

## **Eficiência de protótipo de microambiente com controle sobre ventilação, temperatura e umidade, para roedores**

### ***Efficiency of microenvironment prototype with control over ventilation, temperature, and humidity, for rodents***

### ***Eficiencia de prototipo de microambiente con control sobre ventilación, temperatura y humedad, para roedores***

Juliana Teixeira de Almeida<sup>1</sup>

Albert Schiaveto de Souza<sup>2</sup>

Mauro Conti Pereira<sup>3</sup>

Matheus Bueno Gomes<sup>4</sup>

---

<sup>1</sup> Especialização em Pediatria e Neonatologia pelo Coffito. Aperfeiçoamento em Fisioterapia em Pediatria e Neonatologia pela Faculdade Inspirar. Pós-graduação em Fisiologia do Exercício: Prescrição do Exercício pela Universidade Gama Filho. Graduação em Fisioterapia pela Universidade Católica Dom Bosco. Técnica administrativa em Educação na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, desde 2014. E-mail: [juliana.teixeira@ufms.gov.br](mailto:juliana.teixeira@ufms.gov.br), Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-4704-3767>

<sup>2</sup> Pós-doutorado na University of Oxford, UK, por meio da Universidade de São Paulo, Campus Ribeirão Preto. Doutorado e mestrado em Ciências (Fisiologia) pela Universidade de São Paulo, Campus Ribeirão Preto. Graduação em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Londrina. Professor da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), como professor associado, ao nível de graduação, orientador credenciado no Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, em Odontologia e em Saúde da Família. Colaborador no Programa de Mestrado em Farmácia da UFMS e diretor do Instituto de Biotecnologia da UFMS. É avaliador do Inep/MEC para o curso de Fisioterapia. E-mail: [albertss@hotmail.com](mailto:albertss@hotmail.com), Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-0017-672X>

<sup>3</sup> Doutor em Engenharia Elétrica pela Universidade de São Paulo. Docente no Departamento de Engenharias da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) e no Instituto Federal de Mato Grosso do Sul (IFMS). E-mail: [maurocp@gmail.com](mailto:maurocp@gmail.com), Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-7292-3918>

<sup>4</sup> Graduação em Engenharia de Controle e Automação pela Universidade Católica Dom Bosco. Engenheiro de hardware – ENG Soluções Tecnológicas. E-mail: [matheusmbg.eng@gmail.com](mailto:matheusmbg.eng@gmail.com), Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-3906-416X>

**Resumo:** O ambiente no qual o animal experimental se encontra deve ser padronizado, pois pode influenciar os resultados das pesquisas. A tecnologia existente, além de onerosa, não reúne em um único aparelho todas as especificações necessárias para esse fim. No intuito de controlar e padronizar, foi desenvolvido protótipo de microambiente utilizando o sistema Peltier, que é um método alternativo de refrigeração, com controle sobre temperatura, umidade, iluminação e ventilação, e testado em estudo experimental, comparando entre o grupo controle e experimental os parâmetros ambientais, consumo alimentar e hídrico e ganho ponderal. Eles foram analisados pelo teste t-Student, programa SigmaPlot, versão 12.5, significância de 5%. O protótipo despontou como produto diferenciado, superior ao comercializado, eficiente no controle das variáveis ambientais, mantendo sua estabilidade, bem como proporcionando atmosfera isolada e adequada para abrigar animais e mantê-los em ambiente controlado e passível de reprodução com custo reduzido, acessível a biotérios e grupos de pesquisa desprovidos de grandes verbas.

**Palavras-chave:** biotério, bem-estar animal, manipulação animal.

**Abstract:** The environment that the experimental animal is found should be standardized as it may influence the results of the research. The existing technology, in addition to costly, does not includes in a single device all the necessary specifications for this purpose. To control and standardize, a prototype microenvironment was developed using the Peltier system, which is an alternative method of cooling, with control over temperature, humidity, lighting, and ventilation, and tested in an experimental study, comparing between control and experimental groups the parameters environmental, food and water consumption, and weight gain. They were analyzed by Student's t-test, SigmaPlot program, version 12.5, significance of 5%. The prototype is a differentiated product, far greater and efficient in the control of environmental variables, maintaining its stability, as well providing an adequate atmosphere to house animals and keeping them in a controlled and reproducible environment at low cost, accessible to animal houses and research groups deprived of large sums.

**Keywords:** animal house; animal manipulation; animal welfare.

**Resumen:** El ambiente que el animal experimental se encuentra debe ser estandarizado, pues puede influenciar los resultados de las investigaciones. La tecnología existente, además de onerosa, no reúne en un solo aparato todas las especificaciones necesarias para este fin. Para controlar y estandarizar, se desarrolló un prototipo de microambiente utilizando el sistema Peltier, que es un método alternativo de refrigeración, con control sobre temperatura, humedad, iluminación y ventilación, y probado en estudio experimental, comparando entre el grupo control y experimental los parámetros ambientales, consumo de alimentos, agua y la ganancia ponderal, los cuales fueron analizados por el test t-Student, programa SigmaPlot, versión 12.5, significancia del 5%. El prototipo se destaca como producto diferenciado, superior a los comercializados, eficiente en el control de las variables ambientales, manteniendo su estabilidad, así como proporcionando atmósfera adecuada para albergar animales y mantenerlos en ambiente controlado y pasible de reproducción con costo reducido, accesible a los bioterios y grupos de investigación

**Palabras clave:** bioterio; bienestar animal; manejo de animales.

## **1 INTRODUÇÃO**

O objetivo direto ou indireto das pesquisas biomédicas é a humanidade, o que por si só justifica o uso de animais em pesquisas e ensino há muito tempo. No entanto, juntamente do avanço da ciência, tem se fortalecido o discurso sobre o bem-estar dos animais de experimentação. No intuito de normatizar a proteção pretendida, foi editada a Lei Federal n. 11.794/08, transformando o bem-estar dos animais numa questão ética e humanitária, limitando e estabelecendo regras para utilização e aplicação de estudos e experiências com os animais. Foi viabilizado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) e uma política nacional para o exercício das atividades de estudo e pesquisa de observância obrigatória pelos pesquisadores. A partir daí, padrões éticos internacionais foram normatizados e houve destaque à importância da análise prévia de necessidade do uso de animais em situações experimentais, a fim de respaldar a participação desses seres em pesquisas científicas, uma vez que a saúde, o bem-estar e o conforto dos animais estão intimamente relacionados a resultados mais relevantes e positivos. Além disso, sabe-se que, quanto mais uniforme e controlada for a pesquisa, mais garantida está a sua acurácia, sensibilidade, reprodutibilidade e confiabilidade.

Em linha com esses princípios, o zoologista William M. S. Russel e o microbiologista Rex L. Burch, em 1959, publicaram "*The Principles of Humane Experimental Technique*", responsáveis pela introdução na comunidade científica dos termos *Replacement, Reduction e Refinement*, hoje conhecidos como 3Rs, que são constantemente discutidos e atualizados. Em Português, significam Substituição, Redução e Refinamento, vistos como alternativas para minimizar o potencial sofrimento animal em atividades científicas ou didáticas.

Em relação à ideia principal de cada termo, temos originalmente o termo "Substituição" definido como o uso de material animal ou não animal, podendo ser de uso total, quando ocorre em todas as etapas do estudo, ou parcial, reduzindo, assim, o número final do experimento. "Redução" é a capacidade de obter informação precisa, com o menor número de animais; e, por último, o termo "Refinamento" engloba todo manejo envolvendo o

animal, no intuito de reduzir o sofrimento por parte dos animais. Portanto, quanto ao bem-estar animal, é notório que se fazem necessários os cuidados principais em relação aos procedimentos escolhidos e, também, quanto às características que descrevem o alojamento do animal. Logo, esses princípios nos guiaram primariamente na execução do projeto.

Em termos gerais, o biotério divide-se em macroambiente e microambiente, sendo o segundo o espaço físico imediatamente próximo ao animal, que é o recinto primário, como a gaiola, que contém todos os recursos com os quais os animais mantêm contato direto. Intimamente relacionados, o macro é capaz de influenciar o micro, tanto que, em casos de o macroambiente ter dimensões próximas às do micro, como acontece nos Racks e Estantes Ventiladas, pode-se considerá-lo microambiente.

O microambiente em si, ou seja, a caixa, pode ser convencional (tampa aberta com grade superior), gaiola de microisolamento (MIS) ou gaiola individualmente ventilada (IVC). De maneira geral, essas gaiolas podem ser abrigadas e organizadas em prateleiras convencionais, abertas, chamadas de ventilação geral diluidora (VGD), que utilizam para controle ambiental, exclusivamente, o controle da sala onde estão localizadas e ficam expostas à poeira, a microrganismos, gases etc. Outra opção seria abrigar as gaiolas em módulos para microisoladores, chamados de Ventilação Microambiental (VMA), que são essencialmente isoladores do macroambiente com filtragem para controle de poluentes. Apesar de mais onerosa, é a opção mais aceita e utilizada atualmente na padronização ambiental em pesquisas, mesmo não contemplando todos os requisitos necessários para controle ambiental fidedigno. Esse tipo de módulo divide-se em Racks e Estantes Ventiladas.

A padronização do local em que o animal se encontra durante as pesquisas tem capacidade de influenciar os resultados, uma vez que se entende que os fatores físicos de um ambiente, tais como temperatura, umidade relativa do ar, iluminação, ruídos, gases e substâncias particuladas, interferem nas respostas biológicas dos animais selecionados para pesquisas laboratoriais, tornando-se indispensável, então, a busca por meios de controle dessas variáveis para garantir a confiabilidade e reprodutibilidade dos experimentos.

Entre os fatores ambientais de importante padronização, destacamos a temperatura, que foi objeto de estudo de Jean Charles Athanase Peltier.

Em 1834, ele descobriu um fenômeno termoelétrico, hoje conhecido como efeito Peltier, que consiste na produção de um gradiente de temperatura na junção de dois metais diferentes, onde uma corrente elétrica produzirá calor ou frio dependendo do seu sentido; simplificando, de um lado da pastilha o calor é retirado, deixando o ambiente frio, enquanto do outro lado o calor é dissipado.

Em oposição ao modelo Peltier, encontra-se a refrigeração convencional e comumente usada, que é o sistema de compressão do gás freon, presente nos refrigeradores e aparelhos de ar-condicionado. A diferença entre os dois métodos é que o sistema de resfriamento termoelétrico (Peltier) refrigera sem o uso de partes mecânicas móveis e sem o fluido refrigerante, porém restrito a ambientes menores, além do fato de o gás freon estar associado a danos ecológicos e maiores custos; todavia ele é o mais capaz de refrigerar ambientes maiores.

Entre as vantagens do equipamento termoelétrico, podemos citar que é leve, preciso no controle da temperatura, possibilitando aumento ou redução de  $0,1^{\circ}\text{C}$ , silencioso, não causa vibração, necessita de menor espaço físico que os ciclos por compressão e absorção, requer menos manutenção, e o mesmo sistema pode aquecer ou resfriar a massa de ar, apenas com a inversão do sentido da corrente elétrica.

Devido à evidente necessidade científica de isolamento e controle do ambiente que abriga animais durante os experimentos, ao seu alto custo e, principalmente, à ausência no mercado de produto que englobe as especificações necessárias para este fim, foi construído um protótipo de microambiente com base no modelo Peltier e avaliada sua performance abrigando roedores com relação à manutenção da ventilação, umidade, iluminação e temperatura, a fim de torná-lo financeiramente acessível e prover um ambiente isolado e uniforme, necessário para resultados experimentais consistentes.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Tipo de estudo e local

Foi realizado estudo experimental, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), registrada com o número 907/2017.

O protótipo foi desenvolvido na Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) e testado no Laboratório de Biofisiofarmacologia da UFMS por meio de estudo experimental, sendo necessários 18 exemplares de *Rattus norvegicus* de linhagem Wistar, oriundos do Biotério Central-UT/Inbio da UFMS, machos de 21 dias, recém-desmamados e com padrão sanitário atestado.

### 2.2 Experimentos e grupos experimentais

Os animais foram alocados randomicamente em 2 grupos, sendo:

Grupo Controle: 12 machos, divididos em quatro caixas, contendo três animais em cada caixa convencional de polipropileno com dimensão 30,5x19,8x13,4 cm e grade superior de inox. Os animais permaneceram submetidos às condições ambientais convencionais do Laboratório de Biofisiofarmacologia da UFMS, no sistema VGD, recebendo água e ração *ad libitum*, com exaustão contínua, condicionamento de ar feito pelo aparelho tipo *Split inverter* (marca Midea Liva, de 9.000 BTUS), programado para 22°C, com temporizador automático com ciclo de 12 horas, utilizando lâmpada de LED.

Grupo Microambiente: seis machos, divididos em duas caixas, contendo três animais em cada caixa convencional de polipropileno com dimensão 30,5x19,8x13,4 cm e grade superior de inox, inseridos no protótipo, recebendo água e ração *ad libitum*. O microambiente foi programado para manter a temperatura em 22°C, ventilação de 24 trocas de ar por hora, temporizador automático com ciclo de 12 horas, utilizando lâmpada de LED.

Inicialmente, o protótipo seria maior, capaz de abrigar caixas maiores, porém, no decorrer da construção, após testes, ajustes foram sendo realizados e houve redução da capacidade interna; por esse motivo, foi reduzido também o tamanho das caixas e, portanto, feita a readequação

dos animais, tornando o grupo Controle maior que o experimental, para conforto dos animais.

O experimento durou 21 dias entre os meses de dezembro de 2018 e janeiro de 2019, sendo interrompido devido à falta de espaço, uma vez que os animais atingiram o peso máximo para a lotação da caixa em que estavam.

Ambos os grupos foram pesados no início do experimento e semanalmente com balança eletrônica (modelo 2000, marca Bel Equipamentos); o consumo alimentar e hídrico, a temperatura, umidade e iluminação foram aferidos a cada três dias.

Para a temperatura e umidade do ambiente controle, foi utilizado termo-higrômetro (modelo HTC-2, marca Unity), posicionado sobre a bancada dos animais. Após 10 minutos, foi realizada a aferição. Já a mensuração no protótipo de microambiente foi realizada por meio do sistema próprio contínuo, com visor externo, facilitando a apreciação.

A verificação da luminosidade foi realizada com luxímetro digital de alta precisão (modelo MLM-1011, marca Mimipa) para ambos os grupos. Para o controle, a verificação foi realizada posicionando o medidor sobre a bancada dos animais, que foi travado para conferência após 5 minutos, enquanto no protótipo o medidor foi posicionado dentro do microambiente, sobre a caixa superior, seguindo o mesmo processo de aferição já descrito. Para medição da iluminação do microambiente, a porta era fechada para vedação completa e não interferência da iluminação da sala.

Foi utilizada serragem de pinus autoclavada para forração das caixas, que foram higienizadas a cada 3 dias ou conforme necessidade, e foram ofertadas aos animais ração própria para a espécie (NUVILAB® CR-1, marca Quimitia) e água para ambos os grupos.

## **2.3 Análise estatística dos resultados**

A comparação entre os grupos Controle e Microambiente, em relação às variáveis temperatura, umidade, luminosidade, consumo alimentar, consumo hídrico, peso e ganho de massa corporal, foi realizada pelo teste t-Student. Os demais resultados deste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva. A análise estatística foi realizada por meio

do programa estatístico SigmaPlot, versão 12.5, considerando um nível de significância de 5% (ROWE, 2007).

### **3 RESULTADOS**

#### **3.1 Desenvolvimento do Microambiente**

O microambiente foi desenvolvido no período entre maio de 2017 e novembro de 2018, adaptando uma adega climatizada (marca EasyCooler modelo JC-48G) para os propósitos necessários do projeto, sendo estes: controle de temperatura na faixa de 19°C a 23°C, acionamento automático de fita de LED para simulação de ambientes diurnos e noturnos, troca do ar por meio de um exaustor, IHM (interface homem-máquina) para configuração e visualização de parâmetros do ambiente.

Todo o controle de temperatura e configurações originais da geladeira de vinhos foram desligados, ficando por conta do sistema desenvolvido. Os únicos itens originais que foram mantidos foram as placas Peltier, a fonte de alimentação (utilizada também para energizar eletricamente o sistema desenvolvido) e a vedação térmica.

Utilizou-se como processador lógico o microcontrolador Arduino Mega. Este microcontrolador conta com 256 kbytes de memória Flash, 64 kb de memória RAM, 54 IOs (input/output) digital e 16 saídas analógicas. Esse modelo de processador foi escolhido graças a sua reconhecida flexibilidade para desenvolvimento e robustez para processamento de dados que requerem maior consumo de memória.

Além disso, o protótipo tem tela LCD de 128x64 pixels, com IHM para monitoramento dos parâmetros do ambiente interno, como temperatura, umidade, atuação do controle de temperatura, atuação do exaustor e luz interna, e também para configuração de temperatura de controle e horários de liga e desliga da luz, o que possibilita a realização de ciclo inverso para melhor adequação de alguns experimentos.

O sensor de temperatura utilizado é o modelo AM2302 DHT 22 desenvolvido pela SparkFun Electronics, que permite realizar leituras de temperatura e umidade com resoluções de 0,1°C e 0,1%, respectivamente.



Vale-se de comunicação *OneWire*, em que é usado apenas um barramento para recebimento e envio de dados para o sensor, estrutura divergente das topologias de comunicação mais comuns, em que são utilizados barramentos diferentes para recebimento e transmissão de dados.

O ambiente foi totalmente vedado à luz externa, sendo acopladas duas minicâmeras com infravermelho (marca HD Camera) que possibilitavam a visualização dos animais a qualquer tempo, independentemente de iluminação, evitando abertura da porta, a qual era aberta apenas para a troca de cama e reposição alimentar e hídrica. Todos esses dados estavam disponíveis externamente, por meio de monitor 24 horas/dia.

O sistema de exaustão permitia 24 trocas de ar por hora e, por sua vez, induzia entrada de ar por pressão negativa para ventilação com filtração; para este fim, foi utilizado filtro HME bacteriológico (marca Hygrobac) acoplado a uma válvula unidirecional que permite apenas a entrada de ar. O ar exalado foi direcionado ao exterior do prédio.

Foi utilizado *nobreak* (marca Serrana) para segurança dos animais alojados no protótipo, assegurando seu funcionamento ininterrupto, imprescindível em locais que não têm gerador.

Os parâmetros reguláveis foram a temperatura, em que os ajustes poderiam ser realizados a cada 0,1°C, e o tempo e a duração do ciclo ligado da iluminação, o que possibilita a inversão de ciclo necessária em alguns experimentos, utilizando LED para evitar aumento da carga térmica. Esses ajustes foram pré-programados, com possibilidade de alteração a qualquer tempo.

Dessa maneira, foi possível averiguar durante 24 horas a temperatura, iluminação e a condição da exaustão, se estavam naquele momento ligados ou desligados.

### **3.2 Resultados das variáveis**

Os resultados referentes ao controle ambiental da temperatura, umidade relativa e luminosidade, consumo alimentar e hídrico e ganho de peso, de acordo com os grupos Controle e Microambiente estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados referentes ao controle ambiental (temperatura, umidade e luminosidade), consumo alimentar e hídrico e ganho de peso, de acordo com os grupos Controle e Microambiente

Variáveis	Ambiente		Valor de p
	Controle	Microambiente	
<b>Temperatura média (°C)</b>	24,53 ± 0,23	22,49 ± 0,17	< 0,001
<b>Umidade (%)</b>	50,00 ± 2,28	59,63 ± 1,40	0,003
<b>Luminosidade (lux)</b>	197,63 ± 8,63	68,94 ± 2,50	< 0,001
<b>Consumo alimentar (g/dia/animal)</b>			
3 dias	8,93 ± 0,33	10,33 ± 0,15	0,010
6 dias	12,24 ± 0,30	13,50 ± 0,02	0,010
9 dias	14,54 ± 0,15	15,75 ± 0,31	0,001
12 dias	16,24 ± 0,17	17,39 ± 0,05	< 0,001
15 dias	18,06 ± 0,12	20,25 ± 0,01	< 0,001
18 dias	20,31 ± 0,31	22,69 ± 0,01	< 0,001
21 dias	22,00 ± 0,30	22,78 ± 0,05	0,089
<b>Consumo hídrico (ml/dia/animal)</b>			
3 dias	16,17 ± 0,51	17,72 ± 0,77	0,104
6 dias	21,89 ± 0,17	22,61 ± 1,07	0,364
9 dias	25,42 ± 0,43	28,33 ± 1,74	0,045
12 dias	27,08 ± 0,38	27,72 ± 0,87	0,441
15 dias	31,19 ± 0,49	33,72 ± 0,57	0,006
18 dias	35,19 ± 0,20	32,94 ± 0,92	0,005
21 dias	36,64 ± 0,30	32,94 ± 1,57	0,006
<b>Peso/semana (g/animal)</b>			
Inicial	49,21 ± 1,82	50,42 ± 3,21	0,728
Após 1 semana	84,04 ± 2,42	88,83 ± 4,93	0,338
Após 2 semanas	122,63 ± 3,02	129,83 ± 6,26	0,254
Após 3 semanas	161,63 ± 3,55	159,17 ± 7,49	0,738
Ganho de peso (g)	112,42 ± 2,29	108,75 ± 4,91	0,447

Os resultados estão apresentados em média ± erro padrão da média. Valor de p no teste t-Student. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre os ambientes ( $p < 0,05$ ).

Os quesitos ambientais estão expostos em média e erro padrão da média; em todos, foram encontradas diferenças entre os grupos, sendo que a temperatura e luminosidade foram significativamente maiores no ambiente controle (teste T-Student,  $p < 0,001$  para ambas as variáveis), ou seja, na sala onde estavam abrigados os animais do grupo Controle, em sistema VGD, e a umidade foi significativamente maior no interior do microambiente (teste T-student,  $p = 0,003$ ).

A temperatura preconizada pelo Conceia (2016) é entre 20°C e 26°C, com variação máxima de 4°C. Nesse quesito, mesmo tendo apresentado diferença entre os ambientes, ambos não excederam o limite, entretanto o microambiente apresentou maior estabilidade com menor oscilação de temperatura, além de oferecer precisão de 0,1°C em seu controle.

Com relação à luminosidade, o Conceia (2016) recomenda 325 lux na sala e 60 lux no interior das caixas; e, caso se trate de animal albino, 25 lux dentro da caixa. Como nossa amostra foi albina, nenhum dos ambientes foi eficaz em atingir a luminosidade adequada, porém, no microambiente, a iluminação foi mantida mais baixa em todos os momentos, sendo, portanto, mais confortável.

Já a umidade, embora tenha se apresentado maior no grupo Microambiente, permaneceu em ambos os grupos dentro do indicado como ideal, que é entre 40% e 60%, segundo Politi, Pietro e Salgado (2008).

Conforme os resultados do consumo alimentar dos animais no decorrer dos dias de experimento de acordo com grupo, o consumo foi significativamente maior no grupo Microambiente em seis das sete medições, a última não apresentou diferença entre os grupos.

Os dados referentes ao consumo hídrico dos animais no decorrer dos dias de experimento, de acordo com o grupo, demonstraram que, dos sete momentos de medição, apenas três não apresentaram diferença; nos outros quatro, as diferenças apresentadas foram intercaladas entre os grupos.

Em relação à média de ganho total por grupo e ao ganho de peso dos animais no decorrer do experimento, de acordo com o grupo, não houve diferença entre os grupos.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Microambiente

Em acordo com os achados de Barbosa (2017), a qual avaliou os parâmetros reais da prática de um biotério em condições rotineiras, foram encontrados números semelhantes aos de nosso estudo, com exceção da iluminação, que foi maior em seu ambiente, porém adequada às normas, já que estava avaliando o macroambiente. Seus resultados foram iluminação  $323,8 \pm 44$  lux, temperatura  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade  $65 \pm 10\%$ .

A temperatura manteve-se linear e próxima do ideal dentro do protótipo, demonstrando sua acurácia. Já no macroambiente, embora tenhamos programado o ar-condicionado para temperatura de  $22^\circ\text{C}$ , este não permaneceu estável, provavelmente devido ao período do ano quente e úmido; porém, dentro do microambiente, sua variação foi menor, independentemente da estação do ano.

Vale ressaltar que, na sala, o controle de temperatura foi convencional, ou seja, utilizado aparelho de ar-condicionado, que, embora tenha os BTUS adequados para o tamanho da sala, mostrou-se menos fidedigno na manutenção da temperatura do que o microambiente, ofertando temperatura superior ao solicitado.

O uso de sistemas isoladores, mais aprimorados para o manejo de animais experimentais, tem gerado pesquisas e desenvolvimento de ambientes controlados, como o desenvolvido por Martinewski *et al.* (2010), que teve como prioridade o controle termo-higrométrico do ambiente e, assim como o nosso, utilizou o sistema Peltier. Foi obtido um delta de  $21^\circ\text{C}$ , operando com variação de temperatura de  $0,1^\circ\text{C}$ , precisão impossível de ser obtida em sistemas convencionais de compressão de freon. Esse sistema revelou-se extremamente eficaz no controle da temperatura e ventilação, porém não isolou o macro do microambiente.

A possibilidade oferecida pelo sistema Peltier, de aumentar ou reduzir a temperatura em  $0,1^\circ\text{C}$ , vislumbra muitas possibilidades. Além de poder adequar o ambiente para as necessidades de uma espécie específica, podemos prover atmosfera mais favorável ao conforto térmico em pós-operatório ou para animais recém-nascidos, ou ainda à procriação, como observaram

Preczenhak, Santos e Botelho (2010), com a constatação de que as fêmeas de rato *wistar* tendem a entrar no cio com temperaturas entre 15°C e 18°C.

A iluminação não atendeu aos requisitos do Conceia (2016) em ambos os grupos, porém o grupo Microambiente foi o que mais se aproximou do ideal, apresentando menor oscilação, com 68,94 lux, e maior conforto visual, já que são animais albinos – deveriam ter sido expostos a 25 lux; na sala, a média foi de 197,63 lux, portanto, significativamente maior.

A umidade relativa, apesar de em ambos os grupos ter se mantido dentro dos parâmetros preconizados, permaneceu maior no microambiente, sendo este um ponto a ser aprimorado com aumento da exaustão. Isso pode ser explicado considerando que estavam abrigados ratos, que têm maior massa e, por conseguinte, maior produção de umidade pela respiração e quantidade de urina, além do espaço interno do microambiente ser relativamente menor do que na sala.

A respeito da relação entre troca de cama, estresse do animal e acúmulo de gases, em estudo realizado por Washington e Payton (2016), que compararam o acúmulo de amônia em diferentes frequências de trocas de cama, foi concluído que, desde que a ventilação permaneça adequada, podemos reduzir a frequência de troca de cama, que é um fator estressante para os animais. Nesse sentido, o microambiente desenvolvido manteve a taxa de ventilação e exaustão dentro do preconizado, com possibilidade de incremento em caso de necessidade de otimizar a ventilação.

O microambiente desenvolvido demonstrou estabilidade ambiental, manteve-se nos limites preconizados pelo Conceia (2016) em todas as suas variáveis (temperatura, umidade, ventilação e iluminação) e proporcionou aos animais ambiente adequado para manutenção do bem-estar, este sendo considerado como a capacidade de se desenvolver adequadamente, consumindo água e ração, dentro dos parâmetros considerados adequados pela literatura, ganhando massa, sem apresentar nenhum agravo à saúde ou óbito.

## **4.2 Consumo e ganho ponderal**

Um rato adulto ingere diariamente 10 gramas a 20 gramas de ração, sendo considerado adulto jovem com oito semanas (NEVES; MANCINI FILHO; MENEZES, 2013; FERNANDEZ *et al.*, 2016). Os animais iniciaram o

experimento com 21 dias, completando 42 dias ao final – respectivamente, 3 e 6 semanas. Portanto, teoricamente, não atingiram a idade adulta. O consumo alimentar manteve-se em ambos os grupos, equivalente à média de adulto jovem, contudo foi significativamente maior no grupo Microambiente.

Metze (2016) constatou que animais alojados em temperatura de rotina consomem mais oxigênio e ração do que em temperatura termoneutra, na qual apresentam o gasto energético apenas para homeostasia. Poderia ser esta a explicação para o consumo superior do grupo Microambiente, porém, na falta de mais estudo confrontando esta hipótese, não podemos excluir a possibilidade de ser sinal de maior sensação de bem-estar.

Em relação ao consumo hídrico, como já mencionado, as diferenças apresentadas foram alternadas, ora maior no grupo Controle, ora no Microambiente, não pendendo efetivamente para nenhum dos grupos, e ele permaneceu na média do padrão para um adulto jovem, que varia entre 10 ml/dia e 30 ml/dia. Observamos que esse resultado não expressa relação com o ambiente, e sim com provável diferença individual entre os animais.

O ganho ponderal não apresentou diferença estatística entre os grupos, mostrando que o ambiente desenvolvido foi totalmente eficaz em seu propósito de abrigar e isolar os animais, mantendo seu bem-estar tanto quanto em sistema convencional.

O uso de sistemas isoladores, mais aprimorados para o manejo de animais experimentais, tem gerado pesquisas e desenvolvimento de ambientes controlados, como o desenvolvido por Martinewski *et al.* (2010), que teve como prioridade o controle termo-higrométrico do ambiente e, assim como o nosso, utilizou o sistema Peltier. Obteve um delta de 21°C, operando com variação de temperatura de 0,1°C, precisão impossível de ser obtida em sistemas convencionais de compressão de freon. Esse sistema revelou-se extremamente eficaz no controle da temperatura e ventilação, porém não isolou o macro do microambiente.

Reiteramos, em concordância com Ishii *et al.* (1998), que o controle dos fatores ambientais é importante, uma vez que reduz a variabilidade dos dados coletados dos animais, necessários para demonstrar diferença significativa entre grupos, contribui com o bem-estar animal e reduz o número de animais necessários.

### **4.3 Vantagens do microambiente**

Diferentemente dos Racks e Estantes Ventiladas, que utilizam a refrigeração externa, da sala, para abastecer o microambiente, o protótipo é o único que tem seu próprio sistema de refrigeração. Nesse sentido, é totalmente singular no controle térmico ambiental, além de utilizar o modelo Peltier, que por si só carrega as vantagens de economia, precisão e estabilidade, qualidades imprescindíveis à padronização.

Proporciona ambiente inteiramente vedado à luz externa, monitorado por câmeras, o que possibilita tanto ciclo claro/escuro quanto ciclo invertido próprio, independente da sala, função essa exclusiva deste microambiente. Oferece com essa inovação a comodidade do pesquisador em realizar experimentos que dependem do pico de atividade dos animais, durante o funcionamento do laboratório, sem necessidade de adequar toda a sala para este fim.

Como os animais permanecem em ambiente totalmente diferenciado da sala, vedado, é possível acompanhá-los por meio de monitor externo 24 horas/dia, na luz ou na penumbra, inclusive remotamente por meio de aparelho celular, sendo esta outra função totalmente inovadora e exclusiva que permite monitorar os animais sem a necessidade de abrir o ambiente, interferir em sua rotina, causar estresse desnecessário e alterar a atmosfera interna que está controlada.

Além do isolamento luminoso e térmico exposto, proporciona isolamento bacteriológico, pois tem entrada de ar por pressão negativa vinculada à exaustão, filtrada com filtro HME bacteriológico e a segurança do nobreak por 12 horas em caso de problemas com a oferta de energia, isentando o laboratório de obrigatoriedade de gerador.

Devido ao seu tamanho mais compacto e baixo peso, não requer disponibilidade de grande espaço, possibilitando que seja alocado nas bancadas dos laboratórios, facilmente deslocado a qualquer tempo, proporcionando o acesso a locais pequenos; diferentemente dos modelos comercializados que, por menor que sejam, demandam espaço considerável e, por vezes, esse fator impede sua aquisição.

Por todo o exposto, o protótipo mostrou-se um produto diferenciado dos comumente comercializados, reuniu várias funções necessárias ao controle

ambiental, tornou-se opção pequena, leve e de extremo baixo custo comparado aos disponíveis no mercado. Ideal para oferecer padronização ambiental, principalmente em laboratórios de pesquisa com verbas e espaço reduzidos.

## 5 CONCLUSÕES

Foi possível a construção do protótipo e este demonstrou eficiência no controle da temperatura, umidade, ventilação e iluminação. O ambiente foi favorável ao desenvolvimento padrão dos animais e, a partir disso, mostrou-se um produto singular, diferenciado dos comercializados, reunindo várias funções necessárias ao controle ambiental, diferentemente do modelo que vem sendo amplamente utilizado, uma vez que foi capaz de proporcionar maior vedação em relação ao ambiente externo, maior controle pelo pesquisador das variáveis e maiores chances de reprodutibilidade.

Inferimos que, desta forma, há possibilidades de pesquisas com modelo animal mais refinado, além de resultados consistentes, com menor investimento. Visto que foi escasso o número de estudos que busquem por novas tecnologias a fim de favorecer o bem-estar dos animais experimentais, por meio deste estimulamos a importância de novos estudos na área.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, Rosimere Maria. *Diagnóstico das atividades e manejo de animais no biotério do CAV*. 2017. 37 p. TCC (Graduação de Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE.

BRASIL. Lei n. 11.794. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei n. 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, 9 de out. de 2008, seção I, p. 1-4.

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Normativas do CONCEA para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica. *Diário Oficial da União*, Brasília, 19 ago. 2016, seção I, p. 43.

FERNANDEZ, Wilber Romero; CASTRO, Zenia Batista; LUCCA, Marisel; RUANO, Ana; BARCELÓ, Maria Garcia; CERVANTES, Marta Rivera; RODRIGUES, Julio Garcia;



MATEOS, Soledad Sanches. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, Lima, v. 33, n. 2, p. 288-99, abr./jun. 2016.

ISHII, Toshinori; YOSHIDA, Kazuya; HASEGAWA, Masakazu; MIZUNO, Shinya; OKAMOTO, Munehiro; TAJIMA, Masaru; KUROSAWA, Tsutomu. Invention of a forced-air-ventilated micro-isolation cage and rack system – Environment within cages: temperature and ammonia concentration. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 59, n. 1-3, p. 115-23, ago. 1998.

MARTINEWSKI, Alexandre; SOUZA, Nívea Lopes; ARANHA, Élvio Franco de Camargo; MERUSSE, José Luíz Bernardino. Controle termo-higrométrico microambiental para animais de laboratório por meio de tecnologia termoeétrica: estudo experimental para roedores de laboratório. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 47, n. 4, p. 315-22, ago. 2010.

METZE, Michael. Thermal neutral zone technology: the doorway to better research results. *Lab Animal*, v. 45, n. 7, jul. 2016.

NEVES, Silvânia M. P.; MANCINI FILHO, Jorge; MENEZES, Elizabete Wenzel. *Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do biotério de produção e experimentação da FCF-IQ/USP*. São Paulo: FCF-IQ/USP, 2013.

POLITI, Flávio Augusto Sanches; PIETRO, Rosemeire; SALGADO, Herida. Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 29, n. 1, p. 17-28, jun./jul. 2008.

PRECZENHAK, Ana Paula; SANTOS, Júlia Barbosa; BOTELHO, Giuliana Gelbcke Kasecker. Avaliação do ciclo estral de ratas wistar em função da temperatura do microambiente e das condições climáticas ambientais. In: EAIC, 19., 2010, Guarapuava, PR. *Anais [...]*. Unicentro, 2010.

ROWE, Philip. *Essential statistics for the pharmaceutical sciences*. 2. ed. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltda, 2007.

WASHINGTON, Ida M.; PAYTON, Mark E. Ammonia Levels and Urine-Spot Characteristics as Cage-Change Indicators for High-Density Individually Ventilated Mouse Cages. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, v. 55, n. 3, p. 260-7, maio 2016.

