

Animais de laboratório: o camundongo

Chorilli, M.^{1,2}; Michelin, D.C.²; Salgado, H.R.N.^{2*}

¹Curso de Farmácia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, UNIMEP, Piracicaba, SP, Brasil.

²Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brasil.

Recebido 25/04/07 / Aceito 17/07/07

RESUMO

A experimentação animal nas pesquisas científicas tem contribuído sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia, promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de enfermidades que acometem os seres humanos. Animais de várias espécies têm sido utilizados nos últimos tempos, sendo os camundongos os mais intensamente utilizados e os mais profundamente conhecidos cientificamente. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico, incluindo os trabalhos do nosso grupo, sobre o emprego de camundongos na experimentação animal, abordando sua biologia geral, fisiologia de reprodução, sistemas de criação, genética, habitação, alimentação, manejo, dor e eutanásia, técnicas de risco desenvolvidas na experimentação, coleta de sangue, experimentos farmacológicos e toxicológicos. Embora tendências atuais preconizem a utilização de métodos alternativos (estudos *in vitro*, culturas de células, etc.), os modelos animais, como os camundongos, apresentam como principal vantagem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é conseguido com outros métodos, o que ainda possibilita o seu emprego em pesquisas científicas.

Palavras-chave: experimentação animal; camundongo; biologia geral; técnicas de risco na experimentação.

INTRODUÇÃO

A experimentação animal se reveste de uma importância incalculável nas pesquisas científicas, contribuindo sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia. Sua vasta contribuição nos diferentes campos científicos vem promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de inúmeras enfermidades que acometem os seres vivos. Como exemplos de contribuições científicas advindas de estudos realizados em animais tem-se a descoberta da insulina, desenvolvimento de vacinas contra diversas doenças e a produção de soros. Os animais foram responsáveis por descobertas que

permitiram o uso terapêutico de antibióticos e o tratamento de diversas doenças, evitando assim epidemias e epizootias, bem como o desenvolvimento de técnicas de transplantes de órgãos e a possibilidade do uso de fármacos anestésicos, antidepressivos, entre outros (Fagundes & Taha, 2004; Andrade, 2006).

A idéia de utilização de animais em pesquisas surgiu, principalmente, por questões econômicas. Mesmo com o progresso de métodos alternativos nos últimos anos (estudos *in vitro*, culturas de células, etc.), os modelos animais ainda apresentam como principal vantagem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é conseguido com outros métodos (Heywood, 1987; Ribeiro et al., 1995; Salén, 1995; Snitkoff, 2004).

A cura de muitas doenças deve-se à experimentação animal, bem como o aprimoramento de inúmeras técnicas de diagnóstico. A Tabela 1 relaciona o período, as espécies animais e seus principais usos científicos relacionados à descoberta e/ou tratamento de diversas doenças.

Nos primeiros estudos experimentais, os critérios de seleção de animais não eram bem definidos. A seletividade foi decorrente do número de trabalhos realizados e da identificação dos animais com os temas estudados (Corbin, 1974; Baker et al., 1979; CCAC, 1984). Animais de várias espécies têm sido utilizados ao longo desses últimos dois séculos de desenvolvimento científico, mas dentre todos eles o camundongo é, inquestionavelmente, o mais intensamente utilizado e o mais profundamente conhecido cientificamente.

Os camundongos atualmente empregados em experimentações são oriundos daqueles domésticos que, durante muito tempo, vêm compartilhando com o homem suas casas, seus alimentos e suas enfermidades. Eles disseminaram-se da Ásia para a Europa e a partir daí por todo o mundo, habitando qualquer lugar que o homem também habite (Franco, 2006).

O camundongo acompanha o homem há vários milênios; existem registros com mais de quatro mil anos acerca desse animal, inclusive em citações bíblicas. Este roedor, inclusive, chegou a ser adorado em antigas civilizações orientais, embora, na maioria das vezes, esteja associado a doenças. Somente no século XIX o camundongo se transformou em um instrumento de laboratório. A partir

*Autor correspondente: Hérica Regina Nunes Salgado - Departamento de Fármacos e Medicamentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista - UNESP - Rodovia Araraquara-Jaú, km 1 - CEP: 14801-902 - Araraquara - SP, Brasil - Telefone: (16) 3301-6967 - E-mail: salgadoh@fcfar.unesp.br

Animais de laboratório: o camundongo

Tabela 1 - Período, espécies animais e seus principais usos na descoberta e no tratamento de diversas doenças.

Período	Espécies animais	Principais usos
Antes de 1900	Cachorro	Tratamento da raiva
	Coelho Galinha	
1900-1920	Vaca	Tratamento da deficiência de vitamina do complexo B Tratamento da varíola
	Cachorro	Estudos sobre a patogenia da tuberculose Tratamento de raquitismo Mecanismos de anafilaxia
1920-1930	Cachorro	Desenvolvimento da técnica de cateterismo cardíaco
	Coelho	Descoberta da insulina e do mecanismo de diabetes
1930-1940	Cachorro	Mecanismo do eletrocardiograma
	Gato	Desenvolvimento de anticoagulantes Função dos neurônios
1940-1950	Macaco	Tratamento da artrite reumatóide
	Coelho	
1950-1960	Rato	Efeito terapêutico da penicilina em infecções bacterianas
	Macaco	Descoberta do fator Rh do sangue
	Macaco	Vacina da febre amarela
	Rato	Cultivo do vírus da poliomielite, o que levou ao desenvolvimento da vacina
	Coelho	Desenvolvimento da quimioterapia para o tratamento do câncer
	Macaco	
1960-1970	Rato	Descoberta do DNA
	Camundongo	
	Rato	Desenvolvimento de fármacos antidepressivos
	Camundongo	Interpretação do código genético e seu papel na síntese de proteínas
	Camundongo	
1970-1980	Macaco	Tratamento da lepra
	Porco	Desenvolvimento da tomografia computadorizada
1980-1990	Rato	Desenvolvimento de anticorpos monoclonais
	Coelho	
	Rato	Desenvolvimento da terapia genética
	Camundongo	

Fonte: Cardoso, 1998.

de 1900 tornou-se também um importante modelo experimental para os estudos genéticos. Em 1909, Clarence Cook Little iniciou a produção de linhagem geneticamente pura a partir de um casal portador de mutações recessivas para genes responsáveis pela herança da cor da pelagem. Através de acasalamentos entre irmãos por 20 gerações consecutivas, foi obtida a primeira linhagem consanguínea (*inbred*) que foi chamada de dba (atualmente DBA) (Santos, 2002a).

O camundongo é membro da classe Mammalia, ordem Rodentia, família Muridae, gênero *Mus*, espécie *Mus musculus*. Essa classificação é a mais aceita; todavia, há controvérsias sobre espécies e subespécies criadas em

laboratórios devido à presença de cruzamentos especiais, nos quais os animais apresentam alguns genes ou, até mesmo, cromossomos de espécies diferentes. Como exemplo, tem-se a linhagem C57BL/6, na qual 6,5% do genoma é originário de *Mus spretus*, e não de *Mus musculus* (Franco, 2006).

Sua introdução como animal de laboratório deve-se principalmente ao fato de ser pequeno, muito prolífero, ter período de gestação curto, ser de fácil domesticação e manutenção. Logo, tornou-se o mamífero mais usado na experimentação animal (Santos, 2002b).

Diversas vias de administração de fármacos podem ser usadas sem dificuldades, inclusive a venosa e a intratecal (intracerebral). Pode-se provocar fácil sangria pela punção

do seio venoso orbital. Representam modelos experimentais de muitas condições patológicas humanas. Seu eletrocardiograma, embora freqüentemente seja registrado para estudo de patologias cardíacas e do efeito de fármacos sobre o coração, é de interpretação muito difícil em decorrência da elevada freqüência cardíaca, devendo-se tomar extremo cuidado para evitar a identificação de falsas alterações (Junqueira Jr & Ubatuba, 2006).

Printz (2004) cita que o camundongo, embora seja tratado, muitas vezes, como um "tubo de ensaio" para experimento molecular ou bioquímico, deve ser tratado como organismo vivo complexo em quaisquer experimentações a que for submetido.

Biologia Geral

O camundongo se caracteriza por ser uma espécie cosmopolita adaptada a uma grande variedade de condições ambientais. É um animal de hábitos noturnos que se acomoda em qualquer local de tamanho apropriado às suas necessidades. Geralmente, nasce desprovido de pêlos, com exceção das vibrissas, com corpo avermelhado, olhos fechados, pavilhão auricular fechado e aderido à cabeça, pesando em média um grama (Santos, 2002b).

Apresenta corpo fusiforme e cauda que pode atingir comprimento maior do que o corpo. Sua coloração natural é marrom escura no dorso, com um ventre mais claro e cinzento. Não possui glândulas sudoríparas, e possui cinco dedos tanto nas patas posteriores quanto anteriores. Possui também audição aguda, respondendo a uma grande variação de freqüências. O olfato é altamente desenvolvido, sendo

utilizado não somente para detectar alimento e predadores, mas também para determinar vários sinais de comportamento (Franco, 2006).

Após o parto, a fêmea alimenta a ninhada, podendo-se visualizar o leite no estômago dos animais pela mancha branca nos abdomens. Se houver necessidade de seleção de animais, tal aspecto pode ser levado em consideração, pois animais que mamam demonstram maior habilidade para sobreviver. Sua pele vai clareando ou escurecendo de acordo com a coloração da linhagem, sendo que os pêlos começam a aparecer por volta do 3º ou 4º dia. Com uma semana de idade, já apresentam os corpos recobertos de pêlos; com três dias, as orelhas se afastam da cabeça; com dez dias, abrem os olhos e com 15 já começam a se alimentar de ração. Desmamam geralmente com 18 dias, sendo que em linhagens consangüíneas o desmame pode se dar com 28 dias. No momento do desmame, os animais são sexados, separados e pesados (Santos, 2002b).

A visão é pobre. Não distingue cores, uma vez que sua retina apresenta poucos cones. O comportamento social depende da densidade populacional, sendo que esses animais podem viver bem adaptados tanto solitariamente quanto em grandes colônias, com padrões de hierarquia muito bem estabelecidos (Bauck & Bihun, 1997).

É importante salientar que devido ao seu tamanho pequeno, o camundongo é extremamente susceptível a mudanças nas condições ambientais. Pequenas flutuações na temperatura (2 a 3°C) podem causar modificações na sua fisiologia (Johnson-Delaney, 1996). A Tabela 2 apresenta os principais dados biológicos e fisiológicos dos camundongos.

Tabela 2 - Principais dados biológicos e fisiológicos dos camundongos.

Temperatura ambiente ideal	21-22°C ($\pm 2^\circ\text{C}$)
Umidade (UR)	50-55%
Consumo de ração/dia/adulto	5g
Consumo de água/dia/adulto	6 mL
Puberdade	42 dias de idade
Peso na puberdade	20-25g
Maturidade sexual	60 dias
Ciclo estral	4-5 dias
Período de gestação	19-21 dias
Aleitamento	19-21 dias
Vida reprodutiva	Macho: 1 ano Fêmea: 6-8 partos
Tamanho da ninhada	10-12 filhotes (<i>outbred</i>)
Peso ao nascer	1-2g
Idade para desmame	21 dias
Peso ao desmame	10-12 g

Fonte: www.reitoria.ufsc.br/prpg/bioterio

Os animais utilizados em experimentações apresentam significativas diferenças fisiológicas e a título de exemplificação estão citados nas Tabelas 3 e 4 valores de pressão arterial e frequência cardíaca em várias espécies de animais em repouso.

Fisiologia da Reprodução

O camundongo torna-se apto à reprodução aos 60 dias de idade, sendo que os efeitos hormonais iniciais já estão presentes em ambos os sexos ao redor dos 30 dias de idade, evidenciando-se através da abertura da vagina nas fêmeas e pela descida e aumento dos testículos nos machos (Andrade, 2006).

O ciclo estral completo dura de quatro a cinco dias, ou seja, a cada cinco dias ocorre ovulação, dividindo-se em proestro, estro, metaestro e diestro. O proestro começa com a fase folicular do ovário, que culmina no estro (cio). O metaestro e diestro caracterizam-se pela fase luteínica do ovário. Quando agrupadas, porém, as fêmeas podem permanecer em anestro (ausência de ciclo estral) continuamente até que sejam expostas a um macho. A partir

desse momento o estro retorna no prazo de até 48 horas, sendo que a este fenômeno dá-se o nome de Efeito de Whitten. A presença de líquido seminal na vagina indica a ocorrência da cópula. Esse líquido é bem aparente, mas desaparece em 24 horas (Santos, 2002b).

O período de gestação é de 19-21 dias, exceto para fêmeas que estejam amamentando, quando a gestação pode se prolongar por seis a 16 dias. Ao nascer, seu sistema imunológico não é competente. Os dentes, por sua vez, aparecem por volta de nove a 10 dias. A alimentação sólida se inicia logo após o desmame, entre 19 e 21 dias de idade (Andrade, 2006).

Sistemas de Criação

O sistema de criação adotado depende das facilidades disponíveis e também do camundongo a ser produzido.

Os camundongos são geralmente criados a partir de pares monogâmicos ou haréns. O sistema de criação por pares monogâmicos consiste em manter juntos uma fêmea e um macho de forma permanente. Esse método facilita o

Tabela 3 - Frequência cardíaca em repouso (bpm) para diferentes espécies animais.

Espécies animais	Frequência cardíaca em repouso (bpm)
Cavalo	32 – 45
Boi	60 – 70
Ovelha	70 – 80
Cabra	70 – 80
Canário	690 (média)
Camundongo	630 (média)
Cão	70 – 120
Gato	110 – 130
Pomba	220 (média)
Galinha	200 – 400
Periquito	550 (média)
Rato	420 (media)

Fonte: Dukes, 1960.

Tabela 4 - Pressão arterial em repouso, medida por meio de manômetro óptico (mmHg), para diferentes espécies animais.

Espécies animais	Pressão arterial em repouso (mmHg)
Camundongo	147 / 106 (média)
Canário	220 / 154 (média)
Rato	187 / 138 (média)
Periquito	180 / 140 (média)
Pomba	135 / 105 (média)

Fonte: Woodbury & Hamilton, 1937.

registro das informações relacionadas ao par, permite aproveitar o estro que existe logo após o parto, mas utiliza muito espaço, trabalho e materiais. No sistema tipo harém, coloca-se um macho junto com duas ou mais fêmeas, o que apresenta a vantagem de economizar machos, porém dificulta os registros (Andrade, 2006).

Para se estabelecer uma colônia em um biotério, alguns fatores devem ser levados em consideração. É importante estabelecer três diferentes colônias para cada linhagem instalada, a saber: colônia de fundação, colônia de expansão e colônia de produção (Santos, 2002b).

O objetivo de uma colônia de fundação, ou produtora de matrizes, é autopropagar-se, possibilitando sua própria manutenção. Apresenta acasalamentos monogâmicos permanentes, com animais individualmente registrados e identificados, com o intuito de selecionar os futuros reprodutores, além de estabelecer parâmetros para a seleção e o descarte zootécnico. Para o estabelecimento de uma colônia *outbred*, o número de casais deve ser relativamente grande, assegurando a heterozigose e a frequência gênica. Logo, os acasalamentos devem ser monogâmicos e permanentes, com cada casal contribuindo somente com um novo casal para a geração seguinte. Isto torna a colônia "fechada", evitando desta forma a introdução de novos animais na mesma, os quais podem modificar a frequência gênica e a heterozigose. Já para o estabelecimento de colônias *inbred* é necessário pequeno número de casais (15-20) os quais devem remontar a um ancestral comum, sendo os acasalamentos monogâmicos e cada casal contribuindo com quantos casais forem necessários para a próxima geração (Santos, 2002b).

A colônia de expansão deve ser a segunda a ser formada, desde que somente se tenha animais consangüíneos. Sua função é ampliar a produção de colônias de fundação, visto que estas apresentam reduzido número de casais. É constituída por animais que vêm de colônia de fundação, mas também pode produzir seus próprios casais para reposição, sendo os acasalamentos sempre monogâmicos (UFAW, 1986).

Em seguida, forma-se a colônia de produção, que tem a finalidade de produzir animais suficientes para atender a necessidade dos usuários, de acordo com suas especificações, convivendo tanto acasalamentos monogâmicos ou poligâmicos, permanentes ou temporários, dependendo dos animais a serem produzidos. Os acasalamentos são realizados ao acaso, sendo que nenhum animal originário dessa colônia é utilizado como reprodutor (UFAW, 1986).

Genética

Os camundongos passaram a ser criados por exibirem vários fenótipos interessantes. Os camundongos albinos já eram conhecidos muito antes de serem introduzidos em biotérios, além de variantes com colorações inusitadas e distúrbios neurológicos. Segundo Leon (2005), os camundongos são considerados um excelente modelo para

estudos genéticos, devido ao seu ciclo de vida relativamente curto, similaridade genética a humanos e capacidade de facilmente ter seu genoma manipulado.

Apresentam 20 pares de cromossomos e um grande número de mutantes com centenas de colônias geneticamente definidas. Essas colônias, segundo Andrade (2006), são obtidas através de sistemas de acasalamentos especiais, sendo que os mais utilizados são: endocruzamentos - acasalamentos entre indivíduos que possuem ancestrais comuns, produzindo as linhagens "*inbred*" e os heterocruzamentos - acasalamentos ao acaso evitando-se a consangüinidade, produzindo-se as linhagens "*outbred*".

Nas últimas décadas, os geneticistas colocaram à disposição dos pesquisadores modelos animais para inúmeras patologias, disfunções ou mal-formações, em geral reproduzindo os mesmos males observados na espécie humana. Dentre esses pode-se citar o camundongo *nude*, *hairless*, obeso, diabético e com distrofia muscular (Santos, 2002a).

O camundongo *nude* (HFHII^{NU}) apresenta gene recessivo autossômico, situado no cromossomo 11. O acasalamento ocorre entre macho nu/nu x fêmea nu/+; logo, as fêmeas devem ser heterozigotas, já que a ausência de pêlos impede que mantenham os filhotes aquecidos e a produção de leite é muito menor. Esse tipo de acasalamento produz 50% de heterozigotos e 50% de homozigotos recessivos, aproveitando-se os machos homozigotos e as fêmeas heterozigotas para os próximos acasalamentos. Além da falta de pêlos, possuem um timo rudimentar, apresentando, dessa forma, deficiência na produção de linfócitos T, o que faz com que esta linhagem não rejeite transplantes de outras linhagens e apresente maior susceptibilidade às infecções. Geralmente são menores, crescem mais lentamente, são menos férteis e morrem mais facilmente, devendo ser mantidos em condições *germfree* (Foster et al., 1983). De acordo com Keeland (2004), o camundongo *nude* vem sendo empregado em estudos de crescimento de tumor humano, sendo imprescindíveis nas etapas iniciais de estudos pré-clínicos para desenvolvimento de fármacos antitumorais. Furukawa (2003), por sua vez, cita ainda a grande aplicabilidade deste camundongo no estudo de doenças auto-imunes, como o lupus eritematoso.

Semelhante ao camundongo *nude*, tem-se o *hairless* (HR), que apresenta gene recessivo autossômico, situado no cromossomo 14, havendo acasalamento entre macho hr/hr x fêmea hr/+. O *hairless* desenvolve pelagem normal, mas o pêlo começa a cair aos 10 dias de idade, podendo voltar a crescer em pequenos tufo que logo caem. Logo, permanece pelado por toda a vida; todavia, não apresenta deficiência imunológica severa como o camundongo *nude* (Green, 1966).

O camundongo obeso (LEP^{OB}) apresenta um gene recessivo autossômico, situado no cromossomo 6. O acasalamento ocorre entre machos ob/+ x fêmeas ob/+. Os camundongos mutantes obesos não possuem a proteína leptina, encontrada no tecido adiposo em condições normais. Os mutantes podem ser identificados com quatro semanas de idade, aumentando de peso rapidamente até atingir quase

três vezes o peso normal. Exibem hiperfagia, hiperglicemia semelhante a diabetes, intolerância à glicose, elevados níveis de insulina plasmática e obesidade caracterizada pelo aumento do número e do tamanho dos adipócitos (Godard & Guénet, 1999). A Figura 1A exibe um camundongo obeso.

O camundongo diabético (LEPR^{DB}) possui gene recessivo autossômico situado no cromossomo 4, sendo o acasalamento entre macho db/+ x fêmea db/+. Diabetes no camundongo foi proposta como uma mutação no gene que codifica o receptor da leptina. A elevação da insulina plasmática inicia-se dos 10 aos 14 dias de idade, e a elevação da glicose sanguínea por volta da quarta semana. Os camundongos apresentam polifagia, polidipsia e poliúria (The Jackson Laboratory, 1997).

Há também camundongos mutantes que apresentam distrofia muscular por apresentarem gene recessivo autossômico situado no cromossomo 10, sendo o acasalamento entre machos dy/+ e fêmeas dy/+ heterozigotas. As lamininas são uma família de glicoproteínas da matriz extracelular presentes nas membranas basais, que ajudam na adesão, migração, proliferação e diferenciação celulares. As suas moléculas consistem em uma cadeia pesada (alfa) e duas leves (beta e gama). Em camundongos mutantes, não há a produção da cadeia alfa 2, levando à distrofia muscular congênita (Santos, 2002a). A Figura 1A mostra um exemplo de camundongo obeso. A Figura 1B exibe um camundongo *nude*.

Kasper & Smith Jr (2004) citam a utilização de modelos de camundongos transgênicos para câncer de próstata. Segundo os autores, a principal vantagem de modelos de camundongos transgênicos é que seu genoma pode ser facilmente manipulado. Além disso, variáveis como genética da população, mutações genéticas, dieta e estágio do tumor podem ser mais precisamente controladas em camundongos transgênicos. Tais alterações podem ocorrer da seguinte forma: um gene de interesse pode ser expresso, mutado ou recolocado por um novo alelo. Então, alterações genéticas, como as causadas por uma mutação em um gene normal ou supra-expressão de um oncogene ou fator de crescimento, podem ser introduzidas no genoma do camundongo para investigar seus efeitos na tumorigênese. Processo semelhante a este para obtenção de camundongos transgênicos tem sido utilizado por Yan & Matzuk (2001) para estudo de patologias ovarianas; Nakamura et al. (2002) para pesquisas de anormalidades na pigmentação cutânea; Shiohara et al. (2004) para dermatite atópica e Schneider et al. (2006) para investigação de doenças neurológicas.

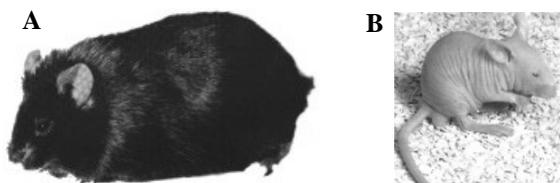


Figura 1. (A) Exemplo de camundongo obeso; (B) Exemplo de camundongo *nude*.

Fonte: Andrade, 2006.

Habitação, Alimentação e Manejo

Habitação

Um biotério é o local onde os animais vivem e as pessoas apenas trabalham. Os animais que vivem em biotério têm uma existência não natural e apesar de estarem protegidos de qualquer dano a que estariam expostos na natureza, dependem totalmente do homem para todas as suas necessidades e seu bem-estar. Fatores como temperatura, luz, ventilação, umidade, ruído e qualidade do ar devem ser controlados o máximo possível (Andrade, 2006).

Vários tipos de gaiolas podem ser utilizadas para a manutenção de camundongos. As mais indicadas são as de policarbonato ou polipropileno, por serem feitas de material autoclavável. Em geral, os camundongos devem dispor de uma área mínima de 65 cm² por indivíduo quando agrupados e uma fêmea com a ninhada deve dispor de aproximadamente 650 cm² (Andrade, 2006). A Figura 2 exibe exemplo de gaiola para camundongos.



Figura 2. Exemplo de gaiola para camundongos.

Fonte: Andrade, 2006.

Para maior conforto do animal em gaiola, o piso deve ser recoberto por material apropriado chamado de cama, visando o conforto próprio, nidificação e absorção da umidade das excretas, permitindo assim a criação de um habitat próximo ao natural. A cama pode ser um substrato ou material qualquer que atenda a finalidade, desde que seja macia, isenta de odor, apresente alta capacidade de absorção, seja constituída de partes pequenas e finas e isenta de resíduos químicos de agrotóxicos. Deve ser de fácil obtenção e não poluente. Embora sejam utilizados materiais como vermiculita e palha de arroz, entre outras, o mais adequado é a maravalha de pinus (Passos et al., 2006).

Outro material bastante utilizado é o papel absorvente em folhas que em geral é colocado em gaiolas de arame ou aço inox com piso suspenso. Esse material pode requerer trocas mais frequentes, porém permite melhor observação do desperdício de ração e melhor exame das características das fezes e urina (Andrade, 2006).

Alimentação

Os camundongos apresentam um bom

desenvolvimento quando recebem dietas padronizadas para animais de laboratório. Em geral essa dieta é apresentada na forma de "pellets" o que reduz o desperdício e torna o alimento fácil de ser manuseado e oferecido em comedouros localizados nas tampas das gaiolas. Deve-se ressaltar o cuidado na estocagem desse tipo de alimento. Antes de ser apresentada ao animal, a ração deve ser mantida em local frio, seco, escuro, bem ventilado e limpo. A água deve ser oferecida em bebedouros ou através de sistema automático usando válvulas (Andrade, 2006).

Manejo

Qualquer animal deve ser manipulado de maneira firme e relaxada a fim de se evitar estresse desnecessário. Se houver qualquer dúvida quanto à habilidade de manipular o animal, a pessoa deverá solicitar o auxílio de alguém mais experiente.

Os camundongos são animais de pequeno porte; logo, são ágeis e ativos. Os adultos podem ser levantados pela base da cauda, mas o seu peso deverá ser suportado pelas mãos do manipulador ou por outra superfície, tão logo seja possível. Se qualquer outra parte da cauda que não seja a base for utilizada, o animal ficará em condições de atacar o manipulador (Andrade, 2006).

A sexagem dos adultos é fácil, por meio da visualização dos testículos. Nos animais mais jovens, quando os órgãos sexuais não são tão obviamente diferentes, a distância ano-genital é o principal critério para a diferenciação. Nesses casos, existe uma clara separação entre o ânus e o pênis dos machos enquanto que a distância entre o ânus e a abertura genital nas fêmeas é bem menos evidente (Santos, 2002b).

Para uma total imobilização do camundongo, segura-se a pele da nuca com o polegar e o indicador, virando-se a mão de maneira que ele fique com o abdômen voltado para cima (Garvey et al., 1977). Prende-se então a cauda entre o terceiro e quarto dedo conforme mostra a Figura 3.

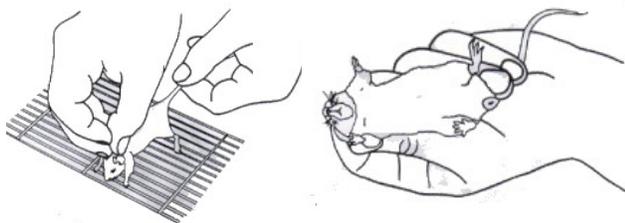


Figura 3. Manejo de camundongos.

Fonte: Andrade, 2006.

Manejo da dor em camundongos

Segundo Rivera (2002), os sintomas de dor específicos observados em camundongos variam entre as diferentes linhagens. Geralmente apresentam: aumento do tempo de sono, perda de peso/desidratação; piloereção e postura encurvada; isolamento do resto do grupo e gritos ao serem tocados.

Para controle da dor em camundongos, pode-se utilizar

analgésicos opióides e antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). Os opióides, como morfina, meperidina, fentanil, etorfina, entre outros, são empregados em casos de dor moderada a severa, causando como efeitos colaterais vômitos, depressão respiratória e hipotensão. Já os AINEs, como dipirona, aspirina, naproxeno, cetoprofeno, entre outros, são usados no controle da dor de intensidade leve a moderada e são muito úteis quando o uso de opióides não é possível. Estes agentes antiinflamatórios possuem também uma pequena ação analgésica central (Green, 1982; Montgomery Jr, 1987; Soma, 1987; LASA, 1990; Flecknell, 1994; Wolfenson & Lloyd, 1994; NRC, 2003).

Eutanásia em camundongos

Segundo Cardoso (2002), eutanásia significa morte sem dor ou sofrimento. Para tanto, diversas técnicas podem ser utilizadas, as quais devem ser humanitárias, não causando terror ou sofrimento ao animal, não impressionar ou sensibilizar as pessoas que assistem ao ato, ter um tempo mínimo para a perda da consciência, não produzir alterações que prejudiquem a interpretação das lesões, ser de fácil aplicação, ação rápida e baixo custo, não permitir o espalhamento de sangue pelo local, evitando-se contaminações que possam propiciar disseminação de doenças infecto-contagiosas e não oferecer perigo ao profissional que o execute.

Dentre os métodos utilizados para realização da eutanásia, têm-se os métodos físicos e os métodos químicos, utilizando-se tanto gases inalantes como agentes farmacológicos não-inalantes (Animal Welfare Institute, 1968).

Os métodos físicos, como deslocamento cervical, traumatismo craniano, decapitação, exangüinação, tiro por arma de fogo ou eletrocussão, só devem ser empregados quando outros métodos podem invalidar uma determinada informação ou pesquisa, principalmente aquelas relacionadas com os processos bioquímicos do animal. Os métodos químicos utilizando agentes farmacológicos inalantes, como anestésicos ou gases, ou agentes farmacológicos não inalantes, como pentobarbital sódico ou hidrato de cloral, são os métodos de escolha de melhor resolução e mais estéticos, não causando traumas aparentes ao animal (OPS, 1968; CCAC, 1984; Fiocruz, 1993; De Luca et al., 1996).

A Tabela 5 apresenta os métodos de eutanásia recomendados e aceitos sob restrição para várias espécies animais, de acordo com a Resolução no 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária - CFMV (Conselho, 2002).

Entende-se por métodos recomendados aqueles que produzem consistentemente uma morte humanitária, quando usados como métodos únicos de eutanásia. Já os métodos aceitos sob restrição são aqueles que, por sua natureza técnica ou por possuírem um maior potencial de erro por parte do executor ou por apresentarem problemas de segurança, podem não produzir consistentemente uma morte humanitária. Tais métodos devem ser empregados somente diante da total impossibilidade do uso dos métodos recomendados na Resolução nº 714 de 2002 (Conselho, 2002).

Tabela 5 - Métodos de eutanásia recomendados ou aceitos sob restrição para várias espécies animais.

Espécies animais	Métodos recomendados	Métodos aceitos sob restrição
Anfíbios	Barbitúricos, anestésicos inaláveis (em algumas espécies), dióxido de carbono (CO ₂), monóxido de carbono (CO), metano sulfonato de tricafina (TMS, MS222), hidrócloro de benzocaína, dupla secção da medula espinhal.	Pistola de ar comprimido, pistola, atordoamento e decapitação, decapitação e secção da medula espinhal.
Animais selvagens de vida livre	Barbitúricos intra-venosos (IV) ou intra-peritoniais (IP), anestésicos inaláveis, cloreto de potássio com anestesia geral prévia.	CO ₂ , CO, nitrogênio (N ₂), argônio, pistola de ar comprimido, pistola, armadilhas (testadas cientificamente).
Animais de zoológicos	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ , CO, cloreto de potássio com anestesia geral prévia.	N ₂ , argônio, pistola de ar comprimido, pistola.
Aves	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ , CO, pistola.	N ₂ , argônio, deslocamento cervical, decapitação.
Cães	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ , CO, cloreto de potássio com anestesia geral prévia.	N ₂ , argônio, pistola de ar comprimido, eletrocussão com sedação prévia.
Cavalos	Barbitúricos, cloreto de potássio com anestesia geral prévia, pistola de ar comprimido.	Hidrato cloral, (IV, após sedação), pistola, eletrocussão com sedação prévia.
Coelhos	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ , CO, cloreto de potássio com anestesia geral prévia.	N ₂ , argônio, deslocamento cervical (<1 kg), decapitação, pistola de ar comprimido.
Gatos	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ , CO, cloreto de potássio com anestesia geral prévia.	N ₂ , argônio.
Mamíferos marinhos	Barbitúricos, hidrócloro de etorfina.	Pistola (cetáceos < 4 m de comprimento)
Peixes	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ , tricafina metano sulfonato (TMS, MS222), hidrócloro de benzocaína, 2-fenoxietanol.	Decapitação e secção da medula espinhal, atordoamento e decapitação ou secção da medula espinhal.
Primatas não-humanos	Barbitúricos	Anestésicos inaláveis, CO ₂ , CO, N ₂ , argônio.
Répteis	Barbitúricos, anestésicos inaláveis (em algumas espécies), CO ₂ (em algumas espécies).	Pistola de ar comprimido, pistola, decapitação e secção da medula espinhal, atordoamento e decapitação.
Roedores e outros pequenos mamíferos	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ , CO, cloreto de potássio com anestesia geral prévia.	Metoxiflurano, N ₂ , argônio, deslocamento cervical (ratos <200 g), decapitação.
Ruminantes	Barbitúricos, cloreto de potássio com anestesia geral prévia, pistola de ar	Hidrato cloral (IV, após sedação), pistola,
Suínos	Barbitúricos, CO ₂ , cloreto de potássio com anestesia geral prévia, pistola de ar comprimido.	Anestésicos inaláveis, CO, hidrato cloral, (IV após sedação), pistola, eletrocussão com sedação prévia, pancada na cabeça (< 3 semanas de idade).
Visões, raposas, e outros mamíferos criados para extração dos pêlos	Barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO ₂ (visões requerem altas concentrações para eutanásia sem agentes suplementares), CO, cloreto de potássio, com anestesia geral prévia.	N ₂ , argônio, eletrocussão, com sedação prévia seguida de deslocamento cervical.

Fonte: Resolução nº 714/2002 (Conselho, 2002).

De acordo com Olfert et al. (1998), os métodos de eutanásia mais aceitáveis para camundongos referem-se à utilização de anestésicos por inalação em câmara especial, barbitúricos e irradiação com microondas. Incluem-se entre os métodos aceitáveis o contato do animal com uma mistura de gás carbônico e oxigênio, ou ainda a exposição ao monóxido de carbono. No caso de utilização de barbitúricos, deve-se utilizar sobredosagem de forma a deprimir o sistema nervoso central e produzir inconsciência irreversível e morte.

A Resolução no 714/2002 cita alguns métodos de eutanásia que são inaceitáveis, como embolia gasosa, traumatismo craniano, incineração *in vivo*, hidrato de cloral (para pequenos animais), clorofórmio, gás cianídrico e cianuretos, descompressão, afogamento, exsanguinação (sem sedação prévia); imersão em formol, bloqueadores neuromusculares (uso isolado de nicotina, sulfato de magnésio, cloreto de potássio e todos os curarizantes), além da estricnina (Conselho, 2002).

Técnicas de risco desenvolvidas na experimentação com camundongos

O uso adequado de animais utilizados em modelos experimentais exige a formação de profissionais qualificados para atender as necessidades e as exigências para a realização destes procedimentos associados à experimentação para fins didático-científicos, desenvolvimento e inovações tecnológicas e ensaios laboratoriais, conforme mostram nossos dados (Marona, 2003). Segundo Presgrave (2002), quando se lida com camundongos, deve-se ter em mente a necessidade de proteção não apenas dos animais, mas também do pesquisador, evitando-se, dessa forma, a ocorrência de mordidas e arranhões. Logo, determinados procedimentos e cuidados devem obrigatoriamente ser utilizados em qualquer tipo e etapa do manuseio com animais. Assim, é imprescindível a utilização de EPIs (Equipamentos de Proteção Individual) e, se necessário, EPCs (Equipamentos de Proteção Coletiva).

Dentre os EPIs, destacam-se as luvas, óculos de proteção, máscara cirúrgica, gorros e jaleco. Dentre os EPCs, tem-se os de uso geral, como extintores de incêndio e chuveiros e outros mais específicos e que devem ser empregados em casos particulares, como capela de fluxo laminar e capela de exaustão, além de caixa para descarte de material perfuro-cortante (NRC, 1989; Teixeira & Vale, 1996; Grist, 1997).

Coleta de sangue em camundongos

A coleta de sangue de camundongos é necessária para uma grande variedade de estudos científicos e há uma grande diversidade de métodos disponíveis. Deve-se atentar para a coleta de sangue porque ela pode estressar o animal, podendo interferir nos dados da pesquisa. São descritas na literatura técnicas que não requerem anestesia para coleta de

sangue, técnicas que precisam de anestesia e procedimentos terminais. Dentre as técnicas que não requerem anestesia, destaca-se a coleta de sangue da veia safena e da veia dorsal pedal. Exemplo de coleta que requer anestesia é a técnica de retirada de sangue da veia jugular, além de procedimentos terminais, como punção cardíaca (Hoff, 2000; Bronstad, 2001).

A escolha correta do local em que o sangue será coletado, bem como a técnica empregada para tal fim, é de extrema importância. Van Herck et al. (1998) citam, por exemplo, que a coleta de sangue dos sinos orbitais pode resultar em problemas irreversíveis como ulcerações oculares.

Hoff (2000) cita uma série de fatores que devem ser considerados na escolha da técnica e do local de coleta de sangue em camundongos, como a frequência da coleta, uso de anestésicos, efeito nos parâmetros sanguíneos, volume requerido, dentre outros, com o objetivo de se obter dados mais confiáveis, de forma a estressar de maneira menos intensa os animais empregados nos estudos.

Experimentos toxicológicos com camundongos

Segundo Wilson (1993), o pequeno tamanho dos camundongos é a maior desvantagem para sua utilização em alguns estudos toxicológicos. Embora quantidades usuais de sangue possam ser retiradas dos camundongos sem causar morte, é provável que a fisiologia do animal seja afetada, dificultando observações subseqüentes. Os tecidos também são pequenos, causando dificuldades em comparações com humanos. Os camundongos têm sido bastante utilizados em estudos para verificação de carcinogenicidade (Kelland, 2004).

Experimentos farmacológicos com camundongos

Os camundongos são utilizados em diversos modelos experimentais para avaliação da atividade farmacológica de extratos vegetais e de formas farmacêuticas.

O ensaio sobre a motilidade intestinal foi desenvolvido no final da década de 1950 por Janssen & Jageneau (1957) e Wong & Way (1981). Vários estudos foram realizados pelo nosso grupo utilizando camundongos para avaliação da motilidade intestinal de extratos vegetais (Marona et al., 1992; Michelin & Marona, 2004; Figueiredo et al., 2005; Salgado et al., 2005; Salgado et al., 2006). Este ensaio foi modificado em estudo realizado em nosso laboratório com a finalidade de observar o bem-estar animal. Neste trabalho, utilizamos como valor mensurável o tempo de evacuação e, desta forma, os animais não foram sacrificados (Marona & Lucchesi, 2004). Isto posto, este estudo veio ao encontro das necessidades das pesquisas científicas, com a proposição de nova técnica apoiada nos princípios de ética e de bem-estar dos animais.

Também, nosso grupo participou de uma pesquisa em que se avaliou a atividade antiesquistossomose de lipossomas de fosfatidilcolina contendo praziquantel utilizando camundongos como modelo experimental (Mourão et al., 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca incessante de novas técnicas que promovam o bem-estar animal é um aspecto relevante na otimização de experimentos biológicos, conforme mostram dados de nosso grupo (Marona & Lucchesi, 2003; Marona & Lucchesi, 2004). É importante destacar que os camundongos são os vertebrados mais utilizados nas pesquisas científicas. Este fato deve-se às semelhanças genéticas entre as espécies, uma vez que 99% dos genes humanos foram mapeados em camundongos, o que permite o estabelecimento de mecanismos envolvidos nas desordens genéticas das espécies. O camundongo é a espécie geneticamente modificada mais utilizada nas pesquisas, com cerca de 97% do total. Milhões de animais são ainda usados para buscar a cura de doenças e o desenvolvimento de novos produtos, vacinas, medicamentos ou cosméticos. A Figura 4 ilustra o percentual de animais utilizados em pesquisa científica.

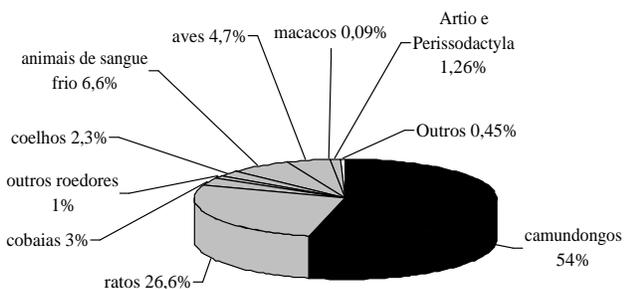


Figura 4. Percentual de animais utilizados em pesquisas científicas.

Fonte: CEC, 2005.

Na Figura 5, é possível observar que 90% dos animais utilizados em pesquisas apresentadas em periódicos de divulgação internacional são roedores e lagomorfos.

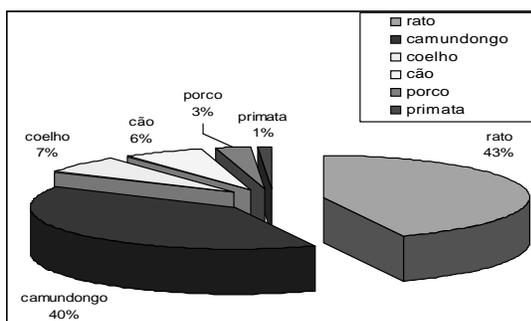


Figura 5. Percentual de animais utilizados em pesquisas científicas citado nos principais veículos de divulgação.

Fonte: Fagundes & Taha, 2004.

Finalmente, é importante salientar a busca por técnicas alternativas que venham substituir a utilização de animais em experimentos científicos, tanto na busca por novos fármacos e vacinas como nos procedimentos de cura de doenças.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Brasília, Brasil), à CAPES (Brasília, Brasil), à FAPESP (São Paulo, Brasil), à FUNDUNESP (São Paulo, Brasil) e ao PADC-FCF-UNESP (Araraquara, Brasil), pelo apoio financeiro aos nossos projetos. À Maria de Fátima Rodrigues Lopes, pelo apoio técnico nos cuidados com os animais de laboratório.

ABSTRACT

Laboratory animals: the mouse

The animal experimentation in the scientific research has contributed excessively for the development of science and technology, promoting to long of the years the discovery of prophylactic measures and treatments for diseases that attack the humans. Animals of some species have been used in the last times, being the mouse the more intensely used and more deeply known scientifically. The objective of this work was to carry through a bibliographical survey including data of our research group, about the use of mice in the animal experimentation, approaching its general biology, reproduction physiology, creation systems, genetics, habitation, feeding, handling, pain and euthanasia, techniques of risk developed in the experimentation, blood collection, pharmacological and toxicological experiments. Although current trends praise the use of alternative methods (in vitro studies, cells cultures, etc.), the animal models, as the mouse, present as main advantage the supply of information on the organism as a whole, fact that is not obtained with other methods, what still it makes possible its utilization in scientific research.

Keywords: animal experimentation; mouse; general biology; techniques of risk in the experimentation.

REFERÊNCIAS

- Andrade MCR. A utilização de símios do gênero *Callithrix* como modelo experimental. 2006. Disponível em URL: <http://www.cobea.org.br/artigo4.htm>. [14 out 2006].
- Animais reproduzidos. *Mus musculus*. 2006. Disponível em URL: <http://www.reitoria.ufsc.br/prpg/bioterio> [05 nov 2006].

- Animal welfare institute. *Basic care of experimental animals*. New York: Academic Press, 1968. 78p.
- Baker HJ, Linsey JR, Weisbroth SH. *The laboratory rat*. New York: Academic Press, 1979. 194p.
- Bauck L, Bihun C. Basic anatomy, physiology, husbandry and clinical techniques of small rodents. In: Quesenberry K, Hillyer E. *Ferrets, rabbits and rodents: clinical medicine and surgery*. Philadelphia: WB Saunders, 1997. p.291-306.
- Bronstad A. Blood collection using the saphenous vein: na alternative to retro-orbital collection. 2001. Disponível em URL: http://www.uib.no/vivariet/mou_blood/Blood_coll_mice_.html [22 abr 2007].
- Cardoso CVP. Eutanásia. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p.275-9.
- Cardoso TAO. Biosegurança no manejo de animais em experimentação. In: Oda LM, Ávila S. *Biossegurança em laboratórios de saúde pública*. Brasília, 1998. p.11-4.
- CCAC. Canadian Council on Animal Care. *Guide to the care and use of experimental animals*. Canadian Council on Animal Care: Ottawa, 1984. 208p.
- CEC. Commission of the European Communities. Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the development, validation and legal acceptance of the alternative methods to animal tests in the field of cosmetic. Brussels, 2005. 11p.
- Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002. Dispões sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. Diário Oficial da União (DOU), 21 de junho de 2002. Disponível em URL: http://www.cfmv.org.br/legislacao/resolucoes/resolucao_714.htm. [29 maio 2007].
- Corbin J. Laboratory animal nutrition. In: Melby Jr EC, Altman NM. *CRC - Handbook of laboratory animal science*. Boca Raton: CRC Press, 1974. p.1-21.
- De Lucca RR, Alexandre SR, Marques T, Souza NL, Merusse JL, Neves SP. *Manual para técnicos em bioterismo*. São Paulo: Winner Graph, 1996. 259p.
- Dukes HH. *Fisiologia de los animales domésticos*. Madrid: Aguilar, 1960. p.134-66.
- Fagundes DJ, Taha MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cir Bras* 2004; 19(1): 59-65.
- Figueiredo ME, Michelin DC, Sannomiya M, Silva MA, Santos LC, Almeida LFR, Brito ARMS, Salgado HRN, Vilegas W. Avaliação química e antiarréica de *Byrsonima cinera* DC (Malpighiaceae). *Rev Bras Ciênc Farm* 2005; 41 (1): 79-83.
- Fiocruz. Fundação Oswaldo Cruz. Departamento de Biotérios/Bio-Manguinhos. *Manual para técnicos em animais de laboratório*. Rio de Janeiro: Setor de Multimeios/Fiocruz, 1993. 132p.
- Flecknell PA. Refinement of animal use - assessment and alleviation of pain and distress. *Lab Anim* 1994; 28(3): 222-31.
- Foster H, Small D, Fox G. *The mouse in biomedical research*. New York: Academic Press, 1983. 272p.
- Franco MG. Animais de laboratório - o camundongo. 2006. Disponível em URL: <http://www.cobea.org.br/animais.htm>. [14 out 2006].
- Furukawa F. Photosensitivity in cutaneous lupus erythematosus: lessons from mice and men. *J Dermatol Sci* 2003; 33: 81-9.
- Garvey JS, Cremer NE, Sussdorf DH. *Methods in immunology: a laboratory text for instruction and research*. Massachusetts: The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1977. 545p.
- Godard ALB, Guénet J. Genética de camundongos - modelos animais de doenças humanas. *Biotechnol Ciênc Desenvol* 1999; 9: 96-100.
- Green CJ. *Laboratory animal handbook: animal euthanasia*. London: Laboratory Animals, 1982. p.171-7.
- Green EH. *The biology of laboratory mouse*. 2nd.ed. New York: McGraw-Hill, 1966. 706p.
- Grist NR. *Manual de biossegurança para o laboratório*. São Paulo: Ed. Santos, 1997. 133p.
- Heywood R. The use of animals in testing. *ATLA* 1987; 14(4): 329-33.
- Hoff J. Methods of blood collection in the mouse. *Lab Anim* 2000; 29(10): 47-53.
- Janssen P, Jageneau AH. A new series of potent analgesics. Part I: Chemical structure and pharmacological activity. *J Pharm Pharmacol* 1957; 9: 381-400.
- Johnson-Delaney C. *Small rodents: rats*. Florida: Exotic Companion Medicine Handbook, 1996. 200p.
- Junqueira Jr LF, Ubatuba FB. Espécies de animais empregadas em experimentação laboratorial. Disponível em URL: <http://www.unb.br/fs/clm/labcor/Animalab/Animalab.htm>. [14 out 2006].
- Kasper S, Smith Jr JA. Genetically modified mice and their use in developing therapeutic strategies for prostate cancer. *J Urol* 2004; 172: 12-9.
- Kelland LR. "Of mice and men": values and liabilities of the athymic nude mouse model in anticancer drug development. *Eur J Cancer* 2004; 40: 827-36.
- LASA. Laboratory Animal Science Association. Working party - the assessment and control of the severity of scientific procedures on laboratory animals. *Lab Anim* 1990; 24: 97-130.

- Leon LR. The use of gene knockout mice in thermoregulation studies. *J Therm Biol* 2005; 30: 273-88.
- Marona HRN, Langeloh A, Schenkel EP. Atividade abortiva de *Ateleia glaziviana* Baillon (Leguminosae-Papilionoideae) em ratas. *Pesq Vet Bras* 1992; 12 (3/4): 81-3.
- Marona HRN. Princípios éticos da experimentação animal. *Rev Ciênc Farm* 2003; 24(2): 97-106.
- Marona HRN, Lucchesi MBB. Refining the intestinal motility test in mice to reduce animal stress. *Rev Ciênc Farm* 2003; 24(1): 79-82.
- Marona HRN, Lucchesi MBB. Protocol to refine intestinal motility test in mice. *Lab Anim* 2004; 38: 257-60.
- Michelin DC, Marona HRN. Avaliação da atividade laxante de *Operculina macrocarpa* (L.) Urb. (Convolvulaceae). *Rev Bras Farmacogn* 2004; 14 (2): 105-9.
- Montgomery Jr C. Control of animal pain and distress in cancer and toxicological research. *J Am Vet Med Assoc* 1987; 191(10): 1277-81.
- Mourão SC, Costa PI, Salgado HRN, Gremião MPD. Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes. *Int J Pharm* 2005; 295: 157-62.
- Nakamura M, Tobin DJ, Richards-Smith B, Sundberg JP, Paus R. Mutant laboratory mice with abnormalities in pigmentation: annotated tables. *J Dermatol Sci* 2002; 28: 1-33.
- NRC. National Research Council. *Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório*. Goiânia: AAALAC/COBEA, 2003. p.75-89.
- NRC. National Research Council. *Biosafety in the laboratory*. Washington: National Academy Press, 1989. p.25-7.
- Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. *Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación*. Consejo Canadiense de Protección de Los Animales, 1998. v.1.
- OPS. Organización Panamericana de la Salud. *Animales de laboratorio: guía para instalaciones y cuidado de animales de laboratorio*. Washington: OPS, 1968. 81p.
- Passos LAC, Lima Filho AF, Mencarelli MM, Jesus JR. Auto suficiência na criação de maravalha utilizada na criação de animais de laboratório. 2006. Disponível em URL: <http://www.cobea.org.br/artigo5.htm>. [14 out 2006].
- Presgrave OAF. Técnicas de risco desenvolvidas na experimentação com roedores. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório; criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p.295-7.
- Printz MP. Radiotelemetry comes of age-perhaps just in time. *Am J Physiol* 2004; 286: R818-R819.
- Ribeiro SML, Campos P, Tirapegui J. O rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica de seu uso. *Rev Farm Bioquím Univ São Paulo* 1995; 31(1): 21-8.
- Rivera EAB. Analgesia em animais de experimentação. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório; criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p.247-53.
- Salén JCW. Animal models: principles and problems. In: Rollin BE, Kessel ML. *The experimental animal in biomedical research: care, husbandry and well-being: an overview by species*. 3rd.ed. Boston: CRC Press, 1995. 560p.
- Salgado HRN, Roncari AFF, Moreira RRD. Antidiarrhoeal effects of *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) leaf extract in mice. *Rev Bras Farmacogn* 2005; 15 (3): 205-8.
- Salgado HRN, Roncari AFF, Michelin DC, Moreira RRD. Evaluation of antidiarrhoeal effects of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) aqueous leaf extract in mice. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2006; 27 (1): 89-92.
- Santos BF. Camundongos mutantes mais utilizados. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. a p.139-42.
- Santos BF. Criação e manejo de camundongos. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. b p.115-8.
- Schneider I, Tirsch WS, Faus-Kebler T, Becker L, Kling E, Busse RLA, Bender A, Feddersen B, Tritschler J, Fuchs H, Gailus-Durner V, Englmeier KH, De Angelis MH, Klopstock T. Systematic, standardized and comprehensive neurological phenotyping of inbred mice strains in the German Mouse Clinic. *J Neurosci Methods* 2006; 157: 82-90.
- Shiohara T, Hayakawa J, Mizukawa Y. Animal models for atopic dermatitis: are they relevant to human disease? *J Dermatol Sci* 2004; 36: 1-9.
- Snitkoff, GG. Testes biológicos. In: Gennaro AR. *Remington: a ciência e a prática da farmácia*. 20.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.556-68.
- Soma LR. Assessment of animal pain in experimental animals. *Lab Anim Sci* 1987; 37: 71-4.
- Teixeira P, Valle S. *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1996. 362p.
- The Jackson Laboratory. *Handbook on genetically standardized JAX mice*. Bar Harbor: The Jackson Laboratory, 1997. p.97-102.
- UFAW. Universities Federation for Animal Welfare. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*. 6th.ed. London: Churchill Livingstone, 1986. 365p.
- Van Herck H., Baumans V, Brandt CJ, Hesp AP, Sturkenboom JH, Van Lith HA, Van Tintelen G, Beynen AC. Orbital sinus blood sampling in cats as performed by different animal technician: the influence of technique and expertise. *Lab Anim* 1998; 32: 377-86.

Animais de laboratório: o camundongo

Wilson AB. Effects of physical form, route and species. In: Anderson D, Conning DM. *Experimental toxicology: the basic issues*. 2nd. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1993. 566p.

Wolfenson S, Lloyd M. *Handbook of laboratory animal management and welfare*. Oxford: Oxford University Press, 1994. p.218-38.

Wong CL, Way MK. Effects of aspirin and paracetamol on naloxone reversal of morphine-induced inhibition of gastrointestinal propulsion in mice. *Eur J Pharmacol* 1981; 73: 11-9.

Woodbury RA, Hamilton WF. Blood pressure studies in small animals. *American J Physiol* 1937; 119(4): 663-74.

Yan C, Matzuk MM. Transgenic models of ovarian failure. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8(1): S30-S33 (Suppl.).