

DENNIS ALBERT ZANATTO

**Métodos substitutivos ao uso de animais vivos no ensino de
graduação em medicina veterinária:
procedimentos em roedores de laboratório**



São Paulo

2018

DENNIS ALBERT ZANATTO

**Métodos substitutivos ao uso de animais vivos no ensino de
graduação em medicina veterinária:
procedimentos em roedores de laboratório**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Departamento de Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Profa. Dra. Claudia Madalena Cabrera
Mori

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3717 FMVZ	Zanatto, Dennis Albert Métodos substitutivos ao uso de animais vivos no ensino de graduação em medicina veterinária: procedimentos em roedores de laboratório / Dennis Albert Zanatto. – 2018. 105 f. : il. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2018. Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada. Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada. Orientadora: Profa. Dra. Claudia Madalena Cabrera Mori. 1. Animais de laboratório. 2. Ratos. 3. Alternativas no ensino. 4. Gravação de vídeos. 5. Procedimentos em animais. I. Título.
-----------------	---

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

Certificado da Comissão de Ética

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "MÉTODOS SUBSTITUTIVOS AO USO DE ANIMAIS VIVOS NO ENSINO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA: PROCEDIMENTOS EM ROEDORES DE LABORATÓRIO", protocolada sob o CEUA nº 4245090117 (ID 003214), sob a responsabilidade de **Cláudia Madalena Cabrera Mori** e equipe; *Dennis Albert Zanatto* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 01/02/2017.

We certify that the proposal "SUBSTITUTE METHODS TO LIVING ANIMAL IN UNDERGRADUATE EDUCATION IN VETERINARY MEDICINE: PROCEDURES IN LABORATORY RODENTS", utilizing 10 Heterogenics rats (males and females), protocol number CEUA 4245090117 (ID 003214), under the responsibility of **Cláudia Madalena Cabrera Mori and team; Dennis Albert Zanatto** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/01/2017.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de 02/2017 a 02/2019 Área: Patologia Experimental E Comparada

Origem: [Biotério do Departamento de Patologia da FMVZ USP](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#) sexo: Machos e Fêmeas idade: 60 a 180 dias N: 10

Linagem: [Wistar](#) Peso: 180 a 450 g

Local do experimento: Laboratório de Modelos animais do Departamento de Patologia da FMVZ USP

São Paulo, 19 de outubro de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ZANATTO, Dennis Albert

Título: **MÉTODOS SUBSTITUTIVOS AO USO DE ANIMAIS VIVOS NO ENSINO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA: PROCEDIMENTOS EM ROEDORES DE LABORATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os cientistas do mundo, especialmente aos brasileiros, que, mesmo enfrentando muitas dificuldades, teimam em continuar caminhando contra o fluxo comum, carregando o pesado fardo de levar o conhecimento adiante; são nestes guerreiros que me espelho.

AGRADECIMENTOS

É gratificante olhar para o passado e ver todo caminho que trilhei para alcançar esse trabalho e chegar até aqui, passa um filme na minha mente, valorizando cada momento e cada pessoa que participou destes momentos. Sou grato a todos que me proporcionaram amadurecimento científico e pessoal, assim como quem proporcionou bons momentos, sejam eles efêmeros ou eternos. Valorizo todos que passaram de alguma forma pelo meu caminho, quero deixar registrada aqui a minha sincera gratidão.

Agradeço primeiramente a minha mãe Edni de Souza Zanatto e meu pai Luiz Tunin Zanatto, que apesar de toda dificuldade que enfrentaram na vida, conseguiram mostrar para mim e para meu irmão que a educação é a característica mais importante na vida de um ser humano. Sempre digo uma frase do brilhante William Shakespeare: “A gratidão é o único tesouro dos humildes”.

Agradeço ao meu irmão Diego Albert Zanatto, que sempre me inspirou e motivou a continuar percorrendo o difícil caminho do conhecimento, saiba que o tenho como um amigo admirável.

A minha orientadora e amiga, Profa. Dra. Claudia Madalena Cabrera Mori, por ter me auxiliado sempre que necessário, me orientando verdadeiramente em todos os momentos, mas por principalmente por ter acreditado no meu potencial de trabalho.

Ao Prof. Dr. Paulo César Maiorka, por ser um excelente parceiro para se trabalhar, tendo me incentivado, apoiado e permitido que pudesse trilhar este caminho acadêmico.

A Profa. Dra. Silvana Lima Górnjak, por abrir meus olhos e incentivar meu ingresso no programa de pós-graduação, também por sempre dividir comigo suas idéias inovadoras.

A Profa. Dra. Helenice de Souza Spinosa, por corrigir meus relatórios departamentais e sempre trazer informações relevantes para a melhoria do projeto.

Ao Prof. Dr. Jose Luiz Catão Dias e à Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima, por apoiarem e permitirem que um funcionário do próprio departamento pudesse desenvolver um trabalho acadêmico concomitante às tarefas laboratoriais.

Agradeço ao Prof. Dr. Guilherme Andrade Marson, por além de ter sido meu professor durante a graduação em Química Ambiental, ainda continuou me auxiliando no mestrado, permitiu meu acesso às dependências de seu espaço e forneceu todo tipo de recurso necessário para a execução do projeto.

Ao Cezar Guizzo, técnico do LABIQ, que me ensinou muito sobre fotografia e uso de equipamentos, sendo sempre muito solícito e simpático.

A todo pessoal do biotério do IQ/FCF: Flavia de Moura, José Galeote Molero Leme de Oliveira, Renata Spalutto Fontes Prates Ong e Sylvania Meiry Peris Neves, que auxiliaram muito na técnica dos procedimentos, assim como na discussão e revisão do conteúdo, sendo todos sempre muito solícitos e competentes.

A Yasmin Ferreira de Araujo, bolsista do Programa Unificado de Bolsas da Pró-Reitoria de Graduação da USP, que me ajudou a tirar várias fotografias e sempre estava disponível para ajudar.

A Maria Aparecida Laet, funcionária da Biblioteca da FMVZ-USP por ter me ajudado a corrigir e normalizar minha tese, sempre de forma excelente.

Agradeço ao super casal Leonardo Pereira Mesquita e Laís Limeira Rodrigues, que me ajudam a entender desde a estrutura de um artigo científico até a qualidade do café que tomamos para ficar acordado trabalhando.

Aos queridos companheiros e amigos do laboratório Danilo Wadt , Mariana Aranha, Pedro Kenzo Yamamoto e Rafael Carneiro Costa, que sempre trouxeram bom humor e companheirismo no trabalho.

Aos profissionais amigos do departamento de patologia: Adriana Silveira Margarido, Milena Oliveira, Edson Luiz de Souza, Herculano Pinho Pereira, Nicolle Q. Hazarbassanov, Vagner Gonçalves Junior, Magali Caetano de Souza, Jorge Oyakawa, Luciana Ahlf Bandini, Mauro de Mattos, Nelson da Silva Filho, Mauricio de Faria, Luciana Neves Torres e Marta Brito Guimarães, que dividem comigo as tarefas do departamento e contribuíram de várias formas no trabalho e no dia-a-dia.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Finalmente, agradeço de coração a todos os que passaram e passarão pelo meu caminho, que sempre deixam um pouco de si, me transformando pouco a pouco em alguém melhor.

*“Only when the last tree has been cut down, the last fish been caught,
and the last stream poisoned, will we realize we cannot eat money.”*

~ Cree Indian Prophecy

RESUMO

ZANATTO, D. A. **Métodos substitutivos ao uso de animais vivos no ensino de graduação em medicina veterinária:** procedimentos em roedores de laboratório. 2018. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Seguindo uma tendência internacional, o uso de animais no ensino tem sido progressivamente substituído por alternativas, tais como programas de computador, manequins, simuladores, vídeos e atendimento de casos clínicos de rotina. Em consonância com a legislação vigente e em resposta a uma demanda crescente, por parte de alunos e professores, a combinação de tais métodos pode melhor atender aos objetivos de ensino, reduzir custos e evitar o impacto pedagógico e social negativo da experimentação animal. O presente trabalho teve como objetivo propor e avaliar uma alternativa ao método tradicional de ensino de procedimentos com animais de laboratório, através da produção de material didático completo e cientificamente correto, com a finalidade de ser utilizado como parte do programa de ensino da disciplina de Animais de Laboratório do curso de medicina veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. O material didático demonstrando a execução dos principais procedimentos experimentais em ratos de laboratório foi produzido em mídia digital com filmes e imagens, que por sua vez foi hospedado no portal Boas Práticas em Experimentação Animal (BPEA), localizado no endereço <http://www.bpeanimal.iq.usp.br>, alberga os vídeos, assim como materiais complementares sobre cada procedimento. Foram capturados os principais procedimentos de manipulação e contenção de ratos de laboratório, assim como as vias de administração de substâncias, sendo elas oral (gavagem), injeções intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutânea e intradérmica. Também foram capturadas as vias e técnicas de coleta de sangue, sendo elas: veia lateral da cauda, veia safena, veia gengival e punção intracardíaca. Ainda foi demonstrada a técnica anestésica de bloqueio do nervo ciático. O conteúdo foi disponibilizado para acesso via internet e utilizado como recurso didático na disciplina de Animais de Laboratório. Desta forma, o presente trabalho atende à normativa do CONCEA, que

regulamenta o uso de animais no ensino. A metodologia foi muito bem recebida, e evita tanto o estresse desnecessário do estudante quanto do animal durante um procedimento corriqueiro, resultando em melhor assimilação do conteúdo, comprovada pelo bom desempenho dos alunos. Atendendo às pressões econômicas nas universidades, o método proposto representa uma economia financeira substancial em relação ao uso de animais vivos. Conclui-se que este trabalho desenvolveu uma nova metodologia alternativa ao uso de animais vivos em ensino. Todo conteúdo produzido foi postado no portal BPEA, estando já disponível para acesso dos alunos de graduação, com a finalidade de promover conteúdo educacional, proporcionando um legado inédito para o ensino em medicina veterinária no Brasil.

Palavras-chave: Animais de laboratório. Ratos. Alternativas no ensino. Gravação de vídeos. Procedimentos em animais.

ABSTRACT

ZANATTO, D. A. **Substitutive methods for live animals use in the veterinary medicine education:** procedures on laboratory rodents. 2018. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Following an international trend, the animals use in education has been replaced by alternatives such as computer programs, mannequins, simulators, videos and routine clinical case management. According to current legislation and in response to the growing demand from students and professors, alternative methods can better achieve educational objectives, reduce costs, and avoid the negative pedagogical and social impact of animal research. The present study aimed to propose and evaluate an alternative method for the traditional teaching of procedures on laboratory animals. For this purpose, a complete teaching content with scientific basis was produced to be used as part of the Laboratory Animal Science course for the undergraduate students at Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. The content demonstrating how to perform the main experimental procedures on laboratory rats was produced in digital media, including videos and images, which were hosted in Good Practice in Animal Experimentation Portal (BPEA) (<http://www.bpeanimal.iq.usp.br>). The main handling and restrain techniques of laboratory rats, and drug administration procedures, through different routes, such as oral (gavage), intramuscular, intraperitoneal, intravenous, subcutaneous and intradermal were performed. The blood collection routes and techniques were also recorded, as follows: lateral tail vein, saphenous vein, gingival vein and intracardiac puncture. The sciatic nerve anesthetic blocking technique was also been demonstrated. The content was available online in the BPEA portal, and used as a teaching content for the Laboratory Animals Science course. Thus, the present study complies with the National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA) regulations, which regulates animals use in education, resulting in better assimilation of content, as evidenced by the good performance of the students. The method was well received by the veterinary students, and could avoid both students and animals stress during a routine procedure. Attending to the economic pressures

of the government in the universities, the method proposed here provides a substantial financial saving when compared to living animals use. In conclusion, this study developed a new alternative methodology for the use of living animals. All content produced was posted in BPEA portal, being available for veterinary students, providing an unprecedented legacy for teaching of veterinary science in Brazil.

Keywords: Laboratory animals. Rats. Teaching alternatives. Video recording. Animal procedures.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração da organização e estrutura do estúdio fotográfico do IQ	35
Figura 2 – Parâmetros e enquadramento da captura da imagem em foco	36
Figura 3 – Câmera Canon EOS 7D utilizada nas filmagens.....	36
Figura 4 – <i>Screenshots</i> da plataforma de gerenciamento do portal, ilustrando a edição de páginas e gerenciamento do menu de tópicos	39
Figura 5 – Ilustração do modelo de rato de borracha (KOKEN Rat LM-046A) utilizado para definição de parâmetros de imagem	41
Figura 6 – Fotografia do teste de comportamento animal trave elevada, capturada em janeiro de 2017, antes do início do projeto.....	44
Figura 7 – Fotografia sem tratamento do teste de comportamento animal trave elevada, capturada em março de 2017	45
Figura 8 – Imagem ilustrativa do teste de comportamento animal trave elevada, editada a partir da Figura 7, com intuito de exemplificar a melhoria de qualidade de imagem	45
Figura 9 – Agulhas e seus respectivos calibres	47
Figura 10 – Cânulas rígidas de diferentes tamanhos para gavagem	47
Figura 11 – Seringas de 0,5; 1, 3 e 5 mL	48
Figura 12 – Seringa de dentista	48
Figura 13 – Material para assepsia: (A) Algodão, (B) Pisseta com álcool etílico 70%	48
Figura 14 – Material para tricotomia: (A) creme depilatório, (B) máquina de cortar pelos.....	49
Figura 15 – Luva de procedimento.....	49

Figura 16 – Material para contenção dos ratos: (A) pano, (B) fecho aramado e saco plástico.....	49
Figura 17 – Caixa para descarte de material perfurocortante	50
Figura 18 – Gaiola para ratos.....	50
Figura 19 – Bandeja de inox para organização de materiais	51
Figura 20 – Placa de parafina para apoio	51
Figura 21 – Imagens do vídeo da técnica de contenção de ratos: manipulação e troca de gaiola	54
Figura 22 – Imagens do vídeo da técnica I de contenção de ratos: para realização de procedimentos.....	55
Figura 23 – Imagens do vídeo da técnica II de contenção de ratos: para realização de procedimentos.....	56
Figura 24 – Imagens do vídeo da técnica III de contenção de ratos: para realização de procedimentos.....	57
Figura 25 – Imagens do vídeo da técnica IV de contenção de ratos: imobilização com saco plástico	58
Figura 26 – Imagens do vídeo da técnica V de contenção de ratos: imobilização com tecido.....	59
Figura 27 – Imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue: veias laterais da cauda	61
Figura 28 – Imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue: intravenosa utilizando a veia gengival	62
Figura 29 – Imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue: intravenosa utilizando a veia safena.....	63

Figura 30 – Imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue: intravenosa utilizando a veia jugular	64
Figura 31 – Imagens do vídeo da Coleta de sangue: punção intracardíaca para coleta de grandes quantidades de sangue.....	65
Figura 32 – Imagens do vídeo da administração de substâncias: via oral (gavagem)	71
Figura 33 – Imagens do vídeo da administração de substâncias: injeção intraperitoneal.....	72
Figura 34 – Imagem ilustrativa de angulação correta para a administração de substâncias por Injeção Intraperitoneal.....	73
Figura 35 – Imagens do vídeo da administração de substâncias: injeção intramuscular.....	74
Figura 36 – Imagem ilustrativa de angulação correta para a administração de substâncias por injeção intramuscular	74
Figura 37 – Imagens do vídeo da administração de substâncias: injeção subcutânea I.....	75
Figura 38 – Imagem ilustrativa de angulação correta para a administração de substâncias por injeção subcutânea	76
Figura 39 – Imagens do vídeo da administração de substâncias: injeção subcutânea II.....	77
Figura 40 – Imagens do vídeo da administração de substâncias: injeção intradérmica.....	78
Figura 41 – Imagem ilustrativa de angulação correta para a administração de substâncias por injeção intradérmica	78
Figura 42 – Imagens do vídeo da anestesia local do membro pélvico (bloqueio do nervo ciático)	79

Figura 43 – *QR code* para acesso do portal BPEA80

Figura 44 – *Screenshot* da página principal do portal BPEA..... 81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Composição da equipe de trabalho e suas principais contribuições	42
Quadro 2 – Vias de administração de substâncias e volumes máximos recomendados.....	52
Quadro 3 – Volume máximo de sangue recomendado para coleta sequencial em um mesmo animal e intervalo para recuperação.....	52
Quadro 4 – Impacto da via de administração no bem-estar animal	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BPEA	Boas Práticas em Experimentação Animal
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
DBCA	Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FCF	Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
g	Gramas
ID	Via intradérmica
IM	Via intramuscular
IME	Instituto de Matemática e Estatística da USP
InterNICHE	Rede Internacional de Educação Humanitária
IP	Via intraperitoneal
IQ	Instituto de Química da USP
IV	Via intravenosa
LABIQ	Laboratório Integrado de Química e Bioquímica
M	Contenção manual durante o período de administração
mL	Mililitros
POP	Procedimento Operacional Padrão
R	Doses repetidas
SC	Via subcutânea
SPF	<i>Specific Pathogen Free</i>
U	Dose única
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVO GERAL	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1	ESTABELECIMENTO DE PARCERIA COM O IQ	34
3.2	ESTÚDIO FOTOGRÁFICO DO IQ	34
3.2.1	CÂMERAS E CAPTURA	35
3.2.2	ILUMINAÇÃO	36
3.2.3	FIGURINO E CENÁRIO	37
3.3	PORTAL BPEA	37
3.3.1	CONTEÚDO	38
3.3.2	ORGANIZAÇÃO E CONTEÚDO DO PORTAL BPEA	38
3.3.3	MANUTENÇÃO DO PORTAL	39
3.4	SOFTWARES E EDIÇÃO	40
3.4.1	COMPACTAÇÃO DOS VÍDEOS	40
3.5	ANIMAIS	40
3.6	EQUIPE	42
3.7	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	42
4	RESULTADOS	44
4.1	DEFINIÇÃO DE REFERÊNCIAS DOS PROCEDIMENTOS	46
4.2	MATERIAIS E INSTRUMENTOS	47
4.3	MANIPULAÇÃO E CONTENÇÃO DE RATOS DE LABORATÓRIO	51
4.4	ESTERILIDADE E ASSEPSIA	53
4.5	A CONCENTRAÇÃO E O VOLUME DA DOSE ADMINISTRADA	53
4.6	MANIPULAÇÃO E TROCA DE GAIOLA	53
4.6.1	TÉCNICA DE CONTENÇÃO DE RATOS: MANIPULAÇÃO E TROCA DE GAIOLA	54

4.6.2	<i>TÉCNICA I DE CONTENÇÃO DE RATOS: PARA REALIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS</i>	55
4.6.3	<i>TÉCNICA II DE CONTENÇÃO DE RATOS: PARA REALIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS</i>	56
4.6.4	<i>TÉCNICA III DE CONTENÇÃO DE RATOS: PARA REALIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS</i>	56
4.6.5	<i>TÉCNICA IV DE CONTENÇÃO DE RATOS: IMOBILIZAÇÃO COM SACO PLÁSTICO</i>	57
4.6.6	<i>TÉCNICA V DE CONTENÇÃO DE RATOS: IMOBILIZAÇÃO COM TECIDO</i>	58
4.7	COLETA DE SANGUE	59
4.7.1	<i>TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE: VEIAS LATERAIS DA CAUDA</i>	60
4.7.2	<i>TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE: INTRAVENOSA UTILIZANDO A VEIA GENGIVAL</i>	61
4.7.3	<i>TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE - INTRAVENOSA UTILIZANDO A VEIA SAFENA</i>	62
4.7.4	<i>TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE - INTRAVENOSA UTILIZANDO A VEIA JUGULAR</i>	63
4.7.5	<i>COLETA DE SANGUE: PUNÇÃO INTRACARDÍACA - PARA COLETA DE GRANDES VOLUMES DE SANGUE</i>	64
4.8	ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS	65
4.8.1	<i>PLANEJAMENTO</i>	66
4.8.2	<i>EQUIPE DE TRABALHO</i>	70
4.8.3	<i>ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: VIA ORAL (GAVAGEM)</i>	70
4.8.4	<i>ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO INTRAPERITONEAL</i>	71
4.8.5	<i>ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO INTRAMUSCULAR</i>	73
4.8.6	<i>ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO SUBCUTÂNEA I</i>	74
4.8.7	<i>ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO SUBCUTÂNEA II</i>	76
4.8.8	<i>ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO INTRADÉRMICA</i>	77
4.9	TÉCNICAS ANESTÉSICAS: BLOQUEIO DO NERVO CIÁTICO (ANESTESIA LOCAL DO MEMBRO PÉLVICO)	78
4.10	ACESSO AO PORTAL LABIQ – BPEA	80
5	DISCUSSÃO	83
6	CONCLUSÕES	91
	REFERÊNCIAS	94

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

A origem dos conceitos sobre métodos alternativos e substitutivos ao uso de animais advém de discussões da década de 1950, acompanhada do impacto das mudanças conceituais da sociedade nas décadas de 1960 e 1970, culminou em controles mais rigorosos no âmbito da experimentação animal a partir da década de 1980, com base no princípio dos 3Rs, advindos do inglês: *reduction* - redução, *refinement* - refinamento e *replacement* – substituição (RUSSELL; BURCH, 1959).

Em primeira instância, no ano de 1959, Russel e Burch apresentaram o princípio dos 3Rs baseando-se nas tecnologias e conhecimentos existentes na época, na qual o conceito de redução se definiu como a busca estratégica durante o delineamento experimental com objetivo de diminuir a quantidade absoluta de animais em um dado experimento sem a perda de significância e robustez dos dados, baseando-se em análises mais apuradas e fidedignas quanto aos dados estatísticos, maior atenção e controle das possíveis adversidades experimentais e ambientais, ocasionando menor variação da coleta de informações (BALLS, 2009).

Fundamentalmente, o princípio de refinamento baseia-se no extensivo treinamento e na escolha de procedimentos primando pelo bem-estar, resultando e desenvolvendo procedimentos que causem o menor *stress* possível ao animal. É também imprescindível a escolha de espécies compatíveis com os objetivos do experimento; ainda neste âmbito, o conceito de substituição destes animais advém, sempre que possível, do desenvolvimento de outra metodologia igualmente robusta para mitigar ou eliminar o uso de animais vivos, como exemplo, contextualizado na época da publicação dos primeiros trabalhos demonstrando o ensejo de aplicar os 3Rs, em 1959, eram sugeridos procedimentos em cultura de células, experimentos com microorganismos com metabolismos análogos e substituições parciais dos animais (RUSSELL; BURCH, 1959).

Apesar desses conceitos terem sido bastante discutidos ao longo dos anos, pesquisadores e educadores de diferentes países ainda empenham esforços no sentido de superar as barreiras existentes para a aceitação efetiva de alternativas de substituição, que atualmente podem limitar as contribuições que esses métodos seriam capazes de proporcionar para a ciência biomédica com melhor qualidade e de forma mais humanitária, ou seja, tendo como objetivo o bem-estar de outrem (BALLS, 1994).

A contribuição da experimentação animal para os conhecimentos atuais na pesquisa biomédica é de indubitável valor; mesmo assim, a real aplicação de modelos animais ainda está em constante e incessante debate. Nesse sentido, a Ciência de Animais de Laboratório propicia uma abordagem multi e interdisciplinar para experimentação animal de forma humanitária, que permite a escolha do modelo animal mais adequado e, conseqüentemente, a obtenção de resultados fidedignos, confiáveis e reprodutíveis (FORNI, 2007). Atualmente, o princípio dos 3Rs é amplamente aceito e exerce uma grande influência sobre os procedimentos de experimentação animal, passando por aprimoramentos advindos de discussões que refletem a pressão social e científica. Ambientando-se em dias atuais, o conceito de refinamento prima por qualquer ação voltada para a diminuição na incidência ou severidade dos procedimentos realizados em animais, atualmente foi ampliado para abranger toda a vida dos animais experimentais, incluindo condições de alojamento e manejo. A redução do número de animais utilizados para obter dados estatisticamente significativos pode ser obtida melhorando a concepção experimental e a análise estatística dos dados com novas ferramentas; e ainda a substituição refere-se ao desenvolvimento de métodos alternativos validados (BALLS, 1994; FORNI, 2007).

A escolha do modelo animal mais apropriado, um delineamento experimental acurado, a correta e eficiente análise estatística dos dados, o reconhecimento das necessidades etológicas espécie-específicas, o reconhecimento e tratamento da dor, a anestesia bem eleita e aplicada, e a eutanásia humanitária são todas as etapas de grande importância para a realização de experimentos bem sucedidos com animais. Todas as pessoas que realizam, participam, ou supervisionam os procedimentos experimentais em animais, bem como aqueles que cuidam deles, devem ter recebido treinamento e formação adequadas e completas. Desta forma, um programa de treinamento voltado à Ciência de Animais de Laboratório pode promover a prática dos 3Rs e melhorar o bem-estar de animais de laboratório, bem como a qualidade da ciência com benefícios éticos, científicos e econômicos (FORNI, 2007).

Atualmente, cursos de ensino superior em ciências biomédicas normalmente usam uma variedade de abordagens de ensino e aprendizagem, como palestras, seminários, tutoriais, estudos dirigidos e aulas práticas de laboratório. Em disciplinas como farmacologia, fisiologia e anatomia, muitas aulas práticas envolvem o uso de

animais e de tecidos advindos de animais vivos. Os objetivos dessas aulas podem incluir: a) aprender e praticar habilidades de laboratório, incluindo competências genéricas, habilidades de manuseio de animais de laboratório e habilidades cirúrgicas e de dissecação; b) aquisição de novos conhecimentos factuais e o reforço do conhecimento factual existente; c) aprender e praticar habilidades de avaliação de dados (tomando medidas, gravação, apresentação de dados, análise e habilidades de interpretação); d) aprender e praticar as habilidades de comunicação oral e escrita; e e) o desenvolvimento de atitudes responsáveis em relação à experimentação animal. Claramente, esses objetivos são de suma importância na formação profissional, e qualquer método alternativo de ensino deve cumprir tais objetivos tão bem quanto uma abordagem tradicional com o uso de animais vivos (VALK et al., 1999).

Até a década de 1970, o uso terminal de animais na educação em ciências biológicas era um procedimento rotineiro. Em meados dos anos 80, no entanto, objeções ao uso de animais para tal propósito começaram a surgir, refletindo a mudança geral nas atitudes sociais em relação aos animais. A medicina veterinária aparece no centro desse debate desde o início, com um número crescente de faculdades de medicina veterinária eliminando, reduzindo, modificando ou substituindo aulas práticas que envolvessem sofrimento ou eutanásia de animais (PATRONEK; RAUCH, 2007).

Seguindo uma tendência internacional, o uso de animais no ensino de graduação tem sido progressivamente substituído por alternativas, tais como programas de computador, manequins e simuladores, cadáveres de animais obtidos de maneira ética e atividades relacionadas ao atendimento de casos clínicos de rotina. A combinação de tais alternativas pode atender melhor os objetivos de ensino, reduzir custos e evitar o impacto pedagógico e social negativo da experimentação animal (MARTINSEN; JUKES, 2005).

Em uma revisão de literatura abrangendo 17 estudos que avaliaram os resultados dos métodos tradicionais de ensino com animais vivos versus os métodos alternativos, no período entre 1966 e 2004, os autores identificaram que o método alternativo produziu resultados semelhantes ou superiores aos resultados obtidos com o método convencional de ensino (PATRONEK; RAUCH, 2007).

A atual Rede Internacional de Educação Humanitária (InterNICHE) foi criada em 1988 como EuroNICHE¹, e, posteriormente, transformada em uma rede mundial no ano 2000. Contemporaneamente, a InterNICHE é uma das principais instituições internacionais que, empenhada em substituir o uso de animais no ensino, também apoia o direito dos estudantes à objeção de consciência. Em 2008, a rede organizou uma série de seminários em países da América Latina, incluindo o Brasil, com o intuito de abordar e catalisar a substituição do uso prejudicial de animais na educação e no ensino. Esse encontro incluiu a Faculdade de Medicina do ABC, em São Paulo (Brasil), pela substituição de experimentos com animais em educação médica; e a FMVZ da USP, pela preservação e uso de cadáveres de origem ética para desenvolvimento de habilidades em cirurgia (JUKES, 2009).

A educação humanitária e o debate sobre alternativas ao uso de animais no ensino superior é uma questão relativamente recente no Brasil. Somente em 2008 foi aprovada a lei 11.794 que cria o Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)² e regulamenta o uso de animais no ensino e pesquisa. Apesar dos esforços em mapear o uso de animais no ensino, ainda não existem dados disponíveis suficientes em nosso país. Isso contrasta com a situação dos países Europeus, nos quais apenas 1,5% do total de animais utilizados na ciência são destinados ao ensino (BACHINSKI et al., 2015). Desta forma, os métodos alternativos surgem em resposta a uma demanda crescente, por parte de alunos e professores, com o objetivo de melhorar a qualidade da educação e assegurar que animais não sejam utilizados de forma funesta (MAGALHÃES; ORTÊNCIO FILHO, 2006).

Em 2014, um grupo acadêmico brasileiro criou a Rede Brasileira de Educação Humanitária (RedEH), com o objetivo de representar nacionalmente o assunto, reunindo indivíduos que pensam da mesma forma, e ainda fortalecendo os avanços para a implementação de abordagens de ensino e aprendizagem mais igualitárias. Neste mesmo momento, foi enviado um documento ao CONCEA peticionando pelo fim do uso nocivo de animais no ensino profissional e superior, dando exemplos positivos aplicados no Brasil, demonstrando projetos de universidades ao longo de todo território nacional, incluindo a FMVZ/USP com a técnica de preservação de cadáveres, para treinamento de procedimentos cirúrgicos, desenvolvida pela equipe coordenada pela professora Julia Matera (BACHINSKI et al., 2017).

¹ InterNICHE - www.interniche.org

² CONCEA - http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/111794.htm

Procedimentos rotineiros relativamente simples, como a manipulação e a contenção, podem ser estressantes e oferecer riscos diversos para os animais de laboratório e para o indivíduo, quando realizados de forma inadequada e por pessoas não treinadas (COMMITTEE FOR THE UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS, 2011).

Durante a execução de procedimentos laboratoriais é importante paramentar-se com vestuário de proteção adequado. O operador deve executar os procedimentos laboratoriais utilizando luvas de procedimento e jaleco, ambos aparatos garantem a proteção do operador contra perigos, como alérgenos, e protege o animal de transferência inadvertida de agentes potencialmente infecciosos. Deve-se sempre seguir o procedimento operacional padrão (POP) do laboratório ou local de trabalho, e garantir que os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) sejam utilizados durante os procedimentos com animais de laboratório (BOGDANSKE et al., 2015).

Além do mais, administrar substâncias, por qualquer motivo, pode ter um impacto significativo sobre o bem-estar animal. Se as técnicas forem realizadas de forma incorreta, além de comprometer o bem-estar animal, podem também influenciar nos objetivos científicos do estudo, proporcionando inconsistência nos dados obtidos. Os procedimentos utilizados na administração de substâncias aos animais podem ter ainda influência negativa sobre o valor científico dos resultados. Por outro lado, refinando-se os procedimentos de contenção e de administração de substâncias, tanto o bem-estar animal como a qualidade dos dados experimentais são mantidos. Os benefícios do bem-estar são amplamente reconhecidos, enquanto os benefícios científicos resultam de uma maior precisão dos dados obtidos quando os experimentos são preparados mais cuidadosamente, usando animais menos estressados, ou seja, em uma condição mais próxima da normalidade comportamental (MORTON et al., 2001).

Somando a esses fatos à tendência mundialmente difundida de aprimorar os métodos alternativos, identificamos a necessidade de desenvolver novas estratégias para o ensino de graduação em Animais de Laboratório do curso de medicina veterinária oferecido pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP).

Ademais, segundo a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), publicada em 2013 pelo CONCEA,

“os animais utilizados para propósitos didáticos deverão ter como objetivo a demonstração de princípios já estabelecidos ou para o treinamento de estudantes em técnicas e habilidades pertinentes a sua área de atuação profissional. O uso de animais nesse contexto só se justifica com base em métodos e objetivos educacionais nos quais: (a) comprovadamente não existam alternativas de substituição; e (b) quando as alternativas possíveis levarem à perda de qualidade na transmissão do conhecimento”.

Consolidando esse propósito, fundamentou-se recentemente na resolução normativa de número 38 do CONCEA, de 17 de abril de 2018, versando sobre o controle de experimentação animal, determina em seu artigo primeiro que “Fica proibido o uso de animais em atividades didáticas demonstrativas e observacionais que não objetivem desenvolver habilidades psicomotoras e competências dos discentes envolvidos.” E ainda complementa no artigo segundo que “[...] as atividades didáticas que utilizem animais referenciados no art. 1º deverão ser integralmente substituídas por vídeos, modelos computacionais, ou outros recursos providos de conteúdo e de qualidade suficientes para manter ou para aprimorar as condições de aprendizado”.

A partir da data de publicação desta resolução normativa, todas as instituições de ensino têm o prazo de doze meses para se adequar à legislação, ou seja, no dia 17 de abril de 2019. Esse é o contexto em que este trabalho está inserido, estando ele voltado para o atendimento da obrigação legal determinada pelo CONCEA, dentro do período definido pela legislação citada.

Apesar de uma vasta literatura internacional sobre procedimentos em animais de laboratório, no Brasil existem poucas publicações que abordam os cuidados e manejo das diferentes espécies de uma forma geral, como por exemplo, as publicações *Animais de Laboratório: criação e experimentação*, de Andrade (2002), *Cuidados e manejo de animais de laboratório*, de Lapchick (2017) e o e-book disponível do *Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação*³ da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e IQ da USP (FCF-IQ). No entanto, ainda não temos disponível material didático nacional completo, no formato de vídeo, que enfoque especificamente os procedimentos de contenção, vias de administração de substâncias e coleta de sangue em roedores de laboratório, que compile e represente o atual conhecimento dos professores da área de Animais de Laboratório contextualizado na realidade

³ <http://www.livrosabertos.sibi.usp.br/portaldelivrosUSP/catalog/view/46/39/179-1>

nacional, que assim possa ser utilizado como parte da formação em cursos de nível superior, em substituição ao uso de animais vivos.

Nesse sentido, o presente trabalho propõe desenvolver material didático e de apoio em formato de vídeos e texto, inseridos dentro de uma plataforma dinâmica online, abordando os principais procedimentos utilizados em ratos de laboratório. Esse material será disponibilizado aos estudantes de graduação da disciplina de Animais de Laboratório do curso de medicina veterinária da FMVZ/USP, através do portal Boas Práticas em Experimentação Animal (BPEA)⁴, que é um recurso inserido dentro da plataforma Laboratório Integrado de Química e Bioquímica (LABIQ)⁵, visando estimular e motivar o aprendizado de técnicas de contenção, administração de substâncias e coleta de sangue em ratos de laboratório.

⁴ <http://bpeanimal.iq.usp.br/>

⁵ LABIQ - <http://labiq.iq.usp.br/>

2 Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

2.2

O presente trabalho teve como objetivo propor uma alternativa ao método tradicional de ensino de procedimentos com animais de laboratório, através da produção de material didático completo e cientificamente correto, com a finalidade de ser utilizado como parte do programa de ensino da disciplina de Criação de Animais de Laboratório do curso de medicina veterinária da FMVZ/USP. Inicialmente a proposta abordou as principais técnicas utilizadas para contenção, administração de substâncias e coleta de sangue em ratos de laboratório, por se tratar de uma das espécies mais utilizadas em experimentação animal. Posteriormente, através do conhecimento adquirido com o desenvolvimento do conteúdo didático, objetivou-se expandir as técnicas abordadas, assim como avaliar a efetividade do emprego do conteúdo no ensino para os alunos de graduação, almejando aprimorar a qualidade da metodologia de ensino.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.4

Para atingir o objetivo geral deste projeto, devemos compartimentalizar e determinar etapas distintas e concatenadas que seguem:

- 1) Desenvolver metodologia para a captura, produção e edição de vídeos de alta qualidade;
- 2) Produção de vídeos editados, com alta resolução, demonstrando os diversos procedimentos em ratos de laboratório:
 - a. as principais técnicas utilizadas para a contenção: manipulação e troca de gaiola; contenção I, II e III; imobilização com saco plástico e imobilização com tecido;
 - b. os principais acessos e técnicas para coleta de sangue: veias laterais da cauda; veia gengival; veia safena; veia jugular e punção cardíaca;

- c. as principais vias de administração de substâncias: via oral (gavagem); injeção intraperitoneal (IP); injeção intramuscular (IM); injeção subcutânea I e II (SC) e injeção intradérmica (ID);
 - d. uma das principais técnicas anestésicas locais para realização do teste de edema de pata: bloqueio do nervo ciático, ou seja, a anestesia local do membro pélvico.
- 3) Elaboração de tutoriais em formato de Procedimentos Operacionais Padrão (POP) descrevendo detalhadamente cada um dos procedimentos detalhadamente.
 - 4) Criação e manutenção do portal BPEA (Boas Práticas em Experimentação Animal), inserido dentro da plataforma LABIQ, que albergará os vídeos editados, tutoriais, referências, e materiais complementares sobre cada procedimento e tópico abordado.

3 Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ESTABELECIMENTO DE PARCERIA COM O IQ

Oficializou-se a colaboração com o Prof. Dr. Guilherme Andrade Marson, do Departamento de Química Fundamental do Instituto de Química da USP, juntamente com a equipe do biotério de Produção e Experimentação da FCF e do IQ na execução do projeto. Tal colaboração possibilitou a utilização das instalações do Instituto de Química, que conta com um estúdio fotográfico suprido com equipamentos profissionais de captura de imagem e recursos humanos especializados em fotografia. A colaboração firmada estende-se também à plataforma virtual LABIQ, que é um projeto institucional do IQ-USP e tem como objetivo o desenvolvimento de ferramentas educacionais e metodológicas para o ensino; será esta a plataforma definitiva utilizada para desenvolvimento e disponibilização das mídias em vídeo.

O material desenvolvido neste projeto está disponibilizado integralmente no portal BPEA, que é um recurso inserido dentro da plataforma LABIQ. O conteúdo textual e audiovisual foi inserido à medida que a produção era finalizada para que o site fosse estruturado de forma dinâmica, e que pudesse ser revisado pela equipe.

3.2 ESTÚDIO FOTOGRÁFICO DO IQ

As imagens do projeto foram desenvolvidas em um estúdio fotográfico suprido com grande diversidade de equipamentos profissionais de captura de imagem e recursos humanos especializados em fotografia, estúdio este localizado no IQ-USP.

Figura 1 – Ilustração da organização e estrutura do estúdio fotográfico do IQ



Fonte: Zanatto (2018).

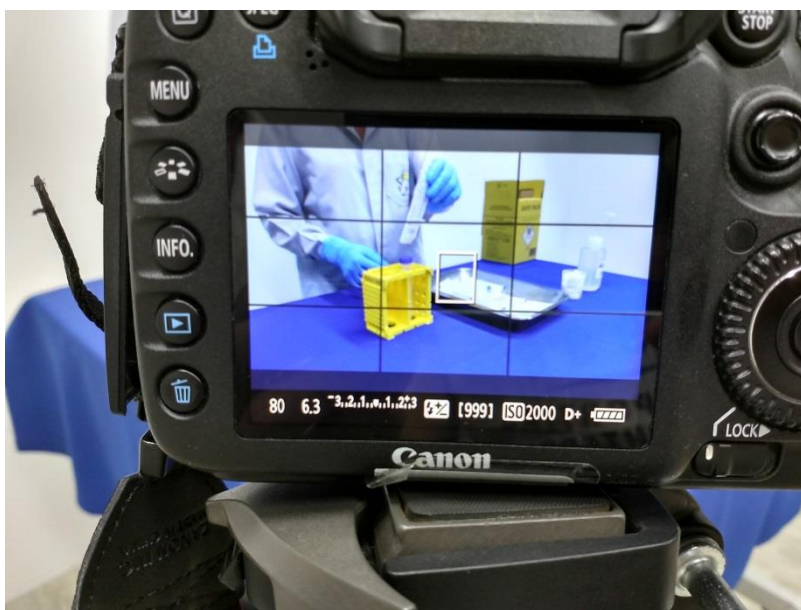
3.2.1 CÂMERAS E CAPTURA

As fotografias e vídeos que fomentaram o portal BPEA foram capturados através de duas câmeras fotográficas, sendo uma câmera utilizada para captura geral frontal, objetivando demonstrar o ambiente dos procedimentos de forma mais ampla. Para tal, foi utilizada uma câmera Nikon de modelo D3300, acoplada com a lente objetiva AF-S NIKKOR 18-55mm. Os parâmetros de captura foram ISO 100, abertura de diafragma f/16, tempo de exposição de 2 segundos, sem flash.

A segunda câmera foi colocada de forma a focalizar cada procedimento em sua porção mais crítica, estando sempre posicionada diagonalmente à bancada de trabalho, tanto direita quanto esquerda, dependendo do procedimento. Para a gravação focalizada foi utilizada uma câmera Canon EOS 7D. Os parâmetros de captura de vídeo foram ISO 2000, abertura de diafragma f/5.6, sem flash, com controle automático de branco desligado.

Durante as gravações, as câmeras sempre ficavam estáticas em tripés, evitando assim possíveis incorreções nas capturas de imagens. Ainda vale ressaltar que os parâmetros podem variar em tomadas de fotografias estáticas e procedimentos específicos, pois cada ângulo, objeto e procedimento demanda um posicionamento diferenciado para otimização de luz e enquadramento de imagem.

Figura 2 – Parâmetros e enquadramento da captura da imagem em foco



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 3 – Câmera Canon EOS 7D utilizada nas filmagens



Fonte: Zanatto (2018).

3.2.2 ILUMINAÇÃO

O sistema de iluminação foi composto por lâmpadas de ambiente na cor branca fluorescente, localizadas diagonalmente acima da mesa de procedimento, a fim de espalhar a luz de forma uniforme e evitar sombreamento, assim como os

parâmetros, o posicionamento da iluminação pode variar de acordo com a necessidade de captura.

3.2.3 FIGURINO E CENÁRIO

Para descaracterizar e evitar que a atenção fosse voltada para os indivíduos que executam os procedimentos, sempre foi utilizado jaleco branco sem logomarca, que contrastava com o fundo levemente acinzentado. As luvas escolhidas foram nitrílicas azuis, por contrastar com o jaleco e com o fundo. A base da bancada de trabalho foi coberta com tecido azul escuro, almejando contraste e de forma que seja fácil a troca do tecido para evitar manchas na gravação devido a sujidades naturais ocorridas nos procedimentos.

Ainda foi utilizada uma placa de parafina amarela com o intuito de apoiar ou prender o rato durante o procedimento, concomitantemente ao contraste diante da cor branca do rato e do azul escuro do tecido na bancada, direcionando a atenção do telespectador para o ponto de interesse no procedimento.

3.3 PORTAL BPEA

Por se tratar da construção de um sistema dinâmico e moderno de ensino, portanto, um manual prático com o intuito de desenvolver habilidades manuais referentes à contenção, administração de substâncias e coleta de sangue em animais de laboratório, o material elaborado foi postado em um portal *online* de fácil acesso e atualização. O portal BPEA que albergará os vídeos editados, tutoriais, referências, e materiais complementares sobre cada procedimento e tópico abordado; encontra-se atualmente inserido no diretório LABIQ, que por sua vez está localizado virtualmente no servidor do instituto de química, que por sua vez está contido no servidor geral da USP, possuindo endereço de rede 200.144.255.32, que é o protocolo de comunicação usado entre todas as máquinas em rede para encaminhamento dos dados.

A administração do portal desenvolvido neste trabalho é de responsabilidade de três instâncias, na seguinte ordem hierárquica: gerador de conteúdo, setor de informática do IQ e Pró-reitoria de Graduação.

3.3.1 CONTEÚDO

O conteúdo do portal BPEA foi composto principalmente pela produção e edição de mídia digital com filmes e imagens demonstrando a execução dos procedimentos. O site também conta com material de apoio, onde cada vídeo contém uma descrição em formato de Procedimento Operacional Padrão (POP). O ambiente virtual aprovisiona ainda conteúdo complementar com a finalidade de auxiliar o delineamento experimental do usuário, com dados, textos e tabelas que exibem informações relevantes que precedem o procedimento propriamente dito.

3.3.2 ORGANIZAÇÃO E CONTEÚDO DO PORTAL BPEA

O portal BPEA foi dividido em tópicos específicos estruturados em forma de menu interativo, garantindo assim que o conteúdo seja de fácil navegação e de uso intuitivo; conforme a estrutura que segue:

- Como Eleger a Técnica?
 - Volumes
 - Vias
 - Materiais e Instrumentos
- Técnicas de Contenção
 - Manipulação e Troca de Gaiola
 - Contenção I
 - Contenção II
 - Contenção III
 - Imobilização com Saco Plástico
 - Imobilização com Tecido
- Coleta de Sangue
 - Veias Laterais da Cauda
 - Veia Gengival
 - Veia Safena
 - Veia Jugular
 - Punção Intracardiaca
- Administração de Substâncias
 - Via oral (gavagem)

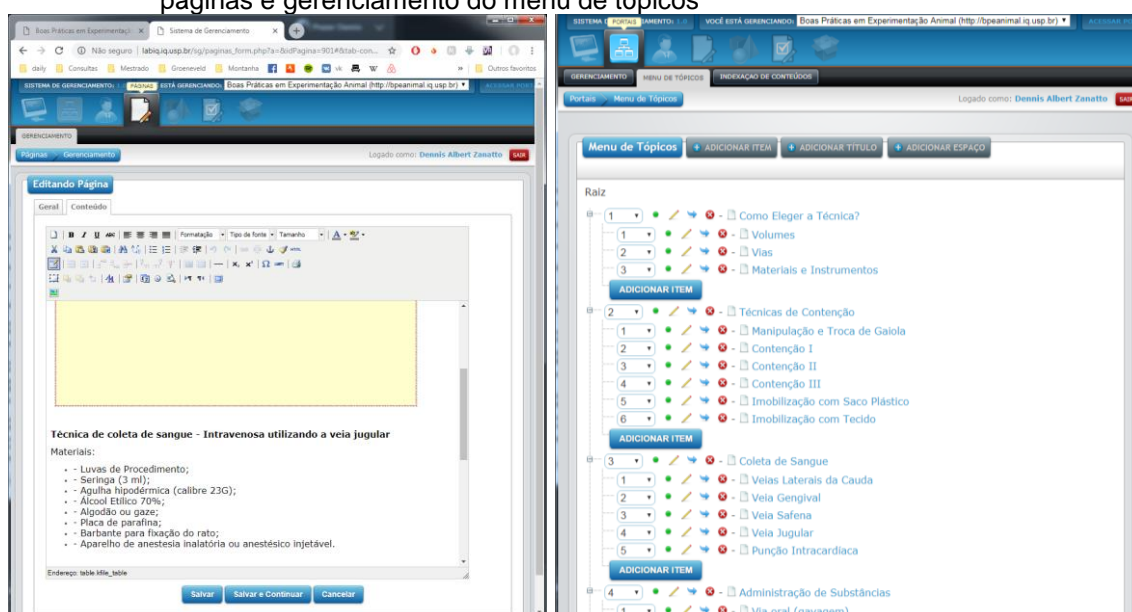
- Injeção Intraperitoneal
- Injeção Intramuscular
- Injeção Subcutânea I
- Injeção Subcutânea II
- Injeção Intradérmica
- Técnicas Anestésicas
 - Bloqueio do Nervo Ciático
- Equipe
- Referências

3.3.3 MANUTENÇÃO DO PORTAL

Através de um *login* adquirido com o administrador do portal BPEA no endereço eletrônico <http://labiq.iq.usp.br/sg/> é possível efetuar alterações no conteúdo do site a qualquer momento, tornando a manutenção dinâmica e eficiente.

A partir do sistema de gerenciamento, é possível efetuar *upload* de vídeos, imagens e fotografias, editar e criar conteúdo em texto dentro dos diretórios, alterar atributos de arquivos, assim como modificar a aparência de qualquer material, de forma intuitiva.

Figura 4 – *Screenshots* da plataforma de gerenciamento do portal, ilustrando a edição de páginas e gerenciamento do menu de tópicos



Fonte: Zanatto (2018).

3.4 SOFTWARES E EDIÇÃO

Para a edição e tratamento do conteúdo multimídia capturado foram utilizados diferentes programas com finalidades diversas, como o *Adobe Illustrator CC 2015 x64*, utilizado para criar imagens que necessitem de vetorização gráfica de imagens estáticas, e o *Adobe Photoshop CC 2015 x64* para corrigir, cortar, editar e manipular fotografias ou *screenshots* dos vídeos. Para a elaboração de projetos de composição, edição, animação e compilação dos vídeos, o programa utilizado foi o *Sony Vegas Pro 13.0 64-bit*. A reprodução dos vídeos e programa para captura de *screenshots* utilizado foi o *Media Player Classic – Home Cinema (x64) v1.7.13*, contendo pacote de CODECs para arquivos *QuickTime*.

3.4.1 COMPACTAÇÃO DOS VÍDEOS

Todos os vídeos editados foram compilados e renderizados no formato mp4 (MPEG-4 Part 14), sem áudio, sem compactação, com resolução de 720x1280 pixels, com taxa de 29 quadros por segundo. Esta configuração resulta em vídeos de boa qualidade, porém, com um tamanho de arquivo relativamente grande tratando-se de visualização *online*, podendo tornar o acesso aos vídeos mais lento. Optou-se então por compactar os arquivos através do programa *Xilisoft Video Converter Ultimate 7.8.12*, que reduziu a taxa de *bits* sem prejudicar visualmente a qualidade gráfica geral da imagem, o que resultou em um arquivo final com aproximadamente $\frac{1}{4}$ do tamanho inicial, facilitando o *upload* e tornando a visualização mais fluida.

3.5 ANIMAIS

Com a finalidade de evitar *stress* desnecessário aos animais utilizados na gravação de conteúdo, para a calibração e definição preliminar de iluminação, cenário, foco, gravação, formato de vídeo, entre outros parâmetros, foi utilizado um modelo de rato de borracha, KOKEN Rat LM-046A, como consta na imagem abaixo.

Figura 5 – Ilustração do modelo de rato de borracha (KOKEN Rat LM-046A) utilizado para definição de parâmetros de imagem



Fonte: Zanatto (2018).

Para a efetiva captura das imagens dos procedimentos, foram utilizados seis ratos heterogênicos *Sprague-Dawley* machos, de padrão sanitário SPF (*specific pathogen free*) com pesos de aproximadamente 180g, provenientes do biotério de produção e experimentação da faculdade de ciências farmacêuticas e do instituto de química da USP. Os animais foram alojados em grupos de três indivíduos em gaiolas com dimensões de 41x34x16cm contendo cama de flocos de maravalha de pinnus autoclavada e trocada uma vez por semana, com ciclo de claro/escuro de 12:12 horas, em ambiente com exaustão, temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa entre 45 e 65%, no biotério do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP. A água filtrada e a ração comercial irradiada (Nuvilab CR1, Quimtia[®] – PR – Brasil) foram fornecidas *ad libitum*. Os animais foram manipulados diariamente, objetivando a ambientação dos mesmos, a fim de reduzir o desconforto dos animais durante a execução dos procedimentos de manejo e contenção, administração de substâncias e coleta de sangue.

Todos os procedimentos com os animais foram submetidos e aprovados pela CEUA/FMVZ, protocolo número 4245090117.

3.6 EQUIPE

O grupo competente para realização e captura dos procedimentos propostos conta com auxílio multidisciplinar, que foi imprescindível para a execução do projeto. A equipe conta com pessoal atuante em diferentes áreas, como medicina veterinária, química, educação, fotografia e arte; munido de profissionais com anos de experiência em atuação em biotério.

A equipe oficialmente participante do projeto foi composta por:

Quadro 1 – Composição da equipe de trabalho e suas principais contribuições

Nome do membro	Principais contribuições	Unidade
Dennis Albert Zanatto	idealização, gravação, fotografia, edição, webdesign e redação	FMVZ
José Galeote Molero Leme de Oliveira	execução de procedimentos, gravação e apoio técnico-científico	IQ
Renata Spalutto Fontes	execução de procedimentos e apoio técnico-científico	IQ
Flavia de Moura Prates Ong	execução de procedimentos e apoio técnico-científico	FCF
Cezar Guizzo	idealização, gravação, fotografia, cenário	IQ
Yasmin Ferreira de Araujo	apoio técnico e edição	IME
Silvania Meiry Peris Neves	idealização e apoio técnico-científico	FCF
Paulo César Maiorka	idealização e apoio técnico-científico	FMVZ
Guilherme Andrade Marson	idealização, apoio técnico-científico e artístico	IQ
Claudia Madalena Cabrera Mori	idealização, apoio técnico-científico, execução de procedimentos, preparação técnica	FMVZ

Fonte: Zanatto (2018).

FMVZ: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP; FCF: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP; IQ: Instituto de Química da USP; IME: Instituto de Matemática e Estatística da USP.

3.7 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A discussão sobre as metodologias, procedimentos e pormenores foram exaustivamente revisadas pelos membros da equipe e aplicadas à medida que apontamentos fossem indicados com sentido de melhorar o desenvolvimento do projeto.

Durante a execução do projeto foram organizadas várias reuniões e atividades com a equipe oficial e ainda com outros profissionais, com o intuito de originar um grupo interdisciplinar e técnico para que o trabalho final possuísse um sólido embasamento técnico-científico-pedagógico, apoiado por profissionais com experiência no assunto de forma ampla e plural.

4 Resultados

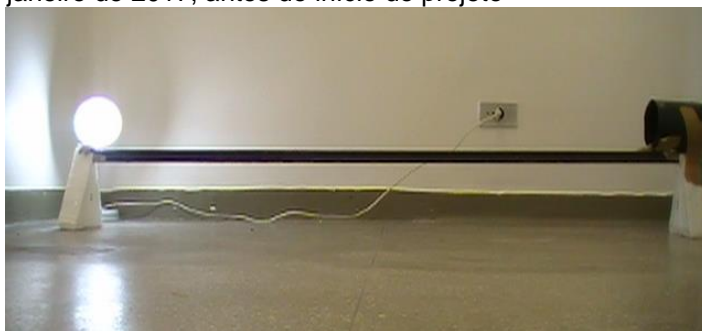
4 RESULTADOS

Objetivando obter informações para auxiliar no efetivo desenvolvimento do projeto e delinear uma estratégia eficiente, foram oportunamente capturadas imagens fotográficas e vídeos de diversos procedimentos com animais de laboratório que ocorriam no cotidiano por experimentação ou disciplinas já em andamento, sendo estes procedimentos de contenção e transporte, identificação, sexagem, coleta de sangue por variadas metodologias, administração de substâncias, dentre outros, em ratos, camundongos, hamsters e coelhos.

Como abordagem inicial, as capturas de imagem puderam ser utilizadas em duas disciplinas do programa de pós-graduação em Patologia Experimental e Comparada no ano de 2017: Fundamentos para Pesquisa em Patologia Experimental e Comparada (VPT5773) e Avanços em Patologia Experimental e Comparada (VPT5773), e em uma disciplina do programa de pós-graduação em Bioquímica do Instituto de Química: Animais de Laboratório (QBQ5747). Nas três disciplinas, os alunos manifestaram aceitação do formato de apresentação com comentários positivos, ainda que sem a edição, qualidade e tratamento proposto no projeto.

A melhoria da qualidade da ilustração dos procedimentos e equipamentos resultou imediatamente em melhor entendimento do conteúdo e interesse dos participantes, segue exemplo ilustrativo:

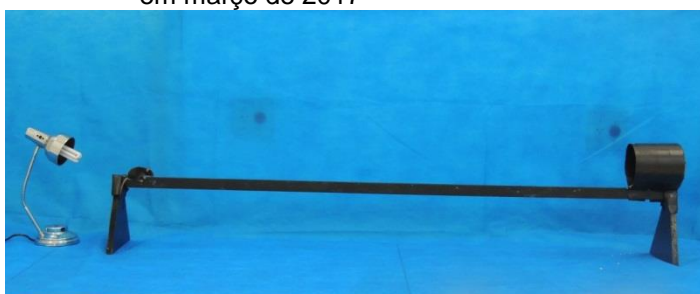
Figura 6 – Fotografia do teste de comportamento animal trave elevada, capturada em janeiro de 2017, antes do início do projeto



Fonte: Zanatto (2018).

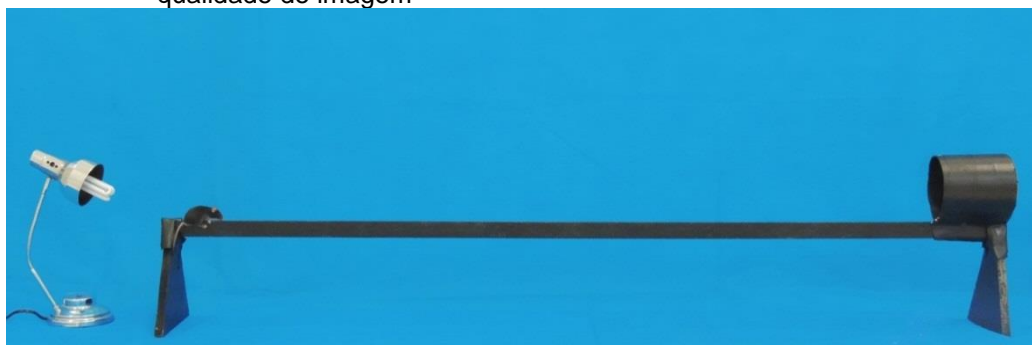
Verifica-se na imagem acima uma série de equívocos cometidos na captura do quadro, dentre eles a falta de foco e centralização da imagem, presença de fundo com mais de uma cor com pouco contraste, presença de tomada e fios atrás do aparato, luz acesa que ofusca toda a imagem, fita marrom para segurar o equipamento, de cor preta. Essas características prejudicam a visualização do procedimento e dificultam o entendimento do processo que está ilustrado. Objetivou-se, assim, nas imagens subsequentes, reduzir ao máximo quaisquer características que pudessem vir a distrair a visão do aluno. O resultado foram as imagens abaixo:

Figura 7 – Fotografia sem tratamento do teste de comportamento animal trave elevada, capturada em março de 2017



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 8 – Imagem ilustrativa do teste de comportamento animal trave elevada, editada a partir da Figura 7, com intuito de exemplificar a melhoria de qualidade de imagem



Fonte: Zanatto (2018).

Ao longo do andamento do projeto e das filmagens, percebeu-se que o procedimento executado no cotidiano é diferente do procedimento executado para captura de imagens, pois este deve ser executado mais lentamente, exigindo mais destreza da equipe para evitar *stress* excedente ao animal e garantir a execução correta das práticas. A falta de padronização entre as diversas técnicas aplicadas também ocasionou dificuldades no projeto, pois cada laboratório pode ter sua

particularidade na execução dos procedimentos. Para a gravação do material foi imprescindível definir previamente todas as etapas com a equipe.

Os conteúdos audiovisuais e textos técnicos foram submetidos para o portal, com o objetivo de que fosse revisado e avaliado pelo pessoal técnico da equipe, a fim de encontrar erros técnicos e apontar imprecisões em cada um dos procedimentos. Deste processo de avaliação surgiram algumas novas necessidades: a de repetir a gravação de alguns procedimentos e de correção textual de outros, assim como a introdução de novas técnicas.

4.1 DEFINIÇÃO DE REFERÊNCIAS DOS PROCEDIMENTOS

Todos os procedimentos de preparação de experimento, técnicas de contenção, coleta de sangue, administração de substâncias, técnicas anestésicas e outros, descritos a seguir, foram desenvolvidos durante o projeto baseados em uma grande compilação de dados advindos de várias fontes de informações, dentre elas, as principais referências listadas a seguir: manipulação de ratos de experimentação: McGill University, 2006; McGill University Animal Care Committee, 2009; Bogdanske et al., 2015; procedimentos com camundongos de experimentação: Bogdanske et al., 2010; Hart; Blake; Davis, 2015; University of Washington, 2018; administração de substâncias e coleta de sangue em animais de laboratório: Rand, 1996; Thiel, [20--]; Diehl et al., 2001; Morton et al., 2001; De Oliveira, Souza-Silva e Tonussi, 2009; University of South Florida, 2009; Turner et al., 2011; Machholz et al., 2012; UBC, 2012; adequação de volumes de administração de substâncias: Nebendahl, 2000; Committee for the Update of the Guide for the Care and use of Laboratory Animals, 2011; Sharp e Villano, 2013; técnica de anestesia: bloqueio do nervo ciático (anestesia local do membro pélvico): Thalhammer et al., 1995; Sousa et al., 2012; Templin et al., 2015; Monteiro, 2016; técnicas de coleta de sangue: NIH OACU, [20--?], 2015; Hoff, 2000; Golde, Gollobin e Rodriguez, 2005; Argmann e Auwerx, 2006; Fitzner Toft et al., 2006; Steel et al., 2008; De Oliveira, Souza-Silva e Tonussi, 2009; Aasland, Skjerve e Smith, 2010; Parasuraman, Raveendran e Kesavan, 2010; Shirasaki et al., 2012; Sadler e Bailey, 2013; Lorello e Orsini, 2014; contenção de roedores: Steward e Schroeder, 2017; Portal online Procedures With Care; técnica de gavagem: Atcha et al., 2010; e Resolução Normativa número 33 do CONCEA.

4.2 MATERIAIS E INSTRUMENTOS

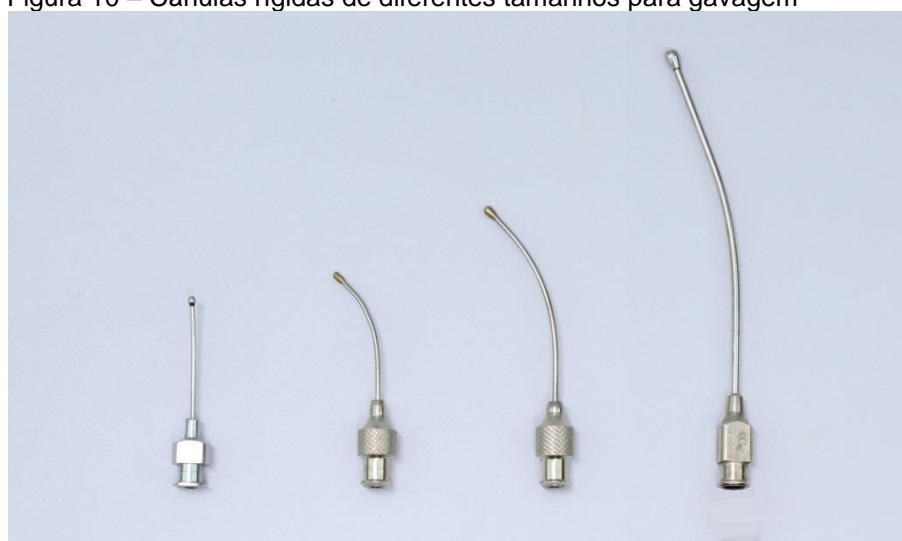
Todo material de uso e ambientação necessária para a execução de procedimento com animais deve ser previamente escolhido, separado, organizado, de forma a garantir que as experimentações sejam seguras, eficientes, assertivas e éticas (COMMITTEE FOR THE UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS, 2011). Segue abaixo fotos dos principais materiais necessários para os procedimentos contidos neste trabalho:

Figura 9 – Agulhas e seus respectivos calibres



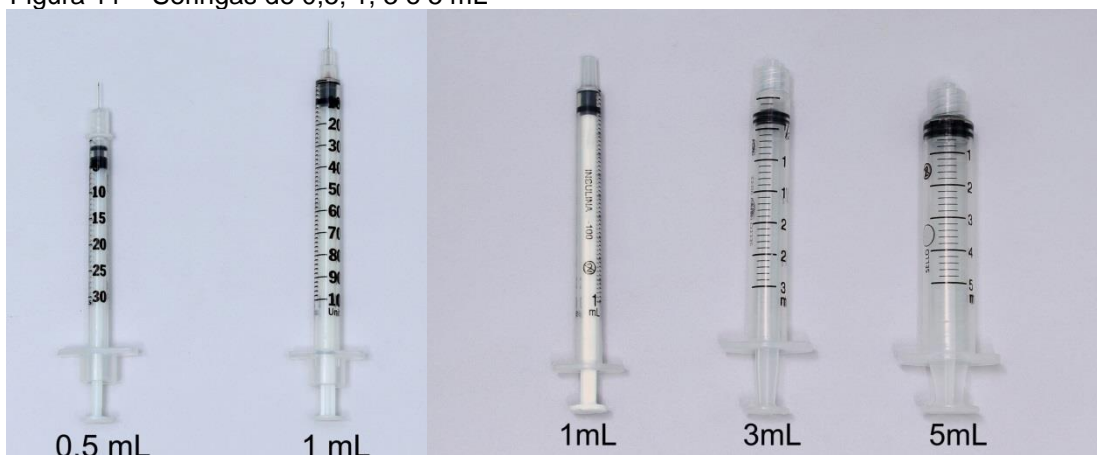
Fonte: Zanatto (2018).

Figura 10 – Cânulas rígidas de diferentes tamanhos para gavagem



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 11 – Seringas de 0,5; 1, 3 e 5 mL



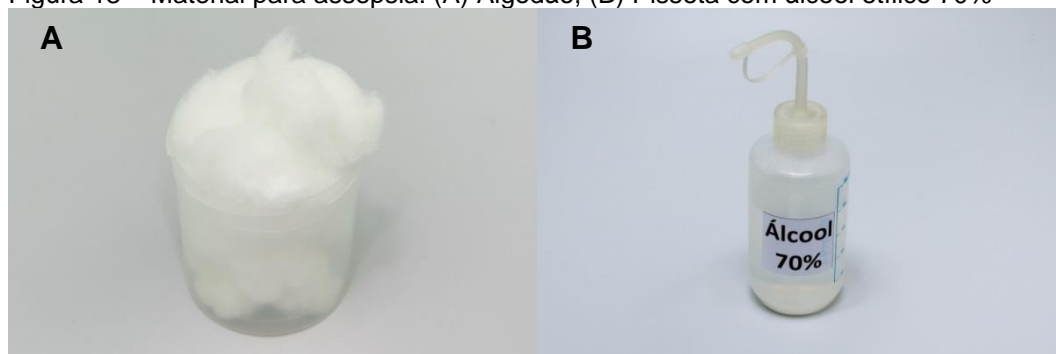
Fonte: Zanatto (2018).

Figura 12 – Seringa de dentista



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 13 – Material para assepsia: (A) Algodão, (B) Pisseta com álcool etílico 70%



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 14 – Material para tricotomia: (A) creme depilatório, (B) máquina de cortar pelos



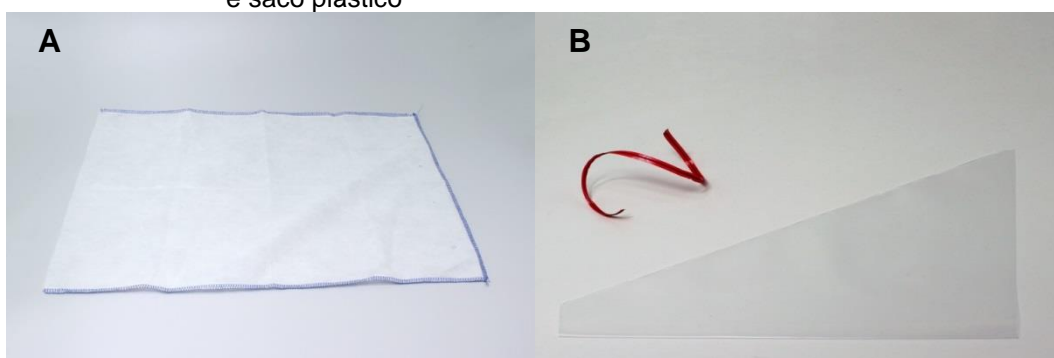
Fonte: Zanatto (2018).

Figura 15 – Luva de procedimento



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 16 – Material para contenção dos ratos: (A) pano, (B) fecho aramado e saco plástico



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 17 – Caixa para descarte de material perfurocortante



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 18 – Gaiola para ratos



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 19 – Bandeja de inox para organização de materiais



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 20 – Placa de parafina para apoio



Fonte: Zanatto (2018).

4.3 MANIPULAÇÃO E CONTENÇÃO DE RATOS DE LABORATÓRIO

Roedores de laboratório podem ser contidos de forma segura e humanitária, desde que sejam manipulados corretamente. A estratégia de habituar esses animais com a manipulação antes do início dos procedimentos experimentais pode ser feita durante o período de aclimatação e é extremamente benéfica para o bem-estar desses indivíduos.

O ambiente onde qualquer procedimento seja executado deve estar limpo, desobstruído e possuir espaço suficiente para garantir a facilidade e plena execução dos procedimentos.

Todos os materiais necessários durante a execução do procedimento devem ser arrumados para facilitar o acesso. O conteúdo para injeção deve ter sido

aspirado e condicionado antecipadamente na seringa, assim como a fixação e adequação do calibre da agulha. A substância a ser administrada deve estar livre de bolhas de ar.

Os volumes para injeção e coleta de sangue devem estar de acordo com o manual de boas práticas para administração de substâncias (DIEHL et al., 2001), e os procedimentos devem ser previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição (Quadros 2 e 3).

O Quadro 2, a seguir, apresenta os volumes máximos recomendados para administração de substâncias em ratos, considerando um animal de 250g. Os valores são baseados em consensos da literatura, devendo servir como um guia para administrar as dosagens. Os volumes máximos por dose não devem ser excedidos, pois poderá causar interferências no bem-estar animal, podendo resultar em prejuízo tanto para o animal quanto para a qualidade do experimento.

Quadro 2 - Vias de administração de substâncias e volumes máximos recomendados

Espécie	Vias de Administração e Volumes (mL)					
	Oral	SC	IP	IM	IV	ID
Rato	3	5-10	5-10	0,2-0,3	0,5	0,1

Fonte: Zanatto (2018), adaptado de DIEHL et al. (2001).

SC: via subcutânea; IP: via intraperitoneal; IM: via intramuscular; IV: via intravenosa; ID: via intradérmica.

Já o quadro abaixo demonstra os volumes máximos de coleta de sangue em ratos de 250g, considerando coletas intervaladas sequenciais, levando em consideração o período necessário para recuperação do animal.

Quadro 3 - Volume máximo de sangue recomendado para coleta sequencial em um mesmo animal e intervalo para recuperação

Espécie	Volume total de sangue	Intervalo para recuperação e volume de sangue (mL)			
		1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana
Rato (250g)	16 mL	7,5%	10%	15%	20%
		1,2	1,6	2,4	3,2

Fonte: Zanatto (2018), adaptado de DIEHL et al. (2001).

Para exemplificar a coleta de sangue baseado no quadro 3, um rato pesando 250g possui aproximadamente 16mL de sangue circulante, portanto, o animal poderá fornecer 10% de seu volume total a cada duas semanas, ou seja, 1,6mL.

4.4 ESTERILIDADE E ASSEPSIA

A substância, materiais e ambientes utilizados diretamente nos procedimentos de coleta e administração de substâncias devem ser estéreis, ou seja, livre de microorganismos. A assepsia deve ser empregada para reduzir a contaminação microbiana ao máximo grau possível, para isso se deve utilizar vários métodos diferentes para alcançar a esterilidade, como autoclavagem, radiação ultravioleta, inativação química, filtração.

A junção destas medidas evita o surgimento de infecções subclínicas que podem causar danos fisiológicos e respostas comportamentais, assim como contaminação de amostras, que prejudicam o andamento do experimento (COMMITTEE FOR THE UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS, 2011).

4.5 A CONCENTRAÇÃO E O VOLUME DA DOSE ADMINISTRADA

Necessita-se verificar se a concentração da substância interfere nos resultados. Deve-se considerar características das substâncias, como formulação, pureza, pH, solubilidade, viscosidade, biodisponibilidade, solução e solventes e taxa de absorção.

Caso possível, reduzir o volume administrado, e diminuir a frequência de administração, se a substância for tóxica, considerar reduzir a dose ao mínimo possível. Observar se é possível que a substância seja irritante para o animal e se é necessário realizar estudos preliminares à administração da substância, como por exemplo, averiguar dose tolerada ou efetiva (COMMITTEE FOR THE UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS, 2011).

4.6 MANIPULAÇÃO E TROCA DE GAIOLA

A tampa da gaiola deve ser aberta e removida cuidadosamente, a fim de evitar perturbações excessivas aos animais. Os ratos presentes na gaiola devem ter tempo suficiente para poderem ficar conscientes da sua presença.

4.6.1 TÉCNICA DE CONTENÇÃO DE RATOS: MANIPULAÇÃO E TROCA DE GAIOLA

Material: Luvas de procedimento.

Procedimento:

1. Com as mãos, sob pressão firme, porém suave, segure ao redor do tórax do rato com o polegar e o indicador abaixo de cada um dos membros torácicos;
2. Levante o rato para fora da gaiola e coloque-o em uma nova gaiola ou em uma superfície firme;
3. Para ratos mais agressivos, pegue-os segurando pela base da cauda, próximo ao corpo;
4. Nunca suspenda o rato pela cauda por um período prolongado, pois pode submeter o animal a um estresse desnecessário. Apoie o peso corporal do animal rapidamente durante a contenção;
5. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança vários procedimentos.

Figura 21 – Imagens do vídeo da técnica de contenção de ratos: manipulação e troca de gaiola



Fonte: Zanatto (2018).

4.6.2 TÉCNICA TÉCNICA I DE CONTENÇÃO DE RATOS: PARA REALIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS

Material: Luvas de procedimento.

Procedimento:

1. Com o rato sobre uma superfície plana, posicione a palma da mão sobre o dorso do animal;
2. Deslize suavemente o indicador e dedo médio ao redor do pescoço do animal;
3. Sob pressão firme, porém suave, imobilize o pescoço e cabeça do rato;
4. Deve-se tomar cuidado para evitar deslizamentos e aplicação de excesso de pressão na traqueia localizada na porção ventral do pescoço;
5. Levante o animal e com a outra mão segure firmemente os membros pélvicos, de modo a imobilizá-los;
6. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança vários procedimentos.

Figura 22 – Imagens do vídeo da técnica I de contenção de ratos: para realização de procedimentos



Fonte: Zanatto (2018).

4.6.3 TÉCNICA II DE CONTENÇÃO DE RATOS: PARA REALIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS

Material: Luvas de procedimento.

Procedimento:

1. Com o rato sobre uma superfície plana, posicione a palma da mão sobre o dorso do animal;
2. Segure o animal posicionando o polegar e o indicador acima dos membros torácicos;
3. Posicione os outros dedos ao redor do tórax e levante o animal;
4. Imediatamente com outra mão, segure firmemente os membros pélvicos, de modo a imobilizá-los;
5. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança vários procedimentos.

Figura 23 – Imagens do vídeo da técnica II de contenção de ratos: para realização de procedimentos



Fonte: Zanatto (2018).

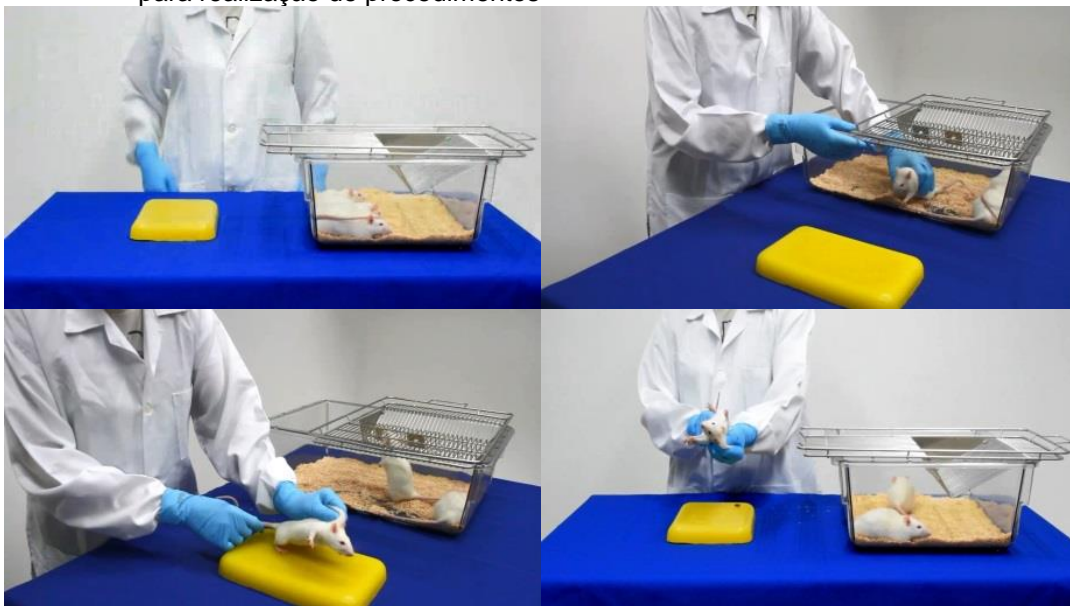
4.6.4 TÉCNICA III DE CONTENÇÃO DE RATOS: PARA REALIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS

Material: Luvas de procedimento.

Procedimento:

1. Com o rato sobre uma superfície plana, posicione a palma da mão sobre o dorso do animal;
2. Deslize suavemente o polegar e o indicador para frente, posicionando-os na base do crânio;
3. Sob pressão firme, porém suave, segure a pele da região do pescoço e dorso, de tal forma que restrinja a movimentação da cabeça do rato e levante-o;
4. Dominar esta técnica permitirá que você execute com segurança vários procedimentos.

Figura 24 – Imagens do vídeo da técnica III de contenção de ratos: para realização de procedimentos



Fonte: Zanatto (2018).

4.6.5 TÉCNICA IV DE CONTENÇÃO DE RATOS: IMOBILIZAÇÃO COM SACO PLÁSTICO

Material: Luvas de procedimento, caixa acrílica de contenção para ratos ou saco plástico para contenção, fecho aramado ou barbante.

Observações:

O saco plástico para contenção deve ser de tamanho adequado para que o rato fique completamente contido no interior do mesmo, deve-se atentar para que a

extremidade que acomodará a cabeça do animal esteja cortada, permitindo que o animal respire.

Procedimento:

1. Com as mãos, sob pressão firme, porém suave, segure ao redor do tórax do rato com o polegar e o indicador abaixo de cada um dos membros torácicos;
2. Realize a contenção do rato para segurá-lo e controlá-lo;
3. Coloque a cabeça do rato dentro da abertura da caixa acrílica ou saco plástico;
4. Solte o corpo do rato, mantendo a contenção pela cauda;
5. Feche a parte de trás com ajuda de um fecho aramado ou barbante;
6. O animal agora está contido para realização de procedimentos.

Figura 25 – Imagens do vídeo da técnica IV de contenção de ratos: imobilização com saco plástico



Fonte: Zanatto (2018).

4.6.6 TÉCNICA V DE CONTENÇÃO DE RATOS: IMOBILIZAÇÃO COM TECIDO

Material: Luvas de procedimento, toalha de tecido para contenção.

Procedimento:

1. Com as mãos, sob pressão firme, porém suave, segure ao redor do tórax do rato com o polegar e o indicador abaixo de cada um dos membros torácicos;

2. Coloque-o gentilmente sobre a porção mediana do tecido;
3. Enrole o animal começando por um dos lados do tecido e posteriormente pelo outro até que fique bem firme;
4. Solte o corpo do rato, mantendo-o contido no interior do tecido;
5. O animal agora está contido para realização de procedimentos.

Figura 26 – Imagens do vídeo da técnica V de contenção de ratos: imobilização com tecido



Fonte: Zanatto (2018).

4.7 COLETA DE SANGUE

A obtenção de amostras de sangue em pequenos roedores requer, além do conhecimento da técnica, um treinamento específico para adquirir tais habilidades. Para tanto, serão abordadas as técnicas de punção venosa (veias laterais da cauda, veia jugular, veia safena, veia gengival) e punção intracardíaca.

Nota: O volume total de sangue coletado dependerá das características do experimento e do animal. Devendo-se sempre atender ao Quadro 3, no qual é possível identificar o volume máximo de sangue recomendado para coleta sequencial em um mesmo animal e o intervalo recomendado para recuperação.

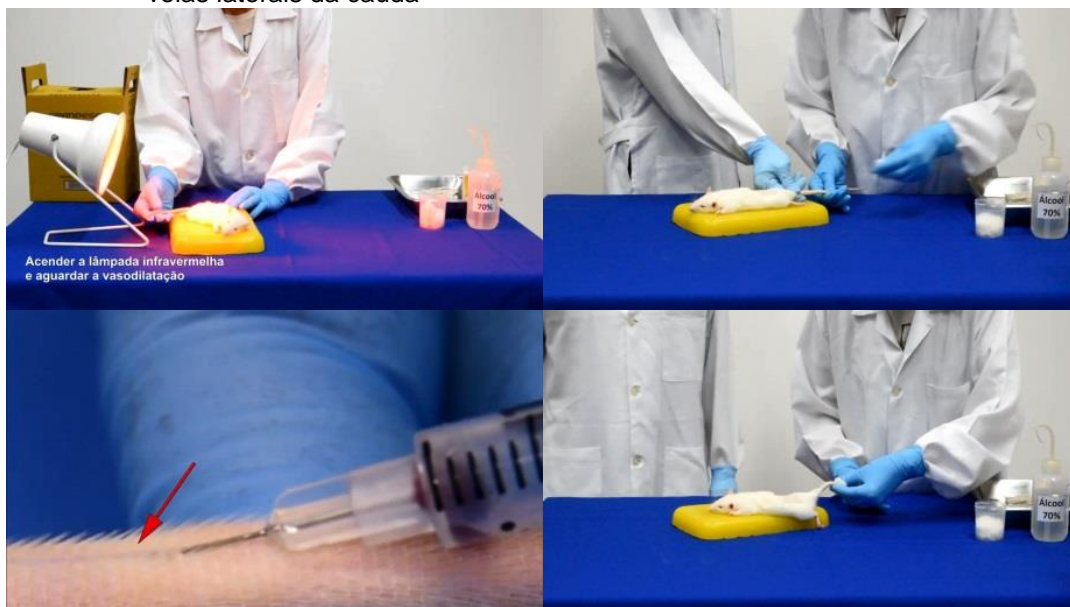
4.7.1 TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE: VEIAS LATERAIS DA CAUDA

Material: Luvas de procedimento, caixa acrílica para contenção de ratos ou toalha de tecido para contenção mecânica ou saco plástico para imobilização, luminária com lâmpada de luz infravermelha, seringa (1 mL), agulha hipodérmica (calibre 25 a 30 G), álcool etílico 70%; e algodão ou gaze.

Procedimento:

1. Realize a contenção do rato de maneira que ele fique completamente imobilizado;
2. Focalizar a luz infravermelha na cauda do rato por aproximadamente 5 minutos, observando-o para que haja dilatação das veias sem aquecer demais a região a ponto de causar lesões pelo calor;
3. Limpe a cauda com álcool 70%;
4. A introdução da agulha deve ser executada na porção posterior da metade da cauda;
5. Com a cauda sob pressão, insira a agulha na pele em posição paralela à veia;
6. Garanta a colocação correta da agulha inserindo pelo menos 3mm da agulha no lúmen da veia lateral;
7. Após visualizar o sangue no canhão da agulha, puxar o êmbolo da seringa delicadamente em movimento firme, contínuo e lento, evitando assim a ruptura da veia;
8. Após a retirada da agulha, garanta a hemostasia aplicando gentilmente uma pressão no local da coleta antes de retornar o animal à gaiola.

Figura 27 – imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue:
veias laterais da cauda



Fonte: Zanatto (2018).

4.7.2 TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE: INTRAVENOSA UTILIZANDO A VEIA GENGIVAL

Material: Luvas de procedimento, seringa (1 mL), agulha hipodérmica (calibre 28 a 30 G), algodão ou gaze.

Procedimento:

1. Essa técnica deve ser realizada com o rato anestesiado;
2. Com o rato em decúbito dorsal, exponha a gengiva abaixo dos incisivos inferiores puxando pelo lábio;
3. Insira a agulha aproximadamente 2mm com um ângulo de 20 a 25 graus ao longo da linha entre o par de incisivos inferiores;
4. Esta técnica permite a coleta de aproximadamente 800 μ L de sangue;
5. Após a retirada da agulha, garanta a hemostasia aplicando gentilmente uma pressão no local da coleta antes de retornar o animal à gaiola.

Figura 28 – imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue: intravenosa utilizando a veia gengival



Fonte: Zanatto (2018).

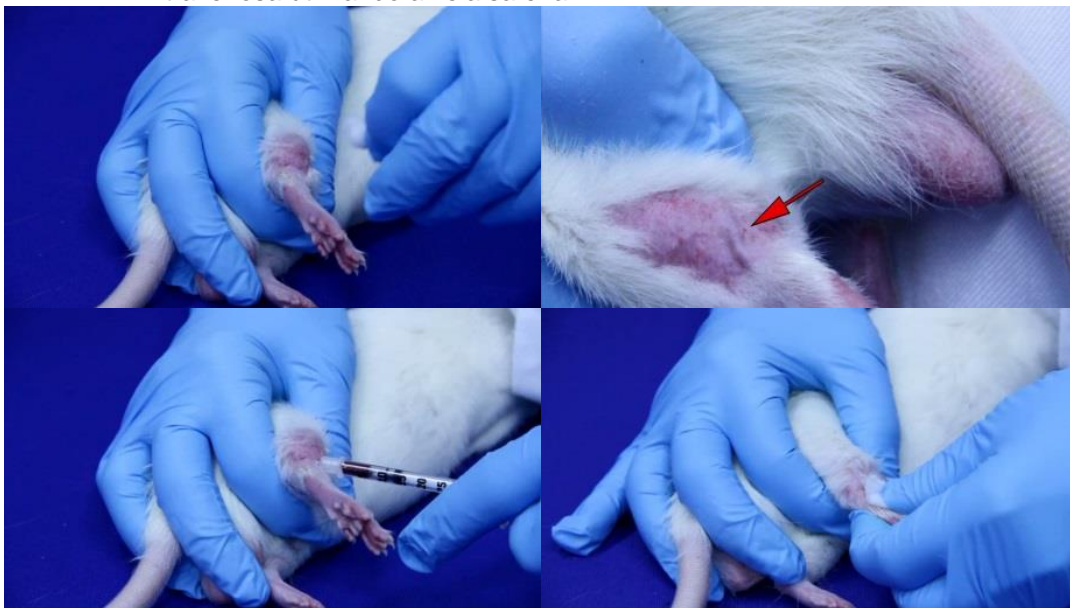
4.7.3 TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE - INTRAVENOSA UTILIZANDO A VEIA SAFENA

Material: Luvas de procedimento, seringa (1 mL), agulha hipodérmica (calibre 22 a 26 G), álcool etílico 70%, algodão ou gaze, máquina de cortar pelos ou creme para depilação.

Procedimento:

1. Realize a contenção ou anestesia o rato;
2. Depile a lateral do membro pélvico do rato e limpe a região com álcool 70%;
3. Comprima a veia safena acima da articulação do joelho;
4. Insira a agulha ao menos 5mm no lúmen da veia, com um ângulo de aproximadamente 20 graus;
5. Aspirar a seringa para garantir a colocação correta da agulha, o sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento correto, não reintroduzir a agulha no vaso para evitar dano tecidual;
6. Ao final da coleta, garanta a hemostasia da veia aplicando gentilmente uma pressão no local antes de devolver o rato à gaiola.

Figura 29 – Imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue - intravenosa utilizando a veia safena



Fonte: Zanatto (2018).

4.7.4 TÉCNICA DE COLETA DE SANGUE - INTRAVENOSA UTILIZANDO A VEIA JUGULAR

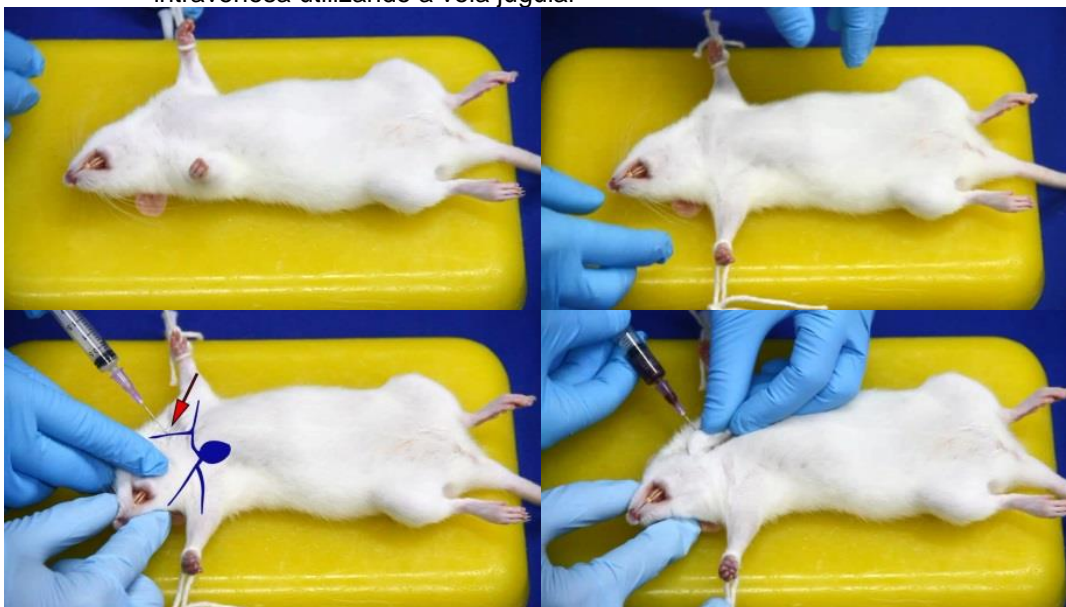
Materiais: Luvas de procedimento, seringa (3 mL), agulha hipodérmica (calibre 23G), álcool etílico 70%, algodão ou gaze, placa de parafina, barbante para fixação do rato, aparelho de anestesia inalatória ou anestésico injetável.

Procedimento:

1. Realize a contenção e anestesia o rato;
2. Posicione o rato em decúbito dorsal no centro da placa de parafina;
3. Fixe o rato com os barbantes na placa de tal forma que seus membros torácicos fiquem estendidos;
4. Vire horizontalmente a cabeça do rato para o lado oposto ao que será introduzido a agulha;
5. Realize a limpeza do local com álcool 70% e algodão;
6. Insira a agulha lentamente na veia jugular, que está localizada superficialmente no centro do espaço entre a cabeça e o membro torácico;
7. Aspirar a seringa para garantir a colocação correta da agulha, o sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento correto, não reintroduzir a agulha no vaso para evitar dano tecidual;

Ao final da coleta, garanta a hemostasia da veia aplicando gentilmente uma pressão no local antes de devolver o rato à gaiola.

Figura 30 – Imagens do vídeo da técnica de coleta de sangue - intravenosa utilizando a veia jugular



Fonte: Zanatto (2018).

4.7.5 COLETA DE SANGUE: PUNÇÃO INTRACARDÍACA - PARA COLETA DE GRANDES VOLUMES DE SANGUE

Material: Luvas de procedimento, seringa (3 a 10 mL), agulha hipodérmica (calibre 21 a 25 G), álcool etílico 70%, algodão ou gaze.

Observação:

A técnica empregada para contenção do rato neste procedimento está contida e é idêntica ao vídeo de coleta de sangue por veia jugular.

Procedimento:

1. A técnica de punção intracardíaca deve ser executada obrigatoriamente com o animal anestesiado;
2. Com o rato em decúbito dorsal, limpe o tórax do animal com Álcool Etílico 70%;
3. Insira a agulha na base do esterno com aproximadamente 30 graus de inclinação, bem na lateral da linha média do lado esquerdo do rato;

4. Após visualizar o sangue no canhão da agulha, com a seringa, aspire lentamente, garantindo que o sangue seja coletado;
5. Este procedimento deve ser terminal, ou seja, após seu término deve-se ocorrer a eutanásia do animal.

Figura 31 – Imagens do vídeo da coleta de sangue: punção intracardíaca para coleta de grandes volumes de sangue



Fonte: Zanatto (2018).

4.8 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS

É de fundamental importância para a formação do Médico Veterinário, que irá atuar como responsável técnico em biotérios, adquirir habilidades para administrar substâncias em roedores de laboratório, seja com a finalidade de pesquisa ou para o tratamento desses animais.

Quando se administra uma substância a um animal independentemente da via, deve-se alcançar a melhor técnica possível, pois erros em qualquer etapa podem causar sofrimento evitável e/ou uso de maior número de animais vivos. A melhor prática baseia-se em minimizar ou cessar os efeitos adversos, diminuindo o número de animais utilizados e maximizando a qualidade e aplicabilidade dos resultados.

4.8.1 PLANEJAMENTO

Antes de iniciar um procedimento laboratorial com animais vivos, é importante refletir sobre uma série de questões, que devem ser consideradas no planejamento da ação (MORTON et al., 2001), conforme descrito ao longo deste subtópico.

4.8.1.1 OBJETIVO EXPERIMENTAL

Deve-se definir qual é o objetivo científico que o procedimento em questão busca alcançar e se a forma de administração escolhida garante que os objetivos do experimento serão alcançados. Deve-se considerar não apenas se o procedimento encaixa-se no objetivo, mas também se o método eleito é efetivamente o melhor modo possível.

4.8.1.2 A VIA DE ADMINISTRAÇÃO

É importante questionar se a via de administração é adequada para a substância eleita, qual o grau de invasividade, e se é possível obter os mesmos resultados a partir de uma via de administração mais segura (Quadro 3). Se a via eleita é adequada para procedimentos que exijam administrações consecutivas em repetidas vezes, caso necessário.

Quadro 4 - Impacto da via de administração no bem-estar animal

Via de administração	Frequência	Contenção	Comentários	Impacto no bem-estar
Bomba osmótica	Contínua	Anestesia para o implante da bomba osmótica, depois nenhuma	Evita múltiplas injeções.	**
Intra-auricular	U	Anestesia	Pode danificar o tecido; esterilidade é essencial; usar apenas uma vez.	***
Intracerebral	U	Anestesia	Tecnicamente difícil em neonatos. O procedimento incorreto, volume incompatível ou propriedades da substância, ou da rejeição por deposição podem resultar em óbito.	***
Intradérmica	R	M	Deve-se alcançar uma boa técnica para garantir que a administração não seja subcutânea.	**

(continua)

(continuação)

Via de administração	Frequência	Contenção	Comentários	Impacto no bem-estar
Intramuscular	R	M	Efeitos irritantes podem causar sérios problemas. Pode causar danos aos nervos. Evite injetar em espaços fasciais ou vasos sanguíneos. Efeitos ocasionados por grandes volumes e dano tecidual ficam ocultos. Atente-se aos adjuvantes. Considere injetar em diferentes locais para administrações sucessivas.	**
Intranasal	R	M	É difícil garantir que toda a dose seja administrada na narina. Efeitos adversos são improváveis, mas cuidado com os fluídos nasais.	*
Intraperitoneal	R	M	Substâncias irritantes podem causar problemas severos. Podem ocorrer equívocos de administrar a substância diretamente em um órgão, porém é difícil de detectar. Indicado para pequenos roedores, não recomendável para animais maiores.	**
Intratraqueal	U	Anestesia	Pode causar óbito em equívoco técnico ou se a substância for irritante.	***
Intravaginal	R	M	Pode ser difícil reter a substância no interior da vagina.	*
Intravenosa	R	Contenção mecânica com auxílio de toalha ou caixa ou anestesia	Pode ser necessário aquecer a cauda animal para dilatar a veia, isso deve ser feito com cuidado. A injeção rápida da substância pode resultar em um efeito de concentração que atinge o sistema nervoso central ou outro órgão, podendo ser fatal.	**
Oral: Alimento/Água	R	Não	A dose pode variar com a ingestão de alimentos ou água. A dosagem em alimentos causa pouco estresse, porém a baixa palatabilidade pode restringir a ingestão, possibilitando sofrimento causado pela sede. É importante conhecer o comportamento alimentar do animal.	*
Oral: Cápsula	R	M	Pode ser usado para ajudar a administração de comprimidos.	*
Oral: Gavagem	R	M	O posicionamento preciso da cânula é essencial. Equívocos são raros, porém pode ocorrer óbito em pequenos roedores caso a canulação esteja incorreta. A contenção pode ser estressante para os primatas.	**

(continua)

(continuação)

Via de administração	Frequência	Contenção	Comentários	Impacto no bem-estar
Respiratória: Exposição de corpo inteiro	R	Não	É difícil medir a dose real, mas falhas ou problemas de bem-estar técnico são raros.	*
Respiratória: Inalação apenas nasal (pequenos roedores)	R	Tubos	A contenção pode ser estressante pela presença dos tubos. Treinamento e habituação dos animais são essenciais.	**
Subcutânea	R	M	Em caso de doses sucessivas, alternar o local de administração; atenção aos adjuvantes.	*
Tópica dérmica	R	M, Contenção mecânica com auxílio de toalha ou caixa	A remoção dos curativos adesivos pode ser dolorosa. Os animais precisam ser treinados para aceitar colares ou outras contenções. Substâncias irritantes são especialmente problemáticas.	**
Tópica Ocular	R	M	Trata-se de uma técnica fácil, mas substâncias irritantes podem causar danos nos olhos, que tendem a ser muito dolorosos.	*

Fonte: Zanatto (2018), adaptado de MORTON et al. (2001).

(conclusão)

*M: contenção manual durante o período de administração; R: doses repetidas; U: dose única.*** Menor impacto: procedimento não doloroso, mínima contenção, rápido ou não invasivo;**** Médio impacto: procedimento pode demandar anestesia, sedação ou contenção, exigindo capacidade técnica apurada;***** Maior impacto: A anestesia pode ser necessária (com riscos associados), técnica incorreta pode causar morte ou lesões graves.*

Sobre o quadro 3 acima, o sistema de pontuação aplicado refere-se ao impacto da via de administração, não à substância, assume-se que a técnica em questão é realizada por pessoal capacitado e competente, munido de todos os recursos necessários. A pontuação também leva em consideração a experiência humana do procedimento. A severidade de qualquer técnica pode variar de acordo com as especificidades dos animais.

4.8.1.3 A SUBSTÂNCIA

É importante que o pessoal designado conheça efetivamente a substância a ser administrada, e se há dados se ela pode resultar em algum efeito adverso no animal, caso haja, deve-se tomar as precauções necessárias previamente.

É preciso verificar se a composição da formulação da substância pode alterar os efeitos esperados e se a mesma deve ser preparada no instante imediato que precede a administração.

4.8.1.4 CONCENTRAÇÃO E O VOLUME DA DOSE ADMINISTRADA

Necessita-se verificar se a concentração da substância interfere nos resultados. Considerar qualquer particularidade levando em consideração as propriedades físico-químicas da substância e os solventes associados, como por exemplo, a osmolaridade.

Caso possível, reduzir o volume administrado, e diminuir a frequência de administração, se a substância for tóxica, considerar reduzir a dose ao mínimo possível. Observar se é possível que a substância seja irritante para o animal e se é necessário realizar estudos preliminares à administração da substância, como por exemplo, averiguar dose tolerada ou efetiva.

4.8.1.5 O ANIMAL

Os questionamentos sobre o animal devem abordar se existem problemas conhecidos com algum dos animais ou espécie eleita, e ainda se o animal escolhido estressa-se com facilidade ao ser manuseado. Definir se efetivamente a espécie animal adotada é a mais apropriada para o estudo nas condições propostas.

Quanto ao comportamento do animal, se é possível treina-lo para cooperar no procedimento e se o operador necessita de tempo para acostumar-se com o procedimento executado.

Elucidar se é necessário aplicar sedativo, anestésico ou analgésico e se essa prática poderia reduzir o estresse ou interferir no experimento.

Verificar a existência de dados sobre estudos preliminares que determinem a dose efetiva e tolerada especificamente para a espécie escolhida.

4.8.1.6 A TÉCNICA

É relevante verificar quais são os problemas científicos (por exemplo, metabolização de primeira passagem no fígado após administração oral ou intraperitoneal, grau ou taxa de absorção, efeitos locais) relacionados à técnica, e se existem problemas técnicos intrínsecos do procedimento, como, por exemplo, a dificuldade de executar de maneira correta a contenção de um animal para permitir a inserção da cânula com o menor desconforto possível. Questionar se a própria prática da técnica terá algum efeito sobre o animal e quais são os refinamentos que podem ser introduzidos para evitar quaisquer efeitos adversos. É conveniente consultar previamente a literatura e referências de experiências de outras instituições para elucidar questionamentos técnicos.

4.8.2 EQUIPE DE TRABALHO

A equipe deve possuir autorização e competência pertinente para execução do procedimento e capacitação para lidar com quaisquer efeitos adversos. Dentre o pessoal escalado para execução do procedimento, é imprescindível levar em consideração os membros mais aptos da equipe para realizar cada um dos procedimentos, considerando tanto a manipulação dos animais quanto o procedimento em si.

A quantidade de pessoas que participam do processo também deve ser levada em consideração, o pessoal precisa ser suficiente para conter os animais e administrar a substância, assim como observá-los após a administração.

É preciso que toda a equipe conheça os limites de invasividade e, caso necessário, possua conhecimento, autorização e habilidade suficiente para realizar a eutanásia dos animais.

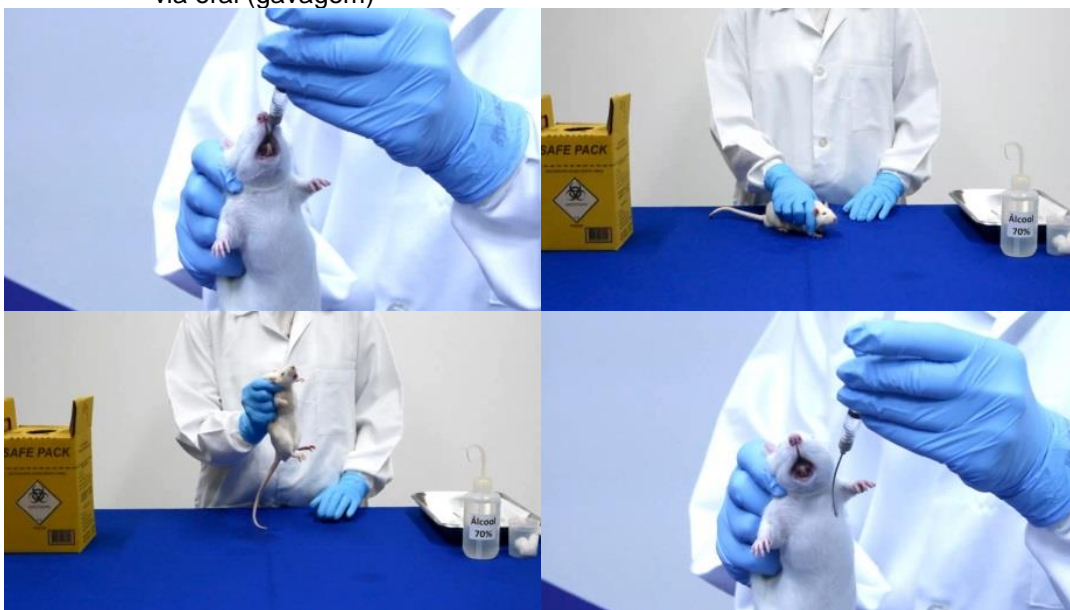
4.8.3 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: VIA ORAL (GAVAGEM)

Material: Agulha flexível ou cânula de gavagem (calibre 16 a 18 G), seringa (1-3 mL), substância a ser administrada.

Procedimento:

1. Meça a distância da ponta do nariz até a primeira costela do animal, este é o comprimento da cânula que deve ser usada;
2. Preencha a seringa com quantidade de substância apropriada para a dosagem;
3. Realize a contenção do rato (utilize preferencialmente a técnica de contenção III);
4. Introduza a ponta da cânula na lateral da boca do rato;
5. Deslize a ponta da cânula para o interior da cavidade oral, por cima da língua do animal, realizando um movimento delicado e contínuo;
6. Deve-se observar que qualquer resistência sentida indica a colocação incorreta da cânula, ela deve escorregar facilmente pelo esôfago;
7. Uma vez que a cânula esteja devidamente colocada, administre lentamente a substância.

Figura 32 – Imagens do vídeo da administração de substâncias:
via oral (gavagem)



Fonte: Zanatto (2018).

4.8.4 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Material: Luvas de procedimento, seringa (1 a 3 mL), agulha hipodérmica (calibre 22 a 30 G), substância a ser administrada, álcool etílico 70%, algodão ou gaze.

Procedimentos:

1. Preencha a seringa com quantidade de substância apropriada para a dosagem;
2. Realize a contenção do rato pelo corpo inclinando-o a um ângulo de 45 graus com a cabeça para baixo, essa manobra posicionará os intestinos cranialmente, para longe da área de administração;
3. Limpe a área a ser administrada com álcool 70%;
4. Insira a agulha no quadrante inferior direito do abdômen a um ângulo entre 30 e 45 graus;
5. Aspirar a seringa para garantir a colocação correta da agulha, qualquer sinal de sangue ou outro fluido no canhão da agulha indica posicionamento incorreto. Caso ocorra, para evitar induzir peritonite, descarte o conjunto e utilize novos instrumentos;
6. Administrar a substância em um movimento constante, firme e estável.

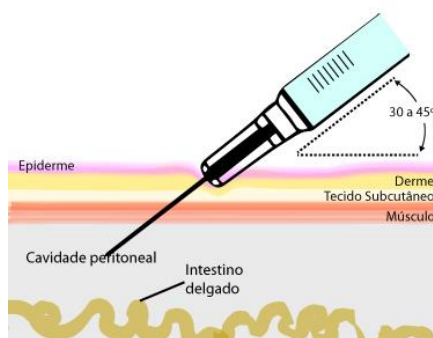
Figura 33 – Imagens do vídeo da administração de substâncias:
injeção intraperitoneal



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 34 – Imagem ilustrativa de angulação correta para a administração de substâncias por injeção intraperitoneal

Injeção Intraperitoneal



Fonte: Zanatto (2018).

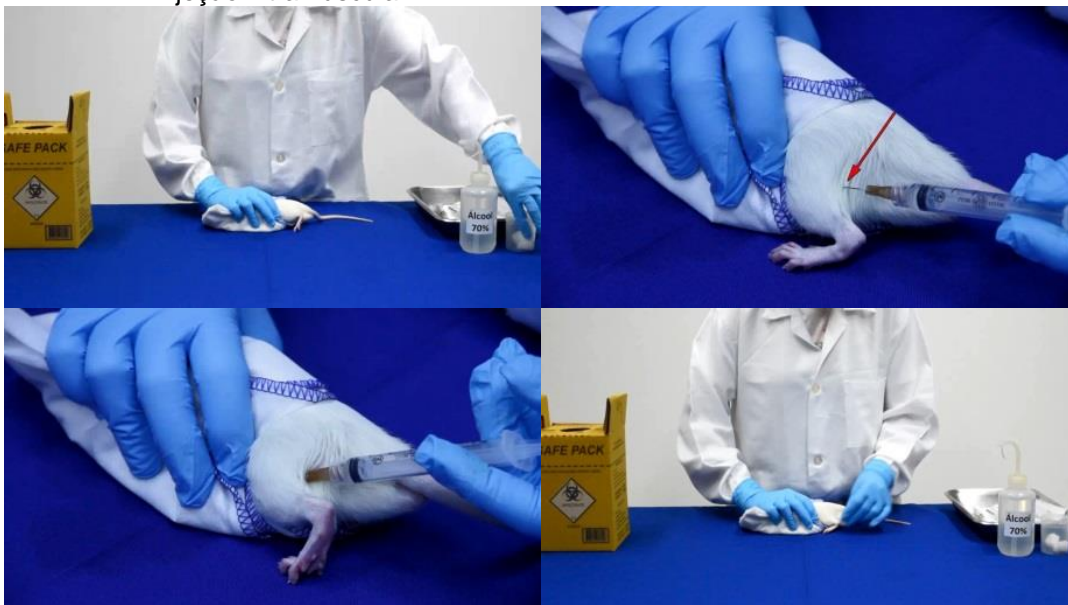
4.8.5 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO INTRAMUSCULAR

Material: Luvas de procedimento, seringa (1 mL), agulha hipodérmica (calibre 22 a 30 G), substância a ser administrada, álcool etílico 70%, algodão ou gaze.

Procedimentos:

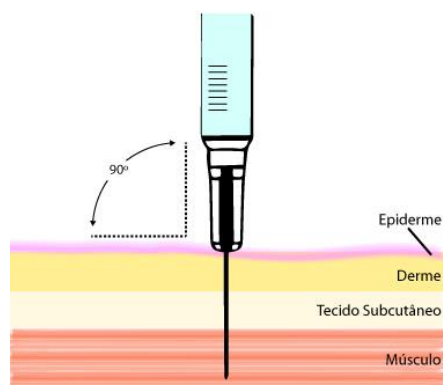
1. Preencha a seringa com quantidade de substância apropriada para a dosagem;
2. Realize a contenção do rato;
3. Limpe a área a ser administrada com álcool 70%;
4. Insira a agulha nos músculos do glúteo perpendicularmente à pele do animal;
5. Aspirar a seringa para garantir a colocação correta da agulha, qualquer sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento incorreto;
6. Administrar a substância em um movimento constante e firme. Nunca administrar rapidamente, evitando trauma tecidual.

Figura 35 – Imagens do vídeo da administração de substâncias:
injeção intramuscular



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 36 – Imagem ilustrativa de angulação correta
para a administração de substâncias
por injeção intramuscular
Injeção Intramuscular



Fonte: Zanatto (2018).

4.8.6 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO SUBCUTÂNEA I

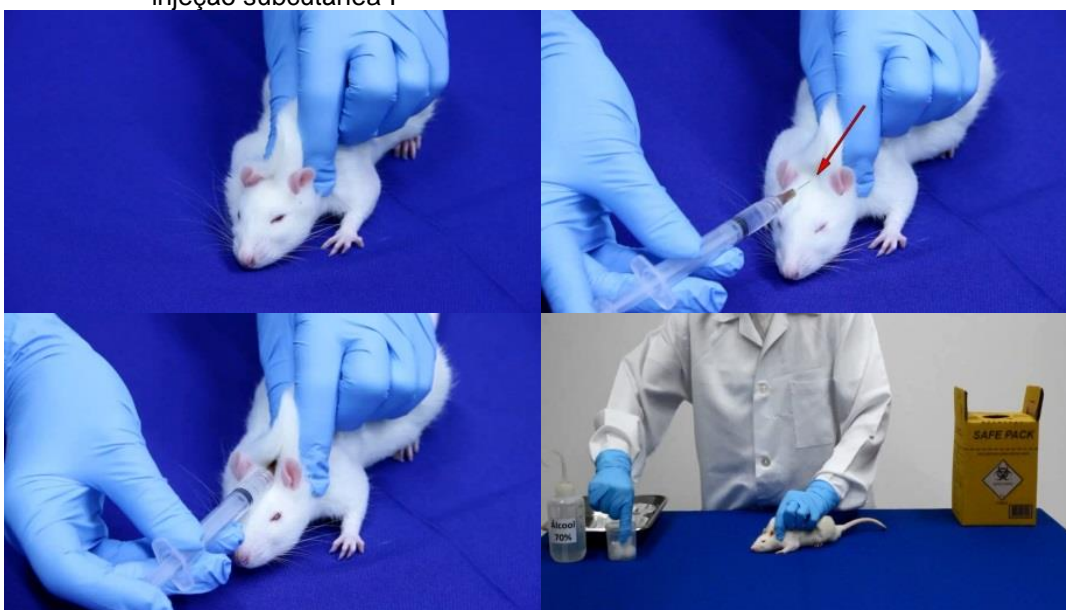
Material: Luvas de Procedimento, seringa (1 a 3 mL), agulha hipodérmica (calibre 22 a 30 G), substância a ser administrada, álcool etílico 70%, algodão ou gaze.

Procedimento:

1. Preencha a seringa com quantidade de substância apropriada para a dosagem;

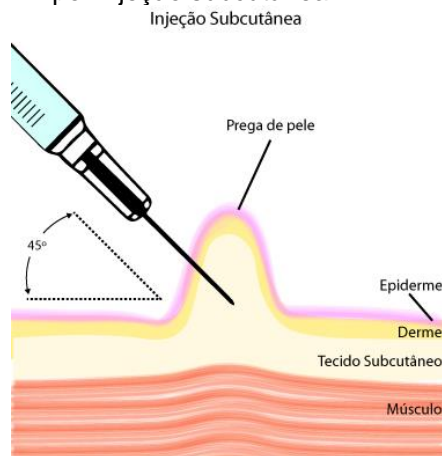
2. Realize a contenção do rato;
3. Crie uma dobra de pele com o dedo polegar e indicador (movimento de pinça) na região dorsal do animal;
4. Limpe o local de administração com álcool 70%;
5. Insira a agulha na base da dobra da pele criada, com ângulo de aproximadamente 45 graus;
6. Aspirar a seringa para garantir a colocação correta da agulha, qualquer sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento incorreto. A falta de pressão negativa também indica que a agulha perfurou o lado oposto da pele, caso ocorra, remova a agulha e reposicione-a;
7. Administrar a substância em um movimento constante, firme e estável.

Figura 37 – Imagens do vídeo da administração de substâncias:
injeção subcutânea I



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 38 – Imagem ilustrativa de angulação correta para a administração de substâncias por injeção subcutânea



Fonte: Zanatto (2018).

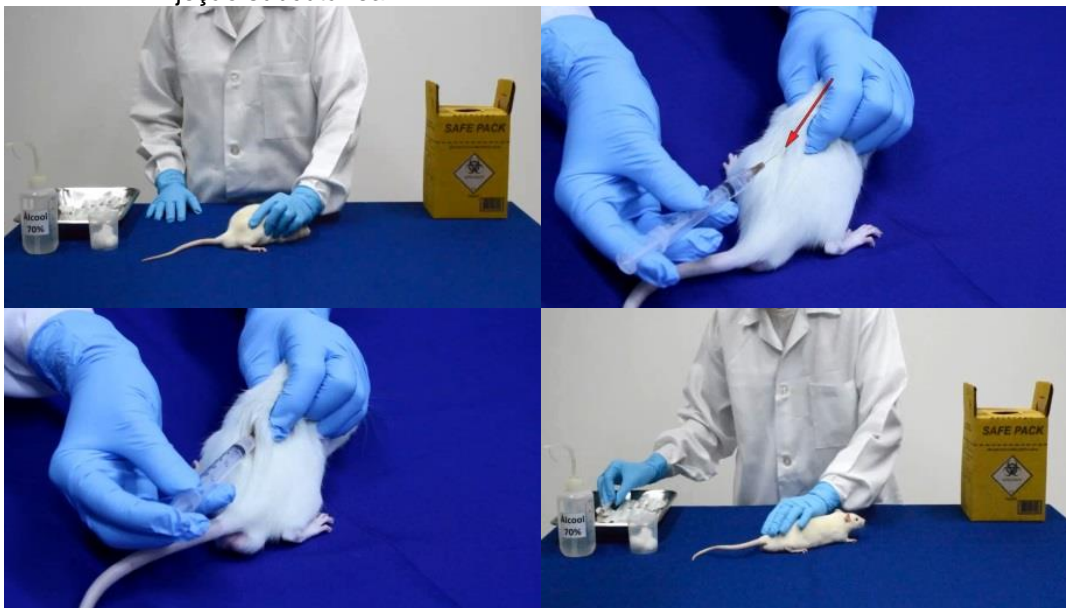
4.8.7 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO SUBCUTÂNEA II

Material: Luvas de Procedimento, seringa (1 a 3 mL), agulha hipodérmica (calibre 22 a 30 G), substância a ser administrada, álcool etílico 70%, algodão ou gaze.

Procedimento:

1. Preencha a seringa com quantidade de substância apropriada para a dosagem;
2. Realize a contenção o rato;
3. Crie uma dobra de pele com o dedo polegar e indicador (movimento de pinça) na região dorsal do animal;
4. Limpe o local de administração com álcool 70%;
5. Insira a agulha na base da dobra da pele criada, com ângulo de aproximadamente 45 graus;
6. Aspirar a seringa para garantir a colocação correta da agulha, qualquer sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento incorreto. A falta de pressão negativa também indica que a agulha perfurou o lado oposto da pele, caso ocorra, remova a agulha e reposicione-a;
7. Administrar a substância em um movimento constante, firme e estável.

Figura 39 – Imagens do vídeo da administração de substâncias:
injeção subcutânea II



Fonte: Zanatto (2018).

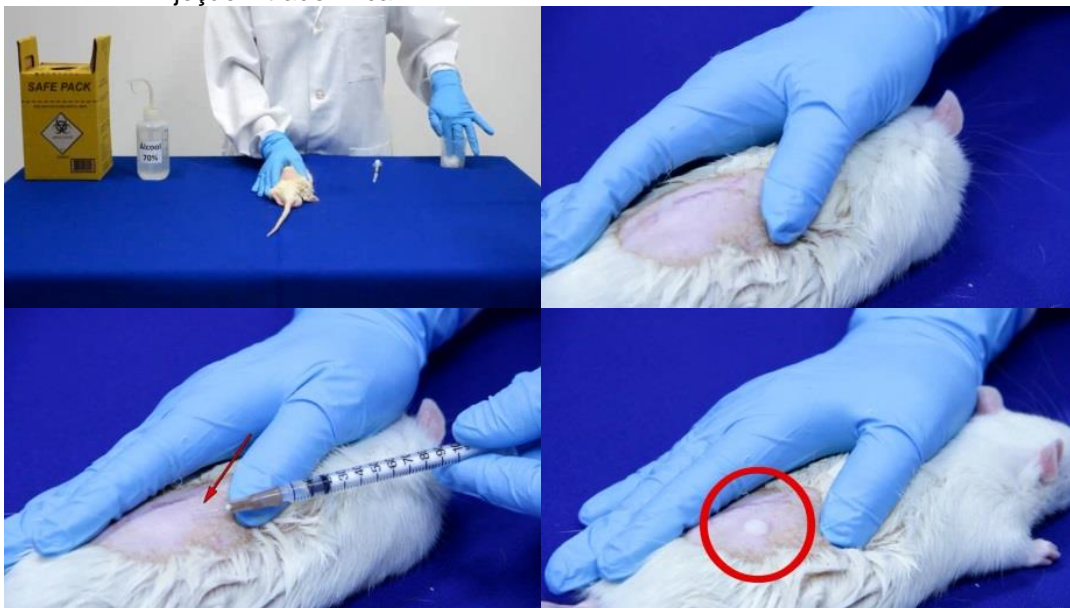
4.8.8 ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS: INJEÇÃO INTRADÉRMICA

Material: Luvas de Procedimento, seringa (1 mL), agulha hipodérmica (calibre 25 a 30 G), substância a ser administrada, álcool etílico 70%, algodão ou gaze, máquina de cortar pelos ou creme para depilação.

Procedimento:

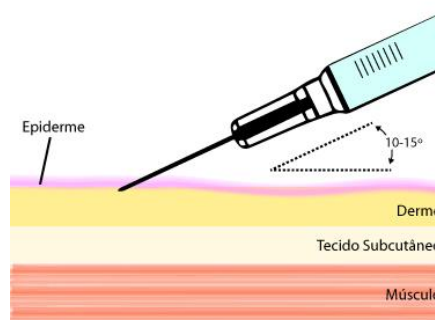
1. A injeção intradérmica deve ser executada com o animal anestesiado ou sedado;
2. Remova os pelos no dorso do animal e limpe a área com álcool etílico 70%;
3. Insira a agulha entre as camadas da pele (epiderme e derme) no dorso do rato com um ângulo entre 10 e 15 graus;
4. Aspirar a seringa para garantir a colocação correta da agulha, qualquer sinal de sangue no canhão da agulha indica posicionamento incorreto, caso ocorra, remova a agulha e reposicione-a;
5. Administre a substância lentamente, alcançando um volume máximo de 100 μ L por sítio de injeção, para evitar dano tecidual;
6. A correta execução da técnica resulta em uma pequena área circular entumecida.

Figura 40 – Imagens do vídeo da administração de substâncias:
injeção intradérmica



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 41 – Imagem ilustrativa de angulação correta
para a administração de substâncias
por injeção intradérmica
Injeção Intradérmica



Fonte: Zanatto (2018).

4.9 TÉCNICAS ANESTÉSICAS: BLOQUEIO DO NERVO CIÁTICO (ANESTESIA LOCAL DO MEMBRO PÉLVICO)

Material: Luvas de procedimento, seringa carpule com refluxo (seringa de dentista), agulha longa ultra-fina, blister de cloridrato de bupivacaína 0,5%, álcool etílico 70%, algodão ou gaze.

Procedimento:

1. Realizar uma leve contenção física com a mão sobre o dorso do animal;
2. Limpe o local de administração com álcool 70%;
3. Por palpação identifica-se a patela, a epífise do fêmur (próximo ao trocanter maior) e a coluna lombar como referências anatômicas;
4. Traçar um triângulo imaginário unindo a epífise do fêmur e a patela com as primeiras vértebras caudais;
5. Introduzir a agulha com ângulo de aproximadamente 45 graus na posição caudal ao fêmur apontando na direção cranio-medial;
6. Injetar 1 mL de anestésico local (cloridrato de bupivacaína 0,5%) usando uma seringa de dentista e agulha longa ultra-fina;
7. Aproximadamente dez minutos após a injeção perineural, é possível observar a interrupção do estímulo nervoso pela perda do movimento do respectivo membro pélvico. O membro contrário pode ser utilizado como controle.

Figura 42 – Imagens do vídeo da anestesia local do membro pélvico (bloqueio do nervo ciático)



Fonte: Zanatto (2018).

4.10 ACESSO AO PORTAL LABIQ – BPEA

Todo o conteúdo desenvolvido ao longo do presente trabalho pode ser acessado diretamente pelo hiperlink do portal BPEA: <http://bpeanimal.iq.usp.br/>, o acesso pode ser feito a qualquer momento através de dispositivo provido de conexão de internet, o ambiente virtual é otimizado para todas as plataformas, inclusive microcomputadores, celulares e *tablets*.

O acesso pode ser facilitado ainda através de *QR code*, que é um código de barras bidimensional que pode ser utilizado em qualquer smartphone equipado com câmera.

Figura 43 – *QR code* para acesso do portal BPEA



Fonte: Zanatto (2018).

Figura 44 – Screenshot da página principal do portal BPEA

HOME
CONTATO
CADASTRE-SE JÁ
LOGIN

Boas Práticas em Experimentação Animal

Procedimentos em Ratos de Laboratório



BPEA

Como Eleger a Técnica?

Volumes

Vias

Materiais e Instrumentos

Técnicas de Contenção

Coleta de Sangue

Administração de Substâncias

Técnicas Anestésicas

Equipe

Referências

MÉTODOS SUBSTITUTIVOS AO USO DE ANIMAIS VIVOS NO ENSINO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA: PROCEDIMENTOS EM ROEDORES DE LABORATÓRIO

O presente projeto tem como objetivo propor alternativas e produzir material didático impresso e em mídia digital, na área de Animais de Laboratório, para ser disponibilizado aos estudantes de graduação do curso de Medicina Veterinária, visando estimular e motivar o aprendizado de técnicas de contenção, administração de substâncias e coleta de sangue em animais de laboratório.

Inicialmente a proposta abordará as principais técnicas utilizadas para ratos, uma vez que é uma das espécies de animais de laboratório mais utilizadas em pesquisa.



Projeto de mestrado do aluno:

Dennis Albert Zanatto

VPT FMVZ USP

Fonte: Zanatto (2018).

5 Discussão

5 DISCUSSÃO

A utilização de vídeos para fins educativos traz novas perspectivas e abordagens para uma infinidade de assuntos diversos, pois se caracteriza por ser uma forma tecnológica, criativa e sistemática de apresentar produtos e ideias. Além disso, cada vez mais, no âmbito educacional, há um aumento da preocupação na assertividade da abordagem e da aproximação da linguagem com a realidade do aluno, tornando mais eficiente e adequando o modelo de aprendizado à tendência de desenvolvimento tecnológico global (HOOPER; RIEBER, 1995).

Atualmente, existe uma tendência da sociedade na substituição dos livros por telas, sejam elas de *smartphones*, *tablets*, computadores ou leitores digitais de livros. Ainda neste propósito, os grandes e volumosos textos dão lugar as imagens didáticas e infográficos ilustrados e explicativos (MASATS; DOOLY, 2011). Assim, o ensino deve acompanhar as mudanças da sociedade para que o conhecimento e o aprendizado possam ser eficientes e alcançar maior proximidade com os alunos.

Cada vez mais a tecnologia transforma o formato do ensino, ou seja, a maneira como o conhecimento e as informações são transmitidas. Na era da digitalização da educação, a tecnologia permite que tanto os professores quanto os alunos possam interagir de formas nunca antes imaginadas. Atualmente os estudantes integram suas atividades com serviços e equipamentos tecnológicos o tempo todo, utilizando diariamente meios de comunicação e difusão de informação através de aplicativos de troca de mensagens, *e-mail*, internet; garantindo um ensino mais dinâmico e fluido, facilitando o aprendizado e mudando a forma de comportamento da sociedade, alterando a forma que o estudante interage com o mundo (GÜNTHER, 2005).

Em uma aula tradicional, o conteúdo existe de forma estritamente presencial, finita, e está suscetível a variações, nas quais o professor ou os recursos e instrumentos de ensino podem resultar em aulas diferentes umas das outras, prejudicando a reprodutibilidade e padronização do aprendizado. Por outro lado, a apresentação de materiais didáticos em forma de vídeo permite que o aluno possa ter acesso à aula em qualquer momento, a partir de diferentes plataformas, em diversos locais de acesso. As vídeo-aulas são padronizadas, ou seja, todos os

alunos assistirão ao mesmo conteúdo, independentemente do momento, tornando o aprendizado e a interação entre alunos mais eficaz, correspondendo de forma mais personalizada à necessidade do estudante (DEY; BURN; GERDES, 2009).

Durante as aulas em vídeo, todas as etapas podem ser minuciosamente planejadas e o conteúdo julgado equivocado ou incorreto pode ser retirado e não apresentado aos alunos, o que seria impossível de ser feito, por exemplo, em aulas presenciais.

O aluno, ao assistir a uma vídeo-aula, pode pausar o vídeo em qualquer momento para observar com mais atenção um procedimento que ele julga complexo, respeitando inclusive a individualidade do aluno, pois cada indivíduo pode apresentar dificuldades no aprendizado que são diferentes e em momentos completamente distintos; atendendo assim as demandas de ensino de forma mais aplicada. O mesmo ocorre quando o aluno tem a possibilidade de rever um assunto ou trechos de uma aula repetidas vezes, objetivando absorver o conhecimento que lhe parece mais complexo. Esse recurso favorece o aprendizado individual e coletivo pois, ao mesmo tempo, não influencia no ritmo de aprendizado de outro aluno que não julga tão complexo o mesmo conteúdo do parceiro de sala, evitando assim constrangimentos, tornando-se uma forma mais confortável para o aprendizado do aluno e resultando em maior assimilação de conhecimento, inclusive psicologicamente. O conteúdo de informação em vídeo, ao contrário de uma aula expositiva tradicional, pode ser acessado de forma parcial, onde o aluno pode assistir aos vídeos de acordo com a sua necessidade e vontade. Esse recurso respeita o limite de tempo de atenção individual, que pode variar entre os alunos, sendo imprescindível para aquisição do conhecimento, levar em conta essas diferenças individuais ao ministrar aulas, observando se os estudantes estão assimilando o conteúdo relevante da aula em suas anotações (WILSON; KORN, 2007).

Conforme proposto nos objetivos do trabalho, o material didático foi introduzido como parte do programa de ensino da disciplina Criação de Animais de Laboratório (VPT2203), do quarto semestre, do curso de graduação em Medicina Veterinária da FMVZ/USP. Durante uma aula expositiva, o formato tradicional de ensino se dá pelo professor ou monitores apresentando um procedimento para um grupo limitado de alunos, por exemplo, a turma do segundo semestre de 2018 de graduação da disciplina Criação de Animais de Laboratório (VPT2203) continha 83

alunos matriculados. A dinâmica das aulas práticas foi realizada dividindo a turma principal em sub-turmas de 20 alunos e, posteriormente, em grupos menores de cinco pessoas cada, que acompanhavam um procedimento de cada vez em uma bancada distinta, de forma rotativa. Mesmo com a preocupação e empenho para individualizar o aprendizado, em um grupo de cinco pessoas, nem sempre todos os alunos estarão observando o procedimento a partir do melhor ângulo possível, ou até mesmo visualizando um procedimento minucioso e pequeno com a proximidade necessária. Tais limitações podem ocorrer inclusive pela estrutura física das salas de aula, e pode resultar em perda de qualidade de absorção de informação, por não conseguir atingir o aluno de forma assertiva. Limitação esta que não existe na apresentação de conteúdo audiovisual, pois cada aluno visualiza o procedimento sob a perspectiva do melhor ângulo possível, que foi escolhido pela equipe que preparou o conteúdo previamente, assim como as características de aproximação e focalização da imagem com o intuito de atingir a melhor didática possível.

O conteúdo disponível no portal BPEA foi apresentado para esta mesma turma de graduação, avaliando-se a interação dos alunos com o material proposto e, a partir das informações coletadas fossem direcionadas metodologias para corroborar a efetividade da melhoria do sistema de ensino. A metodologia aplicada foi apresentar o portal para os alunos em sala de aula e, posteriormente, disponibilizar o link de acesso para que eles estudassem em casa os vídeos dos procedimentos. Em um momento distinto, a assimilação de conteúdo foi avaliada através de prova prática, onde os alunos simularam os procedimentos contidos nos vídeos em um rato de borracha da marca KOKEN.

O KOKEN Rat Rat LM-046A é um modelo de borracha que pode ser utilizado para treinamentos de manipulação, administração de substâncias e coleta de sangue de forma humanitária, conforme descrito por Baumans em 2005, no *Workshop 3.1* de métodos alternativos em educação.

Segundo nossa percepção, somada aos resultados da avaliação prática, desde o primeiro contato com o material em vídeo, os alunos demonstraram atenção aumentada e interesse por se tratar de mídia diferenciada do tradicional e conteúdo proposto novo. Observou-se que a metodologia apresentada foi bem aceita pelos alunos da graduação, sendo eficaz para auxiliar no treinamento das habilidades necessárias para o manejo ético e humanitário dos animais de laboratório, bem como no aprendizado de procedimentos experimentais, sem a necessidade de usar

um animal vivo. Notou-se que a aula em vídeo elimina a inibição do aluno em executar algum procedimento, que poderia ser ocasionada pelo julgamento dos outros colegas em não possuir técnicas apuradas, ou seja, o aluno fica inibido com medo de equivocar-se e ser repreendido, o que não ocorre quando se pode assistir o conteúdo repetidamente, para que o aluno se sinta confortável o suficiente para aplicar seus conhecimentos numa avaliação. Posteriormente pretende-se elaborar questionados através de formulários *online* sobre as opiniões e sensações referentes ao aprendizado e a metodologia aplicada, a fim de avaliar o curso ministrado.

A utilização de modelo de borracha ao invés de animais vivos para o procedimento de avaliação de assimilação foi também muito bem recebido, evidenciando que tanto o aluno quanto o animal podem sofrer estresse desnecessário durante um procedimento corriqueiro. Algumas das vantagens observadas foram que com o uso do modelo de borracha na avaliação prática não há apreensão por parte do aluno de lesionar o animal ou da ocorrência de qualquer outro acidente. Ademais, todos os procedimentos com o modelo de borracha podem ser prontamente repetidos sem necessidade de preparação prévia, nem estresse ocasionado ao animal. Todos esses fatores adstritos consolidaram para que os alunos estivessem mais confortáveis comparando-se com as avaliações tradicionais de anos anteriores, resultando em uma melhor assimilação de conteúdo comprovada pelo bom desempenho dos alunos, assim como descrito por Knight em 2007.

Além do mais, observou-se que os alunos interessaram-se e utilizaram com facilidade o conteúdo didático em vídeo, atitude esta, que juntamente com as discussões sobre ética presentes nas aulas, proporcionaram uma reflexão aprimorada dos alunos sobre o bem-estar animal. De forma geral, o conteúdo em vídeo foi apontado como um ponto de destaque positivo na disciplina pelos próprios estudantes, evidenciando a percepção de que houve empenho em atender à diversidade de opiniões presentes entre os membros da turma.

Além de eficazes, os métodos alternativos humanitários de ensino representam uma economia financeira substancial em relação ao uso de animais de biotério, atendendo também às pressões econômicas nas universidades (KNIGHT, 1999 e KNIGHT, 2007). Neste caso, para treinar uma turma com 83 alunos seriam necessários aproximadamente 40 ratos, tendo um custo de manutenção bastante alto, a substituição por vídeos reduz ou até elimina este custo através de

refinamento da metodologia. O material didático produzido ainda será reprodutível durante muito tempo para qualquer pessoa que tenha acesso, podendo alcançar uma infinidade de pessoas. Além disso, o aluno terá a possibilidade de consultar esse material no futuro, caso necessite rever algum procedimento.

Por outro lado, deve-se levar em consideração que embora muitos alunos questionem o uso de animais vivos no ensino, outros temem que sua formação para o exercício da profissão possa ser prejudicada tendo como aprendizado apenas métodos substitutivos (MAGALHÃES; ORTÊNCIO FILHO, 2006).

Nesse sentido, observa-se que a opinião dos alunos diverge bastante ao julgarem a aplicação dos métodos substitutivos no ensino para a formação do médico veterinário. Por esse motivo, é fundamental que haja sempre discussão bilateral e democrática, com a finalidade de desenvolver métodos cada vez mais apurados e assertivos, para que as aulas atendam aos anseios e questionamentos dos alunos.

Para que haja efetiva mudança na forma de ensino, é imprescindível que os professores responsáveis e a coordenação dos cursos tenham interesse, acesso e conhecimento das muitas alternativas disponíveis, aplicando assim a melhor alternativa respeitando as individualidades de cada instituição. Cabe também a todos envolvidos experimentar as novas formas de ensino e divulgar as alternativas que tiverem eficácia comprovada, replicando-as tanto quanto possível. (FONTANELLI et al., 2015).

É imprescindível também que o ambiente universitário permita e estimule o debate com envolvimento multidisciplinar entre todos os envolvidos, incluindo as áreas de informática, tecnologia, educação, imagem, fisiologia, patologia, toxicologia, animais de laboratório, cirurgia e ainda quaisquer ciências que possam vir a necessitar de animais para seu desenvolvimento. Tal pluralidade de conhecimento é necessário para que seja possível desenvolver projetos que almejem a produção nacional de conteúdo alternativo com qualidade, e ainda avaliar posteriormente a eficácia do projeto proposto (BACHINSKI et al., 2015). Ao passo que exemplos positivos de substituição no ensino sejam implementados e aplicados com sucesso, a aceitação e a sensação de aprendizado tende a aumentar, podendo resultar na conscientização de que há possibilidade de manter a qualidade do conteúdo transmitido com a aplicação de métodos alternativos, associados ou não ao uso de animais vivos.

O crescente aumento de pessoas em todo o mundo que enfatizam as alternativas humanitárias ao uso de animais vivos no ensino é uma realidade, e cresce cada vez mais rapidamente, assim como o número de opções e meios de aplicação das alternativas em si. Neste contexto, as universidades e autoridades têm papel fundamental de decisão e estabelecimento de política: ou tentam agir contra a tendência mundial, apoiando-se em uma estabelecida e arcaica tradição de uso nocivo de animais, ou podem impulsionar as novas possibilidades que o campo de métodos substitutivos em ensino representa para o futuro do ensino em ciências.

A eficácia e qualidade do ensino utilizando-se de metodologias alternativas, como a utilizada neste trabalho, pode ser evidenciada pelo expressivo aumento de estudos publicados demonstrando que as metodologias humanitárias são tão ou mais efetivas que as aulas tradicionais, que ainda utilizam animais vivos (PATRONEK; RAUCH, 2007)

Uma revisão de literatura avaliando vinte e nove artigos sobre a aplicação de métodos de ensino humanitários demonstra que as estratégias substitutivas possuem várias vantagens perante os métodos tradicionais, como: a personalização e reprodutibilidade da aprendizagem; maior flexibilidade de uso; aumento da assimilação de habilidades clínicas, cirúrgicas e anestésicas; superior compreensão de processos biológicos complexos e de patologia sistêmica; aumento da eficiência de aprendizado; melhor preparação para utilização de laboratórios; efetiva compreensão dos resultados de exames em parasitologia, anestesiologia e anatomia; diminuição do estresse do aluno; aumento da satisfação e confiança do estudante; melhoria das habilidades de acesso à informação e comunicação entre os alunos; capacitação em informática e computadores; facilita a aprendizagem contínua de graduação e pós-graduação; possui maior eficiência de ensino e redução de custos; alcança maior conformidade com as diretrizes de uso de animais; elimina as objeções de consciência; integra perspectivas clínicas e de ética; estimula a compreensão de problemas relacionados a animais de estimação; entre outras vantagens (KNIGHT, 2007).

Baseado nas vantagens supracitadas, o treinamento produzido no presente trabalho teve como objetivo instruir de forma completa e correta sobre os principais procedimentos experimentais realizados em ratos de laboratório, aplicando-o como material didático na disciplina de Animais de Laboratório. No entanto, sabemos que em uma turma de estudantes de medicina veterinária haverá direcionamento

profissional individual para as diversas áreas de atuação e, apenas uma parcela dos alunos poderá atuar efetivamente na Ciência de Animais de Laboratório. Nesse sentido, o método aplicado é também um refinamento do protocolo de ensino, pois a plataforma ficará disponível e poderá ser revisitada de forma mais específica, aprofundada e assistida quando o aluno for finalmente trabalhar diretamente com animais em experimentação na sua função profissional posterior à conclusão do curso.

Além disso, o material didático produzido vai de encontro à determinação legal observada já anteriormente citada, presente na resolução normativa de número 38 do CONCEA, de 17 de abril de 2018, versando sobre o controle de experimentação animal, complementando no artigo segundo que “[...] as atividades didáticas que utilizem animais referenciados no art. 1º deverão ser integralmente substituídas por vídeos, modelos computacionais, ou outros recursos providos de conteúdo e de qualidade suficientes para manter ou para aprimorar as condições de aprendizado”. A metodologia empregada ainda se insere no período definido pela legislação, entendendo que o uso de animais para treinamento e desenvolvimento de habilidades em estudantes só se justifica em caso de inexistência de outra metodologia equivalente, ou seja, ao se desenvolver alternativas de qualidade em ambientes universitários, a normativa proposta atinge diretamente seu propósito legal no ensejo de reduzir a utilização de animais vivos para tal propósito.

O portal BPEA foi inicialmente desenvolvido com o intuito de iniciar uma linha de trabalho, a partir do desbravamento de caminhos que permeiam a multidisciplinaridade, com a finalidade de produzir material didático de alta qualidade para assuntos variados. Apesar de ter sido inicialmente aplicado a aulas de procedimentos em ratos de experimentação para alunos de graduação, objetiva-se posteriormente extrapolar a metodologia desenvolvida para outros procedimentos e conteúdos, tais como: procedimentos em camundongos; apresentação de metodologias específicas dos grupos científicos do Departamento de Patologia da FMVZ/USP; promover conteúdo educacional para a comunidade de medicina veterinária; e ainda, levar em consideração a possibilidade de prestar serviços educacionais para empreendimentos da área de educação, uma vez que o conteúdo gerado neste trabalho possui alta qualidade técnica científica e audiovisual, podendo tornar-se um projeto autossustentável, angariando recursos para garantir sua própria perpetuação e manutenção.

6 Conclusões

6 CONCLUSÕES

Baseando-se de forma ampla no contexto deste trabalho, é possível alcançar algumas conclusões sobre o desenvolvimento e aplicação da metodologia de uso do portal no curso de graduação em veterinária.

O material didático produzido conseguiu atender às muitas razões para se usar métodos alternativos em ensino, incluindo as discussões e considerações éticas, a padronização de conteúdo, o atendimento aos requisitos legais e as pressões econômicas.

A partir do desenvolvimento deste projeto, pode-se verificar que há possibilidade de renovar e atualizar a forma tradicional de ensino que já não atende completamente aos anseios da sociedade, transformando gradativamente a metodologia tradicional aplicada nas universidades. A partir da compilação do conhecimento de pessoas competentes e experientes que já compõe a própria instituição, pode-se desenvolver material didático rico em informações, resultando em uma melhor difusão do conhecimento.

Adicionalmente, observou-se que apresentar o conteúdo no ensino de uma forma mais moderna, mais próxima da realidade atual dos estudantes, reduzindo a distância entre a comunicação de professores e alunos foi uma metodologia efetiva.

A abordagem de assuntos já bem definidos, como os procedimentos com animais de laboratório, tornou-se também um importante momento para discussão e padronização de metodologias entre docentes, funcionários, estudantes e a comunidade, culminando na melhoria da prática dos próprios procedimentos para todos os envolvidos nesse processo, principalmente no que rege a valorização da ética e bem-estar no ambiente da faculdade.

A utilização de métodos substitutivos ao uso de animais engendra a preservação da ética, da moral e do respeito às diferenças no ambiente acadêmico. Através da aplicação de métodos humanitários também é possível alcançar uma economia financeira para a instituição, reduzindo significativamente a curto e médio prazo os custos de manutenção dos animais nos biotérios, assim como custos de assepsia e instrumentação para animais vivos. A aplicação de aulas virtuais, além de garantir o bem-estar dos animais e dos estudantes envolvidos, ainda possui o potencial de tornar o processo de aprendizado ainda mais viável economicamente para as universidades, tendo, portanto, motivação acadêmica, ética e financeira.

A composição da equipe técnica competente de trabalho, a consolidação do convênio firmado com o estúdio e plataforma do LABIQ, e toda metodologia utilizada para o desenvolvimento deste projeto concebeu um complexo sistema multidisciplinar que possui qualificação suficiente para impelir possíveis projetos futuros, como gravação e criação de portais com conteúdos de procedimentos em camundongos, apresentações de metodologias importantes para a comunidade científica e promover conteúdo educacional para a comunidade acadêmica, proporcionando um legado inédito para o ensino em medicina veterinária.

Finalmente, podemos concluir que este trabalho atingiu seu objetivo geral, por ter sido desenvolvida metodologia para captura, produção e edição de vídeos de alta qualidade que demonstrem os procedimentos propostos em ratos de laboratório, juntamente com tutoriais em formato de POPs contendo as etapas dos procedimentos. O portal BPEA foi criado e todo conteúdo produzido foi postado em seu ambiente, estando já disponível para acesso e utilização de toda comunidade.

Referências

REFERÊNCIAS

AASLAND, K. E.; SKJERVE, E.; SMITH, A. J. Quality of blood samples from the saphenous vein compared with the tail vein during multiple blood sampling of mice. **Laboratory animals**, v. 44, n. 1, p. 25–9, jan. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19535392>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

ANDRADE, A., PINTO, SC., and OLIVEIRA, RS., orgs. **Animais de Laboratório: criação e experimentação** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/sfwjtj/pdf/andrade-9788575413869.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

ARGMANN, C. A.; AUWERX, J. Collection of Blood and Plasma from the Mouse. **Current Protocols in Molecular Biology**, v. 75, n. 1, p. 29A.3.1-29A.3.4, jul. 2006. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/0471142727.mb29a03s75>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

ATCHA, Z.; ROURKE, C.; NEO, A. H.; GOH, C. W.; LIM, J. S.; AW, C.-C.; BROWNE, E. R.; PEMBERTON, D. J. Alternative method of oral dosing for rats. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, v. 49, n. 3, p. 335–43, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2877307&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

BACHINSKI, R.; ALVES, G.; FREITAS DE ALMEIDA SOUZA, M.; CARLI BONES, V.; MARIA GARCIA, R. de C.; GEBARA, R.; REQUE RUIZ, V. R.; DA SILVA ALONSO, L.; TRÉZ, T.; TOSTES OLIVEIRA, S.; ROCHA, A. A.; LEAL PAIXÃO, R.; PIZZIGATTI KLEIN, R.; GASPARETTO, D.; JUKES, N.; MATERA, J. M. On the

journey toward humane education in Brazil: First request for a total ban of harmful animal use in professional and higher education. **Alternatives to laboratory animals : ATLA**, v. 45, n. 5, p. 287–293, nov. 2017. Disponível em: <<http://www.atla.org.uk/2016-lush-lobbying-prize-winner-1r-institute-of-promotion-and-research-for-the-replacement-of-animal-experimentation-brazil>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

BACHINSKI, R.; TRÉZ, T.; ALVES, G. G.; DE C M GARCIA, R.; OLIVEIRA, S. T.; DA S ALONSO, L.; HECK, J. X.; DIAS, C. M. C.; COSTA NETO, J. M.; ROCHA, A. A.; RUIZ, V. R. R.; PAIXÃO, R. L. Humane Education in Brazil: Organisation, Challenges and Opportunities. **Alternatives to laboratory animals : ATLA**, v. 43, n. 5, p. 337–44, nov. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26551290>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

BALLS, M. Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. **Laboratory Animals**, v. 28, n. 3, p. 193–211, 24 jul. 1994. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1258/002367794780681714>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

BALLS, M. The origins and early days of the Three Rs concept. **Alternatives to laboratory animals : ATLA**, v. 37, n. 3, p. 255–65, jul. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19678726>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

BAUMANS, V. Alternatives to the use of laboratory animals in veterinary education. **ALTEX : Alternativen zu Tierexperimenten**, v. 23 Suppl, n. 2, p. 68–70, 2005. Disponível em: <http://www.altex.ch/resources/068089_11.pdf>. Acesso em: 9 nov. 2018.

BOGDANSKE, J. J. et al. **Laboratory Mouse**: Procedural techniques. Boca Raton:

CRC Press, 2010. 102 p. Disponível em:

<<https://books.google.com.br/books?id=QIW3BgAAQBAJ&pg=PR4&lpg=PR4&dq=978-1-4822-8218-4&source=bl&ots=fGNmbg3HuL&sig=Su4XabiaYanilWD-ey8sotCGW9A&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwjSzsV6MfeAhXMiZAKHYLKCnEQ6AEwAXoECAgQAQ#v=onepage&q=978-1-4822-8218-4&f=false>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Resolução normativa n. 33, de 18 de Novembro de 2016. **Procedimentos:** Roedores e Lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica. Disponível em: <http://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/resolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-CONCEA-n-33-de-18.11.2016-D.O.U.-de-21.11.2016-Secao-I-Pag.-05.pdf>. Acesso em: 9 nov. 2018.

BRASIL. Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.

Portal da Legislação, Brasília. Disponível em:

<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm>. Acesso em: 30 out. 2018.

COMMITTEE FOR THE UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS (United States). Institute For Laboratory Animal Research. **Guide for the care and use of laboratory animals**. 8. ed. Washington, D. C: National Academies Press, 2011. 246 p. Disponível em: <<https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

DE OLIVEIRA, D. T.; SOUZA-SILVA, E.; TONUSSI, C. R. Gingival vein puncture: A new simple technique for drug administration or blood sampling in rats and mice. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science**, v. 36, n. 2, p. 109–113, 2009. Disponível em: <[http://www.ceuaics.ufba.br/sites/ceuaics.ufba.br/files/2009.Gingival vein puncture. A New Simple Technique for Drug Administration or Blood Sampling in Rats and Mice.pdf](http://www.ceuaics.ufba.br/sites/ceuaics.ufba.br/files/2009.Gingival%20vein%20puncture.%20A%20New%20Simple%20Technique%20for%20Drug%20Administration%20or%20Blood%20Sampling%20in%20Rats%20and%20Mice.pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2018.

DEY, E. L.; BURN, H. E.; GERDES, D. Bringing the Classroom to the Web: Effects of Using New Technologies to Capture and Deliver Lectures. **Research in Higher Education**, v. 50, n. 4, p. 377–393, 22 jun. 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11162-009-9124-0>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

DIEHL, K.-H.; HULL, R.; MORTON, D.; PFISTER, R.; RABEMAMPIANINA, Y.; SMITH, D.; VIDAL, J.-M.; VORSTENBOSCH, C. Van De. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. **Journal of Applied Toxicology**, v. 21, n. 1, p. 15–23, jan. 2001. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jat.727>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

FITZNER TOFT, M.; PETERSEN, M. H.; DRAGSTED, N.; HANSEN, A. K. The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. **Laboratory Animals**, v. 40, n. 3, p. 261–274, 23 jul. 2006. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1258/002367706777611433>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

FONTANELLI, G. P. de C.; ORÇATI, G. S.; MARIN, D. S.; TEIXEIRA, P. S. K.; CIANCIO, R.; UGOLINI, R. V.; FILHO, R. P. de P. F.; SANTOS, F. A. M. dos; SILVIO, M. M. De. Mídias eletrônicas como metodologia ativa no ensino de anatomia veterinária. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia Zootecnia do CRMV-SP**, v. 13, n. 2, p. 22–27, 2015. Disponível em: <<https://www.revistamvez->

crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/download/28127/29561>. Acesso em: 9 nov. 2018.

FORNI, M. Laboratory Animal Science: A Resource to Improve the Quality of Science. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. S1, p. 43–47, 16 ago. 2007. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11259-007-0096-2>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

GOLDE, W. T.; GOLLOBIN, P.; RODRIGUEZ, L. L. A rapid, simple, and humane method for submandibular bleeding of mice using a lancet. **Lab Animal**, v. 34, n. 9, p. 39–43, out. 2005. Disponível em: <<http://www.labanimal.com/laban/doifinder/10.1038/laban1005-39>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

GÜNTHER, J. Digital Natives & Digital Immigrants 1. Different Generations. p. 23–26, 2005. Disponível em: <<http://virtuni.eas.sk/rocnik/2007/pdf/fid001571.pdf>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

HART, M.; BLAKE, D.; DAVIS, M. **Mice biotechnology workshop**. p. 404–413, Atlanta, GA: 2015. Disponível em: <https://ursa.research.gsu.edu/files/2016/06/Mouse_workshop_handouts.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

HOFF, J. Methods of Blood Collection in the Mouse. **Lab Animal**, v. 29, n. 10, p. 47–53, 2000. Disponível em: <<http://www.lawte.org/materials/hoff.pdf>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

HOOPER, S.; RIEBER, L. P. Teaching with technology. **Teaching: Theory into**

practice, p. 154–170, 1995. Disponível em: <<http://www.nowhereroad.com/twt/>>.

Acesso em: 9 nov. 2018.

JUKES, N. Alternatives across Latin America: catalysing change in the curriculum.

ALTEX, v. 26, n. 1, p. 55–7, 2009. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19326034>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

KNIGHT, A. Alternatives to the Harmful Use of Animals in Physiology Teaching

Laboratories. n. February, 1999. Disponível em: <[http://www.famema.br/ensino/pos-](http://www.famema.br/ensino/pos-lato/docceua/CEUA_BIBLIOGRAFIA/Material_Eventos/Alternatives_to_the_Harmful_Use_of_Animals_in_Physiology_Teaching_Laboratories.pdf)

[lato/docceua/CEUA BIBLIOGRAFIA/Material Eventos/Alternatives to the Harmful Use of Animals in Physiology Teaching Laboratories.pdf](http://www.famema.br/ensino/pos-lato/docceua/CEUA_BIBLIOGRAFIA/Material_Eventos/Alternatives_to_the_Harmful_Use_of_Animals_in_Physiology_Teaching_Laboratories.pdf)>. Acesso em: 9 nov. 2018.

KNIGHT, A. The effectiveness of humane teaching methods in veterinary education.

ALTEX, v. 24, n. 2, p. 91–109, 2007. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17728975>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidados e manejo de animais de laboratório**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2017. 760 p.

LORELLO, O.; ORSINI, J. A. Chapter 1 - Blood Collection. In: ORSINI, J. A.;

DIVERS, T. J. **Equine Emergencies: Treatment and Procedures**. 4. ed. Amesterdã:

Elsevier, 2014. Cap. 1. p. 2-4. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0892-5.00001-5>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

MACHHOLZ, E.; MULDER, G.; RUIZ, C.; CORNING, B. F.; PRITCHETT-CORNING,

K. R. Manual Restraint and Common Compound Administration Routes in Mice and

Rats. **Journal of Visualized Experiments**, n. 67, p. 1–8, 26 set. 2012. Disponível

em: <<http://www.jove.com/video/2771/manual-restraint-common-compound->

administration-routes-mice>. Acesso em: 9 nov. 2018.

MAGALHÃES, M.; ORTÊNCIO FILHO, H. Alternativas ao uso de animais como recurso didático. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia Unipar**, v. 9, n. 2, p. 147–154, 2006. Disponível em: <<http://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/358/325>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

MARTINSEN, S.; JUKES, N. Towards a Humane Veterinary Education. **Journal of Veterinary Medical Education**, v. 32, n. 4, p. 454–460, dez. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16421828>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

MASATS, D.; DOOLY, M. Rethinking the use of video in teacher education: A holistic approach. **Teaching and Teacher Education**, v. 27, n. 7, p. 1151–1162, out. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tate.2011.04.004>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

McGILL UNIVERSITY ANIMAL CARE COMMITTEE. **Laboratory animal biomethodology workshop: module 2 - the laboratory rat: substance administration and blood collection**. Montreal: 2009. Disponível em: <<http://neurocndm.mcgill.ca/uploads/file/Handout%20Rat%20Module%202.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

McGILL UNIVERSITY. COMPARATIVE MEDICINE AND ANIMAL RESOURCES CENTRE. **Laboratory animal biomethodology workshop: module 1 - introduction to the laboratory rat**. Montreal: 2006. Disponível em: <https://www.mcgill.ca/cmrc/files/cmrc/cmrc_rat_module_1_handout_revised_2016.06_for_printing_1.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

MONTEIRO, K. M. **Refinamento de modelos experimentais para a diminuição do sofrimento animal e da variabilidade da resposta farmacológica**. 2016. 127 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

Disponível em:

<http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/322010/1/Monteiro_KarinMaira_D.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

MORTON, D. B.; JENNINGS, M.; BUCKWELL, A.; EWBANK, R.; GODFREY, C.; HOLGATE, B.; INGLIS, I.; JAMES, R.; PAGE, C.; SHARMAN, I.; VERSCHOYLE, R.; WESTALL, L.; WILSON, A. B. Refining procedures for the administration of substances. **Laboratory Animals**, v. 35, n. 1, p. 1–41, 24 jan. 2001. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1258/0023677011911345>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

NEBENDAHL, K. Routes of Administration. In: KRINKE, Georg J. **The Laboratory Rat: A volume in Handbook of Experimental Animals**. Amesterdã: Elsevier, 2000. Cap. 24. p. 463-483. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-012426400-7.50063-7>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

NIH OACU. **Rabbit technical procedures**. [Bethesda, MD: 20--?]. 6 p. Disponível em: <<https://oacu.oir.nih.gov/sites/default/files/uploads/training-resources/rabbit.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

NIH OACU. **Guidelines for Survival Bleeding of Mice and Rats**. [s.l: s.n.] 2015. cp. 2–5. Disponível em: <https://oacu.oir.nih.gov/sites/default/files/uploads/arac-guidelines/rodent_bleeding.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

PARASURAMAN, S.; RAVEENDRAN, R.; KESAVAN, R. Blood sample collection in small laboratory animals. **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, v.

1, n. 2, p. 87, 2010. Disponível em:

<<http://www.jpharmacol.com/text.asp?2010/1/2/87/72350>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

PATRONEK, G. J.; RAUCH, A. Systematic review of comparative studies examining alternatives to the harmful use of animals in biomedical education. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 1, p. 37–43, 1 jan. 2007.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17199490>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

PROCEDURES WITH CARE WEBSITE. **Administration of substances**. Disponível em <www.procedureswithcare.org.uk/>. Acesso em: 10 nov. 2018.

RAND, M. S. Handling, restraint, and techniques of laboratory rodents. **Methods**, 1996. Disponível em:

<<https://www.yumpu.com/en/document/view/36281117/handling-restraint-and-techniques-of-laboratory-rodents>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

RUSSELL, W. M. S.; BURCH, R. L. The Principles of Humane Experimental Technique. 1959. Disponível em:

<http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc>. Acesso em: 11 nov. 2018.

SADLER, A. M.; BAILEY, S. J. Validation of a refined technique for taking repeated blood samples from juvenile and adult mice. **Laboratory Animals**, v. 47, n. 4, p. 316–319, 4 out. 2013. Disponível em:

<<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0023677213494366>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

SHARP, P.; VILLANO, J. S. **The Laboratory Rat**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2012. 112 p. (Laboratory Animal Pocket Reference).

SHIRASAKI, Y.; ITO, Y.; KIKUCHI, M.; IMAMURA, Y.; HAYASHI, T. Validation studies on blood collection from the jugular vein of conscious mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, v. 51, n. 3, p. 345–51, 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3358984&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

SOUSA, A. M.; ASHMAWI, H. A.; COSTA, L. S.; POSSO, I. P.; SLULLITEL, A. Percutaneous sciatic nerve block with tramadol induces analgesia and motor blockade in two animal pain models. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 2, p. 147–152, fev. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2012000200009&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 9 nov. 2018.

STEEL, C. D.; STEPHENS, A. L.; HAHTO, S. M.; SINGLETARY, S. J.; CIAVARRA, R. P. Comparison of the lateral tail vein and the retro-orbital venous sinus as routes of intravenous drug delivery in a transgenic mouse model. **Lab Animal**, v. 37, n. 1, p. 26–32, 1 jan. 2008. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/lab0108-26>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

STEWART, K.; SCHROEDER, V. A. Rodent Handling and Restraint Techniques. **Journal of Visualized Experiments**, p. 1–7, 2017. Disponível em: <<https://www.jove.com/science-education/10221/rodent-handling-and-restraint-techniques>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

TEMPLIN, J. S.; WYLIE, M. C.; KIM, J. D.; KURGANISKY, K. E.; GORSKI, G.;

KHEIR, J.; ZURAKOWSKI, D.; CORFAS, G.; BERDE, C. Neosaxitoxin in Rat Sciatic Block. **Anesthesiology**, v. 123, n. 4, p. 886–898, out. 2015. Disponível em: <<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00000542-201510000-00028>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

THALHAMMER, J. G.; VLADIMIROVA, M.; BERSHADSKY, B.; STRICHARTZ, G. R. Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. **Anesthesiology**, v. 82, n. 4, p. 1013–1025, 1995. Disponível em: <<http://anesthesiology.pubs.asahq.org/article.aspx?articleid=1950142>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

THIEL COLLEGE INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND UTILIZATION COMMITTEE. **Injection of laboratory animals**. Greenville, PA: [20--]. Disponível em: <<https://www.thiel.edu/assets/documents/academics/iacuc/IACUC-injection-of-laboratory-animals.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

TURNER, P. V; BRABB, T.; PEKOW, C.; VASBINDER, M. A. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, v. 50, n. 5, p. 600–13, set. 2011. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3189662>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

UBC - UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA ANIMAL CARE GUIDELINES: Tail vein injection in the mouse and rat. Vancouver: UBC Animal Care and Use Program, 2012. Disponível em: <<https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/ACS-2012-Tech03.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

UNIVERSITY OF SOUTH FLORIDA. **Routes of administration, volume, and**

needle gauges for drug administrations. Tampa, FL: 2009. Disponível em: <<https://www.usf.edu/research-innovation/comparative-medicine/documents/cmdc/c087-guidelines-routes-volumes-sites-needle-gauges.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

VALK, J. van der; DEWHURST, D.; HUGHES, I.; ATKINSON, J.; BALCOMBE, J.; BRAUN, H.; GABRIELSON, K.; GRUBER, F.; MILES, J.; NAB, J.; NARDI, J.; WILGENBURG, H. van; ZINKO, U.; ZURLO, J. Alternatives to the use of animals in higher education. The report and recommendations of ECVAM workshop 33. **ATLA, Alternatives to Laboratory Animals (United Kingdom)**, n. May, p. 39–52, 1999. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB1999005346>>. Acesso em: 9 nov. 2018.

UNIVERSITY OF WASHINGTON. **Animal Use Training Session Rat Lab Handout.** Washington, D.C. 2018. Disponível em: <<https://depts.washington.edu/auts/MouseLabHandout1-31-18.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

WILSON, K.; KORN, J. H. Attention During Lectures: Beyond Ten Minutes. **Teaching of Psychology**, v. 34, n. 2, p. 85–89, 5 jun. 2007. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00986280701291291>>. Acesso em: 9 nov. 2018.