Universidade de Brasília

EXPERIMENTAÇÃO 7

Modelos Animais

RESUMO

QUAIS MODELOS ANIMAIS ESTÃO DISPONIVEIS ARA EXPERIMENTAÇÃO

User

Concepta McManus
Sonia Nair Báo
Felipe Pimentel
Daniel Pimentel
Andrea Queiroz Maranhão
José Luiz Jivago de Paula Rolo

2023

Sumário

Modelos Animais 2

Escolhendo um modelo 6

Modelos Comuns 12

O camundongo 12

O rato 1

O Coelho 9

Peixe-zebra 18

Anfíbios e Répteis 23

Pássaros 29

Outros Pequenos Mamíferos 36

Furão 40

Cachorros e Gatos 40

Primatas não humanos 42

Grandes Animais Domésticos 44

Exemplos de contribuições de animais para a pesquisa: 48

Os animais podem ser substituídos? 51

Métodos Alternativos 51

Bem-estar animal e Instalações 62

Regulação 70

Resoluções Normativas 70

Instalações 71

Recursos On-line 73

Modelos Animais[1]

Animal Perfeito

- Cresce mais rápido
- Produz mais
- Come e bebe menos
- Não fica doente
- Adapta em todos os ambientes .....

O uso de animais para fins científicos é uma prática de longa data na pesquisa biológica e na medicina, e um assunto frequente de debate em nossas sociedades. As notáveis semelhanças anatômicas e fisiológicas entre humanos e animais, particularmente mamíferos, levaram os pesquisadores a investigar uma grande variedade de mecanismos e avaliar novas terapias em modelos animais antes de aplicar suas descobertas aos humanos. No entanto, nem todos os resultados obtidos em animais podem ser traduzidos diretamente para humanos, e essa observação é enfatizada por aqueles que refutam qualquer valor para a pesquisa animal. Ao mesmo tempo, o lugar dos animais em nossas sociedades modernas é frequentemente debatido, particularmente o direito de usar animais para fins humanos, com a possibilidade de que os animais sejam feridos.

Carta do Achamento do Brasil - Pero Vaz de Caminha
Porto Seguro, entre 26 de abril e 2 de maio de 1500
Eles não lavram, nem criam. Não há aqui boi, nem vaca, nem cabra, nem ovelha, nem galinha, nem qualquer outra alimária, que acostumada seja ao viver dos homens. Nem comem senão desse inhame, que aqui há muito, e dessa semente e fruitos, que a terra e as árvores de si lançam. E com isto andam tais e tão rijos e tão nédios que o não somos nós tanto, com quanto trigo e legumes comemos....

[1] https://norecopa.no/prepare

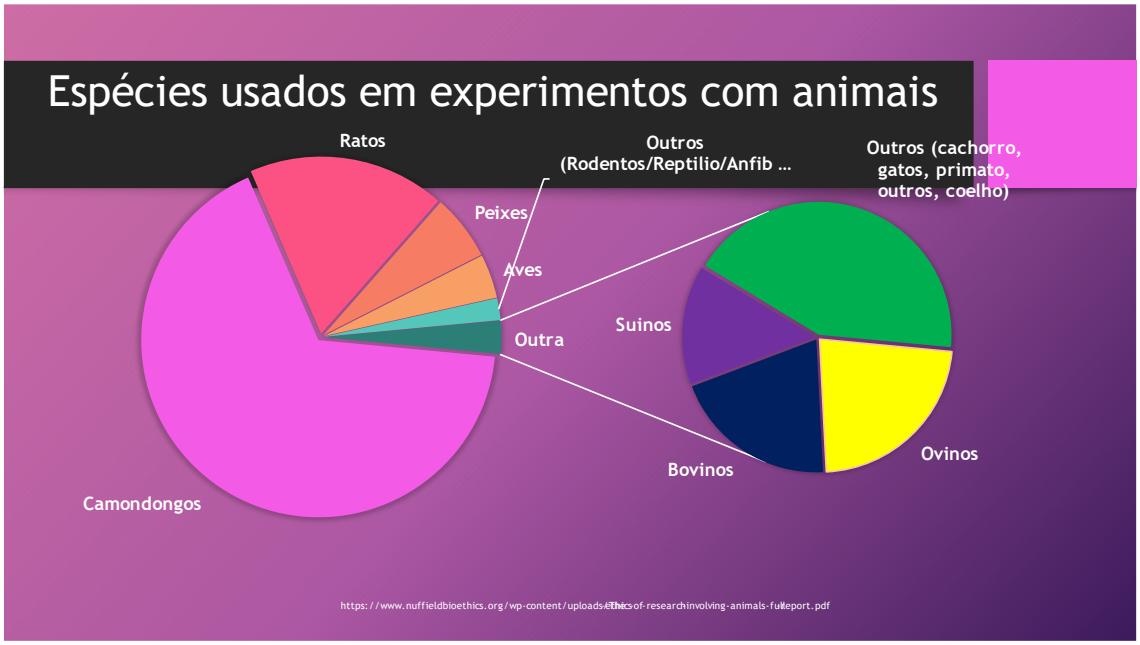

Espécies usados em experimentos com animais
Ratos
Outros (Rodentos/Reptilio/Anfib ...
Outros (cachorro, gatos, primato, outros, coelho)
Peixes
Aves
Outra
Suinos
Ovinos
Bovinos
Camondongos
https://www.nuffieldbioethics.org/wp-content/uploads/Ethics-of-research-involving-animals-full-report.pdf

Figura 1. Fases experimentais[2]

Modelos animais (Figura 1) têm sido usados para abordar uma variedade de questões científicas, desde a ciência básica até o desenvolvimento e avaliação de novas vacinas ou terapias. O uso de animais não se baseia apenas nas vastas semelhanças na biologia da maioria dos mamíferos, mas também no fato de que as doenças humanas frequentemente afetam outras espécies animais. Os humanos e outros mamíferos são organismos muito complexos, nos quais os órgãos desempenham funções fisiológicas distintas de uma forma altamente integrada e regulada. Os relacionamentos envolvem uma rede complexa de hormônios, fatores circulantes e células e interferência entre células em todos os compartimentos. Os biólogos interrogam os organismos em vários níveis: moléculas, células, órgãos e funções fisiológicas, em condições saudáveis ou doentes. Todos os níveis de investigação são necessários para obter uma descrição completa e compreensão dos mecanismos. Os primeiros dois, e em alguns casos três, níveis de organização podem ser estudados usando abordagens in vitro (por exemplo, cultura de células). Essas técnicas se tornaram muito sofisticadas para imitar as estruturas 3D e complexas dos tecidos. Eles representam grandes avanços científicos e substituíram o uso de animais.

Por outro lado, a exploração das funções fisiológicas e das interações sistêmicas entre os órgãos requer um organismo inteiro. É, por exemplo, o caso da maioria das regulações hormonais, da disseminação de microrganismos durante doenças infecciosas ou da influência dos microrganismos intestinais na defesa imunológica ou

[2] https://kasvi.com.br/alternativas-para-animais-em-pesquisa/

no desenvolvimento das funções cerebrais. Nestes muitos casos, nenhum modelo in vitro está atualmente disponível para recapitular totalmente essas interações, e as investigações em humanos e animais ainda são necessárias. Hipóteses e modelos podem surgir de estudos in vitro, mas devem ser testados e validados em um organismo inteiro, caso contrário, permanecem especulativos. Os cientistas estão muito longe de serem capazes de prever o funcionamento de um organismo complexo a partir do estudo de células, tecidos e órgãos separados.[3]

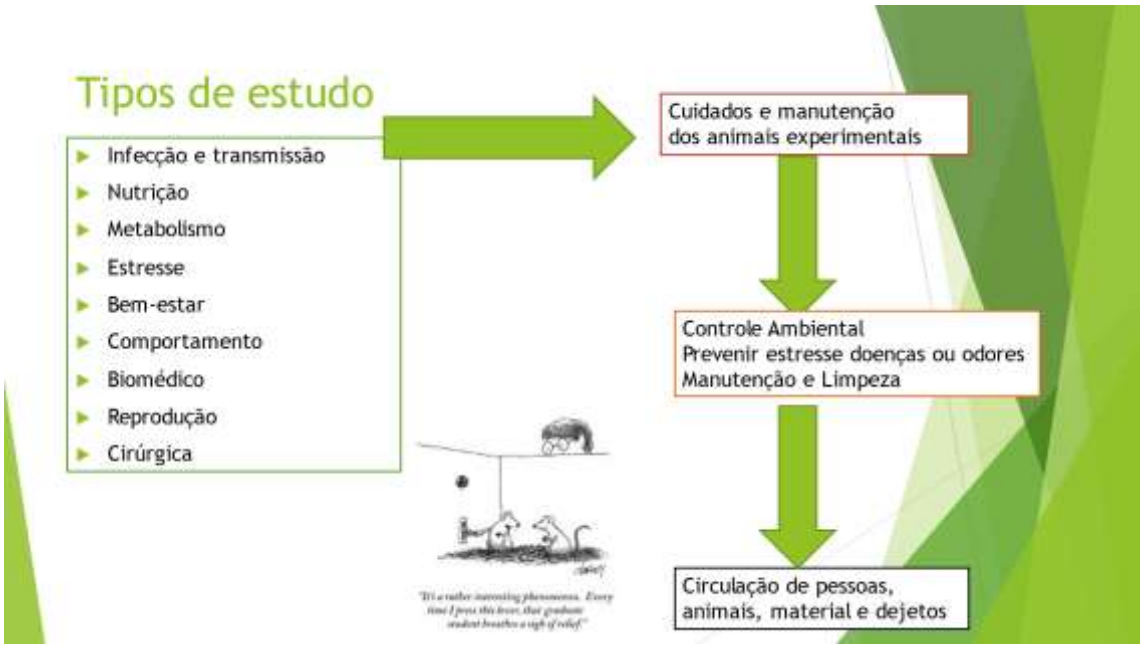


Figura 2. Tipos de Estudo

[3] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5137861/

Escolhendo um modelo[4]

Figura 3. Espécies usados em experimentos com animais

Há pouca discussão sobre o conceito de "modelos" na pesquisa biomédica, apesar de seu uso extensivo (Festing 2004). De acordo com o filósofo americano Marx Wartofsky, "Teorías, hipóteses, modelos e analogias considero todos espécies de um gênero, e minha tese é mais bem afirmada diretamente ao caracterizar este gênero, como representação (embora" imagem "ou" espelhamento "sejam também) "(Wartofsky 1979). Ele prossegue, dizendo: "Há uma verdade trivial adicional, que pode parecer chocante para algumas pessoas: qualquer coisa pode ser um modelo de qualquer outra! Isso quer dizer não mais do que entre quaisquer duas coisas no universo, há alguma propriedade que ambas compartilham ... "

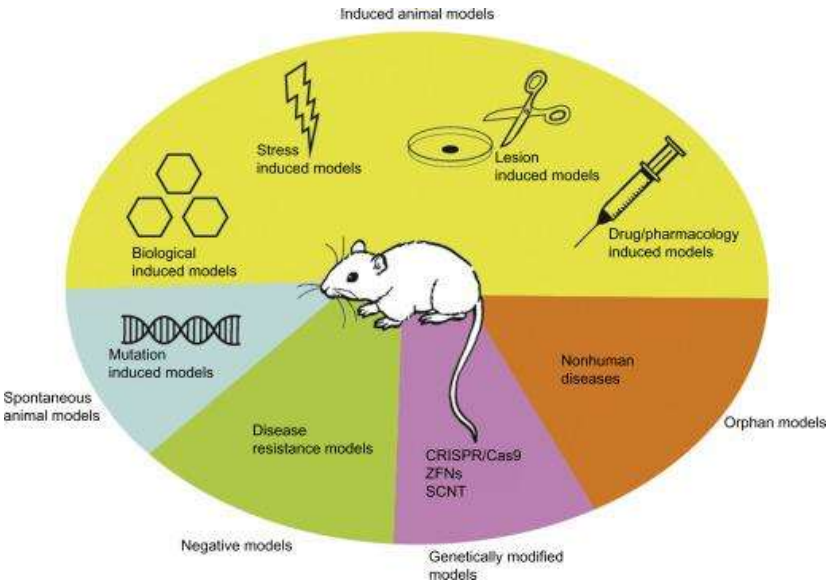
Embora as afirmações anteriores sejam de pouca ajuda para decidir se um determinado animal ou sistema in vitro é ou não um bom modelo de humano, pelo menos esclarece o fato de que os modelos não precisam se parecer com a coisa que está sendo modelada em todos os aspectos. De fato, em alguns casos, é essencial que o modelo seja diferente do que está sendo modelado. Os roedores são amplamente usados como modelos de humanos porque são pequenos e econômicos. A

[4] https://academic.oup.com/ilarjournal/article/47/1/5/662269

disponibilidade de cepas isogênicas também é uma vantagem, pois possibilitam a realização de experimentos eficientes com menos animais e recursos científicos. O fator crítico é se o modelo é semelhante ao humano para o sistema específico que está sendo modelado, como o crescimento e a diferenciação de algum órgão ou característica bioquímica, ou a resposta de neonatos aos xenobióticos.

Um modelo animal é a melhor aproximação de um corpo humano sem realmente usar um humano. Os animais compreendem vários tipos de células, órgãos, sistemas circulatórios e outros sistemas que as células sozinhas, mesmo quando em camadas, não. A lei federal exige que todas as pesquisas em uma instituição realizada em animais de laboratório sejam cuidadosamente revisadas por um comitê de supervisão antes do teste para garantir o tratamento ético dos animais.

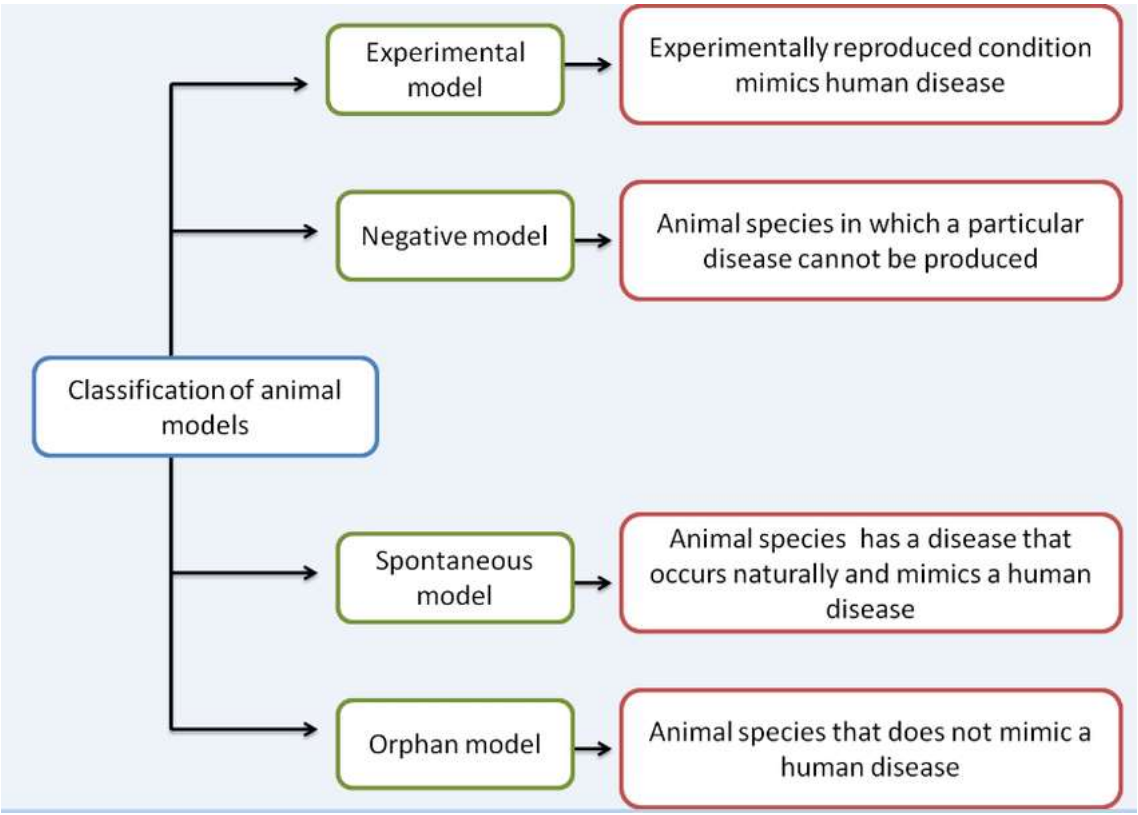
Existem vários tipos de modelos animais usando ratos, furões, hamsters, macacos e até cães e gatos. Até moscas e vermes servem de modelos de doenças! O modelo animal mais popular é o roedor, ou mais especificamente, o rato de laboratório. Os camundongos são pequenos e prontamente disponíveis, são fáceis de manusear e procriar rapidamente e são mais baratos do que animais maiores, como macacos ou cães. O animal que mais se assemelha a um humano é o primata não-humano e, portanto, tem o maior peso na pesquisa pré-clínica. No entanto, primatas são caros, limitados e difíceis de manusear, então um pesquisador deve considerar cuidadosamente se sua pergunta deve ser respondida em um modelo primata, ou se outro animal é suficiente.



Existem duas classes amplas de modelos: aqueles baseados em analogia (estruturas semelhantes implicam funções semelhantes) e aqueles baseados em homologia (estruturas derivadas do mesmo precursor evolutivo têm funções iguais ou semelhantes).

Existem quatro categorias principais de modelos animais: 1) modelos induzidos ou experimentais, que tentam reproduzir as condições encontradas na espécie original, 2) modelos espontâneos ou naturais, que são reconhecidos como sendo semelhantes a alguma condição na espécie original, 3) modelos negativos ou não reativos, que são as contrapartes normais de um modelo de doença, e 4) modelos órfãos, que são doenças animais para as quais nenhuma contraparte humana ou animal é conhecida. Existe ainda a classificação de modelos geneticamente modificados[5].

[5] Davidson, M.K., Lindsey, J.R., and Davis, J.K. Requirements and selection of an animal model. Israel J Med Sci. 1987;23:551-5.



Modelos animais espontâneos são aqueles que existem na natureza com semelhança com a condição ou doença humana. A asma em felinos e a ocorrência de células natural killers (células NK) em ratos são bons exemplos. Modelos experimentais são aqueles que precisam ser criados para atender às condições desejadas para serem testados. Os modelos cirúrgicos são exemplos de modelos experimentais ou induzidos. A biologia molecular tem permitido modificar o genoma animal para atingir os objetivos de alguns estudos. Modelo negativo ou não modelo é o termo usado para espécies, linhagens ou raças nas quais uma determinada doença ou condição não se desenvolve. Modelos negativos, portanto, incluem animais que demonstram falta de reatividade a um estímulo específico. Sua principal aplicação é em estudos sobre o mecanismo de resistência que buscam compreender sua base fisiológica. Por que os cães não desenvolvem arteriosclerose é uma dessas questões que pode ser respondida por um modelo negativo. Ao contrário, um modelo órfão é usado para investigar uma condição ou doença que ocorre em algumas espécies, mas não em humanos. Pode ser importante reconhecer doenças que podem afetar humanos no futuro próximo. A doença da vaca louca é um exemplo. Modelos geneticamente modificados são,

portanto, criados por esse motivo. As inserções de um DNA alienígena e os modelos nocauteados são bons exemplos desses modelos animais.

A seleção de qualquer modelo, mas particularmente de modelos animais, para pesquisa deve ser baseada nas seguintes considerações: 1) adequação como um análogo, 2) transferibilidade de informações, 3) uniformidade genética dos organismos, quando aplicável, 4) conhecimento prévio da biologia propriedades, 5) custo e disponibilidade, 6) generalização dos resultados, 7) facilidade e adaptabilidade à manipulação experimental, 8) consequências ecológicas e 9) implicações éticas.

Os critérios para seleção ou rejeição de modelos animais específicos também incluem a prática habitual dentro de uma disciplina específica, a existência de doenças ou condições que podem complicar os resultados, o corpo de conhecimento existente sobre o problema em consideração e características especiais do animal, como respostas únicas ou microflora, que podem tornar uma espécie em particular útil.

Os maiores desafios enfrentados pela pesquisa biomédica moderna dizem respeito a doenças complexas e multifatoriais, como câncer, doenças cardiovasculares, doenças infecciosas, doenças neurodegenerativas, consequências patológicas do envelhecimento, entre outras, para as quais todas as abordagens experimentais são indispensáveis devido à sua complementaridade: bioquímica, genômica, cultura de células, modelagem computacional, modelo animal e estudos clínicos. A pesquisa em modelos animais relevantes, cuidadosamente projetados, bem caracterizados e controlados permanecerá por muito tempo como uma etapa essencial para descobertas fundamentais, para testar hipóteses no nível do organismo e para a validação de dados humanos. Os modelos animais devem ser constantemente aprimorados para serem mais confiáveis e informativos. Da mesma forma, a proteção animal requer consideração permanente. Esses dois objetivos, longe de serem antagônicos, devem ser ancorados em ciência de alta qualidade[6].

A espécie de animal selecionada para um determinado experimento biomédico é determinada pelos objetivos específicos do experimento, o conhecimento que temos

[6] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5137861/

sobre essa espécie animal e como ela se compara à condição em humanos que estamos modelando. Por exemplo, o porco é um modelo comumente usado para estudar como os ataques cardíacos (enfarte do miocárdio) ocorrem e como podem ser tratados porque os vasos sanguíneos que irrigam o coração nos porcos são muito semelhantes aos dos humanos. Em contraste, se a insuficiência cardíaca congestiva está sendo estudada, o cão é um modelo melhor do que o porco porque a parede muscular do coração de um cão responde a condições que levam à insuficiência cardíaca de forma semelhante aos humanos. Não existe um modelo animal que simule tudo o que ocorre em humanos e os cientistas devem mostrar por que suas espécies selecionadas são um modelo adequado para suas pesquisas.

Para pesquisas destinadas a produzir novos conhecimentos sobre o comportamento, biologia, cérebro e outros sistemas e processos em outros animais, a escolha de qual animal estudar é direcionada pela questão de pesquisa. Uma melhor compreensão das capacidades cognitivas dos peixes dependerá do estudo dos peixes, por exemplo. Na pesquisa comparativa, novas descobertas são feitas através do estudo de semelhanças e diferenças entre as espécies. Por exemplo, diferenças no cérebro - ou sistema nervoso - de mamíferos, peixes e pássaros podem informar nossa compreensão da evolução, desenvolvimento, efeitos ambientais e mecanismos cerebrais envolvidos em diferentes tipos de comportamento.

Instalações

- Depende da espécie
- Normas do Concea
- Segurança
- Sala
  - Ambiente
  - Tamanho
  - Padrões de circulação

https://www.wbdg.org/building-types/research-facilities/animal-research-facility

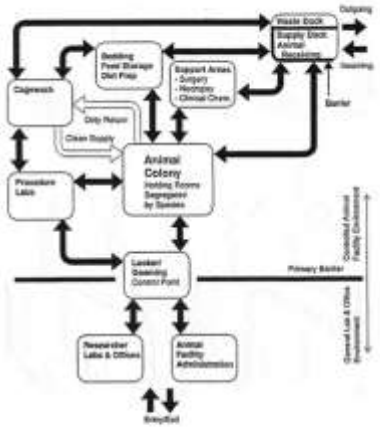


Figure 4
Animal Facility
Diagramatic Model Showing
Basic Flows and Spatial Relationships

Modelos Comuns[7]

O camundongo

O camundongo é um pequeno mamífero que pertence à ordem Rodentia (Fig. 1). O camundongo doméstico da América do Norte e da Europa, *Mus musculus*, é a espécie mais comumente usada para pesquisas biomédicas. É provável que o camundongo tenha se originado na Eurásia e tenha utilizado sua relação comensal com os humanos para se espalhar por outros continentes à medida que os humanos exploraram e colonizaram. Os criadores de camundongos na virada do século 20 são a fonte da maioria dos camundongos de laboratório usados atualmente. Um resumo das categorias abrangentes de modelos de camundongo disponíveis é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 Resumo das várias categorias de tipos de mouse disponíveis para uso em pesquisas

Modelo	Geração	Uso	Exemplos
Inbred strains	20 ou mais gerações consecutivas de irmã × irmão ou pai × prole acasalamentos	Estudos que requerem animais geneticamente idênticos	BALB/c, C3H, C57BL/6, CBA, DBA/2, C57BL/10, AKR, A, 129, SJL
Outbred stocks	Deliberate mating of unrelated animals	Studies that require outbred vigor	Swiss Webster, CD-1, ICR
Spontaneous mutant	Strains that have been bred to conserve phenotypical characteristics that were due to spontaneous genetic mutations	Studies of disease processes associated with the spontaneous mutation	Athymic nude, nonobese diabetic (NOD)
Genetically engineered	Mice where genes have been turned on or off	Studies that are seeking to identify	

[7] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7150119/

mice/"Knock-in"/"Knock-out"		the effects of specific genes	
Transgenic	Mice where a gene from an unrelated species has been inserted into the genome	Studies that require a mouse model of human disease and toxicology	

Camundongos e ratos representam aproximadamente 95% de todos os animais de laboratório, sendo os camundongos o animal mais comumente usado em pesquisas biomédicas. Os camundongos são um modelo animal comumente selecionado por uma variedade de razões, incluindo tamanho pequeno (facilitando o alojamento e manutenção); ciclo reprodutivo curto e expectativa de vida; geralmente temperamento brando e dócil; riqueza de informações sobre sua anatomia, genética, biologia e fisiologia; e a possibilidade de criação de camundongos geneticamente manipulados e camundongos que apresentam mutações espontâneas.

Os camundongos têm sido usados como sujeitos de pesquisa para estudos que vão da biologia à psicologia e à engenharia. Eles são usados para modelar doenças humanas com o propósito de encontrar tratamentos ou curas. Algumas das doenças que eles modelam incluem: hipertensão, diabetes, catarata, obesidade, convulsões, problemas respiratórios, surdez, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, vários cânceres, fibrose cística e síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), doenças cardíacas, distrofia muscular e lesões da medula espinhal. Os camundongos também são usados em estudos comportamentais, sensoriais, de envelhecimento, nutrição e genéticos. Esta lista não está completa, já que geneticistas, biólogos e outros cientistas estão descobrindo rapidamente novos usos para o camundongo doméstico em pesquisas.

Biologia Normativa

Os camundongos são mamíferos e seus sistemas de órgãos são muito semelhantes aos sistemas de órgãos em humanos em termos de forma, estrutura e fisiologia. Os dados fisiológicos básicos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Basic Biological Data

	Camundongos	Rato
Adult weight		
Male	20–40 g	260–1000 g
Female	25–40 g	225–500 g
Life span	1–3 years	1–3 years
Body temperature	36.5°C–38.0°C	36.5°C–38.0°C
Heart rate	310–840/min	310–493/min
Respiration rate	163 breaths/min	145 breaths/min
Water consumption	5–8 mL/day	15–20 mL/day
Food consumption	3–5 g/day	22–33 g/day

Os camundongos têm alças de Henle muito longas nos rins, permitindo assim a concentração máxima de sua urina. Como resultado, a produção de urina em ratos geralmente consiste em apenas uma ou duas gotas de urina altamente concentrada por vez. Eles também excretam grandes quantidades de proteína na urina com camundongos machos sexualmente maduros excretando os maiores níveis de proteína, possivelmente como feromônios.

Os camundongos têm apenas dois tipos de dentes, incisivos e molares. Os incisivos têm raízes abertas e erupcionam (ou seja, crescem) continuamente ao longo de suas vidas. Isso predispõe os camundongos à má oclusão se não receberem alimentos ou objetos como ossos de náilon para ajudar a desgastar os dentes durante a mastigação. Os molares estão enraizados e, portanto, não explodem continuamente.

O estômago possui dois compartimentos com a porção proximal completamente queratinizada e a porção distal inteiramente glandular. Seus intestinos são simples, mas o reto é muito curto (1–2 mm) e, portanto, está sujeito a prolapso, especialmente se o animal tiver colite. A flora gastrointestinal consiste em mais de 100 espécies de bactérias que formam um ecossistema complexo que auxilia na digestão e saúde do camundongo.

Os camundongos não têm glândulas sudoríparas, mas têm uma área de superfície relativamente grande por grama de peso corporal. Isso resulta em mudanças dramáticas na fisiologia e no comportamento em resposta às flutuações da temperatura ambiente. Quando muito frio, os camundongos responderão por termogênese sem tremores (isto é, metabolismo do tecido adiposo marrom). Além da falta de glândulas sudoríparas, eles não podem ofegar ou produzir grandes quantidades de saliva para ajudar no resfriamento da temperatura corporal. Portanto, quando expostos a situações de muito calor, os ratos aumentam o fluxo sanguíneo para os ouvidos para maximizar a perda de calor; e na natureza, eles se movem para suas tocas, que ficam em temperaturas mais amenas. A zona termoneutra, a faixa de temperatura ambiente na qual o camundongo não precisa realizar mudanças regulatórias na produção de calor metabólico ou perda de calor evaporativo para manter sua temperatura central, é de cerca de 29,6 ° C-30,5 ° C.

Fisiologia Reprodutiva

O sistema reprodutor feminino é composto por pares de ovários e ovidutos, útero, colo do útero, vagina, clitóris e glândulas clitorianas pares. Camundongos fêmeas grávidas têm placentação hemocorial, semelhante a humanos (ou seja, o sangue materno está em contato direto com o córion, a camada mais externa das membranas placentárias fetais. A fêmea também possui cinco pares de glândulas mamárias. O sistema reprodutor masculino consiste em testículos emparelhados, pênis e dutos e glândulas sexuais associados. Os canais inguinais estão abertos no camundongo macho e os testículos podem retrair facilmente para a cavidade abdominal. Ambos os sexos têm glândulas prepuciais bem desenvolvidas, que podem ser infectadas. Os machos têm várias glândulas sexuais acessórias, incluindo grandes vesículas seminais, glândulas coagulantes e próstata. As secreções dessas glândulas constituem grande parte da ejaculação do rato. Quando os ratos ejaculam, o sêmen forma um coágulo ou tampão copulador.

Os camundongos se reproduzem continuamente ao longo do ano, a menos que as condições sejam muito desfavoráveis para eles (por exemplo, falta de comida). Seu potencial reprodutivo pode ser afetado por uma série de influências externas, como

ruído, dieta, ciclos de luz, densidade populacional ou ambiente de gaiola. O genótipo também pode afetar o desempenho reprodutivo, pois é de conhecimento geral que algumas linhagens consanguíneas de camundongos são criadores ruins e, se os filhotes nascerem, podem receber cuidados maternos inadequados. Dados fisiológicos reprodutivos adicionais são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Basic Reproductive Reference Values[1]

Puberty	Camundongo	Rato	Coelho
Male	4-7 semanas	45 days	22–52 weeks
Female	4-8 semanas	33–42 days	22–53 weeks
Estrus cycle	4-5 dias	4-5 dias	
Gestation	19-21 dias	21–23 days	29–35 days
Litter size	9 a 12	9 a 12	4–12 kits
Weaning	21 dias	21–28 days	5–8 weeks
Breeding duration	7 a 9 meses	7 a 9 meses	.
Male			60–72 months
Female			24–36 months

[1]Coelhos domésticos não têm ciclo estral regular. Eles podem ter períodos de anestro e períodos de 1-2 dias de não receptividade a cada 4-17 dias.

Os camundongos podem ser reproduzidos usando um sistema um-a-um (um macho para uma fêmea; monogâmico) ou em um sistema de acasalamento harém (acasalamento polígamo). Em um sistema monogâmico, o macho e a fêmea são sempre deixados juntos, mas no desmame os filhotes são retirados da gaiola. Este sistema permite o aproveitamento máximo do estro pós-parto e do número máximo de ninhadas para as fêmeas envolvidas, e facilita a manutenção de registros e monitoramento de reprodutores específicos na colônia. Em um sistema de acasalamento harém, vários machos são colocados com várias fêmeas, geralmente na proporção de um macho para duas a seis fêmeas. Normalmente, as fêmeas são removidas para gaiolas separadas pouco antes do parto e o estro pós-parto é subutilizado.

Filhotes de camundongos nascem sem pelos, cegos e surdos e requerem cuidados parentais extensos, fornecidos principalmente pela mãe. Devido à coloração avermelhada da pele dos filhotes sem pêlos, eles também são conhecidos como "mindinhos". Embora os filhotes de camundongos possam aumentar sua temperatura corporal por meio do metabolismo dos estoques de gordura marrom, eles são

incapazes de conservar adequadamente o calor do corpo até que desenvolvam um casaco de pele adequado. Assim, a inclusão de materiais de nidificação na gaiola é altamente recomendada, pois aninhar-se dentro do ninho pode fornecer o calor necessário e proteção contra perdas neonatais associadas à temperatura.

O método mais confiável para determinar o sexo de um camundongo é medindo o comprimento da distância anogenital, ou seja, a distância do ânus à genitália. Essa distância pode ser medida com uma régua ou animais avaliados lado a lado com as extremidades traseiras sustentadas pela cauda. A distância anogenital é maior nos homens do que nas mulheres. Em animais sexualmente maduros, também se pode determinar o sexo dos camundongos pela presença ou ausência de testículos em um saco testicular.

Comportamento do camundongo

Os camundongos são criaturas sociais e podem ser facilmente alojados em grupo. Seu principal método de comunicação é através de feromônios. Eles usam essas dicas olfativas para estabelecer uma hierarquia (ou seja, um sistema hierárquico de organização social). Esses produtos químicos são tão importantes que quando os ambientes da gaiola são trocados, como por meio de uma simples limpeza ou troca de roupa de cama, uma luta pode ocorrer até que a marcação do cheiro da gaiola seja concluída, como forma de restabelecer a hierarquia e a organização social na gaiola.

Os feromônios também desempenham um papel vital na reprodução desses animais. Isso é demonstrado pelos efeitos Whitten e Bruce. O efeito Whitten ocorre quando um grupo de camundongos fêmeas que não estão ciclando é exposto à urina masculina, que contém uma grande quantidade de feromônios. As fêmeas retomarão o ciclismo como um grupo logo após a introdução do macho. Em contraste, o efeito Bruce é caracterizado pelo aborto de ninhadas quando as mulheres grávidas são expostas à urina de um homem estranho.

Tal como acontece com a maioria dos roedores, os camundongos são animais noturnos que exibem níveis de pico de atividade à noite. Como os camundongos são uma espécie de presa, eles exibem um comportamento timotático ou se agarram à

parede. Eles evitam espaços abertos onde podem ser facilmente capturados por predadores. Apesar disso, os camundongos são muito curiosos sobre quaisquer novos objetos em seu território e frequentemente os examinam longamente.

Os camundongos não apenas têm visão mal desenvolvida, mas também são daltônicos. Uma série de cepas consanguíneas (por exemplo, FVB / N e C3H / He) são funcionalmente cegas ao desmame. Eles confiam em sua audição muito sensível para escapar da detecção e em seu olfato e paladar para detectar alimentos (e possivelmente evitar venenos). Os camundongos podem ouvir em uma faixa de frequências entre 0,5 e 120 kHz; no entanto, os camundongos normais são mais sensíveis às frequências de 12–24 kHz. É importante notar aqui que algumas cepas consanguíneas de camundongos, por exemplo, C57BL / 6, sofrem perda auditiva significativa antes de 1 ano de idade.

Os camundongos podem escalar, nadar e pular (até trinta centímetros), embora normalmente prefiram evitar nadar, se possível. Sob certas condições, eles exibem estereotipias, que são comportamentos obsessivo-compulsivos. Os comportamentos podem ser relacionados ao esforço, ao ambiente ou ao estudo e incluem roer arame, girar em círculos, pular e agredir. O uso de itens de enriquecimento ambiental, como tubos de papelão ou outras estruturas, oferecem ao animal uma área de fuga dos companheiros de gaiola e adiciona complexidade ao meio ambiente.

A agressão é outro comportamento importante que comumente ocorre em camundongos machos alojados em grupo. Também pode ocorrer em mulheres alojadas em grupo e em gaiolas de sexos mistos. As indicações de que há um animal agressivo na gaiola incluem mordidas na cauda, nádegas, orelhas e ombros de camundongos (Fig. 2). As feridas podem ser graves a ponto de causar perda significativa de sangue e formação de abscesso no local da mordida. Foi demonstrado que a agressão é influenciada pela tensão, idade e encontros anteriores. Em termos de cepas, as cepas mais agressivas são BALB / c, C57BL / 10, C57BL / 6, DBA / 2 e ex-suíça. Os métodos para prevenir ou reduzir a agressão incluem o uso de dispositivos de enriquecimento adequadamente projetados; provisão de espaço e abrigo adequados

para cada animal; agrupamento de camundongos antes de atingirem a puberdade; uso de cepas dóceis; e remoção de animais dominantes o mais rápido possível.

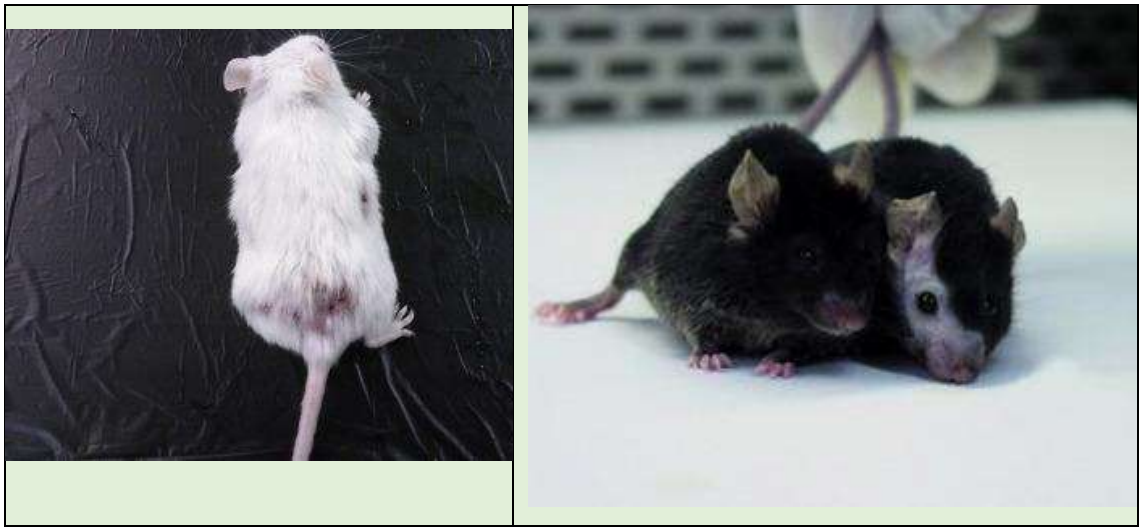


Figura 2. Lesões de agressão e exemplo de barbearia de um mouse (direita) pelo outro camundongo (esquerda). (Jenelle Johnson)

Uma manifestação comum de organização social em camundongos alojados em grupo é a barbearia, um comportamento no qual um camundongo dominante corta, mastigando, o cabelo ou bigodes de outros camundongos na gaiola. A barbearia também é conhecida como o efeito Dalila. Geralmente é instigado por um camundongo macho ou fêmea dominante. Os animais dominantes mantêm seus bigodes e pêlos cheios, enquanto seus companheiros de gaiola têm "rostos e corpos raspados" (Fig.2) (Garner et al., 2004). Embora a barbearia geralmente não resulte em nenhum dano físico ao animal, remover o camundongo dominante (o não barbeado) da gaiola é uma boa abordagem de controle.

Alojamento e manuseio

Os tipos gerais de camundongos de alojamento em um ambiente de laboratório incluem: convencional, livre de patógenos específicos (SPF) e livre de germes. No alojamento convencional, nenhuma tentativa é feita para impedir a entrada de microrganismos adventícios e organismos parasitas. Os camundongos alojados dessa maneira podem ser encontrados em gaiolas abertas. O ar ambiente, junto com quaisquer contaminantes transportados pelo ar, pode circular livremente na gaiola do

camundongo. Além disso, a comida e a água não são esterilizadas, embora deva ser observado que contaminantes microbianos podem entrar na população de camundongos dessa forma.

Camundongos SPF são criados em condições de barreira para garantir que permaneçam livres de uma lista específica de patógenos. É tomado cuidado para garantir que micróbios e parasitas adventícios sejam excluídos dos animais. Os camundongos SPF são normalmente criados em gaiolas especializadas, como gaiolas com microisoladores. Essas gaiolas contêm um tipo de filtro de 0,22 µm que ajuda na exclusão de micróbios e parasitas. Os sistemas de gaiolas com ventilação individual incluem um rack de gaiolas de microisolador, cada uma das quais recebe um suprimento de ar filtrado (Fig. 3). Em condições de FPS, tudo que entra em contato com o animal deve ser esterilizado ou desinfetado. Isso inclui, mas não está limitado, a água, comida, roupa de cama e gaiolas. Cuidado especial deve ser tomado por qualquer pessoa que manuseie os camundongos, incluindo pesquisadores, para garantir que o manuseio e os procedimentos experimentais não introduzam patógenos potenciais na colônia. Assim, todo manuseio e procedimentos feitos em camundongos SPF são frequentemente realizados em condições de ar filtrado por HEPA, como dentro de uma cabine de biossegurança. Colocar o camundongo em um ambiente não filtrado (ar de "sala"), mesmo que por um momento, é o suficiente para potencialmente colonizar o mouse com uma série de microorganismos adventícios, destruindo assim seu status FPS. Uma vez que um camundongo contaminado é colocado de volta na colônia, toda a colônia corre o risco de infecção.

Sistema de gaiola ventilado individualmente para camundongos.
Foto por Kay Stewart.

Camundongos livres de germes, ou axênicos, são criados para não conter micróbios ou parasitas. A criação de camundongos livres de germes requer uma

manutenção rigorosa da barreira. Normalmente, isso requer o uso de isoladores de filme flexível que fornecem ar filtrado por HEPA para os camundongos dentro do isolador. Além disso, quaisquer materiais (por exemplo, comida, água e roupa de cama) devem ser esterilizados ou completamente desinfetados antes de serem movidos para a unidade isoladora de modo a não contaminar o espaço de vida dos roedores livres de germes com microrganismos adventícios. Todos os procedimentos realizados dentro do isolador de filme flexível devem utilizar técnica asséptica estrita pelo mesmo motivo.

Além do ambiente microbiológico dos sistemas de alojamento do animal, os camundongos precisam ser alojados em parâmetros ambientais específicos, caso contrário, eles podem sofrer estresse. O Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, 8ª edição (National Research Council, 2011) é um documento internacionalmente aceito que descreve e discute parâmetros ambientais globalmente aceitos para abrigar diferentes espécies de animais, incluindo o camundongo. A Tabela 4 descreve os requisitos ambientais específicos listados neste documento para alojar camundongos.

Tabela 4. Requisitos ambientais específicos

	Camundongos	Ratos
Dry-bulb macroenvironmental temperature	20–26°C	21-24 °C
Relative humidity	30–70%	45-55%
Air changes per hour in the animal rooms	10–15 ACH	
Light	130–325 lux 1 m above the floor	
Floor space requirements		
Weight: <10 g	38.7 cm^2	
Up to 15 g	51.6 cm^2	
Up to 25 g	77.4 cm^2	
>25 g	≥96.7 cm^2	
Female and litter	330 cm^2	
Cage height requirements	12.7 cm	

Os camundongos são onívoros e coprofágicos com pelo menos um terço de sua dieta sendo o consumo de suas fezes. No ambiente de laboratório, os camundongos são alimentados com uma dieta granulada limpa, saudável e nutritiva para roedores, à

vontade. Existem muitas dietas formuladas comercialmente para os vários estágios da vida e para animais com doenças induzidas específicas, como diabetes mellitus ou hipertensão. Essas dietas podem estar disponíveis em formas autoclaváveis ou irradiadas para prevenir a transmissão de doenças por meio de alimentos contaminados. Há também uma variedade de guloseimas para animais de estimação disponíveis para camundongos. No entanto, as guloseimas não devem representar mais do que 5–10% da dieta diária.

Os camundongos devem receber um suprimento contínuo de água diariamente. Se os animais não recebem água suficiente diariamente, seu consumo de comida diminuirá. Os animais também parecerão desalinhados e pouco saudáveis. Os camundongos podem receber água de garrafas ou bolsas de água, sistemas de irrigação automáticos com mamilos ou pacotes de gel à base de água.

Doenças

Alguns sinais gerais de problemas de saúde incluem: perda de peso, depressão ou letargia, anorexia, obesidade, diarréia, desalinho ou casacos franzidos, respiração anormal, espirros, fraqueza, desidratação, abdômen aumentado, descolorações (por exemplo, amarelo para animais ictéricos ou muito pálido para animais anêmicos), massas ou inchaços e postura ou marcha anormal. A pontuação da condição corporal é uma medida objetiva para avaliar verdadeiramente o quão gordo ou magro o animal é e pode ser usada para a determinação precisa de desfechos em estudos onde se espera que os animais percam ou ganhem peso (Fig. 5) (Ullman-Cullere e Foltz, 1999). Algumas das doenças mais comumente encontradas em camundongos são apresentadas na Tabela 5. Os distúrbios não infecciosos são apresentados na Tabela 6.

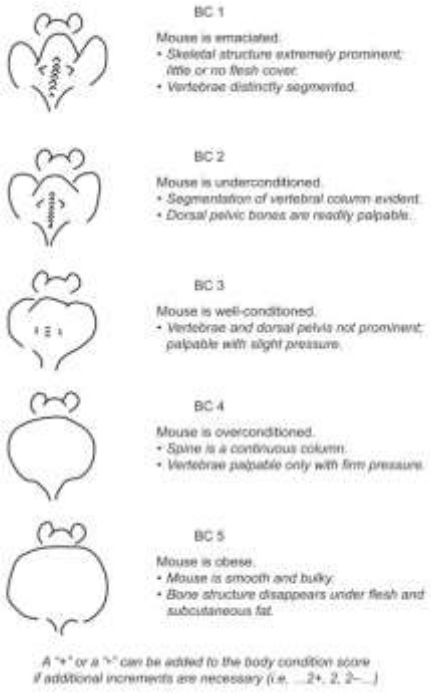


Figura Mouse body condition (BC) scoring chart (Ullman-Cullere and Foltz, 1999).

Tabela. **5 Infectious** Diseases of Mice e Ratos

Camundongo				Rato			
Pathogen	**Common Names of Diseases**	**Fatal/Self-Limiting**	**Effects on Research**	**Pathogen**	**Common Names of Diseases**	**Fatal/Self-Limiting**	**Effects on Research**
Parvoviruses	Minute virus of mice (MVM) Mouse parvovirus (MPV)	Self-limiting Asymptomatic	Can distort biological responses that depend on cell proliferation, primarily on immune cells such as cytotoxic T cells.	**Parvovirus**	Kilham rat virus; rat parvovirus	Asymptomatic	Immunomodulatory
Lymphocytic Choriomeningitis virus (LCMV)		IC—self-limiting and asymptomatic In others it can lead to clinical signs and death	Death of animals on research Affects immunological function Zoonotic				
Reoviruses	Reovirus 1, 2, or 3	Disease and mortality in suckling mice	High mortality in young mice May be oncolytic Interference with organ systems				
	Rotavirus (Epizootic diarrhea of Infant mice)	Infection primarily in young mice but self-limiting	Clinical illness leads to diarrhea and retarded growth.				
Coronaviruses	Mouse hepatitis virus (Mouse coronaviruses)	IC—asymptomatic IDS and suckling mice—clinical disease and death	Numerous effects including affecting immunological responses, contaminate transplantable neoplasms, altering tissue enzymes, and causing clinical disease.				
Mycoplasmosis	Mycoplasma pulmonis Mycoplasma arthritidis Mycoplasma neurolyticum Mycoplasma collis	Rhinitis Otitis media Chronic pneumonia Infertility Can be fatal	Cause clinical disease Compromise experiments involving respiratory tract Alter immunological responses Contamination of cell lines and tumors	**Mycoplasmosis**	*Mycoplasma pulmonis* *Mycoplasma arthritidis* *Mycoplasma neurolyticum* *Mycoplasma collis*	Rhinitis Otitis media Chronic pneumonia Infertility Can be fatal	Cause clinical disease Compromise experiments involving respiratory tract Alter immunological responses Contamination of cell lines and tumors
Cilia-associated respiratory (CAR) bacillus	Bacillus sp.	Respiratory disease Clinical disease— rare		**Cilia-associated respiratory (CAR) bacillus**	*Bacillus sp.*	Respiratory disease Clinical disease—rare	

Helicobacteriosis	Helicobacter hepaticus Helicobacter bilis, Helicobacter muridarum, Helicobacter rodentium, Helicobacter typhlonius	IC— asymptomatic IDS— inflammatory bowel disease, Diarrhea, rectal prolapse	Affects liver enzymes in some strains of mice Morbidity and mortality in mice Alter immune function	**Helicobacteriosis**	*Helicobacter hepaticus* *Helicobacter bilis, Helicobacter muridarum,* *Helicobacter rodentium, Helicobacter typhlonius*	IC— asymptomatic IDS— inflammatory bowel disease, Diarrhea, rectal prolapse	Affects liver enzymes in some strains of mice Morbidity and mortality in mice Alter immune function
Mycobacteriosis	Mycobacteria avium-intracellulare Mycobacteria lepraemurium	Granulomatous pneumonia and microgranulomas in other major organs	Morbidity	**Mycobacteriosis**	*Mycobacteria avium-intracellulare* *Mycobacteria lepraemurium*	Granulomatous pneumonia and microgranulomas in other major organs	Morbidity
Pneumocystosis	Pneumocystis carinii	IC—asymptomatic IDS— severe disease; pneumonia May be fatal	Pneumonia in IDS mice; may be fatal	**Pneumocystosis**	*Pneumocystis carinii*	IC—asymptomatic IDS—severe disease; pneumonia May be fatal	Pneumonia in IDS rats; may be fatal
Nematodes (Mouse pinworms)	Syphacia obvelata Aspicularis tetraptera	Asymptomatic with gastrointestinal lesions such as enteritis and fecal impaction	Unthriftiness in mice Alter the immune responses in animal	**Nematodes (Mouse pinworms)**	*Syphacia obvelata* *Aspicularis tetraptera*	Asymptomatic with gastrointestinal lesions such as enteritis and fecal impaction	Unthriftiness in mice Alter the immune responses in animal
Acariasis (Mite infestation)	*Myobia musculi* *Myocoptes musculinus* *Radfordia affinis*	Skin lesions, excessive pruritus (scratching), hair loss, dermatitis	Disrupt immunological responses Severe clinical disease				
				Acariasis (Mite Infestation)	*Myobia musculi* *Myocoptes musculinus* *Radfordia affinis*	Skin lesions, excessive pruritus (scratching), hair loss, dermatitis	Disrupt immunological responses Severe clinical disease
				Staph infection	*Staphylococcus aureus*	Dermatitis; septicemia	Significant clinical illness can result in necessity for euthanasia of the animal

IC, immune competent; *IDS*, immune compromised.

Table 6 Noninfectious Disorders of Mice

Disorder	Cause	Effects on Research
Hypothermia	Room environment too cold	Can distort biological responses of the mouse due to cold stress
Hyperthermia	Room environment too hot	Death of animals
Ringtail	Relative humidity of less than 30%; causes circular constrictions of the tail	Can lead to loss of tail
Malocclusion	Genetic; poor alignment of the incisors leads to overgrown teeth	Inability to eat

Com base em sua composição genética e fisiológica, os camundongos podem ser imunocompetentes ou imunodeficientes. Imunocompetente significa que o camundongo tem um sistema imunológico funcionando normalmente e pode encenar uma resposta imunológica a qualquer insulto ou lesão. Em contraste, imunodeficiente significa que algum componente ou componentes do sistema imunológico do camundongo não está funcionando ou funcionando normalmente e, portanto, eles não podem desenvolver uma resposta imunológica adequada e são mais suscetíveis a doenças infecciosas. Camundongos imunossuprimidos são camundongos que possuem um sistema imunológico completo, mas por causa de uma droga, substância química ou estado de doença, a resposta imunológica é atenuada.

O rato

Ratos e humanos têm uma longa história de coexistência. As origens do rato de laboratório, também conhecido como rato da Noruega, remontam aos séculos das áreas da China e da Mongólia modernas (Burt, 2006, Song et al., 2014). A dispersão do rato da Noruega ocorreu ao longo dos séculos e seu habitat natural se estende do Mediterrâneo ao sudeste da Ásia e para baixo na Austrália e na Nova Guiné (Song et al., 2014). Infelizmente, a maioria das pessoas associa ratos a doenças e destruição. Ao longo da história, surtos de peste bubônica, tifo e hantavírus tiveram um cúmplice involuntário no rato (Zinsser, 1935, Benedictow, 2004, Firth et al., 2014). Ao longo dos séculos, os ratos também foram usados para alimentação (por exemplo, na China Imperial), companhia e esporte (Gorn e Goldstein, 2004, Hopkins et al., 2004, Burt, 2006). Ratting, um esporte sangrento vicioso em que as pessoas apostavam no cão que poderia matar a maioria dos ratos em um determinado período de tempo, era especialmente popular na Inglaterra vitoriana e no submundo americano (Thomas e Mayhew, 1998, Gorn e Goldstein, 2004). Na virada do século 20, a criação de ratos como hobby ou companhia (ou seja, "ratos elegantes") foi reconhecida pela adição de "rato" ao nome e à missão do National Mouse Club no Reino Unido (American Fancy Rat and Mouse Association, 2014). No entanto, conforme o interesse por ratos de estimação diminuiu nos anos seguintes, o clube se reorganizou e retirou o termo "rato" de seu nome. Um clube semelhante, o American Fancy Rat and Mouse Association, foi fundado nos Estados Unidos em 1983 (American Fancy Rat and Mouse Association, 2014).

Usos em pesquisa

O primeiro registro de uso de ratos como sujeitos de pesquisa ocorreu em 1828 (Hedrich, 2000), e os primeiros experimentos de criação de ratos conhecidos ocorreram no final de 1800 (Lindsey e Baker, 2006). O primeiro grande esforço para realizar pesquisas nos Estados Unidos usando ratos de laboratório ocorreu no Wistar Institute of Philadelphia, o mais antigo instituto de pesquisa independente dos Estados Unidos, em 1894 (Lindsey e Baker, 2006).

Rattus norvegicus constitui uma das espécies de laboratório mais comumente usadas (Fig. 6), perdendo apenas para o rato de laboratório. Como os ratos e camundongos não estão incluídos nos Regulamentos da Lei de Bem-Estar Animal, o número exato dessas espécies usadas por ano nos Estados Unidos não está disponível. No entanto, o exame dos dados recolhidos na União Europeia pode dar algumas indicações sobre a sua utilização em relação a outras espécies comuns de animais de laboratório. Em 2011, os ratos representaram pouco menos de 14% (1,6 milhões) do total de animais (11,5 milhões) usados em pesquisas na União Europeia (Comissão Europeia, 2013). Isso contrasta com os camundongos, que constituíram 61% (6,9 milhões) do total de animais usados na União Europeia (Comissão Europeia, 2013).

Two juvenile Lobund-Wistar laboratory rats. Photo provided by Kay Stewart.

Os ratos possuem várias qualidades que os tornam um modelo animal altamente adequado e muito preferido. Como os ratos, essas características incluem tamanho relativamente pequeno; fundo genético conhecido; curto tempo de geração; semelhanças com as doenças humanas; e estado microbiano conhecido. Sua natureza tratável os torna mais fáceis de manusear em um ambiente de laboratório do que muitos outros roedores. Ratos raramente mordem seus manipuladores, a menos que estejam extremamente estressados ou com dor.

Os ratos têm sido usados como modelos animais em várias áreas de pesquisa, desde a exploração espacial até a resposta a questões científicas mais básicas sobre nutrição, genética, imunologia, neurologia, doenças infecciosas, doenças metabólicas e comportamento. Talvez seu maior uso seja em estudos de descoberta, eficácia e toxicidade de drogas. Nos Estados Unidos, a aprovação de qualquer novo medicamento para uso em humanos ou animais geralmente exige que o teste de toxicidade seja feito em pelo menos uma espécie de pequeno animal (por exemplo, roedores) e um grande animal ou espécie-alvo (por exemplo, cachorro, primata não humano).

Biologia Normativa

Existem diferenças fisiológicas conhecidas entre as numerosas linhagens consanguíneas e linhagens não-consanguíneas de ratos. O Banco de Dados do Genoma de Rato (RGD) é um recurso amplo e gratuito, repleto de informações sobre os diferentes fenótipos, modelos e ferramentas genômicas usados na pesquisa com ratos (Laulederkind et al., 2013). Os fornecedores de raças e cepas de ratos disponíveis comercialmente são freqüentemente bons recursos para dados fisiológicos normais dessas cepas. Muitos fornecem dados específicos de estoque e cepa diretamente em seus sites, como curvas de crescimento, hemograma completo e painéis de bioquímica sérica e lesões espontâneas vistas na histopatologia.

Biologia Reprodutiva

O dimorfismo sexual existe entre ratos machos e fêmeas. A sexagem de ratos adultos é feita mais facilmente examinando a área perineal do rato e identificando as estruturas reprodutivas externas, como pênis, testículos ou vagina. Além disso, os ratos machos são tipicamente maiores e pesam significativamente mais do que suas contrapartes fêmeas de mesma idade e linhagem. A sexagem de filhotes de ratos é

mais facilmente realizada examinando-se a distância entre o ânus e a abertura genital do filhote. Os machos têm uma distância anogenital maior do que as fêmeas.

Ratos machos possuem testículos emparelhados que descem do abdômen para o saco escrotal por volta dos 15 dias de idade (Russell, 1992). Devido à falta de fechamento dos anéis inguinais, os testículos podem ser retraídos para a cavidade abdominal, mesmo na idade adulta. O rato macho também possui várias glândulas sexuais acessórias. Uma próstata de quatro lóbulos está presente junto com outras quatro glândulas emparelhadas, incluindo: as vesículas seminais, glândulas coagulantes, glândulas ampulares e glândulas bulbouretrais (notadas em alguns textos pelo nome mais antigo, glândula de Cowper) (Popesko et al., 1992) . Devido à forma incomum de bi-chifre da glândula coagulante intimamente associada e das vesículas seminais, os indivíduos não familiarizados com a anatomia masculina dos roedores podem inicialmente confundir essas estruturas com o útero feminino. No entanto, os ápices dessas glândulas são livremente móveis e facilmente exteriorizados da cavidade abdominal, ao contrário do útero, que está preso à parede dorsal do corpo bilateralmente por meio de ovários pares e seus respectivos ligamentos ovarianos.

A anatomia reprodutiva da rata contém algumas características distintas. O útero da rata é classificado como útero duplex, porque a vagina é separada do útero por dois colos individuais, com cada colo levando a um corno uterino separado (Popesko et al., 1992). A placentação da rata grávida é hemotricorial (três camadas), em vez da placentação hemomonocorial (camada única) presente em humanos (Wooding e Burton, 2008). O resto da anatomia reprodutiva (por exemplo, ovário, oviduto) é estrutural e funcionalmente semelhante a outros mamíferos.

Os filhotes de ratos nascem sem pêlos, cegos e surdos e requerem cuidados parentais extensos, fornecidos principalmente pela mãe. Tal como acontece com os camundongos, a pele dos filhotes de ratos sem pêlos tem uma coloração rosa, portanto, eles também são chamados de "dedos mínimos". A inclusão de materiais de nidificação na gaiola é recomendada para auxiliar os filhotes de ratos na regulação térmica até que tenham uma pelagem completa (Whishaw e Kolb, 2005).

Comportamento Normal

Como outros roedores, *Rattus norvegicus* é uma espécie noturna com o maior nível de atividade ocorrendo durante a fase escura. Os comportamentos exibidos por ratos incluem catar, aninhar, comer e outros comportamentos sociais. O comportamento de nidificação serve a vários propósitos entre ratos e camundongos (Gaskill et al., 2012, Gaskill et al., 2013a, Gaskill et al., 2013b, Gaskill et al., 2013c). Os ninhos permitem um melhor controle termorregulador em um determinado ambiente, bem como proteção contra a predação (Gaskill et al., 2013c). Trabalhos recentes em camundongos sugerem que a energia não desviada para termorregulação pode ser desviada para outras atividades, conforme visto por meio de conversão alimentar aprimorada e desempenho de reprodução (Gaskill et al., 2013c). No entanto, a evidência anedótica sugere que a construção de ninhos em ratos é em grande parte um comportamento aprendido, e parece que há um período de desenvolvimento em ratos jovens em que, se expostos a materiais de nidificação durante este tempo, eles começarão a usar os materiais para construir ninhos pelo menos rudimentares (Gaskill, 2014). No mínimo, os ratos se beneficiam de ter um abrigo estrutural ou caixa-ninho onde podem descansar longe de olhos curiosos (Fig. 7).

A multilevel cage with an intracage shelter. This style of caging provides opportunities for exercise for the rats. Photo provided by Melissa Swan.

Os ratos emitem vocalizações de alarme durante os momentos de angústia. No entanto, essas vocalizações associadas negativamente normalmente se registram nos comprimentos de onda ultrassônicos (aproximadamente 22 kHz), bem fora da faixa de audição humana (Burman et al., 2007, Parasana et al., 2012). Os roedores também podem emitir vocalizações audíveis de alta frequência quando extremamente alarmados, angustiados ou com dor (Jourdan et al., 1995, Hans et al., 2005).

Ratos exibindo comportamentos anormais e estereotipias podem criar variáveis nos resultados da pesquisa e não devem ser usados em um estudo, a menos que o comportamento anormal seja o objeto dos sujeitos do estudo (Baenninger, 1967, Callard et al., 2000, Garner e Mason, 2002, Cabib, 2005, Ibi et al., 2008). Exemplos de estereotipias observadas em ratos incluem: roer barra, comportamento de apalpar, girar repetidamente e virar para trás. É fundamental que os ratos recebam alguma forma de enriquecimento ambiental para estimular comportamentos positivos típicos da espécie.

Habitação

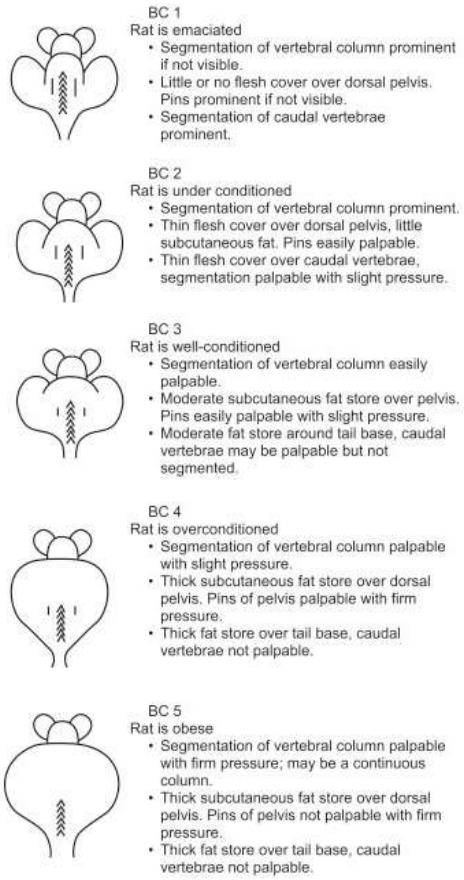
O alojamento de ratos em um ambiente de laboratório é semelhante ao descrito anteriormente para ratos: convencional, FPS e livre de germes. Como os ratos são animais sociais, no mínimo, eles devem ser alojados em pares, sempre que possível. Há uma preponderância de evidências que mostram as diferenças no comportamento afiliativo versus agressivo, mudanças bioquímicas e mudanças na aprendizagem entre ratos criados e alojados em isolamento social versus aqueles alojados em grupos sociais (Baenninger, 1967, Einon e Morgan, 1977, Robbins et al., 1996).

Itens de enriquecimento, como uma cabana, caixa de nidificação ou tipo semelhante de abrigo podem ser incluídos na gaiola para fornecer uma barreira visual entre o rato e o resto da sala dos animais. As evidências sugerem que os ratos preferem abrigos feitos de plástico opaco (Patterson-Kane, 2003). Os ratos também passam muito tempo na selva mastigando para comer ou para manipular objetos para a construção do ninho. Fornecer objetos feitos de materiais seguros na gaiola permite que os ratos exibam esse comportamento natural e estimula o desgaste normal dos incisivos, minimizando a incidência de maloclusão dos dentes.

Os roedores podem se beneficiar do manuseio cuidadoso frequente pelo pesquisador e pela equipe de cuidados com os animais. Este conceito também é conhecido como "gentling" e demonstrou reduzir o estresse experimentado por ratos durante o manuseio e procedimentos experimentais (Hirsjarvi et al., 1990, Van Bergeijk et al., 1990). Outra interação positiva entre humanos e ratos é encontrada nas

"cócegas" de roedores. Com base em dados de vocalização ultrassônica, os roedores consideram as cócegas uma experiência agradável (Burgdorf e Panksepp, 2001, Panksepp, 2007, Hori et al., 2014). As cócegas também podem diminuir a resposta ao estresse observada em roedores após manipulações experimentais como injeções intraperitoneais (Cloutier et al., 2014).

Doenças



Iguais aos camundongos, alguns sinais gerais de problemas de saúde incluem: perda de peso, depressão ou letargia, anorexia, obesidade, diarréia, desalinho ou pelagem franzida, respiração anormal, espirros, fraqueza, desidratação, abdômen aumentado, descolorações (por exemplo, amarelo para icterícia animais ou muito pálidos para animais anêmicos), massas ou inchaços e postura ou marcha anormal. Ao avaliar animais, um escore de condição corporal pode ser usado como uma medida ou escala objetiva para avaliar verdadeiramente o quão gordo ou magro o animal é; e permite a determinação precisa de desfechos em estudos onde se espera que os animais percam ou ganhem peso (Hickman e Swan, 2010) (Fig.8). Algumas das doenças mais comumente encontradas em ratos são apresentadas na Tabela 9

Value	Mouse	Rat
Average life span, months	12-36	26--40
Maximum reported life span, months	48	56
Average adult weight (male) g	20--40	267-500
Average adult weight (female) g	22-63	225-325
Heart rate, beats per minute	450-800	300-500
Respiratory rate, breaths per minute	106-7230	71-146
Tidal volume, ml	0.15-0.29	0.6-1.5
Minute volume, ml	24	220
Rectal temperature, °C	37.1	37.7
Approximate daily diet consumption of adult, g	3-5	15-20
Approximate daily water consumption of adult, ml	5-8	22-33
Approximate daily fecal product ion, g	1-1.5	9-15
Recommended environmental temperature °C	24-25	21-24
Recommended environmental relative humidity, %	45-55	45-55
Total blood volume, ml/kg	70-80	50-65

O Coelho

A casa ancestral do coelho europeu (*Oryctolagus cuniculus*) é a Península Ibérica (Hardy et al., 1995). As primeiras evidências arqueológicas da coexistência de humanos e coelhos podem ser encontradas em locais de escavação datados de aproximadamente 120.000 anos aC em Nice, França (Dickenson, 2013). Na antiguidade, os romanos usavam coelhos como fonte de alimento e são considerados responsáveis pela sua dispersão pela Europa, embora não haja evidências de que eles tentaram realmente domesticá-los (Dickenson, 2013). Acredita-se que a domesticação e a reprodução seletiva tenham começado na França na Idade Média, onde os monges começaram a criar coelhos em seus mosteiros (Dickenson, 2013). Os coelhos foram mantidos confinados em recintos chamados "clapiers" (Dickenson, 2013). Eles foram mantidos em grande parte como uma fonte de alimento para os monges, especialmente desde 600 AC, quando o Papa Gregório I os classificou oficialmente como "peixes" e, portanto, elegíveis para serem comidos durante a Quaresma. No entanto, a produção de lã de coelho logo se tornou um subproduto bem-vindo desses esforços de domesticação.

Usos em pesquisa

Os coelhos europeus têm sido usados em pesquisas desde meados do século XIX. Os primeiros trabalhos com a espécie concentraram-se na anatomia comparativa do coelho com outras espécies, como a rã, e nas características únicas do coração e do sistema circulatório do coelho (Champneys, 1874, Roy, 1879, Smith, 1891). Louis Pasteur usou coelhos em uma série de experimentos que levaram ao desenvolvimento da primeira vacina contra a raiva do mundo (Rappuoli, 2014).

Embora existam numerosas raças de coelhos chamadas de "fantasia" disponíveis no comércio de animais de estimação, a lista de raças usadas rotineiramente em pesquisas é muito mais curta. O coelho branco da Nova Zelândia (NZW) é a raça mais usada em pesquisas (Fig. 9). As raças de coelho da Califórnia e de cinturão holandês também são usadas ocasionalmente. Os pesquisadores desenvolveram linhagens de coelhos geneticamente consanguíneos para aplicações específicas de pesquisa. Por exemplo, a hiperlipidemia hereditária Watanabe (WHHL)

e o coelho WHHL propenso a infarto do miocárdio (WHHLMI), ambos desenvolvidos por pesquisadores no Japão, são usados para explorar doenças associadas à dislipidemia, como a aterosclerose (Shiomi et al., 2003, Shiomi e Ito, 2009).

Os coelhos têm sido usados como modelo de gravidez humana e para a produção de anticorpos policlonais para uso em pesquisas de imunologia (Hanly et al., 1995, Ema et al., 2010, Ito et al., 2011, Fischer et al., 2012) Os coelhos são usados rotineiramente em pesquisas de aterosclerose, osteoporose, ocular e imunológica (Southard et al., 2000, Arslan et al., 2003, McMahon et al., 2005, Castaneda et al., 2008, Habjanec et al., 2008, Manabe et al., 2008, Xiangdong et al., 2011, Panda et al., 2014, Sriram et al., 2014, Wei et al., 2014, Zhou et al., 2014). A produção de anticorpos policlonais é realizada preferencialmente no coelho devido ao seu volume de sangue relativamente grande em comparação com roedores (Hanly et al., 1995). Sua natureza tratável e tamanho corporal maior também os tornam adequados para implantação cirúrgica de dispositivos biomédicos (Gotfredsen et al., 1995, Swindle et al., 2005, Ronisz et al., 2013). Além disso, os coelhos são um modelo preferido em estudos farmacológicos para testes de teratogenicidade de novos compostos farmacêuticos (Gibson et al., 1966, Lloyd et al., 1999, Foote e Carney, 2000, Jiangbo et al., 2009, Oi et al., 2011).

Biologia Normativa

Embora grande parte da anatomia do coelho seja semelhante a outras espécies de mamíferos, deve-se notar que há uma série de diferenças importantes. Por exemplo, a pele do coelho é bastante fina e frágil. Deve-se ter cuidado ao segurar um coelho ou raspar a pele de um coelho (por exemplo, na preparação para a cirurgia) para evitar rasgar a pele. Ao contrário de roedores e outros animais de laboratório, os coelhos não têm almofadas nos pés; em vez disso, a superfície plantar é coberta com pelos (Quesenberry e Carpenter, 2012).

As orelhas compridas do coelho servem a vários propósitos. O mais óbvio é para ouvir. Além disso, a artéria central da orelha e as veias marginais da orelha são facilmente acessíveis tanto para administração intravenosa quanto para coleta de sangue (Diehl et al., 2001, Parasuraman et al., 2010) (Fig. 10). As orelhas também servem como meio de termorregulação, uma vez que o excesso de calor pode ser trocado por toda a grande superfície das orelhas (Sohn e Couto, 2012). A pele dos coelhos não tem glândulas sudoríparas e, portanto, é incapaz de suar; ofegar é insuficiente para dissipar o excesso de calor (Sohn e Couto, 2012). Assim, os ouvidos desempenham um papel vital na manutenção da temperatura corporal adequada. Outras características únicas da pele e dos anexos são a presença do queixo e das glândulas inguinais usadas na marcação de odores. Além disso, a coelha (corça) é notada pela presença de uma grande dobra cutânea preenchida com gordura subcutânea logo abaixo do queixo (barbela) (Sohn e Couto, 2012).

Blood collection sites include the central ear artery (black line) and marginal ear vein (burgundy line) of a New Zealand White rabbit. Photo provided by Deb Hickman.

O esqueleto dos coelhos representa apenas 8% do peso corporal em massa (Brewer, 2006). Isso está em contraste com outros mamíferos de tamanho semelhante. Por exemplo, o esqueleto do gato representa 12–13% do peso corporal (Brewer, 2006). A pequena massa esquelética do coelho, juntamente com fortes músculos das costas, significa que as costas estão sujeitas a fraturas traumáticas (Meredith e Richardson, 2015). Técnicas de retenção e retenção adequadas são necessárias para evitar esse resultado indesejável.

Existem várias características únicas nos sistemas respiratório e cardiovascular dos coelhos. Por exemplo, os coelhos são respiradores nasais obrigatórios (Varga, 2014). Isso é especialmente importante durante procedimentos que envolvem anestesia e colocação de um tubo endotraqueal. Com relação ao sistema cardiovascular, o coração de coelho é o único que a válvula atrioventricular direita (AV)

tem apenas dois folhetos em vez de três (Brewer, 2006). Além disso, devido à semelhança com os humanos no que diz respeito à anatomia neural dos ventrículos, o coelho é a espécie de escolha para a pesquisa da fibra de Purkinje (Brewer, 2006).

Os dentes do coelho têm "raízes abertas", o que significa que continuam a entrar em erupção e crescer ao longo da vida. Isso se aplica a todos os dentes da arcada dentária do coelho (ou seja, incisivos, pré-molares e molares; os coelhos não têm caninos). Isso contrasta com os roedores, onde os incisivos são os únicos dentes de raiz aberta (ou hipsodônticos) (Sohn e Couto, 2012). Assim, os dentes do coelho estão sujeitos a crescimento excessivo. Outra característica única da dentição de coelhos que os diferencia dos roedores é a presença de um segundo conjunto de incisivos logo atrás do primeiro conjunto de incisivos superiores, conhecido como dentes de "pino" (Sohn e Couto, 2012). Acredita-se que eles ajudem a arrancar as folhas suculentas das plantas durante o pastejo.

Como um herbívoro obrigatório, o trato gastrointestinal dos coelhos difere muito daquele dos carnívoros e onívoros. Os coelhos requerem uma dieta rica em fibras entre 14 e 20% (Sohn e Couto, 2012). O intestino delgado é dividido em três seções principais: duodeno, jejuno e íleo. O íleo se conecta ao ceco por meio de uma estrutura chamada *sacculus rotundus*. A presença de folículos linfáticos sugere que o *sacculus rotundus* possui funções imunológicas. Às vezes é chamada de "tonsila" ileocecal (Jenkins, 2000). No coelho, o tecido linfóide associado ao estômago também está presente no intestino delgado e no apêndice vermiforme (Lanning et al., 2000).

O ceco, uma grande bolsa distensível do intestino grosso, retém cerca de 40% da ingesta total (Sohn e Couto, 2012). Os coelhos são considerados "fermentadores de intestino grosso". As bactérias presentes no ceco fermentam a fibra digestível encontrada na dieta. O produto desse processo fermentativo torna-se cecotrófico (também conhecido como "fezes noturnas"). Os cecotróficos são excretados cerca de 8 horas após a ingestão dos alimentos iniciais (Sohn e Couto, 2012). São mais macios e de aparência mais mucóide do que as "fezes diurnas" duras e secas produzidas apenas 4 horas após o consumo de alimentos (Sohn e Couto, 2012). A maior parte das fezes diurnas consiste na fibra indigerível encontrada na dieta. A classificação dos alimentos

destinados a se tornarem fezes diurnas ou cecotróficos e o momento de sua excreção relativa depende em grande parte da entrada neural do *fusus coli*, também denominado "marcapasso" do cólon (Sohn e Couto, 2012). O *fusus coli* está anatomicamente localizado entre os dois pontos ascendente e transversal do coelho (Popesko, 1992). O consumo de cecotróficos por coelhos é uma parte importante do processo digestivo em coelhos, pois são ricos em vitaminas B, como niacina e B12, e vitamina K (Hörnicke, 1981). Enquanto os cecotróficos são conhecidos coloquialmente como "fezes noturnas", os coelhos os produzem e comem em todas as horas do dia (Sohn e Couto, 2012). Os coelhos são ágeis o suficiente para comer essas fezes noturnas diretamente de seu ânus (Sohn e Couto, 2012). Os pesquisadores que realizam pesquisas digestivas (por exemplo, coleta fecal por meio de gaiolas de metabolismo) devem ter isso em mente.

Biologia Reprodutiva

A sexagem de coelhos adultos é auxiliada pelo dimorfismo sexual presente na espécie. As fêmeas maduras são facilmente identificadas pela presença da barbela (Sohn e Couto, 2012). As mulheres têm de 8 a 10 mamilos, enquanto nos homens esses mamilos estão presentes, mas rudimentares (Sohn e Couto, 2012). Os coelhos NZW atingem a maturidade sexual entre 5 e 7 meses (Suckow et al., 2002

Os machos adultos têm testículos emparelhados encerrados em sacos escrotais sem pelos emparelhados (Sohn e Couto, 2012). Como os roedores, os anéis inguinais não se fecham. As glândulas sexuais acessórias incluem vários órgãos bilobados: a vesícula seminal, a glândula vesicular, a próstata e a glândula paraprostática. As glândulas bulbouretrais dos bucks são pareadas (Sohn e Couto, 2012).

Coelhas fêmeas são ovuladoras induzidas (Dal Bosco et al., 2011, Sohn e Couto, 2012). Ou seja, o óvulo não ovula espontaneamente a partir do ovário, sendo necessária a estimulação manual por meio da cópula. A ovulação ocorre aproximadamente 10 horas após a copulação (Sohn e Couto, 2012). Por serem ovuladoras induzidas, não possuem ciclo estral definido. Em vez disso, eles têm períodos de receptividade sexual que duram aproximadamente 14–16 dias seguidos por 1–2 dias de não receptividade.

Os acasalamentos não férteis podem resultar em um período de pseudogravidez de até 15–16 dias (Sohn e Couto, 2012). Os acasalamentos férteis resultam em gravidez com duração de 31-32 dias (Sohn e Couto, 2012). A placenta de coelhos é classificada como hemodicorial; isso está em contraste com humanos que têm uma placenta hemomonocorial (Furukawa et al., 2014).

O parto (ou seja, parto; também conhecido como "kindling") ocorre mais frequentemente durante as primeiras horas da manhã (Sohn e Couto, 2012). Os kits nascem surdos e cegos. Aos 7 e 10 dias de idade, eles podem ouvir e ver, respectivamente (Quesenberry e Carpenter, 2012). Surpreendentemente, amamenta seus filhotes diariamente, geralmente durante a fase escura, e por aproximadamente apenas 5-6 minutos (Sohn e Couto, 2012). Os kits são capazes de ingerir cerca de 30% de seu peso corporal total nesse período. Selvagem e domesticado seguem esse comportamento de amamentação. Os kits para coelhos podem ser desmamados entre 5 e 8 semanas de idade (Suckow et al., 2002). O desmame precoce não deve ser tentado, pois pode haver efeitos prejudiciais profundos sobre o funcionamento do sistema gastrointestinal (Bivolarski e Vachkova, 2014).

Comportamento

Os coelhos são criaturas noturnas muito sociais. A marcação de odores é uma parte normal e importante de seu repertório de comportamento. Os coelhos esfregam as secreções das glândulas odoríferas do queixo contra objetos inanimados, outros coelhos e manipuladores humanos em um processo denominado "chinning" (Sohn e Couto, 2012). Hierarquias de dominância são estabelecidas comportamentalmente. Animais dominantes podem montar, "barbeiros" ou subordinados com marcas de cheiro. Barbear é o ato de mastigar o pêlo de um animal subordinado, geralmente no pescoço e nas costas no caso dos coelhos, muito próximo à pele, dando a impressão de ter sido cortado ou "barbeado". Os coelhos irão "bater" com uma ou ambas as patas traseiras no chão quando assustados ou como um alarme para outros coelhos (Bays, 2006). Coelhos muito estressados podem, na verdade, emitir um grito alto e agudo, especialmente quando capturados por um indivíduo destreinado. É importante abordar os coelhos com calma e silêncio. Coelhos relaxados e contentes podem ser ouvidos

fazendo um som de ronronar. Os coelhos se beneficiam de interações repetidas e positivas com pessoas semelhantes ao conceito de "gentling" em ratos.

Mudanças no comportamento geralmente são a primeira indicação de que um animal está com dor. Dado que os coelhos são uma espécie de presa, evolutivamente falando, não é do interesse do coelho exibir sinais de dor. Assim, esses comportamentos são, na maioria das vezes, bastante sutis por natureza e podem ser facilmente perdidos se não houver atenção especial. O primeiro sinal frequentemente visto em um coelho com dor é uma diminuição do apetite, resultando em pouca ou nenhuma ingestão de alimentos (Sohn e Couto, 2012). Os coelhos frequentemente rangem os dentes (ou seja, bruxismo) quando sentem dor. Outros coelhos podem simplesmente parecer muito enfadonhos e inativos.

Tal como acontece com os roedores, os coelhos podem desenvolver estereotipias. Devido à sensibilidade do nariz e dos lábios do coelho, muitas estereotipias envolvem comportamentos de mastigação. Mastigar uma barra, mastigar a garrafa de água e se barbear são todos comportamentos estereotipados observados em coelhos (Gunn e Morton, 1995, Chu et al., 2004). Além disso, os coelhos podem "deslizar o nariz" contra superfícies sólidas, como as paredes da gaiola e balançar a cabeça (Sohn e Couto, 2012). Animais que exibem estereotipias não são bons animais de pesquisa. Devem ser feitos esforços, sempre que possível, para prevenir esses comportamentos por meio do uso de enriquecimento ambiental. O enriquecimento pode ser na forma de objetos resistentes à mastigação (como halteres de plástico e chocalhos de aço inoxidável) e guloseimas (Poggiagliolmi et al., 2011). Como uma espécie de presa, os coelhos se beneficiam da inclusão de uma cabana na gaiola ou, pelo menos, de uma barreira visual para a qual eles podem recuar quando psicologicamente estressados (Baumans, 2005). As fêmeas reprodutoras devem sempre ter acesso a uma caixa-ninho para permitir a expressão necessária do comportamento normal de nidificação.

Habitação e Gestão

Por serem criaturas sociais, idealmente os coelhos deveriam ser alojados em pares ou trios compatíveis, a menos que contraindicado pelos objetivos da pesquisa ou pela incompatibilidade dos animais (Sohn e Couto, 2012). Grupos sociais estáveis formados logo após o desmame, onde os animais não são adicionados ou removidos, são mais benéficos (Boers et al., 2002). Estruturalmente, os coelhos se beneficiam de um alojamento com espaço vertical e horizontal adequado (Boers et al., 2002). Uma recomendação sobre os requisitos de espaço para coelhos de laboratório estipula 16 pol. Como a altura mínima da gaiola vertical (National Research Council, 2011). No mínimo, os coelhos devem ser capazes de sentar-se confortavelmente eretos na gaiola, sem que suas orelhas se inclinem (National Research Council, 2011).

Coelhos de laboratório são normalmente alojados em gaiolas de aço inoxidável de fácil higienização (Fig 11). O piso de ripas permite que a urina e as fezes caiam através das ripas em recipientes especiais fixados abaixo da gaiola, facilitando a higienização das gaiolas. No entanto, deve-se ter cuidado para que as ripas tenham largura suficiente para evitar uma condição conhecida como bumblefoot. Corridas de cães com piso elevado de ripas ou piso sólido com cama também têm sido usadas por alguns investigadores em coelhos alojados em grupo com sucesso (observações pessoais). Novamente, deve-se prestar atenção ao piso e seu efeito na saúde dos pés.

Estão disponíveis dietas de pesquisa comercialmente formuladas especificamente para coelhos. Essas dietas são preferidas às chamadas "dietas naturais" e à alimentação de vegetais individuais. Isso ocorre porque os coelhos tendem a ser comedores muito seletivos, o que pode levar a desequilíbrios nutricionais (Fraser e Girling, 2009). Além disso, o uso de vegetais frescos pode levar à introdução de patógenos indesejados como Salmonella (Varga, 2014). As dietas comerciais estão disponíveis em formulações dietéticas de manutenção e desempenho reprodutivo, bem como dietas pré-esterilizadas para coelhos alojados em condições de FPS.

Coelhos são muito facilmente estressados pelo calor e, portanto, devem ser mantidos em temperaturas significativamente mais baixas do que outros animais de laboratório, como ratos e camundongos. O ruído é outro fator de estresse significativo para os coelhos (Verga et al., 2007). Ruídos repentinos, agudos e altos são muito perturbadores. No entanto, em geral, o ruído dentro das salas dos animais deve ser evitado tanto quanto possível. Por esta razão, os coelhos não devem ser alojados, mesmo temporariamente para procedimentos curtos, perto de áreas de alto ruído.

Doenças

Problemas em coelhos relacionados ao sistema gastrointestinal são relativamente comuns. Esses problemas podem se tornar sérios muito rapidamente. Portanto, é fundamental que as anormalidades observadas (por exemplo, coelho que não come ou fezes anormais) sejam relatadas à equipe de cuidados veterinários imediatamente. Mesmo que um pesquisador não tenha certeza se há um problema, é melhor relatar as suspeitas porque, sem uma intervenção imediata, problemas aparentemente menores podem evoluir para condições potencialmente fatais. Algumas das condições clínicas mais comumente observadas em coelhos estão resumidas na Tabela 11.

Commonly Seen Clinical Conditions in Rabbits

Dysbiosis	**Gastrointestinal upset generally secondary to the use of broad spectrum antibiotics, such as penicillin.**
Malocclusion	Misalignment and subsequent overgrowth of the continuously growing teeth
Pododermatitis ("bumblefoot")	Infection of the underside of the feet
Pasteurella multocida	Common cause of respiratory infections and abscesses

Peixe-zebra

O peixe-zebra, *Danio rerio* da família Cyprinidae, é um peixe pequeno, listrado de azul escuro e amarelo, cardume, teleósteo, popular entre os entusiastas do aquário e cada vez mais entre a comunidade de pesquisa (Fig. 12). Os peixes adultos têm 4–5 cm de comprimento, com uma linha lateral incompleta e dois pares de barbilhões (Laale, 1977). Os machos têm barbatanas anais maiores e coloração mais amarela; as fêmeas têm uma pequena papila genital logo rostral à nadadeira anal (Laale, 1977, Creaser, 1934).

Male zebrafish have a more streamlined body with darker blue strips while the females have a white protruding belly. Photo provided by Kay Stewart.

O peixe-zebra é um peixe resistente de água doce originário de uma região tropical com uma estação anual de monções. Os peixes são geralmente encontrados em águas de movimento lento de rios, riachos e pântanos, na região do Sul da Ásia da Índia, Bangladesh e Nepal (Engeszer et al., 2007, Spence et al., 2008). As águas tendem a ser rasas, relativamente claras, com substratos de argila, silte ou pedra de tamanhos variados (McClure et al., 2006, Engeszer et al., 2007). Os peixes se alimentam principalmente de insetos e plâncton, com evidência de alimentação ao longo da coluna d'água, bem como da superfície da água (McClure et al., 2006, Engeszer et al., 2007, Spence et al., 2008).

Usos em pesquisa

O pequeno tamanho do peixe-zebra, a facilidade de manter grandes números, desova frequente, grandes ovos, ovos translúcidos não aderentes, rápido desenvolvimento e sequenciamento complexo do genoma do peixe-zebra são todos os componentes principais que tornam o peixe-zebra um modelo de pesquisa atraente. Curiosamente, aproximadamente 70% dos genes do peixe-zebra têm pelo menos um

gene humano ortólogo (Howe et al., 2013). Publicações sobre o uso de peixe-zebra em pesquisas são citadas já na década de 1930 (Creaser, 1934). Até o início dos anos 1970, o uso de peixe-zebra permaneceu bastante baixo, com o número de artigos publicados ficando abaixo de 20 por ano. Em meados da década de 1970, as publicações aumentaram para cerca de 40 por ano, dobrando novamente na década de 1980, aumentando para quase 200 artigos por ano no início da década de 1990 e expandindo rapidamente para 1929 publicações em 2012.

A biologia do desenvolvimento foi o foco inicial do uso da pesquisa do peixe-zebra. No entanto, nos últimos anos, o uso do peixe-zebra em pesquisas relacionadas à bioquímica e biologia molecular, biologia celular, ciências neurológicas e genética tem aumentado rapidamente.

Biologia

Sabe-se que o peixe-zebra vive apenas um ano na natureza (Spence et al., 2008). Na maior parte do ano, os peixes residem em riachos rasos. Com o início das chuvas de monções, eles se movem para várzeas e várzeas superficiais e inundadas, altamente vegetadas, incluindo arrozais, com pouca ou nenhuma corrente e muitas vezes fundos de silte para a desova (Engeszer et al., 2007). A prole então se desenvolve nessas águas até que as águas sazonais diminuam (Engeszer et al., 2007). O peixe-zebra amadurece rapidamente, atingindo a maturidade sexual logo 2 meses após a fecundação (Lawrence et al., 2012). O peixe-zebra continua a crescer ao longo da vida, que é muito mais longa em cativeiro, com uma vida média de 3,5 anos em cativeiro (Gerhard et al., 2002).

Na natureza, o comportamento de desova ocorre em pequenos grupos de três a sete peixes. Os machos dentro do grupo perseguem as fêmeas, com a desova ocorrendo ao longo do substrato (Spence et al., 2008). Comportamentos semelhantes são observados em peixes-zebra de laboratório, com desova ocorrendo frequentemente com a primeira luz do dia. O comportamento de namoro envolve uma rápida perseguição da fêmea, o macho nadando ao redor da fêmea, cutucando-a ou nadando para frente e para trás, levando a fêmea até o local de desova. Curiosamente,

o peixe-zebra prefere desovar perto de plantas artificiais. Uma vez lá, o macho permanece próximo à fêmea, estendendo suas nadadeiras para alinhar seu poro genital com o da fêmea. O macho também pode ondular rapidamente sua cauda contra o lado da fêmea para iniciar a liberação do óvulo pela fêmea, coincidindo com a descarga de esperma pelo macho. A fêmea produz ovos em lotes de 5–20 ao longo de vários encontros com o macho por até uma hora. A maioria dos ovos é liberada nos primeiros 30 minutos, com um pico de produção durante os primeiros 10 minutos (Darrow e Harris, 2004, Spence et al., 2008).

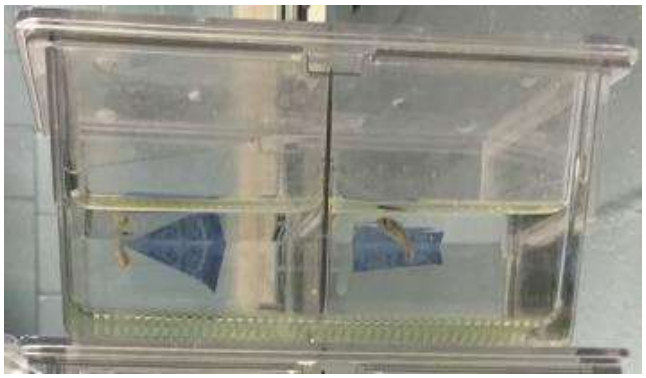
O peixe-zebra produz grandes ninhadas de ovos, de 150 a 400 ovos por ninhada (Laale, 1977). Os ovos, com aproximadamente 0,7 mm de diâmetro, são transparentes e protegidos por uma membrana coriônica (Kimmel et al., 1995). Os primeiros movimentos corporais e os estágios iniciais do desenvolvimento do órgão ocorrem 10–24 h após a fertilização (Kimmel et al., 1995). Conforme o desenvolvimento continua, a larva eclode do ovo dois a três dias após a fertilização (Kimmel et al., 1995). A larva inicial tem células secretoras especiais dentro de regiões multicelulares da epiderme da cabeça que permitem que as larvas se fixem em várias superfícies duras e plantas até que a bexiga natatória infla 4 ou 5 dias após a fertilização (Laale, 1977, Kimmel et al., 1995). Assim que a bexiga de ar infla, os peixes podem manobrar através da coluna de água.

Em cativeiro, o peixe-zebra pode se reproduzir durante todo o ano. A presença de machos, ou mesmo apenas dos feromônios masculinos, é necessária para induzir a ovulação (Gerlach, 2006). Se as fêmeas forem alojadas longe dos machos por um período prolongado, elas podem reter os ovos, resultando em inflamação associada aos ovos, que pode ser letal (Kent et al., 2012a).

Habitação e Gestão

Para acomodar o ciclo de vida dos peixes, os peixes-zebra são normalmente alojados em gaiolas de desova estáticas para permitir a produção de ovos fertilizados. As gaiolas de desova incluem um tanque de alojamento contendo uma inserção de fundo com fenda transparente e uma planta de plástico. A inserção é muitas vezes

colocada no tanque de retenção em um ângulo para criar uma região rasa para desova e o fundo com fenda da inserção permite a fácil coleta de ovos (Lawrence e Mason, 2012, Nasiadka e Clark, 2012) (Fig. 13). Os embriões são então incubados a cerca de 28,5 ° C em uma placa de Petri por pelo menos 3-4 dias após a fertilização (Wilson, 2012). Os peixes são então mantidos em contenção estática ou de fluxo lento de água e podem ser alimentados com *Paramecium*, rotífero, um alimento em pó ou uma combinação desses tipos de alimentos.



Example of a zebrafish spawning system. The system is designed to allow eggs to fall beneath a slotted insert to the bottom of the tank as a way to prevent the adult fish from consuming the eggs. Photo provided by Robin Crisler.

Infelizmente, além da necessidade de ácidos graxos essenciais em sua dieta, pouco ainda se sabe sobre as necessidades nutricionais do peixe-zebra. O peixe-zebra em ambientes de pesquisa é tipicamente alimentado com ração viva como Artemia (camarão de salmoura), rotíferos, vermes (larvas de Chironomidae), ração comercial ou uma combinação de todos (Lawrence, 2007). O tamanho do alimento é necessário para se adequar ao tamanho da boca das larvas, aproximadamente 100 µm (Lawrence, 2007, Wilson, 2012). O fluxo de água e o tamanho da ração aumentam com o desenvolvimento, com a transição da ração para Artemia (artêmia) e / ou uso de uma ração comercial de partículas maiores durante os 8-15 dias pós-fertilização (Wilson, 2012).

Uma vez atingida a fase juvenil, por volta de 29 dias pós-fecundação, os peixes são alojados mais como peixes adultos, com alimentação mais frequente e fluxo de água mais lento para acomodar seu desenvolvimento remanescente e menor tamanho, respectivamente (Wilson, 2012). Já aos 2 meses de idade os peixes estão sexualmente maduros (Lawrence et al., 2012).

O peixe-zebra adulto pode ser alojado em aquários de vidro tradicionais ou sistemas computadorizados e automatizados elaborados que monitoram e controlam os parâmetros de qualidade da água, como temperatura (normalmente 28,5 ° C), pH, dureza da água, salinidade, oxigênio dissolvido e resíduos nitrogenados (Lawrence, 2007, Lawrence e Mason, 2012). Se mantidos manualmente ou computadorizados, esses parâmetros são importantes para monitorar e manter em níveis adequados para maximizar a saúde dos peixes. A má qualidade da água pode causar doenças nos peixes (Kent et al., 2012b).

Doenças

Muitos dos organismos que causam doenças no peixe-zebra são oportunistas no ambiente e permanecem subclínicos até que o peixe esteja estressado, muitas vezes devido a problemas com o manejo.

Habitações com manutenção adequada, combinadas com água de qualidade saudável, prevenção da superlotação e um programa funcional de quarentena e vigilância sanitária são componentes essenciais para evitar estresse e doenças. Até o momento, não há vírus conhecidos documentados no peixe-zebra como preocupações com doenças de ocorrência natural (Kent et al., 2012b). As infecções por Mycobacterium são as infecções bacterianas mais frequentemente documentadas (Kent et al., 20122, Kent et al., 2012b).

Anfíbios e Répteis

A classe Reptilia é composta por quatro ordens classificadas como Chelonia, Rhynchocephalia, Squamata e Crocodilia (Frye, 1991). Na classe Amphibia, os animais mais comumente encontrados em ambientes de pesquisa estão na ordem Anura, contendo sapos e rãs (como *Xenopus*, *Bufo*, *Rana*, *Hyla* e *Dendrobates* spp.); e na ordem Caudata, contendo salamandras como a *Salamandra tigre*, *Ambystoma tigrinum* e o axolote, *Ambystoma mexicanum* (National Research Council, 1974) (Figura 14, Figura 15). Cobras e lagartos estão na classe Reptilia, ordem Squamata; quelônios (tartarugas, cágados) estão na ordem Chelonia; e crocodilos e jacarés estão em ordem Crocodilia.

Commonly used amphibians include (A) the axolotl, *Ambystoma mexicanum*. Provided by Chris Konz. And (B) African clawed frogs, *Xenopus laevis*, Provided by Randalyn Shepherd.

Usos em pesquisa

Em contraste com a pesquisa em mamíferos, há uma tendência para a pesquisa de répteis e anfíbios ser mais orientada para o estudo da evolução e da ecologia, em oposição aos modelos de avaliação da ciência básica de doenças humanas (Pough, 1991). Salamandras e sapos são importantes para estudar o desenvolvimento embrionário, metamorfose, regeneração, fisiologia e mudanças climáticas (Burggren e Warburton, 2007, Hopkins, 2007, Pough, 2007). Os répteis são frequentemente estudados por causa de seus sistemas cardiovasculares mais simples, bem como para avaliar os mecanismos de respostas imunológicas, controles hormonais e métodos de reprodução exclusivos, como partenogênese (Frye, 1991). Dos anfíbios, *Xenopus laevis*

(sapo com garras da África do Sul) e *Xenopus tropicalis* (sapo com garras do oeste) são comumente estudados no ambiente de pesquisa. *X. laevis* é um modelo de pesquisa proeminente em medicina comparada e estudos de desenvolvimento, e é a espécie mais comumente estudada no gênero *Xenopus* (Denardo, 1995, Schultz e Dawson, 2003, O'Rourke, 2007). As vantagens incluem ovos de grande porte para facilitar a observação do desenvolvimento do embrião, bem como a riqueza da literatura publicada em áreas de pesquisa como evolução, neurobiologia, regeneração, endocrinologia e toxicologia (Koustubhan et al., 2008, Gibbs et al., 2011). *Rana catesbeiana* (rã-touro) tem sido usada para estudos de desenvolvimento e toxicológicos, e para estudo de doenças infecciosas do fungo quitrídeo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Alworth e Vazquez, 2009). *A. mexicanum*, em particular, é estudado para compreender a capacidade regenerativa do blastema de membros amputados em nível molecular (Gresens, 2004, Rao et al., 2014). *Ambystoma tigrarium* foi estudado em relação ao declínio geral dos anfíbios na América do Norte, contaminantes ambientais como pesticidas e efeitos da infecção com o vírus *A. tigrarium* (Sheafor et al., 2008, Kerby e Storfer, 2009, Chen e Robert, 2011, Kerby et al., 2011). Uma variedade de cobras, crocodilos, lagartos e tartarugas foram estudados em pesquisas. Por exemplo, *Anolis carolinensis* (o anole verde) tem sido usado para o estudo da biologia da reprodução (Lovern et al., 2004). *Caiman crocodilus* e *Alligator mississippiensis* (crocodilos), *Trachemys scripta elegans* (controles deslizantes de orelhas vermelhas) representam alguns outros exemplos de répteis usados em pesquisas (O'Rourke e Schumacher, 2002).

Biologia

Anfíbios e répteis são considerados ectotérmicos (Greene, 1995). Ao contrário dos mamíferos e das aves, os ectotérmicos são incapazes de regular internamente as temperaturas corporais acima da temperatura ambiente por meio do metabolismo e requerem adaptações comportamentais e termorregulatórias complexas para regular a temperatura (Pough, 1991, Seebacher e Franklin, 2005). Em cativeiro, os ectotérmicos normalmente requerem fontes suplementares de calor para imitar os efeitos termorreguladores do banho de sol.

Alguns anfíbios e répteis são aquáticos (sapo *Xenopus* spp.), enquanto outros são semi aquáticos ou terrestres. *X. laevis* e *X. tropicalis* são de áreas geograficamente distintas e têm requisitos de temperatura diferentes dependendo do estágio de vida, com adultos de *X. tropicalis* geralmente em torno de 25 °C em seu habitat natural versus cerca de 20 °C para *X. laevis* (Tinsley et al., 2010). A pele dos anfíbios é permeável à água e alguns adultos (pererecas semiterrestres na família Hylidae, sapos arbóreos e terrestres em Bufonidae) podem receber uma porção significativa de suas necessidades diárias de água por meio da absorção através de uma área rica em vasos na área pélvica chamada de adesivo pélvico (Pough, 2007, Ogushi et al., 2010). A pele de alguns anfíbios contém toxinas que podem causar arritmias em manipuladores humanos, por exemplo, alcalóides de sapos dendrobatídeos e bufotoxinas de sapos do gênero *Bufo* (DeNardo, 1995). As toxinas servem para manter os predadores afastados, mas, como com o *Xenopus*, podem prejudicar os próprios animais por contato direto contínuo ou difusão através da água (Tinsley, 2010, Chum et al., 2013). A pele dos anfíbios é facilmente danificada, portanto, para proteger o animal durante o manuseio, luvas sem pó devem ser usadas (Gentz, 2007).

Comportamento

Pesquisadores e provedores de cuidados com os animais devem investigar o ambiente natural de cada espécie sob seus cuidados e avaliar criticamente quais características são necessárias para o comportamento normal e a fisiologia para fornecer os elementos essenciais no ambiente de pesquisa (Pough, 1991). Na natureza, anfíbios e répteis vivem em ambientes ecológicos que abrangem uma variedade de diversidade, desde áreas de floresta até desertos secos. Eles podem ser arbóreos, aquáticos ou terrestres. Eles costumam ser secretos e se escondem quando em habitats naturais, preferindo se esconder sob a vegetação ou em fendas. Os parâmetros do habitat natural a serem avaliados incluem temperatura, umidade, necessidades nutricionais, dieta natural, comportamento noturno versus diurno e densidade habitacional. Devem ser estabelecidos gradientes de temperatura e iluminação para que os animais possam escolher se aproximar ou se afastar da fonte de calor como

forma de evitar o superaquecimento. A maioria das espécies de anfíbios na natureza são noturnas (Pough, 2007, Tinsley, 2010).

Habitação e Gestão

Os anfíbios e répteis são sensíveis aos produtos químicos do meio ambiente. Os parâmetros de qualidade da água (como pH, dureza, amônia, nitrato / nitrito, salinidade, condutividade) devem ser monitorados regularmente. As cloraminas estão frequentemente presentes no abastecimento de água municipal e são tóxicas para as espécies aquáticas. A água deve ser tratada antes do uso para espécies aquáticas com um agente como o tiossulfato de sódio, uma vez que a cloramina não se dissipa prontamente (Browne et al., 2007). A amônia é um produto da decomposição entre a cloramina e a reação do tiossulfato de sódio e é uma preocupação para animais aquáticos (Browne et al., 2007, Koustubhan et al., 2008, O'Rourke e Schultz, 2002).

Uma ampla variedade de materiais de gaiola pode ser usada para abrigar, como vidro, plástico, aço inoxidável ou fibra de vidro, mas deve estar livre de contaminantes ou produtos químicos prejudiciais, como bisfenol A, que podem vazar da gaiola para a água (Levy et al., 2004, Browne et al., 2007, Bhandari et al., 2015). Os agentes usados para higienizar as gaiolas devem ser escolhidos para minimizar a probabilidade de resíduos prejudiciais.

O enriquecimento ambiental deve ser fornecido para encorajar comportamentos naturais e pode incluir o fornecimento de companheiros de gaiola para interação social, acessórios de gaiola que servem como esconderijos ou abrigos (Fig. 16), bem como fornecer uma variedade de guloseimas em locais variáveis para oportunidades de forrageamento (Hurme et al., 2003). Aromas, sons e escolhas de cores também podem ser incorporados às estratégias de enriquecimento, desde que sejam cuidadosamente avaliados para garantir que sejam benéficos e não causem estresse. Por exemplo, a tartaruga, *Chelonoidis denticulata*, pode apresentar uma preferência de cor para itens de enriquecimento de cor vermelha (Passos et al., 2014). Tubos de PVC são outro exemplo de enriquecimento fornecido a *X. laevis* para uso como cobertura (Koustubhan et al., 2008). Algumas espécies podem exigir rampas de

transporte, áreas para banhos de sol, áreas de descanso flutuantes ou dispositivos de enriquecimento ao longo da superfície da água para ajudar a prevenir o afogamento. Deve-se considerar a possibilidade de ingestão, pois répteis e anfíbios podem tentar consumir os substratos que lhes são fornecidos.

Use of a rabbit feeder for Xenopus enrichment. Photo by Randalyn Shepherd.

O grau em que os anfíbios são sociais varia significativamente dependendo da espécie e nem sempre é bem compreendido. Eles usam a discriminação visual e olfativa para ajudá-los a encontrar comida, forragem e evitar predadores (Vitt e Caldwell, 2014). Tanto na natureza quanto em cativeiro, répteis e anfíbios podem apresentar comportamento excitatório quando alimentados (às vezes descrito como um "frenesi alimentar"), o que pode resultar em ferimentos nos animais quando os animais estão próximos (Divers e Mader, 2006, Tinsley, 2010) . Tanques superlotados podem resultar em competição por comida e traumas subsequentes. Assim, quando colocados juntos pela primeira vez, os animais devem sempre ser observados quanto à compatibilidade; e apenas membros da mesma espécie deveriam ser alojados juntos.

Muitos répteis e anfíbios são artistas de fuga e a prevenção de fuga e ferimentos é um fator crítico ao se considerar o projeto de habitações. As espécies com tendência a pular devem ter tampas seguras em seus compartimentos.

As dietas de anfíbios e répteis são altamente variáveis na natureza e dependem das espécies. As dietas peletizadas preparadas comercialmente podem estar disponíveis e ser aceitas por répteis e anfíbios aquáticos, no entanto, anfíbios terrestres e muitos répteis podem preferir dietas vivas (Pough, 2007). Não é incomum para algumas espécies passar vários dias de jejum entre as refeições na natureza (Pough, 1991). Recomenda-se a consulta com pessoas com experiência em alojar e alimentar com sucesso as espécies em questão (zoológicos, nutricionistas, herpetologistas).

Doenças

Existem muitos tipos diferentes de agentes infecciosos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas que podem causar problemas de saúde em anfíbios e répteis, além de condições não infecciosas, como as resultantes de desequilíbrios nutricionais, doenças metabólicas, neoplasias, traumas e outras doenças espontâneas. Embora avanços significativos no conhecimento tenham sido feitos nos últimos 100 anos em relação a doenças nessas espécies, muito ainda permanece desconhecido. Não é possível entrar em detalhes aqui, mas existem excelentes textos de referência para doenças em anfíbios e répteis que podem ser consultados (Jacobson, 2007, Frye, 1991, Wright e Whitaker, 2001).

Pássaros

Do ponto de vista taxonômico, as aves são classificadas na classe Aves, que inclui ordens múltiplas com base em características anatômicas, fisiológicas e genéticas. Passeriformes é a ordem maior e contém pássaros canoros e pássaros empoleirados, como o tentilhão, o canário e o cardeal (Fig. 17). A ordem Columbiformes contém pombos e pombas; a ordem Psittaciformes contém periquitos e papagaios, como o cinza africano; e a ordem Galliformes contém aves domésticas, como a galinha e a codorna (Proctor e Lynch, 1993, Ritchie et al., 1994) (Fig. 18).

The zebra finch is a common avian species used in research.

From http://www.redorbit.com/news/science/1112751282/male-zebra-finches-fake-song-121912/.

The domesticated chicken commonly used in research. Provided by Kay Stewart.

Usos em pesquisa

Aves têm sido usadas como modelos de pesquisa de doenças humanas e são importantes na avaliação do envelhecimento, memória, parasitologia, aterosclerose,

reprodução e doenças infecciosas, entre outros tópicos (Austad, 1997, Austad, 2011, Maekawa et al., 2014). Os genomas de várias espécies de aves já foram sequenciados (Jarvis et al., 2014). Historicamente, as galinhas (*Gallus domesticus*) são as espécies de aves mais comuns estudadas na pesquisa biomédica e agrícola e são um modelo clássico em áreas como imunologia, virologia, doenças infecciosas, embriologia e toxicologia (Scanes e McNabb, 2003, Kaiser, 2012) . As galinhas também são estudadas para avaliar o desenvolvimento reprodutivo e doenças da retina. Ovos de galinha embrionados têm sido usados para produzir comercialmente vacinas (como para a gripe humana), estudados para análise de desenvolvimento e agora estão sendo tratados com vetores virais como lentivírus para produzir embriões transgênicos. Linhagens consanguíneas com resistência aprimorada a doenças estão sendo desenvolvidas e a tecnologia transgênica no futuro pode permitir que embriões sejam usados como biorreatores para produzir proteínas terapêuticas de interesse e potencialmente gerar galinhas transgênicas que têm resistência aprimorada a patógenos (Bacon et al., 2000, Scott et al., 2010). Como as galinhas desenvolvem câncer de ovário espontâneo com uma incidência de até 35%, elas também são um modelo proeminente de câncer de ovário em humanos (Bahr e Wolf, 2012, Hawkridge, 2014). Codornizes (*Coturnix coturnix* e *C. japonica*) foram estudadas em muitas das mesmas disciplinas de pesquisa que as galinhas, mas oferecem vantagens devido ao seu tamanho menor e porque estão entre as espécies de aves de vida mais curta (Austad, 1997). *C. japonica* foram selecionados como um modelo para avaliar a biologia reprodutiva e comportamentos sociais, como seleção de parceiros, porque eles prontamente mostram comportamento sexual em cativeiro (Ball e Balthazart, 2010). Tal como acontece com o frango, métodos para estudar codornas transgênicas estão agora se tornando disponíveis e oferecem uma ferramenta útil para estudar a função do gene (Seidl et al., 2013).

Dos Psittaciformes, papagaios e periquitos da Amazônia (ondulados Melopsittacus) estão entre os mais comumente estudados, com tópicos de pesquisa incluindo medicina veterinária, diagnóstico, comportamento, cognição, envelhecimento e estudos sensoriais (Austad, 2011, Kalmar et al., 2010). O papagaio

cinza africano foi estudado por suas habilidades de cognição e comunicação (Hesse e Potter, 2004, Harrington, 2014).

Dos passeriformes estudados em pesquisas de laboratório, os mais comumente avaliados incluem o tentilhão-zebra (*Taeniopygia guttata*), o estorninho europeu *(Sturnus vulgaris* e *S. roseus*) e o pardal (*Passer domesticus*) (Bateson e Feenders, 2010). Tentilhões-zebra e outros pássaros canoros são comumente estudados em relação ao envelhecimento e neurogênese, além da fala, aprendizagem e memória, devido à sua capacidade de aprender e comunicar o intrincado canto dos pássaros (Harding, 2004, Scott et al., 2010, Austad, 2011, Mello, 2014). As espécies de pássaros canoros mais populares para pesquisas neurobiológicas incluem o tentilhão zebra, o canário e outros tipos de pequenos tentilhões, como *Lonchura striata* domestica (Schmidt, 2010). Os tentilhões-zebra são preferidos em ambientes de pesquisa, uma vez que são fáceis de abrigar devido ao seu pequeno tamanho, para sua compatibilidade em grupos e propensão para reprodução. Eles também são estudados por suas características biológicas, como dimorfismo sexual, canto durante todo o ano em cativeiro, período dependente da idade de propensão ao aprendizado de canções e para facilidade de medição com relação ao canto dos pássaros (Fee e Scharff, 2010, Mello, 2014). Os pombos (*Columba livia*) foram avaliados em áreas como psicologia comparativa, neuroanatomia, neuroendocrinologia e aterosclerose (Santerre et al., 1972, Austad, 1997, Shanahan et al., 2013). Eles são estudados para compreender suas habilidades de navegação e memória que permitem a capacidade de homing, visão e discriminação. A coruja-das-torres (*Tyto alba*) é um exemplo de espécie aviária noturna e é estudada para neuroanatomia, visão, audição e para compreender os mecanismos de aprendizagem durante o mapeamento do espaço auditivo (Pena e Debello, 2010, Rosania, 2014).

Biologia

Os pássaros são vertebrados de sangue quente que possuem penas com o propósito de voar e plumagem. Seu sistema respiratório inclui sacos aéreos avasculares, alguns dos quais se fixam no pulmão e brônquios, mas não servem como locais para trocas gasosas como o pulmão (Maina, 2006, Ritchie et al., 1994). Os sacos de ar servem como compartimentos internos que retêm o ar e facilitam a passagem

interna do ar para permitir que as aves tenham um fluxo contínuo de grandes volumes de ar através dos pulmões, como forma de aumentar a capacidade e eficiência de troca de oxigênio. As aves não têm um diafragma funcional e usam os músculos do tórax para auxiliar na respiração (Ritchie et al., 1994). Deve-se ter cuidado para garantir que o uso de contenção física não interfira com os movimentos respiratórios, faça com que a ave se esforce ou fique estressada. O sistema esquelético inclui ossos pneumáticos que são revestidos por epitélio de saco de ar e são considerados pneumatizados por conexão com o sistema respiratório (Frandson et al., 2009). Os ossos específicos que são pneumatizados dependem da espécie, mas normalmente incluem o úmero, vértebras cervicais, esterno, costelas do esterno e, às vezes, o fêmur (Ritchie et al., 1994).

O esôfago nas aves leva à colheita, que é uma bolsa externa onde o alimento é retido temporariamente, e então continua para o proventrículo (também chamado de estômago verdadeiro) que produz enzimas para decompor os alimentos. O alimento viaja do proventrículo para o ventrículo (moela) e depois para o intestino delgado e grosso. A presença ou ausência de uma vesícula biliar depende da espécie (Tully et al., 2009, Kalmar et al., 2010). O reto e o trato urinário terminam na cloaca, resultando na excreta onde a porção fecal dos dejetos é misturada ao urato (componente branco e/ou cremoso). Existem muitas adaptações anatômicas e fisiológicas complexas e exclusivas das aves. Outras excelentes referências estão disponíveis na literatura (Scanes, 2015).

Comportamento e habitação

Os requisitos de alojamento das aves mantidas em cativeiro variam significativamente dependendo da espécie em particular. Os parâmetros básicos que se aplicam a todas as aves incluem a necessidade de fornecer um recinto que seja seguro e permita comportamentos específicos da espécie na maior medida possível. Deve-se considerar que o tipo de estrutura não é tóxico, já que alguns pássaros, como os papagaios, têm um bico poderoso com a capacidade de roer substratos. Os invólucros podem ser feitos de metal ou plástico durável, mas é importante observar que o fio de zinco, assim como a tinta com chumbo, pode ser tóxico para as aves e deve ser evitado. O espaçamento das barras na gaiola deve ser apropriado para evitar fuga e

ferimentos com base no tamanho da ave. O tamanho das gaiolas varia e pode incluir grandes aviários, onde o vôo completo de curta distância é possível, até alojamento individual em gaiolas de tamanho menor, onde o voo pode não ser viável. É importante incluir o uso do enriquecimento ambiental e a oportunidade de interação como parte da estrutura, complexidade e dinâmica social da gaiola. Alguns tipos de pássaros são considerados sociais, polígamos e se beneficiam do alojamento em grupo, ao passo que outros, como aqueles que formam casais (como codornizes do Novo Mundo), podem preferir alojamento com um único parceiro (Ritchie et al., 1994). Algumas espécies, gêneros ou indivíduos mostram agressividade e podem não ser compatíveis. Por exemplo, codornas machas sexualmente ativas podem ferir umas às outras e geralmente são consideradas incompatíveis (Huss et al., 2008). Para ajudar a reduzir a agressão, as densidades habitacionais devem ser mantidas baixas e vários pontos de acesso aos recursos, como alimentos e poleiros, devem ser fornecidos.

O enriquecimento na forma de manipulada pode assumir a forma de brinquedos e alimentos. Alguns tipos de pássaros podem demonstrar comportamento de forrageamento na natureza e podem gostar de manipular sua alimentação. Os papagaios, por exemplo, normalmente agarram a comida com os pés e podem descascar ou descascar a parte externa do alimento antes de ingerir. Os brinquedos devem ser de tamanho apropriado para a espécie, facilmente higienizáveis, livres de arestas vivas e substituídos assim que o uso aparecer. Os pássaros podem ficar facilmente presos em itens pendurados na gaiola e, à medida que os brinquedos se deterioram, eles podem se tornar um perigo. Por exemplo, brinquedos de corda podem começar a se desgastar e se tornar um perigo, causando aprisionamento; e alguns tipos de brinquedos contêm pesos que representam risco de asfixia ou podem ser feitos de materiais tóxicos, como chumbo. Alguns tipos de pássaros passam um tempo considerável empoleirando-se e requerem poleiros, que variam em diâmetro, para conforto e para evitar o desenvolvimento de úlceras de pressão em seus pés.

O sistema respiratório da ave é muito sensível e deve-se ter cuidado pela equipe de cuidados com os animais para evitar a exposição das aves a aerossóis de produtos químicos que podem surgir de desinfetantes usados nas instalações de animais de laboratório. Produtos de limpeza perfumados, perfumes, spray para cabelo e emissões de materiais revestidos com Teflon são exemplos de produtos que podem ser especialmente prejudiciais para as aves e podem causar a morte.

Os requisitos de alimentação variam por espécie e estágio de vida, mas geralmente podem ser fornecidas dietas comerciais peletizadas destinadas a atender às necessidades nutricionais. Embora muitos pássaros sejam comedores de sementes, é improvável que uma dieta de sementes por si só forneça nutrição adequada ou balanceada. Muitas aves têm necessidade de cálcio na dieta, especialmente aquelas que são reprodutivamente ativas, e devem receber suplementação de cálcio na forma de grãos solúveis, como osso de choco ou cascas de ostra esmagadas (Sandmeier e Coutteel, 2006, Tully et al., 2009). As aves freqüentemente apresentam

comportamento neofóbico e podem exigir longos períodos de aclimatação antes de aceitarem totalmente os novos alimentos. Por esse motivo, as mudanças dietéticas não devem ser feitas abruptamente e a ingestão diária deve ser monitorada de perto. Para as aves em ambiente de laboratório, água limpa e fresca deve ser fornecida diariamente por meio de tigelas inquebráveis ou tubos sipper. A ingestão de água varia de acordo com as espécies e as condições ambientais de habitação.

Doenças

Os pássaros podem mascarar doenças e ficam facilmente estressados. É melhor observar primeiro a ave em seu ambiente doméstico normal, sempre que possível, e somente realizar contenção para exame físico ou procedimentos de coleta quando indicado. As indicações gerais de doença podem incluir diminuição do apetite, comportamento deprimido, fezes moles, abdômen distendido, penas eriçadas ou aparência desleixada, lesões na pele, respiração com a boca aberta, sons respiratórios anormais, como chiado ou espirros, ou sinais de desidratação, como turgor cutâneo reduzido e olhos fundos. Uma ave saudável deve ter penas bem cuidadas, parecer alerta, ativa e curiosa e deve mostrar comportamentos típicos da espécie. Seus olhos devem ser claros e brilhantes. Nenhuma evidência de secreção deve estar presente nos olhos, narinas, boca ou área urogenital. Numerosos tipos de apresentações de doenças infecciosas (exemplo, Fig. 19) e não infecciosas são descritas em pássaros. Recursos de referência adicionais devem ser consultados para informações detalhadas (Ritchie et al., 1994, Tully et al., 2009, Doneley, 2010).

Example of skin pox on the feet of a dark-eyed Junco (Junco hyemalis). Photo from Randalyn Shepherd.

Outros Pequenos Mamíferos

Para fornecer ao leitor uma visão mais ampla do uso de animais em pesquisas, seguem as descrições de alguns modelos de pequenos mamíferos menos comumente usados.

Cobaias

As cobaias (*Cavia porcellus*) são roedores, aparentados com porcos-espinhos e chinchilas na subordem Hystricomorpha (Fig.20). Eles se originam das regiões montanhosas e pastagens ao longo da cordilheira média da Cordilheira dos Andes na América do Sul. São pequenos, atarracados, não escavadores, herbívoros crepusculares com pernas curtas e pouca ou nenhuma cauda, variando de 700 a 1200 g, sendo as fêmeas menores que os machos (Harkness et al., 2010). As cobaias têm um papel histórico de longa data na pesquisa que remonta a 1600, quando foram usadas pela primeira vez em estudos anatômicos (Pritt, 2012). Além disso, foram usados por Louis Pasteur e Robert Koch em suas investigações de doenças infecciosas e contribuíram para o trabalho de vários estudos dignos do Prêmio Nobel (Pritt, 2012). Especificamente, a cobaia tem sido usada como modelo para doenças infecciosas, como tuberculose, doença do legionário, doenças sexualmente transmissíveis, como clamídia e sífilis, e uma das causas mais comuns de infecções nosocomiais em pessoas, *Staphylococcus aureus* (Padilla-Carlin et al., 2008). As cobaias também têm sido ferramentas úteis na pesquisa do metabolismo do colesterol, asma, desenvolvimento do feto e da placenta e aspectos do parto, bem como da doença de Alzheimer (Bahr e Wolf, 2012).

Juvenile guinea pig. Photo from Randalyn Shepherd.

As cobaias têm muitas semelhanças com os humanos em termos hormonais, imunológicos e fisiológicos. Ao contrário de outros roedores, e mais parecidos com primatas (incluindo pessoas), as cobaias são propensas ao escorbuto se não receberem vitamina C adequada, normalmente em sua dieta (Gresham et al., 2012). As cobaias são alojadas de forma semelhante a outros roedores, embora exijam mais espaço do que os roedores menores.

Hamsters

Hamsters são da ordem Rodentia, subordem Myomorpha junto com o camundongo e o rato. Existem mais de 24 espécies de hamsters descritas na literatura, com o hamster mais comum usado em pesquisas sendo o hamster Golden ou Sírio, *Mesocricetus auratus* (Harkness et al., 2010) (Fig.21). Originário da região noroeste da

Síria, acredita-se que os hamsters dourados sejam descendentes de apenas três ou quatro irmãos coletados na Síria em 1930 (Adler, 1948, Smith, 2012). Como o nome indica, a pelagem típica do tipo selvagem é dourada e avermelhada ao longo do dorso, com uma parte inferior cinza. Eles são granívoros e insetívoros, pesando 85-150 g, fêmeas pesando mais que os machos, com pernas curtas e cauda curta, e grandes bolsas nas bochechas (Harkness et al., 2010).

Características anatômicas e fisiológicas específicas, incluindo sua suscetibilidade a doenças e infecções, os tornam um modelo útil para estudo. Inicialmente, os hamsters foram utilizados em estudos de doenças infecciosas, parasitologia e doenças dentárias, fazendo a transição para a pesquisa do câncer na década de 1960 (Smith, 2012). Hamsters ainda são usados em muitas áreas de pesquisa, incluindo investigações sobre doenças metabólicas como diabetes mellitus (Hein et al., 2013), doenças cardiovasculares (Russell e Proctor, 2006), endocrinologia reprodutiva (Ancel et al., 2012) e oncologia (Tysome et al., 2012). As cobaias também têm sido usadas como modelos para doenças infecciosas associadas a bactérias, parasitas e vírus, como leptospirose (Harris et al., 2011), leishmaniose (Gomes-Silva et al., 2013) e

síndrome respiratória aguda grave (SARS) e vírus Ebola (Roberts et al., 2010, Wahl-Jensen et al., 2012).

Outras espécies de hamsters foram utilizadas em pesquisas. Por exemplo, hamsters chineses e africanos têm sido usados para investigações sobre diabetes mellitus (Kumar et al., 2012); Hamsters europeus e turcos têm sido úteis para avaliar aspectos da hibernação (Batavia et al., 2013); e hamsters siberianos e turcos têm sido usados para estudar o ritmo circadiano e a atividade da glândula pineal (Butler et al., 2008) (Fig.22).

Siberian hamsters. Photo from Greg Demas.

Chinchilas

As chinchilas (Fig.23) estão na ordem Rodentia, subordem Hystricomorpha, assim como a cobaia e o degu. Existem a chinchila de cauda longa, *Chinchila lanigera*, e a chinchila de cauda curta (Chinchilla chinchilla anteriormente *Chinchila Brevicaudata*). As chinchilas são originárias da Cordilheira dos Andes na América do Sul (Martin et al., 2012). Têm 400-800 g de tamanho, as fêmeas pesam mais que os machos, com corpos compactos e membros traseiros longos e fortes e casacos de pele densos (Alworth et al., 2012). A exuberância da pelagem é o que os levou à beira da extinção na natureza devido à caça excessiva no início a meados dos anos 1900 (Jimenez, 1996). A chinchila tem uma cabeça grande, olhos e orelhas grandes. A grande anatomia da orelha interna é de destaque específico, pois as chinchilas são o modelo tradicional para estudos auditivos (Shofner e Chaney, 2013) e otite média (Morton et al., 2012).

Chinchilla. Photo from Bill Shofner Jr.

Gerbils

O gerbil é um roedor, subordem Myomorpha, utilizado em pesquisas. Existem mais de 100 espécies de roedores semelhantes a gerbil documentados, mas o gerbil da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) é a espécie mais comumente usada nos Estados Unidos (Fig. 24). Os gerbils da Mongólia são originários de um terreno desértico na Mongólia e no nordeste da China. Eles são roedores de cauda longa, escavadores e herbívoros, com 55-130 g de tamanho, sendo os machos maiores do que as fêmeas (Harkness et al., 2010). Devido às variações anatômicas no suprimento de sangue para o cérebro em uma região anatômica conhecida como "Círculo de Willis", os gerbils têm sido usados principalmente como um modelo para isquemia cerebral ou acidente vascular cerebral (Small e Buchan, 2000).

Gerbil. Photo used with permission of American Association for Laboratory Animal Science.

Tatu

Um modelo animal interessante a ser observado entre os pequenos mamíferos é o tatu de nove bandas (*Dasypus novemcinctus*), um novo mamífero do mundo que vai da metade sudeste da América do Norte, estendendo-se ao sul pelas Américas até a região norte da Argentina (Balamayooran et al., 2015). Tatus têm uma carapaça com faixas e, mais importante, uma temperatura corporal central baixa de 33–35 °C. A estação de reprodução é no verão, mas a implantação do embrião é adiada até o final do outono, ponto no qual quadruplicados idênticos são sempre formados (Balamayooran et al., 2015). A baixa temperatura corporal do tatu e sua susceptibilidade e resposta fisiológica ao organismo infeccioso *Mycobacterium leprae* o tornaram um modelo ideal para o estudo da hanseníase (Balamayooran et al., 2015). A

consistente poliembrionia da espécie também tornou o animal um modelo de interesse na compreensão de vários aspectos da geminação (Blickstein e Keith, 2007).

Furão[8]

O furão (*Mustula putorius furo*) é um membro da antiga e diversa família Mustelidae que inclui doninhas, martas e martas. Embora supostamente domesticado há mais de 2.000 anos, o furão não foi identificado como um modelo potencial para pesquisa biomédica até o início do século XX. Eles são um modelo atraente de "grande animal" para estudar a patogênese dos vírus, visto que são espécies menores e mais econômicas do que os primatas não humanos. No entanto, os furões são grandes o suficiente para que o equipamento neonatal humano possa ser usado para avaliar parâmetros clínicos, como temperatura e pressão arterial. Além disso, o sistema respiratório dos furões compartilha muitas características anatômicas e fisiológicas com os humanos, tornando o furão um modelo adequado para o estudo de vírus respiratórios.

Cachorros e Gatos

Muitas doenças de cães, gatos, cavalos e outros animais de companhia são semelhantes às doenças nas pessoas. Por exemplo, cães, gatos e cavalos costumam ter tipos de câncer semelhantes aos das pessoas, uma vez que os animais compartilham muito de nossa biologia, ambiente e exposições. Consequentemente, estudar esses

[8] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7148612/

"modelos animais naturais de doença" pode não apenas encontrar melhores maneiras de diagnosticar, tratar e prevenir doenças em animais, mas pode fornecer grandes benefícios para o tratamento da mesma condição em humanos.

O gato (*Felis catus*) pertence à família Felidae (felino) é encontrado na maioria das regiões da Terra, exceto na Austrália e na Antártica. Eles são o menor membro da família felina, crescendo tipicamente até 28 polegadas (71 cm) e pesando de 5 libras a 20 libras. Os gatos são carnívoros, sua dieta consiste principalmente em carne animal e possuem um intestino capaz de digerir a carne crua. No entanto, sua dieta geralmente depende de seus donos humanos com as atividades ocasionais de caça do gato para complementar sua dieta. Os gatos, em combinação com cães (*Canis lupus familiaris)* e primatas, representam apenas 0,2% de todos os procedimentos em animais no Reino Unido.

Os cães são mamíferos de médio porte que podem crescer de 15 a 100 cm e pesar de 1,5 a 75 kg, dependendo do tipo de cão. Os cães são carnívoros, mas podem prosperar com uma dieta onívora bem elaborada e adequadamente processada na situação doméstica.

Os cães têm sido modelos de pesquisa muito úteis por muito tempo por muitos motivos. Uma das razões é que os cães são fisiologicamente muito semelhantes aos humanos, eles também têm quase o mesmo número de genes que os humanos, e seu genoma foi sequenciado. Isso torna os cães particularmente úteis em estudos genéticos. Os cães também sofrem de doenças semelhantes às dos humanos, como diabetes, epilepsia, doenças autoimunes, cânceres e doenças oculares. Os cães também podem ser treinados para cooperar na pesquisa, aprendendo a pular em bancos de pesagem e a aceitar focinheiras em pesquisas respiratórias, por exemplo.

Primatas não humanos

Ao escolher um organismo modelo para estudar doenças e seus mecanismos, os cientistas raramente baseiam sua seleção apenas na biologia básica. Influências externas, como a disponibilidade de colaboradores, instalações e pessoal, são fatores para esta decisão, assim como as preferências pessoais do investigador. Vários modelos animais pequenos e econômicos estão disponíveis e podem fornecer dados robustos e significativos que são relevantes para fenômenos de doenças humanas. Organismos com ciclos reprodutivos curtos, uma rápida troca de gerações e excelente tratabilidade genética podem fornecer rapidamente resultados estatisticamente significativos. No entanto, um modelo animal que não tem absolutamente nenhuma dessas qualidades permanece um esteio na pesquisa de doenças humanas: o primata não humano. Trabalhar com primatas não humanos não apresenta apenas muitos desafios técnicos, mas também desafios financeiros e éticos únicos. Pesar esses desafios únicos contra os benefícios para a pesquisa de doenças humanas apresenta um paradoxo para cientistas e instituições de pesquisa: abraçar ou abandonar a pesquisa com primatas. No entanto, vários aspectos da biologia dos primatas mantêm os pesquisadores perseverantes em desafios financeiros e políticos[9].

Os primatas não humanos compartilham muitas características anatômicas, fisiológicas e imunológicas com as pessoas e tendem a ser mais suscetíveis do que outros animais à infecção por vírus humanos. Os primatas do Velho Mundo incluem babuínos, muitas espécies de macacos africanos, macacos asiáticos e grandes símios, como os chimpanzés, enquanto os primatas do Novo Mundo incluem saguis, micos, aranhas e macacos-esquilo. Por causa de sua relação filogenética mais próxima com os humanos, os primatas do Velho Mundo, particularmente macacos e chimpanzés, são mais comumente usados para estudar infecções por vírus.

Macacos de origem asiática, especificamente rhesus, cynomolgus e macacos pigtail, são comumente usados em estudos virológicos. Os macacos têm feito contribuições para inúmeros estudos envolvendo vírus, particularmente no desenvolvimento de vacinas, onde um mamífero de ordem superior é frequentemente

[9] https://journals.biologists.com/dmm/article/3/1-2/15/2384/Primates-as-a-model-for-research

necessário para testes pré-clínicos. Eles têm sido usados para estudar doenças globais como a AIDS (discutida com mais detalhes posteriormente), doenças infantis como poliomielite e sarampo, doenças tropicais como febre amarela e dengue, e potenciais agentes de bioterrorismo, incluindo varíola e vírus Ebola. Devido à sua estreita relação com os humanos, as descobertas desses estudos também beneficiam primatas não humanos que são naturalmente suscetíveis a muitas dessas doenças.

O chimpanzé merece menção especial por suas contribuições históricas à patogênese viral e à pesquisa de vacinas. Com mais de 99% de identidade genética compartilhada, eles são nossos parentes animais mais próximos. A pesquisa usando esses animais resultou em vacinas para hepatite A e B e aumentou nossa compreensão sobre infecções por HIV, vírus sincicial respiratório, citomegalovírus e vírus da hepatite C. Os chimpanzés são os únicos grandes símios usados na pesquisa biomédica, mas a legislação federal diminuiu significativamente seu papel. Em 1995, o NIH decretou uma moratória sobre a reprodução de chimpanzés em cativeiro e, em 2013, todos, exceto 50 dos chimpanzés de propriedade do NIH, foram aposentados da pesquisa. Certos estudos não invasivos de alto impacto ainda são permitidos.

O campo da neurociência é uma dessas áreas de pesquisa biomédica que utiliza primatas não humanos tanto para pesquisas de ciências básicas quanto para pesquisas de doenças. Inteligência, cognição e emoção - as mesmas características que levantam questões éticas para a pesquisa de primatas - são as mesmas faculdades que são destruídas em algumas das doenças mais enigmáticas de nosso tempo, como a doença de Alzheimer e o vício em drogas e álcool.

A biologia reprodutiva é outra área de pesquisa com razões convincentes para usar primatas para estudos de doenças humanas. Existem diferenças significativas entre a biologia reprodutiva de primatas e roedores, bem como entre primatas e animais maiores que são usados em laboratório, como cães e porcos. Muitas das principais diferenças giram em torno do sistema reprodutor feminino, incluindo a forma do órgão, a duração da gestação, os ciclos de ovulação e o número de nascidos vivos (ninhadas versus indivíduos). Além disso, existem muitas doenças humanas que são específicas do sistema reprodutor feminino, como o câncer de ovário. Além disso,

muitas pesquisas giram em torno da identificação de fatores ambientais que afetam o desenvolvimento do oócito ou que afetam o feto durante a gestação.

Os primatas não humanos representam menos de ¼ de um por cento (<0,25%) de todos os animais de laboratório usados nos Estados Unidos.

Grandes Animais Domésticos

Grandes animais domesticados, como vacas, ovelhas, cavalos, camelos e porcos, são usados para problemas de pesquisa especializados, e, portanto, não serão discutidos aqui em maiores detalhes.

Regulação:

https://antigo.mctic.gov.br/mctic/opencms/institucional/concea/paginas/guia.html

Equídeos : RESOLUÇÃO NORMATIVA Nº 42, DE 25/7/ 2018

Suínos: Consulta finalizada

Aves: Consulta finalizada

Pequenos Ruminantes: Consulta finalizada

Grandes Ruminantes: Consulta finalizada

Experimentos com animais de Fazenda

Criação

- Nutrição e água
- Saúde e longevidade
- Incluindo remédios e vacinas
- Reprodução
- Comportamento
- Sistemas (extensivo, semi-intensivo, intensivo)
- Instalações, Transporte
- Abate

Quantidade e Qualidade do Produto

- Leite, Carne, Lã, Ovos etc

Problemas

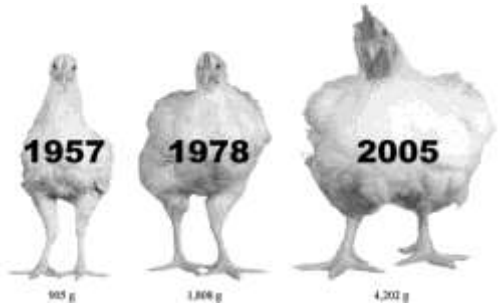
- Tipo de animal
- Distância
- Tamanho
- Chifres
- Preço

- Achar animais suficientes da mesma idade, raça, tamanho, estado de lactação, parição etc

- Ambientes diferenciados

Sistemas intensivos e altamente especializados

- ► Rápido mudanças genéticas
- ► Restrição de comportamentos naturais
- ► Seleção para alta produção – mudanças fisiológicas e metabólicas



Exemplos de contribuições de animais para a pesquisa:

Cães- Tratamentos com insulina para diabéticos; estudos sobre doenças cardiovasculares e cegueira; técnicas de transplante de órgãos; implantação de marca-passo; quadril e outra cirurgia de substituição da articulação.

Coelhos - transplantes de córnea; doenças cardiovasculares e medicamentos que reduzem o colesterol e ajudam a impedir o endurecimento das artérias; pesquisa de vacina contra antraz

Fruitflys- Análise genética; estudos de doenças do neurônio motor e outras doenças neurológicas como esquizofrenia e epilepsia; Pesquisa sobre câncer

Furões- Doenças virais como a gripe; doenças respiratórias; sistemas visuais e auditivos

Galinhas- Desenvolvimento do sistema nervoso; O primeiro vírus causador de câncer - o vírus do sarcoma de Rous - foi identificado em galinhas.

Gambás - Estudos do sistema nervoso central e do sistema imunológico

Gatos- Estudos de doenças dos olhos e ouvidos; organização funcional do cérebro; funções dos neurônios

Lagostas - estudos de doenças da coordenação motora, como sífilis e doença de Parkinson

Marmotas - estudos de câncer de fígado e hepatite B

Nematóide (lombriga) - descoberta de interferência de RNA; estudos de desenvolvimento; o funcionamento do sistema nervoso; estudos de metabolismo e envelhecimento

Ovinos - pesquisa ortopédica sobre doenças e lesões de ossos, articulações e músculos; vacina contra antraz

Pombos - Estudos de doença cardíaca coronária

Porquinhos-da-índia - tratamentos para asma; estudos nutricionais; estudos de colesterol

Primatas não humanos - tratamentos para a poliomielite; estudos de HIV e AIDS, hepatite B e C, câncer, doenças cardíacas, biologia cerebral e doenças infecciosas; vacina contra rubéola

Ratos - estudos de câncer, envelhecimento, imunologia, genética, fibrose cística e ataques cardíacos; distúrbios neurológicos e doenças infecciosas como a malária; estudos e tratamentos de câncer de mama; técnicas de transferência de embriões em humanos e animais domesticados e ameaçados de extinção

Ratos - Tratamentos de danos nos nervos; causas de alguns tipos de câncer; efeitos da nutrição no envelhecimento; Pesquisa da doença de Alzheimer; estudos sobre lesão da medula espinhal e dependência de drogas; regulação do colesterol

Sanguessugas - estudos de memória e aprendizagem na base celular do comportamento simples

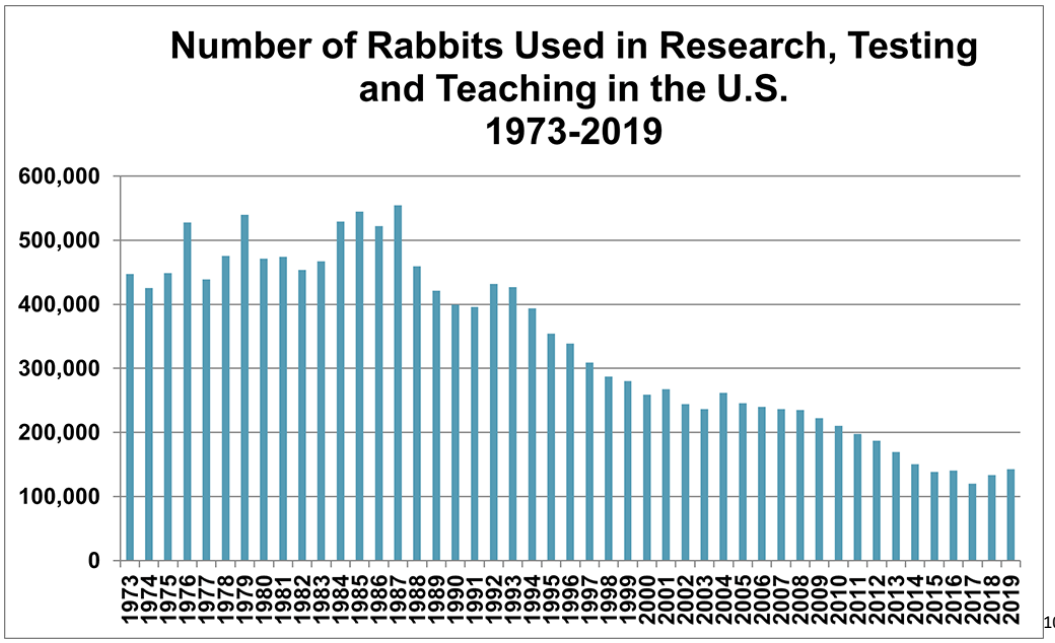
Slugs- Estudos da memória de curto e longo prazo

Suínos- Desenvolvimento de tomografia computadorizada; estudos do processo de cicatrização de feridas cutâneas; estudos de reestenose coronária humana e stents cardíacos

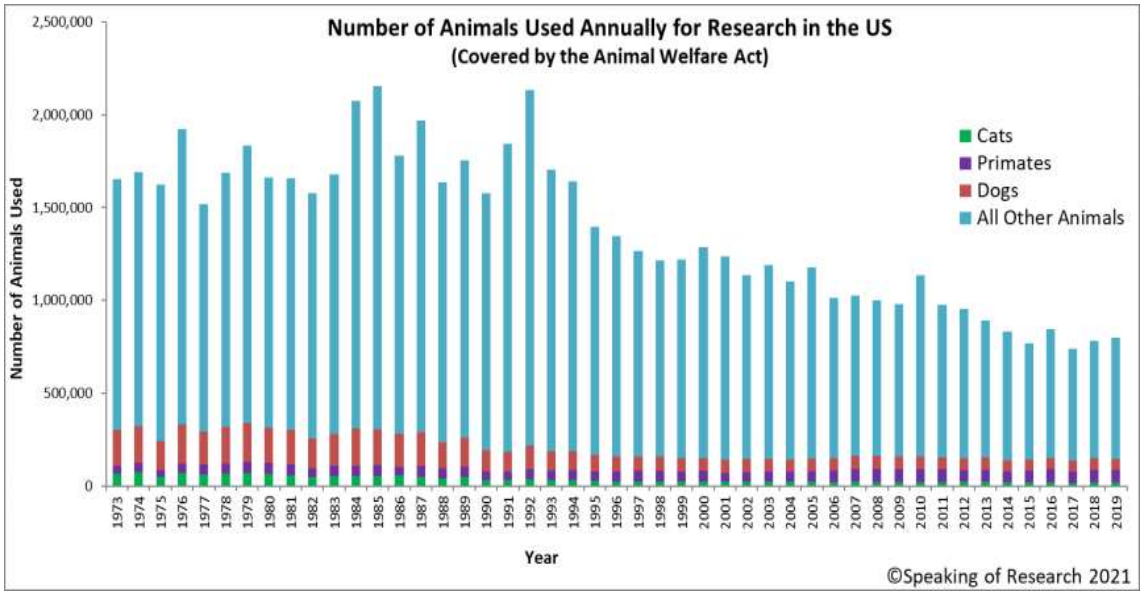
Tatus - Tratamento para hanseníase

Vacas - vacina contra varíola

Zebrafish- Desenvolvimento embrionário de vertebrados; estudos de função gênica para entender os mecanismos genéticos que controlam o desenvolvimento em humanos; Pesquisa sobre câncer.



[10]



[11]

[10] https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fnavs.org%2Flearn-more%2Frabbits-in-research%2F&psig=AOvVaw2QlrqHwULT2DAMUR5f5V9I&ust=1642806458954000&source=images&cd=vfe&ved=0CAwQjhxqFwoTCJDCz5e5wfUCFQAAAAAdAAAAABAD

[11] https://speakingofresearch.com/facts/statistics/

Os animais podem ser substituídos?[12]

Os modelos animais são usados além de outros métodos de pesquisa, como culturas de tecidos e células, testes químicos, modelos de computador, estudos epidemiológicos, métodos estatísticos avançados e testes clínicos em humanos. A utilização desses métodos e uma melhor análise dos resultados dos testes ajudaram a reduzir o número de animais necessários para muitos experimentos. Os pesquisadores evitam o uso de animais quando é possível e continuam em busca de métodos alternativos.

Muitas questões sobre funções moleculares, celulares, de tecidos e até mesmo de órgãos podem ser investigadas usando tubos de ensaio, cultura de células e modelos de cultura de tecidos[13]. No entanto, algumas questões, como o meio ambiente afeta um organismo ou como o sistema digestivo interage com o sistema cardiovascular, só podem ser respondidas por meio de modelos animais. Embora os métodos alternativos forneçam grandes recursos para os pesquisadores, eles têm limitações. Métodos alternativos (como modelos de computador) não podem fornecer informações vitais sobre a segurança e a eficiência de uma substância em um sistema vivo. A pesquisa animal não pode ser completamente substituída por métodos que não sejam animais hoje.

O uso de animais continua sendo uma parte essencial da pesquisa biomédica porque nada pode substituir as funções complexas de todo o animal vivo. Novos medicamentos, vacinas e procedimentos cirúrgicos ainda devem ser avaliados em animais antes de serem usados em pacientes humanos.

Métodos Alternativos

A Rede Nacional de Métodos Alternativos (Renama) permite a existência de uma infraestrutura laboratorial e de recursos humanos especializados, capazes de implantar

[12] https://books.scielo.org/id/sfwtj/pdf/andrade-9788575413869-44.pdf
[13] https://www.understandinganimalresearch.org.uk/news/staff-blog/in-vitro-the-remarkable-rise-of-animal-alternatives/

métodos alternativos ao uso de animais e desenvolver e validar novos métodos no Brasil.

São considerados métodos alternativos aqueles que têm a capacidade de reduzir, refinar ou substituir o uso de animais em testes científicos. Dentre estes métodos, estão:

- Informações pré-existentes na literatura científica:
    - Dados de testes in vitro, experimentação animal ou até ocorrências em humanos obtidos no passado podem ser encontrados na literatura científica, eliminando a necessidade de repetição de alguns experimentos.
    - Dados de propriedades físico-químicas de várias substâncias, como o seu pH e grupos estruturais específicos, também podem servir como indícios de toxicidade e evitar testes desnecessários em animais.
- Métodos alternativos in silico:
    - Utilização de modelos matemáticos ou computacionais de softwares pode predizer o potencial risco oferecido por novas substâncias, com base na semelhança de propriedades físico-químicas com outras substâncias já existentes e em outras informações extraídas de bancos de dados.
- Métodos alternativos in vitro:
    - Métodos que utilizam o cultivo de células, tecidos e órgãos fora do organismo, em laboratório, visando obter a mesma informação que seria obtida com o modelo animal.
    - Muitos destes métodos já são validados e aceitos por órgãos regulatórios como metodologias para avaliação de segurança de produtos.
    - Mais acessíveis e em fase de disseminação, têm grande potencial para reduzir e até mesmo substituir o uso de animais. Estes métodos são, em muitos casos, mais rápidos e baratos, além de terem condições experimentais altamente controladas e resultados quantificáveis,

diferente de alguns testes em animais que geram resultados subjetivos e demandam mais tempo e gastos.

- A possibilidade de utilização de células humanas (linhagens comerciais usadas para pesquisa e compradas de bancos de células), eliminando o problema da distância filogenética entre animais e humanos e levando a uma maior taxa de sucesso na transição dos testes pré-clínicos para os clínicos.

- Sistemas micro fisiológicos:
  - conhecida pelas nomenclaturas organ-on-a-chip, multi-organ-chip e human-on-a-chip, esta tecnologia robusta promete maior poder preditivo e combina o cultivo de células em três dimensões, os chamados organóides, em dispositivos microfluídicos, na tentativa de mimetizar o organismo de forma fisiológica e assim substituir, ou ao menos reduzir, o uso do modelo animal.
  - Diversos modelos de dispositivos diferentes são comercializados e sua validação regulatória para avaliação de segurança e eficácia de produtos é um grande objetivo mundo afora.

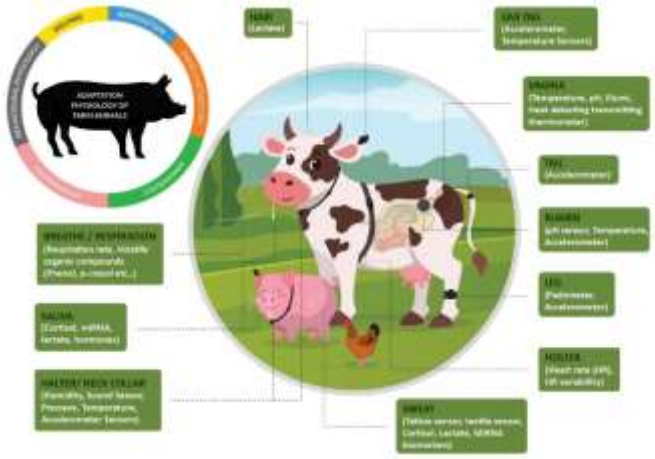
Limitações dos métodos alternativos

Apesar de suas vantagens, nenhum método alternativo sozinho é capaz de substituir o uso de animais, pois cada um dos métodos reproduz apenas parcialmente a complexa resposta fisiológica que ocorre em um organismo vivo (in vivo). Por exemplo, testes de irritação ocular que utilizam células epiteliais da córnea indicam o potencial de lesão de uma substância apenas na córnea e sabemos que outras estruturas oculares, como íris e conjuntiva, também são importantes no processo de irritação ocular. Uma combinação estratégica de diversos métodos alternativos em uma abordagem integrada tem maiores chances de levar à completa substituição.

O teste de Draize nos olhos de coelhos para avaliar o potencial de irritação/corrosão ocular pode ser substituído, por exemplo, por uma combinação de dois métodos alternativos que utilizam células de epitélio da córnea de coelho, provenientes de uma linhagem celular comercial, e epitélio de córnea tridimensional humano reconstruído

em laboratório. Este conjunto de dados obtidos em testes integrados deve oferecer resultados com o mesmo nível de informação científica em relação aos obtidos, anteriormente, com os modelos animais.

Para testes de segurança de cosméticos e agroquímicos, por exemplo, já é possível substituir o uso de animais. No entanto, quando o assunto são os medicamentos, a indústria farmacêutica ainda precisa testá-los em animais, para simular as reações complexas que podem ocorrer no organismo após o uso destas substâncias, já que as avaliações para testes de medicamentos em humanos são muito mais rigorosas. Neste caso, os métodos alternativos podem ser utilizados antes da experimentação animal como um filtro para encontrar compostos que sejam realmente promissores, a fim de reduzir testes desnecessários em animais.



- Atomização
- Chips
- Termografia
- NIRS
- Genética
- Genes candidatos
- Crispr-Cas9 - rugged, disease-resistant, and heat-tolerant bulls

- In Vitro
- Validação
- Estatística
- Meta-análise
- Inteligência Artificial

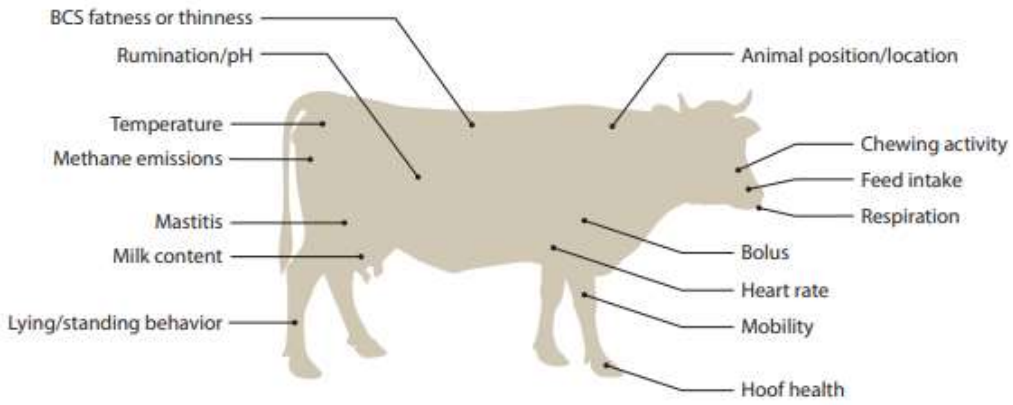


Figure 5

Key indicators, places, and sensors used in precision livestock farming. Abbreviation: BCS, body condition score.

Table 1 Animal applications (rows) versus sensing technologies (columns)

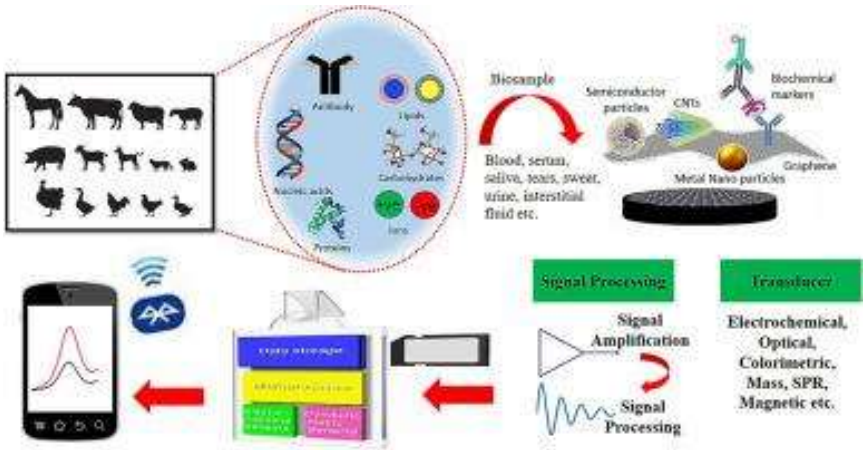
		Sensors										
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
		Machine vision (cameras)										
	Applications	Thermal	1D	RGB	Sound analysis	Response surface	Accelerometers: neck, leg, and ear tags	Positioning GPS, low-frequency RFID, UWB RFID, radar	Loadcell	Bolus	Electronic nose	Other
1	Body condition scoring	Dairy	Dairy	Dairy								Dairy
2	Body weight		Pigs Cattle		Broilers				Dairy Broiler	Dairy Beef		
3	Early detection of diseases or lameness	Dairy Poultry Horses	Dairy	Dairy Poultry	Pigs	Dairy	Dairy Pigs	Dairy	Dairy	Dairy Pigs	Dairy Poultry	
4	Quantifying pain and stress	Sheep Goats		Horses	Pigs		Dairy					
5	Feed intake and feeding behavior		Dairy	Dairy	Dairy Beef Poultry Sheep Goats			Dairy	Dairy	Cattle		
6	Water intake								Sheep Goats			Goats
7	Rumination time				Dairy		Dairy					
8	Estrus detection						Dairy Pigs	Dairy				
9	Milk yield and composition											Dairy
10	Calving detection			Horses			Dairy					
11	Body temperature	Poultry										Dairy
12	Aggressive behavior			Pigs								
13	Quantifying animal welfare				Pigs							
14	Grazing management							Beef Dairy	Cattle Reindeer			
15	Virtual fencing							Beef Dairy Sheep Goats				
16	Heart rate											Beef
17	Air quality										Dairy Beef Poultry Pigs	

Abbreviations: GPS, Global Positioning System; RFID, radio-frequency identification; RGB, red, green, blue; UWB, ultra-wideband.

www.annualreviews.org • Sensors and Precision Livestock Farming 495

Inovação digital, diagnósticos

- Testes genéticos,
- Biossensores
- Dispositivos vestíveis
- ferramentas que permitem
    - desenvolvimento de plataformas agrícolas de apoio à decisão
    - fornecem o caminho para prever doenças na pecuária
    - Estrus, cerca artificial, atividade, monitoramento, consumo, ruminação, identificação
    -

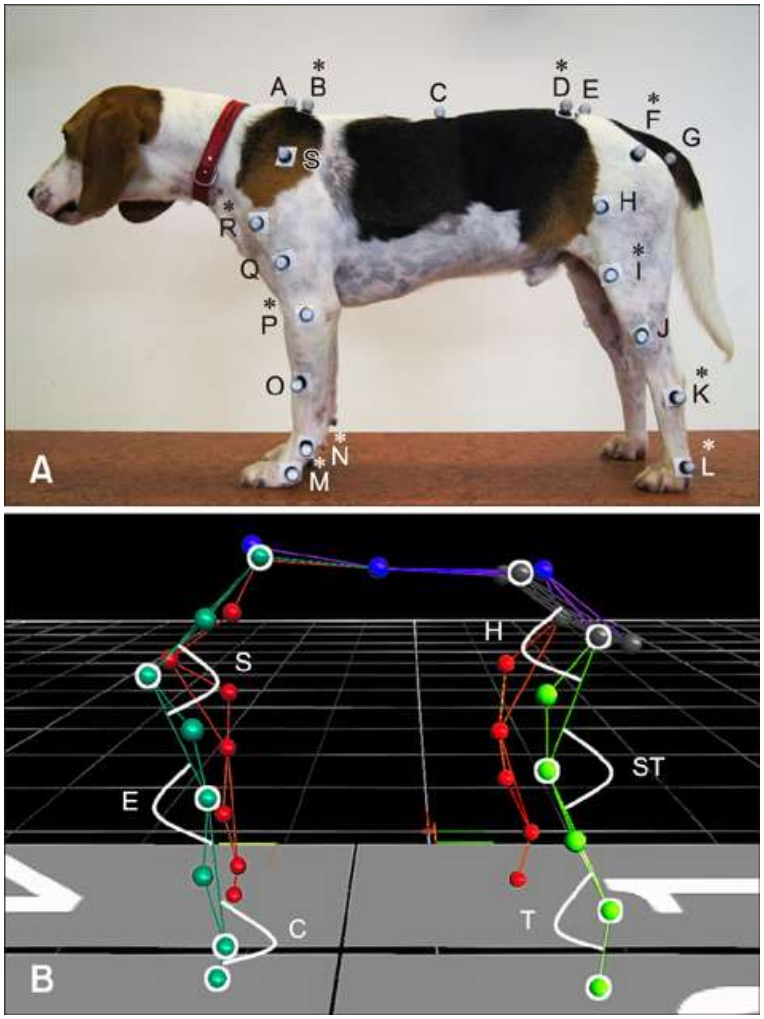


E-pill- no rúmen – Temperatura corporal, taxa cardíaca e de respiração, pH levels

	Applications	Image signal
Cattle and small ruminants	Mastitis	IR
	Digital dermatitis	IR
	Body temperature	TR
	Gait and body measurements	3D
	Weight	3D
	Coat and conformation	VL
	Body condition	VL; TR; 3D
Fishery	Tracking	3D
	Shape	VL
	Weight	VL
Poultry	Behavior	VL; 3D
	Shape	3D
Dog	Behavior	3D
Pork	Tracking	VL; 3D
	Behavior	VL; 3D
	Weight	VL; 3D
	Gait and body measurements	3D

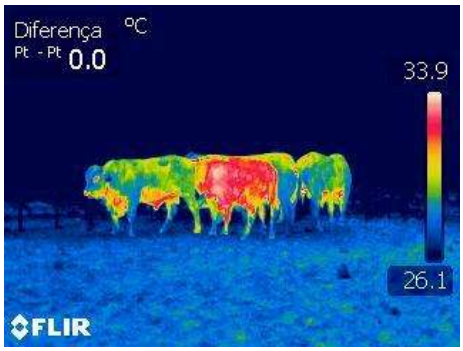
3D, 3-dimensional; TR, Thermography; VL, Visible Light.

Examples of computer vision applications in live animals



Termografia

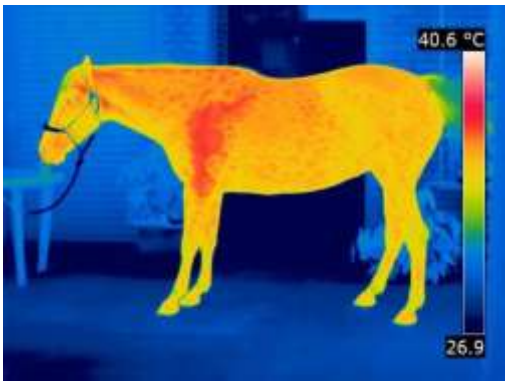
- Tolerância ao calor
- Dor e doenças
    - Mastite e ordenha
    - Laminite
- Metabolismo
    - Consumo de alimentos
    - Produção de metano



- Ecto parasitas

- Reprodução do macho e fêmea
- Bem estar
- Qualidade de carcaça
- Fraude

Quente



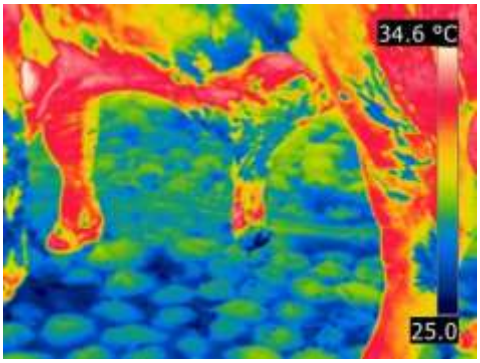
- inflamação

. febre

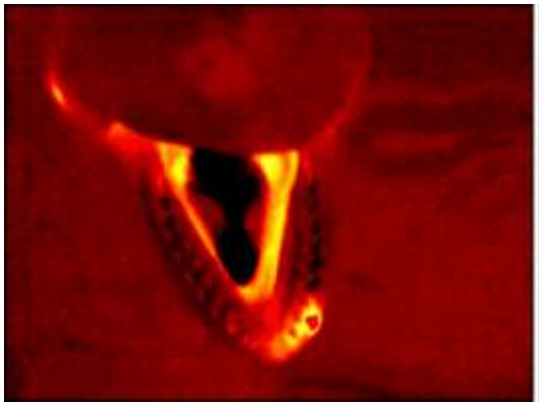
. fisioterapia

. exercício

Frio



- falta de circulação
- . edema ou efusão
- . fibrose
- . Hipotrofia muscular
- . dor



Detetores de Metano

- Non-dispersive infrared methane analyzer (NDIR) method
- Hand held laser methane detector (LMD)
- Resultados diferentes

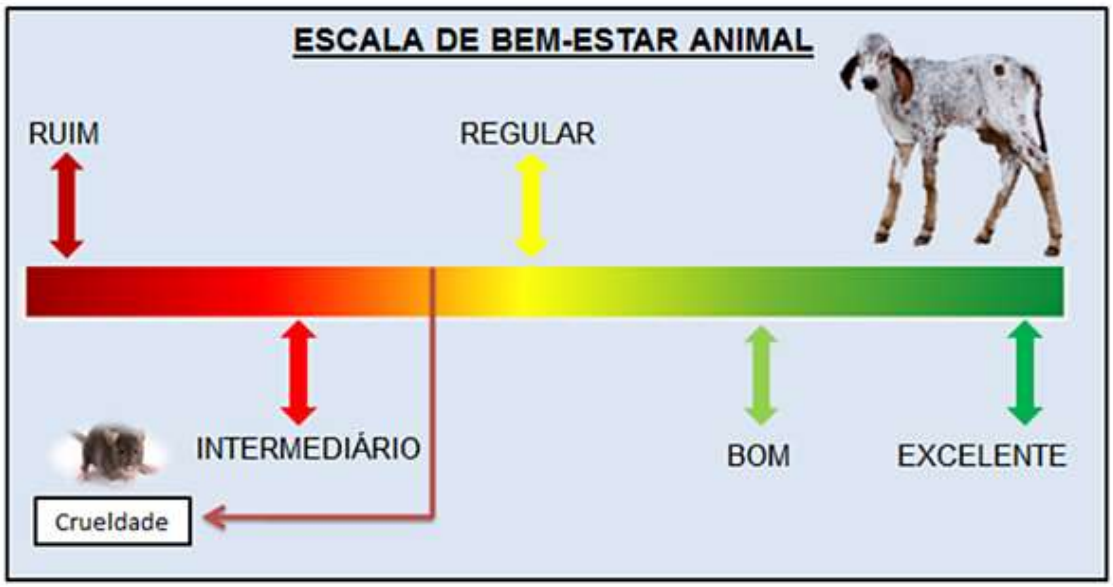
Drones

- Imagens térmicas
- Qualidade de pastagem
- Track
- Onde estão, nascimento, faltando
- Contagem
- Predadores
- Comportamento e temperatura

Métodos sob investigação

- Fistulação
    - Função digestiva
    - Saúde do rúmen
    - Não afeta longevidade ou saúde do animal uma vez bem cuidada
- Alternativas
    - Swab bucal
    - Faeces
    - Sacos
    - Byte-count

Em 2014 e 2016, duas resoluções normativas publicadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) reconheceram 24 métodos alternativos a serem obrigatoriamente implementados no país em até 5 anos após a data de publicação, o que significa que a maioria desses métodos serão obrigatórios a partir de setembro de 2019. O uso de animais no país estará proibido quando houver um método alternativo reconhecido para avaliar os seguintes desfechos: potencial de irritação/corrosão da pele, potencial de irritação/corrosão ocular, potencial de fototoxicidade, absorção cutânea, potencial de sensibilização cutânea, toxicidade aguda, genotoxicidade, toxicidade reprodutiva e contaminação pirogênica de produtos injetáveis.



Fundação Roge

- Como um animal está lidando com as condições em que vive
    - contexto social apropriado, saudável, confortável, bem nutrido, seguro,
    - capaz de expressar um comportamento inato
    - não sofrendo de estados desagradáveis como dor, medo e angústia
    - Prevenção de doenças e tratamento veterinário, abrigo apropriado, manejo, nutrição, manejo humanitário
    - abate humanitário
- prover suas necessidades físicas e mentais
- adaptar o ambiente aos animais, melhorando as práticas de manejo e as condições de alojamento
- condições de criação que "preparem" melhor os animais para o ambiente em que serão mantidos nas fases posteriores de sua vida

Zoneamento[14],[15]

- Permite o acesso à luz do dia através de janelas ou outros meios
    - espaços de apoio não sensíveis sem que a equipe deixe o ambiente animal
- Zonas de manutenção e acesso
    - equipe operacional que não pertencente ao biotério
    - fazer a manutenção dos sistemas MEP (Mecânica, Elétrica, Água (Plumbing)) sem cruzar a barreira do ambiente animal.
- Projetar o espaço AHR (Animal Housing Rooms) como uma entidade rearranjada de maneira flexível
    - pode ser facilmente alterada
        - funções de contenção de animais
        - procedimentos
        - mínimo de reequipamento conforme os paradigmas de estudo mudam.
    - A agilização do tratamento e disposição de resíduos
        - ambientalmente correta
        - operação de lavagem de gaiolas
        - espaços de necropsia / perfusão

- Zonas de manutenção e acesso

    - equipe operacional que não pertencente ao biotério

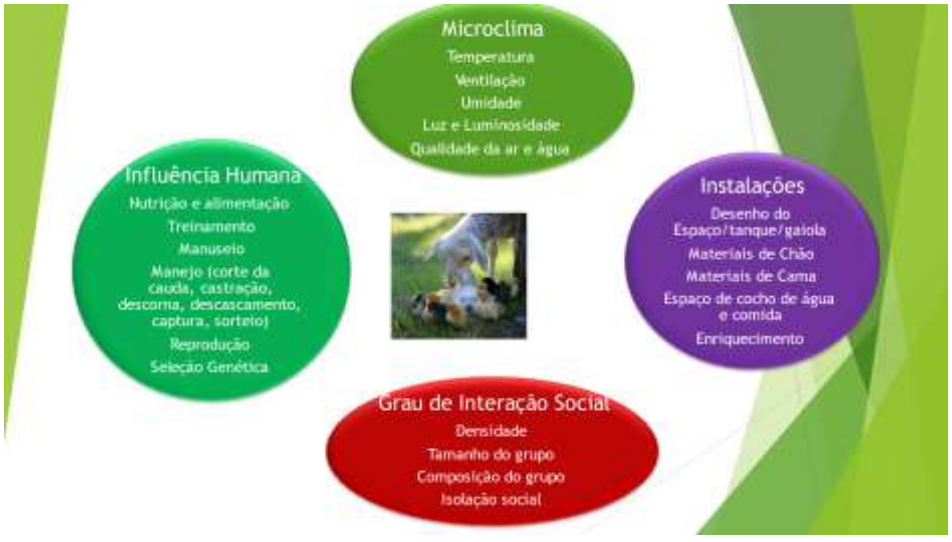
    - fazer a manutenção dos sistemas MEP (Mecanica, Eletrica, Água (Plumbing)) sem cruzar a barreira do ambiente animal.

- Projetar o espaço AHR (Animal Housing Rooms) como uma entidade rearranjada de maneira flexível

[14] https://www.voanews.com/science-health/experiment-monkeys-raises-hopes-functional-cure-hiv
[15] https://www.epfl.ch/research/experimentation-research-with-animals/how-do-we-work-with-animals/

- pode ser facilmente alterada
    - funções de contenção de animais
    - procedimentos
    - mínimo de reequipamento conforme os paradigmas de estudo mudam.
- A agilização do tratamento e disposição de resíduos
    - ambientalmente correta
    - operação de lavagem de gaiolas
    - espaços de necropsia / perfusão

Pontos críticos para o Bem-estar animal

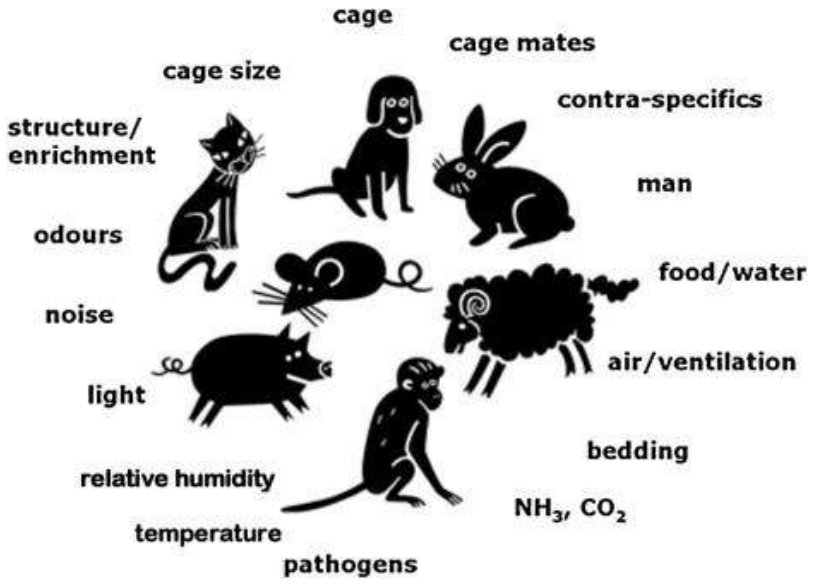


Obrigatório em instalação de roedores e lagomorfos (RN15)?

- Apoio
    - vestiários

- áreas para depósitos
- sanitários fora das áreas controladas e de criação

- Salas de animais separadas por espécie
- Na instalação animal de produção
  - Ingresso de animais por área de recepção de animais/quarentena
  - Sala para eutanásia separado das salas de animais
- Estrutura
  - Área destinada à higienização separada fisicamente das salas de animais
  - Sistema de iluminação com fotoperíodo regulável nas áreas controladas e salas de animais
  - Sem Janelas nas salas dos animais
  - Controle de temperatura, ventilação e umidade e seu monitoramento
- O pessoal que ingressa nas áreas controladas deve utilizar equipamentos de proteção individual



Questões

► Instalações

► Social

► Idade, sexo, peso, número de animais por m², maternidade

► Sanidade

► Qualidade interação humana-animal

► Alimentação

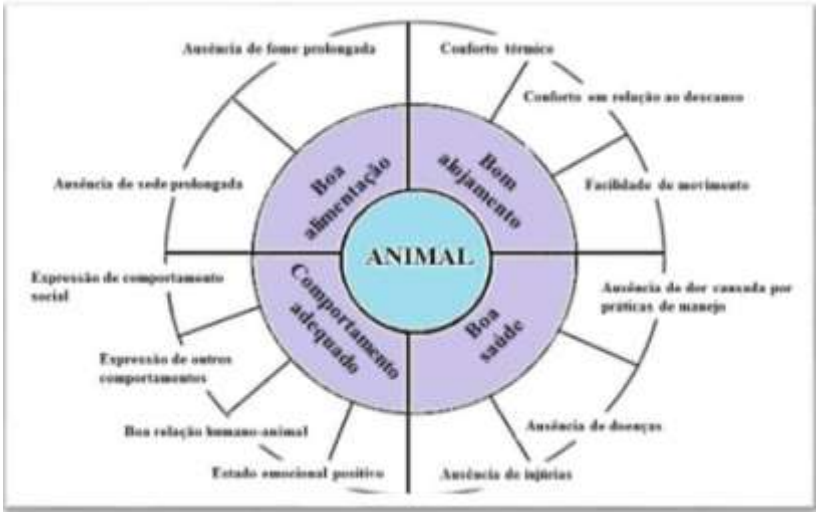
► Tipo de piso

► Cama

► Comportamento

► Fontes de perigo

► Água (limpa e temperatura)



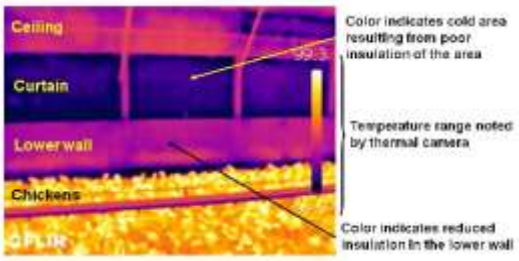
Microclima

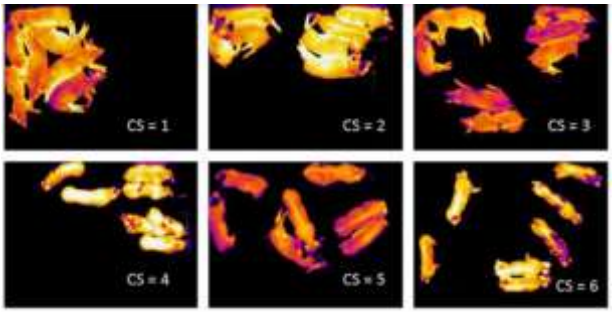
- Ventilação, temperaturas, umidade relativa, concentração de amônia
- Doenças entéricas
- Ferimentos

Indicadores do sistema de falta de bem estar

- Limpeza

- Temperatura do ambiente e água
- Índice de mortalidade
- Escore de Condição Corporal
- Ganho de peso
- Produção
- Densidade
- Mortalidade
- Lesões, doenças
- Comportamentos estereotípicos
- Vocalização
- Desinteresse
- Fome
- Isolamento
- Ofegar ou suar
- Tremer
- Medo/agressividade
- Temperatura
- Cabeça levantada





Enriquecimento

- Melhor qualidade de vida;
- Estimula os animais;
- Melhora o bem-estar físico e psíquico;
- Estimula comportamentos típicos da espécie;
- Reduz estresse;
- Diminui distúrbios comportamentais;
- Diminui canibalismo e agressões;
- Diminui intervenções clínicas;
- Diminui mortalidade e
- Aumenta taxa reprodutiva e produtiva

Diminuir

- ► estresse (para animais e humanos)
- ► probabilidade de acidentes com animais e trabalhadores
- ► perdas e danos de equipamentos

- ► perda de vacinas, equipamentos
- ► riscos de acidentes de trabalho

► Manejo racional abolindo o ferrão, barulho e violência contra os animais

► Higiene

► Separação em lotes

► Água

► Melhorar

- ► qualidade do trabalho
- ► interação homem-animal
- ► rotina das atividades da fazenda
- ► Qualificação de Mão-de Obra

► Combina

- ► Instalação com tamanho e estado fisiológica

Assuntos atuais

- Animais transgênicos
- Zebrafish
- Novos tipos de gaiolas e alojamentos
  - racks ventilados de alta densidade (HDVRs),
  - alteraram o design da sala e estão promovendo o aumento do uso de dinâmica de fluidos computacional (CFDs)

    - modelar ambientes de sala e características de HVAC.
        - Input - pegada da sala, volume, iluminação, saída de ar e fontes de carga de calor,
        - CFDs podem gerar configurações de espaço otimizadas
- Manutenção automatizada de registros e integração com sistemas de automação predial
- Promover o bem-estar psicológico dos animais estão afetando todas as espécies
- Proporcionar comportamentos naturais
    - exercícios, oportunidades para interações em grupo e aninhamento, busca de alimentos
- Tecnologias de economia de mão de obra
    - Robótica
    - sistemas baseados em pórticos ou trilhos de piso

Regulação

Concea

- Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
- MCTIC
- Pode multar ou fechar instituição ou pessoas
- Faz Resoluções Normativas, orientações técnicas, Diretrizes e estuda processos

CEUA

- Comissão de ética no uso de animais
- Da instituição
- Aprova os projetos e ensino

Resoluções Normativas

- 22 – 25/6/2015
    - Estudos com animais domésticos mantidos fora de instalações de instituições de ensino ou pesquisa
- 30 – 02/02/2016
    - Diretriz Brasileira para o cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa
- 32 – 06/09/2016
    - Diretrizes de Integridade e de Boas Práticas para Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica

- 49 – 07/05/ 2021
    - obrigatoriedade de capacitação
- 51 – 19/05/2021
    - projeto de ensino/pesquisa a ser conduzido em outro país, em associação com instituição brasileira - ser analisado na CEUA da instituição brasileira na qual o pesquisador está vinculado
- 53 – 19/05/2021
    - proibido o uso de animais em atividades didáticas demonstrativas e observacionais que não objetivem desenvolver habilidades psicomotoras e competências dos discentes envolvidos

- Importante
    - Responsável Técnico: médico veterinário, devidamente inscrito no Conselho de Medicina Veterinária (RN Nº 6, 10/7/2012)
    - Pesquisador: Toda e qualquer pessoa qualificada que utilize animais em atividades de pesquisa científica.
    - Biotério - instalação na qual são produzidos, mantidos ou utilizados animais para atividades de ensino ou de pesquisa científica (RN Nº 20, 30/12/2014)
        - fazendas experimentais, canil, pocilga, baia, piquete, curral, galpão, granja, tanque para peixes
    - CEUA deve examinar os projetos previamente

Instalações[16]

- Depende da espécie
- Normas do Concea
- Segurança
- Sala
    - Ambiente
    - Tamanho
- Padrões de circulação

[16] https://www.wbdg.org/building-types/research-facilities/animal-research-facility

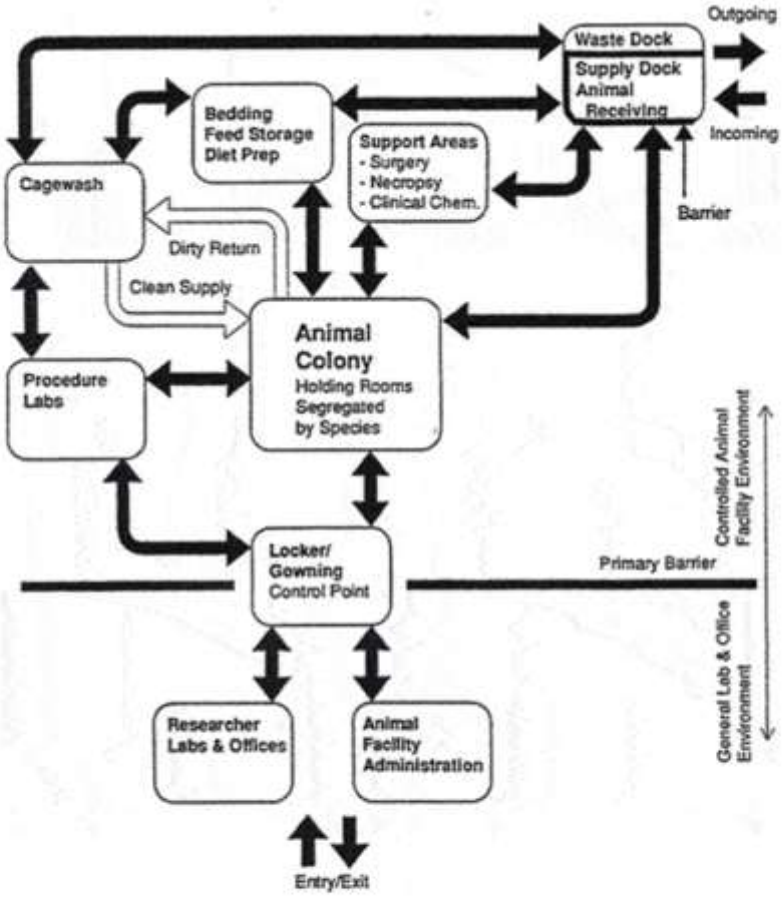


Figure 4

Animal Facility
Diagramatic Model Showing
Basic Flows and Spatial Relationships

Recursos On-line

- https://www.labanimaltour.org/
    - Publico podem fazer tour online de instalações experimentais
- https://www.youtube.com/watch?v=6RL_KZ2bAQE
    - Porque precisa de animais em pesquisa médica
- https://www.youtube.com/watch?v=OkUavpSrOj4
    - Animal Handling and Experimentation
- https://www.youtube.com/watch?v=p1cpzLBeRC8
    - Uso de animais em psicologia
- https://www.youtube.com/watch?v=Nd-5bt-SmiQ
    - Vídeo simples para descrever o uso de animais
- https://www.youtube.com/watch?v=GB5BSzPsLsw
    - Vídeo da revista "Science" sobre bem-estar nas instalações de experimento
- https://ivd-utrecht.nl/en/infocentre/video/dilemmas-about-animal-experiments
    - Debate na U. Utrecht sobre experimentos com animais

Referências

Adler S. Origin of the golden hamster Cricetus auratus as a laboratory animal. Nature. 1948;162:256–257.

Alworth L.C., Harvey S.B. Chinchillas: anatomy, physiology and behavior. In: Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P., editors. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. first ed. Academic Press/Elsevier; London: 2012.

Alworth L.C., Vazquez V.M. A novel system for individually housing bullfrogs. Lab. Anim. (NY) 2009;38:329–333.

American Fancy Rat and Mouse Association 2014. http://www.afrma.org/ Available from:

Ancel C., Bentsen A.H., Sebert M.E., Tena-Sempere M., Mikklesen J.D., Simonneaux V. Stimulatory effect of RFRP-3 on the gonadotrophic axis in the male Syrian hamster: the exception proves the rule. Endocrinology. 2012;153:1352–1363.

Arslan H., Ketani A., Gezici A., Kapukaya A., Necmioglu S., Kesemenli C., Subasi M. The effects of osteoporosis on distraction osteogenesis: an experimental study in an ovariectomised rabbit model. Acta Orthop. Belg. 2003;69:67–73.

Austad S.N. Birds as models of aging in biomedical research. ILAR J. 1997;38:137–141.

Austad S.N. Candidate bird species for use in aging research. ILAR J. 2011;52:89–96.

Bacon L.D., Hunt H.D., Cheng H.H. A review of the development of chicken lines to resolve genes determining resistance to diseases. Poult. Sci. 2000;79:1082–1093.

Baenninger L.P. Comparison of behavioural development in socially isolated and grouped rats. Anim. Behav. 1967;15:312–323.

Bahr A., Wolf E. Domestic animal models for biomedical research. Reprod. Domest. Anim. 2012;47(Suppl. 4):59–71.

Balamayooran G., Pena M., Sharma R., Truman R.W. The armadillo as an animal model and reservoir host for Mycobacterium leprae. Clin. Dermatol. 2015;33:108–115.

Ball G.F., Balthazart J. Japanese quail as a model system for studying the neuroendocrine control of reproductive and social behaviors. ILAR J. 2010;51:310–325.

Batavia M., Nguyen G., Zucker I. The effects of day length, hibernation, and ambient temperature on incisor dentin in the Turkish hamster (Mesocricetus brandti) J. Comp. Physiol. B. 2013;183:557–566.

Bateson M., Feenders G. The use of passerine bird species in laboratory research: implications of basic biology for husbandry and welfare. ILAR J. 2010;51:394–408.

Baumans V. Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research. ILAR J. 2005;46:162–170.

Bays T.B. Rabbit behavior. In: Mayer T.B.B.L., editor. Exotic Pet Behavior. W.B. Saunders; St. Louis: 2006. (Chapter 1)

Benedictow O.J. Boydell Press; Rochester: 2004. The Black Death, 1346–1353: The Complete History.

Bhandari R.K., Deem S.L., Holliday D.K., Jandegian C.M., Kassotis C.D., Nagel S.C., Tillitt D.E., Vom Saal F.S., Rosenfeld C.S. Effects of the environmental estrogenic contaminants bisphenol A and 17alpha-ethinyl estradiol on sexual development and adult behaviors in aquatic wildlife species. Gen. Comp. Endocrinol. 2015;214:195–219.

Bivolarski B.L., Vachkova E.G. Morphological and functional events associated to weaning in rabbits. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl) 2014;98:9–18.

Blickstein I., Keith L.G. On the possible cause of monozygotic twinning: lessons from the 9-banded armadillo and from assisted reproduction. Twin Res. Hum. Genet. 2007;10:394–399.

Boers K., Gray G., Love J., Mahmutovic Z., McCormick S., Turcotte N., Zhang Y. Comfortable quarters for laboratory rabbits. In: Reinhardt V., Reinhardt A., editors. Comfortable Quarters for Laboratory Animals. ninth ed. Animal Welfare Institute; Washington, DC: 2002.

Brewer N.R. Biology of the rabbit. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2006;45:8–24.

Browne R.K., Odum R.A., Herman T., Zippel K. Facility design and associated services for the study of amphibians. ILAR J. 2007;48:188–202.

Burgdorf J., Panksepp J. Tickling induces reward in adolescent rats. Physiol. Behav. 2001;72:167–173.

Burggren W.W., Warburton S. Amphibians as animal models for laboratory research in physiology. ILAR J. 2007;48:260–269.

Burman O.H.P., Ilyat A., Jones G., Mendl M. Ultrasonic vocalizations as indicators of welfare for laboratory rats (Rattus norvegicus) Appl. Anim. Behav. Sci. 2007;104:116–129.

Burt J. 2006. Rat Reaktion Books. (London)

Butler M.P., Turner K.W., Zucker I. A melatonin-independent seasonal timer induces neuroendocrine refractoriness to short day lengths. J. Biol. Rhythms. 2008;23:242–251.

Cabib S. The neurobiology of stereotypy II: the role of stress. In: Mason G., Rushen J., editors. Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Applications to Welfare. second ed. CABI Publishing; Cambridge, MA: 2005.

Callard M.D., Bursten S.N., Price E.O. Repetitive backflipping behaviour in captive roof rats (Rattus rattus) and the effects of cage enrichment. Anim. Welfare. 2000;9:139–152.

Castaneda S., Calvo E., Largo R., Gonzalez-Gonzalez R., De La Piedra C., Diaz-Curiel M., Herrero-Beaumont G. Characterization of a new experimental model of osteoporosis in rabbits. J. Bone Miner. Metab. 2008;26:53–59.

Champneys F. The Septum atriorum of the frog and the rabbit. J. Anat. Physiol. 1874;8:340–352.

Chen G., Robert J. Antiviral immunity in amphibians. Viruses. 2011;3:2065–2086.

Chu L.-R., Garner J.P., Mench J.A. A behavioral comparison of New Zealand White rabbits (Oryctolagus cuniculus) housed individually or in pairs in conventional laboratory cages. Appl. Anim. Behav. Sci. 2004;85:121–139.

Chum H., Felt S., Garner J., Green S. Biology, behavior, and environmental enrichment for the captive African clawed frog (Xenopus spp.) Appl. Anim. Behav. Sci. 2013;143:150–156.

Cloutier S., Wahl K., Baker C., Newberry R.C. The social buffering effect of playful handling on responses to repeated intraperitoneal injections in laboratory rats. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2014;53:168–173.

Creaser C.W. The technic of handling the zebra fish (Brachydanio rerio) for the production of eggs which are favorable for embryological research and are available at any specified time throughout the year. Copeia. 1934;4:159–161.

Dal Bosco A., Rebollar P.G., Boiti C., Zerani M., Castellini C. Ovulation induction in rabbit does: current knowledge and perspectives. Anim. Reprod. Sci. 2011;129:106–117.

Darrow K.O., Harris W.A. Characterization and development of courtship in zebrafish, Danio rerio. Zebrafish. 2004;1:40–45.

Denardo D. Amphibians as laboratory animals. ILAR J. 1995;37:173–181.

Dickenson V. 2013. Rabbit. Reaktion Books. (London)

Diehl K.H., Hull R., Morton D., Pfister R., Rabemampianina Y., Smith D., Vidal J.M., Van De Vorstenbosch C. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. J. Appl. Toxicol. 2001;21:15–23.

Divers S.J., Mader D.R. second ed. Saunders Elsevier; St. Louis: 2006. Reptile Medicine and Surgery.
Doneley B. Manson Publishing, Ltd.; London: 2010. Avian Medicine and Surgery in Practice.
Einon D.F., Morgan M.J. A critical period for social isolation in the rat. Dev. Psychobiol. 1977;10:123–132.
Ema M., Naya M., Yoshida K., Nagaosa R. Reproductive and developmental toxicity of hydrofluorocarbons used as refrigerants. Reprod. Toxicol. 2010;29:125–131.
Engeszer R.E., Patterson L.B., Rao A.A., Parichy D.M. Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field. Zebrafish. 2007;4:21–38.
European Commission . European Union; Brussels: 2013. Seventh Report on the Statistics on the Number of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes in the Member States of the European Union.
Fee M.S., Scharff C. The songbird as a model for the generation and learning of complex sequential behaviors. ILAR J. 2010;51:362–377.
Firth C., Bhat M., Firth M.A., Williams S.H., Frye M.J., Simmonds P., Conte J.M., Ng J., Garcia J., Bhuva N.P., Lee B., Che X., Quan P.L., Lipkin W.I. Detection of zoonotic pathogens and characterization of novel viruses carried by commensal Rattus norvegicus in New York City. MBio. 2014;5 e01933–14.
Fischer B., Chavatte-Palmer P., Viebahn C., Naverrete Santos A., Duranthon V. Rabbit as a reproductive model for human health. Reproduction. 2012;144:1–10.
Foote R.H., Carney E.W. The rabbit as a model for reproductive and developmental toxicity studies. Reprod. Toxicol. 2000;14:477–493.
Frandson R.D., Wilke W.L., Fails A.D. Wiley-Blackwell; Ames: 2009. Anatomy and Physiology of Farm Animals.
Fraser M.A., Girling S. Wiley-Blackwell; Ames: 2009. Rabbit Medicine and Surgery for Veterinary Nurses.
Frye F.L. Krieger Publishing Co.; Malabar: 1991. Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry.
Furukawa S., Kuroda Y., Sugiyama A. A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. J. Toxicol. Pathol. 2014;27:11–18.
Garner J.P., Dufour B., Gregg L.E., Weisker S.M., Mench J.A. Social and husbandry factors affecting the prevalence and severity of barbering ('whisker trimming') by laboratory mice. Appl. Anim. Behav. Sci. 2004;89:263–282.
Garner J.P., Mason G.J. Evidence for a relationship between cage stereotypies and behavioural disinhibition in laboratory rodents. Behav. Brain Res. 2002;136:83–92.
Gaskill B.N. 2014. Personal Communication.
Gaskill B.N., Gordon C.J., Pajor E.A., Lucas J.R., Davis J.K., Garner J.P. Heat or insulation: behavioral titration of mouse preference for warmth or access to a nest. PLoS One. 2012;7:e32799.
Gaskill B.N., Gordon C.J., Pajor E.A., Lucas J.R., Davis J.K., Garner J.P. Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology. Physiol. Behav. 2013;110–111:87–95.
Gaskill B.N., Karas A.Z., Garner J.P., Pritchett-Corning K.R. Nest building as an indicator of health and welfare in laboratory mice. J. Vis. Exp. 2013:51012.
Gaskill B.N., Pritchett-Corning K.R., Gordon C.J., Pajor E.A., Lucas J.R., Davis J.K., Garner J.P. Energy reallocation to breeding performance through improved nest building in laboratory mice. PLoS One. 2013;8:e74153.
Gentz E.J. Medicine and surgery of amphibians. ILAR J. 2007;48:255–259.
Gerhard G.S., Kauffman E.J., Wang X., Stewart R., Moore J.L., Kasales C.J., Demidenko E., Cheng K.C. Life spans and senescent phenotypes in two strains of Zebrafish (Danio rerio) Exp. Gerontol. 2002;37:1055–1068.
Gerlach G. Pheromonal regulation of reproductive success in female zebrafish: female suppression and male enhancement. Anim. Behav. 2006;72:1119–1124.
Gibbs K.M., Chittur S.V., Szaro B.G. Metamorphosis and the regenerative capacity of spinal cord axons in Xenopus laevis. Eur. J. Neurosci. 2011;33:9–25.
Gibson J.P., Staples R.E., Newberne J.W. Use of the rabbit in teratogenicity studies. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1966;9:398–407.
Gomes-Silva A., Valverde J.G., Ribeiro-Romao R.P., Placido-Pereira R.M., Da-Cruz A.M. Golden hamster (Mesocricetus auratus) as an experimental model for Leishmania (Viannia) braziliensis infection. Parasitology. 2013;140:771–779.
Gorn E.J., Goldstein W. University of Illinois Press; Urbana: 2004. A Brief History of American Sports.
Gotfredsen K., Wennerberg A., Johansson C., Skovgaard L.T., Hjorting-Hansen E. Anchorage of TiO2-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study with rabbits. J. Biomed. Mater. Res. 1995;29:1223–1231.
Greene H.W. Nonavian reptiles as laboratory animals. ILAR J. 1995;37:182–186.
Gresens J. An introduction to the Mexican axolotl (Ambystoma mexicanum) Lab. Anim. (NY) 2004;33:41–47.
Gresham V.C., Haines V.L. Guinea pigs: managment, husbandry and colony health. In: Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P., editors. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. first ed. Academic Press/Elsevier; London: 2012.
Gunn D., Morton D.B. Inventory of the behaviour of New Zealand White rabbits in laboratory cages. Appl. Anim. Behav. Sci. 1995;45:277–292.
Habjanec L., Halassy B., Vdovic V., Balija M.L., Tomasic J. Comparison of mouse and rabbit model for the assessment of strong PGM-containing oil-based adjuvants. Vet. Immunol. Immunopathol. 2008;121:232–240.
Hans J.S., Bird G.C., Li W., Jones J., Neugbauer V. Computerized analysis of audible and ultrasonic vocalizations of rats as a standardized measure of pain-related behavior. J. Neurosci. Meth. 2005;141:261–269.
Hanly W.C., Artwohl J.E., Bennett B.T. Review of polyclonal antibody production procedures in mammals and poultry. ILAR J. 1995;37:93–118.
Harding C.F. Learning from bird brains: how the study of songbird brains revolutionized neuroscience. Lab. Anim. (NY) 2004;33:28–33.
Hardy C., Callou C., Vigne J.D., Casane D., Dennebouy N., Mounolou J.C., Monnerot M. Rabbit mitochondrial DNA diversity from prehistoric to modern times. J. Mol. Evol. 1995;40:227–237.
Harkness J.E., Turner P.V., VandeWoude S., Wheler C.L. fifth ed. Wiley; Ames: 2010. Harkness and Wagner's Biology and Medicine of Rabbits and Rodents.
Harrington M. Speaking of psittacine research. Lab. Anim. (NY) 2014;43:343.
Harris B.M., Blatz P.J., Hinkle M.K., McCall S., Beckius M.L., Mende K., Robertson J.L., Griffith M.E., Murray C.K., Hospenthal D.R. In vitro and in vivo activity of first generation cephalosporins against Leptospira. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2011;85:905–908.
Hawkridge A.M. The chicken model of spontaneous ovarian cancer. Proteomics Clin. Appl. 2014;8:689–699.

Hedrich H.J. History, strains, and models. In: Krinke G., editor. The Laboratory Rat. Academic Press; San Diego: 2000.
Hein G.J., Baker C., Hsieh J., Farr S., Adeli K. GLP-1 and GLP-2 as yin and yang of intestinal lipoprotein production: evidence for predominance of GLP-2-stimulated postprandial lipemia in normal and insulin-resistant states. Diabetes. 2013;62:373–381.
Hesse B.E., Potter B. A behavioral look at the training of Alex: a review of Pepperberg's the Alex studies: cognitive and communicative abilities of grey parrots. Anal. Verbal Behav. 2004;20:141–151.
Hickman D.L., Swan M. Use of a body condition score technique to assess health status in a rat model of polycystic kidney disease. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2010;49:155–159.
Hirsjarvi P.A., Junnila M.A., Valiaho T.U. Gentled and non-handled rats in a stressful open-field situation; differences in performance. Scand. J. Psychol. 1990;31:259–265.
Hopkins J., Bourdain A., Freeman M. Tuttle Publishing; North Clarendon: 2004. Extreme Cuisine: The Weird & Wonderful Foods that People Eat.
Hopkins W.A. Amphibians as models for studying environmental change. ILAR J. 2007;48:270–277.
Hori M., Yamada K., Ohnishi J., Sakamoto S., Furuie H., Murakami K., Ichitani Y. Tickling during adolescence alters fear-related and cognitive behaviors in rats after prolonged isolation. Physiol. Behav. 2014;131:62–67.
Hörnicke H. Utilization of caecal digesta by caecotrophy (soft faeces ingestion) in the rabbit. Livestock Prod. Sci. 1981;8:361–366.
Howe K., Clark M.D., Torroja C.F., Torrance J., Berthelot C., Muffato M., Collins J.E., Humphray S., McLaren K., Matthews L., McLaren S., Sealy I., Caccamo M., Churcher C., Scott C., Barrett J.C., Koch R., Rauch G.J., White S., Chow W., Kilian B., Quintais L.T., Guerra-Assuncao J.A., Zhou Y., Gu Y., Yen J., Vogel J.H., Eyre T., Redmond S., Banerjee R., Chi J., Fu B., Langley E., Maguire S.F., Laird G.K., Lloyd D., Kenyon E., Donaldson S., Sehra H., Almeida-King J., Loveland J., Trevanion S., Jones M., Quail M., Willey D., Hunt A., Burton J., Sims S., McLay K., Plumb B., Davis J., Clee C., Oliver K., Clark R., Riddle C., Elliot D., Threadgold G., Harden G., Ware D., Begum S., Mortimore B., Kerry G., Heath P., Phillmore B., Tracey A., Corby N., Dunn M., Johnson C., Wood J., Clark S., Pelan S., Griffiths G., Smith M., Glithero R., Howden P., Barker N., Lloyd C., Stevens C., Harley J., Holt K., Panagiotidis G., Lovell J., Beasley H., Henderson C., Gordon D., Auger K., Wright D., Collins J., Raisen C., Dyer L., Leung K., Robertson L., Ambridge K., Leongamornlert D., McGuire S., Gilderthorp R., Griffiths C., Manthravadi D., Nichol S., Barker G. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. Nature. 2013;496:498–503.
Hurme K., Gonzalez K., Halvorsen M., Foster B., Moore D., Chepko-Sade B.D. Environmental enrichment for dendrobatid frogs. J. Appl. Anim. Welf. Sci. 2003;6:285–299.
Huss D., Poynter G., Lansford R. Japanese quail (Coturnix japonica) as a laboratory animal model. Lab. Anim. (NY) 2008;37:513–519.
Ibi D., Takuma K., Koike H., Mizoguchi H., Tsuritani K., Kuwahara Y., Kamei H., Nagai T., Yoneda Y., Nabeshima T., Yamada K. Social isolation rearing-induced impairment of the hippocampal neurogenesis is associated with deficits in spatial memory and emotion-related behaviors in juvenile mice. J. Neurochem. 2008;105:921–932.
Ito T., Ando H., Handa H. Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms. Cell. Mol. Life Sci. 2011;68:1569–1579.
Jacobson E.R. CRC Press; Boca Raton: 2007. Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text.
Jarvis E.D., Mirarab S., Aberer A.J., Li B., Houde P., Li C., Ho S.Y., Faircloth B.C., Nabholz B., Howard J.T., Suh A., Weber C.C., Da Fonseca R.R., Li J., Zhang F., Li H., Zhou L., Narula N., Liu L., Ganapathy G., Boussau B., Bayzid M.S., Zavodovych V., Subramanian S., Gabaldon T., Capelle-Gutierrez S., Huerta-Cepas J., Rekepalli B., Munch K., Schierup M., Lindow B., Warren W.C., Ray D., Green R.E., Bruford M.W., Zhan X., Dixon A., Li S., Li N., Huang Y., Derryberry E.P., Bertelsen M.F., Sheldon F.H., Brumfield R.T., Mello C.V., Lovell P.V., Wirthlin M., Schneider M.P., Prosdocimi F., Samaniego J.A., Velazquez A.M.V., Alfaro-Nunez A., Campos P.F., Petersen B., Sicheritz-Ponten T., Pas A., Bailey T., Scofield P., Bunch M., Lambert D.M., Zhou Q., Perelman P., Driskell A.C., Sharpiro B., Xiong Z., Zeng Y., Liu S., Li Z., Liu B., Wu K., Xiao J., Yinqi X., Zheng Q., Zhang Y., Yang H., Wang J., Smeds L., Rheindt F.E., Braun M., Fjeldsa J., Orlando L., Barker F.K., Jonsson K.A., Johnson W., Koepfli K.P., O'Brien S., Haussler D., Ryder O.A., Rahbek C., Willerslev E., Graves G.R., Glenn T.C., McCormack J., Burt D., Ellegren H., Alstrom P., Edwards S.V., Stamatakis A., Mindell D.P., Cracraft J. Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. Science. 2014;346:1320–1331.
Jenkins J.R. Rabbit and ferret liver and gastrointestinal testing. In: Fudge A.M., editor. Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets. Saunders; Philadelphia: 2000.
Jiangbo Z., Xuying W., Yuping Z., Xili M., Yiwen Z., Tianbao Z. Effect of astragaloside IV on the embryo-fetal development of Sprague-Dawley rats and New Zealand White rabbits. J. Appl. Toxicol. 2009;29:381–385.
Jimenez J.E. The extirpation and current status of wild chinchillas Chinchilla lanigera and C-brevicaudata. Biol. Conserv. 1996;77:1–6.
Jourdan D., Ardid D., Chapuy E., Eschalier A., Le Bars D. Audible and ultrasonic vocalization elicited by single electrical nociceptive stimuli to the tail in the rat. Pain. 1995;63:237–249.
Kaiser P. The long view: a bright past, a brighter future? Forty years of chicken immunology pre- and post-genome. Avian Pathol. 2012;41:511–518.
Kalmar I.D., Janssens G.P., Moons C.P. Guidelines and ethical considerations for housing and management of psittacine birds used in research. ILAR J. 2010;51:409–423.
Kent M.L., Harper C., Wolf J.C. Documented and potential research impacts of subclinical diseases in zebrafish. ILAR J. 2012;53:126–134.
Kent M.L., Spitsbergen J.M., Matthews J.M., Fournie J.W., Westerfield M. 2012. Diseases of Zebrafish in Research Facilities.https://zebrafish.org/wiki/health/disease_manual/start
Kerby J.L., Hart A.J., Storfer A. Combined effects of virus, pesticide, and predator cue on the larval tiger salamander (Ambystoma tigrinum) Ecohealth. 2011;8:46–54.
Kerby J.L., Storfer A. Combined effects of atrazine and chlorpyrifos on susceptibility of the tiger salamander to Ambystoma tigrinum virus. Ecohealth. 2009;6:91–98.
Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimel S.R., Ullmann B., Schilling T.F. Stages of embryonic development of the zebrafish. Dev. Dyn. 1995;203:253–310.
Koustubhan P., Sorocco D., Levin M.S., Conn P.M. Establishing and maintaining a Xenopus laevis colony for research laboratories. In: Conn P.M., editor. Sourcebook of Models for Biomedical Research. Humana Press; Totowa: 2008.
Kumar S., Singh R., Vasudeva N., Sharma S. Acute and chronic animal models for the evaluation of anti-diabetic agents. Cardiovasc. Diabetol. 2012;11:9.

Laale H.W. The biology and use of zebrafish, Brachydanio rerio in fisheries research. A literature review. J. Fish Biol. 1977;10:121–176.
Lanning D., Zhu X., Zhai S.K., Knight K.L. Development of the antibody repertoire in rabbit: gut-associated lymphoid tissue, microbes, and selection. Immunol. Rev. 2000;175:214–228.
Laulederkind S.J., Hayman G.T., Wang S.J., Smith J.R., Lowry T.F., Nigam R., Petri V., De Pons J., Dwinell M.R., Shimoyama M., Munzenmaier D.H., Worthey E.A., Jacob H.J. The rat genome database 2013–data, tools and users. Brief Bioinform. 2013;14:520–526.
Lawrence C. The husbandry of zebrafish (Danio rerio): a review. Aquaculture. 2007;269:1–20.
Lawrence C., Adatto I., Best J., James A., Maloney K. Generation time of zebrafish (Danio rerio) and medakas (Oryzias latipes) housed in the same aquaculture facility. Lab. Anim. (NY) 2012;41:158–165.
Lawrence C., Mason T. Zebrafish housing systems: a review of basic operating principles and considerations for design and functionality. ILAR J. 2012;53:179–191.
Levy G., Lutz I., Kruger A., Kloas W. Bisphenol A induces feminization in Xenopus laevis tadpoles. Environ. Res. 2004;94:102–111.
Lindsey J.R., Baker H.J. Historical perspectives. In: Suckow M.A., Weisbroth S.H., Franklin C.L., editors. The Laboratory Rat. second ed. Elsevier; Boston: 2006.
Lloyd M.E., Carr M., McElhatton P., Hall G.M., Hughes R.A. The effects of methotrexate on pregnancy, fertility and lactation. QJM. 1999;92:551–563.
Lovern M.B., Holmes M.M., Wade J. The green anole (Anolis carolinensis): a reptilian model for laboratory studies of reproductive morphology and behavior. ILAR J. 2004;45:54–64.
Maekawa F., Tsukahara S., Kawashima T., Nohara K., Ohki-Hamazaki H. The mechanisms underlying sexual differentiation of behavior and physiology in mammals and birds: relative contributions of sex steroids and sex chromosomes. Front. Neurosci. 2014;8:242.
Maina J.N. Development, structure, and function of a novel respiratory organ, the lung-air sac system of birds: to go where no other vertebrate has gone. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 2006;81:545–579.
Manabe Y.C., Kesavan A.K., Lopez-Molina J., Hatem C.L., Brooks M., Fujiwara R., Hochstein K., Pitt M.L., Tufariello J., Chan J., McMurray D.N., Bishai W.R., Dannenberg A.M., Jr., Mendez S. The aerosol rabbit model of TB latency, reactivation and immune reconstitution inflammatory syndrome. Tuberculosis (Edinb) 2008;88:187–196.
Martin B.J. Chinchillas: taxonomy and history. In: Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P., editors. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. first ed. Academic Press; London: 2012.
McClure M.M., McIntyre P.B., McCune A.R. Notes on the natural diet and habitat of eight danionin fishes, including the zebrafish Danio rerio. J. Fish Biol. 2006;69:553–570.
McMahon A.C., Kritharides L., Lowe H.C. Animal models of atherosclerosis progression: current concepts. Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Disord. 2005;5:433–440.
Mello C.V. The zebra finch, Taeniopygia guttata: an avian model for investigating the neurobiological basis of vocal learning. Cold Spring Harb. Protoc. 2014;2014:1237–1242.
Meredith A.L., Richardson J. Neurological diseases of rabbits and rodents. J. Exot. Pet Med. 2015;24:21–33.
Morton D.J., Hempel R.J., Seale T.W., Whitby P.W., Stull T.L. A functional tonB gene is required for both virulence and competitive fitness in a chinchilla model of Haemophilus influenzae otitis media. BMC Res. Notes. 2012;5:327.
Nasiadka A., Clark M.D. Zebrafish breeding in the laboratory environment. ILAR J. 2012;53:161–168.
National Research Council . eighth ed. National Academies Press; Washington, DC: 2011. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.
National Research Council (U.S.) National Academies Press; Washington, DC: 1974. Amphibians: Guidelines for the Breeding, Care, and Management of Laboratory Animals; a Report.
O'Rourke D.P. Amphibians used in research and teaching. ILAR J. 2007;48:183–187.
O'Rourke D.P., Schultz T.W. Biology and diseases of amphibians. In: Fox J.G., Anderson L.C., Loew F.M., Quimby F.W., editors. Laboratory Animal Medicine. second ed. Academic Press; Amsterdam: 2002.
O'Rourke D.P., Schumacher J. Biology and diseases of reptiles. In: Fox J.G., Anderson L.C., Loew F.M., Quimby F.W., editors. Laboratory Animal Medicine. second ed. Academic Press; Amsterdam: 2002.
Ogushi Y., Tsuzuki A., Sato M., Mochida H., Okada R., Suzuki M., Hillyard S.D., Tanaka S. The water-absorption region of ventral skin of several semiterrestrial and aquatic anuran amphibians identified by aquaporins. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2010;299:R1150–R1162.
Oi A., Morishita K., Awogi T., Ozaki A., Umezato M., Fujita S., Hosoki E., Morimoto H., Ishiharada N., Ishiyama H., Uesugi T., Miyatake M., Senba T., Shiragiku T., Nakagiri N., Ito N. Nonclinical safety profile of tolvaptan. Cardiovasc. Drugs Ther. 2011;25(Suppl. 1):S91–S99.
Padilla-Carlin D.J., McMurray D.N., Hickey A.J. The Guinea pig as a model of infectious diseases. Comp. Med. 2008;58:324–340.
Panda A., Tatarov I., Masek B.J., Hardick J., Crusan A., Wakefield T., Carroll K., Yang S., Hsieh Y.H., Lipsky M.M., McLeod C.G., Levine M.M., Rothman R.E., Gaydos C.A., Detolla L.J. A rabbit model of non-typhoidal Salmonella bacteremia. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2014;37:211–220.
Panksepp J. Neuroevolutionary sources of laughter and social joy: modeling primal human laughter in laboratory rats. Behav. Brain Res. 2007;182:231–244.
Parasuraman S., Raveendran R., Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. J. Pharmacol. Pharmacother. 2010;1:87–93.
Parasana A.J., Li N., Brown T.H. Positive and negative ultrasonic social signals elicit opposing firing patterns in rat amygdala. Behav. Brain Res. 2012;226:77–86.
Passos L.F., Mello H.E., Young R.J. Enriching tortoises: assessing color preference. J. Appl. Anim. Welf. Sci. 2014;17:274–281.
Patterson-Kane E.G. Shelter enrichment for rats. Contemp. Top. Lab. Anim. Sci. 2003;42:46–48.
Pena J.L., Debello W.M. Auditory processing, plasticity, and learning in the barn owl. ILAR J. 2010;51:338–352.
Poggiagliolmi S., Crowell-Davis S.L., Alworth L.C., Harvey S.B. Environmental enrichment of New Zealand White rabbits living in laboratory cages. J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res. 2011;6:343–350.
Popesko P., Rajtová V., Horák J.R. Wolfe Publishing; London: 1992. A Colour Atlas of the Anatomy of Small Laboratory Animals.
Pough F.H. Recommendations for the care of amphibians and reptiles in Academic Institutions. ILAR J. 1991;33:S1–S21.

Pough F.H. Amphibian biology and husbandry. ILAR J. 2007;48:203–213.
Pritt S. Guinea pigs: taxonomy and history. In: Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P., editors. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. first ed. Academic Press; London: 2012.
Proctor N.S., Lynch P.J. Yale University Press; New Haven: 1993. Manual of Ornithology: Avian Structure & Function.
Quesenberry K.E., Carpenter J.W. Elsevier/Saunders; St. Louis: 2012. Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery.
Rao N., Song F., Jhamb D., Wang M., Milner D.J., Price N.M., Belecky-Adams T.L., Palakal M.J., Cameron J.A., Li B., Chen X., Stocum D.L. Proteomic analysis of fibroblastema formation in regenerating hind limbs of Xenopus laevis froglets and comparison to axolotl. BMC Dev. Biol. 2014;14:1–27.
Rappuoli R. Inner workings: 1885, the first rabies vaccination in humans. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2014;111:12273.
Ritchie B.W., Harrison G.J., Harrison L.R. Wingers Publishing; Lake Worth: 1994. Avian Medicine: Principles and Application.
Robbins T.W., Jones G.H., Wilkinson L.S. Behavioural and neurochemical effects of early social deprivation in the rat. J. Psychopharmacol. 1996;10:39–47.
Roberts A., Lamirande E.W., Vogel L., Baras B., Goossens G., Knott I., Chen J., Ward J.M., Vassilev V., Subbarao K. Immunogenicity and protective efficacy in mice and hamsters of a beta-propiolactone inactivated whole virus SARS-CoV vaccine. Viral Immunol. 2010;23:509–519.
Ronisz A., Delcroix M., Quarck R. Measurement of right ventricular pressure by telemetry in conscious moving rabbits. Lab. Anim. 2013;47:175–183.
Rosania K. Barn owls: why give a hoot? Lab. Anim. (NY) 2014;43:157.
Roy C.S. The form of the pulse-wave: as studied in the carotid of the rabbit. J. Physiol. 1879;2:66–90. 11.
Russell J.C., Proctor S.D. Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis. Cardiovasc. Pathol. 2006;15:318–330.
Russell L.D. Normal development of the testes. In: Mohr U., Dungworth D.L., Capen C.C., editors. Pathobiology of the Aging Rat. ILSI Press; Washington, DC: 1992.
Sandmeier P., Coutteel P. Management of canaries, finches, and mynahs. In: Harrison G.J., Lightfoot T.L., editors. vol. 2. Spix Publishing; Palm Beach: 2006. (Clinical Avian Medicine).
Santerre R.F., Wight T.N., Smith S.C., Brannigan D. Spontaneous atherosclerosis in pigeons. A model system for studying metabolic parameters associated with atherogenesis. Am. J. Pathol. 1972;67:1–22.
Scanes C.G. Elsevier; London: 2015. Sturke's Avian Physiology.
Scanes C.G., McNabb F.M.A. Avian models for research in toxicology and endocrine disruption. Avian Poult. Biol. Rev. 2003;14:21–52.
Schmidt M.F. An IACUC perspective on songbirds and their use in neurobiological research. ILAR J. 2010;51:424–430.
Schultz T.W., Dawson D.A. Housing and husbandry of Xenopus for oocyte production. Lab. Anim. (NY) 2003;32:34–39.
Scott B.B., Velho T.A., SIM S., LOIS C. Applications of avian transgenesis. ILAR J. 2010;51:353–361.
Seebacher F., Franklin C.E. Physiological mechanisms of thermoregulation in reptiles: a review. J. Comp. Physiol. B. 2005;175:533–541.
Seidl A.H., Sanchez J.T., Schecterson L., Tabor K.M., Wang Y., Kashima D.T., Poynter G., Huss D., Fraser S.E., Lansford R., Rubel E.W. Transgenic quail as a model for research in the avian nervous system: a comparative study of the auditory brainstem. J. Comp. Neurol. 2013;521:5–23.
Shanahan M., Bingman V.P., Shimizu T., Wild M., Gunturkun O. Large-scale network organization in the avian forebrain: a connectivity matrix and theoretical analysis. Front. Comput. Neurosci. 2013;7:1–17.
Sheafor B., Davidson E.W., Parr L., Rollins-Smith H.,L. Antimicrobial peptide defenses in the salamander, Ambystoma tigrinum, against emerging amphibian pathogens. J. Wildl. Dis. 2008;44:226–236.
Shiomi M., Ito T. The Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbit, its characteristics and history of development: a tribute to the late Dr. Yoshio Watanabe. Atherosclerosis. 2009;207:1–7.
Shiomi M., Ito T., Yamada S., Kawashima S., Fan J. Development of an animal model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMI rabbit) Arterioscler Thromb. Vasc. Biol. 2003;23:1239–1244.
Shofner W.P., Chaney M. Processing pitch in a nonhuman mammal (Chinchilla laniger) J. Comp. Psychol. 2013;127:142–153.
Small D.L., Buchman A.M. Animal models. Br. Med. Bull. 2000;56:307–317.
Smith G.D. Hamsters: taxonomy and history. In: Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P., editors. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. Academic Press; London: 2012.
Smith W.R. Abnormal arrangement of the right subclavian artery in a rabbit. J. Anat. Physiol. 1891;25:325–326.
Sohn J., Couto M.A. Anatomy, physiology, and behavior. In: Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P., editors. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. Academic Press; Boston: 2012.
Song Y., Lan Z., Kohn M.H. Mitochondrial DNA phylogeography of the Norway rat. PLoS One. 2014;9
Southard T.E., Southard K.A., Krizan K.E., Hillis S.L., Haller J.W., Keller J., Vannier M.W. Mandibular bone density and fractal dimension in rabbits with induced osteoporosis. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2000;89:244–249.
Spence R., Gerlach G., Lawrence C., Smith C. The behaviour and ecology of the zebrafish, Danio rerio. Biol. Rev. 2008;83:13–34.
Sriram S., Gibson D.J., Robinson P., Pi L., Tulil S., Lewin A.S., Schultz G. Assessment of anti-scarring therapies in ex vivo organ cultured rabbit corneas. Exp. Eye Res. 2014;125:173–182.
Suckow M.A., Brammer D.W., Rush H.G., Chrisp C.E. Biology and diseases of rabbits. In: Fox J.G., Anderson L.C., Loew F.M., Quimby F.W., editors. Laboratory Animal Medicine. second ed. Academic Press; Amsterdam: 2002.
Swindle M.M., Nolan T., Jacobson A., Wolf P., Dalton M.J., Smith A.C. Vascular access port (VAP) usage in large animal species. Contemp. Top. Lab. Anim. Sci. 2005;44:7–17.
Thomas D., Mayhew H. New York University Press; New York: 1998. The Victorian Underworld.
Tinsley H.R. Amphibians, with special reference to Xenopus. In: Hubrecht R., Kirkwood J., editors. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. eighth ed. Wiley-Blackwell; Ames: 2010.
Tully T.N., Dorrestein G.M., Jones A.K. second ed. Elsevier; Oxford: 2009. Handbook of Avian Medicine.
Tysome J.R., Li X., Wang S., Wang P., Gao D., Du P., Chen D., Gangeswaran R., Chard L.S., Yuan M., Alusi G., Lemoine N.R., Wang Y. A novel therapeutic regimen to eradicate established solid tumors with an effective induction of tumor-specific immunity. Clin. Cancer Res. 2012;18:6679–6689.

National Research Council, Research I of MC on the U of LA in B and B. Use of Laboratory Animals in Biomedical and Behavioral Research. Washington: National Academies Press (US); 1988.
Zurlo J, Rudacille D, Goldberg AM. Animals and Alternatives in Testing: History, Science, and Ethics. Mary Ann Liebert, Inc.; 1994.
Franco NH. Animal experiments in biomedical research: A historical perspective. Animals 2013. doi:10.3390/ani3010238.
Russel WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. London: Methuen; 1959.
National Centre for the Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs). The 3Rs 2018. https://www.nc3rs.org.uk/the-3rs#The 3Rs definitions.
Presgrave OAF. Alternativas para animais de laboratório: do animal ao computador. FIOCRUZ; 2002.
Marin TM, Pagani E. Sistemas microfisiológicos compostos por organoides humanos em dispositivos microfluídicos: avanços e desafios. Visa Em Debate 2018;6. doi:http://dx.doi.org/10.22239/2317-269x.01053.
Ullman-Cullere M.H., Foltz C.J. Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. Lab. Anim. Sci. 1999;49:319–323.
Van Bergeijk J.P., Van Herck H., De Boer S.F., Meijer G.W., Hesp A.P., Van Der Gugten J., Beynen A.C. Effects of group size and gentling on behaviour, selected organ masses and blood constituents in female Rivm: TOX rats. Z. Versuchstierkd. 1990;33:85–90.
Varga M. Elsevier Butterworth Heinemann; Edinburgh: 2014. Textbook of Rabbit Medicine.
Verga M., Luzi F., Carenzi C. Effects of husbandry and management systems on physiology and behaviour of farmed and laboratory rabbits. Horm. Behav. 2007;52:122–129.
Vitt L.J., Caldwell J.P. Academic Press; Amsterdam: 2014. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles.
Wahl-Jensen V., Bollinger L., Safronetz D., De Kok-Mercado F., Scott D.P., Ebihara H. Use of the Syrian hamster as a new model of ebola virus disease and other viral hemorrhagic fevers. Viruses. 2012;4:3754–3784.
Wei C., Zhu M., Petroll W.M., Robertson D.M. Pseudomonas aeruginosa infectious keratitis in a high oxygen transmissible rigid contact lens rabbit model. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2014;55:5890–5899.
Whishaw I.Q., Kolb B. Oxford University Press; Oxford: 2005. The Behavior of the Laboratory Rat: A Handbook With Tests.
Wilson C. Aspects of larval rearing. ILAR J. 2012;53:169–178.
Wooding F.B.P., Burton G. Springer; Berlin: 2008. Comparative Placentation: Structures, Functions and Evolution.
Wright K.M., Whitaker B.R. Krieger Publishing; Malabar: 2001. Amphibian Medicine and Captive Husbandry.
Xiangdong L., Yuanwu L., Hua Z., Liming R., Qiuyan L., Ning L. Animal models for the atherosclerosis research: a review. Protein Cell. 2011;2:189–201.
Zhou Q., Liu X.Y., Ruan Y.X., Wang L., Jiang M.M., Wu J., Chen J. Construction of corneal epithelium with human amniotic epithelial cells and repair of limbal deficiency in rabbit models. Hum. Cell. 2014;28:22–36.
Zinsser H. George Rutledge & Sons; London: 1935. Rats, Lice, and History.

Publicações

ASHRAE Handbook—HVAC Applications, Chapter 16 *Laboratories*

ARS Facilities Design Standards Manual ARS 242.1M by U.S. Department of Agriculture, Research Education and Economics.

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition by U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health

Guide for the Care and Use of Laboratory Animals by the Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, NRC

USDA Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)—APHIS is responsible for vivarium facilities under the U.S. Code of Federal Regulations.

American Association for Laboratory Animal Science (AALAS)

Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC)—AAALAC is the most globally oriented and most widely known organization of animal research professionals. It promotes the humane treatment of animals in science through a voluntary accreditation program.

Institute for Laboratory Animal Research (ILAR)

Scientific Equipment and Furniture Association (SEFA)

Building Type Basics for Research Laboratories, 2nd Edition by Watch, D. NY,John Wiley & Sons, Inc., 2008. ISBN# 978-0-470-16333-7.

Guide for the Care and Use of Laboratory Animals by the Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council. National Academy Press, Washington, D.C. 1996.

ILAR Journal—The quarterly, peer-reviewed publication of the Institute for Laboratory Animal Research.