

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE CONSTRUÇÃO E MANUTENÇÃO DE UM BIOTÉRIO COM ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Neuza Maria Ferraz de Mello Gonçalves¹
Adriane Granato Bardal²
Lincon Bordignon Somensi³

RESUMO: Denomina-se como Biotério, o espaço físico, aonde se estuda a vida, a reprodução e a manutenção, de animais irracionais, com a finalidade de preservação destes, na utilização de diferentes pesquisas científicas. O objetivo do presente foi elaborar um estudo sobre a montagem e a manutenção de um biotério com animais de experimentação, verificando as condições específicas para as diferentes espécies desses e avaliando as técnicas de reprodução, com a finalidade da utilização, na promoção de benefícios e bem estar para o homem, em relação à descoberta de algumas doenças. Justifica-se a documentação deste trabalho, em relação a utilização desses animais, em experimentos científicos, uma vez que pode-se, descobrir a prevenção e a cura de muitas doenças, como foi o descoberta de importantes vacinas e alguns fármacos, como os genéricos, o estudo dos transplantes, células troncos e fertilização. A metodologia utilizada, refere-se a pesquisa quantitativa, qualitativa, descritiva e exploratória, em acervos bibliográficos de livros e artigos de sites. Os resultados apresentam várias espécies de animais e a eleição destes, para a realização de diferentes e específicos experimentos. Alerta ainda a necessidade de pessoas altamente capacitada e comprometida, em relação à integridade, desses animais, dispendo de um ambiente adequado, seguro, bem equipado, com uma ótima instalação, garantindo a qualidade de vida e realização das práticas com segurança, principalmente no processo do bem estar destes animais, segundo o Conselho de ética e o Órgão de Proteção dos animais. Conclui-se que, para garantir a eficiência das pesquisas, há necessidade constante de melhorar cada vez mais as condições do biotério, na preservação de um bom plantel destes animais, para a produção de excelentes pesquisas, com resultados seguros e satisfatórios, no contexto da ética da legislação vigente, segundo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

PALAVRAS-CHAVE: Animais de Experimentação, Biotério, Biossegurança, Bioética, Pesquisas.

¹ Professor of Legal Monograph, University Center of Campos de Andrade, PhD in Science and PhD Pesticide Utilization of Plant Protection. Agriculture Universite Kobe-Japan.

² Graduada no Curso de Nutrição do Centro Universitário Campos de Andrade-UNIANDRADE.

³ Mestre em Ciências Farmacêuticas - Centro de Ciências da Saúde, da Universidade do Vale de Itajaí-SC.

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

ABSTRACT: Is called as Vivarium , physical space , where we study life , reproduction and the maintenance of irrational animals, for the purpose of preservation of these , the use of different scientific research. The purpose of this was to prepare a study on the installation and maintenance of a vivarium with experimental animals by checking the specific conditions for different these species and evaluating the reproduction techniques with the purpose of use in promoting wellness benefits and to man , in relation to the discovery of some diseases. It is justified to the documentation of this study in relation to use of such animals in scientific experiments as it can discover the prevention and cure of many diseases , as was the discovery of important vaccines and some drugs, such as generics, the study of transplanted, stem cells and fertilization. The methodology used , refers to quantitative , qualitative, descriptive and exploratory research in library collections of books and articles sites. The results show various animal species and the choice thereof for carrying out different, specific experiments Alert still the need of highly qualified and committed , in relation to the integrity of these animals , having an adequate , safe , well equipped, with a great facility , ensuring the quality of life and realization of safe practices, especially in the process the welfare of animals, according to the Council of ethics and Protection Agency of animals. Concludes that to ensure the effectiveness of research, there is a constant need to improve more and more vivarium conditions, the preservation of a good breeding these animals for the production of excellent research, insurance and satisfactory results in the context of ethics legislation current, according to the National - CONCEA Animal Experimentation Control Council.

KEY-WORDS: Experimental Animals, Vivarium, Biosafet, Bioethic, Research.

1. INTRODUÇÃO.

No contexto da palavra Biotério é o espaço físico, aonde se estuda a vida, a reprodução e a manutenção, dentro da ética e da legislação, isto é local dotado de características próprias, onde são criados ou mantidos animais de diferentes espécies, destinados ao campo da ciência e da tecnologia, voltado à saúde humana e animal.

Atende, portanto a parte acadêmica, isto é da didática, oferecendo suporte às práticas dos cursos da área da Saúde e das Ciências Biológicas, na criação e da manutenção de um excelente plantel (conjunto de animais de boa raça), de animais de experimentação, destinado à pesquisa.

No entanto , a utilização de animais no Ensino e Pesquisa, tem sido objeto de reações extremas de diferentes profissionais e pesquisadores, sendo um grupo a favor,

outro radialmente contra, acarretando enorme divergência neste contexto. Entretanto, a complexidade das pesquisas na área das Ciências Biológicas, seria impossível a experimentação e demonstração, sem a utilização destes animais, como é o caso dos testes em cultivos celulares, os quais necessitam serem comprovados em seres vivos.

A realização de pesquisas com animais, é datada desde a antiguidade, Pitágoras (582-500 aC.) já pensava que a amabilidade para com todos os animais irracionais, era um dever e obrigação do homem. Hipócrates (450 aC.) em seus estudos, relacionava o aspecto de órgãos humanos doentes com o de animais, com finalidade claramente didática. Os anatomistas Alcmaeon (500 aC), Herophilus (330-250 aC.) e Erasistratus (305-240 aC.) praticavam a visissecções (cortar o animal vivo) em animais com o objetivo de observar estruturas e formular hipóteses sobre o funcionamento de alguns órgãos em diferentes animais. Galeno (129-210 dC.), em Roma, foi o primeiro a realizar visissecção com objetivos experimentais, ou seja, de testar variáveis, devido as diferentes alterações provocadas nos animais. No século XVII, o filósofo René

Descartes (1596-1650 dC.) acreditava que os processos de pensamento e sensibilidade faziam parte da alma e como esta concepção, os animais não tinham alma, e explicava que não havia sequer a possibilidade de sentirem dor.

Claude Bernard (1865)⁴¹, foi o pai da fisiologia moderna, radicado na França no século XIX, e o percussor das descobertas impressionantes que revolucionaram o mundo sobre o esclarecimento em relação aos princípios fundamentais da vida orgânica. Afirma ainda em seu livro que: "seria estranho se reconhecêssemos o direito de utilizar os animais para serviços caseiros ou para o próprio alimento e proibir a sua exposição ou sacrifício para as aulas práticas, na área das ciências, as quais resultariam benefícios úteis para a humanidade". Bernard documenta, ainda "a ciência da vida pode ser estabelecida somente pela experimentação, e nós podemos salvar seres vivos da morte somente após sacrificar outros".

Menciona, ainda "experimentos devem ser realizados, com todos os animais, isto é, racionais e irracionais, "penso que os médicos já fazem muitos experimentos perigosos no homem, antes de estudá-los cuidadosamente nos animais, e eu não

⁴¹BERNARD, Claude. **An Introduction to the Study of Experimental Medicine**. University College, London. Library Services. 1865.

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

admito que seja moral, testar remédios mais ou menos perigosos ou ativos em pacientes em hospitais, sem primeiro experimentá-los em cães; eu provarei, a seguir, que os resultados obtidos em animais podem ser todos conclusivos para o homem, quando nós sabemos como experimentar adequadamente em animais.”

É oportuno lembrar de que a partir do século XX, houve o marco da evolução científica, principalmente das Ciências Médicas, Biomédicas e Biológicas, aonde foram realizados inúmeros trabalhos com a utilização de animais vivos, como os ratos, cobaias, cães, ovelhas, vacas e porcos.

Estas pesquisas permitiram enormes avanços para a ciência, com a produção de vacinas, responsáveis pela erradicação de doenças, como a raiva, tétano, sarampo e difteria. Outro grande sucesso foi na descoberta de alguns dos medicamentos mais utilizados, em nível mundial, como a insulina e a penicilina, os tranqüilizantes, aonde a síntese de novos fármacos permitiram novos e diferentes tratamentos, na redução de diversas enfermidades.

Verificou-se que, um avanço desordenado em pesquisas com animais racionais e irracionais, aonde o homem ou pesquisador médico e biomédico entraram em um processo de pesquisas sem respostas aos questionamentos da humanidade. Assim, houve uma necessidade emergencial, de posicionamento desses grandes pesquisadores a procederem, uma reflexão em relação a todas as situações profissionais, familiares, recreativas e religiosas, apoiando-se na ética e na moral e conseqüentemente na fusão destas, a Bioética, priorizando todos os cuidados pertinentes à utilização de animais de experimentação, segundo ao COBEA⁵. A partir deste contexto é oportuno e de suma importância documentar de que os estudos experimentais vêm sendo controlados e normatizados, pelas comissões de Bioética, em todas as Instituições que procedem pesquisas com animais de experimentação

Essas comissões avaliam os projetos e aprovam a utilização destes, quando não se dispõe de outros métodos alternativos. No entanto, vedam a metodologia que

⁵National Research Council. **Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório**. Edição em português – Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care Internacional (AAALAAALAC e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal COBEA – Goiânia, 2003

possibilitem o sofrimento e a utilização do processo de vivissecção e combatem a utilização em experimentos com um elevado número de animais.

É fundamental a biossegurança em biotérios⁶, portanto houve a necessidade de promulgação de projetos de Lei, que normatizasse a utilização de animais para ensino e pesquisa. Segundo a Lei nº 11.977, de 25/8/2005, instituiu o Código de Proteção aos Animais do Estado de São Paulo e determinou outras providências. Foi proposto o projeto de Lei nº 254, de maio de 2006, que alterou a lei de 2005, propondo a proibição no Estado de São Paulo, o processo da vivissecação, bem como, a utilização de animais em qualquer prática experimental.

O livro do filósofo Peter Singer (2004)⁷, mobiliza uma reflexão, sobre a utilização de animais de experimentação em pesquisas científicas, enfatizando a escolha, os cuidados e o bem estar destes animais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram visitados vários biotérios, com treinamentos e estágios, na cidade de Curitiba-PR, Biotério do Centro de Ciências Biológicas da Pontifícia Universidade Católica do Paraná- PUC/PR, Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Paraná- UFPR, Biotério Maria Luiza - Instituto de Tecnologia do Paraná -TECPAR, Biotério do Centro de Ciências de Saúde da Universidade do Vale de Itajaí-SC, Biotério do Instituto de Ciências e Tecnologia-ICT da Universidade Estadual Paulista, Júlio de Mesquita, Campus de São José dos Campos do Estado de São Paulo.

⁶MOLINARO Etelcia Morais, MAJEROWICZ Joel. **Biossegurança em Biotérios**. Editora Interciência: 2008, Editora Interciência: Rio de Janeiro. 176p

⁷SINGER, Peter. **Libertação Animal**. Editora Lugano., 2004.

2.1 Material

Compreende como material, os animais de diferentes espécies, raças, sexo e idade, os equipamentos necessários em um laboratório, reativos, vidraria e acessórios, de conhecimento de um técnico ou pesquisador da área.

2.2 Método. Montagem do Laboratório

Neste contexto ao longo dos anos, procurou-se estabelecer eficiente padronização do espaço físico para os animais utilizados em pesquisa, denominado de biotério.

Para tanto, houve a necessidade de interação de vários conceitos, penetrando assim, na Ciência de Animais de Laboratório⁸.

2.2.1 Espaço Físico

O espaço físico de um biotério tem que estar localizado em área afastada e tranqüila da Instituição, requerendo atenção especial em relação à Biossegurança.⁹

Refere-se a uma segurança em um contexto maior, isto de várias atividades, pois abrange um conjunto de decisões preventivas, como: minimização ou até eliminação de riscos, pertinentes às atividades de pesquisa, nas áreas da Biotecnologia e da Tecnologia, de ensino e de prestação de serviços. Estes cuidados, viabilizam a promoção da saúde dos pesquisadores, dos animais, evitando-se contaminações, com a entrada de diferentes animais ou material ou ainda a confiabilidade dos trabalhos desenvolvidos¹⁰.

⁸ANDRADE, Antenor. **Animais de Laboratório: Criação e Experimentação**. Organizado por A

⁹HIRATA, Mário Hiroyuki; FILHO, Jorge Mancini. **Manual de Biossegurança**. 1ª ed. Editora Manole – São Paulo. 2002.

¹⁰MAJEROWICZ, Joel. **Boas Práticas em Biotérios - Biossegurança**. Editora Interciência. Rio de Janeiro, 2008. 175p.

É vedada a construção de degraus, entre os espaços físicos, isto é as salas específicas.

A – Paredes e Pisos

O biotério deve dispor de: paredes laváveis (tinta a óleo ou epóxi) e se houver janelas, estas devem ter telas e os vidros pintados para que a luz solar não interfira na iluminação artificial.

O forro deverá ser lavável e com bom isolamento, o piso com instalação de antiderrapante, cantos das paredes arredondadas, portas largas (1m de altura) e com visor que permita supervisionar o trabalho na sala⁷.

B – Ventilação

O principal objetivo da ventilação é fornecer oxigênio, remover gases como amônia, entre outros que causam odores e outros poluentes como poeira desprendida da maravalha ou cepilho, utilizados na preparação das "cama" (foto 1). O Problema de ventilação poderá acarretar em situações respiratórias, ou ainda favorecer o estabelecimento de doenças entre os animais e os profissionais do biotério.

C - Temperatura

As temperaturas extremas, isto é muito altas ou muito baixas, afetam a saúde dos animais adultos e influencia no desenvolvimento destes, de uma forma significativa, ao ponto de comprometer a experimentação.

D - Iluminação.

A variação da luz natural que ocorre pelas janelas, poderá impedir que colônias de criação, realizem produção uniforme. Portanto, esta deve ser constante, de 12 horas de luz e 12 horas sem iluminação, isto é no escuro. Por isso usa-se iluminação artificial e é importante que em algumas salas específicas do biotério, não possua janelas

2.2.2. Instalações e Equipamentos

As instalações e equipamentos precisam seguir o Sanitário dos Animais de Laboratório, adequados e muito bem supervisionados, por um especialista, segundo o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONSEA), órgão integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia, que ficará encarregado de fiscalizar instituições credenciadas para a prática desses experimentos.

Os animais residentes no biotério, são mantidos em um ambiente controlado de temperatura, luminosidade e alimentação, além de não ficarem expostos ao meio ambiente natural, visto que o contato repentino com esse meio, poderá resultar em um "choque agressivo" ao animal.

A - Divisão Interna.

A divisão interna deverá, basicamente ter espaços para criação e manutenção de animais, higienização do material e do pessoal da área profissionalizante e da administrativa.

Sala de criação e manutenção

Há necessidade de diversas salas, pois estes animais precisam de instalações específicas, para obter-se um bom plantel.

Sala de quarentena é essencial, quando animais são transportados de outros lugares ou espaços físicos, portanto, devem ser acondicionados em salas para observação, caso manifestem uma doença, está segurança, não irá comprometer os demais animais. **Sala de crescimento dos animais**, onde são organizados por sexo, tamanho, idade ou peso. **Sala de acasalamento, sala de reprodução ou maternidade. Sala para os desmamados, salas de estoque de criação** (cobaias, ratos). **Sala de ciclo invertido. Sala de esterilização**, de todo o material utilizado nos experimentos. **Sala de estoque de materiais de produção** – depósito. **Sala de lavagem de equipamentos e desinfecção.**

A área de limpeza está dividida em **área limpa (entrada) e área suja (saída)**. Área limpa contém fundamentalmente as salas de reprodução e de estoque de animais. Área suja envolve as áreas de higiene e administrativa. Os banheiros devem ser mantidos limpos diariamente, para não comprometer os demais compartimentos. A cozinha e o escritório, localizados em outro corredor ou outra extremidade.

B - Alojamentos dos animais de experimentação.

Gaiolas.

Para camundongos e ratos, geralmente usa-se gaiolas de polietileno, as quais são confortáveis para os animais, além de serem leves, de fácil limpeza e substituíveis. A tampa deverá ser em forma de grade, em metal e possuir um rebaixamento para o interior da gaiola para a facilidade de alimentação e o comedouro.

Para gaiolas de cobaias há necessidade de uma grade no interior da caixa de aproximadamente 2 (dois) cm de altura para que os animais não entrem em contato com as fezes.

População por Gaiola

Muitas espécies de animais, reagem adversamente por estarem sozinhas nas gaiolas e sentem falta do contato social, por exemplo, conseqüentemente estão privadas de limparem-se mutuamente, além de que poderá desencadear um padrão de comportamento estranho e complexo, influenciando a relação animais e homens.

Em outro contexto, deve-se ter cuidado de evitar a superpopulação, que poderá resultar em desconforto para o animal, aumentando desta maneira a quantidade de sujeira, como as fezes, a temperatura e a umidade dentro da gaiola, conseqüentemente em aumento do risco de possíveis doenças^{6,7}.

C – Cama.

As gaiolas são cobertas por uma camada de maravalha ou cepilho (raspa de madeira picada e peneirada). Esses produtos devem ser: inócuo, ou seja, não tóxico, livre de pedaços afiados ou sujeira, o que poderá levar a uma irritação para os animais, devido à absorção da urina, da água derramada e das fezes. Portanto faz-se necessário a limpeza diariamente dessas camas. Também é importante um isolante térmico para reduzir a condução do calor, proveniente do fundo da gaiola, para o animal.



Foto 1 - Cama dos Ratos. - Foto dos autores

Fatores importantes que deverão ser controlados, são as barreiras sanitárias, provenientes, de materiais utilizados na construção de biotérios, em relação aos equipamentos de filtração de ar, das autoclaves, dos produtos utilizados na desinfecção de camas, gaiolas e material cirúrgico, higiene do pesquisador, acadêmicos, funcionários, na utilização de Equipamentos de Proteção Individual - EPIs, Procedimento Operacional Padrão - POPs, pressão diferencial entre os ambientes.

2.2.3 Dieta e Hidratação.

A dieta dos animais é balanceada com ração específica, que deverá atender as necessidades alimentares destes e geralmente não necessita de suplementação. Quanto à hidratação, é importante lembrar que a qualidade da água deverá ser equivalente aos padrões da potável para humanos e esta é fornecida em bebedouros específicos e devem ser lavados diariamente.

2.2. 4 Eutanásia.

Entende-se por eutanásia, levar à morte um ser vivo, sem sofrimento físico, de acordo com Paul Flecknell, (2009)¹¹ as razões que podem levar à prática da eutanásia são as seguintes: animal submetido a experimento em número excessivo, velhos ou fora de padrão, gravemente ferido, sem possibilidades de reabilitação, fim da vida reprodutiva, colônia doente, ou parte de um projeto científico, em estado de contaminação por drogas.

É primordial, procurar um local adequado e longe da presença de outros animais, para praticar a eutanásia.

Prática da Eutanásia.

A prática da eutanásia é classificada em métodos: físicos e químicos.

A - Métodos físicos.

Métodos físicos, assim denominados, devido ao deslocamento cervical e atordoamento do animal. Discute-se neste método, o fator de levar à agressão e uma rápida dor ao animal, portanto deve-se optar pelos químicos.

B - Métodos químicos

B.1 Injeção de drogas: anestésicos, como o pentobarbital sódico, aonde a administração é intraperitoneal, sendo que em altas concentrações, acarreta uma inconsciência nos animais e conseqüentemente, poderá levar à morte.

B.2. Éter de petróleo, controlando a respiração, poderá utilizar o animal para outros experimentos, quando não for submetido à injeção de drogas¹².

¹¹FLECKNELL, Paul . **Laboratory Animal Anaesthesia**. 3 ed. British, Academic Press, 2009.

¹²Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Procedimentos e Métodos de Eutanásia, em animais**. Resolução nº 714, 2002. Diário Oficial da União-DOU, 21-06-2002. Disponível em URL: http://w.cfmv.org.br/legislacao/resolucoes/resolucao_714.htm.(29 maio 2007).

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

2.2.5 Tipos de População de Animais de Experimentação

Diferentes espécies de animais foram utilizados ao longo dos anos, antes da Era Cristã, com o objetivo de pesquisas nas áreas de Biotecnologia e da Tecnologia. Galeno (131-200 a.C), já utilizava porcos e macacos de Gibraltar, para as suas pesquisas Anatômicas e Fisiológicas. Galeno (131-200 a.C), já utilizava porcos e macacos de Gibraltar, para as suas pesquisas Anatômicas e Fisiológicas.

No século XIX foi a descoberta do hormônio insulina, em pesquisas com a urina de cães pancreatetomizados. Na seqüência, o coelho teve destaque de fundamental importância, para a descoberta da vacina anti-rábica e os grupos sanguíneos do sistema Rh foram resultados de experimentações, utilizando-se coelhos imunizados com hemácias do macaco Rhesus, produzindo então um soro anti-Rhesus.

2.2.6 Classificação¹³

Os animais podem ser classificados, segundo os grupos na dependência, no conhecimento e na forma de vida, nas modalidades de :

- a) convencionais - não protegidos por barreiras sanitárias, possuem flora indefinida;
- b) livres de patógenos específicos (SPF) - protegidos por barreiras sanitárias, não apresentam quaisquer microorganismos capazes de lhe introduzir doenças, mas apresentam microorganismos não patogênicos;
- c) gnotobióticos os que possuem forma de vida associada conhecida e protegida por barreiras sanitárias de extrema eficiência.

Roedores.

¹³¹⁰GOMES, Ana Yara Serrano. Aspectos farmacológicos e eletrofisiológicos da dessensibilização do íleo de cobaia a bradicinina. Repositório Institucional da Universidade Federal de São Paulo, 2002 (s:n), 108p.

Em relação aos roedores, seria quase impossível precisar exatamente em que época remota do passado, os pesquisadores começaram a utilizá-los em experimentos.

A – COBAIA – *Cavia* sp. (espécie porcellus, mais comumente (***Cavia porcellus***).



Foto 2 - books.scielo.org/id/sfwjt

¹⁰GOMES, Ana Yara Serrano. **Aspectos farmacológicos e eletrofisiológicos da dessensibilização do íleo de cobaia a bradicinina.** Repositório Institucional da Universidade Federal de São Paulo, 2002 (s:n), 108p.

A cobaia é a única espécie de animal de experimentação, de origem latino-americana, habilitando desde a América Central até o sul da Argentina, no entanto devido às rotas de navegação entre os continentes, Europeu e as Américas, estabeleceu-se uma verdadeira troca: os ratos chegaram às Américas e a cobaia atingiu o continente europeu.

Este animal não é muito utilizado, como os ratos, devido à irritabilidade que se apresenta ao serem tocados (manipulados), mas são de baixo custo, de fácil criação e manutenção em cativeiro.

Apesar de roedor, a cobaia não ingere qualquer alimento como o rato e o camundongo e em seu ambiente natural, alimenta-se exclusivamente de vegetais. Muitos pesquisadores, apesar da irritabilidade destes animais, procedem repetidas punções cardíacas para coleta de sangue e para administração de drogas, uma vez que são animais de excelência para pesquisas "in vitro". A exemplo do "íleo de cobaia", que é clássico e amplamente empregado em farmacologia, Apresentando um padrão de

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

eletrocardiograma, semelhante ao do homem, e a frequência cardíaca não é tão elevada, comparada a este.^{1411,12}

B – CAMUNDONGOS. *Gênero Mus sp. (espécie musculus, variedade albina).*



Foto 3 - www.biot.fm.usp.br

Estes animais já eram conhecidos pelo homem aproximadamente há 6.000 (seis mil) anos, disseminando-se do continente Asiático para o Europeu, antes de serem utilizados como pesquisa, mas somente no século XIX, foram introduzidos e considerados como um dos mais importantes animais de experimentação, devido às pesquisas sobre o câncer. Nessa época os pesquisadores utilizaram milhões de camundongos anuais.

Em 1909, Clarence Cook Little, foi o pioneiro da reprodução de linhagem geneticamente pura, a partir de um casal portador de mutações recessivas para genes responsáveis pela herança da cor da pelagem. A partir destas pesquisas foram desenvolvidas aproximadamente 400 diferentes variedades ou linhagens, específicas para cada tipo de pesquisa, como as farmacológicas, na investigação de efeitos tóxicos, e nas triagens de compostos químicos¹¹.

Os camundongos são prolíferos, pequenos, os adultos pesam cerca de 30-40 g, são dóceis, portanto muita facilidade de manipulação e manutenção. A audição e olfato

¹⁴LITTLE, Clarence Cook, **National Academy Of Sciences**, 1009; GODARD, Ana Lúcia Brunialti; GUÉNET, Jean-Louis. **Genética de camundongos – modelos animais de doenças humanas**. Biotecnol.Ciênc.Desenvol. 1999; 9:96-100; CHORILLI, Marlus; Michelin, Daniele; Salgado, Hérica. **Animais de laboratório: o camundongo**. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 28:11-23, 2007.

desenvolvidos, altamente sensíveis a barulhos agudos, visão pobre, porém incapazes de detectar cores, são excelentes para as pesquisas aonde há necessidade de observação durante o ciclo escuro.

São muito utilizados em experimentos nas áreas da imunológica e da patologia, além de fácil punção venosa e a intratecal (intracerebral), também, pode-se provocar fácil sangria pela punção do seio venoso orbital e nas as pesquisas farmacológicas para a investigação de efeitos tóxicos nas triagens de compostos químicos.¹³

C – COELHOS - gênero *Oryctolagus* sp. (*cuniculus*, mais comumente (***Oryctolagus cuniculus***))



Foto 4 - pt.wikipedia.org

O coelho originário da Península Ibérica, há muito tempo domesticado, foi uma das primeiras espécies utilizadas na experimentação biológica, nas importantes realizações científicas da vacina anti-rábica. O pesquisador francês Pasteur, em 1885, conseguiu atenuar uma amostra de vírus rábico e através de sucessivas inoculações, obtendo uma amostra de vírus atenuado e utilizou-o, como vacina pela primeira. É importante lembrar que este animal, foi citado, como importante fontes proteica animal, para alimentação humana no continente europeu.

Há muitos anos, esse animal foi classificado como pertencente à ordem dos roedores, pelo simples fato de possuir o hábito de roer, como os demais dessa espécie, possuindo as mesmas características.

A variedade albina é de fácil criação, especialmente a raça New Zealand, que atinge de 4 – 5 kg de peso corporal. Apesar de apresentar algumas dificuldades de manutenção em biotérios, pois é relativamente dispendiosa, é sensível à manipulação e pouco resistente às infecções. No entanto, essa variedade foi escolhida, devido ao seu

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

porte e de fácil criação, na utilização em experimentos por um grupo de pesquisadores da área cirúrgica, que desabonam a utilização de cães para este tipo cirúrgico. Entretanto, alguns pesquisadores são contra a utilização destes animais, uma vez que muitas pessoas, consomem este tipo de carne como alimento.

Há muitas raças, todas excelentes para estudos farmacológicos e imunológicos, além de ser um bom modelo experimental para estudos da aterosclerose. Drogas podem ser administradas por via oral, por meio de sonda gástrica ou na água de beber, bem como por outras vias. Injeções intravenosas podem ser realizadas com facilidade na veia marginal da orelha, pela qual também pode-se colher facilmente amostras de sangue para diferentes análises. O método não é muito utilizado para estudos do aparelho cardiovascular¹⁵.

D – HAMSTER. (*família Cricetidae*).



Foto 5 - <http://kingofwallpapers.com/>

Segundo a literatura é provavelmente, o mais novo animal de utilização experimental, do século XIX, sendo que em 1839, Sir George Waterhouse, naturalista inglês, classificou-o como procedente da cidade de Alepo - Síria. Posteriormente, em 1930, Aharoni, da Universidade Hebraica de Jerusalém, capturou uma ninhada de hamster nessa mesma região, e desenvolveu uma boa reprodução em biotério. A partir destes descendentes, houve a entrada destes animais, primeiramente para a Inglaterra e posteriormente para os demais países Europeus.

¹⁵OLIVEIRA, Rita de Cássia, *et al.* Extratos metanólico e acetato de etila de *Solanum megalonyx* Sendtn. (Solanaceae) apresentam atividade espasmolítica em íleo isolado de cobaia: um estudo comparativo. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 16(2): 146-151, Abr./Jun. 2006

Devido as suas características imunogenéticas, tem sido utilizado em pesquisas de tumores, parasitas, vírus, bactérias e em condições ambientais apropriadas, permite as pesquisas fisiológicas, em baixas temperaturas, sendo que as principais Zoonoses, encontram-se : leptospirose, salmonelose, micoplasmose e a raiva.¹⁶

Outro fator importante, é que possuem dentes em forma e oclusão de molares semelhantes aos dos humanos, assim, pode-se induzir lesões sem fraturas, sendo portanto, um animal de excelência para estudos da aterosclerose, comparando-se, aos coelhos e os camundongos

E – RATOS (*Rattus norvegicus*). - gênero *Rattus* sp. (espécie *norvegicus*, variedade albina).



Foto 6 - www.curiosomundo.com.br

As primeiras citações científicas sobre a utilização de ratos, datam de aproximadamente 300 anos, quando estes migraram com caravanas comerciais das geladas regiões nórdicas, chegando ao continente Europeu, aonde foram responsabilizados por inúmeras pragas (doenças da época) e a seguir para as Américas da mesma forma, com passageiros clandestinos em navegações transoceânicas. O adulto possui o corpo robusto com 18 a 25 cm de comprimento, podendo pesar até 250 a 600 gramas, dependendo da espécie e os pelos ásperos, orelhas pequenas e arredondadas, olhos pequenos em relação a cabeça, as patas

¹⁶SHIOHARA. Tetsuo, HAYAKAWA, Juan; MYZUKAWA, Yoshiko **Animal models for atopic dermatitis: are They relevant to human disease?** Journal of Dermatol Science 2004; 36 (1):1-9.

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

apresentam calos lisos e membranas interdigitais, com cauda grossa e peluda, medindo 15 a 21 cm.

É maior que o camundongo, com tamanho bastante satisfatório para grande multiplicidade de estudos, de baixo custo e de fácil manejo e acomodação em laboratórios e biotérios, apresentando grande resistência às infecções, sendo classificado, em excelência para pesquisa experimental.

Em experimentações cardiovasculares, permite a facilidade de obtenção direta em registro da pressão arterial sistêmica, vias artérias femoral, carótida comum, administração de drogas, mesmo no animal acordado, pelas veias da cauda e peniana ou por via peritoneal e no animal anestesiado, pela veia jugular.¹⁷

A maioria dos tecidos se constituem em excelentes preparações farmacológicas para pesquisas "in vitro", além de proporcionar modelos experimentais de muitas patologias do homem. No entanto, como apresenta eletrocardiograma de difícil interpretação patológica, devido à sua peculiar morfologia e alta frequência cardíaca, quando analisado isoladamente, isto é de forma não seriada, há necessidade de atenção minuciosa para a liberação de resultados.

Mamíferos

A - CÃO - gênero *Canis* sp. (espécie familiaris, com inúmeras raças).



Foto 7 - virgula.uol.com.br

Este animal, também denominado de cachorro, é uma mamífero, canide. Apesar do alto custo, da dificuldade de manutenção e do elevado risco de utilização, é

¹⁷JACKSON, Christopher *et al.* **Assessment of Unstable Atherosclerosis in Mice.** Am H Assoc. 2007; 27(4): 714-720; ¹⁷HOFF, Janet. **Methods of blood collection in de mouse.** Lab.Animal. 2000; 29(10):47-53; RIBEIRO, Sandra Maria Lima, CAMPOS, Patrícia , TIRAPÉGUI Júlio. **O rato como animal de laboratório: historio, dados biológicos e análise crítica de seu uso.** Rev.Farm. Bioquim. Universidade .São Paulo, 1995; 31(1):21-8.

muito empregado em pesquisa experimental na área da fisiologia, tanto no estado de vigília quanto anestesiado, particularmente como preparação aguda e crônica para estudos do aparelho cardiovascular, com ou sem instrumentação permanentemente implantado, a exemplo de cateteres vasculares e intracardíacos.¹⁸

Como é um animal muito sensível emocionalmente, poderá comprometer experimentos mal controlado, principalmente em estado de vigília.

Apresenta comumente ao eletrocardiograma, importante arritmia sinusal, bradicardia, bloqueios átrio-ventriculares de graus variados e extrassistolia supra ventricular e ventricular, de base essencialmente funcional, por modificações da atividade autonômica cardíaca, geralmente hiperatividade parassimpática.

B - Gato - gênero *Félix sp.* (espécie *catus*, mais comumente), sendo o doméstico, um animal da família dos felídeos (*Felis sylvestris catus*).



Foto 8 - www.ninha.bio.br

É um mamífero carnívoro, apesar de ser de difícil manejo, pela característica de defesa, em morder e agredir com as patas providas de fortes e cortantes unhas, levando à sua manipulação para uma atenção cuidadosa, evitando-se à síntese de doenças, desencadeadas por arranhadura deste animal.

Um característica interessante, é a presença de uma membrana nictitante, localizada na terceira pálpebra, (uma dobra da conjuntiva.), nos olhos, que por sua inervação autonômica, classifica-se de valiosa contribuição para as pesquisas nas áreas anatômicas e fisiológicas do sistema nervoso central, no contexto dos estudos de drogas de efeito neural.

¹⁸*The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*, 7.ed. Volume1. British, Blackwell Science, 2006. p.282-312.

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

Em pesquisas farmacológicas, tanto no estado de vigília quanto no anestesiado, a preparação é denominada de “animal espinhal” (animal com a medula seccionada) e também para a padronização de drogas que atuam sobre a pressão arterial e para estudos neurofisiológicos.¹⁹

C - Macaco –Macaca mulatta (*Macaco Rhesus*).



Foto 9 - www.lookfordiagnosis.com

Há vários gêneros e espécies empregados, além dos chipazes, sendo animais de alto custo e de difícil aquisição e manutenção, geralmente importados de outros países.

Gêneros e espécies são empregados, além dos chipazes, diferentes "micos" do gênero *Cebus* (espécie cirifer e outras) para a avaliação de drogas de uso terapêutico no homem.

Alguns dados fisiológico em diferentes espécies destes animais, como volume sanguíneo, médio e total, em porcentagem do peso corporal em vida, segundo o método de Welcker, são importantes para a avaliação de resultados.

2.2.5 Tipos de População de Animais de Experimentação -Vertebrados pecilotérmicos

Animais de sangue frio, portanto ajusta-se à temperatura do meio ambiente, geralmente utilizados para as pesquisa nas áreas Fisiológica e Farmacológica.

A - Vertebrados pecilotérmicos. Batráquios.

Não possuem a capacidade de regular e manter a temperatura corporal em níveis constantes, uma vez que adapta-se, àquela do meio ambiente. São oferecidos a

¹⁹DUKES, Horácio Haroldo. **Fisiologia de los animales domésticos**. Ed Aguilar, Madrid, págs. 134, 166, 1960.

pesquisa em partes, ou tecidos isolados à temperatura ambiental, ou ainda pode-se utilizá-lo inteiro. Os animais mais comuns desse grupo são os batráquios.

Sapos - gênero *Bufo* sp.(espécies *marinus*, *arenarum*, *americanus*, *paracnemis*, *vulgaris* e outras espécies encontradas em diferentes regiões do país)



Foto 10 - www.ufrgs.br

Rãs - gênero *Leptodactylus* sp.(espécies *ocellatus*, *pentadactylus* e outras espécies), gênero *Rana* e outros gêneros. Em certas regiões do país existem criadouros comerciais de *Rana catesbeiana* (rã touro), que pode atingir proporções gigantescas, com mais de 1 kg de peso corporal.



Foto 11 - www.ruralnews.com.br

As rãs são dotadas de pele repleta de glândulas mucosas, o que leva o animal a tornar-se escorregadio e de difícil contenção manual, não possuem glândulas paratóides e vivem grande parte do tempo imersas e desovam em águas límpidas e correntes. Porém os machos desses dois batráquios, possuem os membros anteriores muito desenvolvidos, musculosos e com calosidades negras nos dedos, característica que auxilia na contenção da fêmea durante o período de inseminação dos ovos.

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

Os batráquios podem ser alimentados artificialmente com iscas de fígado, mas normalmente caçam insetos atraídos por foco de luz, aceso durante a noite.

Cuidados especiais, são necessários para remover todos os íons tóxicos, especialmente zinco dos ranários artificiais, portanto a água deverá ser filtrada por camada de argila absorvente e carvão ativado. Drogas podem ser ministradas aos batráquios por varias vias, como a digestiva, muscular ou subcutânea. Neste último caso, deve-se ter atenção e cuidados especiais, para evitar o refluxo do líquido na pele, pouco elástica, proveniente do orifício deixado pela agulha.

Os sapos se distinguem das rãs, de modo prático, pela peculiar textura espessa da pele seca, vivem fora da água, não possui glândulas mucosas, mas possuem grandes glândulas paratóides (parótidas), que situam-se à flor da pele, logo atrás dos tímpanos, que secretam veneno rico em adrenalina. As formas larvárias, denominadas de girinos, não possuem membros, mas contém uma nadadeira muito longa. Durante a metamorfose, que depende da secreção de hormônio tireoidiano, a nadadeira é reabsorvida, os membros eclodem, ao mesmo tempo em que o animal transfere-se, da vida aquática para a terrestre (forma pulmonada).

B - Vertebrados homeotérmicos.



Foto 12 - www.flickr.com

Pombo - gênero *Columba* sp. (espécie domestica, mais comumente).

Animais de sexagem individual difícil e de complexo comportamento parental, uma vez que os machos e as fêmeas possuem hipertermia ao nível da pele, característica esocífica para chocar os ovo.

São impropriamente denominados de animais de sangue quente, ao contrário dos batráquios, possuem a capacidade de regular e manter a temperatura corporal em

níveis constantes, mesmo independentemente da temperatura ambiental. Requerem necessidade de cuidados especiais em laboratório ou em biotério, para a manutenção constância da temperatura corporal, na padronização dos estreitos limites, em pesquisas de órgãos ou tecidos isolados "in vitro".

Ambos alimentam os filhotes pelo vômito da secreção da glândula do papo (englúvia). Existem espécies pequenas, como a "coleira" (ring dove), com menos de 100-150g, e gigantes como o denominado pombo "correio", que poderá atingir o dobro em gramas. São considerados animais excelentes para aplicação de drogas, as quais podem ser injetadas no desenvolvido músculo peitoral, subcutâneo, no dorso e na veia da asa.

Galo, Galinha e Pintainhos - gênero Gallus sp. (espécie gallus).

Estes animais são particularmente utilizados por inteiro, para teste da ação de hormônios androgênicos ou em tecidos e órgãos isolados, como o ceco (primeira porção do intestino grosso).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

A utilização de animais de experimentação aliados às pesquisas em humanos, contemplam o entendimento e a segurança para o desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas, na clínica médica, em vários processos bioquímicos, fisiológicos, farmacológicos, neurológicos e patológicos de grande avanço científico. Quanto estuda-se, material biológico, devido à integridade física, o pesquisador deverá apoiar-se primeiramente em um plano piloto, treinamento da técnica, avaliação genética, nutricional, isenção de contaminações segundo a legislação e a ética. Imprescindível visualizar todos os cuidados da rotina de trabalho, com a promoção do bem estar dos animais e da equipe de pesquisadores, técnicos e pessoal de apoio, para a prevenção de doenças patogênicas.

Com técnicas especiais, consegue-se obter animais livres de formas de vida associados aos vírus, fungos e bactérias, portanto, quanto mais eficientes forem as barreiras sanitárias, menores serão as chances de contaminação dos animais de experimentação.

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

Outro fator importante é o treinamento do pessoal técnico do biotério, na utilização dos IPI's, material cirúrgico descartável, limpeza das camas, gaiolas, canis, bem como a verificação da presença de punhos elastizados, (com elástico) de acordo com a necessidade de proteção contra a contaminação de piolhos, carrapatos e pulgas. Indispensáveis são os protetores de olhos na utilização de visor de policarbonato com ajuste facial, além da verificação do bloqueio para o acesso de aerossóis e a avaliação da especificação técnica para a determinação do grau de proteção.

Fator importante é o respirador, que houve uma mudança na nomenclatura e no certificação dos filtros utilizados, com a denominação atual de N-100(9.97), equivalente ao filtro HEPA. Estes são recomendado para os profissionais que trabalham com roedores, principalmente, os reservatórios de áreas de vírus (zoonose, ante vírus e emergente, causados por roedores contaminados pelo vírus Sin Nombre (hantavírus⁹). Estes equipamentos deverão estar em conformidade com a norma 42CFR84 (EU). Marca : 3M do Brasil.

Em relação os animais, a maioria dos autores documentam o cão, na utilização de cirurgia médica, devido à facilidade de estudos anatômicos¹⁹. Resultados indicam que este animal, é o objeto de inúmeros movimentos das organizações civis, em especial das Sociedades Protetora dos Animais. Essencial que os pesquisadores, obedeçam rigorosamente as mesmas condições determinadas pela Cirurgia em Seres Humanos, isto é praticada, com ausência da dor e de conforto em todas as etapas do ato cirúrgico e quando necessário, proceder a internação em hospital para cães.

Em relação aos resultados para a utilização de coelhos, são muitas as características positivas que levaram este animal e os demais roedores mencionados nesta documentação, a serem considerados espécies convencionais de laboratório. Existem muitas diferenças entre os animais de laboratório atualmente mantidos nos biotérios e aqueles roedores ou coelhos inicialmente utilizados há muitos séculos atrás. Obviamente, não se criou nenhuma espécie nova, porém alterações induzidas nos animais de laboratório ao longo dos séculos foram radicais, para a obtenção de resultados dentro do padrão de resultados satisfatórios e seguros

Quanto aos macacos, este tipo de animais, são geralmente utilizados com restrição em pesquisas nas áreas da psicologia comportamental, neurofisiologia e

doenças infecciosas. Além de que, necessitam de biotérios altamente especializados e de pessoal técnico especialmente treinado para a sua manipulação.

4 CONCLUSÃO

Devido às questões mundiais econômicas e à necessidade de inúmeras pesquisas, principalmente na área da saúde, levou a maioria dos pesquisadores a utilizarem animais de experimentação na procura de novos fármacos, da cura de doenças, no aprimoramento de novas e avançadas técnicas.

Apesar da evolução de novos métodos alternativos nas últimas décadas, como: "*in vitro*", cultura de células, fertilização, células tronco, ainda a utilização de diferentes animais, faz-se necessário, mas sempre posicionando-se no menor número possível de exemplares. A escolha do rato, para a maioria dos experimentos, caracteriza-se pelo entendimento que este possui sua anatomia semelhante ao ser, além de estabelecer um menor índice de contaminação, do que o homem.

A cura de inúmeras doenças, atribui-se ainda de uma forma mundial, às altas pesquisas em animais de laboratório, priorizando-se, desde os primeiros testes pilotos,, para não perder-se, tempo dinheiro e um elevado número de animais, decorrente de um projeto mal planejado.

A maioria das doenças que possam ocorrer com os animais utilizados, grande parte são doenças subclínicas, evidenciando-se apenas em casos de desequilíbrio extremo, possivelmente da relação dos técnicos de laboratório com estes animais.

É pertinente, neste momento mencionar a importância do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, órgão integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia, de caráter normativo, consultivo, deliberativo e recursal. Entre as inúmeras competências da CONCEA, encontram-se a formulação de normas relativas à utilização humanitária de animais, com a finalidade de ensino acadêmico e pesquisas científicas. Estabelece também, procedimentos para a instalação e funcionamento de biotérios e de laboratórios de experimentação animal. O conselho é responsável pelo credenciamento das instituições que desenvolvem pesquisas nesta área, administrando ainda, o cadastro de protocolos experimentais ou pedagógicos,

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

pertinentes ao ensino e projetos de pesquisas científicas realizadas ou em procedimentos no País. Este informa ainda que no dia 26 de novembro de 2014, a Resolução Normativa nº 19/14, regula e fiscaliza as instituições públicas, e privadas, que realizam experimentos com animais vivos, em atividades de ensino, extensão, capacitação, treinamento, transferência de tecnologia, ou ainda de atividade didática.

Espera-se que a presente documentação e os conceitos evidenciados, possam lembrar e auxiliar os pesquisadores, envolvidos em experimentos com utilização de animais, a produzirem pesquisas científicas, em prol da comunidade. É indispensável, o posicionamento em técnicas específicas, na produção de resultados confiáveis, no contexto na bioética e das normas de biossegurança, contemplando a exigência de complexidade e especificidade, que o tema aborda.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, Antenor. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Organizado por Antenor Andrade, Sérgio Correia Pinto e Rosilene Santos de Oliveira, Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002.387p.
- BERNARD, Claude. **An Introduction to the Study of Experimental Medicine**. University Collage, London Library Services,1865.
- CHORILLI, Marlus; Michelin, Daniele; Salgado, Hérída. **Animais de laboratório: o camundongo**. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 28:11-23, 2007.
- Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Procedimentos e Métodos de Eutanásia, em animais**. Resolução nº 714, 2002. Diário Oficial da União-DOU, 21-06-2002. Disponível em URL: http://w.cfmv.org.br/legislacao/resolucoes/resolucao_714.htm.(29 maio 2007).
- DUKES, Horácio Haroldo. **Fisiologia de los animales domésticos**. Ed Aguilar, Madrid, pags. 134, 166, 1960.
- FLECKNELL, Paul . **Laboratory Animal Anaesthesia**. 3 ed. British, Academic Press, 2009.
- FURUKAWA, Fukumi. **Photosensitivity in cutaneous lupu erythematosus: lessons from mice and men**. J. Dermatol Sci. 2002; 3:81-9.
- GODARD, Ana Lúcia Brunialti; GUÉNET, Jean-Louis. **Genética de camundongos – modelos animais de doenças humanas**. Biotecnol.Ciênc.Desenvol. 1999; 9:96-100.
- GOMES, Ana Yara Serrano. **Aspectos farmacológicos e eletrofisiológicos da dessensibilização do íleo de cobaia a bradicinina**. Repositório Institucional da Universidade Federal de São Paulo, 2002 (s:n), 108p
- HIRATA, Mário Hiroyuki; FILHO, Jorge Mancini. **Manual de Biossegurança**. 1ª ed. Editora Manole – São Paulo. 2002.
- HOFF, Janet. Methods of blood collection in de mouse. Lab.Animal. 2000; 29(10):47-53.
- JACKSON, Christopher *et al*. **Assessment of Unstable Atherosclerosis in Mice**. Am. H. Assoc. 2007; 27(4): 714-720.
- LITTLE, Clarence Cook, **National Academy Of Sciences**, 1009
- MAJEROWICZ, Joel. **Boas Práticas em Biotérios - Biossegurança**. Editora Interciência. Rio de janeiro, 2008. 175p.

Considerações Gerais Sobre Construção e Manutenção de um Biotério Com Animais de Experimentação

MOLINARO Etelcia Morais, Majerowicz Joel. **Biossegurança em Biotérios**. Editora Interciência: 2008, Editora Interciência: Rio de Janeiro. 176p

National Research Council. **Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório**. Edição em português – AAALAC e COBEA – Goiânia, 2003.

OLIVEIRA, Rita de Cássia, *et al.* **Extratos metanólico e acetato de etila de Solanum megalonyx Sendtn. (Solanaceae) apresentam atividade espasmolítica em óleo isolado de cobaia: um estudo comparativo**. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 16(2): 146-151, Abr./Jun. 2006.

RIBEIRO, Sandra Maria Lima, CAMPOS, Patrícia , TIRAPEGUI Júlio. O rato como animal de laboratório: historio, dados biológicos e análise crítica de seu uso. Rev.Farm. Bioquim. Universidade .São Paulo, 1995; 31(1):21-8.

SHIOHARA. Tetsuo, HAYAKAWA, Juan; MYZUKAWA, Yoshiko Animal models for atopic dermatitis: are They relevant to human disease? Journal of Dermatol Science 2004; 36 (1):1-9.

SINGER, Peter. Libertação Animal. Editora Lugano., 2004.

The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, 7.ed. Volume1. British, Blackwell Science, 2006. p.282-312.