

REFINAMENTO NA MANIPULAÇÃO DE RATOS WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS ALBINUS*) NA ROTINA DA INSTALAÇÃO DE CIÊNCIA ANIMAL DO UNIFESO

REFINING IN THE MANIPULATION OF WISTAR RATS (RATTUS NORVEGICUS ALBINUS) IN THE ROUTE OF THE UNIFESO ANIMAL SCIENCE INSTALLATION

Raquel G de Andrade¹; Maria Eduarda M Silva²; Daniela MV Ferrer²; Valéria Cristina L Marques³

RESUMO

A ciência de animais de laboratório surgiu no ano de 1950. A linhagem wistar do *Rattus norvegicus* albinos é amplamente usada nas pesquisas, devido a suas características distintas. Nesse sentido, torna-se importante o conhecimento do seu comportamento natural, assim, pesquisadores de todo o mundo se empenham em propor um ambiente similar ao dessa espécie, dentro das Instalações em Ciência Animal. O Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) estabeleceu regras para garantir o controle e uso racional de biomodelos no desenvolvimento científico. O princípio que norteia os centros de criação e pesquisa com animais de laboratório é o dos 3 R's de Russel e Burch (1959), que preconiza a redução do número amostral, a substituição e o refinamento na criação dos biomodelos, bem como no desenvolvimento do estudo. A fim de garantir o bem-estar desses animais, é importante a qualificação dos profissionais da área para manter o funcionamento dessas diretrizes, fazendo-se necessário o ensino de boas práticas e ética em uso de animais desde a formação em diante. O presente trabalho mostrou a rotina do estagiário da graduação em Medicina Veterinária na Instalação em Ciência Animal do UNIFESO, além dos resultados da prática do refinamento durante o manejo dos animais. Observou-se a importância dessa aplicabilidade na formação profissional e a melhoria no comportamento desses roedores, visto que o médico veterinário é o profissional capacitado para atuar e zelar pelas condições sanitárias e pelo bem-estar dos animais mantidos na instalação.

Palavras-chave: Wistar. Refinamento. Manejo. Animais de laboratório.

ABSTRACT

The science of laboratory animals appeared in the year 1950. The wistar lineage of *Rattus norvegicus* albinos is widely used in research, due to its distinct characteristics. In this sense, it becomes important the knowledge of its natural behavior, thus, researchers from all over the world strive to propose an environment similar to that of this species, within the Animal Science Facilities. The National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA) has established rules to ensure the control and rational use of biomodels in scientific development. The principle that guides the breeding and research centers with laboratory animals is the 3 R's of Russel and Burch (1959), which recommends the reduction of the sample number, the substitution and refinement in the breeding of the biomodels, as well as in the development of the study. In order to ensure the welfare of these animals, it is important the qualification of professionals in the area to maintain the operation of these guidelines, making necessary the teaching of good practices and ethics in the use of animals from the formation onwards. The present work showed the routine of the trainee of Veterinary Medicine at the Animal Science Facility of UNIFESO, in addition to the results of the practice of refinement during the handling of animals. It was observed the importance of this applicability in professional training and improvement in the behavior of these rodents, since the veterinarian is the professional trained to act and watch over the sanitary conditions and welfare of animals kept in the facility.

Keywords: Wistar. Refinement. Management. Laboratory animals.

INTRODUÇÃO:

Foram realizadas todas as atividades rotineiras do ambiente de criação dos ratos da linhagem Wistar,

respeitando a ética do bem-estar dos animais e exigências da Instalação tendo como base a Resolução Normativa 32 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) que publicou, em 2013, a DBCA (Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos), a qual tem por finalidade “apresentar

¹ Discente do curso de Medicina Veterinária no UNIFESO – andradevet21@gmail.com

² Docente do curso de Medicina Veterinária do UNIFESO – mariaeduardasilva@unifeso.edu.br

³ Técnica da Instalação em Ciência Animal/UNIFESO - valeriamarques@unifeso.edu.br

princípios de condutas que permitam garantir o cuidado e o manejo éticos de animais utilizados para fins científicos ou didáticos” (1). Estudos mostram que o *Rattus norvegicus* foi a primeira espécie mamífera a ser utilizada na experimentação laboratorial. Daí em diante, os ratos assumiram destaque na pesquisa sobre fisiologia, farmacologia, genética, cardiologia, bioquímica, e diversas áreas que contribuem para o desenvolvimento da ciência (2,3). Os *Rattus norvegicus albinos*, da linhagem Wistar, são um dos principais biomodelos utilizados nas pesquisas de cunho científico (figura 1), devido sua facilidade de adaptação ambiental, nível de inteligência e padrão comportamental entre os indivíduos. Os ratos, em seu habitat natural, vivem de forma livre, relacionando-se com a natureza de maneira independente, tendo contato com outros de sua espécie, buscando seu próprio alimento, escavando e construindo túneis para se esconder, materiais para entreter e sobrevivendo aos estímulos do ambiente (4). Esses animais costumam se alimentar durante a noite, período em que apresentam sua maior atividade. Já no período diurno, os ratos em seu ambiente natural passam a maior parte do tempo inativos, dormindo dentro de esconderijos geralmente criados por eles mesmos. Tem comportamento dócil, vivendo em comunidade, desenvolvendo papel hierárquico de dominado ou dominante. São animais inteligentes e também apresentam taxas de reprodução elevada (3). Ao serem acondicionados a um ambiente como a Instalação de Ciência Animal, os animais tendem a apresentar alterações nos parâmetros fisiológicos e comportamentais, podendo gerar transtornos emocionais como estresse e ansiedade. Sabendo disso, torna-se necessário o condicionamento similar ao da natureza, para expressarem seus comportamentos como de explorar, se esconder e construir tocas. Para isso, os Biotérios devem regular a temperatura do ambiente, umidade, iluminação, sonorização e oferecer artificios para atividades desses animais, como materiais para construção de ninhos e alojamento grupal (4). Com o objetivo de reduzir o número de animais em pesquisa e no ensino, tem-se buscado métodos alternativos que ofereçam resultados válidos. Como consta na DBCA, é de responsabilidade da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) aprovar ou não a utilização de biomodelos em determinados projetos submetidos, garantindo a acessão dos princípios de substituição, redução e refinamento em tal pesquisa. No mesmo documento, é destacado o dever do usuário em acatar todas as normas, Leis e princípios que conduzem o comportamento ético deste que pretende envolver animais em sua pesquisa, sendo cabível à

CEUA atentar para essa prática (1). Tendo em vista a importância da manutenção dos parâmetros de vida dos animais de experimentação, zelando pelo direito de bem-estar, bem como pelo sucesso das pesquisas científicas, foi criado, pelos cientistas William M. S. Russell e Rex L. Burch no ano de 1959, o princípio dos 3 Rs (Replacement, Reduction, and Refinement) (figura 2). Traduzido do inglês “*replacemete*”, a substituição visa recolocar modelos inanimados nas pesquisas experimentais, como alternativa ao uso de animais vivos. Porém, as alternativas não são capazes de erradicar a utilização de animais em laboratório, tendo como exemplo pesquisas que abordam temas como dor, ação farmacológica e cirurgia empírica (5). o princípio da redução “*reduction*” tem como objetivo sintetizar o número de modelos utilizados nos ensaios mantendo apenas o suficiente para fornecer dados expressivos. O histórico sanitário e genético dos animais de laboratório permitiu a diminuição de animais utilizados, a partir do conhecimento desses estados e de como fazer uso racional desses modelos (5). O terceiro conceito mencionado pelo Princípio Humanitário da Experimentação Animal é o “*refinement*” que, traduz-se como aprimoramento, visa estabelecer métodos menos invasivos na pesquisa, minimizando o desconforto e dor do animal em questão (5).

OBJETIVOS:

Esse trabalho tem o intuito de relatar a técnica de refinamento aplicada à rotina de manejo dos animais dentro da Instalação de Ciência Animal, mostrando a diferença entre o método empregado anteriormente e o procedimento proposto para o manuseio desses roedores, bem como o desempenho e mudança de comportamento dos mesmos, após a aplicação da técnica.

METODOLOGIA:

Todas as segundas-feiras pela manhã, feita a paramentação pessoal e assim iniciavam as trocas de caixas dos animais (figura 3), uma a uma, os animais eram passados para uma nova caixa contendo maravalha limpa e esterilizada, trocava-se a identificação daquela caixa e a caixa limpa com os animais era posta na prateleira previamente higienizada com álcool 70%. O material sujo das caixas trocadas era descartado na lixeira para resíduo infectante e estas separadas para posterior lavagem, junto com as mamadeiras. Era feita a reposição de mamadeiras limpas contendo água fresca e reposição de ração. Feito

isso, o ambiente era limpo com álcool 70% e a atividade seguia para a sala de limpeza. Na lavanderia, as caixas sujas que foram trocadas eram lavadas, primeiro com detergente e deixadas de molho com solução diluída de cloro. As mamadeiras sujas foram esfregadas com escova e água pura para evitar a permanência de algum resíduo químico. Feito isso, os materiais eram encaminhados para o processo de autoclavagem. Nas quartas-feiras pela manhã era realizada apenas a manutenção das gaiolas, reposição de água fresca e ração. Caso fosse observada alguma alteração comportamental ou física dos animais, era relatado ao Médico Veterinário responsável, para avaliação das possíveis causas, apresentar soluções e medidas sugeridas pelo mesmo. Durante a rotina de troca de caixas, os animais eram manipulados pela cauda, o que de acordo com a literatura, gera agitação e desconforto, além de alertar os demais ratos da caixa, que se esquivavam no tratador. A euforia causada por essa técnica de manipulação, além de dificultar o trabalho, aumentava o risco de acidentes como queda de animais, torção da cauda e queda da grade por exemplo. Com o intuito de facilitar e proporcionar maior conforto aos animais durante a troca

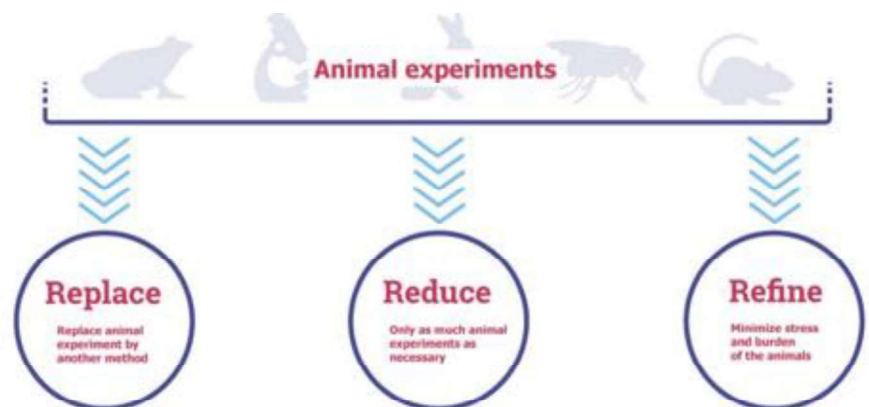
das caixas foi adotado um novo método de transporte destes para a nova caixa. Observou-se que após a passagem do primeiro rato para a outra caixa, os demais daquele grupo o procuravam, subiam na grade, ficavam observando o outro lado. A partir disso, foram criados estímulos para que esses animais pulassem para a caixa limpa, são eles: transporte pelo tubo de papelão utilizado pelos mesmos para brincadeiras e esconderijo, e através da “mão de concha” feita pelo tratador, para que o animal tivesse impulso para trocar de caixa. Um por um, foram se adaptando a esse movimento. Esse estímulo foi realizado com todos os animais da Instalação, tanto dos mais jovens, quanto dos mais adultos que já haviam sido manipulados pela cauda. Com o tempo e repetições semanais desse manejo, os animais se habituaram com o movimento até chegar ao ponto de abrir a grade, e todos pularem automaticamente para a caixa com conteúdo esterilizado. O emprego dessa nova técnica facilitou o trabalho dos tratadores e também reduziu o estresse causado nos ratos durante a rotina dos mesmos.

Figura 1- *Rattus norvegicus albinus*



Fonte: arquivo pessoal, 2020.

Figura 2 – O princípio dos 3 R's de Russel e Burch (1959)



Fonte: Adaptado de UZH, University of Zurich, 2018.

Figura 3 – Troca das caixas dos animais



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

DISCUSSÃO:

O laboratório em que foi realizado o estágio dispunha de insumos para enriquecimento ambiental, em consonância com Gozzer et al. (4), em que se preza pela similaridade do ambiente acondicionado e a oferta de materiais para aprimorar a rotina do animal. Respeitando a boa convivência social e períodos de maturação sexual em que são observadas alterações comportamentais, cada caixa possui no máximo quatro indivíduos, do mesmo sexo, exceto em períodos de amamentação e acasalamento, o que concorda com Bonfim et al. (3) em relação ao comportamento social e hierárquicos dessa espécie. Os animais mantidos na Instalação são devidamente registrados pela CEUA e os projetos de pesquisa são submetidos à avaliação da comissão local para aprovação ou não, conforme publicado por Brasil (1) que atribui à Comissão de Ética no Uso de Animais a responsabilidade de aprovar ou não os projetos envolvendo modelos vivos. Foi desenvolvida uma nova técnica de manipulação dos animais, no momento de troca das caixas, visando minimizar o desconforto e estresse dos indivíduos. Os animais, antes manuseados pela cauda, foram habituados a pular de uma caixa para a outra, Isso está de acordo com o que foi escrito em Rivera (5) que diz respeito à aplicação dos princípios de redução, substituição e refinamento em todo processo que envolve o acondicionamento de animais em laboratórios.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O estudo observacional revela a importância do aprimoramento das técnicas já empregadas durante a rotina de manejo de animais em laboratório. O método de refinamento adotado reflete na diminuição de acidentes que envolve tanto os animais quanto o profissional, durante o procedimento. Além disso, a redução do contato físico com os animais evidencia um melhor desempenho dos mesmos, minimiza o estresse e as alterações comportamentais dos animais. Conclui-se, a partir disso, que o estudo realizado atende ao princípio proposto para as Instalações de Ciência Animal, que é o zelo pela qualidade de vida dos biomodelos e qualidade das pesquisas científicas. É importante o ensino dessa disciplina para os alunos da Medicina Veterinária, visto que a responsabilidade técnica das Instalações de Ciência Animal é restrita a esses profissionais, que devem receber conhecimentos éticos, técnicos e humanitários desde a graduação.

AGRADECIMENTOS:

Expresso aqui minha gratidão ao UNIFESO, instituição que preza pela qualidade do ensino e que tornou possível a realização desse trabalho desenvolvido na Instalação de Ciência Animal inserida no *Campus Quinta do Paraíso*.

REFERÊNCIAS:

Brasil. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Resolução nº12 de 20 de setembro de 2013. Baixa a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos - DBCA. Diário Oficial da União, Brasília, 25 de setembro de 2013. Seção 1, p.52.

Kuramoto T, Nakanish S, Ochiai M, Nakagama H, Voigt B, Serikawa T. Origins of Albino and Hooded Rats: Implications from Molecular Genetic Analysis across Modern Laboratory Rat Strains. PloS one, 2012.

Bonfim ACA, Filho ADM, Nascimento DPC, Costa MFK, Gonçalves CC. Princípios Básicos de Pesquisa com Animais de Laboratório. [acesso 29 maio

2020]. Disponível: <<http://repositorio.asces.edu.br/bitstream/123456789/2008/1/nut.%20experimental-%20principios%20basicos%20de%20pesquisa%20com%20animais%20de%20laborat%C3%B3rio.pdf>>

Gozzer P, Andrade E, Belotto PCP, Silva BFG, Mascarin AAL, Silva CA. Comportamento de ratos Wistar: importância do enriquecimento ambiental. [acesso 17 mar 2020]. Disponível: <<https://www.metodista.br/revistas/revistas-unimep/index.php/sr/article/view/3734/2190>>

Rivera EAB. Ética na Experimentação Animal. Animais de Laboratório: criação e experimentação. 2006; 25-28.