



Universidade Federal de Santa Catarina
Pró-Reitoria de Pesquisa
Comitê de Ética no Uso de Animais

**Programa de enriquecimento ambiental para animais de laboratório
da Universidade Federal de Santa Catarina**

1. Premissas e objetivo:

Considerando que:

- I. Animais de laboratório são seres sencientes, passíveis de serem prejudicados com a presença de experiências negativas e com a ausência de experiências positivas;
- II. O uso de animais em pesquisa e ensino é norteado pelo princípio dos 3Rs e o refinamento nas pesquisas que envolvem seres sencientes passa pela promoção do máximo grau possível de bem-estar dos indivíduos;
- III. Todas as espécies de animais mantidas em cativeiro nas instalações de animais da UFSC devem ser alojadas e manuseadas em condições que minimizem as experiências negativas e promovam o bem-estar animal;
- IV. O enriquecimento ambiental (EA) é uma das estratégias utilizadas para refinamento das pesquisas uma vez que pode reduzir experiências negativas e promover bem-estar nos animais de laboratório;
- V. Considera-se enriquecimento ambiental não só alterações no ambiente físico onde os animais são alojados, mas também técnicas de manejo que priorizem o enriquecimento social e tornem as interações humano-animal mais positivas para os indivíduos;
- VI. O Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), através de suas Resoluções Normativas número 57 (06/02/2022) e 61 (02.05.2023) tornou o EA item obrigatório para o credenciamento das Instalações Animais de Roedores e Lagomorfos e peixes de laboratório (*Astyanax spp.*, *Tilapia spp.*, *Sarotherodon spp.*, *Oreochromis spp.*, *Danio rerio*), respectivamente.

VII. A CEUA/UFSC, por meio deste documento, estabelece a política e procedimentos na adoção de padrões mínimos de enriquecimento ambiental (EA) para animais de laboratório utilizados na pesquisa e ensino na Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

2. Escopo:

Esta política se aplica a todos os animais usados no ensino, criação e/ou pesquisa alojados nas instalações de animais da UFSC que estão sob a supervisão da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFSC).

3. Responsabilidades:

- I. É responsabilidade de qualquer pessoa envolvida no cuidado e uso de animais seguir esta política;
- II. O programa de criação e enriquecimento animal deve ser revisado regularmente pela CEUA / UFSC, pesquisadores e médicos veterinários para garantir que seja benéfico para o bem-estar animal e consistente com os objetivos do uso animal;
- III. A menos que haja justificativa científica **aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA / UFSC)**, que oponha a utilização de materiais ou práticas de enriquecimento ambiental, todos os alojamentos deverão conter pelo menos o mínimo disposto nesse Programa. Os pesquisadores devem propor tipos de enriquecimento que não interfiram nos seus objetivos de pesquisa. Aqueles que alegarem que materiais ou práticas de enriquecimento prejudicam seus experimentos devem fornecer justificativa científica para não adotarem o programa. Esta justificativa deve ser incluída no protocolo enviado à CEUA.
- IV. A total impossibilidade de uso de EA será tratada como procedimento estressante, em acordo com a literatura atual. Caso o experimento não possa fornecer o EA mínimo obrigatório, isso será contabilizado na severidade do procedimento, no protocolo enviado à CEUA.
- V. Os dispositivos de enriquecimento devem caber nas gaiolas sem aglomerar os animais. Dessa forma, deve-se sempre atentar ao espaço mínimo de cada animal por gaiola, determinado pelas normativas nacionais, adicionado a

recomendações de diretivas internacionais, se for o caso. Objetos de enriquecimento que, porventura reduzam a área física do compartimento, podem implicar em ajuste do número de animais por gaiola.

- VI. Os EAs devem ser de material lavável, melhor ainda esterilizável. Recomenda-se fortemente que sejam de origem certificada para seu fim. Devem ainda permitir as avaliações de saúde e bem-estar, e serem higienizados antes da reutilização. Nas gaiolas de camundongos recomenda-se deixar marcas olfatórias para reduzir brigas e o EA pode ter essa função. A equipe de cuidados com os animais é responsável pela administração do programa de enriquecimento, incluindo a substituição de dispositivos muito sujos, com mau funcionamento ou em más condições de funcionamento.
- VII. Para espécies que não são contempladas por essas diretrizes, um programa deve ser desenvolvido em consulta com os veterinários responsáveis pelo setor e designado e aprovado em protocolos submetidos à CEUA;
- VIII. Os itens de enriquecimento considerados mínimos devem ser de fornecimento obrigatório e sugere-se que os itens de enriquecimento adicional (ver Tabela) sejam acrescentados conforme as possibilidades e rotacionados.
- IX. Para exceções a essas diretrizes, os serviços especializados dos setores, através de médicos veterinários, biólogos e demais bioteristas, estará disponível para ajustes.

Diretrizes:

Tradicionalmente, a maneira como os animais de laboratório são alojados nos biotérios é motivada pela economia (uso mínimo de espaço e recursos), ergonomia (facilidade de manuseio e visibilidade dos animais), higiene e padronização. Isso resulta em condições de alojamento que restringem a expressão de um repertório amplo de comportamento. O avanço de discussões éticas na experimentação animal questiona tais critérios, estabelecendo o bem-estar dos indivíduos como uma preocupação preponderante no manejo dos animais. Como resposta, parâmetros ambientais – incluindo interações intraespecíficas e humano-animal - têm sido revistos em busca de um refinamento no cuidado de animais de laboratório.

Alinhado a tais princípios, o enriquecimento ambiental parte do pressuposto que a complexificação do ambiente confere aos indivíduos maior grau de controle e o poder de fazer escolhas no ambiente onde vive, permitindo a expressão de um repertório comportamental amplo e condizente com maior grau de bem-estar. A novidade, através da rotação e/ou substituição de tipos de enriquecimento melhora esses efeitos.

As estratégias de enriquecimento ambiental devem ser elaboradas de acordo com a espécie, linhagem, sexo e idade dos animais. Adicionalmente, devem ser relevantes do ponto de vista comportamental e terem baixo risco de promoverem experiências negativas. Por outro lado, o EA deve promover o bem-estar através de exercícios físicos, atividades motoras e desafios cognitivos. Para além disso, deve-se levar em conta a viabilidade de aplicação e aspectos básicos da rotina de manejo.

Considerando o acima exposto, e baseando-se também em estratégias já implementadas em outros países, o presente programa detalha brevemente os tipos de enriquecimento:

4. 1. Ratos e camundongos

4.1.1. Enriquecimento social

Para animais sociais como ratos e camundongos, a habitação em grupos é a prática de criação padrão. Os componentes básicos para alojamento de roedores podem ser: alojamento em grupos, material para ninho, abrigos ou caixas para ninho, oportunidades para forragear (buscar alimento) e, para ratos, espaços maiores.

Se o alojamento individual for necessário por alguma exceção, este deverá ser limitado ao período mínimo necessário e os indivíduos devem receber enriquecimento adicional. O alojamento individual de animais sociais deve ser uma situação de exceção e pode ser justificado por:

- I. Requisitos experimentais incluídos no protocolo aprovado pela CEUA;
- II. Animal isolado em grupo de coorte, como o último animal, ou animal extra enviado pelo fornecedor;

III. Reprodução, como uma única fêmea grávida (até o nascimento dos filhotes) ou ninhadas desmamadas;

IV. Incompatibilidade comportamental. Nesses casos, os animais deverão ter acesso visual, auditivo e/ ou olfativo aos demais animais coespecíficos.

V. Recomendação veterinária - os médicos veterinários podem exigir que os animais sociais sejam alojados individualmente por questões médicas veterinárias e/ou de bem-estar animal. As isenções de alojamento individual para fins de cuidados veterinários devem ser devidamente documentadas na ficha do animal. Nesse caso, a aprovação da CEUA não é necessária.

VI. Quarentena antes de entrar em uma instalação ou colônia condicionada quando não for recebido em pares ou grupos estabelecidos;

VII. Procedimentos que requerem anestesia:

a) Animais em pré-operatório: Nos casos em que seja necessário jejum antes de cirurgia ou outros procedimentos que exijam sedação ou anestesia, os animais poderão ser alojados individualmente pelo tempo necessário à execução do procedimento.

b) Animais em pós-operatório: Embora sempre que possível, os animais pós-cirúrgicos devam ser alojados em grupo, é aceitável alojar animais individualmente no pós-operatório até 14 dias para recuperação, observação e cicatrização da incisão.

Contrapartida aos animais sociais alojados isoladamente:

I. Providenciar enriquecimento ambiental adicional e/ou alimentar, exercício/libertação num recinto maior e/ou interação humana, salvo indicação científica.

II. Coespecíficos serão alojados na faixa visual, auditiva, olfativa e/ou tátil, sempre que possível. Se o tamanho da gaiola primária for o fator limitante para a capacidade de agrupamento, o responsável deve desenvolver um plano para atender à necessidade de gaiolas maiores.

III. A introdução com companheiros de gaiola poderá ser gradual.

IV. A consulta veterinária deve ser utilizada para determinar se podem ser encontrados companheiros de gaiola compatíveis.

4.1.2. Interação Humano-animal

A importância das interações humano-animais positivas deve ser amplamente reconhecida, e há crescente evidência de benefícios para o seu bem-estar. O manejo frequente e suave e as rotinas diárias têm um efeito positivo e calmante em algumas espécies. A interação com os manipuladores, como preparação e brincadeiras, assim como o treinamento de reforço positivo também é um exemplo de interação humana positiva.

A interação com ratos e camundongos deve ser implementada em qualquer tipo de experimento que envolva contenção desses animais. Para essas espécies, o **handling** de pelo menos 3 dias deverá fazer parte do período de habituação aos experimentos. A **técnica de tickling** foi validada como um enriquecimento social dinâmico para melhorar o bem-estar de ratos e deve ser implementada sempre que tal refinamento não envolva variáveis comportamentais que possam ser afetadas. O *tickling* é comprovadamente recomendado para ratos, mas não para camundongos.

4.1.3. Enriquecimento alimentar:

Roedores preferem buscar seu próprio alimento. Quando permitido pela proposta do estudo e resguardados os cuidados com problemas de contaminação, sementes podem ser espalhadas na cama, o que permite a busca pelo alimento. Outra forma de enriquecimento alimentar é espalhar sementes por cima do alimento peletizado. Esconder alimentos palatáveis em aparatos é amplamente recomendado. Sempre que possível e permitido em seu protocolo, ofereça alimentos alternativos além da ração peletizada.

Sementes como girassol ou nozes também podem ser utilizadas como reforço positivo em treinamentos. Elas podem ser oferecidas durante ou logo após um procedimento como contenção, injeção ou coleta de sangue.

O enriquecimento alimentar não deve ser a fonte principal de alimentação dos animais, a fim de não desequilibrar os níveis nutricionais recomendados, sendo dessa forma limitado ao máximo de 10% do consumo do animal. Tampouco é indicado em protocolos nutricionais.

4.1.4. Enriquecimento do ambiente físico

O **aumento do espaço**, propiciando diferentes níveis dentro da gaiola, ou o fornecimento de objetos, para os animais escalarem ou se exercitarem, também pode ser oferecido. Quando estão se movendo, camundongos preferem ficar em contato com uma parede e longe de espaços abertos. Fornecer divisórias na gaiola pode fazer o camundongo sentir-se mais seguro. Ratos e camundongos são animais noturnos e buscam esconder-se da luz e buscar abrigo, desta maneira o fornecimento de materiais para descanso e abrigo confere um maior controle do animal no alojamento. Da mesma forma, o fornecimento de material para confecção de ninhos é uma excelente forma de ampliar o repertório comportamental. No caso de ratos, uma caixa de nidificação sólida e opaca, com uma parte superior, pode ser colocada na gaiola, permitindo que eles a utilizem como plataforma. Aos ratos também pode ser oferecido abrigos com plataformas, o que possibilita uma maior complexidade estrutural no ambiente.

Os ratos precisam de espaço para se levantar, porque ficar em pé faz parte do repertório comportamental dessa espécie, sendo um dos comportamentos mais frequentes quando estão acordados e é, portanto, um comportamento fundamental para a espécie. As gaiolas convencionais têm em torno de 18 a 20 cm de altura e não são adequadas para o alojamento de ratos adultos, que podem atingir até 30 cm de altura quando ficam nessa posição. Portanto, grades elevadas devem ser oferecidas para ratos adultos que os possibilite levantar e explorar melhor o ambiente.

Camundongos machos alojados em grupo com altos níveis de enriquecimento podem estar mais predispostos a lutar para dominar recursos mais valorizados. Além disso, há evidências de que camundongos machos dominantes excluem outros machos de seu território e preferam alojamentos individuais, portanto, sugere-se formar grupos pequenos.

Material para confecção de ninhos: papel toalha, feno, tiras de papel ou blocos de algodão sem resíduos tóxicos.

Material para descanso e abrigos: máscaras descartáveis (feito redes), tubos compatíveis com o tamanho do animal (papel, pvc), flat ou iglu de polipropileno ou de papel.

Enriquecimento alimentar: sementes de girassol, aveia, nozes, podem ser utilizadas como recompensas em treinamentos e/ou semanalmente para quebrar a monotonia alimentar.

Materiais para mastigação: cereais, sementes, vegetais, frutas, nozes. Blocos de madeira, varetas, brinquedos de mastigação de plástico, nylon, poliuretano.

Material para exercícios: escadas, pêndulos, plataformas, rodas de corrida. Brinquedos de atividade, como cordas, objetos de borracha resistentes a mordidas que possam ser autoclavados podem ser introduzidos. No caso de rodas de corrida, devem ser usadas com cuidado, pois podem levar a comportamentos obsessivos.

Estimulação olfatória: Adicionar papel toalha após a limpeza da gaiola reduz a carga olfatória e encoraja o comportamento de nidificação. Essas são recomendações gerais entre linhagens comuns de ratos e camundongos. A preferência ou adaptação a determinados materiais pode variar segundo a linhagem ou gênero, dentro de uma mesma espécie.

Treats na troca de caixa: oferecer uma recompensa sempre que se trocar os animais de gaiolas, funciona como um reforço positivo e melhora a qualidade de vida. Isso pode ser oferecido na forma de contatos positivos com os tratadores ou guloseimas (sementes, nozes, etc).

Enriquecimento cognitivo: As recompensas podem ser escondidas dentro de outros aparatos, para que os animais tenham certo 'trabalho' para conseguir retirá-los.

Playpens: podem ser criados espaços de recreação, como gaiolas de coelhos, ou caixas grandes, contendo diversos tipos de brinquedos.

4.2. Coelhos

Os coelhos são normalmente tímidos e não agressivos, mas apresentam comportamentos defensivos quando assustados, incluindo atacar na frente da gaiola, bater e morder. Seus principais comportamentos incluem dormir, alerta, cochilar, cuidar, comer, locomoção, construção de ninho e roer.

O alojamento em grupos proporciona aos animais a oportunidade de um comportamento social mais próximo do natural, incluindo uma ampla oportunidade para

o exercício adequado, limpeza mútua e melhora no bem-estar geral. Nessas condições, os animais podem realizar uma higiene grupal, que é um comportamento importante e aumenta a coesão do grupo.

No entanto, o co-alojamento de adultos pode resultar em lutas e ferimentos repetidos, especialmente machos não conhecidos anteriormente entre si. Dessa forma, indivíduos com menos de 4 meses de idade (sexualmente imaturos) devem ser alojados em grupo por sexo se forem alojados no biotério por mais de 3 meses. Já animais com mais de 4 meses de idade (sexualmente maduros), a menos que previamente alojados socialmente e mostrados como compatíveis, devem ser alojados isoladamente. Tentativas de agrupar coelhos sexualmente maduros devem ser feitas sob supervisão veterinária. Os coelhos podem também ser alojados em pares com gaiolas interconectadas. Animais alojados individualmente devem ter contato visual e olfativo com outros coelhos. Nas baias para alojamento coletivo, recomenda-se a instalação de barreiras visuais.

Com relação à interação com cuidadores, a remoção frequente da gaiola para manuseio e o contato é recomendada assim como manter uma relação de carinho com os animais, manuseando-os com segurança e minimizando o estresse da contenção. Isso inclui jogos e cuidados com os animais, ao treiná-los usando métodos positivos baseados em recompensas.

Como os coelhos são herbívoros e têm um ceco grande, a alimentação regular de itens como feno de grama (cubos ou soltos), cenouras, folhas verdes e outros vegetais é benéfica para sua digestão e pode ser usada como enriquecimento ambiental. Além disso, como os incisivos e molares dos coelhos crescem continuamente, a mastigação permite o desgaste dos dentes.

Fornecer alimentos de uma forma que incentive os coelhos a procurar ou trabalhar por sua comida é uma boa ideia. Um exemplo pode ser uma bola de guloseima recheada com pedacinhos de cenoura ou outro alimento. Outro exemplo pode ser esconder folhas verdes em toda a sua gaiola, debaixo do feno e em

esconderijos para encorajá-los a procurar alimento. No caso ainda do feno, pode ser fornecido no topo da gaiola para que o animal fique em uma posição bípede para sua obtenção. Suplementos alimentares podem ser servidas em rotação, além da ração formulada balanceada. Agrados alimentares podem ser espalhados pelo local onde os animais estão confinados, para permitir a busca por comida, sempre que a proposta em estudo e o procedimento operacional padrão permitirem.

Além do feno, estudo demonstrou que o uso de forrageiras pode ser um bom enriquecimento ambiental. Ao utilizar três diferentes espécies de forrageiras: cana de açúcar (*Saccharum officinarum* sp.), amora (*Morus alba*) e rami (*Boehmeria nivea*), de forma simultânea, concluiu-se que o oferecimento de forragem como enriquecimento ambiental melhora o bem-estar de coelhos mantidos em gaiolas, caracterizado pela redução do tempo despendido na expressão de comportamentos anormais, de autolimpeza e em inatividade.

A dimensão dos recintos de alojamento deve permitir os diversos movimentos dos animais: correr, pular, saltitar e erguer-se nas patas traseiras. O exercício supervisionado fora do recinto primário num curral ou numa área segura designada podem ser benéficos para o animal, permitindo-o correr. Plataformas ou caixas colocadas entre 20 e 30 cm acima do chão fornecem um bom abrigo escuro. Bolas e pesos de polipropileno resistentes a mordidas servem como bons brinquedos, bem como correntes de aço inoxidável suspensas com madeiras penduradas. Grandes bolas de plástico que podem ser empurradas ao redor da gaiola, sinos e palitos de mascar que podem ser comestíveis ou feitos de madeira. Feno pode ser fornecido para a construção de ninhos e forrageamento. Galhos, gravetos e caixas de papelão não tóxicos devem ser fornecidos para os animais roerem. Caixas de nidificação podem ser preenchidas com feno, palha ou retalhos de papel para as fêmeas prenhes. Para as fêmeas reprodutoras, deve ser fornecido material de nidificação e uma caixa-ninho ou outro refúgio.

Os brinquedos podem ter um efeito benéfico sobre os animais no desenvolvimento do comportamento exploratório e do desempenho locomotor e visual.

Uma das razões pelas quais os animais brincam é para praticar as habilidades comportamentais de que necessitam para sobreviver. No entanto, os brinquedos têm um tempo de atração limitado – normalmente um dia. Um certo nível de exploração pode ser mantido trocando frequentemente os brinquedos, mas os brinquedos relacionados à alimentação ou ao aninhamento mantêm sua atração por mais tempo.

Em outro estudo, o enriquecimento ambiental aumentou o tempo de alimentação e ingestão de líquidos, promoveu o comportamento exploratório e reduziu o comportamento anormal em coelhos. Os níveis de fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) foram elevados em comparação ao controle, bem como o nível sérico de cortisol foi marcadamente reduzido e de dopamina elevado em comparação ao mesmo grupo. Além disso, o enriquecimento ambiental afetou a microbiota dominante: coelhos criados em gaiolas enriquecidas tinham mais microbiota característica de animais saudáveis em comparação com coelhos em gaiolas convencionais.

4.3. Peixes

Os peixes representam uma parcela importante dos animais de laboratório, com um número crescente de espécies utilizadas como organismos modelo em pesquisas. Ao manter animais em confinamento, as condições de alojamento desempenham um papel importante no bem-estar dos animais e o enriquecimento ambiental é um componente importante destas condições.

O enriquecimento baseado no ambiente e modo de vida de uma determinada espécie de peixe pode favorecer a exibição do repertório comportamental normal pelos peixes, que consiste em uma das cinco liberdades descritas para o bem-estar de animais em ambiente de cativeiro. Uma vez que o conhecimento sobre o repertório comportamental natural de diversas espécies de peixe utilizadas em laboratório é escasso ou inexistente, muitas vezes é difícil determinar se o enriquecimento está promovendo a exibição desses comportamentos normais. Entretanto, no geral, conhecemos ao menos o hábito e a história natural da espécie (se bentônica, pelágica, etc.), e assim um enriquecimento com elementos básicos pode ser feito.

- **Enriquecimento físico:** tal estratégia de enriquecimento pode ser criada com uma ampla variedade de características em diversos formatos e tamanhos, podendo ser classificadas em dois tipos principais: (1) **estruturas**, que podem fornecer abrigo ou simplesmente adicionar heterogeneidade e complexidade ao ambiente de criação. O enriquecimento estrutural pode inibir o canibalismo e comportamentos agressivos. Fornecer uma quantidade média (aproximadamente 50% de cobertura da área basal) de enriquecimento estrutural pode ser ideal para melhorar o bem-estar e a flexibilidade comportamental; e (2) **substratos**, que são mais apropriados para espécies que vivem ou utilizam o fundo, durante toda a sua vida ou em fases específicas da vida. Para algumas espécies utilizadas em estudos de reprodução, é necessário adicionar objetos ao tanque (substratos de desova) durante a fase de reprodução para coletar ovos, atendendo a um requisito biológico. É importante ressaltar, que no ambiente enriquecido é preciso reposicionar os elementos (pedras, canos) semanalmente para mudar o ambiente, ou este se tornará novamente monótono. Em **testes de toxicidade**, os procedimentos de enriquecimento que envolvam a adição de estruturas ao sistema de teste devem ser evitados, pois podem aumentar a área de superfície para a ocorrência de ligação química ou crescimento microbiano e, portanto, interferir potencialmente na exposição química da substância sob teste.
- **Densidade:** A densidade de indivíduos em aquários afeta o comportamento. No entanto, o benefício do enriquecimento social e dos tamanhos de grupo preferidos é específico da espécie e pode depender do nível de sociabilidade de uma espécie. Espécies altamente sociais, cardumes obrigatórios, podem mostrar forte preferência por formar grupos com membros da mesma espécie, por exemplo peixe-zebra. A agressão nessa espécie pode ser alta se estiverem em pequeno número (<6 indivíduos). Naqueles aquários de peixe-zebras, onde os peixes precisam ser alojados sozinhos ou em pares, usa-se barreiras perfuradas para manter contato visual e olfativo e fornecer outros enriquecimentos, como plantas, pode ajudar a reduzir o estresse. Os peixes são sempre mantidos em grupos, a menos que haja circunstâncias particulares que

isolem os indivíduos por razões veterinárias (por exemplo, tratamento de doenças) ou por razões comportamentais, como agressão causada por dominância. Baixas densidades de estocagem são usadas principalmente para evitar a superlotação e diminuir a carga biológica, reduzindo assim o estresse causado pela menor qualidade da água e a competição por espaço e alimentos. Alternativamente, foi demonstrado que densidades populacionais mais elevadas para algumas espécies (por exemplo, truta arco-íris) aliviam as respostas comportamentais relacionadas com o estresse. No entanto, poderá haver uma deterioração subsequente na qualidade da água, se o número de peixes for mantido a uma densidade demasiada elevada.

- **Qualidade de água:** Os peixes habitam um meio tridimensional complexo e são influenciados pelo seu ambiente num grau muito maior do que as espécies terrestres. Consequentemente, o controle dos parâmetros de qualidade da água, como oxigênio dissolvido, temperatura, pH, dureza e salinidade, é considerado importante para atender aos requisitos biológicos fundamentais das espécies de peixes.
- **Iluminação:** A luz, intensidade, comprimento de onda e quantidade (fotoperíodo) podem ter um grande impacto no comportamento dos peixes, desempenhando um papel crucial na sua ecologia comportamental. Além disso, os sistemas de iluminação podem ser controlados para fornecer uma transição cronometrada nos períodos de amanhecer/anoitecer. A mudança gradual e controlada nos níveis de luz elimina o estresse potencial dos peixes na forma de uma resposta de sobressalto causada por mudanças repentinas na intensidade da luz. Para espécies onde os fatores ambientais (por exemplo, ciclos lunares) atuam como desencadeadores da desova, poderá ser possível implementar tais procedimentos para melhorar a reprodução e, portanto, proporcionar enriquecimento ambiental. A utilização de lâmpadas de “luz diurna” que produzem um espectro de luz mais natural também pode proporcionar um ambiente mais natural para os peixes. O cuidado para combinar a intensidade da luz na superfície com aquela encontrada na natureza garantirá que as

espécies que vivem rotineiramente em profundidade ou em águas turvas não sejam indevidamente estressadas por luz abertamente intensa, mas beneficiem do ambiente espectral correto.

- **Tanques ou vazões:** O fornecimento de taxas de fluxo muito mais altas ou o uso de bombas submersíveis para impulsionar o fluxo de água traria vários benefícios.
- **Alimentação viva,** principalmente para estágios larvais de peixes: além de fornecer uma fonte ideal de nutrição durante o início crítico da vida, a comida viva promove uma gama mais ampla de comportamentos (por ex. forrageamento e captura de alimentos e interações predador-presa) que se qualificam como enriquecedores ambientais.

A tabela abaixo resume as principais estratégias para enriquecimento ambiental que devem ser implementadas nos laboratórios da instituição.

Espécie	Enriquecimento ambiental mínimo	Enriquecimento ambiental adicional	Observações
Camundongos	Um material de nidificação associado a um material de abrigo	<ul style="list-style-type: none"> • Sementes • Materiais de mastigação • <i>Handling</i> • Materiais para exercício • Divisórias • Aumento de espaço 	Considerar a mudança na lotação de animais das caixas devido à introdução do material, seguindo o espaço recomendado pelas normativas. A higienização dos materiais laváveis pode ser feita semanal ou quinzenalmente, conforme protocolo do laboratório.
Ratos	Um material de abrigo e, em caso de fêmeas com filhotes, material de nidificação. A maior necessidade de ratos em gaiolas convencionais é por espaço. Dessa forma, gaiolas com tampas	<ul style="list-style-type: none"> • Sementes • Materiais de mastigação • <i>Handling</i> • Materiais para exercício • Aumento do espaço (caixas de 	É desejável que o material de enriquecimento fornecido varie a cada 7 a 21 dias, oferecendo ao animal

	altas e reduzir o número de animais por caixa, são recursos mínimos	coelhos) <ul style="list-style-type: none"> • Plataformas (double deck) • <i>Tickling</i> • <i>Playpens</i> 	novos estímulos periodicamente.
Coelhos	Material para ninho para fêmeas com filhotes Enriquecimento alimentar/ mastigação Feno e forragens Espaço	<ul style="list-style-type: none"> • Social • <i>Playpens</i> • Esconderijos e plataformas • Espaço externo para fazer exercícios 	
Peixes	Qualidade de água e densidade de indivíduos ideais para cada idade e ou espécie.	<ul style="list-style-type: none"> • Materiais para abrigo (tubos de PVC, plantas naturais e artificiais) • Materiais para aumentar a complexidade (plantas naturais ou artificiais, pedras estáveis, tubos de PVC, estruturas de plástico, cordas de fibra vegetal e etc.) • Substrato (cascalho natural, areia, imagem de cascalho) • Substrato de desova (vasos de cerâmica, tubos PVC). • Aumento da fluxo de água • Iluminação (intensidade e fotoperíodo, 	Fornecer em quantidade suficiente para todos os indivíduos. A higienização dos materiais conforme protocolo do laboratório. Reposicionar os elementos (pedras, canos, etc) semanalmente. Não utilizar enriquecimento estrutural em testes de toxicidade.

		mudança gradual e controlada de intensidade) <ul style="list-style-type: none"> • Alimento vivo 	
--	--	--	--

Referências:

Camundongos, Ratos e Coelho:

Animal Welfare Victoria. Enrichment for rabbits. 2020. Disponível em: <<https://agriculture.vic.gov.au/livestock-and-animals/animal-welfare-victoria/other-pets/rabbits/enrichment-for-rabbits#:~:text=Ideas%20for%20environmental%20enrichment%20for,from%20pet%20shops%20or%20online>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

Arechavala-Lopez, P.; Cabrera-Álvarez, M. J.; Maia, C. M.; Saraiva, J.L. Environmental enrichment in fish aquaculture: A review of fundamental and practical aspects. *Reviews in Aquaculture*, vol 14 (2), 2021.

Animal Care. Office of the Vice Chancellor for Research and Innovation. Environmental Enrichment. 2022. Disponível em: <https://animalcare.illinois.edu/policies/environmental-enrichment>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

Bailoo JD, Murphy E, Boada-Saña M, Varholick JA, Hintze S, Baussièrre C, Hahn KC, Göpfert C, Palme R, Voelkl B and Würbel H (2018) Effects of Cage Enrichment on Behavior, Welfare and Outcome Variability in Female Mice. *Front. Behav. Neurosci.* 12:232. doi:10.3389/fnbeh.2018.00232

Baumans, V. Environmental Enrichment for Laboratory Rodents and Rabbits: Requirements of Rodents, Rabbits, and Research, *ILAR Journal*, Volume 46, Issue 2, 2005, Pages 162–170, <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.162>

Bayne K, Würbel H. The impact of environmental enrichment on the outcome variability and scientific validity of laboratory animal studies. *Rev Sci Tech.* 2014 Apr;33(1):273-80. doi: 10.20506/rst.33.1.2282. PMID: 25000800.

Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica / Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. -- 1. ed. -- Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2023.

Boston University Office of Research. Environmental Enrichment (IACUC). 2023. Disponível em <<https://www.bu.edu/research/ethics-compliance/animal-subjects/animal-care/environmental-enrichment/>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

Cait, J., Cait, A., Scott, R.W. et al. Conventional laboratory housing increases morbidity and mortality in research rodents: results of a meta-analysis. *BMC Biol* 20, 15 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01184-0>

Ceballos, M.C.; Góis, K.C.R.; Carvalhal, M.V. de L.; Costa, F. de O.; Costa, M.J.R.P. Environmental enrichment for rabbits reared in cages reduces abnormal behaviors and inactivity. *Ciência Rural*. 46., 2016 1088-1093. 10.1590/0103-8478cr20150898.

Feng Y, Fan H, Liang X, Wang X, Gao G, Gun S. Environmental enrichment changes rabbits' behavior, serum hormone level and further affects cecal microbiota. *PeerJ*. 2022 Mar 9;10:e13068. doi: 10.7717/peerj.13068. PMID: 35287345; PMCID: PMC8917805.

Hinchcliffe JK, Jackson MG, Robinson ES. The use of ball pits and playpens in laboratory Lister Hooded male rats induces ultrasonic vocalisations indicating a more positive affective state and can reduce the welfare impacts of aversive procedures. *Laboratory Animals*. 2022;56(4):370-379. doi:10.1177/00236772211065920

LaFollette MR, O'Haire ME, Cloutier S, Blankenberger WB, Gaskill BN. Rat tickling: A systematic review of applications, outcomes, and moderators. *PLoS One*. 2017 Apr 6;12(4):e0175320. doi: 10.1371/journal.pone.0175320. PMID: 28384364; PMCID: PMC5383284.

Makowska IJ, Weary DM. A Good Life for Laboratory Rodents? *ILAR J*. 2021 Sep 24;60(3):373-388. doi: 10.1093/ilar/ilaa001. PMID: 32311030.

Marcotte M, Bernardo A, Linga N, Pérez-Romero CA, Guillou JL, Sibille E, Prevot TD. Handling Techniques to Reduce Stress in Mice. *J Vis Exp*. 2021 Sep 25;(175). doi: 10.3791/62593. PMID: 34633376.

Mieske et al. (2022). Bored at home?—A systematic review on the effect of environmental enrichment on the welfare of laboratory rats and mice. DOI: 10.3389/fvets.2022.899219.

NC3Rs. Rat playpens for improved welfare, 2021. Disponível em <<https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/rat-playpens-improved-welfare>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

NRC - National Research Council (2014). Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório. Editora PUC/RS.

Purdue University. Office of Research. IACUC Policy Social and Environmental Enrichment Program for Research and Teaching Animals. 2022. Disponível em: <<https://www.purdue.edu/research/oevprp/regulatory-affairs/animal-research/docs/policies/Social%20and%20Environmental%20Enrichment%20Program%20for%20Research%20and%20Teaching%20Animals.pdf>> Último acesso em 20 de junho de 2024.

University of California, Merced Institutional Animal Care and Use Committee Policy. Animal Housing and Environmental Enrichment. 2018. Disponível em <https://rci.ucmerced.edu/sites/rci.ucmerced.edu/files/documents/iacuc_policy_110_.pdf>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

Ratuski, A. S.; Weary, D. M. Environmental Enrichment for Rats and Mice Housed in Laboratories: A Metareview. *Animals*, v. 12, n. 4, p. 414, 9 fev. 2022. DOI: 10.3390/ani12040414

The University of Mississippi. Laboratory Animal Environmental Enrichment. Disponível em <<https://www.research.olemiss.edu/sites/default/files/Environmental%20Enrichment%20Plan.pdf>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

UCI Office of Research. IACUC Policy on Animal Housing and Enrichment. 2024. Disponível em <<https://research.uci.edu/animal-care-and-use/policies-and-guidance/animal-housing-and-enrichment/>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

University of North Carolina at Chapel Hill . Institutional Animal Care & Use Committee. Standard on Environmental Enrichment for Research Animals. 2021. Disponível em <<https://policies.unc.edu/TDClient/2833/Portal/KB/ArticleDet?ID=132196>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

University of Southern California Institutional Animal Care and Use Committee. Environmental Enrichment Policy. 2023. Disponível em <<https://iacuc.usc.edu/wp-content/uploads/sites/8/2023/11/Environmental-Enrichment-IACUC-Policy.pdf>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

University of Wisconsin. Institutional Animal Care & Use Committee Guidelines. 2022. Disponível em <<https://uwm.edu/animal-care/wp-content/uploads/sites/404/2022/04/IACUC-Guidelines-Enrichment-Housing4.pdf>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

West Virginia University. Institutional Animal Care and Use Committee. WVU IACUC Guidelines: Environmental Enrichment for Animals. 2020. Disponível em <<https://oric.research.wvu.edu/files/d/e0883011-9c24-4286-8151-b992d8ea3666/environmental-enrichment-v-2.pdf>>. Último acesso em 20 de junho de 2024.

Peixes:

Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica / Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. -- 1. ed. -- Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2023.

Gallas-Lopes, M.; Benvenuti, R.; Donzelli, N. I. Z; Marcon, M A Systematic review of the impact of environmental enrichment in zebrafish. *Lab Animal*, vol 52, 2023.

Jones, N. A. R.; Webster, M. M.; Salvanes, A. G. V. Physical enrichment for captive fish: time to focus on the data. *Journal of Fish Biology*, vol 99 (3), 2021.

Willians, T. D.; Readman, S.F. Owen, S.F. Key issue concerning environmental enrichment for laboratory-held fish species. *Lab Animal*, vol. 43 (2), 2009.

Aprovado em: 04/10/2024