R. E.; FREITAS, E. G. Animal welfare: from concepts to reality. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n.1, p. 05-15, 2009.
- WALSH, P.D. A rank on infectious disease and ape research priorities. **American Journal of Primatology**, v. 70, p. 719-721,

2008.

- WATSA, M.; ERKENSWICK, G.; HALLORAN, D.; KANE, E.E.; POIRIER, A.; KLONOSKI, K.; CASSALETT, S.; MACIAG, E.; MANGALE, M.R.; DINSMORE, M.P.; MCCREADY, H.; BOUGHAN, B.K.; PARKER, C.; HICKMOTT, A.; BAZAN, I.E.N.; ZUÑIGA, A. A field protocol for the capture and release of callitrichids. **Neotropical Primates**, v. 22, n.2, p. 59-68, 2015.
- WETZEL, R.M. The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata). *In*: MONTGOMERY, G.G., ed. **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**. Washington and London: Smithsonian Institution Press. 1985. p 5-21.
- WILLIAMSON, E.A.; FEISTNER, A. Habituating primates: Processes, techniques, variables and ethics. *In*: SETCHELL, J.M.; CURTIS, D.J. (eds.). **Field and Laboratory Methods in Primatology: A Practical Guide**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003. p. 25-39.
- WINGFIELD, J. C. Short-term changes in plasma levels of hormones during establishment and defense of a breeding territory in male song sparrows, *Melospiza melodia*. **Horm Behav**, v. 19, p. 174–187, 1985.
- WINGFIELD, J. C.; HEGNER, R. E.; DUFTY JR., A. M.; BALLI, G.F. The “challenge hypothesis”: theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. **Am Nat**, v. 136, p. 829-846, 1990.
- ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 201-218, 2012.

