

# GUIA

## BRASILEIRO DE PRODUÇÃO, MANUTENÇÃO OU UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM ATIVIDADES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA

### FASCÍCULO **4**

#### PRIMATAS NÃO HUMANOS MANTIDOS EM INSTALAÇÕES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA

1ª Edição

Brasília, 20 de abril de 2016

**MINISTRO DE ESTADO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO**

**SECRETÁRIA-EXECUTIVA DO MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO**

EMÍLIA MARIA SILVA RIBEIRO CURI

# **CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**

## ***PRESIDENTE***

MINISTRO DE ESTADO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

## ***COORDENADORA***

MONICA L. ANDERSEN

## ***CONSELHEIROS:***

### **I – Representantes do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação:**

Monica L. Andersen – Titular

Renata Mazaro e Costa – Suplente

### **II – Representantes do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico:**

Kátia de Angelis – Titular

Luisa Maria Gomes de Macedo Braga – Suplente

### **III – Representantes do Ministério da Educação:**

Roberto Lopes de Souza – Titular

Antônio Sebben – Suplente

### **IV – Representantes do Ministério do Meio Ambiente:**

Mônica Mafra Valença Montenegro – Titular

Luís Fábio Silveira – Suplente

### **V – Representantes do Ministério da Saúde:**

Sérgio de Andrade Nishioka – Titular

Maria Augusta Carvalho Rodrigues – Suplente

### **VI – Representantes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento:**

Rui Machado – Titular

Marco Aurélio Delmondes Bonfim – Suplente

### **VII – Representantes do Conselho de Reitores das Universidades do Brasil:**

José Paes de Almeida Nogueira Pinto – Titular

Vicente Ribeiro Rocha Júnior – Suplente

**VIII – Representantes da Academia Brasileira de Ciências:**

Paulo Hilário Nascimento Saldiva – Titular

Lício Augusto Velloso – Suplente

**IX – Representantes da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência:**

Lucile Maria Floeter Winter – Titular

Carlos Rogério Tonussi – Suplente

**X – Representantes da Federação das Sociedades de Biologia Experimental:**

Francisco Tadeu Rantin – Titular

Rovilson Gilioli – Suplente

**XI – Representantes da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório:**

Vera Maria Peters – Titular

André Silva Caríssimi – Suplente

**XII – Representantes da Federação Brasileira da Indústria Farmacêutica:**

Marco Antonio Stephano – Titular

Eduardo Pagani – Suplente

**XIII – Representantes das sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no País:**

Stélio Pacca Loureiro Luna – Titular

Ceres Berger Faraco – Suplente

Rita de Cássia Maria Garcia – Titular

**XIV – Coordenadores-gerais do Guia**

Marcel Frajblat – novembro de 2012 a junho de 2014

Norma Labarthe – julho de 2014 a 27 de novembro de 2015

Marco Antonio Stephano – a partir de 28 de novembro de 2015

# COMPOSIÇÃO DA SECRETARIA-EXECUTIVA DO CONCEA

## **Gabinete da Secretaria-Executiva do Concea**

Sharon Lisauskas Ferraz de Campos – Secretária-Executiva

Ana Cláudia Moura Torres – Secretária-Executiva Substituta

### **Secretariado**

Silmara Silva Cavalcanti

Leonice Santos Sousa

### **a) Técnicos**

Antônio Américo Barbosa Viana – Tecnologista em Ciência e Tecnologia

Marcelo Kenji Nishida – Tecnologista em Ciência e Tecnologia

### **b) Assistentes**

Rafael Augusto de Souza Viana – Assistente em Ciência e Tecnologia

Zélia Rodrigues Sardinha – Assistente em Ciência e Tecnologia

### **c) Apoio Administrativo**

Paulo Roberto Costa

### **d) Auxiliar Administrativo**

Edijane Mota de Seixas

### **e) Estagiário**

Igor Vinícius de Castro dos Santos

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca de Política em C&T do  
Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação

B823e Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Gabinete do Ministro. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.

Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica: fascículo 4: primatas não humanos mantidos em instalações de instituições de ensino e pesquisa científica [recurso eletrônico]/ coordenador: José Augusto Pereira Carneiro Muniz; Alcides Pissinatti ... [et al.]. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2016.

93 p. il.

Conteúdo: Introdução geral / Adriano da Silva Campos, Bruno Lourenço Diaz, Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera, José Mauro Granjeiro, Luisa Maria Gomes de Macedo Braga, Marcel Frajblat, Marco Antonio Stephano – Primatas não humanos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica / Alcides Pissinatti, José Augusto Pereira Carneiro Muniz, Kléna Sarges Marruaz da Silva, Márcia Cristina Ribeiro Andrade.

ISBN: 978-85-88063-32-7

1. Primatas – não humanos. 2. Pesquisa científica. 3. Projeto de Pesquisa. I. Título.

CDU 636.028

# FASCÍCULOS

## GUIA BRASILEIRO DE PRODUÇÃO, MANUTENÇÃO OU UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM ATIVIDADES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA

### Sumário dos Fascículos

- 1 Introdução geral
- 2 Roedores e lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 3 Caninos e felinos domésticos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 4 Primatas não humanos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica**
  - 5A Peixes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica – I
  - 5B Peixes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica – II
- 6 Anfíbios e serpentes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 7A Pequenos ruminantes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 7B Grandes ruminantes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 8 Equídeos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 9 Suínos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 10 Aves mantidas em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 11 Estudos conduzidos com animais silvestres mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 12 Estudos conduzidos com animais domésticos mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 13 Reptéis (exceto serpentes) mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica
- 14 Animais silvestres de vida livre

---

# Sumário

FASCÍCULO 4

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>7</b>
1 Bem-estar animal	9
2 Métodos alternativos ao uso de animais	12
3 Planejamento de novos projetos	14
4 Obtenção de aprovação para novos protocolos de pesquisa	35
5 Referências bibliográficas	38
<b>PRIMATAS NÃO HUMANOS MANTIDOS EM INSTALAÇÕES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA</b>	<b>40</b>
1 Introdução	41
2 Caracterização da ordem <i>primates</i>	42
3 Modelos de primatas utilizados em pesquisa	47
4 Instalações	50
5 Procedimentos de manejo	58
6 Procedimentos de Ensino ou Pesquisa Científica	70
7 Cuidados veterinários	76
8 Ética e Bem-Estar Animal no Uso de Primatas Não Humanos	81
9 Referências bibliográficas	83



# Introdução GERAL

# ***Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica***

## 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*

## INTRODUÇÃO GERAL

O Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em 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 ao 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. Nesse 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 aos resultados pretendidos em seus projetos de pesquisa e atividades didáticas. Preenchidas essas 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.

# 1 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. Nesse 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 em uma 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 essa 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 ele 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.

## 1.1 Definições: dor, distresse e sofrimento

Dor, distresse e sofrimento são termos que descrevem basicamente estados humanos de percepção e experiência. Portanto, é difícil transferir essas 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 essa experiência em seus animais. Não há um consenso sobre a definição desses 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.

## 1.2 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 desses 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 desses 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 esses 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 impúblicáveis;
- 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.

## 2 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 desse 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 *Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments (FRAME)*, órgão para promover junto na 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 por meio 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 *Zentralstelle zur ErfassungBewertung von Ersatz und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch – National Centre for Documentation and Evaluation of Alternative Methods to Animal Experiments (ZEBET)*. Em 1991 foi criado o *European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)* 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 *Interagency Coordinating Center for the Validation of Alternative Methods (ICCVAM)*. O ICCVAM é composto por 15 agências regulatórias e de pesquisa, entre 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 estas fornecem ou utilizam informações

dos testes toxicológicos para o processo de avaliação do risco. O Comitê coordena, por meio 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 *Japanese Centre for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM)* e em 2012 foi estabelecido o Centro Brasileiro de Validação de Métodos Alternativos (BraCVAM), 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 Diretriz de cosméticos (76/768/EEC) proibiu, nos países-membros da União Europeia, 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 a Comunidade Europeia em um 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 por meio 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.

Diante desse panorama regulatório, a União Europeia, 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 *European Union Reference Laboratory ECVAM (UERL ECVAM)*, responsável por coordenar e promover o desenvolvimento de métodos alternativos. A partir também dessa Diretiva de 2010, os estados-membros foram convocados a contribuir para essa 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>).

No Brasil, a responsabilidade de monitorar e avaliar a introdução de técnicas alternativas que substituam a utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa é do Concea. Essa entidade é responsável por credenciar as instituições que utilizem animais em seus trabalhos, além de criar as normas brasileiras de produção e uso de animais. Em 2014 a Resolução Normativa nº 17 do Concea estabeleceu o processo de reconhecimento de métodos alternativos no Brasil e determinou o prazo para a substituição do uso de animais por métodos alternativos reconhecidos.

De forma complementar às leis nacionais, o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI) estabeleceu, por meio da Portaria nº 491 de 03 de julho de 2012, a Rede Nacional de Métodos Alternativos (Renama, <http://renama.org.br/>), que tem por objetivo:

- estimular a implantação de ensaios alternativos ao uso de animais por meio do auxílio e do treinamento técnico nas metodologias necessárias;
- monitorar periodicamente o desempenho dos laboratórios associados por meio de comparações interlaboratoriais;
- promover a qualidade dos ensaios mediante o desenvolvimento de materiais de referência, químicos e biológicos certificados, quando aplicável;
- incentivar a implementação do sistema de qualidade laboratorial e dos princípios das boas práticas de laboratório (BPL);
- contribuir para o desenvolvimento, a validação e a certificação de novos métodos alternativos ao uso de animais.

A Renama disponibilizará, por meio de uma rede de laboratórios associados, os métodos alternativos ao uso de animais validados e disponíveis na OCDE, observando os princípios de boas práticas de laboratório. Dessa forma, a Renama contribuirá para a garantia da qualidade dos serviços ofertados ao setor produtivo e para o aumento, natural, da sua competitividade internacional, uma vez que os métodos alternativos ao uso de animais representam muitas vezes barreiras técnicas à exportação (legislações europeias anteriormente comentadas).

Há um amplo escopo para a aplicação dos 3Rs (Substituição, Redução e Refinamento) no uso de animais em estudos toxicológicos. Cada vez mais, alternativas validadas à utilização de animais sencientes são utilizadas em testes de toxicidade e, nesse sentido, a validação de um método é definida como um processo pelo qual a confiabilidade e relevância de um procedimento são estabelecidas para um fim específico. Todavia, nas situações em que a finalidade é regulatória, deverão ser usados os delineamentos propostos nos guias internacionalmente aceitos para esse fim, uma vez que só estão disponibilizados aqueles que se consideram validados.

## 3 PLANEJAMENTO DE NOVOS PROJETOS

Esta seção fornece informações para auxiliar pesquisadores e docentes a decidirem 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 interinstitucional) concorre para reduzir o número de animais ou para a quantidade de tecido animal necessária para conduzir um estudo ou responder a 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 uma desta deverá analisar, aprovar 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 esse fim, todos os que trabalham com animais em atividades de ensino ou pesquisa devem ter treinamento e suporte adequados e, dessa 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;
- 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.

### 3.1 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 advieram de estudos comparativos utilizando animais. Nesse contexto, esses 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.

#### 3.1.1 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.



- o A variabilidade genética pode reduzir a precisão dos resultados e dessa 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.
- o 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 dar atestados sanitários que esclareçam ao pesquisador quanto ao estado sanitário dos animais com os quais ele irá trabalhar.
- **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.

### 3.1.2 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 essa 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 por meio 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.

### 3.1.3 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.

### **3.1.4 Aclimação e quarentena**

Animais são extremamente sensíveis ao novo, seja o ambiente ou alterações deste, outros animais ou pessoas e esses 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 desse 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, esse período é importante para que se familiarizem com o 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.

### **3.1.5 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 pela frequência de fornecimento.

## 3.2 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 à qualidade dos resultados. Biossegurança como condição de segurança deve ser alcançada por meio 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 autoinspeções periódicas de biossegurança. Apesar das ferramentas disponíveis para ajudar nessa 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.

### 3.2.1 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 – tornam as instalações animais 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.

## 3.3 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.

### 3.3.1 Análise estatística<sup>1</sup>

1 O Centro Nacional para a Substituição, Refinamento e Redução de Animais para Pesquisa (NC3Rs) 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). Entre suas atividades, o NC3Rs desenvolveu um roteiro para auxiliar o delineamento experimental e análise estatística. A versão original e em inglês desse roteiro pode ser encontrada no seguinte endereço eletrônico: <http://www.nc3rs.org.uk/>.

Como ressaltado anteriormente, 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:

### **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 intersujeito (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 ampliado pelo aumento do tamanho da amostra, uma pesquisa desnecessariamente grande envolverá animais em excesso e desperdiçará recursos científicos.

**Varição** é controlada por meio 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 reduzidas 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 *on-line* 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  $N = 24$  ( $6 \times 4$ ) e  $T = 4$ , então  $E = 24 - 4 = 20$ . Isso 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. Essa 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. Esses 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 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 indicada por níveis de significância ou intervalos de confiança.

#### **3.3.2 Métodos utilizados**

Antes de iniciar uma pesquisa, também é importante certificar-se de 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.

#### **3.3.3 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 dessa forma podem contribuir para a redução e refinamento do uso de animais por outros grupos de pesquisa. Essa 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.

### **3.4 Prevenção da dor e do distresse potencial**

Todo protocolo de pesquisa deve descrever claramente os pontos finais humanitários (“*endpoints*”) que serão utilizados. Esses 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 nessa 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 e manipulação genética. 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.

### 3.4.1 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.

Os 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.

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. Ele 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 em um 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 para a 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 procedimento, 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 consideradas antes de incorporar dados do estudo-piloto. Mesmo que os dados do estudo-piloto não sejam utilizados desse 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.

### **3.4.2 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; esses 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 esses 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](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. Esses estudos são de longa duração, prolongando-se por quase toda a vida do animal (roedores) e, diante dessa situação, recomenda-se que sejam desenvolvidos somente em instalações animais com condições sanitárias e estruturais capazes de manter a vida desses 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 regulatórios. 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 Econômico 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 essa 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 à molécula (pKa, pH, estrutura química, caracterização, etc.) que poderá determinar por meio de cálculos, por exemplo, a indicação de vias de administração ou de exposição, eliminando a possibilidade de procedimentos desnecessários.

### **3.4.3 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.

Essa classificação é contida na DBCA (RN nº 12 do Concea) e se baseia em uma aproximação preventiva segundo o nível potencial de dor e distresse que os animais possam sentir.

Graus de Invasividade:

G1 = Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse (*ex.: observação e exame físico; administração oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutânea, ou intramuscular de substâncias que não causem reações adversas perceptíveis; coleta de sangue; eutanásia por métodos aprovados após anestesia ou sedação; privação alimentar ou hídrica por períodos equivalentes à privação na natureza*).

G2 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de leve intensidade (*ex.: procedimentos cirúrgicos menores, como biópsias, sob anestesia; períodos breves de contenção e imobilidade em animais conscientes; privação alimentar ou hídrica breve, em períodos maiores do que a abstinência na natureza; exposição a níveis não letais de compostos químicos que não causem reações adversas graves*).

G3 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor de intensidade intermediária (*ex.: procedimentos cirúrgicos invasivos conduzidos em animais anestesiados; imobilidade física por várias horas; indução de estresse por separação materna ou exposição a agressor; exposição a estímulos aversivos inescapáveis; exposição a choques localizados de intensidade leve; exposição a níveis de radiação e compostos químicos que provoquem prejuízo duradouro da função sensorial e motora; administração de agentes químicos por vias como a intracardíaca e intracerebral*).

G4 = Experimentos que causam dor de alta intensidade (*ex.: métodos não aprovados de eutanásia que provoquem dor; Indução de trauma ou queimaduras a animais não sedados; administração de agentes químicos paralisantes em animais não sedados, protocolos onde a morte é o ponto-final, quando os animais sofrerem dor ou distresse que não podem ser aliviados*).

Atenção especial deverá ser dada à criação de animais geneticamente modificados que sofrem dor ou distresse como consequência da alteração genética. Devemos, nesse caso, classificar corretamente o grau de invasividade para poder atender às necessidades de cuidados especiais desses animais.

### **3.5 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 avaliados por observação de seu comportamento e fisiologia. O desafio é medir ou avaliar esses 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.

### **3.5.1 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 neuroendocrinológicos também podem ser feitos durante esse período para estabelecer valores de referência.

### **3.5.2 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 aclimação, 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 esse 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 em um 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.

### 3.5.3 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 moderados. Além disso, em muitas espécies-presa como o rato ou camundongo, sinais de dor ou distresse podem ser temporários e intercalados com comportamento normal.

### 3.5.4 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, 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 nessas situações são resultados já publicados com protocolos semelhantes, e a experiência de outros pesquisadores, veterinários e técnicos. Nesses casos, o uso do conhecimento e da experiência humana para dor e desconforto também pode ser útil na avaliação desses 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). Essa estratégia auxilia na compreensão da importância de critérios de monitoramento.

### 3.5.5 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 as 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 isso 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.

### **3.5.6 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 esses elementos reais ou potenciais, eles 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 monitorados e estar sujeitos 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.

### 3.5.7 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 dessas 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.

### 3.5.8 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.

### 3.5.9 Documentação da Estratégia de monitoramento

A documentação precisa da estratégia de monitoramento garante que todas as pessoas envolvidas com o cuidado 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.

### 3.5.10 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 nenhuma anormalidade detectada (NAD) 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.

### 3.5.11 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.

### 3.5.12 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. Dessa 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.

## 3.6 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 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 todo o pessoal envolvido no uso de animais em atividades de ensino ou pesquisa são de responsabilidade da instituição.

## 4 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.

### 4.1 Comissões de Ética no uso de animais

- É responsabilidade da Ceua, no âmbito de suas atribuições, cumprir e fazer cumprir o disposto na Lei 11.794/08 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 que manterá os animais durante a condução do projeto de pesquisa ou procedimento de ensino, sendo esta credenciada no CONCEA. A Ceua da instituição deve garantir que o uso de animais esteja em conformidade com a Lei 11.794/08 e os seus dispositivos infralegais e sempre que se fizer necessário justificar a aplicação dos conceitos 3Rs (*“Reduction, Refinement and Replacement”*) redução, refinamento e substituição. Quando uma atividade for conduzida a campo, ou seja, fora das instalações institucionais, a responsabilidade de aprovar e acompanhar o projeto será da Ceua da instituição a qual o pesquisador principal pertence, sendo que esta instituição deverá estar credenciada no CONCEA. Quando aplicável, a Ceua responsável pela aprovação e acompanhamento do projeto será a do patrocinador do estudo que também deverá estar credenciado no CONCEA.

### 4.2 Submetendo uma proposta à Ceua

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

#### 4.2.1 Antes de escrever seu projeto o pesquisador deve perguntar-se:

- O uso de animais é necessário?
- Existem alternativas ao uso dos animais? Se existem, citar quais e por que 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 e disponíveis?
- Todo o pessoal envolvido está adequadamente treinado? Tem algum conhecimento sobre a biologia e o 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?

#### 4.2.2 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.

#### 4.2.3 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 e 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 deverá 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 Nacional do Índio – Funai, Comissão Nacional de Energia Nuclear – Cnen, Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – Cgen, Coordenação-Geral da 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. O Quadro 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**

<b>PLANEJAMENTO DO ESTUDO</b>
Avalie se há alternativas ao uso de animais
Preveja a extensão da dor e do distresse e encontre formas de evitá-los ou de minimizá-los
Avalie a dor e o distresse antecipados individualmente <i>versus</i> causar menos dor em um número maior de animais
Planeje o protocolo de pesquisa para durar o menor tempo possível

**PLANEJAMENTO DO ESTUDO**

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 realização 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 (POP) 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

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTMAN, D. G. (1991). Practical Statistics for Medical Research. Chapman & Hall.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA), (2013). Disponível em: <[http://www.cobea.org.br/arquivo/download?ID\\_ARQUIVO=20](http://www.cobea.org.br/arquivo/download?ID_ARQUIVO=20)>

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Portaria Nº 491, de 3 de julho de 2012. Disponível em: <[ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsessp/bibliote/informe\\_eletronico/2012/iels.jul.12/iels126/U\\_PT-MCTI-GM-491\\_030712.pdf](ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsessp/bibliote/informe_eletronico/2012/iels.jul.12/iels126/U_PT-MCTI-GM-491_030712.pdf)>

COCHRAN, W. G.; COX GM (1992). Experimental Designs (2nd Edition). John Wiley & Sons.

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>>

Directive 86/609/EEC of the European Parliament and of the Council. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/food/fs/aw/aw\\_legislation/scientific/86-609-eec\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/aw/aw_legislation/scientific/86-609-eec_en.pdf)>

ESKES, C.; SÁ-ROCHA, V. de. M.; NUNES, J; PRESGRAVE, O.; DE CARVALHO, D.; MASSON, P.; RIVERA, E.; COECKE, S.; KREYSA, J.; HARTUNG, T. (2009) Proposal for a Brazilian centre on alternative test methods. ALTEX. 26(4):303-6.

FESTING, M. F. *et al.* (2002). The design of animal experiments: reducing the use of animals in research through better experimental design, London UK, Royal Society of Medicine Press.

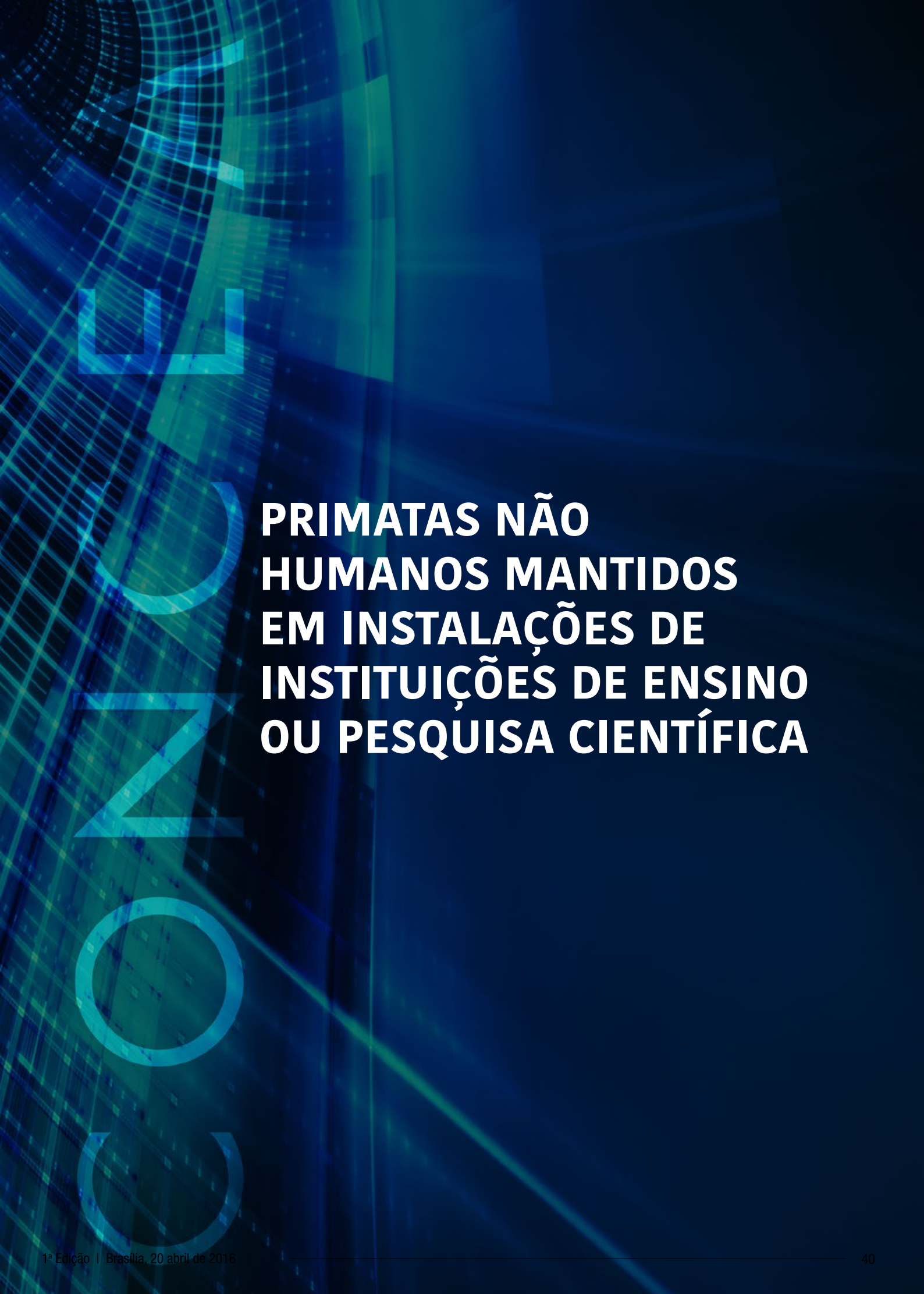
LANCASTER, G. A.; DODD, S.; WILLIAMSON, P. R. (2004). Design and analysis of pilot studies: recommendations for good practice. Journal of Evaluation in Clinical Practice 10(2): 307-312 doi: 10.1111/j..2002.384.doc.x.

PRESGRAVE, O. A. (2008) The need for the establishment of a Brazilian Centre for the Validation of Alternative Methods (BraCVAM). Altern Lab Anim. 36(6):705-8.

Resolução Normativa 17, de 3 de julho de 2014 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

RUSSEL, W. M. S.; BURCH, R. L. (1959). The Principles of Humane Experimental Technique. Methuen, London.

RUXTON, G. D.; COLEGRAVE, N. (2006). Experimental Design for the Life Sciences (2nd edition). Oxford University Press.



**PRIMATAS NÃO  
HUMANOS MANTIDOS  
EM INSTALAÇÕES DE  
INSTITUIÇÕES DE ENSINO  
OU PESQUISA CIENTÍFICA**



# ***Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica***

*Primatas não humanos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica*

**Coordenador:** *José Augusto Pereira Carneiro Muniz – Instituto Evandro Chagas*

**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*

## **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 *Anthropoidea*, 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 (por exemplo, nos *Atelídeos*).

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 (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 por meio 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 (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 tem contribuído para a melhoria desse tipo de intervenção. Em Medicina Veterinária, a Resolução 879 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), que 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 11.794 de 08/10/2008), buscam melhor orientar o seu uso, tendo o órgão normatizador que é o Conselho Nacional de Experimentação Animal (Concea).

O presente documento complementa, mas não substitui a DBCA, publicada pelo Concea. Este guia objetiva orientar a conduta, sem eximir a autonomia das Comissões de Ética no Uso de Animais (Ceuas) 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 oito 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 50 g (*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 *galagos*) – 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 três 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 ANTHROPOIDEA

### 2.2.1 *Platyrrhini*

São encontrados no neotrópico (primatas do Novo Mundo ou neotropicais), vivendo em florestas que se estendem 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 *Platyrrhini* (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 três 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 semipreênsil 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 dois 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 três pré-molares, três 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 duas subespécies (*Cebuella pygmaea pygmaea* e *Cebuella pygmaea niveiventris*).

2.2.1.2 *Callithrix* – com seis espécies e a maioria delas encontrada 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 nove 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 quatro 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 sete espécies e dez 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 duas espécies e dez subespécies, com dois grupos (tipo romano e tipo gótico) (RYLANDS *et al.*, 1995).
- 2.2.1.9 Gêneros *Cebus* e *Sapajus* (macaco-prego – capuchin) – constituída por uma espécie e 32 subespécies (RYLANDS *et al.* 2000). Vivem em grupo de oito a 30 indivíduos. Gênero amplamente distribuído, cujos adultos podem pesar até 4 kg. Para Silva Jr. (2001) e 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 cinco 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 uma espécie e seis 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 avermelhada (*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 duas 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 (MARSCH, 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 quatro 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 duas espécies e três 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 a 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 polegar. Distribuem-se desde o México até o sul da Bolívia. Adultos pesam entre 5 a 7 kg. Constituído por duas 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-amarelada. 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.* (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.

### A – *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 subsaariana africana. Machos atingem 15 kg e as fêmeas 7 kg.

5) *Mandrillus*, *Papio* e *Theropithecus* (Mandrill, dril, babuínos e gelada).

a) *Papio* – utilizado principalmente em pesquisas sobre doenças virais (AIDS), principalmente a espécie *Papio cynocephalus*. Símios 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.

#### B – Colobinae

Diversas espécies, com ocorrência nas regiões zoogeográficas Etiopiana e Oriental. Entre outros gêneros podemos citar: *Colobus*, da África, e *Nasalis*, *Presbytis*, *Pygathrix*, *Rhinopithecus*, sendo:

1) *Nasalis* – probóscide, 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.

#### C – 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.

#### D – Pongidae

1) *Pongo pygmaeus* (orangotango) – encontrados em Bornéu 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 a 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 a 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 entre elas, encontrada em regiões do Congo/Zaire ao sul do Rio Congo.

E – *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 AD e Vesalius 1514 – 1564 citados em Cohen & Loew (1984); Kavannaugh (1984); Morris & Moris (1966) e Loeb *et al.* (1989).

Recentemente, a importância dos primatas como modelos nas pesquisas biomédicas foi realçada em estudos de Pasteur *et al.* (1884 a-b) e 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 PLATIRRINOS MAIS UTILIZADOS EM PESQUISAS**

GÊNERO	ESPÉCIES MAIS UTILIZADAS	MODELO PARA PESQUISAS
CALLITHRIX (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.
SAGUINUS (7 ESPÉCIES E 26 SUBESPÉCIES)	<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.
LEONTOPITHECUS (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.
CALLIMICO (1 ESPÉCIE)	<i>Callimico goeldii</i>	Etologia, reprodução, patologia, malária, parasitologia.

GÊNERO	ESPÉCIES MAIS UTILIZADAS	MODELO PARA PESQUISAS
AOTUS (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.
SAIMIRI (2 ESPÉCIES E 10 SUBESPÉCIES)	<i>Saimiri sciureus sciureus</i> <i>Saimiri oerstedii oerstedii</i> <i>Saimiri ustus</i>	Toxicologia, farmacologia, reprodução, neurociências, oftalmologia, morfologia, neoplasias, virologia, microbiologia, parasitologia, teratologia e malária.
CEBUS (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.
ALOUATTA (4 ESPÉCIES E 17 SUBESPÉCIES)	<i>Alouatta fusca</i>	Malária, grupos sanguíneos e virologia.
	<i>Alouatta caraya</i>	Malária, febre amarela, fisiologia e oftalmologia.
LAGOTHRIX (2 ESPÉCIES E 3 SUBESPÉCIES)	<i>Lagothrix lagotricha</i>	Lesões arteriais, hepatites, parasitologia, aterosclerose e cancerologia.
ATELES (4 ESPÉCIES E 12 SUBESPÉCIES)	<i>Ateles sp.</i>	Lesões arteriais, parasitologia, herpesvírus, aterosclerose e cancerologia.

Adaptado: Whytney, Jr., 1976a; Yohn & Hammond, 1977; Melendez, 1977; Gibbs & Gajdusek, 1977; Hilleman *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
MACACA (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.
PAPIO (5 ESPÉCIES)	<i>Papio anubis</i>	Estudos reprodutivos, cardiovasculares, genéticos, obesidade e transplante de órgãos.
CHLOROCEBUS (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.
GORILLA* (1 ESPÉCIE)	<i>Gorilla gorilla</i>	Estudos comportamentais, conservação, HIV/AIDS.
PAN* (2 ESPÉCIES)	<i>Pan troglodytes</i>	Genética, estudos comportamentais, conservação, farmacologia e HIV/AIDS.
PONGO* (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 os *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.

Mais detalhes sobre esse documento podem ser obtidos no “*Interagency Primate Steering Committee*”, *Building 14G – National Institute of Health, Bethesda, MD 2005 – USA*.

Entre 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)* – Disponível em: [http://dpcpsi.nih.gov/orip/cm/primate\\_resources\\_researchers#centers](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 (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, saltar, 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, devem 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 seja minimizado 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 permite 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 ao 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 menos, 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 <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	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 - PAN TROGLODYTES)

GRUPO APES (CHIMPANZÉS - PAN TROGLODYTES)			
GRUPO 1	10,0 a 20,0	0,90	139,7
GRUPO 2	20,1 a 30,0	1,35	152,4
GRUPO 3 <sup>b</sup>	> 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., *Brachyteles* sp., *Macaca* sp., *Papio anubis*, *Cercocebus* sp., *Erythrocebus* sp.; **Grupo 5:** *Papio papio*.

<sup>a</sup>Do piso ao topo da gaiola; <sup>b</sup>Primatas 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, 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, esses 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. Nesse 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 acima de 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 das salas onde os animais são mantidos para experimentação deve ser efetuado constantemente, com um planejamento de manutenção preventiva periódica por profissionais técnicos especializados, como 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 características 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 à 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 (antessala) 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 e 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, dispondo 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. Nesse intuito, a altura da bancada deve situar-se à 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, dessa 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 duas 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 à 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 à 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 cambeamento de um para outro para deslocamento dos animais enquanto o outro lado é higienizado. Isso 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 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 esses 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 entre 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

desse 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 ofertados 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 essa finalidade. Itens confeccionados com PVC rígido e 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 consequências recompensadoras (MEEHAN & MENCH, 2007; BUCHAMAN-SMITH, 1994; UPMEYER *et al.*, 2005; HONESS & MARIN, 2006), além do enriquecimento sensorial, que utiliza vídeos ou músicas, têm sido utilizados 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 enriquecimentos 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, entre 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

interferiram 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 para o surgimento de diversas doenças, comprometendo todo o plantel, as 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/EPs, 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/EPCs (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 ZONÓTICOS BACTERIANOS ENVOLVIDOS EM INSTALAÇÕES ANIMAIS DE PRODUÇÃO, MANUTENÇÃO OU DE UTILIZAÇÃO DE PRIMATAS NÃO HUMANOS**

BARREIRAS (CLASSIFICAÇÃO)	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 hematôgena ou subcutânea	Uso de EPIs
<i>Leptospira</i>	2	Contato direto/indireto com tecidos ou fluidos corpóreos	Controle de vetores, medidas higiênico-sanitárias e uso de EPIs; monitoramento sanitário e quarentena
<i>Neisseria meningitides</i>	2	Aerossol, ingestão ou contato direto com fluidos e exsudatos corporais	Uso de EPIs
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	2	Aerossol, ingestão ou contato, erossol, ingestão ou contato direto com fluidos e exsudatos corporais que podem estar presentes no solo e na água de áreas endêmicas	Uso de EPIs e EPCs; monitoramento sanitário e quarentena

\*NB: nível de biossegurança. Fonte: Müller *et al.* (2010).

**QUADRO 7: PRINCIPAIS AGENTES ZONÓTICOS 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 EPIs e EPCs; isolamento dos pacientes contaminados; monitoramento sanitário
	Ebola			
Flavivírus	FA <sup>a</sup>	2	Mosquitos vetores <i>Aedes</i> , <i>Haemagogus</i> e <i>Sabethes</i>	Monitorização do índice de infecção dos vetores e uso de inseticidas
	FHD <sup>b</sup>		Mosquitos vetores <i>Aedes aegypti</i>	Combate ao vetor e vigilância epidemiológica
<i>Cercopithecine herpesvirus 1</i>		3	Contato direto por meio de mordida ou perfurocortantes com tecidos e fluidos corporais	Uso de EPIs; treinamento em primeiros socorros; monitoramento sanitário
Citomegalovírus		2	Contato direto com fluidos corporais	Uso de EPIs
Picornaviridae	HAV	2	Orofecal	Uso de EPIs; medidas higiênico-sanitárias
Hepadnaviridae	HBV		Contato direto com fluidos corporais	Uso de EPIs; monitoramento sanitário
Flaviviridae	HCV			
Retrovírus	HIV/SIV	2	Contato direto com fluidos corporais	Uso de EPIs e EPCs; monitoramento sanitário



AGENTE		NB*	VIA DE TRANSMISSÃO	PROFILAXIA
Poxvírus	<i>Yaba</i>	2	Aerossol e contato com tecidos e fluidos corporais	Uso de EPIs
	<i>Tanapox</i>			
<i>Influenza</i>		2	Aerossol	Uso de EPIs
Lyssavirus		2	Contato direto por meio de mordida ou perfurocortante contaminado, raramente por aerossol	Uso de EPIs

\*NB: nível de biossegurança. <sup>a</sup>FA: febre amarela; <sup>b</sup>FHD: febre hemorrágica da dengue; <sup>c</sup>HAV: vírus da hepatite A; <sup>d</sup>HBV: vírus da hepatite B; <sup>e</sup>HCV: vírus da hepatite C. Fonte: Müller *et al.* (2010).

### QUADRO 8: PRINCIPAIS AGENTES ZONÓTICOS 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 EPIs e EPCs; medidas higiênic-sanitárias; quarentena; monitoramento sanitário
<i>Ancylostoma</i>		Orofecal	Uso de EPIs e EPCs; medidas higiênic-sanitárias; quarentena; monitoramento sanitário
<i>Oesophagostomum</i>			
<i>Ascaris</i>			
<i>Balantidium</i>			
<i>Entamoeba histolytica</i>			
<i>Giardia</i>			
<i>Plasmodium</i>	Vetor (mosquito)	Controle de vetores	

\*NB: nível de biossegurança. Fontes: Weber *et al.*, 1999; Quinn *et al.*, 1999.

### QUADRO 9: PRINCIPAIS AGENTES ZONÓTICOS 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 EPIs; medidas higiênic-sanitárias; monitoramento sanitário
<i>Microsporium</i>		Contato direto por meio de utensílios contaminados	Uso de EPIs e EPCs; medidas higiênic-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 antitetânica e antirrábica. 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, biopsias 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 carreamento 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 desse 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 Zoonitários 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 profundas, dispnéia 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 a 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 (*Polymerase Chain Reaction – PCR*), 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. 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 gálagos – 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 a esse fim.

### 5.5.6 Separação por espécies símias

Em função da transmissão de doenças interespecíficas, não é recomendável alojar espécies símias diferentes juntas em um mesmo ambiente. Exemplificando, o *Herpesvirus 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 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 desse 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 recomendações mais importantes, segundo as principais vias 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 hidrócloridrato 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. Nessa 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 músculo dos membros, preferencialmente utilizando os músculos deltoides (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 *connus 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 dessa 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 essa 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 antisepsia, o quadrante a ser escolhido é o quadrante abdominal inferior direito e o volume máximo a ser administrado é de 10 mL/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 essa 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 colheita 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 aos objetivos do estudo, não podendo exceder em 24 horas para gaiolas metabólicas e máximo sete 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 de fragmentos de órgãos deve 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 fragmento de pele, deve-se utilizar prioritariamente um *punch* de biopsia. Biopsias 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 questionada 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. Essa 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 que 15% do seu peso corporal também devem ser retirados do experimento.

Para acompanhamento do peso do animal, é importante realizar a pesagem 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 dessas funções (PASSINGHAM, 2006).

Alguns desses estudos são realizados concomitantemente com estudos toxicológicos e neurocientíficos. Nesses 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 entre 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 de 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 ( $\pm 10$  microns, eixo de 0,1-0,5 mm) 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 a realização deste. 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.

Para lesões causadas experimentalmente em cérebros e crânios de primatas não humanos deve ser utilizado 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 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 de 3 horas de líquidos 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 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 nesses animais é altamente recomendável, como, por exemplo, a utilização de suturas com pontos subcuticulares interrompidos 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). Opioides são amplamente utilizados em neurocirurgias (DIVICENTI JR, 2013). Anti-inflamatórios esteroides 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
Opioides	Buprenorfina	0,01 mg/kg IM, IV	8-12 h	Paul-Morphy, 2001 Murphy, 2008
		0,005-0,03 mg/kg IM, IV	6-12 h	
	Butorfanol	0,1-0,2 mg/kg IM	3-4 h	
	Morfina	1-2 mg/kg IM, IV, SC	4 h	
Anti-inflamatórios esteroides	Dexametasona	2-4 mg/kg IV (choque) 1-25 mg/kg IM	24 h	Lee, Doane, 2011
Anti-inflamatórios não esteroides	Flunixin meglumine	1 mg/kg IM	12 h	Lee, Doane, 2011 Murphy, 2008
		0,3 a 2 mg/kg IV, SC	12-24 h	
	Cetoprofeno	2-5 mg/kg IV	24 h	Lee, Doane, 2011 / DiVicenti Jr, 2013
	Prednisolona	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	12-24 h	Paul-Morphy, 2001
	Meloxicam	0,2 mg/kg PO	24 h	DiVicenti Jr, 2013
Cloridrato de tramadol	6 mg/kg PO, IV	12 h	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 -1 mg/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. Isso 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 os 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
Anticolinérgicos	atropina	10-15 mg/kg PO	8-12 h	Paul-Morphy, 2001
Anestésicos dissociativos	cetamina	5-10 mg/kg IM (rhesus e ynomolgus) 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)		
Barbitúricos	pentobarbital	20-30 mg/kg IV 15 mg/kg IV (primatas neotropicais)	30-60 min 6 h	Fish <i>et al.</i> , 2008 Paul-Morphy, 2001
Anestésicos locais	Bupivacaína 0.5%	1 mg/kg local 2 mg/kg perineural	3-4 h	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 a 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 a 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 Eutanásia do Concea; Resolução 1000/2012 do CFMV; e Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais, CFMV (2013).

## 7.6 Necropsia

A necropsia, 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 para 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 em uma 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 recipientes 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 à 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. O traslado 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 ANIMAL NO USO DE PRIMATAS NÃO HUMANOS

Anteriormente à década de 1980, 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 nas 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 – SBCAL) 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 nº 022 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 à 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 o 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 (1988). Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. 1st ed. Consortium for Developing a Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching, Washington, DC.

ALFARO, J. W. L.; SILVA JR, J. S.; RYLANDS, A. B. 2012. How Different are Robust and Gracile Capuchin Monkeys? An Argument for the Use of Sapajus and Cebus. American Journal of Primatology 74:273–286

ALPERIN, R. *Callithrix argentata* (Linnaeus, 1771): considerações taxonômicas e descrição de subespécie nova. Bol. Mus. Pará, Emílio Goeldi – Ser. Zool. v. 9, n. 2, p. 317-328, 1993.

AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION (APA). “Principles for the Care and Use of Animals.” Committee on Animal Research and Experimentation, APA, Washington, DC, 1979.

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION (AVMA). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. American Veterinary Medical Association, 2013. 102p.

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. 4. ed. São Paulo, Nobel, 1988, v. 1.

ANVISA, RDC Nº 306, de 07 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

APHIS, 1989. Animal and Plant Health Infection Service – Department of Agriculture – Federal Register, Part III, 54(49): ‘0913-10954.

ASSOCIATION OF PRIMATE VETERINARIANS (APV). Food Restriction Guidelines for Nonhuman Primates in Biomedical Research. 2010. Disponível em: <<http://www.primatevets.org>>. Acesso em: 10 mai 2014.

ASSOCIATION OF PRIMATE VETERINARIANS (APV). Humane Endpoint Guidelines for Nonhuman Primates in Biomedical Research. 2010. Disponível em: <<http://www.primatevets.org>>. Acesso em: 5 mai 2014.

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.

BARROS, C. S. L. Guia da técnica de necropsia dos mamíferos domésticos. Santa Maria: UFSM, 1988.

BAYNE, K., 1991. Providing environmental enrichment to captive primates. *Compendium on Cont. Educ. for the Practicing Vet*, 13(11): 1689-1695.

BELL, J.; BLACKEMORE, C.; LUDLOW, R.; WALPORT, M. The use of non-human primates in research. London: The Academe 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. 1980. Environmental quality within animal facilities. *Lab Anim Sci* 30: 385-406.

BOURNE, G. (ed.). The rhesus monkey. Vol. 1. Anatomy and physiology Vol. 2. Management, reproduction and pathology. Academic Press. New York, 1975, 436p.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos – DBCA. Resolução Normativa nº 12, de 20 de setembro de 2013.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria n. 1.748, de 30/08/2011 – Aprova a Norma Regulamentadora nº 32 – Segurança e Saúde no Trabalho em Estabelecimentos de Saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 31/08/2011 – Seção 1 – p. 143.

BUCHAMANN-SMITH, H. 1994. Environmental Enrichment in Captive Marmosets and Tamarins. *Humane Innovations and Alternatives*, 8: 559-564.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE – CCAC. Guidelines on: laboratory animal facilities — characteristics, design and development. 108 p. Disponível em: <<http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Facilities.pdf>>. Acesso em: 19 jan 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*. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.

CARLSSON, H. E.; SCHAPIRO, C. J.; FARAH, I; HAU, J. 2004. Use of Primates in Research: A Global Overview. *American Journal of Primatology* 63:225–237.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC), B. virus infections in humans. Michigan. Morbid. Mortal., Wkly. Rep., v. 38, p. 453-454, 1989.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC). Management of persons exposed to multidrug resistant tuberculosis. Morbid. Mortal. Wkly rep. v. 41 (RR-11), p. 61-71, 1992.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (CDC/NIH) 1988. In: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, RICHARDSON, J. H.; BARKLEY, W. E. (Ed.). HHS Publ. nº (CDC) 88-8395. U.S. Government Printing Office Washington, DC.

CHAGURI, L. C. G. Primatas. In: DE LUCA, R. R. *et al.* Manual para Técnicos em Bioterismo. 2. 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. 2014.

COHEN, B. J.; LOEW, F. M. Laboratory animal medicine historical perspectives. In: Laboratory Animal Medicine, FOX, J. G.; COHEN, B. J.; LOEW, F. M. (Ed.), Academic Press, New York, 1984, p.1-17.

COHEN, J. I.; DAVENPORT, D. S.; STEWART, J. A.; DEITCHMAN, S.; HILLIARD, J. K.; CHAPMAN, L. E. 2002. Recommendations for prevention of and therapy for exposure to B virus (*Cercopithecine herpesvirus 1*). Clinical Infectious Diseases, 35: 1191-1203.

COIMBRA-FILHO, A. F. & MITTERMEIER, R. A. 1977. Tree-gouging exsudate-eating and the “short tusked” condition in *Callitrich* and *Cebuella*. In: The biology and conservation of the *Callitrichidae*, edit. D. G. Kleiman, p. 105-115.

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.; 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 Kent Paper Company Ltd – London, 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. 1995. Emerging Diseases and ecosystem instabilities: new threats to public health. Am. J. Publ. Health. 85: 168-172.

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; tabelas 6.1, 6.2, 6.3, 6.4; p. 30.

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: FIOCRUZ, 2010. 472 p.

FELDMAN, D. B. & SEELY, J. C. *Necropsy Guide: rodents and the rabbit*. Boca Raton: CRC Press, 1988.

FERRARI, S. F. & MARTINS, E. S. 1992. 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.

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.

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., 1977. Estudios sobre virus de encefalopatias subagudas espongiiformes utilizando primates como el unico indicador disponible. In: Primera conferencia interamericana sobre la conservacion y utilizacion de primates americanos no humanos en las investigaciones Biomédicas. Lima-Peru – OMS – Publ. Científica nº 317, Washington DC, p. 87-116.

GORTON, R. L. & BESCH, E. L. 1974. Air temperature and humidity response to cleaning water loads in laboratory animal storage facilities. *ASHRAE Trans.* 80: 37-52.

GROVES, C. *Primate taxonomy*. Washington Smithsonian Institution Press. 2001, 350p.

GUIDE for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington: National Research Council, National. 8th ed. The National Academic Press, 2011, 220p.

HAHN, B. H.; SHAW, G. M.; de COCK, K. M. & SHARP, P. M. 2000. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science*, 287: 607-614.

HARTMAN, C. G. & STRAUSS, W. L. ed. *The anatomy of the rhesus monkey*. Hafner Publishing Co. New York, 1961, 383p.

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. *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. 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. 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. Titis, New World monkeys of the genus *Callicebus* (*Cebidae, Platyrrhini*): a preliminary taxonomic review. *Fieldiana, Zoology, New Series*, v. 55, p. 1-109, 1990.

HERSHKOVITZ, P. Two new species of night monkeys, genus *Aotus* (*Cebidae, Platyrrhini*): a preliminary report on *Aotustaxonomy*. *Am. J. Primatol.*, v. 4, n. 3, p. 209-243, 1983.

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.

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: Primera conferencia interamericana sobre la conservación y utilización de primates americanos no humanos en las investigaciones Biomédicas. Lima-Peru – OMS – Publ. Científica nº 317, Washington DC, p. 117-131.

HONESS, P. E. & MARIN, C. M. 2006. Enrichment and aggression in primates. *Neuroscience and Behavioral Reviews* 30(3): 413-436.

HUBER, H. F. & LEWIS, K. P. 2011. An assessment of gun-based environmental enrichment for captive gummivorous primates. *Zoo Biology*, 30: 71-78.

HUNT, R. D.; BARAHONA, A. H.; KING, N. W.; FRASER, C. E. O.; GARCIA, F. G.; MELENDEZ, L. V. 1973. Spontaneous Herpesvirus *saimiri* lymphoma in owl monkey. *Proceedings, VI International Symposium on Comparative Leukemia Research*. Nagoya/Ise-Shima, Japan.

HUNT, R. D.; MELENDEZ, L. V. 1969. Herpesvirus infections of nonhuman primates, a review. *Lab. Anim. Care*, 19, 221-234.

INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES (ILAR). Committee on care and use of Laboratory Animals. National Academic Press, Washington, DC, v. XXIII, p. 2-3, 1980.

INTERAGENCY PRIMATE STEERING COMMITTEE (IPSC). National Primate Plan. DHEW Pub. nº (NIH) 80-1520. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Washington, D.C., p. 81, 1980.

INTERNATIONAL PRIMATOLOGICAL SOCIETY (IPS). International Guidelines for the Acquisition, Care and Breeding of Nonhuman Primates. Prepared by the Captive Care Committee of the International Primatological Society. International Primatological Society, Nairobi. Available from UFAW (Universities Federation for Animal Welfare), 1988.

JENNINGS, M.; PRESCOTT, M. J. Refinements in husbandry, care and common procedures for non-human primates. *Laboratory Animals*, v. 43, p. S1-1 a S1-47, 2009.

JOHNSON, D. O. History In: *Nonhuman Primates in Biomedical Research. Biology and Management*. BENNETT, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. (Ed.), R. Academic Press, San Diego, p. 1-12, 1995.

JOHNSON, D. K.; MORIN, M. L.; BAYNE, K. A. L.; WOLFLE, T. L. Laws, Regulations and Policies. In: *Nonhuman Primates in Biomedical Research. Biology and Management*. BENNETT, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. (Ed.), Academic Press, San Diego, p. 15-31, 1995.

JOINT WORKING GROUP ON REFINEMENT. Husbandry refinements for rats, mice, dogs and nonhuman primates used in telemetry procedures. *Laboratory animals*, v. 38, p. 1-10, 2004.

JOINT WORKING GROUP ON REFINEMENT. Refinements in husbandry, care and common procedures for non-human primates: Ninth report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement (JENNINGS, M.; PRESCOTT, M. J.) (Ed.). *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: "The International Primate Trade" (MACK, D.; MITTERMEIER, R. A.) (Ed.). *Traffic (USA)*, The World Wildlife Fund – US Primate Program, and the IUCN/SSC Primate Specialist Group, Washington, DC., v. 1, p. 49-89, 1984.

KEELING, M. E.; FROEHLICH, 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. 2015. Pharmacokinetics of tramadol following intravenous and oral administration in male rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J. Vet. Pharmac. Therap.*, v. 38, p. 375-382.

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 preparate von einer menschlichen und zwei affenruche-marken wien klin. *Wocheenschr*, v. 21, p. 1830, 1908.

LANDSTEINER, K. & POPPER, E. Ubertragung der poliomyelitis acuta auf affen. *Z. Immunitaets forsch. Exp. Ther.*, v. 2, p. 377-390, 1909.



LEDERBERG, J.; SHOPE, R. E. & OAKES-Jr, S. C. 1992. Emerging infections, microbial threats to health in the United States. Institute of Medicine National Academy Press. Washington, D.C.

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.

LOEB, J. M.; HENDEE, W. R.; SMITH, S. J.; SCHWARZ, M. R. Human vs. animal rights. J. A. M. A., J. Am. Med. Assoc., v. 262, p. 2716-2720, 1989.

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.

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, Guanabara, 1991.

MARSH, L. K. A taxonomic revision of the saki monkeys, *Pithecia*, Desmarest 1804. Neotropical primates, 21(1): 1-163, 2014.

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. 2007. The challenge of challenge: can problem solving opportunities enhance animal welfare? Applied Animal Behaviour Science 102: 246-261.

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, p. 393-397. Academic Press, London, 1966.

MELENDEZ, L. V., 1977. 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. Lima-Peru – OMS – Publ. Científica nº 317, Washington DC, p. 79-86.

MENCH, J. A. & KREGGER, M. D. Ethical and welfare issues associated with keeping wild mammals in captivity. In: Wild Mammals in Captivity. KLEIMAN, D. G.; ALLEN, M. E.; THOMPSON, K. V.; LUMPKIN, S. (Ed.) 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*. *Erleben 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". Hutchinson, London. 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. 2010. Manutenção em cativeiro. In: *Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica*. ANDRADE, A.; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FILHO, J. F. (Org.). Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 161-206.

MÜLLER, C. A.; ANDRADE, M. C. R.; GONÇALVES, M. A. B.; CALZAVARA, N. T.; SANTOS, P. R.; MONTEIRO, R. V. 2010. Biossegurança. In: *Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica*. ANDRADE, A.; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FILHO, J. F. (Org.). Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 385-433.

MURPHY, H. W. Get a hand on your patient: primate restraint and analgesia. In: *NAVC Clinician's Brief: The Official Publication of the North American Veterinary Conference*, v. 5. Orlando: 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. Nutrient Requirements of Nonhuman Primates: Second Revised Edition. Washington: National Academies Press, 2003.

NICOLELIS, M. A. L. 2008. *Methods for Neural Ensemble Recordings*. Boca Raton: CRC Press.

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.

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 em: 5 mai 2014.

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.

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.

PETERSON, E. A.; AUGENSTEIN, J. S.; TANIS, D. C. & AUGENSTEIN, D. G. 1981. Noise raises blood pressure without impairing auditory sensitivity. *Science* 211: 1450-1452.

- 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. (Available from Office for Protection from Research Risks. Building 31, Room 4B09, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892). 1986.
- QUINN, P. J. *et al.* (Ed.). Clinical Veterinary Microbiology, New York, Mosby, 1999.
- REGAN, T. The case for animals rights. Berkeley University of California Press. 1983.
- RICHARDSON, J. H. & HUMPHREY, G. L. Rabies in imported nonhuman primates. Lab. Anim. Sci., v. 21, p. 1083, 1971.
- RIZZINI, C. T. & COIMBRA-FILHO, A. F. 1981. Lesões produzidas pelo sagui *Callithrix p. penicillata* (E. Geoffroy, 1812), em árvores do cerrado (*Callitrichidae – Primates*). Ver. Bras. Biol., 41(3): 579-583.
- ROLLIN, B. E. Animals right and human mortality. New York Prometheus Books, 1981.
- ROSENBERGER, A. L. 1978. Loss of incisor enamel in marmosets. J. Mammalogy, 59(1): 207-208.
- ROSENBERGER, A. L. Phylogeny evolution and classification of New World Monkeys (*Platyrrhini, primates*). University Microfilms, Ann Arbor, 1979.
- ROSENBERGER, A. L. Systematics: the higher taxa. In: COIMBRA-FILHO; MITTERMEIER (Ed.) – Ecology and behavior of neotropical primates, Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro. 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. 1959. The Principles of Humane Experimental Technique, Methuen, London.
- RYLANDS, A. B. 1989. 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.
- RYLANDS, A. B. 2014. Database on the taxonomy and threatened status of primates. IUCNSSC Primate Specialist Group, Arlington VA.
- RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A. 2014. Primate Taxonomy: Species and Conservation. Evolutionary Anthropology 23:8–10.

RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A.; SILVA Jr, J. S. 2012. Neotropical primates: taxonomy and recently described species and subspecies. *Int. Zoo Yb.* 46:11–24.

RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A.; RODRIGUEZ, L. E. 1995. 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.

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.

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. 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.; 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.

SCHMIDT, K. A. & OSTFELD, R. S. 2001. Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. *Ecology*, 82: 609-619.

SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M. P. C.; SAMPAIO, I.; HARADA, M. L.; STANHOPE, M.; CZELUNIAK, J.; GOODMAN, M. Molecular phylogeny of the new world monkeys. *Platyrrhini, Primates. Mol. Phylog. Evol.*, v. 2, p. 225-242, 1993.

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.

SCHRAG, S. J. & WIENER, P. 1995. Emerging infectious diseases: what are the relative roles of ecology and evolution?. *TREE*, 10: 319-324.

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*. Illinois: Charles C. Thomas, 1988.

TERRY, M. W. *Macaca fascicularis: A bibliography of research. Part I, 1970-1974*. Primate Information Center, University of Washington Seattle, 1976, 138p.

TORRES, L. B.; ARAÚJO, B. H. S.; CASTRO, P. H. G.; CABRAL, F. R.; MARRUAZ, K. S.; SILVA ARAÚJO, M.; SILVA, S. G.; MUNIZ, J. A. P.; CAVALHEIRO, E. A., 2010. The use of New World Primates for Biomedical Research: A Overview of

the last four decades. *Am. J. of Primatology* 72: 1055-1061.

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). "Guidelines for the Recognition and Assessment of Pain in Animals." Prepared by a Working Party of the Association of Veterinary Teachers and Research Workers. Universities Federation for Animal Welfare, London, 1989.

UNIVERSITIES FEDERATION FOR ANIMAL WELFARE (UFAW). "Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals." Universities Federation for Animal Welfare, London, 1987.

UNIVERSITY OF SOUTH FLORIDA. Standard Operating Procedures. Nonhuman Primate Cage Changing and Pan Cleaning. USF Research and Innovation. 2014. Disponível em: <[http://www.research.usf.edu/cm/docs/sops/S605\\_NHP\\_Cage\\_Cleaning.pdf](http://www.research.usf.edu/cm/docs/sops/S605_NHP_Cage_Cleaning.pdf)> Acesso em: 8 mai. 2014.

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.

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 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.

WHITNEY, R. A., Jr., 1976a. Important primate diseases (biohazards and zoonoses). *Cancer Res. Saf. Monogr.*, v. 2, p. 23-52.

WHITNEY, R. A., Jr., 1976b. International requirements for nonhuman primates in medical research. In: First inter-american conference on conservation and utilization of American nonhuman primates in biomedical research. Scientific Publication nº 317, p. 243-246, Washington DC.

WILSON, D. E. & REEDER, D. M. *Mammals Species of the World*, 2nd Ed. Smithsonian Inst. Press – USA, 1993.

YOHAN, D. S. & HAMMOND, J. 1977. Los primates sudamericanos y la investigación del câncer. In: Primera conferencia interamericana sobre la conservación y utilización de primates americanos no humanos en las investigaciones Biomédicas. Lima-Peru – OMS – Publ. Científica nº 317, Washington, DC. p. 132-144.



Ministério da  
Ciência, Tecnologia  
e Inovação

