

Esclarecimentos sobre a redação do Formulário para Solicitação de Autorização para Uso de Animais em Pesquisa Científica

A fim de dirimir eventuais dúvidas existentes sobre o preenchimento do formulário para Solicitação de Autorização para Uso de Animais em Pesquisa Científica, a CEUA gostaria de esclarecer algumas questões importantes relativas à redação das propostas e/ou respostas de pendências.

O formulário utilizado em nosso sistema foi definido pelo CONCEA através da Resolução Normativa no 27, de 23 de outubro de 2015. Essa resolução normativa apresenta o modelo nacional de formulário para envio de informações mínimas pelos responsáveis por projetos de pesquisa científica que envolvam animais.

Com relação à apresentação das propostas, ressaltamos que sua redação deve privilegiar a *justificativa para o uso da(s) espécie(s) e linhagem(s)*, além dos *métodos experimentais a serem realizados no animal vivo* que serão necessários para responder à questão do projeto. Em geral, o preenchimento do formulário envolve a redação original de texto de modo a apresentar aspectos relevantes para a ética animal, o que não necessariamente coincide com textos previamente utilizados para pedidos de financiamentos, os quais muitas vezes privilegiam o detalhamento de técnicas usando o material já coletado (*post mortem*).

Tenha ciência que *cada proposta é única*. Metodologias aprovadas no passado podem receber novos questionamentos, principalmente frente a mudanças legais em atendimento às publicações de resoluções normativas (RN) feitas pelo CONCEA. As pendências enviadas ao pesquisador são redigidas em Assembleia, após discussão do Colegiado da CEUA e por isso resultam do consenso de pesquisadores de diversas áreas e diferentes pontos de vista.

Revise o texto antes de seu envio. Verifique falta de linearidade no desenvolvimento da justificativa, ortografia, erros de digitação e símbolos incorretos. Observe que *é responsabilidade do pesquisador principal o envio das informações à CEUA*. A senha de acesso ao sistema é pessoal. A permissão de acesso para edição e/ou submissão por membro de equipe é opcional, permanecendo o pesquisador principal como responsável pelo conteúdo enviado à CEUA.

Além disso, lembramos que o formulário deve refletir o exato procedimento seguido pelo pesquisador em seu laboratório. Mudanças realizadas na proposta ao longo do processo de aprovação deverão ser incorporadas na rotina do laboratório. O texto final aprovado deve permanecer como referência disponível a todos os pesquisadores envolvidos durante toda a execução do projeto.

A fim de auxiliar os pesquisadores na redação de propostas futuras, compilamos os erros mais frequentes observados nas propostas enviadas à nossa Comissão.

Resumo da proposta confuso: a proposta deve ser escrita em linguagem acadêmica, porém clara e detalhada de modo a ser compreendida por qualquer cientista e não apenas a colegas da área de concentração. Evite jargões e siglas sem descrição. Fármacos não inclusos na Farmacopeia Brasileira e outras drogas deverão ter sua função no experimento detalhada.

Dificuldade para desenvolver o item métodos alternativos: o CONCEA reconhece diversos métodos alternativos. Verifique se algum deles pode ser aplicado ao seu objetivo e justifique caso você não possa utilizar nenhum dos métodos alternativos endossados pelo CONCEA. Adicionalmente, considere o uso de animais não vertebrados, ensaios *in vitro* ou modelos computacionais para reduzir ou substituir o uso de animais vertebrados. Justifique caso isso não seja factível. A frase “não posso usar métodos alternativos” sem justificativa não é atualmente aceita pela CEUA.

Cultura de células como método alternativo: ao declarar a existência de potencial método alternativo *in vitro*, sempre justificar porque o método *in vivo* foi a metodologia de escolha na proposta e considerar a possibilidade de executar primeiro os ensaios *in vitro* e apenas após seu resultado calcular o número de animais necessários para realizar o experimento *in vivo*.

Planejamento estatístico/delineamento experimental incongruente: o número de animais planejados no “delineamento experimental” precisa ser igual ao número de animais solicitados no item “procedência”. O gênero informado no delineamento experimental também precisa ser congruente com o gênero dos animais solicitados.

Planejamento estatístico/delineamento experimental incompleto: informe todos os grupos experimentais a serem utilizados, com número de animais para cada grupo, citando o critério usado para definição do N amostral, seja ele cálculo amostral (estatístico), dados obtidos na literatura ou experiência prévia do laboratório. Note que o cálculo amostral é uma ferramenta estatística usada para definição do tamanho da amostra e não para análise dos resultados. Se houver dificuldade para realizar o planejamento, sugerimos a submissão de uma proposta de projeto piloto e posterior submissão do experimento completo. A CEUA não aprova propostas sem delineamento de grupos experimentais.

Procedência incorreta: esse item se refere à instalação (biotério) que fornecerá os animais para a pesquisa. A procedência e os dados relativos à espécie animal (linhagem, número, idade/peso) constarão da autorização recebida pelo pesquisador principal após a aprovação do projeto para possibilitar a compra de animais junto à respectiva instalação animal.

Falta de detalhamento dos procedimentos com o animal vivo: todo o manuseio com o animal precisa ser detalhado e quanto maior o prejuízo ao ser bem-estar, maior a necessidade de especificar como será a observação e cuidado com o animal vivo.

Procedimentos envolvendo neonatos: descrever procedimento de acasalamento e manuseio dos filhotes. Prever aquisição de machos e fêmeas matrizes, quantos ciclos reprodutivos serão usados e como será sua eutanásia após a vida reprodutiva. Mencionar se haverá ajuste do número de filhotes da ninhada, com que idade serão eutanasiados e o método de eutanásia.

Detalhamento desnecessário de experimentos realizados com os tecidos após a coleta: O foco da proposta é o manuseio do animal vivo. Além disso, é necessário informar o destino do material coletado e das carcaças. Cabe citar as técnicas a que serão submetidos os tecidos coletados para correlacionar com o número de grupos experimentais e o método de eutanásia.

Falta de justificativa para o uso da espécie: é necessário declarar o motivo para o uso de um animal vivo para responder sua pergunta e adicionalmente, porque foi escolhida essa espécie.

Falta de justificativa para cada procedimento com animais vivos: Justifique porque foram escolhidos especificamente esses métodos e como eles ajudarão a responder à pergunta do projeto. Tenha em mente que você está promovendo um prejuízo no bem-estar do animal e precisa provar que haverá uma contrapartida científica a esse prejuízo.

Falta de justificativa para uso de múltiplas linhagens: todos os experimentos envolvendo mais de uma espécie ou linhagem de animal precisam incluir o objetivo de cada espécie/linhagem dentro da proposta.

Resposta errada no item OGM: Se você utilizar animais geneticamente modificados (transgênicos, knockout, knockin, mutações condicionais) deve responder SIM no item OGM.

Grau de invasividade incorreto: os itens mencionados na descrição da tabela de graus de invasividade são apenas exemplos. É preponderante a análise da intensidade de estresse, desconforto e dor causada pelo procedimento. O grau de invasividade 1 se refere a experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse. Por exemplo, se uma inoculação causar reação adversa local perceptível ou se for necessário um período extraordinário de contenção com o animal consciente para sua realização, o procedimento já será considerado GI-2.

Conceito errado de estresse/dor intencional: estresse/dor intencional se aplica apenas às pesquisas em que o estresse/dor é o objeto de estudo do projeto, ou seja, há a necessidade de promover estresse/dor no animal para atender a objetivos do projeto.

Escolha de anestésicos para cirurgia: a CEUA recomenda fortemente o uso de anestésicos inalatórios (isoflurano) para a maior parte das cirurgias em ratos e camundongos. Na impossibilidade, podendo o pesquisador utilizar outras drogas em associação por via injetável, como por exemplo cetamina e xilazina. Em todos os procedimentos anestésicos, mesmo inalatório, recomendamos o uso de tranqüilizante fenotiazínico como pré-anestésico (por exemplo, acepromazina). Outras combinações poderão ser utilizadas a critério do pesquisador, com justificativa, e serão avaliadas pelos veterinários da CEUA.

Dose insuficiente de anestésicos para cirurgia: para ratos e camundongos, a dose mínima recomendada é de 100mg/kg de cetamina e 10mg/kg de xilazina.

Falta de entendimento sobre o uso de pré-anestésico: A acepromazina utilizada como pré-anestésico (2-5mg/kg) tem ação potencializadora dos anestésicos, promovendo uma maior analgesia e relaxamento muscular, otimiza a ação dos medicamentos anestésicos gerais, evitando a necessidade da suplementação em procedimentos mais longos. Seu uso é mandatário em todos os procedimentos cirúrgicos.

Via incorreta de administração de anestésicos: Tiopental não deve ser administrado rotineiramente por via intraperitoneal por causa de seu pH. Devido a isso, deve ser administrado por via endovenosa e apenas na impossibilidade desta, em casos excepcionais e mediante

justificativa, por via intraperitoneal com injeção intraperitoneal prévia (10 minutos antes) de anestésico local sem ação vasoconstritora (ex.: lidocaína 7 mg/Kg).

Uso de medicação descontinuada no país: toda a medicação anestésica indisponível no país (ex: pentobarbital, halotano) necessita de justificativa textual no formulário para ser utilizada, indicando sua fonte de origem.

Cuidado insuficiente no pós-operatório: Roedores, por serem presas, não apresentam sinais evidentes de dor e por isso utilizamos o princípio da analogia (qualquer coisa que cause dor e desconforto em humanos também causará o mesmo efeito nos animais), além da análise do grau de destruição tecidual. Portanto, é necessário descrever no formulário qual monitoramento será feito no animal após cirurgias ou procedimentos que causem dor/desconforto, incluindo observação e administração de analgésicos. Analgésicos devem ser utilizados por período apropriado (princípio da analogia) à lesão.

Não adoção de ponto final humanitário: todo protocolo de pesquisa deve considerar a possibilidade de adoção de um ponto final humanitário, que é o momento em que o animal é retirado do estudo para sua dor/desconforto seja evitada. Todas as variáveis a serem observadas no animal que o tornem elegíveis para eutanásia humanitária devem estar descritas no formulário.

Dosagem insuficiente de anestésicos na eutanásia: Para eutanásia, os anestésicos gerais injetáveis, administrados por via intraperitoneal, também são aceitos quando usados em sobredose a partir de três vezes a dose requerida para a anestesia geral (RN 37, CONCEA)

Conceito incorreto de método restrito de eutanásia: “Método aceito com restrição” é aquele que não atende a todos os critérios ideais, por uma ou mais razões. Portanto, temos métodos restritos por não produzirem inconsciência imediata, requererem habilidade e técnica específicas ou trazerem risco ao operador. Seu uso pode ser adotado excepcionalmente, após autorização da CEUA, mediante a justificativa do pesquisador que outro método não pode ser aplicado ao estudo em questão.

Justificativa insuficiente de métodos restritos de eutanásia: Ao propor o uso de um método restrito de eutanásia, o pesquisador precisa justificar porque não pode utilizar um método não-restrito em substituição. Apenas a afirmação não comprovada que o uso de anestésicos injetáveis ou inalatórios isoladamente ou previamente ao método restrito influenciarão os dados coletados não é justificativa atualmente aceita. Além disso, é necessário afirmar a qualificação do operador e do equipamento utilizado.

Minimização do sofrimento de animais eutanasiados em câmara de CO₂: a eutanásia em câmara de CO₂ é um método aceito com restrição pelo CONCEA. Não é um método humanitário para nenhuma espécie. O gás leva à formação de ácido carbônico na cavidade oral, provocando lesão de mucosas, dor e sofrimento. O período até a inconsciência é marcado por sensação de agonia e podem ocorrer diversas reações adversas desagradáveis como dispneia e espasmos. Alguns roedores podem apresentar apneia, conferindo a falsa impressão de morte.

Especificação incompleta de materiais coletados: todos os órgãos retirados do animal sob anestesia ou após a eutanásia deverão ser listados.