

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO COMPORTAMENTO E
BEM-ESTAR DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO CONVENCIONAIS**

Autor: Marcelo Pizzio Medina

PORTO ALEGRE

2011/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO COMPORTAMENTO E
BEM-ESTAR DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO CONVENCIONAIS**

Autor: Marcelo Pizzio Medina

**Trabalho apresentado como requisito
parcial para graduação em Medicina
Veterinária**

Orientador: Prof. Dr. André Silva Carissimi

Co-orientador: Lorena Floriani Orlandini

**PORTO ALEGRE
2011/2**

RESUMO

A preocupação com o bem-estar animal tem se tornado cada vez mais clara com o passar do tempo, inclusive na experimentação científica. Sabe-se que aumentando a complexidade dos ambientes social e físico de animais de laboratório, tornando-os mais próximos ao natural, há um incremento considerável no bem-estar desses animais, assegurando que os dados científicos sejam obtidos com maior qualidade e confiabilidade. O ambiente também influencia os estados comportamentais e fisiológicos de um animal. As condições das salas dos animais com relação à temperatura, umidade e ventilação; a construção e conteúdo das gaiolas; o espaço disponível para cada animal; o contato social e a alimentação são todos fatores importantes que determinam o comportamento dos indivíduos. Uma ferramenta para melhorar as condições de alojamento e que tem sido o foco de um grande número de estudos é o enriquecimento ambiental. O enriquecimento ambiental reduz o nível de estresse e aumenta o bem-estar dos animais ao permitir a manifestação dos comportamentos naturais das espécies.

O presente trabalho tem como objetivo analisar os principais efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento e bem-estar de animais de laboratório convencionais, abordando os diversos métodos de sua aplicação.

Palavras-chave: Enriquecimento ambiental, comportamento, bem-estar, animais de laboratório

ABSTRACT

The worry with animal welfare has become increasingly clear in the course of time, including in scientific experimentation. It is known that improving social and physical environment complexity, making them more naturalistic, there is an increasing in the animal welfare, ensuring that scientific data are obtained with higher quality and reliability. The environment also influences behavioral and physiological states of an animal. The animal room conditions concerning temperature, humidity and ventilation; construction and contents of the cages; space available for each animal; social contact and feeding are all important factors that determine individual behavior. A tool for improving housing conditions and which is the focus of a large number of studies is the environmental enrichment. Environmental enrichment reduces levels of stress and increases animal welfare by allowing the expression of natural behaviors of the species.

The present study aims to analyze the main effects of environmental enrichment on behavior and welfare of conventional laboratory animals, addressing different ways of its application.

Keywords: Environmental enrichment, behavior, welfare, laboratory animals

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Comportamentos normais e anormais de roedores e enriquecimento recomendado.....	26
-----------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Rato realizando o teste de campo aberto.....	21
FIGURA 2 – Aparelho para realização do teste do labirinto em cruz.....	22
FIGURA 3 – Camundongo que sofreu barbeamento por companheiro de gaiola.....	24
FIGURA 4 – Exemplo de abrigo para hamster.....	29
FIGURA 5 – Iglu com roda para correr.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AWIC Animal Welfare Information Center

BPA Bisfenol A

cm Centímetro

dB Decibéis

°C Graus Celsius

HHA Hipotálamo-hipófise-adrenal

ILAR Institute for Laboratory Animal Research

kHz Quilohertz

m Metro

m² Metro quadrado

NRC National Research Council

% Por cento

ppm Parte por milhão

PVC Policloreto de vinil

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	ALOJAMENTO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO	10
2.1	Macro ambiente	10
2.2	Micro ambiente	11
2.3	Ambiente estrutural	12
2.4	Ambiente social	12
3	ASPECTOS COMPORTAMENTAIS GERAIS	14
3.1	Abordagem comportamental	14
3.2	Atividade	14
3.3	Comportamento de ratos	15
3.4	Comportamento de camundongos	16
3.5	Comportamento de coelhos	17
3.6	Comportamento de cobaias	18
3.7	Comportamento de hamsters	19
3.8	Testes comportamentais	20
3.8.1	Teste do campo aberto.....	21
3.8.2	Teste do labirinto em cruz elevado.....	21
3.8.3	Teste do nado forçado.....	22
3.8.4	Teste do desamparo aprendido.....	22
3.9	Comportamento condicionado	23
3.10	Comportamentos anormais e indesejáveis	23
4	ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL	27
4.1	Métodos de enriquecimento	28
4.2	Enriquecimento ambiental e comportamento	30
4.2.1	Ratos.....	30
4.2.2	Camundongos.....	32
4.2.3	Coelhos.....	34
4.2.4	Cobaias.....	36
4.2.5	Hamsters.....	37
5	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

Com o passar do tempo, a preocupação com o bem-estar animal tem sido evidente, principalmente em relação ao uso de animais na experimentação científica (CLARK; RAGER; CALPIN, 1997). Tornar os ambientes social e físico de animais em cativeiro mais complexo ou mais próximo do natural é um meio amplamente reconhecido para aumentar o bem-estar. Com relação aos animais de laboratório, é importante que o ambiente de alojamento desses animais seja estudado e melhorado da melhor maneira possível, não apenas para aumentar o conforto desses animais, mas também para assegurar que resultados científicos confiáveis e de boa qualidade sejam obtidos (SHERWIN, 2004).

Através da análise da frequência e duração de comportamentos específicos espontâneos, é possível obter informações a respeito das necessidades e interesses dos animais. Sabe-se que os estados comportamentais e fisiológicos de um animal são influenciados pelo ambiente, com isso, a construção e conteúdo das gaiolas, espaço disponível para cada animal, contato social e alimentação são todos fatores importantes que determinam o comportamento dos indivíduos. Uma abordagem para melhorar as condições de alojamento e que tem sido o foco de um grande número de estudos é o enriquecimento ambiental.

O que realça a importância da realização de estudos a respeito do enriquecimento ambiental está no fato de que pesquisas que utilizam animais de laboratório e que fazem uso desse meio, permitem conhecimentos mais aprofundados sobre fisiologia, psicologia, desenvolvimento, efeitos terapêuticos e comportamentais. Além disso, vem sendo mostrado que os efeitos benéficos do enriquecimento ambiental em animais de espécies convencionais de laboratório podem ser obtidos sem a redução da precisão, reprodutibilidade e validade dos dados experimentais desses modelos experimentais. Também vem sendo mostrado que os métodos de enriquecimento não aumentam a variabilidade dos resultados entre os animais, não prejudicando a padronização dos dados experimentais. Contribuindo com tudo isso, ainda está o fato de o enriquecimento ambiental, ao permitir que os comportamentos naturais das espécies se manifestem, leva à redução do nível de estresse e ao aumento do bem-estar animal, contribuindo para o aumento da confiabilidade e reprodutibilidade dos dados experimentais.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo analisar os efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento e bem-estar de animais de laboratório convencionais, levando em consideração os diversos métodos de sua aplicação.

2. ALOJAMENTO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Num biotério, um alojamento adequado e um bom manejo são essenciais para o bem-estar animal, para a qualidade da pesquisa na qual os animais serão usados, e também para a saúde e segurança dos usuários desses animais (ALLMANN-ISELIN, 2000).

2.1 Macroambiente

O microambiente é aquele que está diretamente ao redor do animal. Em geral, está localizado dentro do macroambiente, tal como uma sala de animais. É importante manter condições ótimas nas diferentes salas dos animais dentro de um biotério, dado que estas afetam diretamente o microambiente (ALLMANN-ISELIN, 2000).

Com relação à temperatura e à umidade relativa do ar no ambiente de alojamento, mudanças bruscas podem ter efeitos indesejáveis num experimento devido ao aumento ou diminuição da atividade e do metabolismo dos animais. A termorregulação no rato de laboratório, por exemplo, foi revista por Gordon (1990), que diz que a faixa de temperatura que permite um ótimo desenvolvimento dos animais (20-26°C) coincide com aquela de suas preferências comportamentais. A ventilação deve ser ajustada de acordo com o tamanho e desenho da sala e também com a densidade de animais. Uma frequência de 10-15 trocas de ar por hora é aceito como um padrão geral (ALLMANN-ISELIN, 2000).

Da mesma forma, a luz pode influenciar a fisiologia, morfologia e o comportamento dos animais. O ciclo claro/escuro pode ser normal (luz durante o dia) ou reverso (luz durante a noite), dependendo do procedimento experimental. O ciclo claro/escuro normal deve ser de 12-14/12-10 horas. A intensidade de luz aceitável na sala é de 325-400 lux a 1 m acima do piso. Ao nível das gaiolas deve ser de no máximo de 130 lux de acordo com ILAR (2011) e Semple-Rowland; Dawson (1987).

Temperatura e luz são fatores especialmente importantes no alojamento de hamsters, uma vez que uma temperatura constante de 21-22°C juntamente com 14 horas de luz irá eliminar a hibernação desses animais (WHITTAKER, 1999).

Exposição a ruídos pode levar a uma ampla variedade de alterações em animais de laboratório. A intensidade de sons recomendadas não deve exceder 85 dB. É importante lembrar que alguns roedores podem ouvir sons de alta frequência (60-80 kHz) e a ultra

vocalização tem um papel fundamental nas interações sociais (PETERSON, 1980). Ruídos excessivos e intermitentes tendem a ser mais danosos do que ruídos contínuos (ILAR, 2011).

2.2 Microambiente

A qualidade do ar no interior das gaiolas é de igual importância à qualidade do ar no macroambiente. Os dois contaminantes mais comuns são a amônia e o dióxido de carbono. O nível aceitável de amônia não deve exceder 25 ppm, com seu principal efeito adverso sendo a irritação do trato respiratório, como demonstrado histologicamente por Gamble; Clough (1976).

O ILAR recomenda o uso de gaiolas com piso sólido para a maioria das espécies baseado em evidências sugerindo que esse tipo de piso é preferido pelos animais num teste de livre escolha.

Evidências de um estudo feito por Manser et al. (1995) sugerem que piso sólido de plástico, com cama, é benéfico para o bem-estar de ratos, e que a menos que haja razões convincentes para o uso de piso gradeado, este não deve ser usado.

As dimensões mínimas de gaiolas para a manutenção de animais de laboratório são especificadas nas leis dos diferentes países e nas diretrizes de organizações relevantes. Essas medidas e o número de animais por gaiola são listadas, por exemplo, em GV-SOLAS (1989) e ILAR (2011). No mínimo, um animal deve ter espaço suficiente para dar uma volta ao redor de si próprio e exibir posturas normais, deve ter pronto acesso à água e alimento, e deve ter cama limpa ou uma área desobstruída para se mover e descansar.

Por serem animais solitários, os hamsters podem ser alojados individualmente em gaiolas com cama de espiga de milho, papel macio ou raspas de madeira dura. O alojamento de colônias de hamsters pode ser bem sucedido quando os jovens são criados juntos. Animais agrupados devem ter esconderijos prontamente disponíveis dentro do alojamento. Por serem notórios na arte de escapar, o alojamento desses animais deve ser seguro. A temperatura ambiente deve ser de 18 a 21°C, com umidade relativa de 50 a 60% (SIROIS, 2008).

Os coelhos são geralmente alojados em gaiolas de aço inox ou plástico com piso de malha. Essas gaiolas abrem para frente, podendo ser colocadas em *racks* de gaiolas suspensas e conter uma bandeja para colocar o lixo. Esses animais toleram mais temperaturas frias do que as quentes, sendo que o alojamento deve ser mantido à temperatura entre 17 e 21°C com

umidade relativa entre 30 e 70%. Se expostos a flutuações excessivas de temperatura ou temperaturas maiores do que 29°C, necessitam de ventilação adicional e devem ser monitorados cuidadosamente para verificação de sinais de estresse pelo calor (SIROIS, 2008).

A cama deve fornecer uma superfície higiênica e que satisfaça todos os requisitos essenciais para a saúde e bem-estar dos animais. O material da cama deve ser escolhido tendo em vista sua capacidade absorvente, disponibilidade e baixo conteúdo de pó. Baseado nos achados de Wirth (1983), a madeira parece ser o material mais adequado para a cama de animais de laboratório. Baseado num teste de preferência, Blom et al. (1996) mostraram que o tamanho e/ou o formato das partículas podem ser os principais fatores na adequação da cama, sendo que a cama consistindo de fibras mais largas teriam preferência.

2.3 Ambiente estrutural

O ambiente estrutural consiste nos elementos que compõem o recinto primário (microambiente), ou seja, utensílios da gaiola, objetos usados como enriquecimento ambiental, itens para serem manipulados pelos animais e outros que ajudem na elaboração do ambiente. Dependendo da espécie e dos hábitos do animal, o ambiente estrutural deve incluir pranchas para descanso, prateleiras ou poleiros, brinquedos, materiais para forragem e para a construção de ninhos, túneis, balanços ou outros objetos que aumentem as chances de os animais manifestarem-se de acordo com os comportamentos típicos da espécie, aumentando o bem-estar destes (ILAR, 2011).

2.4 Ambiente social

As necessidades sociais dos animais são muito importantes. É no ambiente social onde geralmente ocorrem os contatos físicos e a comunicação entre coespecíficos, mesmo que em muitos casos haja comunicação, sem toque, entre indivíduos através de sinais visuais, olfativos e auditivos. Essas interações sociais são essenciais para o desenvolvimento normal em muitas espécies. Sempre que possível, os animais sociais devem ser alojados tendo contato físico com os coespecíficos. O contato social pode amenizar os efeitos de estresse (GUST et al., 1994), reduzir comportamentos anormais (REINHARDT et al., 1989), aumentar

as chances de realizar exercícios (WHARY et al., 1993), além de aumentar a manifestação do comportamento típico da espécie e a estimulação cognitiva.

No entanto, nem todos os membros de uma espécie podem ser mantidos em grupo, é preciso considerar que o alojamento social pode aumentar a incidência de ferimentos nos animais, provocados por brigas (BAYNE et al., 1995), e alterar funções fisiológicas e comportamentais (BERNSTEIN et al., 1974), sem contar que existem diferenças de compatibilidade entre os sexos em várias espécies (CROCKETT et al., 1994).

É recomendado o alojamento dos animais em grupos, porém quando for necessário alojá-los individualmente, devem ser providenciadas outras formas para compensar a ausência dos outros animais, tais como possibilitar um contato seguro e saudável com os funcionários responsáveis pelos cuidados, além de uma melhoria da estrutura do ambiente (ILAR, 2011).

3. ASPECTOS COMPORTAMENTAIS GERAIS

3.1 Abordagem comportamental

Comportamento pode ser considerado como as relações entre o organismo e o ambiente em que este se encontra, devendo ser ajustado de acordo com os requisitos de um ou ambos. Apesar de as condições ambientais poderem mudar drasticamente em um curto período de tempo, o repertório de comportamentos dos animais irá mudar apenas levemente de geração em geração. Isso permite o estudo do comportamento sob diferentes condições ambientais, incluindo as condições fornecidas no laboratório (CLASSEN, 2000).

Além da observação de sinais clínicos como indicadores de efeitos farmacológicos ou de toxicidade, o comportamento espontâneo pode ser quantificado por gravação periódica (a cada minuto, por exemplo), continuamente, ou por verificação da duração do comportamento em um período de tempo predeterminado. Para facilitar a avaliação e interpretação dos dados obtidos, as diferentes respostas comportamentais são geralmente atribuídas a diferentes categorias tais como comportamento não social, (por exemplo, comportamento de manutenção ou exploração), bem como comportamento social tal qual o relacionado ao sexo, agressividade, submissão ou de fuga (CLASSEN, 2000).

O melhor modo para definir o comportamento normal de um animal é construindo um etograma. Um etograma é como uma “impressão digital” comportamental que compila uma lista de ações e comportamentos classificados em categorias com significância funcional (DIXON; FISCH, 1998). Etogramas podem ser usados para avaliar o impacto e mudanças causadas pelo enriquecimento. Uma vez que o comportamento normal é definido, comportamentos anormais podem ser identificados e a sua relevância considerada. Um comportamento normal ou natural pode ser definido como qualquer comportamento aprendido com função de promoção da saúde, sobrevivência e reprodução de um animal em um certo ambiente (KEELING; JENSEN, 2002).

3.2 Atividade

A atividade animal implica tipicamente em atividade motora, mas também pode-se incluir a atividade cognitiva e a interação social. Os animais mantidos em ambiente de

laboratório podem apresentar um perfil de atividade mais limitada do que aqueles em liberdade, e sua capacidade de locomoção, como também o uso da dimensão vertical, devem ser considerados ao se determinar um alojamento adequado ou ao se avaliar a frequência ou a qualidade de uma atividade desempenhada por um animal. Sendo assim, devem-se evitar atividades forçadas que não visem objetivos terapêuticos ou que não sejam aprovadas por um protocolo. Na maior parte das espécies, a atividade física repetitiva, sem finalidade específica e que exclui outros comportamentos, deve ser evitada (AWIC, 1992).

3.3 Comportamento de ratos

Os ratos (*Rattus norvegicus*) são animais noturnos, portanto a visão é seu sentido menos desenvolvido, mas podem se adaptar prontamente a alterações no seu ambiente. A audição e o olfato são muito desenvolvidos e frequentemente esses animais farejam o ambiente em busca da fonte dos odores por eles sentidos. São animais altamente sociais e se dão bem quando colocados em gaiolas aos pares ou em grupos. Nas gaiolas, os principais comportamentos exibidos pelos ratos são os de mastigar e de se esconder sob a cama (cavar toca) (NRC, 1996).

O acasalamento geralmente ocorre durante a noite, sendo os machos bastante territoriais e capazes de sentir o odor de fêmeas no estro. Quando um macho é introduzido num grupo de fêmeas, a maioria delas entrará em estro no máximo em 72 horas. No entanto, se esse macho é removido da gaiola em até quatro dias da fertilização, e um outro macho for introduzido na gaiola, muitas das fêmeas irão abortar e entrar novamente no estro para acasalar com o novo macho em até 72 horas (BAKER, et al., 1979).

Uma pequena porcentagem de ratos, especialmente machos, desenvolverá tendências agressivas quando alcançar a puberdade. Entretanto, é provável que fêmeas alojadas juntas briguem mais do que machos na mesma situação. As fêmeas com ninhadas tendem a ser particularmente agressivas em relação a outras fêmeas. Em grupos de animais adultos, geralmente são criadas hierarquias, com o rato dominante sendo facilmente identificável. A maioria dos ratos é dócil e responde bem à manipulação regular e gentil. Eles usualmente apreciam a interação com os tratadores humanos. Ratos neonatos que recebem manipulação regular e gentil permanecem muito dóceis ao longo da vida (SIROIS, 2008).

Os ratos preferem ambientes nos quais eles possam vasculhar. Eles gostam de explorar e apreciam escalar. Atividades de construção de ninhos com frequência incluem criação de

locais onde possam se esconder. Os ratos consomem o alimento em pequenas refeições ao longo do dia. Entre itens de enriquecimento ambiental podem-se incluir objetos para escalar, ninhos, cama extra, tecidos, tubos e caixas para se esconderem (SIROIS, 2008).

3.4 Comportamento de camundongos

Os camundongos (*Mus musculus*) são animais tímidos, sociais e territoriais. Assim como os ratos, são animais noturnos, mas também podem ser ativos ao longo do dia (SIROIS, 2008).

Machos adultos com frequência brigarão, especialmente quando mantidos em alojamentos superlotados. A briga pode ser minimizada pela criação de ninhadas de machos juntos desde o desmame. Machos de algumas linhagens (BALB/c) são muito agressivos, podendo causar sérias lesões de briga na cauda ou na base desta, quando confinados juntos. As fêmeas raramente brigam, a menos que estejam protegendo os seus filhotes. Os camundongos alojados em grupos quase sempre desenvolvem uma hierarquia social, sendo que o camundongo que estabelecer uma posição dominante puxará os pelos das faces e do corpo dos outros animais. Quando manipulados adequadamente, quase nunca são agressivos, no entanto tendem a tentar morder mais do que os ratos (EVANS; MALTBY, 1989).

Fêmeas vivendo em grupos tendem a adquirir pseudogestação por várias semanas. Uma única característica de todos os camundongos é que as fêmeas são capazes de lactar mesmo sem estar gestando previamente. Se em um grupo de fêmeas, uma parir, as demais também apresentarão comportamento materno por algumas horas (EVANS, 2006).

Camundongos tendem a ser muito curiosos e podem se tornar peritos em escapar dos alojamentos. Os camundongos criam ninhos com material de cama, e retalhos de papel podem ser fornecidos com esse propósito. Caixas para esconder podem ser empregadas para aumentar o ambiente da gaiola para os animais. Coprofagia é um componente importante da nutrição (SIROIS, 2008).

3.5 Comportamento de coelhos

Em geral, os coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) são noturnos, quase sempre passando a noite e as primeiras horas da manhã andando em busca de alimentos. Os coelhos de estimação geralmente não exibem fortes tendências noturnas (BAYS, 2006).

Os coelhos domesticados mostram comportamento semelhante se mantidos similarmente aos seus ancestrais. No entanto, se os coelhos são mantidos em gaiolas, seus padrões de comportamento mudam consideravelmente primariamente do ponto de vista de suas atividades, como consequência do limitado espaço disponível (MARTRENCAR et al., 2001).

Coelhos raramente mordem, no entanto, quando alojados em grupo, podem desenvolver tendências agressivas, especialmente entre machos. As fêmeas também brigarão, a menos que criadas juntas desde jovens. Fêmeas são agressivas para protegerem seus ninhos. Coelhos ferozes e silvestres são propensos a viver em grupos de aproximadamente 12 animais de ambos os sexos que tendem a desenvolver hierarquias de dominância específica. Durante a estação de cruzamentos, os machos mostram características territoriais distintas (SIROIS, 2008).

Os coelhos tendem a se dar melhor em grupos de dois ou três do que sozinhos. Estudos mostraram que coelhos alojados em pequenos grupos exibem comportamentos que incluem o aumento na atividade e contato social, e que os indivíduos demonstram preferências por certos microambientes dentro do recinto. Os coelhos também se engajam em atividades amigáveis tais como descansar agrupados e manter cuidados recíprocos. Quando domesticados irão escalar em objetos, por exemplo, uma prateleira ou uma caixa, para explorar e descansar se possível (WHARY et al., 1993).

Comparando o comportamento de coelhos em crescimento em grandes e pequenos grupos Mirabito et al. (1999) observaram que coelhos em grupos menores (em gaiolas) passam mais tempo descansando, e que a frequência de locomoção, exploração e comportamento social foram maiores nos grupos maiores (em cercados). No entanto, Princz et al. (2005) relataram maior incidência de comportamento agressivo e lesões em coelhos alojados em grupos maiores.

O comportamento reprodutivo do macho inclui marcar objetos com urina ou com o queixo (glândulas submandibulares). O coelho cheira, lambe, acaricia e segue a fêmea, além de exibir sinalização com a cauda. Na presença de fêmeas desconhecidas os machos exibem comportamentos sexuais independente de as fêmeas estarem receptivas ou não. Se a fêmea

estiver receptiva, o acasalamento ocorre rapidamente. O comportamento sexual da fêmea pode ser observado assim que ela é colocada na gaiola de um macho. Quando receptiva sexualmente, a fêmea apresenta lordose e hiperatividade (STOUFFLET; CAILLOL, 1988).

Embora não sejam particularmente vocalizadores, esses animais podem gritar alto quando assustados ou machucados. Eles se comunicam uns com os outros por meio de toques e pancadas dos membros posteriores no chão para avisar o perigo. Coelhos são herbívoros e realizam coprofagia. Os silvestres consomem uma dieta diversificada de gramíneas, folhas, brotos, cascas de árvores e raízes. São notórios pela capacidade de consumir alface, repolho, raízes de vegetais e grãos de jardins em plantações (SIROIS, 2008).

3.6 Comportamento de cobaias

No habitat natural, as cobaias ou porquinhos-da-Índia (*Cavia porcellus*) vivem em áreas abertas e gramados. Elas não escavam as próprias tocas, em vez disso, usam tocas deixadas por outros animais ou procuram abrigo em áreas naturalmente protegidas. São animais sociáveis e tendem a viver em grupos (SIROIS, 2008).

As cobaias de estimação são dóceis e raramente mordem ou arranham. Diferentemente de outros roedores que são noturnos, elas são ativas na maior parte de período de 24 horas. Embora não agressivas, elas podem empreender esforços para escapar, quando assustadas. Alguns animais podem se imobilizar por períodos de até 20 minutos, quando assustados. As cobaias também vocalizam quando têm dor ou sob estresse e em resposta a outros estímulos, como o som de um saco de comida sendo aberto. Não pulam e não são propensas a escalar. São criaturas de hábitos e não respondem bem a mudanças na rotina dos cuidados (SIROIS, 2008).

Em um estudo, cobaias alojadas em grupos foram filmadas para determinar seus níveis de atividade em um período de 24 horas e foi observado que esses animais são ativos intermitentemente ao longo do dia e da noite, sem um período prolongado de descanso que poderia ser associado ao sono (WHITE, et al., 1989).

Os machos apresentam um acentuado comportamento de corte, que inclui andar ao redor da fêmea, cheira-la e lambe-la e exibir um movimento característico da região traseira, conhecido como “rumba” (COHN, et al., 2004). As fêmeas não exibem comportamento de construir ninho antes do parto. Os neonatos já nascem com os olhos abertos, com pêlos por todo o corpo e são ativos e alertas (HILLYER et al., 1997).

O comportamento sexual dos machos direcionados a suas mães e irmãs tem-se mostrado suprimido em condições de alojamento contínuo (HENNESSY et al., 2003a). No entanto, machos jovens (35 dias de idade) que foram retirados de suas mães por um período de um a dois dias podem passar a exibir comportamentos sexuais direcionados a elas quando recolocados juntos (HENNESSY et al., 1996).

Apesar do fato que cobaias são de uma espécie precoce que requer pouco envolvimento maternal após o nascimento, influências sociais da mãe e de outros adultos têm sido apontados como tendo uma marcada influência no comportamento da ninhada (HENNESSY, 2003). Em um estudo de preferências sociais em cobaias jovens foi notado que ambos, filhotes machos e fêmeas, ficaram perto da mãe mesmo após o período pós-desmame. Os animais da mesma ninhada continuaram a passar o tempo juntos, e os “pré-adolescentes”, atingindo a maturidade sexual, não pareceram exibir comportamento social com novos possíveis companheiros de gaiola (HENNESSY, et al., 2003b).

As gaiolas devem conter uma pequena caixa ou grandes pedaços de tubos de PVC, para enriquecimento ambiental, que permitam aos animais exibirem comportamento normal de escavar. Coprofagia é um componente importante da nutrição de cobaias, que perderão peso se esse hábito for dificultado (SIROIS, 2008).

3.7 Comportamento de hamsters

Os hamsters (*Mesocricetus auratus*) são animais solitários e, como outros roedores, são animais noturnos. Eles são os únicos roedores capazes de hibernar sob certas condições. A hibernação pode ser estimulada com exposição a baixas temperaturas (<5°C), restrição alimentar ou encurtamento do ciclo de luz. Os hamsters acordam e se alimentam durante a hibernação, em ciclos de aproximadamente três dias (SIROIS, 2008).

Hamsters, em cativeiro, passam a maior parte da noite correndo em rodas (REEBS; MAILLET, 2003) e quase todo o dia dormindo em ninhos geralmente feitos de material da cama (KUHNNEN, 2002). Esses autores descobriram recentemente que hamsters preferem usar gaiolas com rodas e com um abrigo (um cano de PVC fechado numa das extremidades) do que gaiolas com apenas uma roda, e que esses animais fazem o ninho diretamente no abrigo em 50% das vezes.

Machos alojados em grupos passam mais tempo em proximidade com os companheiros, especialmente se já tiveram experiência prévia de grupo, e costumam dormir próximo a pelo menos um companheiro de gaiola (ARNOLD; ESTEP, 1990).

As fêmeas adultas são particularmente agressivas com outros adultos, tanto machos como fêmeas. Caso as fêmeas estejam muito estressadas, são muito suscetíveis a comer a própria ninhada. Brigas entre hamsters podem ser violentas e, com frequência, fatais. Os hamsters tendem a ficar estressados mais facilmente que outros roedores sob condições de superpopulação ou quando confinados em gaiolas muito pequenas. Animais alojados em grupo devem ter esconderijos prontamente à disposição dentro do alojamento (SIROIS, 2008).

Fêmeas podem se tornar agressivas ao redor da puberdade, quando a separação se torna necessária. Quando estão em estro, elas podem ser colocadas numa gaiola com o macho, no entanto, após a cópula, provavelmente atacam os companheiros (HAVENAAR et al., 2001).

Os comportamentos sexuais são semelhantes aos das outras espécies de roedores, exceto pelo fato de que os hamsters são os mais predispostos a exibirem canibalismo, principalmente sob condições de forte estresse e quando há um macho na mesma gaiola da fêmea com a ninhada (EVANS, 2006).

Os hamsters são notórios na arte de escapar, portanto o alojamento deve ser seguro. Eles facilmente escalam pelos lados da maioria das gaiolas. Hamsters carregam alimento nas bolsas das bochechas para o local favorito para se alimentar. Eles tendem a reservar uma área da gaiola para urinar e defecar (SIROIS, 2008).

3.8 Testes comportamentais

O fato de o comportamento de um animal ser influenciado pelo ambiente em que vive tem sido usado para estudar os seus mecanismos básicos, para localizar as áreas do cérebro envolvidas ou para identificar neurotransmissores que modulam esse comportamento. Ao expor animais a um ambiente padronizado ou a uma mudança definida nessas condições ambientais, pode-se induzir um comportamento específico ou uma mudança comportamental (CLASSEN, 2000). Os principais testes comportamentais utilizados em animais de laboratório, especialmente em ratos são os seguintes:

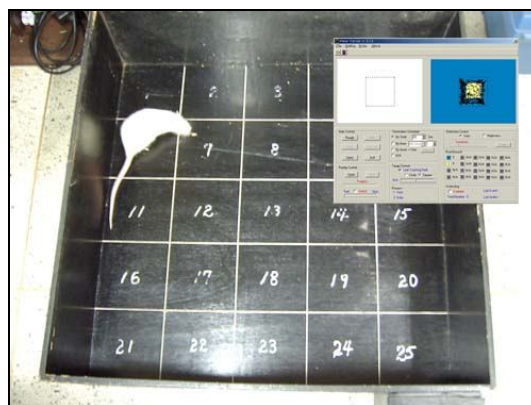
3.8.1 Teste do Campo Aberto

O teste do campo aberto (figura 1) foi desenvolvido inicialmente por Hall (1934) como o labirinto mais simples possível, uma grande arena circular (2,4 m de diâmetro), ou não, cercada por uma parede. Desse desenho, esperava-se reduzir ao máximo os estímulos ambientais, desse modo, facilitando a interpretação dos comportamentos mostrados por ratos. O piso do campo aberto era dividido em vários campos por círculos concêntricos e linhas radiais. O rato era colocado no campo aberto próximo à parede e os movimentos e comportamentos exibidos eram gravados.

3.8.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

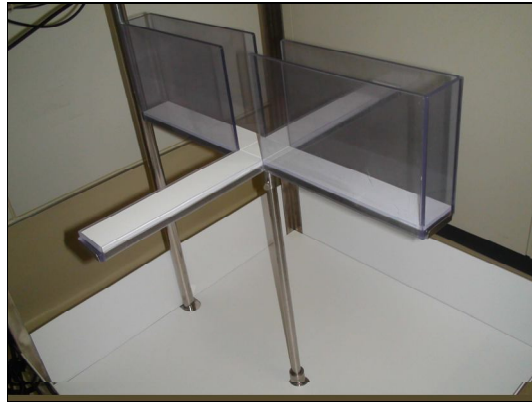
O teste do labirinto em cruz elevado é um teste para comportamento emocional ou ansiedade e foi desenvolvido com o objetivo de examinar compostos ansiolíticos que não fossem do grupo dos benzodiazepínicos. O aparato do teste consiste de um labirinto em formato de cruz, elevado (figura 2). Os dois braços opostos do labirinto tem paredes opacas, enquanto os outros dois braços são descobertos. Como ratos em estados mais emocionais preferem ficar embaixo do abrigo da parede, o tempo gasto nos braços descobertos podem ser usados como uma medida para um estado emocional ou ansiedade do animal (COLE; RODGERS, 1994).

Figura 1 – Rato realizando o teste de campo aberto



Fonte: Zeroboard [2011]

Figura 2 – Aparelho para realização do teste do labirinto em cruz



Fonte: Laboratory for Behavioral and Developmental Disorders

3.8.3 Teste do nado forçado

O teste do nado forçado foi desenvolvido para o estudo da depressão. Nele, o animal é colocado em tanque com água profunda do qual não é possível escapar. Após um período inicial no qual o animal tenta sair da água ativamente, ele pára de se mover e flutua apenas mantendo suas narinas para fora da água. Essa inatividade é considerada com um reflexo de aflição e mostrou ser reduzida por alguns antidepressivos (NOMURA et al., 1982).

3.8.4 Teste do desamparo aprendido

Assim como o teste do nado forçado, esse teste também é utilizado para o estudo da depressão. No teste do desamparo aprendido, os animais são expostos a choques no pé que induzem a uma tolerância com o passar do tempo (MARTIN et al., 1987).

3.9 Comportamento condicionado

Além dos comportamentos inatos ou espontâneos observados, uma variedade de padrões comportamentais pode ser aprendida. O aprendizado pode ser classificado em três categorias distintas: habituação, condicionamento de resposta ou clássico, e condicionamento operante ou instrumental (CLASSEN, 2000).

A habituação é considerado como uma forma primitiva de aprendizado devido a suas características não associativas (OVERSTREET, 1977).

O condicionamento de resposta ou clássico (Plavoviano) é baseado no fato de os animais construírem associações entre eventos sucessivos ou estímulos. Um desses eventos ou estímulos, o estímulo incondicional induz uma resposta, a resposta incondicional. Quando os estímulos incondicionais são pareados repetitivamente com um outro estímulo, o estímulo condicionado, o animal irá formar uma associação entre esses dois estímulos e finalmente o estímulo condicionado irá extrair a mesma resposta na ausência do estímulo não condicional; essa resposta é chamada de resposta condicionada (CLASSEN, 2000).

O condicionamento operante ou instrumental foi primeiramente descrito por Skinner. Quando uma resposta em particular é seguida por uma recompensa ou por um evento adverso, esse comportamento ocorre mais frequentemente na primeira situação e menos frequentemente na segunda. Quando, por exemplo, um animal numa caixa de Skinner pressiona uma alavanca e como consequência disto, recebe algum alimento, um animal faminto irá pressionar essa alavanca mais frequentemente para obter mais alimento. Condicionamento operante pode ser dividido em dois domínios diferentes: condicionamento operante livre e condicionamento operante de tentativas discretas. A primeira situação é essencialmente um teste de desempenho, sendo sua principal variável dependente a taxa de resposta que é normalmente avaliada cronogramas de reforço tais como 'proporção fixa' ou 'intervalo fixo' (MACPHAIL; LEANDER, 1981). Já a segunda situação reduz a importância das taxas de resposta para o benefício de um índice de precisão ou um índice de aprendizado tal como porcentagem de respostas corretas.

3.10 Comportamentos anormais e indesejáveis

Roedores tendem a desenvolver comportamentos anormais, que compreendem estereotípias (por exemplo, repetição de um conjunto particular de movimentos e/ou posturas

que não tem função ou objetivo) e comportamentos impulsivos/compulsivos (por exemplo, exibição de comportamentos diferentes para chegar a um mesmo objetivo) (KEELING; JENSEN, 2002).

Herbívoros e onívoros tendem a desenvolver estereotípias orais (morder, mastigar), enquanto que predadores desenvolvem mais atividades locomotoras (KEELING; JENSEN, 2002).

Pensa-se que esses comportamentos anormais se desenvolvem de motivação frustrada em desenvolver comportamentos particulares (WÜRBEL, 2006). Em camundongos, tal frustração pode resultar de impossibilidade de acesso a recursos ou uma incapacidade de escapar da gaiola (WÜRBEL; STAUFFACHER, 1998).

Camundongos de laboratório adultos não-reprodutores são tipicamente alojados em pequenos grupos de animais do mesmo sexo em gaiolas. Enquanto esse método de alojamento tem seus benefícios em termos de facilidade de atendimento e manejo, ele também pode ter efeitos adversos no bem-estar animal. Problemas incluem o desenvolvimento de comportamentos anormais, tais como estereotípias, e altos níveis de agressão em machos (VAN LOO et al., 2003).

“Barbeamento”, o ato de um indivíduo morder parte da pele ou vibrissas de outros animais e/ou de si próprio, pode ocorrer em camundongos de laboratório (figura 3) (MORTON, 2002).

Figura 3 – Camundongo que sofreu “barbeamento” por companheiro de gaiola



Fonte: GARNER, [2010]

Coelhos mantidos como animais de laboratório em isolamento social podem demonstrar sintomas fisiológicos de estresse, ou seja, comportamentos estereotipados, tais como mastigar a gaiola e morder as barras da mesma, que são aliviados pela presença de coespecíficos (CHU; MENCH, 2004).

Comportamento anormal e repetitivo é comumente visto em coelhos engaiolados e inclui escavar nos cantos da gaiola, morder a grade da gaiola, comer excessivamente e brincar com a fonte de água. (SIROIS, 2008).

A estrutura temporal dos comportamentos pode ser interrompida se há limitações ambientais para a completa expressão do repertório comportamental. Isso poderia resultar em um aumentado estado de estresse e em um animal sendo mais inquieto, isto é, mudando seu comportamento mais frequentemente e mostrando vários tipos de comportamentos anormais, tais como, morder as barras da gaiola, auto-limpeza excessiva e atividades estereotípicas (METZ, 1987).

Alojamento em grupo traz consigo o risco de interações negativas, tais como competição sobre recursos presentes no alojamento ou que porventura possam ser inseridos nele. Como resultado, adicionar enriquecimento ambiental a uma gaiola previamente sem nenhum enriquecimento pode algumas vezes causar elevada agressão em animais alojados em grupo (NEVISON et al., 1999).

Sempre que a competição aumenta o acesso ou utilização de algum recurso, a probabilidade de engajamento em interações competitivas será alta e interações agressivas são esperadas (ARNOTT e ELWOOD, 2008).

Comportamentos sociais danosos entre indivíduos de mesma espécie, tais como comportamento agonístico excessivo é um problema comum relacionado ao alojamento de roedores de laboratório machos em gaiolas (VAN LOO et al., 2002), levando a danos físicos, estresse e baixo bem-estar (HURST et al., 1999).

Ser capaz de reconhecer comportamentos anormais é a chave para determinar possíveis soluções comportamentais e de enriquecimento, como pode ser visualizado na tabela 1 (BRANDÃO, 2011).

Tabela 1 – Comportamentos normais e anormais de roedores e enriquecimento recomendado

Espécie	Comportamento normal	Comportamento estereotípico	Itens que forneçam
Camundongo	Noturno; Construção de ninho; Elaboração de toca; Tigmotaxia; FORAGEAMENTO; Ato de roer	Barbeamento; Brigas; Moer alimento; Morder grade; Auto-limpeza excessiva	Abrigo; Exercício; Material pra ninho; Possibilidade de mastigar e roer; Recompensas comestíveis
Rato	Noturno; Construção de ninho; Elaboração de toca; Tigmotaxia; FORAGEAMENTO; Coprofagia; Ato de roer	Barbeamento; Morder grade; Brigas; Moer alimento; Dar voltas em si mesmo	Abrigo; Material pra ninho; Possibilidade de mastigar e roer; Recompensas comestíveis
Hamster	Noturno; Exploração; Armazenamento de alimento; Brigas; Morder grade	Canibalismo; Brigas; Morder grade	Abrigo; Material pra ninho; Exercício; Possibilidade de roer; Recompensas comestíveis
Cobaias	FORAGEAMENTO; Socialização; Vocalização; Ato de roer; Coprofagia; Esconderijo	Brigas; Fuga em pânico; Bater os dentes; Morder grade; Barbeamento	Abrigo; Possibilidade de roer; Recompensas comestíveis

Fonte: BRANDÃO, 2007, p. 265

4. ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

Enriquecimento ambiental não é um conceito novo – já nos anos 1940-1960 eram realizados experimentos estudando os efeitos do enriquecimento e complexidade ambiental na habilidade cognitiva, desenvolvimento físico, e em funções e desenvolvimento do cérebro (BENNETT et al., 1964).

As primeiras investigações a respeito impacto do enriquecimento encontraram que roedores vivendo num ambiente complexo tem cérebros mais pesados que os animais de mesma espécie criados num ambiente não enriquecido. (DIAMOND et al., 1966).

Mais recentemente, no entanto, a adição de enriquecimento ambiental na gaiola de roedores tem sido recomendada como um modo útil para aumentar o bem-estar destes (SORENSEN et al., 2004).

Enriquecimento ambiental é definido como modificações do ambiente resultando numa melhoria do funcionamento biológico de animais em cativeiro (NEWBERRY, 1995).

A definição padrão de enriquecimento ambiental para animais de laboratório é “uma combinação de estímulos complexos inanimados e sociais” (ROSENZWEIG et al., 1978).

Uma outra definição de enriquecimento ambiental foi adotada por Chamove (1989) e Van de Weerd; Baumans (1995), em que enriquecimento ambiental é considerado como uma alteração no ambiente em que animais de cativeiro vivem a fim de fornecer oportunidades para estes expressarem mais do seu repertório de comportamentos naturais.

A ideia básica de enriquecimento ambiental está geralmente clara, que é aumentar a qualidade de vida de animais confinados (YOUNG, 2003). Segundo o mesmo autor, os objetivos mais comumente relatados do enriquecimento ambiental são: aumentar a diversidade comportamental, a variedade ou número de padrões comportamentais “normais”, a utilização positiva do ambiente e a habilidade dos animais de lidar com desafios de um modo mais “normal”, além de diminuir a frequência de comportamentos anormais.

Enriquecimento das gaiolas tem o objetivo de aumentar o bem-estar de animais nelas alojados ao fornecer a estes a oportunidade de exibir comportamentos espécie-específicos que são altamente motivados a realizar (JOHNSON et al., 2004), levando a uma redução no estresse, ansiedade e frustração (WURBEL et al., 1998).

Além de melhorar o bem-estar, o enriquecimento também parece melhorar a habilidade cognitiva. Ratos que tem experimentado enriquecimento tendem a ter melhor desempenho que aqueles criados sem enriquecimento, especialmente em testes de cognição espacial (LEGGIO et al., 2005).

Também é sugerido que o enriquecimento ambiental melhora as habilidades de aprendizado, diminui a ansiedade, reduz as respostas de estresse, incrementa a atividade das células ‘natural killer’ e pode inclusive estender a vida de um animal (BENAROYA-MILSHTEIN et al., 2004).

4.1 Métodos de enriquecimento

Várias pesquisas demonstram que certas formas de enriquecimento têm impacto significativo no desenvolvimento e na saúde do animal. De fato, estudos confirmaram que resultados experimentais podem ser comprometidos quando os animais não realizam atividades com enriquecimento adequado para suas espécies. Coelhos, por exemplo, respondem de maneira insatisfatória a condições em que ocorram barulhos súbitos. Nesse caso, um programa de enriquecimento implica em tocar músicas suaves durante parte do dia para aclimatar o animal a um nível regular de ruído (SIROIS, 2008).

Outros métodos de enriquecimento em animais de laboratório incluem modificações das gaiolas, como tubos para os animais se esconderem e prateleiras para descansarem, brinquedos, cordas, alojamento em pares ou em grupos e mesmo a interação humana. Incentivar o forrageamento normal também é um tipo de enriquecimento. Por exemplo, frutas, sementes ou outros petiscos podem ser escondidos na cama da gaiola para incentivar o comportamento de busca (SIROIS, 2008).

Gaiolas que estimulem a atividade, com locais para os animais se pendurarem, rodas para correr e tubos simples nos quais os animais possam se esconder são muito usados como material para enriquecimento ambiental (SIROIS, 2008).

Brinquedos podem ser oferecidos para a redução do tédio ao permitir aos roedores que tenham superfícies ou objetos para morder (FIALA et al., 1977). Brinquedos podem ser oferecidos permanentemente ou de maneira rotacional, mas é necessário considerar que alguns brinquedos têm valor mais funcional que outros e por essa razão pode ser mais recompensador para o animal se mantidos por períodos maiores (NEWBERRY, 1995).

O uso de abrigos (figura 4), locais para se esconder, ninhos e caixas para ninho também é aconselhável. Material pra ninho não é apenas necessário para grupos de reprodução, mas também pode ser usado para descanso e permite aos animais criarem seus próprios microambientes (BAUMANS, 2005a).

Figura 4 – Exemplo de abrigo para hamster



Fonte: www.wag.com

A escolha de um método específico de enriquecimento deve considerar o comportamento normal da espécie, bem como o protocolo do experimento. O objetivo do programa de enriquecimento é fornecer um mecanismo para o animal expressar um comportamento inato que resulta em efeitos positivos na sua saúde e no seu bem-estar (SIROIS, 2008).

Alguns comportamentos inatos, tal como o comportamento de presa perante um predador, podem, no entanto, causar estresse ao animal e enriquecimentos que estimulem tal comportamento não são apropriados. Exercícios forçados nunca devem ser usados como método de enriquecimento (SIROIS, 2008).

Algumas espécies, em particular os ratos, podem responder de maneira insatisfatória à manipulação quando albergados num ambiente altamente enriquecido. É importante que os animais sejam adaptados antes da manipulação humana para seu uso em um protocolo experimental e antes da introdução de materiais de enriquecimento (SIROIS, 2008).

Um ambiente super enriquecido necessita de caixas maiores do que o padrão que contenham abrigos, estruturas para escalar e vários outros enriquecimentos. Além disso, diferentes estratégias de enriquecimento são implementadas simultaneamente ou em rotação periódica (HUTCHINSON et al., 2005). No entanto, é sabido que alojar animais em ambientes super enriquecidos não é uma solução prática para muitos biotérios devido a restrições econômicas ou processuais. Por isso é importante sistematicamente investigar as

interações de ratos com único objeto de enriquecimento de modo que objetos apropriados que possam verdadeiramente melhorar o bem-estar sejam fornecidos (BENEFIEL et al., 2005).

Quando se pensa em enriquecimento ambiental, é necessário considerar o tamanho do recinto. Por exemplo, de acordo com VAN LOO et al. (2001), camundongos machos, com idades entre sete e 20 semanas, tiveram mais lesões e encontros agressivos em gaiolas grandes do que em gaiolas pequenas.

Uma alternativa para aumentar o tamanho da área disponível sem necessariamente aumentar o tamanho da gaiola é oferecer níveis diferentes fazendo o uso de plataformas para criar uma fragmentação vertical (NEWBERRY, 1995). Além de criar novos pontos de esconderijo, a fragmentação vertical também oferece uma variedade de diferentes microambientes e estimula a mobilidade (BAUMANS, 2005b).

Cuidados devem ser tomados para evitar o uso de objetos contendo bisfenol A (BPA). Esse composto está presente em produtos comuns do dia-a-dia (adesivos, materiais de construção, corantes) e tem sido mostrado que ele afeta o desenvolvimento cerebral, comportamento, atividade enzimática, crescimento, metabolismo e os sistemas imune e reprodutor (RICHTER et al., 2007).

Assim como qualquer terapia ou tratamento, os benefícios do enriquecimento ambiental devem ser avaliados contra possíveis efeitos danosos. Por exemplo, o uso de rodas para correr é uma ferramenta útil de enriquecimento a animais preferem esse método frente a outros (SHERWIN, 1998). No entanto, se o animal desenvolve lesões no pé ou traumas, o uso desse item deve ser reavaliado. No caso de hamsters sírios que desenvolveram lesões nos pés, aqueles com acesso restrito a uma roda para correr tiveram recuperação em 15 dias, enquanto aqueles com regular acesso à roda não se recuperaram (VEILLETTE, 2010).

4.2 Enriquecimento ambiental e comportamento

4.2.1 Ratos

Williams et al. (2009), em seu experimento, testou os atributos funcionais de objetos de enriquecimento, verificando a interação de ratos Lister Hooded com dois objetos feitos de Lego com tamanhos diferentes por quatro dias consecutivos. Eles verificaram que os ratos interagiam mais com o objeto maior comparado com o menor, mesmo resultado observado por Williams et al. (2008). Além disso, notaram que 90% das interações no primeiro dia

duraram mais que nos outros dias indicando que os ratos não estavam habituados com qualquer objeto. Os ratos passaram mais tempo erguendo-se ao lado do objeto maior do que realizando qualquer outro comportamento. Com relação ao objeto menor, os ratos passaram mais tempo mastigando o objeto do que realizando qualquer outro comportamento. Os autores concluíram que os ratos diferenciam e realizam diferentes comportamentos com objetos de tamanhos diferentes, mostrando maior motivação a interagir quando podem erguer-se e escalar. Eles sugerem a suplementação das gaiolas de ratos de laboratório com objetos que permitam a realização destes comportamentos, já que podem aumentar o bem-estar.

ABOU-ISMAIL (2011) demonstrou que a adição de múltiplos itens de enriquecimento, em comparação com o uso de um item em particular, pode ter o potencial de melhorar o bem-estar de ratos Wistar ao aumentar a complexidade das gaiolas e criar um ambiente com mais similaridade ao habitat natural. Significando que o bem-estar de ratos de laboratório pode melhorar se os animais forem alojados em um ambiente complexo, mas também em um ambiente com diversidade de objetos de enriquecimento.

Ratos que tem experimentado enriquecimento tendem a ter melhor desempenho que aqueles criados sem enriquecimento, especialmente em testes de cognição espacial (LEGGIO et al., 2005). Ratos enriquecidos exploram mais inicialmente e se habitua mais rapidamente a arena novas ou de campo aberto do que ratos não enriquecidos, uma explicação para isso é que a exposição ao enriquecimento reduz os níveis de ansiedade do animal durante o teste. (LARSSON, et al., 2002).

Para determinar se a variação nos níveis de ansiedade poderia ajudar a explicar os benefícios cognitivos do enriquecimento, Harris et al. (2009) testou o impacto de enriquecimento na cognição espacial e no tigmotatismo no labirinto aquático de Morris em ratos Wistar machos e fêmeas. Foi notado que ratos sem enriquecimento levaram mais tempo para encontrar a plataforma, além de apresentarem mais tigmotaxia (tendência de agarrar-se a superfícies, uma medida útil de ansiedade) do que ratos com enriquecimento. Com isso pode-se concluir que o enriquecimento reduz a ansiedade fora da gaiola, numa situação de teste cognitivo, e, subsequentemente, os benefícios cognitivos do enriquecimento ocorrem, pois animais enriquecidos são menos ansiosos durante esses testes.

Um fator ambiental que altera a resposta de um indivíduo a coisas novas é a quantidade de estimulação sensorial experimentada durante o desenvolvimento. Um método amplamente usado que altera as coisas novas durante o desenvolvimento é o paradigma do enriquecimento ambiental (RENNER e ROSENZWEIG, 1987). Nesse paradigma, ratos são alojados por várias semanas socialmente e com objetos novos numa condição enriquecida ou

individualmente sem objetos e numa condição isolada. Ratos enriquecidos subsequentemente exibem menos atividade que ratos isolados num novo ambiente enriquecido (GREEN et al., 2003).

Ratos mantidos sob condições enriquecidas também se aproximam das coisas novas mais rapidamente que ratos isolados num teste de livre escolha (WIDMAN; ROSELLINI, 1990) sugerindo que esses animais podem achar novos estímulos menos estressantes. No entanto, enquanto eles se aproximam de coisas novas mais rapidamente, ratos mantidos sob essas condições se habitua a novos estímulos mais rapidamente com exposição repetida (ZIMMERMANN et al., 2001), sugerindo que o valor de incentivo relativo das coisas novas pode ser reduzido nesses ratos.

Orok-Edem; Key (1994) demonstraram que o fornecimento de alguns itens mastigáveis às gaiolas de ratos de laboratório tais como blocos e espátulas de madeira resultaram numa dramática redução da frequência de brigas.

Abou-Ismaíl et al. (2010) observou que o alojamento de ratos em condições enriquecidas tem um efeito significativo na distribuição espacial dos animais nas gaiolas, uma vez que, no seu estudo, a porcentagem de ratos abaixo do compartimento de ração e água foi muito menor nas gaiolas enriquecidas comparada com as não-enriquecidas. Os autores ainda encontraram que ratos em gaiolas não-enriquecidas passaram mais tempo em atividades de exploração e direcionadas à cama do que os ratos em condições enriquecidas, que por sua vez dormiram mais frequentemente e apresentavam menor frequência de agressão, de defesa e de comportamento de dominância. Os seus achados demonstram que a redução na atividade agonística sob condições enriquecidas não foi meramente uma consequência dos ratos redirecionando seus comportamentos às interações com os objetos de enriquecimento. Uma possibilidade é que em gaiolas não-enriquecidas, devido à falta de estruturas físicas, os próprios ratos possam ser os objetos de atenção de seus companheiros de gaiola, e, portanto, atraíam relativamente mais interações agressivas e não-agressivas.

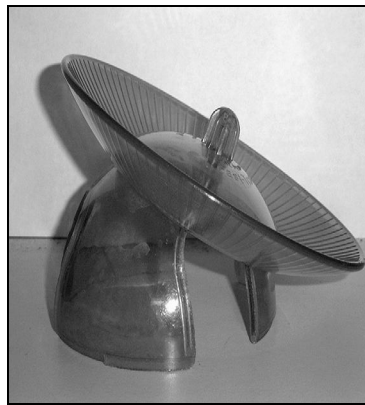
4.2.2 Camundongos

Quando é dada a camundongos a escolha entre diversos itens de enriquecimento, os animais tendem a escolher a roda para correr, mesmo que pra isso seja necessário algum “custo” (pressionar um botão, por exemplo) para acessá-la (SHERWIN, 1998). Resultados desse estudo apóiam a ideia de que o uso da roda para correr é considerado uma importante tarefa pelos animais e é altamente recompensadora.

Camundongos preferem rodas com diâmetro maior, (17,5 cm x 13 cm), mas também parecem preferir uma superfície de malha coberta frente a uma superfície sólida (BANJANIN; MROSOVSKY, 2000)

Howerton et al. (2008) verificaram os efeitos do uso de uma roda para correr com iglu (figura 5), como enriquecimento ambiental, na hierarquia social e na manifestação de estereotípias em ratos CD-1 machos alojados em grupo. Como resultados, houve aumento na agressão e diminuição da hierarquia de dominância nas gaiolas enriquecidas. A manifestação de estereotípias também foi reduzida. Os autores concluíram que o fornecimento de uma roda, apesar de ter diminuído a estereotípias, não pode ser recomendado como um único meio de enriquecimento para camundongos machos CD-1 devido ao aumento no comportamento agressivo. No entanto, é possível que camundongos CD-1 fêmeas ou de outras linhagens respondam diferentemente. Outros estudos semelhantes indicam que a agressão não muda (ESKOLA; KALISTE-KORHONEN, 1999) ou é reduzida (VAN LOO et al., 2003) com o uso desse tipo de enriquecimento.

Figura 5 – Iglu com roda para correr



Fonte: HOWERTON et al.,
[2008]

Por sua vez, Akre et al. (2011) investigaram o efeito, a curto prazo, da distribuição de recursos em diferentes comportamentos em camundongos C57BL/6J fêmeas. Foi encontrado que quando os recursos estavam dispersos e uniformemente espalhados em duas gaiolas conectadas, o tempo ativo que cada animal passou em cada gaiola não variou. Por outro lado, quando todos os itens de enriquecimento estavam aglomerados em apenas uma das gaiolas, os animais passavam mais tempo nesta. Com os itens de enriquecimento aglomerados numa gaiola, houve maior frequência de comportamento agressivo, bem como uma maior tendência

de deslocamento dos camundongos para os itens que estavam sendo utilizados pelos companheiros de gaiola, além de maior manifestação de comportamentos estereotípicos. Analisando seus resultados, os autores sugerem que, quando recursos de enriquecimento são dados a camundongos fêmeas (ou mesmo a outros animais) alojados em grupos, eles devem ser fornecidos com uma distribuição dispersa, e em número suficiente, para reduzir a competição.

Ainda com relação a fêmeas da linhagem C57BL/6J, a transferência de gaiolas sem enriquecimento para gaiolas enriquecidas dramaticamente aumenta a inatividade e tende a aumentar a atividade normal, com redução de comportamentos estereotípicos. Camundongos mais velhos (dez a onze meses) possuem a tendência de apresentarem mais estereotípias quando transferidos de gaiolas não enriquecidas para enriquecidas do que animais mais jovens. Pode-se dizer que esses animais mais velhos são enriquecimento-resistentes, valorizando menos os itens de enriquecimento do que os mais jovens. Com isso, sugere-se que o bem-estar de animais de meia-idade, bem como seus comportamentos indesejáveis, são mais difíceis de melhorar fazendo uso de enriquecimento ambiental (TILLY et al., 2010).

Camundongos mantidos em gaiolas sem enriquecimento são mais ativos que aqueles alojados em gaiolas enriquecidas, possivelmente devido ao fato dos primeiros tentarem escapar ou que a eles não foi dada a chance de construir o próprio ninho, de modo que dormem e descansam menos (MARQUES; OLSSON, 2007).

Camundongos geneticamente selecionados, modelos para a doença de Alzheimer, que foram colocados em gaiolas enriquecidas com rodas para correr, túneis coloridos, brinquedos e material para mastigar desenvolveram menos déficits cognitivos que animais mantidos em condições não-enriquecidas (LAZAROV et al., 2005).

A cor das gaiolas e abrigos têm dado algumas considerações de como podem afetar o comportamento. Camundongos testados em gaiolas de cores diferentes (branca, preta, verde e vermelha) parecem ter a cor branca como preferência e a vermelha como a menos escolhida (SHERWIN; GLEN, 2003). Isso sugere que o uso de estruturas de cor vermelha não deve ser recomendado.

4.2.3 Coelhos

Coelhos em sistema de gaiola enriquecida com uma caixa de madeira farejam mais o ambiente com movimentos da cabeça, permanecem por mais tempo apoiados apenas nos membros posteriores e apresentam menos atividade de deambulação e limpeza. Ainda em

situação enriquecida, os coelhos mudam o seu padrão de comportamento menos frequentemente que animais em gaiolas convencionais, que por sua vez permanecem mais tempo num mesmo local da gaiola. Os animais em gaiolas enriquecidas ficam por mais tempo em cima da caixa. Nas gaiolas enriquecidas, as fêmeas permanecem mais tempo no interior da caixa do que os machos. Em teste de campo aberto, os coelhos de gaiolas enriquecidas ficaram mais tempo sentados. Coelhos de gaiolas convencionais mostram mais timidez à captura do que os de gaiolas enriquecidas, com as fêmeas sendo mais tímidas que os machos. Coelhos nas gaiolas enriquecidas têm menos mudanças de comportamento também no teste de campo aberto comparado com os de gaiolas convencionais. Pode-se dizer que coelhos mantidos em sistema convencional se locomovem mais, que pode ser visto em relação ao fato de eles mudarem mais seus elementos comportamentais. O fato de as fêmeas mostrarem mais timidez na gaiola convencional pode indicar que elas, em ambiente enriquecido, têm uma necessidade satisfeita ao ter acesso a um esconderijo. A caixa pode, além de servir como oportunidade de fuga, contribuir para aumentar o bem-estar dos animais. Perturbações súbitas frequentemente podem fazer com que os coelhos pulem na parte de cima da caixa. Isso parece dar uma vantagem de ser capaz de vigiar ao seu redor (HANSEN; BERTHELSEN, 2000).

Coelhos Pannon-White alojados individualmente em gaiolas que contêm espelhos em uma das extremidades demonstram preferência pelo lado da gaiola enriquecido, o que pode permitir a hipótese que coelhos isolados são atraídos pelas imagens refletidas deles mesmos e que essas imagens podem servir a eles como “companheiros”. Esses mesmos animais, mantidos em cercados com 16 e 12 coelhos/m², mostram clara preferência pela parte do cercado enriquecida com espelhos, sendo que a percepção de estar presente em número maior que a realidade não parece ser estressante para eles (ZOTTE et al., 2009).

Segundo Jones; Phillips (2005), coelhos provavelmente não são capazes de auto-reconhecimento, podendo interpretar a imagem no espelho como um indivíduo da mesma espécie (familiar ou desconhecido), no entanto os mesmos autores, de fato, observaram que coelhos adultos alojados individualmente com ou sem a possibilidade de ver um coespecífico na gaiola adjacente foram inicialmente atraídos para o espelho e passaram mais tempo farejando e cavando perto dele, aparentemente tentando alcançar a imagem. Também é observado que a presença de um espelho diminui a frequência do comportamento de “olhar para fora da gaiola”, indicando que o espelho pode tornar a gaiola um ambiente mais estimulante.

Enriquecimento ambiental com palitos mastigáveis permite aos coelhos desenvolverem uma ampla gama de comportamentos no etograma da espécie. A vantagem

mais importante do uso desse tipo de enriquecimento parece ser a redução do nível de agressividade e lesões no corpo dos coelhos (JORDAN et al., 2006).

Coelhos Pannon-White jovens (12 a 16 animais/m²) mantidos em blocos de quatro gaiolas, sendo que uma das gaiolas do bloco apresentava palitos mastigáveis como material de enriquecimento, mostram preferência pelas gaiolas com o enriquecimento, independente da densidade de animais alojados, tanto no período ativo quanto no de descanso. O enriquecimento ambiental afeta apenas alguns padrões de comportamento dos coelhos em crescimento. Em gaiolas e cercados com palitos mastigáveis, os coelhos passaram mais tempo em movimento do que nas gaiolas e cercados sem enriquecimento. O uso de palitos mastigáveis aumenta significativamente o comportamento indicativo de conforto e diminui o comportamento agressivo (PRINCZ et al., 2008).

Verga et al. (2004) observaram que em gaiolas enriquecidas com palitos mastigáveis, os coelhos foram mais ativos e passaram mais tempo com comportamento investigativo e menos tempo descansando, além de mostrarem menores níveis de agressividade.

4.2.4 Cobaias

Embora seja mostrado que cobaias respondem adversamente ao estresse associado com mudanças, se estas forem pequenas, no espaço da gaiola e em objetos no interior desta, isso pode encorajar um aumento na mobilidade e no exercício devido ao aumento do comportamento exploratório (BIRMELIN, 1990).

Pelo fato das cobaias criarem um mapa mental dos locais de esconderijo, ao rearranjar os itens dentro da gaiola durante a limpeza desta, por exemplo, isso pode ser uma fonte de estresse até os animais localizarem os novos locais de esconderijo (BRANDÃO; MAYER, 2011).

Ambientes estressantes que induzem o comportamento de barbeamento podem ser corrigidos ao se reduzir o excesso populacional e ao se providenciar feno à vontade para os animais. Caixas para se esconder e outras distrações, tais como tubos de papelão e rolos de papel toalha também irão limitar esses comportamentos negativos (HENNESSY, 2003).

Como cobaias são animais que se assustam facilmente, um rádio tocando uma música suave pode reduzir o estresse e o medo induzido pelos sons humanos (VAN DER WEERD; BAUMANS, 1995). Cobaias que são assustadas podem demonstrar um comportamento semelhante à debandada para evitar os estímulos nocivos, o que aumenta o risco de traumas (HUDSON, 2003).

Com relação a um estudo envolvendo diferentes tipos de material para cama, foi observado que cobaias preferem passar mais tempo sobre cama de papel durante o período escuro e sobre a cama de maravalha durante o período claro (KAWAKAMI et al.,2003).

Cobaias expostas a condições estressantes (mudança de ambiente, exposição a fêmeas desconhecidas, alimento disponibilizado de forma intermitente) durante a segunda metade da gestação e no período imediatamente posterior ao parto, se relacionam com um aumento da atividade locomotora nos machos da ninhada. O enriquecimento ambiental não reverte essa modificação comportamental, ao invés disso, o enriquecimento, independentemente da exposição materna, aumenta os níveis basais de cortisol nesses machos. Com relação às fêmeas da ninhada, o enriquecimento reduz a atividade locomotora e a resposta do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) ao estresse. Isso indica que enquanto que o enriquecimento não reverte as mudanças comportamentais e do eixo HHA induzidas pelo estresse durante a gestação, ele tem profundas influências sexo-específicas tanto no comportamento quanto na função do eixo HHA (EMACK; MATTHEWS, 2011)

4.2.5 Hamsters

Hamsters alojados em gaiolas com área de piso pequena são mais estressados que os alojados em gaiolas maiores e/ou enriquecidas. McClure; Thomson (1992) demonstraram que manter hamsters em gaiolas de arame suspensas sem a adição de qualquer complexidade ao ambiente, resulta num aumento na agressividade, inapetência e depressão. O fornecimento de material pra ninho aumentou o apetite e a capacidade de resposta dos animais. Segundo os mesmos autores, em hamsters mantidos em gaiolas de arame suspensas, o fornecimento de abrigos mostrou reduzir o comportamento agressivo perante humanos e objetos introduzidos na gaiola.

Numa situação em que hamsters sírios (*Mesocricetus auratus*) ficam alojados numa gaiola sem troca de cama regular e com acesso a outra gaiola com cama nova, os animais demonstram apenas uma pequena atração pela gaiola nova, pelo menos quando as suas gaiolas antigas ficam 14 dias sem trocas de cama. Além disso, a pequena atração para a gaiola nova com cama limpa é ainda mais reduzida quando um abrigo está presente na caixa antiga, e isso se constitui numa evidência que os hamsters valorizam esses abrigos (VEILLETTE; REEBS, 2010).

Em hamsters dourados, um substrato com profundidade de pelo menos 40 cm parece melhorar o bem-estar, mas profundidade de 80 cm causa significativo aumento na gordura

corporal (HAUZENBERGER et al., 2006). No mesmo estudo, quando mantidos em camas baixas (10 cm), aproximadamente 50% dos hamsters desenvolveram comportamento de morder a grade. Papel toalha retalhado ou cortado ou tiras de jornal são materiais baratos para fornecer um substrato profundo.

Hamsters dourados (sírios) mantidos em gaiolas enriquecidas com uma roda para correr, quando expostos a situações estressantes, tais como proximidade com um predador (furão, por exemplo) ou manipulação humana excessiva aumentam a atividade de corrida na roda, principalmente após a exposição ao furão. A razão para o aumento da atividade de corrida na roda poderia ser que sob condições naturais, a proximidade de um predador não é uma situação segura, e correr na roda pode dar ao hamster a ilusão de fugir da mesma (EBERLI et al., 2011).

Fêmeas alojadas individualmente em gaiolas com objetos de enriquecimento, incluindo uma roda para correr, a utilizam de maneira variável de acordo com o seu ciclo estral de quatro dias. Quando prenhes, elas correm menos na roda e suspendem essa atividade a partir do parto até aproximadamente dez dias após este. A atividade de corrida na roda coincide com menor comportamento de morder a grade da gaiola e de escalar (GEBHARDT-HENRICH et al., 2005).

Os atos de morder a grade da gaiola e de escalar podem indicar uma tentativa de sair da gaiola e explorar, bem como a corrida na roda pode refletir um comportamento exploratório. Morder a grade da gaiola é amplamente reconhecido como uma estereotipia indicando pobre condição de alojamento, que pode ser minimizado simplesmente com a adição de uma roda para correr na gaiola, como enriquecimento ambiental (WÜRBEL et al., 1996).

Hamsters sírios não demonstram ter uma preferência entre rodas para correr de diferentes superfícies, mas um diâmetro maior parece ser favorecido frente alternativas de menor diâmetro (REEBS; ST-ONGE, 2005).

5. CONCLUSÃO

O comportamento e enriquecimento ambiental de animais de laboratório são temas complexos e estudos ainda estão sendo realizados para expandir os conhecimentos a respeito desses assuntos.

Apesar de ser amplamente aceito que o enriquecimento ambiental pode melhorar o bem-estar e o comportamento animal, ele deve ser planejado cuidadosamente para assegurar que a sua implementação não traga consequências negativas. O enriquecimento não deve ser um método para amenizar os efeitos de um alojamento inapropriado, mas ao invés disso deve servir como um adjunto de boas práticas de alojamento. Por exemplo, brinquedos não devem ser usados como um meio para atenuar os efeitos prejudiciais causados pelo isolamento de um roedor numa gaiola pequena. Pelo contrário, gaiolas adequadas e ambiente social deveriam ser estabelecidos primeiramente, já que estes são inerentes à biologia do animal. Uma vez que alojamento apropriado é aplicado, então o enriquecimento pode ser usado para fornecer estimulação adicional e explicitar os comportamentos naturais dos animais.

Pelo fato do comportamento ser influenciado por fatores genéticos e fatos ocorridos durante o desenvolvimento, pode haver comportamentos individuais de cada espécie ou comportamentos compartilhados por espécies diferentes. Tendo isso em mente, é importante o desenvolvimento de planos de enriquecimento que são específicos para a espécie de interesse em questão.

Por fim, levando em consideração que o aumento da complexidade no alojamento dos animais de laboratório, que ocorre com a implementação de métodos de enriquecimento ambiental, leva a um aumento considerável da expressão dos comportamentos naturais das diferentes espécies e sabendo-se que isso é um indicativo de bem-estar, deve-se sempre que possível usar essa ferramenta para uma pesquisa com ética, qualidade e obtenção de resultados com menor variabilidade e maior confiabilidade.

REFERÊNCIAS

- ABOU-ISMAIL, U. A. Are the effects of enrichment due to the presence of multiple items or a particular item in the cages of laboratory rat? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 134, n. 1, p. 72-82, 2011.
- ABOU-ISMAIL, U. A.; BURMAN, O. H. P.; NICOL, C. J.; MENDEL, M. The effects of enhancing cage complexity on the behaviour and welfare of laboratory rats. **Behavioural Processes**, v. 85, n. 2, p. 172-180, 2010.
- AKRE, A. K.; BAKKEN, M.; HOVLAND, A. L.; PALME, R. Clustered environmental enrichments induce more aggression and stereotypic behaviour than do dispersed enrichments in female mice. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 131, n. 4, p. 145-152, 2011.
- ALLMANN-ISELIN, I. Husbandry. In: KRINKE, G. J. (Ed.). **The Laboratory Rat (The Handbook of Experimental Animals)**. San Diego: Academic Press, 2000. p. 45-55.
- ARNOLD, C. E.; ESTEP, D. Q. Effects of housing on social preference and behavior in male golden-hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Laboratory Animals**, v. 28, n. 3, p. 232-238, 1990.
- ARNOTT, G.; ELWOOD, R. W. Information gathering and decision making about resource value in animal contests. **Animal Behaviour**, v. 76, n. 3, p. 539-542, 2008.
- AWIC (Animal Welfare Information Center). **Environmental enrichment information resources for nonhuman primates: 1987-1992**. National Agricultural Library, US Department of Agriculture, National Library of Medicine, National Institutes of Health, Primate Information Center, University of Washington, 1992. 106 p.
- BAKER, H. J.; LINDSEY, J. R.; WEISBROTH, S. H. **The laboratory Rat: Biology and Diseases**. San Diego, Academic Press: 1979. 435 p.
- BANJANIN, S.; MROSOVSKY, N. Preferences of mice, *Mus musculus*, for different types of running wheel. **Laboratory Animals**, v. 34, n. 3, p. 313-318, 2000.
- BAUMANS, V. Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research. **ILAR Journal**, v. 46, n. 2, p. 162-170, 2005a.
- BAUMANS, V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals. **Science and Technology Review**, v. 24, p. 503-513, 2005b.
- BAYNE, K.; HAINES, M.; DEXTER, S.; WOODMAN, D.; EVANS, C. Nonhuman primate wounding prevalence: A retrospective analysis. **Laboratory Animals**, v. 24, n. 4, p. 40-43, 1995.
- BAYS, T. B. Rabbit Behavior. In: BAYS, T. B.; LIGHTFOOT, T.; MAYER, J. (Eds.). **Exotic Pet Behavior: Birds, Reptiles, and Small Mammals**. St. Louis, Missouri, Saunders, Elsevier: 2006. p. 1-50.

- BENAROYA-MILSHTEIN, N.; HOLLANDER, N.; APTER, A. Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. **European Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 5, p. 1341-1347, 2004.
- BENEFIEL, A. C.; DONG, W. K.; GREENOUGH, W. T. Mandatory “enriched” housing of laboratory animals: the need for evidence-based evaluation. **ILAR Journal**, v. 46, n. 2, p. 95-105, 2005.
- BENNETT, E. L.; DIAMOND, M. C.; KRECH, D.; ROSENZWEIG, M. R. Chemical and anatomical plasticity of brain: changes in brain through experience, demanded by learning theories are found in experiments with rats. **Science**, v. 146, n. 5, p. 610-619, 1964.
- BERNSTEIN, I. S.; ROSE, R. M.; GORDON, T. P. Behavioral and environmental events influencing primate testosterone levels. **Journal of Human Evolution**, v. 3, n. 6, p. 517-525, 1974.
- BIRMELIN, I. Behavior of pet animals. **Deutsh Tierärztliche Wochenschrift**, v. 97, n. 6, p. 243-247, 1990.
- BLOM, H. J. M.; VAN TINTELEN, G.; VAN VORSTENBOSCH, C. J. A. H. V.; BAUMANS, V.; BEYNEN, A. C. Preferences of mice and rats for types of bedding material **Laboratory Animals**, v. 30, n. 3, p. 234-244, 1996.
- BRANDÃO, J.; MAYER, J. Behavior of rodents with an emphasis on enrichment. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 20, n. 4, p. 256-269, 2011.
- CHAMOVE, A. S. Environmental enrichment: a review. **Animal Technology**, v. 40, p. 155-178, 1989.
- CHU, L.; MENCH, J. P. A behavioral comparison of New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) housed individually or in pairs in conventional laboratory cages. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 85, n. 2, p. 121-139, 2004.
- CLARK, J. D.; RAGER, D. R.; CALPIN, J. P. Animal well-being 1. General considerations. **Laboratory Animal Science**, v. 47, n. 6, p. 564-570, 1997.
- CLASSEN, W. Behaviour, Neurology and Electrophysiology. In: KRINKE, G. J. (Ed.). **The Laboratory Rat (The Handbook of Experimental Animals)**. San Diego: Academic Press, 2000. p. 419-435.
- COHN, D. W. H.; TOKUMARU, R. S.; ADES, C. Female novelty and the courtship behavior of guinea pigs (*Cavia porcellus*). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 6, p. 847-851, 2004.
- COLE, J. C.; RODGERS, R. J. Ethological evaluation of the effects of acute and chronic buspirone treatment in the murine elevated plus-maze test: comparison with haloperidol. **Psychopharmacology (Berlin)**, v. 114, n. 2, p. 288-296, 1994.

CROCKETT, C. M.; BOWERS, C. L.; BOWDEN, D. M.; SACKETT, G. P. Sex differences in compatibility of pair-housed adult longtailed macaques. **American Journal of Primatology**, v. 32, n. 2, p. 73-94, 1994.

DIAMOND, C. M.; LAW, F.; RHODES, H.; LINDNER, B.; ROSENZWEIG, M. R.; KRECH, D.; BENNETT, E. L. Increases in cortical depth and glia number in rats subjected to enriched environments. **Journal of Comparative Neuroscience**, v. 128, n. 1, p. 117-125, 1966.

DIXON, A. K.; FISCH, H. U. Animal models and ethological strategies for early drug-testing in humans. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 23, n. 2, p. 345-358, 1998.

EBERLI, P.; GEBHARDT-HENRICH, S. G.; STEIGER, A. The influence of handling and exposure to a ferret on body temperature and running wheel activity of golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 131, n. 4, p. 131-137, 2011.

EMACK, J.; MATTHEWS, S. G. Effects of chronic maternal stress on hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) function and behavior: No reversal by environmental enrichment. **Hormones and Behavior**, v. 60, n. 5, p. 589-598, 2011

ESKOLA, S.; KALISTE-KORHONEN, E. Aspen wood-wool is preferred as a resting place, but does not affect intracage fighting of male BALB/c and C57BL/6J mice. **Laboratory Animals**, v. 33, n. 2, p. 108-121, 1999.

EVANS, E. I. Small rodent behavior: mice, rats and gerbils. In: BAYS, T. B.; LIGHTFOOT, T.; MAYER, J. **Exotic Pet Behavior: Birds, Reptiles, and Small Mammals**. St. Louis, Missouri, Saunders, Elsevier: 2006. p. 239-261.

EVANS, E. I.; MALTBY, C. J. **Technical Laboratory Animal Management**. Kansas City, MTM associates: 1989. 211 p.

FIALA, B.; SNOW, F. M.; GREENOUGH, W. T. "Impoverished" rats weigh more than "enriched" rats because they eat more. **Developmental Psychobiology**, v. 10, n. 6, p. 537-541, 1977.

GAMBLE, M. R.; CLOUGH, G. Ammonia build-up in animal boxes and its effects on rat tracheal epithelium. **Laboratory Animal Science**, v. 10, p. 93-104, 1976.

GEBHARDT-HENRICH, S. G.; VONLANTHEN, E. M.; STEIGER, A. How does the running wheel affect the behaviour and reproduction of golden hamsters kept as pets? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 95, n. 4, p. 199-203, 2005.

GORDON, J. C. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology and Behaviour**, v. 47, n. 5, p. 963-991, 1990.

GREEN, T. A.; CAIN, M. E.; THOMPSON, M.; BARDO, M. T. Environmental enrichment decreases nicotine-induced hyperactivity in rats. **Psychopharmacology (Berlin)**, v. 170, n. 3, p. 235-241, 2003.

GUST, D. A.; GORDON, T. P.; BRIDIE, A. R.; McCLURE, H. M. Effect of a preferred companion in modulating stress in adult female rhesus monkeys. **Physiology and Behaviour**, v. 55, n. 4, p. 681-684, 1994.

GV-SOLAS (Society for Laboratory Animal Science-Gesellschaft für Versuchstierkunde). **Publication on the Planning and Structure of Animal Facilities for Institutes Performing Animal Experiments**. Switzerland, Offsetdruck Gert Emminger: 1989.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. **Journal of Comparative Psychology**, v. 18, n. 3, p. 385-403, 1934.

HANSEN, L. T.; BERTHELSEN, H. The effect of environmental enrichment on the behaviour of caged rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 68, n. 2, p. 163-178, 2000.

HARRIS, Anjanette P.; D'EATH, Richard B.; HEALY, Susan D. Environmental enrichment enhances spatial cognition in rats by reducing thigmotaxis (wall hugging) during test. **Animal Behaviour**, v. 77, p. 1459-1464, 2009.

HAUZENBERGER, A. R.; GEBHARDT-HENRICH, S. G.; STEIGER, A. The influence of bedding depth on behaviour in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 100, n. 6, p. 280-294, 2006.

HAVENAAR, R.; MIEJER, J. C.; MORTON, D. B.; RISKE-HOITINGA, J.; ZWART, P. Biology and Husbandry of Laboratory Animals. In: VAN ZUTPHEN, L. F. M.; BAUMANS, V.; BEYNEN, A. C. (Eds.). **Principles of Laboratory Animal Science**. Elsevier, Amsterdam: 2001. p. 19-76.

HENNESSY, M. B. Enduring maternal influences in a precocial rodent. **Development and Psychopathology**, v. 42, n. 3, p. 225-236, 2003.

HENNESSY, M. B.; MAZZEI, S. J.; MCINTURF, S. M. The fate of filial attachment in juvenile guinea pigs housed apart from the mother. **Developmental Psychobiology**, v. 29, n. 8, p. 641-651, 1996.

HENNESSY, M. B.; REED, J.; WILSON, S. E.; PITSTICK, L. Sexual interactions of maturing male guinea pig with their mothers, sisters, and unfamiliar adult females in the home cage. **Developmental Psychobiology**, v. 42, n. 1, 91-96, 2003a.

HENNESSY, M. B.; YOUNG, T. L.; O'LEARY, S. K.; MAKEN, D. S. Social preferences of developing guinea pigs (*Cavia porcellus*) from the preweaning to the periadolescent periods. **Journal of Comparative Psychology**, v. 117, n. 4, p. 406-413, 2003b.

HILLYER, E. V.; QUESENBERRY, K. E.; DONNELLY, T. M. Biology, husbandry, and clinical techniques of guinea pigs and chinchillas. In: HILLYER, E. V.; QUESENBERRY, K. E. (Eds.). **Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery**. Philadelphia, Saunders: 1997. 432 p.

HOWERTON, Christopher L.; GARNER, Joseph P.; MENCH, Joy A. Effects of a running wheel-igloo enrichment on aggression, hierarchy linearity, and stereotypy in group-housed male CD-1 (ICR) mice. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 115, n. 2, p. 90-103, 2008.

HUDSON, A. The guinea pig. In: BALLARD, B.; CHEEK, R. (Eds.). **Exotic Animal Medicine for the Veterinary Technician**. Ames, IA: Iowa State University Press, 2003. p. 247-254.

HURST, J. L.; BARNARD, C. J.; TOLLADAY, U.; NEVISON, C. M.; WEST, C. D. Housing and welfare in laboratory rats: effects of cage stocking density and behavioral predictors of welfare. **Animal Behaviour**, v. 58, n. 3, p. 563-586, 1999.

HUTCHINSON, E.; AVERY, A.; VANDE-WOUDE, S. Environmental enrichment for laboratory rodents. **ILAR Journal**, v. 46, n. 2, 148-160, 2005.

ILAR (Institute for Laboratory Animal Research). **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. Washington, DC, National Academic Press: 2011. 220 p.

JOHNSON, S. R.; PATTERSON-KANE, E. G.; NIEL, L. Foraging enrichment for laboratory rats. **Animal Welfare**, v. 13, n. 3, p. 305-312, 2004.

JONES, S. E.; PHILLIPS, C. J. C. The effects of mirrors on the welfare of caged rabbits. **Animal Welfare**, v. 14, n. 3, p. 195-202, 2005.

JORDAN, D.; LUZI, F.; VERGA, M.; STUHEC, I. Environmental enrichment in growing rabbits. In: Maertens, L.; Coudert, P. (Eds.). **Recent Advances in Rabbit Sciences**. ILVO: 2006. p. 113-119.

KAWAKAMI, K.; TAKEUCHI, T.; YAMAGUCHI, S. Preference of guinea pigs for bedding materials: wood shavings versus paper cutting sheet. **Experimental Animals**, v. 52, n. 1, p. 11-15, 2003.

KEELING, L.; JENSEN, P. Behavioral disturbances, stress and welfare. In: Jensen, P. (Ed.). **The ethnology of Domestic Animals: An Introductory Text**. Wallingford, Oxfordshire, UK, CABI Publishing: 2002. p. 79-98.

KUHNEN, G. Comfortable quarters for hamsters in research institutions. In: Reinhardt, V.; Reinhardt, A. (Eds.). **Comfortable Quarters for Laboratory Animals**, Washington: Animal Welfare Institute: 2002. p. 33-37.

LAZAROV, O.; ROBINSON, J.; TANG, Y. P. Environmental enrichment reduces A-beta levels and amyloid deposition in transgenic mice. **Cell**, v. 120, n. 5, p. 701-713, 2005.

LEGGIO, G. M.; MANDOLESINI, L.; FEDERICO, F.; SPIRITO, F.; RICCI, B.; GELFO, F.; PETROSINI, L. Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. **Behavioral Brain Research**, v. 163, n. 1, p. 78-90, 2005.

MACPHAIL, R. C.; LEANDER, J. D. **Neurobehavioral Toxicology and Teratology**, v. 3, p. 19-26, 1981.

MANSER, C.E.; MORRIS, T. H.; BROOM, D. M. An investigation into the effects of solid or grid cage flooring on the welfare of laboratory rats. **Laboratory Animals**, v. 29, n. 4, p. 353-363, 1995.

MARQUES, J. M.; OLSSON, I. A. The effect of preweaning and postweaning housing in the behaviour of the laboratory mouse (*Mus musculus*). **Laboratory Animals**, v. 41, n. 1, p. 92-102, 2007.

MARTIN, P.; SOUBRIE-P.; SIMON, P. The effect of monoamine oxidase inhibitors compared with classical tricyclic antidepressants on learned helplessness paradigm. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 1987.

MARTRENCAR, A.; BOILLETOT, E.; COTTE, J. P.; MORISSE, J. P. Wire-floor pens as an alternative to metallic cages in fattening rabbits: influence on some welfare traits. **Animal Welfare**, v. 10, n. 2, p. 153-161, 2001.

MCCLURE, D. E.; THOMSON, J. L. Cage enrichment for hamsters housed in suspended wire cages. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 31, p. 33, 1992.

METZ, J. H. M. Behavioural problems of rabbits in cages. In: Auxilia, T. (Ed.), **Rabbit Production Systems Including Welfare**. CEC Agriculture, ECSC-EEC-EAEC, Brussels: 1987. p. 221-230.

MIRABITO, L.; GALLIOT, P.; SOULHET, C.; PIERRE, V. Logement des lapins en engraissement en cage de 2 ou 6 individuals : étude du budget-temps. In: **Proceedings of the Sémes Journées de la Recherche Cunicole**. Paris, France: 1999. p. 55-58.

MORTON, D. B. Behaviour of rabbits and rodents. In: JENSEN, P. (Ed.). **The ethology of Domestic Animals: An Introductory Text**. 2 ed. Wallingford, Oxfordshire, UK, CABI Publishing: 2002. p. 193-210.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. Washington, DC, National Academic Press: 1996. 220 p.

NEVISON, C. M.; HURST, J. L.; BARNARD, C. J. Strain-specific effects of cage enrichment in male laboratory mice (*Mus musculus*). **Animal Welfare**, v. 8, n. 4, p. 361-379, 1999.

NEWBERRY, R. C. Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 44, n. 4, p. 229-243, 1995.

NOMURA, S.; SHIMIZU, J.; KINJO, J.; KAMETANI, H.; NAKAZAWA, T. A new behavioral test for antidepressant drugs. **European Journal of Pharmacology**, v. 83, n. 3, p. 171-175, 1982.

OROK-EDEM, E.; KEY, D. Response of rats (*Rattus norvegicus*) to enrichment objects. **Animal Technology**, v. 45, p. 25-30, 1994.

OVERSTREET, D. H. Pharmacological approaches to habituation of the acoustic startle responses in rats. **Physiological Psychology**, v. 5, p. 230-238, 1977.

PETERSON, E. A. Noise and laboratory animals **Laboratory Animal Science**, v. 30, p. 422-439, 1980.

PRINCZ, Z.; ZOTTE A. D.; RADNAI, I.; BÍRÓ-NÉMETH, E.; MATICS, Z.; GERENCSÉR, Z.; NAGY, I.; SZENDRŐ, Z. Behaviour of growing rabbits under various housing conditions. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 111, n. 4, p. 342-356, 2008.

PRINCZ, Z.; SZENDRŐ, Zs.; DALLE ZOTTE, A.; RADNAI, I.; BIRÓ-NÉMETH, E.; METZGER, Sz.; GYOVAI, M.; OROVA, Z. Effect of different housing on productive traits and on some behaviour patterns of growing rabbits. In: **Proceedings of the 17th Hungarian Conference on Rabbit Production**. Kaposvár: 2005. p. 95-102.

REEBS, S. G.; MAILLET, D. Effect of cage enrichment on the daily use of running wheels by Syrian hamsters. **Chronobiology International**, v. 20, n. 1, p. 9-20, 2003.

REEBS, S. G.; ST-ONGE, P. Running wheel choice by Syrian hamsters. **Laboratory Animals**, v. 39, n. 4, p. 442-451, 2005.

REINHARDT, V. Behavioral responses of unrelated adult male rhesus monkeys familiarized and paired for the purpose of environmental enrichment. **American Journal of Primatology**, v. 17, n. 3, p. 243-248, 1989.

RENNER, M. J.; ROSENZWEIG, M. R. **Enriched and Impoverished Environments: Effects on Brain and Behavior**. Springer-Verlag, New York: 1987. 134 p.

RICHTER C. A.; BIRNBAUM, L. S.; FARABOLLINI, F. *In vivo* effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. **Reproductive Toxicology**, v. 24, n. 2, p. 199-224, 2007.

ROSENZWEIG, M. R.; BENNETT, E. L.; HEBERT, M.; MORIMOTO, H. Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environments. **Brain Research**, v. 153, n. 3, p. 563-576, 1978.

SEMPLE-ROWLAND, S. L.; DAWSON, W. W. Retinal-cyclic light damage threshold for albino rats. **Laboratory Animal Science**, v. 37, n. 3 p. 289-298, 1987.

SHERWIN, C. M. The influence of standard laboratory cages on rodents and the validity of research data. **Animal Welfare**, v. 13, n. 1, p. 9-15, 2004.

SHERWIN, C. M.; GLEN, E. F. Cage colour preferences and effects of home cage colour on anxiety in laboratory mice. **Animal Behaviour**, v. 66, n. 6, p. 1085-1092, 2003.

SHERWIN, C. M. The use and perceived importance of three resources which provide caged laboratory mice the opportunity for extended locomotion. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 55, n. 4, p. 353-367, 1998.

SIROIS, M. **Medicina de Animais de Laboratório: Princípios e Procedimentos**. São Paulo: Roca, 2008. 332 p.

SORENSEN, D. B.; OTTESEN, J. L.; HANSEN, A. K. Consequences of enhancing environmental complexity for laboratory rodents: a review with emphasis on the rat. **Animal Welfare**, v. 13, n. 2, p. 193-204, 2004.

STOUFFLET, I.; CAILLOL, M. Relation between circulating sex steroid concentrations and sexual behavior during pregnancy and post partum in the domestic rabbit. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 82, n. 1, p. 209-218, 1988.

TILLY, Sarah-Lee C.; DALLAIRE, Jamie; MASON, Georgia J. Middle-aged mice with enrichment-resistant stereotypic behaviour show reduced motivation for enrichment. **Animal Behaviour**, v. 80, n. 3, p. 363-373, 2010.

VAN DER WEERD, H. A.; BAUMANS, V. Environmental enrichment in rodents. In: AWIC Resource Series. **Environmental Enrichment Information Resources for Laboratory Animals 1965-1995**. National Agricultural Library, US Department of Agriculture, National Library of Medicine, National Institutes of Health, Primate Information Center, University of Washington: 1995. v. 2. p. 145-159.

VAN LOO P. L. P.; MOL, J. A.; KOOLHAAS, J. M. Modulation of aggression in male mice: influence of group size and group cage. **Physiology and Behaviour**, v. 72, n. 5, p. 675-683, 2001.

VAN LOO, P. L. P.; KRUITWANGEN, C. L. J. J.; KOOLHAAS, J. M.; VAN de WEERDE, H. A.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; BAUMANS, V. Influence of cage enrichment on aggressive behaviour and physiological parameters in male mice. **Applied Animal Behavior Science**, v. 76, n. 1, p. 65-81, 2002.

VAN LOO, P. L. P.; VAN ZUTPHEN, L. F. M.; BAUMANS, V. Male management: coping with aggression problems in male laboratory mice. **Laboratory Animals**, v. 37, n. 4, p. 300-313, 2003.

VEILETTE, M.; GUITARD, J.; REEBS, S. G. Cause and possible treatments of foot lesions in captive Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Veterinary Medicine International**, v. 2010, 5 p. 2010.

VEILETTE, Mélisa; REEBS, Stéphan. Preference of Syrian hamsters to nest in old versus new bedding. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 125, n. 4, p. 189-194, 2010.

VERGA, M.; ZINGARELLI, I.; HEINZL, E.; FERRANTE, V.; MARTINO, P. A.; LUZI, F. Effect of housing and environmental enrichment on performance and behaviour in fattening rabbits. **World Rabbit Science**, v. 13, p. 139-140, 2004.

WHARY, M.; PEPPER, R.; BORKOWSKI, G.; LAWRENCE, W.; FERGUSON, F. The effects of group housing on the research use of the laboratory rabbit. **Laboratory Animals**, v. 27, n. 4, p. 330-341, 1993.

WHITE, W. J.; BALK, M. W.; LANG, C. M. Use of cage space by guinea pigs. **Laboratory Animals**, v. 23, n. 3, p. 208-214, 1989.

- WHITTAKER, D. The laboratory hamster. In: POOLE, T. (Ed.). **The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals**. Blackwell Science Publications, Oxford: 1999. v. 1. p. 356-366.
- WIDMAN, D. R.; ROSELLINI, R. A. Restricted daily exposure to environmental enrichment increases the diversity of exploration. **Physiology & Behaviour**, v. 47, n. 1, p. 57-62, 1990.
- WILLIAMS, Claire M.; HANMER, Louise A.; RIDDEL, Patricia, M. The effect of the functional attributes of objects within the caged environment on interaction time in laboratory rats. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 120, n. 4, p. 208-215, 2009.
- WILLIAMS, C. M.; RIDDEL, P. M.; SCOTT, L. A. Comparison of preferences for object properties in the rat using paired- and free-choice paradigms. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 112, n. 2, p. 146-157, 2008.
- WIRTH, H. Criteria for the evaluation of laboratory animal bedding. **Laboratory Animals**, v. 17, n. 2, p. 81-84, 1983.
- WÜRBEL, H.; CHAPMAN, R.; RUTLAND, C. Effect of feed and environmental enrichment on development of stereotypic wire-gnawing in laboratory mice. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 60, n. 1, p. 69-81, 1998.
- WÜRBEL, H.; STAUFFACHER, M. Physical condition at weaning affects exploratory behaviour and stereotypy development in laboratory mice. **Behavioural Processes**, v. 43, n. 1, p. 61-69, 1998.
- WÜRBEL, H. The motivational basis of caged rodents' stereotypies. In: MASON, G.; RUSHEN, J. (Eds.). **Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Applications to Welfare**. Cambridge, MA, CAB International: 2006. p. 86-120.
- WÜRBEL, H. S.; STAUFFACHER, M.; VON HOIST, D. Stereotypies in laboratory mice – quantitative and qualitative description of the ontogeny of 'wire-gnawing' and 'jumping' in Zur:ICR and Zur:ICR nu. *Ethology*, v. 102, n. 3, p. 371-385, 1996.
- YOUNG, R. **Environmental enrichment for captive animals**. Universities Federation for Animal Welfare (UFAW) Series, Blackweel Publishing, Oxford: 2003. 240 p.
- ZIMMERMANN, A.; STAUFFACHER, M.; LANGHANS, W.; WÜRBEL, H. Enrichment-dependent differences in novelty exploration in rats can be explained by habituation. **Behavioural Brain Research**, v. 121, n. 1, p. 11, 2001.
- ZOTTE, A. D.; PRINCZ, Z.; MATICS, Z.; GERENCSÉR, Z.; METZGER, S.; SZENDRÖ, Z. Rabbit preference for cages and pens with or without mirrors. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 116, n. 4, p. 273-278, 2009.