PRINCÍPIOS BIOÉTICOS E LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA E ENSINO

Saulo Humberto de Ávila Filho¹, Kamilla Dias Ferreira², Thais Poltronieri dos Santos³, Raílla Araújo Rodrigues⁴, Luiz Antônio Franco da Silva⁵

1 Mestrando na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil (saulohumberto@gmail.com)

2 Mestranda na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

3 Graduanda em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

4 Graduanda em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

5 Professor Doutor da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

Recebido em: 08/04/2016 – Aprovado em: 30/05/2016 – Publicado em: 20/06/2016

DOI: 10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2016_088

RESUMO

Haja vista a necessidade dos modelos experimentais e da evolução das pesquisas, atualmente cerca de 75-100 milhões de vertebrados são utilizados e submetidos ao distresse e eutanásia por ano, mundialmente, em pesquisas. Para tanto, quando utiliza-se animais, o relacionamento entre esses e o ser humano deve ser pautado pelos princípios de bioética e bem-estar animal. A esse respeito, os primeiros estudos iniciaram-se com Max Russell e Rex Burch, os quais introduziram os princípios de Substituição, Redução e Refinamento. No Brasil, esses princípios foram incorporados aos documentos oficiais apenas em 2008 com a lei nº 11.794 de oito de outubro, a qual regulamenta e determina infrações além de estabelecer sanções como suspensão do direito de pesquisar e multa aos pesquisadores e instituições que se opuserem as normatizações. Considerada a importância da utilização dos animais no desenvolvimento das pesquisas biomédicas e tamanho desenvolvimento das discussões e preocupação pública sobre a abordagem ética dos animais em pesquisa, ensino e teste, vê-se a necessidade de maior disseminação do conhecimento a respeito dos princípios bioéticos e legislação que amparam essa utilização, a fim de garantir maior aceitação pública e melhor qualidade das pesquisas científicas. O presente estudo objetivou fazer uma revisão de literatura a respeito da abordagem, dos princípios Bioéticos e da legislação brasileira que tangem a utilização de animais em pesquisa e ensino.

PALAVRAS-CHAVE: bem-estar animal, modelo experimental, 3Rs

BIOETHICAL PRINCIPLES AND BRAZILIAN LEGISLATION FOR RESEARCH AND TRAINING ANIMAL USE: REVIEW

ABSTRACT

Due to need for experimental models and the evolution of research, nowadays 75-100 million vertebrates are used and suffering distress and euthanasia per year worldwide in research. To this end, when animals are used, the relationship between these and the human have been guided by the principles of bioethics and animal welfare. In this regard, the first studies began with Max Russell and Rex Burch, who introduced the principles of Replacement, Reduction and Refinement. In Brazil, these principles have been incorporated into official documents only in 2008 with Law No. 11,794 eight October, which regulates and determines contravention and establishes penalties such as suspension of the right to research and fine researchers and institutions that oppose the rules. Due to importance of use animals in the development of biomedical research and public concern about the ethical approach of animals in research, teaching and testing, we think that need for greater dissemination of knowledge about the bioethical principles and legislation that support such use in order to ensure greater public acceptance and better quality of scientific research. This study aimed to make a literature review, about the approach of Bioethical principles and Brazilian's law that concern the use of animals in research and teaching.

KEYWORDS: experimental model, animal welfare, 3Rs

INTRODUÇÃO

Modelo pode ser definido como tudo que se pode imitar, ou ainda como um objeto que busca representar alguma coisa ou alguém. Com esse significado, os modelos animais devem possuir características em comum com as espécies à serem comparadas, sendo principalmente a humana ou espécies de animais domésticos, além de propiciarem completa manipulação sem as limitações éticas, legais e econômicas inerentes a espécie alvo (FAGUNDES & TAHA, 2004). Deste modo, auxiliam na compreensão dos fenômenos naturais, permitem ampliar o conhecimento e garantir o ensinamento sobre fisiologia, anatomia, etiopatogenia das doenças, farmacocinética e farmacodinâmica de agentes químicos, além de permitir a observação, aceitação ou rejeição de hipóteses de tratamento propostos em pesquisas (DAMATTA, 2010).

A Pesquisa científica tem evoluído nas últimas décadas, considerando-se parâmetros como o número de artigos publicados e descobertas de melhorias tanto para os seres humanos, quanto para os animais, as quais já estão incorporados na rotina (BAUMANS & VAN LOO, 2012) e contribuíram para elevar a expectativa de vida brasileira. Tal avanço é representado pela elevação da expectativa de 54 para 75 anos nos intervalos entre 1960-2010, o que pode ser creditado às pesquisas experimentais com utilização de animais como modelo. Dentre as descobertas nas áreas de ciências biomédicas, destaca-se evolução nas medidas profiláticas, diagnóstico e tratamento para diversas enfermidades (CHORILLIN & SALGADO, 2007), além das vacinas contra doenças como a raiva, hepatite B, gripe, meningite, poliomielite, da produção de soro anti-tetânico, anti-oftálmico, do desenvolvimento de antibióticos, anticoagulantes, anti-hipertensivos, insulina, além de alguns

procedimentos como transfusão sanguínea, diálise, transplantes, bem como tratamento para tuberculose, asma e leucemia.

Adicionalmente a tais evoluções e ao desenvolvimento de tecnologias médicas, aumentou-se o número de animais, principalmente os roedores, coelhos e suínos utilizados em pesquisas. Desse modo, cerca de 75-100 milhões de vertebrados são utilizados e submetidos ao distresse e eutanásia por ano, mundialmente, em pesquisas (BAUMANS, 2010a). Apesar da expressividade atual dos números e então incremento das discussões a respeito da utilização dos animais em pesquisa e ensino, essa utilização gera discussões favoráveis e desfavoráveis a esse tema desde os remotos relatos. Tais discussões ganham contribuições mundiais de diversas classes de ensino, desde pessoas leigas a doutores, com as mais diversas responsabilidades, como protetores de animais e pesquisadores e envolvem também instituições de ensino e de pesquisas privadas e públicas, além de organizações de ciência de animais de laboratório como a Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) (MARQUES et al., 2005).

Os entraves a respeito da utilização de animais em pesquisa e ensino, bem como os princípios éticos e legais geram complexas discussões em diversas áreas. Dentre elas, áreas econômicas, religiosas, políticas, filosóficas e científicas. Sendo que em muitas situações a pseudomoralidade é utilizada como subterfúgio para tentar diminuir a grandiosidade dos advenços conquistados graças à experimentação animal. Entretanto, sabe-se que por vezes ocorrem experimentos condenáveis sem qualquer perspectiva de resposta ou que determinam sofrimento e morte desnecessária de animais (D'ACAMPORA et al., 2009). Frente as dicotomias, os estudos a respeito do bem-estar animal, bem como o desenvolvimento de guias e normatizações para a utilização dos animais em pesquisas e estudos foram estipulados e adaptados.

Quando usam-se animais, o relacionamento entre esses e o ser humano deve ser pautado pelos princípios de bioética e bem-estar animal, os quais historicamente caminharam em paralelo à evolução da pesquisa experimental. Os primeiros estudos iniciaram-se com Max Russell e Rex Burch. Esses com a publicação do livro *The principles of humane experimental technique* propuseram alguns conceitos como distresse, humano e desumano, bem como uma abordagem mais humanitária dos animais. Destacaram-se também a influência do bem-estar animal nos resultados e qualidade das pesquisas e testes biomédicos. E com objetivo de remover o distresse introduziram os princípios de Substituição, Redução e Refinamento (RUSSELL & BURCH, 1959).

Partindo dos ensinamentos previstos nos princípios dos três Rs e da premissa que em todas as áreas existem pessoas boas e más, éticas e não éticas, viu-se a necessidade da imposição legal para regulamentar e moldar princípios aceitáveis frente a utilização dos animais em pesquisa e ensino (MARQUES et al., 2005). No Brasil, foi decretada em 2008 a lei nº 11.794 de oito de outubro, a qual regulamenta e determina infrações além de estabelecer sanções como suspensão do direito de pesquisar e multa aos pesquisadores e instituições que se opuserem as normatizações (BRASIL, 2008a).

Apesar da criação de leis que regulamentam a utilização dos animais em ensino e pesquisa e, conseqüentemente, a criação de órgãos como o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e as Comissões de

Ética no Uso de Animais (CEUAs), a população e, inclusive, parte da população científica, desconhece a função e composição desses órgãos e desconhecem ou ignoram as normatizações, infrações e penalidades previstas na legislação (BAYNE et al., 2015).

Considerando a importância da utilização dos animais no desenvolvimento das pesquisas biomédicas e tamanho desenvolvimento das discussões e preocupação pública sobre a abordagem ética dos animais em pesquisa, ensino e teste, vê-se a necessidade de maior disseminação do conhecimento a respeito dos princípios bioéticos e legislação que amparam essa utilização, a fim de garantir maior aceitação pública, maior aceitação pelos comitês de ética e melhor qualidade das pesquisas científicas (HAGELIN et al., 2003; D'ACAMPORA et al., 2009; BAYNE et al., 2015).

O presente estudo objetivou fazer uma revisão de literatura a respeito da abordagem, dos princípios bioéticos e da legislação brasileira que tangem a utilização de animais em pesquisa e ensino.

REVISÃO DE LITERATURA

Ética na utilização dos animais em ensino e pesquisa

A bioética é um consenso que permite avaliar a conduta humana perante suas ações. Tais condutas podem ser julgadas como certas ou erradas e assim avaliado o que pode ou não ser feito em uma determinada situação (BRASIL, 2013a). No que se refere a ética voltada para a experimentação animal, os primeiros estudos iniciaram de forma mais efetiva, com os pesquisadores Max Russell e Rex Burch em 1959, com a publicação do livro *The principles of humane experimental technique*. Nesse livro foi proposto, além de alguns conceitos como distresse e bem-estar animal, uma abordagem mais humanitária dos animais, bem como a influência nos resultados e qualidade das pesquisas e testes biomédicos. Destacou-se assim que o tratamento humanitário dos animais não deve ser obstáculo e sim pré-requisito para obtenção de bons resultados científicos. Também foi proposto balancear o distresse infligido aos animais com os objetivos do experimento. Acrescenta-se que inicialmente houve pouca aceitação científica, mas com o passar dos anos essa proposta tem sido aceita com mais facilidade (RUSSELL & BURCH, 1959).

Em tempos modernos tem acontecido a incorporação dos princípios em manuais e legislações destinados a utilização de animais em pesquisas, ensino e testes biomédicos, ainda que se observe algumas distorções em diversos países (TANNENBAUM & BENNETT, 2015). Tais princípios são conhecidos como os três Rs e visam reduzir e ou remover o distresse dos animais. São eles: Substituição (*Replacement*), Redução (*Reduction*), Refinamento (*Refine*) (RUSSELL & BURCH, 1959). Logo, as Instituições de ensino e pesquisa e pesquisadores precisam ter o conhecimento necessário sobre a legislação para que as pesquisas científicas possam ser realizadas e os resultados divulgados.

Conceitos gerais

Em todas as discussões bioéticas dezenas de conceitos são utilizados. Além da quantidade de termos, alguns podem ainda ser utilizados com sentidos duplos (TANNENBAUM & BENNETT, 2015). Sendo assim, é importante ter o

entendimento dos principais termos como humano e desumano; distresse e bem-estar animal. Entende-se por distresse o estado de desconforto ou depressão do estado mental, provocado por um conjunto de sensações desprazerosas. Dentro dessas sensações negativas estão incluídas: o medo, raiva, desconforto, fome, sede, tédio, ansiedade e dor (RUSSELL & BURCH, 1959). Embora siga os princípios de Russel e Burch, as Diretrizes Brasileiras para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA) não incluem a sensação dolorosa como distresse, sempre referindo à dor em separado (BRASIL, 2013a).

Em se tratando de animais vertebrados, considera-se importante a relação entre os sistemas nervoso somático, autônomo, endócrino e límbico. Dessa forma, estímulos físicos, comportamentais, sociais ou ambientais são convertidos em estresse fisiológico. O distresse pode então ser observado como um comportamento anormal e pode ser manifestado de maneira distinta em cada espécie animal. Recomenda-se então aos pesquisadores e professores conhecerem o comportamento natural, normal, da espécie a ser conduzida no estudo ou experimento, de maneira a possibilitar a identificação de alterações no padrão comportamental. De maneira geral deve-se observar alterações no padrão de sono; hidratação; higiene; interação, curiosidade com o ambiente; agressividade ou depressão; vocalização; alodinia; salivação, lacrimejamento, alteração do apetite e ou emagrecimento; alteração da temperatura corporal; frequência cardíaca; frequência e padrão respiratório; produção de urina e fezes; alteração na postura corporal e ou modificação na expressão facial (BRASIL, 2013a). De posse dessas informações é possível sugerir que o distresse pode alterar significativamente os resultados dos experimentos (RUSSEL, 2009).

O termo desumano pode por vezes se misturar com distresse. Pode ser representado pelo estado mental deprimido do animal ou ser entendido como as atividades, humanas, que levam o distresse aos animais. Quando compreendido como atividade, pode ainda ser dividido em direto ou indireto. O ato desumano direto é aquele que não pode ser evitado devido ao objetivo do estudo (RUSSELL & BURCH, 1959), como exemplo, a indução da dor para se avaliar a eficácia de analgésicos de uma determinada substância (TANNENBAUM & BENNETT, 2015). Por sua vez, o ato desumano indireto é aquele que inflige o distresse ao animal por uso inadvertido ou inadequado de um procedimento, manejo ou instalação dos animais (RUSSELL & BURCH, 1959). Dessa forma, visando reduzir o distresse do animal, fica evidente que o manejo, o método de eutanásia, o alojamento, a cama, as condições de transporte e a adaptação dos animais ao ambiente experimental devem ser bem planejados e executados com extrema perícia e por profissionais capacitados (FLECKNELL, 2002).

O termo bem-estar animal, por sua vez, não apresenta um único, próprio e universalizado conceito. Dessa forma representa, na maioria das vezes, o estado mental com ausência de distresse, como por exemplo a não manifestação de comportamentos estereotipados (YOUNG, 2003; TANNENBAUM, 2013). Por outro lado, o termo bem-estar, minoritariamente, pode ser interpretado como a sensação do animal que experimenta sensações mentais positivas (Figura 1). Assim sendo, reconhece-se como estado mental positivo aquele que advém de sentimentos prazerosos como conforto, satisfação resultante de beber e comer e sentimento de felicidade (TANNENBAUM, 2013). Dessa maneira, quando admite-se o segundo

conceito, o bem estar completo não é alcançado apenas com a redução e ausência do distresse (RUSSELL & BURCH, 1959; TANNENBAUM & BENNETT, 2015).

FIGURA 1 – Ilustração esquemática das escalas de bem estar. (A) – considerado bem-estar como ausência de distresse. (B) – considerado bem-estar como presença de estado mental positivo.

Princípio da Substituição

O Princípio da Substituição consiste na troca de modelos animais sencientes e superiores na escala evolutiva por animais inferiores e incapazes de sentir distresse, ou por outros métodos que não incluem animais (RUSSELL & BURCH, 1959). Sendo assim, indica-se utilização de plantas, microrganismos, endoparasitas, moluscos, artrópodes, equinodermos e modelos computacionais ao invés de animais vertebrados (DOKE & DHAWALE, 2013). Quando no princípio da Substituição utilizam-se animais inferiores evolutivamente, denomina-se Substituição relativa. Por outro lado, quando utilizam-se métodos alternativos, os quais excluem a necessidade de utilização de animais tem-se a substituição absoluta (RUSSELL & BURCH, 1959). De maneira geral, considera-se a Substituição ideal a absoluta, pois quando não existe animal não existe a possibilidade de infligir distresse (TANNENBAUM & BENNETT, 2015). Ressalte-se que o objetivo da substituição deve sempre ser o de minimizar o distresse (RUSSELL & BURCH, 1959) e quando são implantados métodos alternativos à utilização de animais outros aspectos positivos são agregados, como a extinção ou redução dos custos com a aquisição dos animais, tratamento e manejo dos animais, aumento da aceitação pública e pelos comitês de ética e redução do espaço físico necessário para abrigar os animais (TANNENBAUM & BENNETT, 2015).

Vários métodos alternativos são propostos com o objetivo de propiciar a Substituição nas pesquisas. Dentre os mais importantes citam-se os métodos computacionais, cultivo celulares, além da utilização de vertebrados inferiores, invertebrados e de microrganismos, tendo cada um dessas características e aplicações. No que se refere aos métodos computacionais destacam-se os programas conhecidos como Auxílio Computacional para o Design de Fármacos – *Computer Aided Drug Design* – e o programa Relação Quantitativa da Estrutura com Atividade – *Quantitative Structure Activity Relationship* (DOKE & DHAWALE, 2013).

O primeiro é aplicado para identificar prováveis sítios de ligações para os medicamentos e auxiliar na criação de medicamentos com atuação em receptores específicos (VEDANI, 1999). O segundo modelo computacional, faz uma descrição matemática da relação dos componentes químicos dos fármacos com as possíveis ações biológicas. Assim, é aplicado para prever possíveis atividades carcinogênicas e mutagênicas dos químicos testados (KNIGHT et al., 2006).

Os métodos que empregam cultivos celulares consistem na cultura *In vitro* de células humanas ou de animais, as quais são isoladas e crescem em monocamadas nas superfícies de placas. Estes têm sido aplicados em ensaios iniciais de toxicidade e efetividade de drogas (SHAY & WRIGHT, 2000) e em testes para avaliação toxicológicas e de irritação química, tendo como exemplo a avaliação da irritação causada por químicos, utilizando-se como modelo experimental córnea bovina cultivada *in vitro* (XU & FU-SHIN, 2000).

No que se refere ao princípio da Substituição e a preocupação brasileira a respeito criou-se, em 2012 a Rede Nacional de Métodos Alternativos (RENAMA) e o Centro Brasileiro para Validação de Métodos Alternativos (BraCVAM). De maneira geral, essas entidades possuem o objetivo de desenvolver métodos alternativos, com a visão de reduzir e/ou substituir o número de animais empregados em estudos experimentais ou promover a melhoria do bem-estar desses, quando utilizados em ensino e pesquisa. A RENAMA, por sua vez é formada por uma rede de instituições, laboratórios e empresas, as quais tem o objetivo em comum de promover o desenvolvimento, validação e a certificação de novos métodos alternativos. Para tanto, monitora-se a qualidade e o desempenho dos laboratórios associados por meio de comparações inter-laboratoriais e produzem matérias primas para a produção dos métodos alternativos. Além do mais, propõe-se estimular e qualificar os técnicos a implantarem e utilizarem os novos métodos (BRASIL, 2012d).

O BraCVAM é o primeiro centro de validação de métodos alternativos da América Latina e se soma a outros três centros espalhados pelo mundo. Os outros centros são o europeu (ECVAM), criado em 1991, o dos Estados Unidos (ICCVAM), criado em 1994 e o japonês (JACVAM), criado em 2005. Esses centros têm a missão de identificar e propor o reconhecimento de métodos alternativos validados, ou seja, métodos cuja confiabilidade e relevância para o determinado propósito foram determinados por meio de processo de avaliação com estágios de pré-validação, validação e revisão por especialistas, podendo ter aceitação regulatória internacional (CONCEA, 2015). Em 2014, no Brasil, o BraCVAM propôs e foi reconhecidos pelo CONCEA, 17 métodos alternativos à utilização de animais, os quais devem substituir os métodos convencionais correspondente em até cinco anos. Os métodos alternativos reconhecidos aplicam-se principalmente à área de testes e foram desenvolvidos com o propósito de avaliar o potencial de irritação e corrosão da pele e da córnea, avaliação da absorção e sensibilização cutânea e para avaliação do potencial de fototoxicidade, toxicidade aguda e genotoxicidade (Quadro 1) (BRASIL, 2014c).

QUADRO 1 – Métodos alternativos reconhecidos pelo CONCEA para utilização no Brasil, segundo a normativa nº18, de 24 de setembro de 2014 (BRASIL, 2014c). Dispostos de acordo com seus objetivos, nomes, métodos e meios de avaliação...

Objetivo	Nome (OECD TG)	Método de avaliação	Meio
Avaliar o potencial de irritação e corrosão da pele	430 (OECD, 2013a)	Resistência elétrica transcutânea.	Disco de pele de ratos
	431 (OECD, 2014) e 439 (OECD, 2013c)	Viabilidade celular por conversão enzimática Morfologia	Cultura de epiderme humana derivada de queratinócitos.
	435 (OECD, 2006)	Tempo de penetração da membrana.	Barreira biosintética macromolecular
Avaliar o potencial de absorção cutânea	428 (OECD, 2004b)	Quantidade de produto obtido após lavagem cutânea	Preparado de fragmento de pele de animais
Avaliar o potencial de sensibilização cutânea	429 (OECD, 2010b)	Mensuração da quantidade de linfócitos marcado por radiação após aplicação de alérgeno	<i>In vivo</i> . Linfonodo regional de roedores.
	442A (OECD, 2010d)	Inferência da quantidade de linfócitos por mensuração do ATP por bioluminescência	<i>In vivo</i> . Linfonodo regional de roedores.
	442B (OECD, 2010a)	Inferência da quantidade de linfócitos por mensuração com kit BrdU ELISA	<i>In vivo</i> . Linfonodo regional de roedores.
Avaliar o potencial de irritação e corrosão ocular	437 (OECD, 2012a)	Permeabilidade: quantidade de fluoresceína na câmara anterior; Opacidade: por opacímetro e espectrofotômetro de luz visível	<i>In vitro</i> . Córnea bovina de abatedouros
	438 (OECD, 2013c)	Opacidade, edema e retenção de fluoresceína	<i>In vitro</i> . Olho de galinha (abatedouro)
	460 (OECD, 2012b)	Avaliação da quantidade de fluoresceína que ultrapassa a barreira	<i>In vitro</i> . Célula MDCK (células renais de cães)
Avaliar o potencial de fototoxicidade	432 (OECD, 2004a)	Avalia a citotoxicidade pela recaptção de corante vermelho neutro	<i>In vitro</i> 3T3 NRU (fibroblasto de camundongos)
Avaliar a toxicidade aguda oral	420 (OECD, 2001b)	Sinais clínicos, mortalidade	Doses fixas sequenciais <i>In vivo</i> . Roedores
	423 (OECD, 2001a)	Sinais clínicos, mortalidade	Classifica a dose tóxica <i>In vivo</i> . Roedores
	425 (OECD, 2001c)	Dose letal para 50% da população	Dose máxima (<i>Up and down</i>) <i>In vivo</i> . Roedores
	129 (OECD, 2010a)	Estimativa de dose inicial para toxicidade aguda oral sistêmica. Por avaliação de citotoxicidade	<i>In vitro</i> . Cultivo celular de fibroblastos
Avaliar a genotoxicidade ^a	487 (OECD, 2012c)	Avaliação da quantidade de micronúcleo	<i>In vitro</i> . Cultivo de linfócitos de mamíferos.

Princípio da Redução

O princípio da Redução preza a minimização do distresse infligido aos animais como consequência da diminuição do número da amostragem do estudo experimental. Essa diminuição deve sempre ser pautada na avaliação estatística, com a qual permite-se encontrar o menor número de animais, que sejam suficientes para garantir a validação e a precisão estatística dos dados obtidos (RUSSELL & BURCH, 1959). Dessa forma, evita-se experimentos extremamente longos, com grande quantidade de animais, os quais são submetidos ao distresse de maneira desnecessária. Entretanto, deve-se prezar para que a redução no número não resulte no aumento do distresse infligido a cada animal (TANNENBAUM & BENNETT, 2015).

A estatística é reconhecida por ser o caminho para a redução no número de animais. Por outro lado, a precisão estatística só é garantida quando ocorre o fenômeno de repetição. Além do mais, a estimativa do valor ideal da amostragem depende do conhecimento prévio dos pesquisadores, incluindo o estabelecimento dos valores aceitáveis do erro matemático. Sendo assim a redução do número de animais em experimentos sempre passará por períodos adaptativos (RUSSELL & BURCH, 1959; TANNENBAUM & BENNETT, 2015).

Princípio do Refinamento

O princípio do Refinamento preza a redução do distresse imposto aos animais, pela redução da severidade ou intensidade de procedimentos desumanos aplicados aos animais destinados a pesquisa, ensino ou testes biomédicos. Almeja-se garantir absolutamente o mínimo distresse aos animais, ou ainda, de maneira mais otimista, promover o bem-estar do animal (RUSSELL & BURCH, 1959). Assim, a prática do Refinamento esbarra na dificuldade de identificação e quantificação do distresse demonstrado pelas mais variadas espécies de animais e na própria definição de bem-estar animal. Considerando-se estes aspectos, deve-se perguntar como fazer? Quanto fazer? Quando fazer? (TANNENBAUM & BENNETT, 2015).

Partindo da premissa da redução do distresse, o princípio do Refinamento é alcançado com práticas de refinamento ambiental e aplicação de práticas adequadas de anestesia, analgesia, eutanásia e manejo na utilização dos animais (SILVA et al., 1996; BAUMANS & VAN LOO, 2012; DOKE & DHAWALE, 2013). Feito assim, além de se garantir o bem-estar dos animais, o refinamento reduz também a influência do distresse sobre as análises experimentais, minimizando os resultados inesperados (HENDRIKSEN, 2009). Tal influência ocorre devido ao desbalanço dos níveis séricos hormonais em decorrência do distresse e desconforto (DOKE & DHAWALE, 2013). Tais as alterações séricas podem ser exemplificadas fundamentando-se nas observações, do aumento do cortisol sérico em mini suínos, os quais eram alojados em ambiente que promovia o distresse, ao limitar-se o comportamento desses animais em cavar e remexer a terra (LADEWIG, 2000). Elevação também observada em ratos alojados em ambientes básicos, frente a ambientes com refinamento (RILEY, 1981).

De maneira adicional, outros estudos exemplificaram a magnitude da influência da interação Refino Ambiental X Pesquisa. Em um estudo notou-se, que os camundongos geneticamente modificados para desenvolvimento da doença de

Huntington, providos de ambiente enriquecido, o qual garantia oportunidade de fazer ninho, esconder e roer teve a evolução da doença de maneira mais lenta do que comparado aos camundongos que tinham ambientes desprovidos dessas características (DOKE & DHAWALE, 2013). Em outro estudo, observou-se a recuperação de camundongos submetidos a cirurgia para implantação de um transmissor telemétrico. Concluiu-se que os animais que recuperaram em gaiolas com possibilidade de contato social, com interação estabelecida previamente, tiveram uma recuperação com menor distresse e, consequentemente melhor, tendo em vista os parâmetros fisiológicos e comportamentais (VAN LOO et al., 2007).

A magnitude da interação Refino X Pesquisa também pode ser notada visto a incidência de tumor mamário em roedores geneticamente modificados para expressar tal doença. Nesse estudo, observaram-se que roedores alojados em ambientes sem refinamento desenvolveram tumor de mama no máximo em 360 dias. Entretanto, dos animais alojados em ambiente supridos de refinamento, apenas 50% apresentou câncer de mama mesmo após 560 dias (RILEY, 1981). Por fim, em um novo experimento, observaram-se que a falta de coberturas, “camas”, nas gaiolas de roedores induziu um comportamento de ansiedade que por sua vez, culminou na redução do aprendizado e prejudicou a memória desses animais (KULESSKAYA et al., 2011).

a) Técnicas de refinamento ambiental

As técnicas de refino ambiental utilizam modificações no ambiente com a finalidade de promover o bem-estar físico e psicológico dos animais de laboratório, evitando-se assim manifestação de comportamentos estereotipados (BAUMANS, 2005; POGGIAGLIOLMI et al., 2011). A implantação das técnicas de refino depende do tamanho da gaiola, da densidade do alojamento, duração do experimento, além do sexo, idade e comportamento natural da espécie do animal (POGGIAGLIOLMI et al., 2011). Avaliado isso, podem promover alterações nos aspectos sociais e físicos do ambiente, além de alterar as condições inerentes a gaiola como tamanho e composição. Dentro os fatores sociais destacam-se presença do ser humano ou de outros animais. Já entre os fatores físicos observa-se luminosidade, ruídos, vibração, ventilação, condições da cama, temperatura, umidade relativa, odores, contaminantes além do acúmulo de dióxido de carbono e amônia (BAUMANS et al., 2010b). Devendo a interação destes prover condições adequadas para o desenvolvimento de necessidades físicas e comportamentais, tais como interação social, esconder, explorar, roer, alimentar, construir e descansar, inerente a cada espécie (HUBRECHT, 2010).

A interação social pode ser garantida entre os animais de laboratório, ou entre os animais e o homem e deve ocorrer sempre que possível (BAUMANS, 2005). Entretanto, alguns camundongos e coelhos do sexo masculino podem, a depender da idade, sexo e nível hierárquico, rejeitar a introdução de um novo animal no ambiente. Por outro lado, quando já estabelecido um vínculo entre o grupo, a remoção de um implica no distresse aos remanescentes (VAN LOO et al., 2005). Mas não se pode negligenciar, que a criação em grupos pode atrapalhar processos cicatriciais pós-cirúrgicos (BAUMANS & VAN LOO, 2012).

Ponderando sobre os aspectos físicos para o refinamento ambiental, a temperatura deve ser mantida entre 20-26°C para roedores e entre 16-22°C para

lagomorfos, com uma umidade relativa de 40-60%. Os ruídos e vibrações devem ser minimizados e a intensidade luminosa não deve ser superior a 325 lux. Com relação a ventilação, recomenda-se que o ambiente tenha 15 a 25 trocas de ar por hora (BRASIL, 2013b). No que diz respeito às gaiolas para roedores e lagomorfos (Figura 2), os tamanhos devem respeitar a quantidade, peso, estado reprodutivo, idade e espécie (Quadro 3) (BAUMANS & VAN LOO, 2012).

As gaiolas dos roedores devem possuir pisos recobertos com cama, o que propiciam aos animais a criação de um ambiente seguro para descansar e esconder, bem como para absorver as excretas (JEONG et al., 2011). Para tanto, as camas devem ser macias, isenta de odor e de agrotóxicos, sendo a mais recomendada a de maravalha de pinus (PASSOS et al., 2006). Além do mais, devem preferir gaiolas de policarbonato ou polipropileno, as quais podem ser autoclavadas (ANDRADE, 2006). Por outro lado, evitam-se gaiolas com fundos de grades vazadas, prevenindo-se assim acidentes (BAUMANS et al., 2010b).

Os lagomorfos por sua vez, se beneficiam de gaiolas grandes, com possibilidade para se locomoverem e saltarem, bem como de ambientes para se abrigarem e área para observar os acontecimentos ao redor. Sendo essa segunda benfeitoria garantida pela introdução de caixa de madeira (POGGIAGLIOLMI et al., 2011). São favorecidos também pelo fornecimento de feno ou de outros artefatos para roer (LIDFORS & EDSTROEM, 2010). Em um estudo com 13 coelhos durante seis semanas, com o suprimento de bola de borracha, tubos e anéis de papelão, utilizados para roer, estimularam tal comportamento, além de reduzir o tempo que o animal permaneceu sentado em ócio e o tempo gasto roendo a grade da gaiola. Dessa maneira, nenhum animal apresentou comportamento estereotipado. Foi sugerido que o roer dos brinquedos promove incorrer menos lesões bucais e melhor desgaste dental, quando comparado ao roer a grade (POGGIAGLIOLMI et al., 2011).

Ponderando sobre o refinamento ambiental, avaliam-se positivamente e negativamente os efeitos sobre a padronização do experimento. Alguns autores apontam que melhorias no ambiente geram estímulos variados aos animais, que pode acarretar no aumento das diferenças entre grupos avaliados e dificultar a detecção do efeito do tratamento, o que também aumentaria a diferença entre experimentos similares, diminuindo-se assim a reprodutibilidade dos resultados por outros pesquisadores (ESKOLA et al., 1999; TSAI et al., 2003). Por outro lado, outros autores não acreditam que as melhorias ambientais possam provocar o aumento das variações entre os resultados (POOLE, 1997; OLSSON et al., 2003). Ainda um deles ressaltou que animais mantidos em ambiente sob refinamento apresentam estados fisiológicos e psicológicos mais estáveis e compatíveis com o animal em vida livre. Sendo desta forma, considerados melhores modelos experimentais (POOLE, 1997).

FIGURA 2 – Gaiolas para criação de animais de laboratório. **(A, B)** – gaiolas para roedores. **(A)** – gaiola transparente, facilita a avaliação dos animais. **(B)** – gaiola com níveis e abrigo. **(C, D)** – gaiolas para lagomorfos. **(C)** – gaiola grande, com abrigo e possibilidade de ver ao redor, enriquecida com feno. **(D)** – gaiola de plástico, pequena que garante abrigo e interação social por contato físico e visual. **(ponta de seta)** – cobertura, “cama” para as gaiolas.

Fonte: Adaptado de BAUMANS & VAN LOO (2012).

A fim de evitar grandes discussões, o refinamento ambiental deve ser bem planejado, buscando o balanço entre os interesses dos pesquisadores e instituição, bem como o bem-estar dos animais (BAUMANS et al., 2010c), e não apenas realizar inclusão aleatória de artefatos, considerados atrativo aos animais (VAN LOO et al., 2005). Para os animais, o interesse é a melhoria do bem-estar, enquanto para os pesquisadores, se a alteração do bem-estar animal influenciará na validação dos resultados científicos. Por fim, para a instituição, a avaliação dos custos, satisfação dos técnicos dos biotérios e a política interna frente a implantação das melhorias deve ser considerada (BAUMANS et al., 2010c).

QUADRO 3 – Tamanho das gaiolas para camundongos, ratos e coelhos a depender do peso e da espécie dos animais

Espécie	Peso (g ou Kg)	Área/animal (cm² ou m²)	Altura (cm)
Camundongo	<10 g	38 cm ²	12,7
	10 – 15 g	51 cm ²	12,7
	15 - 25 g	77 cm ²	12,7
	> 25 g	> 96 cm ²	12,7
Ratos	< 100 g	109 cm ²	17,8
	100 – 200 g	148 cm ²	17,8
	200 – 300 g	187 cm ²	17,8
	300 – 400 g	258 cm ²	17,8
	400 – 500 g	387 cm ²	17,8
	> 500 g	> 451 cm ²	17,8
Coelho	< 2 Kg	0,14 m ²	40,5
	2 – 4 Kg	0,28 m ²	40,5
	4 a 5,4 Kg	0,37 m ²	40,5
	> 5,4 Kg	> 0,46 m ²	40,5

Fonte: Adaptado de BRASIL (2013).

b) Técnicas para a Eutanásia

A eutanásia consiste na indução da morte, de uma maneira humanitária, sem que cause dor ou sofrimento ao animal, sendo assim considerada uma técnica de refinamento na experimentação (BRASIL, 2013c). Na experimentação animal, tal procedimento deve ser considerado, ao final do experimento ou frente à incapacidade de controlar a dor, mesmo sob aplicação de analgésicos, ou ainda, quando ocorrer um incidente que inviabilize a utilização do animal para o objetivo do experimento (NIH, 2010). Para tanto, deve ser realizada, por um profissional treinado, com supervisão de um Médico Veterinário, empregando-se uma técnica aceitável para cada espécie (Quadro 4), além de respeitar os princípios éticos. Entende-se como métodos recomendáveis, aqueles que produzem uma morte humanitária, quando usados como métodos exclusivos de eutanásia. Adicionalmente, consideram-se métodos aceitáveis sob restrição, aqueles que por ter técnica difícil, geram riscos ao executor e risco de falhar ao induzir a morte do animal de maneira rápida, segura e indolor (BRASIL, 2012a).

QUADRO 4 – Métodos de eutanásia recomendáveis e aceitos sobre restrição para roedores e lagomorfos.

Ordem	Classificação do método	Método
Rodentia e Lagomorpha	Recomendáveis	Barbitúricos IV ou IP; Anestésicos injetáveis; Anestésicos inalatórios, seguido, se necessário, de outros procedimentos para assegurar a morte; Exsanguinação por punção cardíaca após anestesia geral.
Rodentia – ratos, camundongos.	Aceitos sobre restrição	CO ₂ ; Deslocamento cervical (camundongos <150g); Decaptação, com aparelho específico; Nitrogênio líquido (fetos e neonatos); Micro-ondas, com aparelho específico;
Lagomorpha – coelhos	Aceitos sobre restrição	Deslocamento cervical (<1Kg); Decaptação (<1Kg), com aparelho específico; Atordoamento por eletronarcole, seguido de outro método (abatedouro).

Fonte: adaptado de Brasil (BRASIL, 2013c).

Legenda: IV - intravenoso; IP – intraperitoneal.

A Pesquisa e a consciência dos 3Rs no Brasil

A pesquisa científica no mundo, bem como no Brasil teve uma grande evolução no final do século XX e início do século XXI, no quais pode-se observar o aumento do número de publicações científicas (Figura 3). De forma paralela e semelhante, houve crescimento do número de artigos publicados com os descritores ética, bem-estar e direito dos animais, fatos que mostraram a preocupação humana frente a utilização humanitária dos animais em pesquisas e ensino (PAIXÃO & SCHRAMM, 1999).

Os animais, especialmente os camundongos, ratos, coelhos e suínos são amplamente utilizados em pesquisas (Figura 4). Entretanto, nos últimos 40 anos observou-se a redução da utilização de animais nas pesquisas (Tabela 1). Isso demonstra a aplicabilidade dos princípios bioéticos. Tais alterações ocorridas são creditadas à maior pressão pública; exigência por parte das revistas, as quais colocaram a utilização de princípios bioéticos em artigos, como pré-requisitos à publicação; ao desenvolvimento tecnológico, que permitiu a criação de métodos alternativos à utilização de animais; aos pesquisadores que buscaram planejar melhor os experimentos, buscando a padronização do ambiente, bem como de animais, reduzindo assim a amostragem; aos órgãos de fomento, que passaram a exigir a aprovação prévia do projeto por uma comissão de ética e por fim, a criação das normatizações que regulam a utilização dos animais em pesquisas e ensino (RAMALI et al., 2012).

FIGURA 3 – Número de artigos brasileiros indexados pela *Scopus* e percentual em relação ao mundo, 1996-2013
Fonte: BRASIL (2013)

A utilização dos princípios dos 3Rs teve larga aceitação no mundo como uma ferramenta fundamental para elevar o bem-estar animal e a qualidade das pesquisas. De forma semelhante, o Brasil, nas últimas duas décadas, mostrou substancial progresso nos aspectos de conduta e fiscalização das pesquisas. Porém, apesar dos avanços, o país ainda esbarra em condições de pequena consciência tanto do público em geral, como da comunidade científica, inclusive entre os veterinários, no que diz respeito às inovações e legislação que determinam a forma correta da utilização dos animais em pesquisa (BAYNE et al., 2015).

FIGURA 4 – Gráfico em formato de pizza ilustrando o percentual de cada modelo animal utilizado na pesquisa. Total de animais 262.253, computados em artigos indexado pela Medline entre os anos 1998-2002.

Fonte: adaptado de FAGUNDES & TAHA (2004).

A adesão aos princípios dos Rs ganha adeptos a todo momento e está progredindo. Porém, um estudo no qual avaliaram-se 20 artigos relacionados a ecotoxicologia publicados entre 2010 e 2014, apontou alguns indícios de pequena adesão e pouca consciência dos princípios nesse segmento de pesquisa. Apenas 30% dos artigos avaliados adotaram medidas de Substituição; 53% dos artigos informaram sobre a realização da aclimatação dos animais e apenas 15% utilizou técnicas anestésicas, obedecendo assim o princípio de Refinamento. Por fim, apenas 20% dos artigos citaram aprovação do protocolo experimental por um comitê de ética (SILVA et al., 2015).

TABELA 1 – Quantidade de artigos* publicados, bem como percentual desses que envolveram animais em anos selecionados.

Ano	Artigos (unidade)	Artigos envolvendo animais
1968	423	18%
1978	18228	15%
1988	28005	10%
1998	30829	4,5%
2008	35350	7,5%

* Artigos indexados no *PubMed*, localizados na área biomédica filtrado com “Core Clinical Journal”.

Fonte: RAMALI ET AL. (2012).

A consciência pública é inicialmente comprometida pela falta de interesse da mídia em publicar as inovações conseguidas pelas pesquisas científicas. E além do mais, quando as fazem, ressaltam apenas as inovações conseguidas em pesquisas desenvolvidas nos Estados Unidos, Ásia ou Europa. Em adição, ocorre de maneira não surpreendente que o público em geral tem o desconhecimento sobre a importância da experimentação animal, dos princípios dos 3Rs, bem como da utilização destes pelos pesquisadores. Dessa maneira, justifica-se a ocorrência de casos como a invasão de um centro de pesquisas em São Paulo (BAYNE et al., 2015).

Por sua vez, a consciência da comunidade científica se intensificou nos últimos anos após a criação da lei nº 11.794, de oito de outubro de 2008, também conhecida por Lei Arouca e posteriormente pela instalação das comissões de éticas vinculadas a cada instituição. Com estas, criou-se a obrigatoriedade da solicitação de autorização pelos pesquisadores, para realizar qualquer pesquisa que utilizem animais. Tal solicitação é feita pelo preenchimento de formulário, o qual questiona os pesquisadores a respeito da possibilidade de utilização de métodos alternativos, sobre a possibilidade de reduzir o número de animais utilizando conhecimento estatístico, além de os forçar a procurar medidas de tratamento humanitário para a espécie a ser estudada. Tais exigências exercem pressão entre os pesquisadores para que conheçam os princípios e a legislação vigente. Adicionalmente, até os médicos veterinários, os quais são legalmente responsáveis pelos cuidados médicos com animais de laboratório, geralmente só conhecem tais princípios quando exercem funções em universidades, pesquisas ou biotério (MIZIARA et al., 2012).

Para garantir a evolução da consciência pública e a cultura dos pesquisadores a respeito da utilização dos animais na pesquisa e ensino é

imperativo que as partes reconheçam a interação entre a qualidade das pesquisas e o bem-estar animal. Dessa maneira, observou-se em vários estudos, os quais baseiam-se em pesquisas de opinião e meta-análises destes a evidência da educação em prol da aceitação da utilização dos animais em pesquisa. Sendo assim, observaram-se que quanto maior o nível de escolaridade (HAGELIN et al., 2003), a vivência dos universitários com experimentos (HAGELIN et al., 2000; HAGELIN et al., 2002), maior o conhecimento das leis, bem como dos benefícios da experimentação animal, maior é a aceitação pública a respeito da utilização de animais em pesquisa e ensino (METZGER, 2015). Para tanto, é proposto um treinamento que contemple considerações éticas, legais e os princípios dos 3Rs, bem como demonstre a maneira que os animais são harmonicamente conduzidos nesses ambientes. Tais ensinamentos devem ser ministrados pelas Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs) e pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) em todos os níveis de ensino, desde o primário, passando pelo fundamental e médio até chegar no superior (D'ACAMPORA et al., 2009; BAYNE et al., 2015).

Legislação Brasileira

O cumprimento da legislação é de extrema importância para padronizar e estabelecer condutas adequadas, as quais pressionam a evolução e buscam garantir a justiça às demasiadas áreas por meio do estabelecimento de penalidades aos infratores. No que se refere a interação homem/animal, a primeira normatização brasileira ocorreu de forma precoce em 1934. O decreto número 24.645 de dez de julho, normatizou que todos os animais existentes no país eram tutelados pelo Estado. Assim, todo cidadão que praticasse maus tratos aos animais, incorreria em multa e ou pena de prisão de dois a 15 dias. Para fins legais, nesse momento, era considerado animal todo o ser irracional, quadrúpedes ou bípedes, domésticos ou selvagens (BRASIL, 1934).

Nesse decreto, apesar de ter considerado maus tratos ações, principalmente, contra os animais que eram destinados à produção e tração animal, foi garantido alguns avanços importantes. A exemplo, destacou-se maus tratos as seguintes ações: praticar abuso ou crueldade; manter animais em lugares anti-higiênicos ou que impeçam a respiração, descanso ou privá-los ao ar e luz; obrigá-los ao trabalho excessivo; golpear ferir ou mutilar voluntariamente; não garantir assistência a animais doentes e feridos; não dar morte rápida ao animal em sofrimento; abater ou trabalhar com animais em período de gestação avançados; ministrar ensino com maus tratos físicos e deixar animais presos sem acesso à água e à comida por mais de 12 horas (BRASIL, 1934).

Ponderando sobre a utilização dos animais na prática didática e científica, a legislação só esboçou algumas considerações em 1979, ocasião em que a lei número 6.638 de oito de maio estabeleceu normas para a prática de vivissecção de animais. Sobre esse quesito, a vivissecção era permitida desde que se respeitassem alguns critérios como os biotérios e os centros de experiências registrados, os animais serem devidamente anestesiados sob a supervisão de um técnico, além de os animais possuírem no mínimo 15 dias de vida dentro do biotério. Acrescente-se que é vetada a realização de vivissecção em ambientes de ensino fundamental e médio, ou ambiente frequentado por menores de idade (BRASIL, 1979).

Já no final das décadas de 80 e 90 novos adendos foram adicionados. A constituição federal de 1988, artigo 225, proíbe qualquer prática que submeta os animais à crueldade, porém não descreveu este ato (BRASIL, 1988). Em 1998, a lei 9.605 de 12 de fevereiro, que dispõe sobre as condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, incluiu como crime ambiental atos abusivos e maus tratos aos animais. Impôs-se também infração, a submissão de animal a experiência dolorosa, mesmo que para fins didáticos ou de pesquisa, quando existir métodos alternativos. E prevê como sanções multa e detenção de três meses a um ano, sendo aumentadas caso ocorra a morte do animal (BRASIL, 1998).

Após esse momento e até a criação da legislação de 2008, ocorreu uma estagnação nos projetos de lei que normatizavam a criação ou a utilização dos animais destinados ao ensino e/ou as pesquisas científicas. Nesse período, a carência por orientações sobre condutas éticas foram dirimidas pelas organizações como a Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e pelo Centro Nacional para a Substituição Refinamento e Redução dos Animais em Pesquisa (NC3Rs), as quais foram posteriormente referenciadas para a criação das condutas brasileiras.

Portanto, afim de se preconizar posturas éticas concernentes ao desenvolvimento de estudos com modelo experimental animal a SBCAL, antigo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, filiada ao Conselho Internacional para Ciência de Animais de Laboratório (ICLAS), propôs algumas recomendações. As orientações dirigem-se tanto a instituições de ensino ou pesquisa, quanto aos pesquisadores, tratadores dos animais e a sociedade científica como um todo. Recomenda-se a manutenção de posturas respeitadas para com o animal, a consciência de que a sensibilidade do animal é semelhante à humana, nos quesitos dor, memória e angústia, considerar a relevância dos resultados e impactos esperados da experimentação para o conhecimento e ou bem da sociedade ou dos animais, utilizar apenas animais saudáveis e considerar a utilização de métodos alternativos, ou redução do número de animais (Substituição e Redução) (CIOMS & ICLAS, 2012).

Ainda considerando a postura respeitosa para com os animais, é fundamental utilizar métodos que previnam o desconforto (Refinamento), sendo realizado projeto piloto para o refino das técnicas a serem utilizadas no experimento; realizar procedimentos que provoquem dor ou angústia aos animais apenas quando anestesiados e não sobre contenção física ou utilização de neurobloqueadores; submeter os animais a eutanásia com método indolor e imediato e dispor de alojamentos com condições adequadas de conforto e higiene, conforme as necessidades de cada espécie. Por último, oferecer assistência profissional qualificada para orientar e realizar atividades de transporte, acomodação, alimentação e sanidade dos animais destinados a fins biomédicos, além de realizar monitoração dos animais diariamente (CIOMS & ICLAS, 2012).

Legislações vigentes

As legislações brasileiras contendo normatizações mais concretas a respeito da utilização de animais em ensino e pesquisas científicas só tiveram início em 2008, quando a lei 11.794, de oito de outubro revogou a lei 6.638 e estabeleceu os procedimentos para a criação e a utilização dos animais no meio científico. A

partir desse momento foram promulgadas diversas normatizações (Quadro 5) (BRASIL, 2008b).

QUADRO 5 – Lei, decreto e resoluções normativas brasileiras vigentes, que regulam a criação e utilização de animais em pesquisa ou ensino, dispostas em ordem cronológica

Lei, decreto, normativa	Data	Escopo
Lei nº 11.794 (Arouca) (BRASIL, 2008b)	8 de outubro de 2008	Estabelece procedimentos para o uso científico.
Decreto nº 6.899 (BRASIL, 2008a)	15 de julho de 2009	Dispõe sobre a composição do CONCEA e cria o CIUCA.
R.N. nº quatro (BRASIL, 2012b)	18 de abril de 2012	Dispõe sobre o uso do formulário unificado para solicitação de autorização para uso de animais em ensino e/ou pesquisa.
R.N. nº cinco (BRASIL, 2002)	14 de junho de 2012	Recomendações às agências de amparo e fomento à pesquisa.
R.N. nº seis (BRASIL, 2012c)	11 de julho de 2012	Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das CEUAs. Altera a R.N. nº um.
R.N. nº sete (BRASIL, 2012e)	13 de setembro de 2012	Dispõe sobre as informações relativas aos projetos submetidos as CEUAs por meio do CIUCA.
R.N. nº 13 (BRASIL, 2013c)	20 de setembro de 2013	Diretrizes recomendadas para prática de eutanásia
R.N. nº 15 (BRASIL, 2013b)	16 de dezembro de 2013	Baixa a estrutura física e ambiente de roedores e lagomorfos.
R.N. nº 16 (BRASIL, 2014a)	30 de abril de 2014	Altera critérios e procedimentos para o requerimento do CIAEP. Revoga a R.N. nº três e dez
R.N. nº 17 (BRASIL, 2014b)	Três de julho de 2014	Dispõe sobre o reconhecimento dos métodos alternativos ao uso de animais.
R.N. nº 18 (BRASIL, 2014c)	24 de setembro de 2014	Reconhece métodos alternativos ao uso de animais.

a) Disposições gerais

Esse conjunto de leis tem a finalidade de estabelecer os procedimentos para o uso científico de animais. Sendo assim determina como disposições gerais que a utilização de animais em atividades educacionais fica restrita para estabelecimentos de ensino superior ou de estabelecimentos técnicos profissionalizantes de nível médio da área biomédica. Para tanto, considera-se animal todo ser vivo do filo *Chordata* e subfilo *Vertebrata*, ou seja, todos animais que apresentem ao menos na fase embrionária a presença de notocorda, fendas brânquias na faringe, tubo nervoso dorsal único, além de possuir encéfalo grande, protegido por uma caixa craniana e possua uma coluna vertebral, desde que não sejam primatas humanos (BRASIL, 2009). Adicionalmente, determina experimento, como todos os procedimentos realizados com animais vivos com o intuito de esclarecer fenômenos biológicos, fisiológicos ou patológicos. Dessa maneira, exclui-se então a profilaxia e tratamento veterinário aos animais doentes e intervenções relacionadas às práticas agropecuárias (BRASIL, 2008a).

b) Concelho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA

Para coordenar os procedimentos que envolvam animais criou-se um conselho multidisciplinar com as funções de caráter consultivo, deliberativo, recursal e normativo. Compete ao CONCEA as seguintes atribuições: formular e zelar pelo cumprimento das normas relativas à utilização humanitária de animais; credenciar instituições para criação ou utilização de animais por meio do CIEP, após cadastro na CIUCA; monitorar e validar a introdução de métodos alternativos; manter o cadastro das instituições, projetos e pesquisadores em andamento ou concluídos atualizado; apreciar e decidir sobre recursos às penalizações propostas pelas CEUAs e aplicar as penalidades previstas na lei (BRASIL, 2008a).

Para o desempenho dessas diversas funções que competem ao CONCEA formou-se uma equipe e criou-se as CEUAs. A equipe do conselho é sempre presidida pelo Ministro da Ciência Tecnologia e Inovação e integrada por um representante de cada entidade e dois membros representantes das sociedades protetoras de animais, além de seus suplentes. As entidades contempladas são CNPq, Ministério da Educação, Ministério do Meio Ambiente, Ministério da Saúde, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Conselho de Reitores das Universidades do Brasil, Academia Brasileira de Ciências, Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Federação das Sociedades de Biologia Experimental, SBCAL e Federação Nacional da Indústria Farmacêutica (BRASIL, 2008a). Tais membros devem ter título acadêmico de Doutor ou equivalente, não são remunerados, possuem mandato por dois anos e tem direito a voto. As ações são então realizadas de acordo com a maioria dos votos em reuniões com ocorrência mínima a cada trimestre.

c) Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

A Comissão de Ética no Uso de Animais é vinculada a uma ou a um grupo de instituições e tem o dever de cumprir e fazer as instituições, pesquisadores e comunidade científica cumprirem as resoluções do CONCEA. Também possui

função de manter o cadastro de todos os projetos e pesquisadores atualizados de forma a enviá-los ao conselho por meio do CIUCA. Com poder fiscalizatório avalia com frequência mínima anual, o andamento e investiga acidentes causados aos animais em experimentação, além de verificar instalações. Dessa maneira, caso encontre algum descumprimento pode determinar a paralisação destes, até que a irregularidade seja sanada (BRASIL, 2008a). Como papel educador deve-se divulgar as normas vigentes e incentivar a adoção dos princípios dos 3Rs no uso de animais em pesquisa e ensino (BRASIL, 2011).

As CEUAS também possuem a responsabilidade de avaliar previamente todos os projetos de pesquisa e “formulários unificados para solicitação de autorização para o uso de animais em ensino e ou pesquisa” ou similar (Anexo A), a fim de determinar a compatibilidade com a legislação aplicável (BRASIL, 2008a). Para tanto, os pesquisadores devem preencher o formulário e anexar uma cópia do projeto de pesquisa, o termo de responsabilidade, a certidão de aprovação do projeto na Unidade de ensino e, em casos de utilização de animais com tutores, um modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Esses documentos então, devem ser protocolados de maneira pessoal à secretaria da CEUA, com no mínimo 30 dias antes da data prevista da próxima reunião da comissão. Qualquer alteração do projeto original deve ser autorizada pela CEUA. Sendo assim, possibilita-se a CEUA emitir parecer enquadrando o projeto de pesquisa em aprovado, com pendência, não aprovado e retirado (BRASIL, 2011). Mais adiante, com o projeto em curso, o responsável deve assegurar o manejo e a criação ética no uso dos animais, garantindo treinamento a todos os envolvidos nessa função.

A comissão é formada por cidadãos brasileiros com no mínimo nível superior e de preferência deve conter docentes e pesquisadores da instituição a ela vinculada. É composta por cinco representantes e deve estar minimamente integrada por médicos veterinários e ou biólogos, professores pesquisadores que realizem experimentos e um representante de sociedades protetoras. Com essa formação a comissão se reúne uma vez ao mês, a fim de deliberar as obrigações (BRASIL, 2011).

d) Credenciamento Institucional para Atividades com Animais em Ensino ou Pesquisa – CIAEP

A fim de garantir a liberação para realizar atividades e projetos que envolvam a produção, a manutenção e a utilização de animais para ensino ou pesquisa, as instituições devem ser credenciadas pelo CONCEA. Para tanto, podem solicitar o CIAEP junto ao CONCEA as instituições de direito público ou privado que forem formadas sob as leis brasileiras, possuírem estrutura física adequada, de acordo com os requisitos de cada espécie, ter pessoal qualificado para a utilização de animais e possuir uma CEUA. Nesses quesitos, avaliam-se o comprovante de inscrição no Cadastro Nacional de Pessoa Jurídica (CNPJ); comprovante de registro no CIUCA; alvará de funcionamento expedidos pelos órgãos competentes, incluindo o CFMV (BRASIL, 1992); currículo Lattes do responsável pelo biotério e dos membros da CEUA; plantas baixas das áreas e instalações utilizadas para todas as etapas, desde a criação até utilização dos animais; lista dos biotérios; além de um relatório que contenha os procedimentos operacionais padrão e medida de controle sobre o alojamento e manejo dos animais, incluindo temperatura, umidade,

ventilação, ruído, vibração, nível de biossegurança, dieta, cama, limpeza dos recintos, eliminação dos resíduos e identificação dos animais (BRASIL, 2014a).

O CIAEP, uma vez adquirido, tem validade de cinco anos, devendo ser renovado ao findar desse prazo. Durante esse período, caso ocorra extensão ou alteração do nível de segurança do biotério, deve-se requerer, respectivamente, a extensão ou revisão do credenciamento. Por outro lado, o CIAEP pode ser suspenso ou cancelado pelo CONCEA, caso a instituição descumpra as normas de produção, manutenção e uso de animais para atividade de ensino e pesquisa (BRASIL, 2014a).

e) Infrações

Considera-se infrações administrativas toda ação ou omissão, de pessoa física ou jurídica, que viole as normas prevista em lei. Dessa maneira, é considerada infração a criação ou utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa por uma pessoa física em atuação autônoma, ou por uma instituição sem o prévio CIAEP. Adiciona-se a omissão de cuidados especiais previstas aos animais nos projetos de pesquisa, antes, durante e após as intervenções; a realização de procedimentos que possam causar dor, sem sedação, analgesia ou anestesia; a utilização de relaxantes musculares e bloqueadores neuromusculares em substituição a substâncias anestésicas ou analgésicas; reutilizar o mesmo animal após ter alcançado o objetivo do estudo; realizar pesquisas científicas sem a supervisão de um profissional de nível superior graduado na área biomédica; iniciar experimentos com animais sem a aprovação do projeto de pesquisa pela CEUA vinculada à instituição de ensino sede do experimento; realizar eutanásia sem levar em consideração a espécie, o método recomendado e os princípios éticos inerentes a essa prática (BRASIL, 2009).

A supervisão das infrações administrativas cabe a qualquer cidadão, sendo que ao suspeitar de quaisquer infrações, deve-se comunicar aos órgãos fiscalizatórios como a CEUA, CONCEA e aos departamentos de fiscalização dos Ministérios que compõe esse conselho, a fim de exercer o poder de polícia (BRASIL, 2009).

f) Penalidades

Em casos de descumprimento das condutas éticas administrativas, tanto a instituição, quanto os pesquisadores podem ser penalizados. As sanções aplicadas às instituições podem ser advertência, multa que varia de cinco mil a 20.000 reais, interdição temporária, suspensão de financiamentos e por último, e em caráter de infração gravíssima, interdição definitiva. Por sua vez, o pesquisador, como pessoa física, também pode receber advertências, multa a variar de mil a cinco mil reais, suspensão temporária e por último, em caráter gravíssimo, com suspensão definitiva para o exercício de atividades de pesquisa ou ensino que utilize animais. As penalidades, bem como o valor das multas são selecionadas de acordo com a natureza das infrações, as quais levam em considerações aspectos como gravidade da infração, presença de antecedentes, grau de sofrimento e consequências geradas ao animal e culpabilidade do infrator (Quadro 6). De forma a prevenir novas infrações, o dinheiro arrecadado com as multas é utilizado pelo

CONCEA, para promoção e incentivo a utilização de animais de forma ética (BRASIL, 2009).

QUADRO 6 – Possíveis sanções aplicadas de acordo com o tipo de pessoa e a natureza da infração, de acordo com o decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009 (BRASIL, 2009).

Natureza da infração	Sanções	
	Pessoa jurídica	Pessoa Física
Leve	Advertência R\$ 5.000,00 – 10.000,00	Advertência R\$ 1.000,00 – 2.000,00
Grave	Interdição temporária Suspensão do financiamento R\$ 10.001,00 – 15.000,00	Suspensão temporária R\$ 2.001,00 – 4.000,00
Gravíssima	Interdição definitiva R\$ 15.001,00- 20.000,00	Interdição definitiva R\$ 4.001 – 5.000,00

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde a publicação dos princípios dos três Rs as organizações, agências governamentais e os cientistas de todo o mundo tentam introduzir as ferramentas de Substituição, Redução e Refinamento para promover o bem-estar dos animais. Assim sendo, paralelamente, ocorre a homogeneização das condutas, melhoram a qualidade e a aceitação internacional das pesquisas científicas, além de melhorar a aceitação pública às pesquisas e ensino que se utilizem animais.

Apesar da crescente adoção das normas e dos expressivos benefícios da utilização dos princípios dos três Rs, ainda existem algumas dificuldades nas implantações destes. Sendo o primeiro entrave, observado na dificuldade de conceituar, qualificar e quantificar o bem-estar animal. Cabe aos pesquisadores observarem a interação do animal com ambiente, expressão comportamental e parâmetros físicos e clínicos inerentes à espécie estudada. A cerca do princípio de Redução, mesmo em centros universitários, com presença de estatísticos experientes, encontra-se dificuldade de prever valores ideais da amostragem em experimentos iniciais. Dificuldade essa, que pode ser atribuída à falta de conhecimento das médias a serem estudadas e dos erros totais esperados.

Com relação ao Refinamento, sabe-se que não basta o fornecimento de água e de comida *ad libitum*, mas sim um conjunto de técnicas e aperfeiçoamento desde o transporte até a eutanásia dos animais. Porém as implantações de técnicas de refinamento, principalmente ambiental, devem conter preocupações a respeito da interação Refino X Pesquisa. Interação essa, que dependerá das técnicas de refino utilizadas, idade, espécie e gênero dos animais, bem como parâmetros a serem avaliados. Sendo assim, tais mudanças no ambiente devem estar bem documentadas nos experimentos, a fim de facilitar a interpretação dos resultados e garantir a reprodutibilidade desse.

Considerando sobre o princípio de Substituição, encontra-se nesse os maiores investimentos e as maiores apostas para a redução da utilização dos animais em pesquisa e ensino e consequentemente melhoria do bem-estar animal. O Brasil possui atualmente 17 métodos alternativos credenciados os quais deverão ser implementados em no máximo cinco anos. Diante disso fica a pergunta: Será que até lá os países em desenvolvimento estarão preparados para aplicar tais métodos?

A crescente adoção de condutas pró bem-estar animal e criação e adequação às leis devem-se aos esforços de algumas entidades e acontecimentos. Sendo assim, destacam-se as discussões, sejam elas favoráveis ou desfavoráveis acerca da utilização dos animais, os órgãos de fomento, as revistas e as organizações como a Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e por fim as Comissões de Ética para Uso de Animais (CEUAs).

As discussões ressaltaram e pressionaram os pesquisadores e governantes sobre a necessidade de rever e prover mudanças quanto a utilização de animais em pesquisas e ensino. Os órgãos de fomento à pesquisa e revistas científicas, com a exigência de aprovação prévia de projetos pelas CEUAs, exigem como pré-requisito a liberação de verbas e aceitação de artigos respectivamente. Por sua vez, as sociedades de ciência em animais de laboratório, como a SBCAL anteciparam a criação de leis para o uso didático-científico de animais e estabeleceram condutas a serem seguidas. E por fim, as CEUAs, com mínimo de burocracia, protegem as pesquisas, os pesquisadores bem como o bem-estar dos animais, pela acareação dos projetos de pesquisas.

As pesquisas no Brasil assim como no mundo vivenciaram uma evolução, tendo com base o número de artigos publicados. Focando às pesquisas nas áreas biomédicas essa evolução veio também acompanhada pela evolução das tecnologias médicas. Porém, pela atual conjuntura financeira do país, principal financiador das pesquisas brasileiras, acredita-se em uma redução dos financiamentos, bolsas de estudos e consequentemente retardo no crescimento científico.

As leis brasileiras que se referem aos animais tiveram início precoce, entretanto, as que normatizam a utilização dos animais nas pesquisas e ensino só foram elaboradas em 2008. Por outro lado, já se observa adequações e adaptação por parte das instituições de ensino, visto a criação das CEUAs. Outro fato importante e mais evidente foram as alterações realizadas no ensino, sobretudo no ensino de cursos que envolvam diretamente a utilização dos animais. Nesses, a exemplo do sucedido na EVZ-UFG, ocorrem intensas mudanças na forma, na origem e no destino dos animais. Observa-se que muitas vezes a lei é pouco rigorosa, a exemplo a necessidade mínima de apenas uma vistoria ao ano aos biotérios de experimentação animal. E por outro lado ainda, se vê com pouco ímpeto a realização de treinamentos e educação continuada por parte das sociedades para ciência em animais de laboratório e CEUAs, para com a população em geral e para a comunidade científica.

Finalmente, observa-se que a educação é fundamental para a disseminação dos princípios bioéticos e da legislação vigente, bem como as infrações, penalidade e fiscalização. Sendo assim, trabalhos como este tem suma importância para esclarecimento e uniformização dos conhecimentos entre os pesquisadores, os quais posteriormente perante esses conhecimentos constroem

um ambiente de pesquisa e ensino mais harmonioso entre as relações objetivo da pesquisa X resultados e impactos esperados X bem-estar animal. Assim, facilita o aceite do público frente a utilização de animais em pesquisa e ensino.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C. R. **A utilização de símios do gênero *Callithrix* como modelo experimental**. 2006. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br/artigo4.htm>> Acesso em: 14 de out. 2006.

BAUMANS, P. L. P.; VAN LOO, P. L. P. How to improve housing conditions of laboratory animals: the possibilities for environmental refinement. **The Veterinary Journal**, v. 195, n. 1, p. 24-32, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023312004212>>. doi: 10.1016/j.tvjl.2012.09.023

BAUMANS, V. Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits and research. **ILAR Journal**, v. 46, n. 2, p. 162-170, 2005. Disponível em: <<https://ilarjournal.oxfordjournals.org/content/46/2/162.full.pdf+html>>. doi: 10.1093/ilar.46.2.162

BAUMANS, V. **The impact of the environment on laboratory animals**. In: Animal models as tools in ethical biomedical research, Universidade Federal de São Paulo, p. 15-23, 2010a.

BAUMANS, V.; AUGUSTSSON, H.; PERRETTA, G. Animal needs and environmental refinement. In: HOWARD, B.; NEVALAINEN, T.; PERRETTA, G.; editors. **The COST manual of laboratory animal care and use, refinement, reduction and research**. London: CRC Press, p. 75-100, 2010b.

BAUMANS, V.; VAN LOO, P. L. P.; PHAM, T. M. Standardisation of environmental enrichment for laboratory mice and rats: utilization, practicality and variation in experimental results. **Scandinavian Journal Laboratory Animal Science**, v. 37, p. 1-14, 2010c. Disponível em: <<http://sjlas.org/index.php/SJLAS/article/view/209/188>>.

BAYNE, K.; RAMACHANDRA, G. S.; RIVERA, E. A.; WANG, J. The evolution of animal welfare and the 3Rs in Brazil, China, and India. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 54, n. 2, p. 181-191, 2015. Disponível em: <<http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC4382623&blobtype=pdf>>

BRASIL, MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos: DBCA**. Conceia, p. 1-50, 2013a.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências**. Resolução nº 1000 11 maio 2012. Diário Oficial da União. 17 maio 2012; seção 1, p. 124-125. 2012a.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Enquadra as entidades obrigadas à registros na Autarquia, dá outras providências.** Resolução Normativa nº592 de 26 junho 1992. Diário Oficial (27 out 1992). 1992.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Altera os critérios e procedimentos para requerimento, emissão, revisão, extensão, suspensão e cancelamento do CIAEP das instituições que produzem, mantêm ou utilizam animais para ensino ou pesquisa científica.** Resolução normativa nº 16 de 30 abril 2014. Diário Oficial da União (2 maio 2014); Seção 1, p. 8. 2014a.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Baixa recomendação as agências de amparo e fomento à pesquisa científica.** Resolução normativa nº5 de 14 junho 2002. Diário Oficial da União (18 junho 2012); Seção 1, p. 62. 2002.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Dispõe sobre o reconhecimento de métodos alternativos ao uso de animais em atividades de pesquisa no Brasil e dá outras providências.** Resolução normativa nº17 de 3 julho 2014. Diário Oficial da União (4 julho 2014); Seção 1, p. 51-52. 2014b.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Dispõe sobre a utilização do formulário unificado para solicitação de autorização para uso de animais em ensino e/ou pesquisa pelas CEUAs e dá outras providências.** Resolução normativa nº 4 18 abril 2012. Diário Oficial da União (19 abril 2012); Seção 1, p. 7. 2012b.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das CEUAs.** Resolução normativa nº 6 de 11 julho 2012. Diário Oficial da União (11 julho 2012); Seção 1, p. 13. 2012c.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Dispõe sobre as informações relativas aos projetos submetidos as CEUAs por meio do CIUCA.** Resolução normativa nº 7 de 13 set 2012. Diário Oficial da União (17 set 2012); Seção 1, p. 2012d.

BRASIL. Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. **Baixa a estrutura física e ambiente de roedores e lagomorfos do Guia Brasileiro de Criação e Utilização de Animais de Ensino e Pesquisa Científica.** Resolução normativa nº 15 16 de dez 2013. Diário Oficial da União. 2013 dez; seção 1, nº245, p. 9-12. 2013b.

BRASIL. **Constituição 1988.** Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília (DF): Senado; 1988.

BRASIL. **Decreto-lei. Decreto-lei nº 6.899 de 15 julho 2009. Dispões sobre a composição do CONCEA, estabelece às normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria – Executiva, cria o CIUCA, mediante a regulamentação da lei nº 11.794 de 8 out 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais e dá outras providências.** Diário Oficial da União (16 julho 2009); Seção 1, p. 2. 2008.

BRASIL. **Governo Provisório da República dos Estados Unidos do Brasil.** Confere o art. 1º do dec. nº19.398. Decreto nº24. 645 10 julho 1934. Diário Oficial da União. 1934.

BRASIL. **Lei nº 6.638 de 08 maio 1979. Estabelece normas para a prática Didático-Científico da vivisseção de animais e determina outras providências.** Diário Oficial da União, Brasília (10 maio 1979); Seção 1, p. 6537. 1979.

BRASIL. **Lei nº 9.605 de 12 fev 1998. Dispõe sobre as sanções penais administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente e dá outras providências.** Diário Oficial da União. Brasília (13 fev 1998); Seção 1, p. 1. 1998.

BRASIL. **Lei nº 11.794 de 08 de out de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.** Diário Oficial da União, Brasília (9 out 2008); Seção 1, p. 1. 2008a.

BRASIL. **Lei nº 11.794 de 8 out 2008. Estabelece procedimentos para uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638 de 8 maio 1979 e dá outras providências.** Diário Oficial da União, Brasília (9 out 2008); Seção 1, p.1-2. 2008b.

BRASIL. **Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação. Institui a Rede Nacional de Métodos Alternativos – RENAMA.** Portaria nº 491 de 3 de julho de 2012. Diário Oficial. Seção 1, p.19. 2012e.

BRASIL. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal – CONCEA.** Anexo à Resolução Normativa nº 13 de 20 set 2013. Diário Oficial da União. 26 set 2013. p. 5. 2013c.

BRASIL. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Reconhece métodos alternativos ao uso de animais em atividades no Brasil.** Resolução normativa nº 18 de 24 Set 2014. Diário Oficial da União; Seção 1, nº 185, quinta-feira, 25 de setembro de 2014: p. 9. 2014c.

BRASIL. **Ministério da Educação.** Universidade Federal de Goiás. Regimento interno da Comissão de Ética no Uso de Animais. Portaria nº 1.886 de 18 maio 2011: p. 1-6. 2011.

CHORILLIN, M.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Revista de Ciências Farmaceuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007. Disponível em: <<http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/70144/2-s2.039549101989.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>.

CIOMS & ICLAS. **International guiding principles for biomedical research involving animals**, p. 3, 2012.

CONCEA, CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.** Disponível em: <<http://mct.gov.br/index.php/content/view/310553.html>> Acesso em: 30 out. 2015.

D'ACAMPORA, A. J.; ROSSI, A. F.; ELY, J. B.; VASCONCELLOS, Z. A. Is animal experimentation fundamental?. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 24, n. 5, p. 423-425, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/acb/v24n5/15.pdf>>. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502009000500015>

DAMATTA, R. A. Modelos animais na pesquisa biomédica. **Scientia Medica**, v. 20, n. 3, p. 210-211, 2010.

DOKE, S. K.; DHAWALE, S. C. Alternatives to animal testing: a review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 23, p. 223-229, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016413001096>>. doi: 10.1016/j.jsps.2013.11.002

ESKOLA, S.; LAUHIKARI, M.; VOIPIO, H. M.; LAITINEN, M.; NEVALAINEN, T. Environmental enrichment may alter the number of rats needed to achieve statistical significance. **Scandinavian Journal Laboratory Animal Science**, v. 26, p.134-144, 1999.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo experimental de doenças: critérios de escolha de espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 59-65, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/acb/v19n1/v19n1a10.pdf>>. doi:10.1590/S0102-86502004000100010

FLECKNELL, P. Replacement, reduction and refinement. **Altex: Alternativen zu Tierexperimenten**, v. 19, n. 2, p. 73-78, 2002. Disponível em: <http://vpresearch.louisiana.edu/sites/research/files/Altex_2002_2_073_078_Flecknell.pdf>.

HAGELIN, J.; CARLSSON, H. E.; HAU, J. An overview of surveys on how people view animal experimentation: some factors that may influence the outcome. **Public Understanding Of Science**, v. 12, n. 1, p. 67-81, 2003. Disponível em: <<http://pus.sagepub.com/content/12/1/67.short>>. doi: 10.1177/0963662503012001247

HAGELIN, J.; HAU, J.; CARLSSON, H. E. Attitude os Swedish veterinary and medical students to animal experimentation. **Veterinary Record**, v. 146, n. 26, p. 757-60, 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Jann_Hau/publication/12409372_Attitude_of_Swedish_veterinary_and_medical_students_to_animal_experimentation/links/0c96052f21daaba36f000000.pdf>. doi: 10.1136/vr.146.26.757

HAGELIN, J.; JOHANSSON, B.; HAU, J.; CARLSSON, H. E. Influence of pet ownership on opinions towards the use of animals in biomedical research. **Anthrozoos**, v. 15, n. 3, p. 251-257, 2002. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2752/089279302786992540>>. doi: 10.2752/089279302786992540

HENDRIKSEN, C. F. Replacement, reduction and refinement alternatives to animal use in vaccine potency measurement. **Expert Review Of Vaccines**, v. 8, n. 3, p. 313-322, 2009. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/14760584.8.3.313>>. doi: 10.1586/14760584.8.3.313

HUBRECHT, R. C. **Enrichment: animal welfare and experimental outcomes**. In: HUBRECHT, R. C, KIRKWOOD, J.; eds. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals. 8th. Oxford: Wiley Blackwell, p. 136-46, 2010.

JEONG, Y. H.; KIM, J. M.; LEE, S. H.; KIM, H. S.; SUH, Y.H. Environmental enrichment compensates for the effects of stress on disease progression in Tg2576 mice, an Alzheimer's disease model. **Journal of Neurochemistry**, v. 119, n. 6, p. 1282-1293, 2011. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-4159.2011.07514.x/epdf>>. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07514.x

KNIGHT, A.; BAILEY, J.; BALCOMBE, J. Animal carcinogenicity studies alternatives to the bioassay. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 34, p. 39-48, 2006. Disponível em: <<http://www.anknight.org/resources/Publications/Animal-research--toxicity-testing/AK-et-al-Carcino-3-ATLA-2006-34-1.pdf>>.

KULESSKAYA, N.; RAUVALA, H.; VOIKAR, V. Evaluation of social and physical enrichment in modulation of behavioural phenotype in C57BL/6J female mice. **Plos One**, v. 6, n. 9, p. 247-255, 2011. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0024755>>. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0024755>

LADWIG, J. **Chronic intermittent stress: a model for the study of long-term stressors**. In: MÖBERG, G. P.; MENCH, J. A.; eds. The biology of animal stress. Oxon, UK: CAB International, p. 159-69, 2000.

LIDFORS, L.; EDSTROM, T. **The laboratory rabbit**. In: HUBRECHT RC, KIRKWOOD J, eds. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals. 8th. Oxford: Wiley Blackwell, p. 399-417, 2010.

MARQUES, R. G.; MIRANDA, M. L.; CAETANO, C. E. R.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P. Rumo à regulamentação da utilização de animais no ensino e na pesquisa científica no Brasil. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 262-267, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/acb/v20n3/a13v20n3.pdf>>. doi: 10.1590/S0102-86502005000300013

METZGER, M. M. Knowledge of the animal welfare act and animal welfare regulations influences attitudes towards animal research. **Journal the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 54, n. 1, p. 70-5, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4311745/pdf/jaalas2015000070.pdf>>.

MIZIARA, I. D.; MAGALHÃES, A.; SANTOS, M.; GOMES, E. F.; OLIVEIRA, R. Research ethics in animal models. **Brazilian Journal Otorhinolaryngology**, v. 78, n. 2, p. 128-131, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjorl/v78n2/en_v78n2a20.pdf>. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1808-86942012000200020>

NIH, NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. **Guidelines for pain and distress in Laboratory Animals: responsibilities, recognition and alleviation**. Issuing Office: OACU, 2010.

OECD. **Acute oral toxicity – acute toxic class method**. OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD Publish, p. 14, 2001a.

OECD. **Acute oral toxicity – fixed dose procedure**. OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD Publish, p.14, 2001b.

OECD. **Acute oral toxicity – up and down procedure.** OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD Publish, p. 26, 2001c.

OECD. **Bovine corneal opacity and permeability test method for identifying i) chemicals inducing serious eye damage and ii) chemicals not requiring classification for eye irritation or serious eye damage.** OECD Draft update guideline 437 for the testing of chemicals. OECD Publish, p.19, 2012a.

OECD. **Fluorescein leakage test method for identifying ocular corrosives and severe irritants.** OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD Publish, p. 16, 2012b.

OECD. **Guidance document on using cytotoxicity tests to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests.** OECD environment. health and safety publications. OECD Publish, p. 54, 2010a.

OECD. **In vitro 3T3 NRU phototoxicity test.** OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD Publish, p. 15, 2004a.

OECD. **In vitro mammalian cell micronucleus test.** OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD Publish, p. 24, 2012c.

OECD. **In vitro membrane barrier test method for skin corrosion.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, p. 15, 2006.

OECD. **In vitro skin corrosion: reconstructed human epidermis (RHE) test method.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, p. 33, 2014.

OECD. **In vitro skin corrosion: transcutaneous electrical resistance test method (TER).** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, p. 20, 2013a.

OECD. **In vitro skin irritation: reconstructed human epidermis test method.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, p. 21, 2013b.

OECD. **Isolated chicken eye test method for identifying i) chemicals inducing serious eye damage and ii) chemicals not requiring classification for eye irritation or serious eye damage.** OECD guidelines for the testing of chemicals. OECD Publish, p. 20, 2013c.

OECD. **Skin absorption: in vitro method.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, p. 8, 2004b.

OECD. **Skin sensitization: local lymph node assay.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, v. 429, p. 20. 2010b.

OECD. **Skin sensitization: local lymph node assay: BrdU-ELISA.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, p. 15, 2010c.

OECD. **Skin sensitization: local lymph node assay: DA.** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publish, p. 16, 2010d.

OLSSON, I. A. S.; NEVISON, C. M.; PATTERSON-KANE, E. G.; SHERWIN, C. M.; VAN DE WEERD, H. A.; WÜRBEL, H. Understanding behavior: the relevance of ethological approach in laboratory animal science. **Applied Animal Behaviour Scienc**, v. 81, n. 3, p. 245-264, 2003. Disponível em:

<[http://www.appliedanimalbehaviour.com/article/S0168-1591\(02\)00285-X/pdf](http://www.appliedanimalbehaviour.com/article/S0168-1591(02)00285-X/pdf)>. doi:
[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00285-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00285-X)

PAIXÃO, R. L.; SCHRAMM, F. R. Ethics and animal experimentation what is debated?. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 15, n. 1, p. 99-110, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.org/pdf/csp/v15s1/0341.pdf>>. doi:
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1999000500011>

PASSOS, L. A. C.; LIMA FILHO, A. F.; MENCARELLE, M. M.; JESUS, J. R. **Auto suficiência na criação de maravalha utilizada na criação de animais de laboratório**. 2006. Disponível em: <<http://www.cobes.org.br/artigo5.htm>> Acessado em: 14 out. 2006.

POGGIAGLIOLMI, S.; CROWELL-DAVIS, S. L.; ALWORTH, L. C.; HARVEY, S. B. Environmental enrichment of New Zealand White rabbits living in laboratory cages. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 6, n. 6, p. 343-50, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1558787810002479>>. doi:
10.1016/j.jveb.2010.12.001

POOLE, T. B. Happy animals make good science. **Laboratory Animals**, v. 31, n. 2, p. 116-24, 1997. Disponível em: <<http://lan.sagepub.com/content/31/2/116.full.pdf+html>>. doi:10.1258/002367797780600198

RAMALI, E. L. J. R.; HO, W.; ALVES, M.; ROCHA, E. M. Progresso na ética em experimentação animal: o estudo de caso de uma escola médica brasileira e da literatura médica internacional. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 27, p. 659-663, 2012.

RILEY, V. Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia. **Science**, v. 212, n. 4499, p. 1109-1110, 1981. Disponível em: <<http://science.sciencemag.org/content/212/4499/1100>>. doi: 10.1126/science.7233204

RUSSEL, W. M. S. The progress of humane experimental technique. **Alternatives to Laboratory Animal**, v. 37, p. 277-283, 2009.

RUSSELL, W. M. S.; BURCH, R. L. The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Company, 1959.

SHAY, J. W.; WRIGHT, W. E. The use of telomerized cells for tissue engineering. **Nature Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 22-23, 2000. Disponível em: <http://www.nature.com/nbt/journal/v18/n1/pdf/nbt0100_22.pdf>. doi: 10.1038/71872

SILVA, J. S.; ROCHA, I. K. B. S.; FREITAS, L. C.; PEREIRA, N. J.; NETA, R. N. C. Princípios bioéticos aplicados aos estudos ecotoxicológicos aquáticos. **Revista Bioética**, v. 23, n. 2, p. 409-418, 2015. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/pdf/3615/361540658020.pdf>>. doi:
<http://dx.doi.org/10.1590/1983-80422015232079>

SILVA, O.; BASKETTER, D. A.; BARRATT, M. D.; CORSINI, E.; CRONIN, M. T.; DAS, P. K.; PONEE, M. Alternative methods for skin sensitization testing. **Atla Nottingham**, v. 24, p. 683-706, 1996.

TANNENBAUM, J. **Ethics in biomedical animal research: the key role of the investigator**. In: CONN, M.; editor. *Animal models for the study of human disease*. Amsterdam: Elsevier, p. 3-36, 2013.

TANNENBAUM, J.; BENNETT, B. T. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 54, n. 2, p. 120-132, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4382615/pdf/jaalas2015000120.pdf>>.

TSAI, P. P.; STELZER, H. D.; HEDRICH, H. J.; HACKBARTH, H. Are the effects of different enrichment designs on the physiology and behaviour of DBA/2 mice consistent?. **Laboratory Animals**, v. 37, n. 4, p. 314-27, 2003. Disponível em: <<http://lan.sagepub.com/content/37/4/314.full.pdf+html>>. doi: 10.1258/002367703322389889

VAN LOO, P. L. P.; BLOM, H. J. M.; MEIJER, M. K.; BAUMANS, V. Impact of living apart together on postoperative recovery of mice compared with social and individual housing, **Laboratory Animal**, v. 41, p. 441-455, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/5859271_Van_Loo_PL_et_al_Impact_of_'living_apart_together'_on_postoperative_recovery_of_mice_compared_with_social_and_individual_housing_Lab_Anim_41_441-455>.

VAN LOO.; BLOM, H. J. M.; MEIJER, M. K.; BAUMANS, V. Assessment of the use of two commercially available environmental enrichments by laboratory mice by preference testing. **Laboratory Animals**, v.39, n.1, p.58-67, 2005. Disponível em: <<http://lan.sagepub.com/content/39/1/58.full.pdf+html>>. doi: 10.1258/0023677052886501

VEDANI, A. Computer-aided drug design: an alternative to animal testing in the pharmacological screening. **Altex: Alternativen zu Tierexperimenten**, v. 8, n. 1, p. 39-60, 1999. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/med/11182904>>.

XU, K. P.; FU-SHIN, X. Y. Corneal organ culture model for assessing epithelial responses to surfactants. **Toxicological Sciences**, v.58, n.2, p.306-14, 2000. Disponível em: <<https://toxsci.oxfordjournals.org/content/58/2/306.full.pdf+html>>. doi: 10.1093/toxsci/58.2.306

YOUNG, R. J. **Environmental enrichment for captive animals**. Oxford: Wiley-Blackwell, 240p, 2003.