



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ICTB
MPCAL



ICTB
Instituto de Ciência e
Tecnologia em Biomodelos

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM BIOMODELOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA EM ANIMAIS DE
LABORATÓRIO

MIKA ESTER AIHARA

CONDICIONAMENTO OPERANTE DE *Macaca mulatta* (ZIMMERMAN, 1780) COMO FERRAMENTA DE APRIMORAR O BEM-ESTAR E VIABILIZAR PROTOCOLOS CIENTÍFICOS (Cercopithecidae - Primates)

Rio de Janeiro

2020

Mika Ester Aihara

CONDICIONAMENTO OPERANTE DE *Macaca mulatta* (ZIMMERMAN, 1780) COMO FERRAMENTA DE APRIMORAR O BEM-ESTAR E VIABILIZAR PROTOCOLOS CIENTÍFICOS (Cercopithecidae - Primates)

Dissertação apresentada, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciência em Animais de Laboratório, Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos – Fiocruz

Orientadora: Dra. Márcia Cristina Ribeiro Andrade
Coorientador: Dr. Carlos Eduardo da Silva Verona

Rio de Janeiro
2020

Aihara, Mika Ester.

Condicionamento operante de *Macaca mulatta* (ZIMMERMAN, 1780) como ferramenta de aprimorar o bem-estar e viabilizar protocolos científicos (Cercopithecidae - Primates) / Mika Ester Aihara. - Rio de Janeiro, 2020.
127 f.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos, Pós-Graduação em Ciência em Animais de Laboratório, 2020.

Orientadora: Márcia Cristina Ribeiro Andrade.

Co-orientador: Carlos Eduardo da Silva Verona.

Bibliografia: f. 98-117

1. Primatas não humanos. 2. Macaco rhesus. 3. Aprendizagem. 4. Reforço positivo. 5. Treinamento. I. Título.

Mika Ester Aihara

CONDICIONAMENTO OPERANTE DE *Macaca mulatta* (ZIMMERMAN, 1780) COMO FERRAMENTA DE APRIMORAR O BEM-ESTAR E VIABILIZAR PROTOCOLOS CIENTÍFICOS (Cercopithecidae - Primates)

Dissertação apresentada, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciência em Animais de Laboratório, Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos – Fiocruz

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Tatiana Kugelmeier
Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) - FIOCRUZ, RJ
(Presidente da Banca)

Dr^a. Liliane Almeida Carneiro
Centro Nacional de Primatas – CENP, PA (Titular)

Prof. Dr. Alcides Pissinatti
Centro de Primatologia do Rio de Janeiro – CPRJ, RJ (Titular)

Prof^a. Dr^a. Cláudia Andréa de Araújo Lopes
Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) - FIOCRUZ, RJ
(Suplente)

Prof. Dr. Frederico Ozanan Barros Monteiro
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, PA
(Suplente)

Dedico aos primatas não humanos utilizados na realização deste projeto, pela relação de confiança que permitiram construir junto comigo. A todos os animais utilizados em benefício da pesquisa biomédica, minha profunda gratidão.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por iluminar meus passos e colocar pessoas maravilhosas em meu caminho.

Eterna gratidão aos meus pais e ao meu irmão, que mesmo com toda sua simplicidade, não mediram esforços para que eu pudesse estudar, sempre me apoiando e incentivando a fazer o que eu realmente amo. Mãe, obrigada por todas as orações a mim dedicadas, para que nunca me faltassem forças para seguir adiante.

Agradeço ao meu marido, Fábio Cutrim, por todo o seu amor, carinho e incentivo, mesmo nos momentos mais difíceis. Contar com seu apoio é fundamental e me faz acreditar que estou no caminho certo.

À minha querida orientadora, Márcia Andrade, por ser muito mais que uma orientadora. Obrigada por toda atenção, dedicação, paciência e compreensão que sustentou durante o desenvolvimento do projeto. Por confiar e acreditar em mim, apoiando e incentivando, principalmente nos momentos mais difíceis.

Ao meu querido coorientador, Carlos Verona, mais conhecido como “Kadu”, por compartilhar seus conhecimentos através de suas contribuições, pelo incentivo e tranquilidade transmitida.

Ao meu chefe, Fábio Silva, por ter permitido que eu me dedicasse e desenvolvesse o trabalho, por vezes me ausentando de outras funções.

À Tatiana Kugelmeier, que desde o primeiro dia me acolheu, incentivou e contribuiu não só no desenvolvimento deste trabalho, mas em todo meu crescimento profissional.

Às amigas Alcione, Ellen, Lara, Luana, Natália e Suzana, que tornaram os meus dias muito mais leves e felizes, com doses diárias de gargalhadas.

Aos técnicos de manejo, Marllus e Victor, que cuidam diariamente dos macacos rhesus com clara demonstração de zelo e dedicação, e por me aceitarem em meio às suas atividades de rotina. Sem eles, tudo teria sido bem mais difícil.

Aos meus queridos amigos de turma do MPCAL/ICTB. Vocês foram a melhor turma que eu poderia ter, são muito especiais e estarão para sempre nas minhas lembranças!

À psicóloga e amiga, Tatiana Martins, que me ajudou a entender a complexa psicologia do condicionamento operante.

Ao Centro Nacional de Primatas, minha origem, onde aprendi a amar os primatas não humanos. Em especial, à diretora e amiga Liliane Carneiro, que não mediu esforços para me ajudar no que foi preciso na viabilização da minha cessão à Fiocruz. Muito obrigada por acreditar tanto em mim!

Ao ICTB como um todo, pela oportunidade do desenvolvimento deste projeto e por toda confiança em mim depositada. À equipe do SCPrim, pelo fornecimento diário de sucos para execução do projeto, confecção da gaiola de condicionamento, adaptações no recinto e de todo o suporte operacional para que este trabalho fosse concretizado. À equipe da CPEA, pelo apoio técnico, especialmente à Bárbara, pelo interesse em se tornar uma treinadora.

Nada seria possível sem o apoio, a confiança e a ajuda de diversas pessoas nessa minha caminhada. Por isso, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram ou contribuem dia a dia com o meu crescimento pessoal e profissional.

Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seus semelhantes.

Albert Schweitzer

RESUMO

Primatas não humanos (PNH) criados para fins científicos necessitam de manejo frequente para realização de procedimentos diversos mediante contenção física e/ou química, aumentando o estresse e risco de acidentes, prejudicando a qualidade das pesquisas e afetando o bem-estar dos animais. Técnicas de condicionamento operante com reforço positivo devem ser utilizadas para que os animais cooperem na execução dos procedimentos, demonstrando clara redução dos riscos de manejo e consequente melhoria na qualidade de vida dos animais e das pesquisas neles desenvolvidas. Neste trabalho, primeiramente foi elaborado um etograma para avaliação comportamental de seis exemplares (três machos e três fêmeas) da espécie *Macaca mulatta* (macaco rhesus), e posterior seleção de quatro animais para o estudo. Foi aplicado o método de condicionamento operante com reforço positivo em que, após responder adequadamente aos sinais ou comandos do treinador, os animais são recompensados com algo palatável que instigue interesse, tais como frutas ou guloseimas. Os treinos, divididos em duas fases, foram realizados sempre no período da tarde, por no máximo 30 minutos por animal, dois a cinco dias da semana. Inicialmente os animais foram condicionados a entrar na gaiola adaptada ao seu recinto e, uma vez dessensibilizados, partiu-se para as ações sequenciadas de condicionamento, que consistiu em ingestão de líquidos em seringas, aferição de temperatura, e coleta de urina. Ao responder positivamente às sessões, prosseguia-se para a segunda fase do treinamento, incluindo injeção intramuscular e coleta de sangue pela veia femoral. Por se tratar de estímulos desconfortáveis/aversivos, foi realizada a dessensibilização em etapas nos treinos da segunda fase. Foi possível condicionar quatro macacos rhesus para ingestão de líquidos em seringa e aferição de temperatura, um para coleta de urina e dois para injeção intramuscular, não sendo possível a coleta de sangue via veia femoral. Os animais mais favoráveis para a execução da técnica de condicionamento apresentaram maior frequência de categorias exploratórias, interações pacíficas e reduzidas condutas agonísticas, onde as fêmeas demonstraram ser mais facilmente condicionadas do que os machos. A vivência com os animais do estudo na aplicação do treinamento possibilitou aprimorar as técnicas de condicionamento, na busca de respostas positivas mais rápidas e eficazes, permitindo a coleta de amostras biológicas, com o mínimo de estresse que antes era desencadeado por contenções física e/ou química. O estudo permitiu gerar um Programa de Condicionamento Animal (PCA), com a proposta de um método de pesquisa direta com PNH sobre o referido assunto, como base para o desenvolvimento de outros trabalhos acerca de condicionamento animal. Os resultados demonstraram potencial reprodutibilidade nas pesquisas em prol da saúde pública, servindo, desta forma, como embasamento técnico para a sua aplicação em outras instituições que utilizam PNH destinados a pesquisas.

Palavras-chave: Primatas não humanos. Macacos rhesus. Aprendizagem. Reforço positivo.

ABSTRACT

Nonhuman primates (NHP) created for scientific purposes need frequent handling in order to develop several procedures through physical and/or chemical restraint, increasing stress and risk of accidents, impairing the quality of research and affecting the animal welfare. Techniques of operant conditioning with positive reinforcement must be used, so that the animals cooperate in performance of the procedures, demonstrating a clear reduction of the management risks and consequent improvement in the life quality and researches developed in the animals. In this work, firstly an ethogram was prepared for the behavioral evaluation of six specimens (three males and three females) of the species *Macaca mulatta* (rhesus monkey), and subsequent selection of four animals for the study. The operant conditioning method with positive reinforcement was applied in which, after responding adequately to the trainer's signals or commands, the animals are rewarded with something palatable that instigates interest, such as fruits or treats. Training, divided into two phases, was always carried out in the afternoon, for a maximum of 30 minutes per animal, two to five days a week. Initially, the animals were conditioned to enter the cage adapted to their enclosure and once desensitized, they proceeded to the sequenced conditioning actions, which consisted of ingesting liquids in syringes, measuring the temperature and collecting urine. When responding positively to the sessions, the second phase of training was continued, including intramuscular injection and blood collection through the femoral vein. As they are uncomfortable/aversive stimuli, desensitization was carried out in stages in the training sessions of the second phase. It was possible to condition four rhesus monkeys for ingestion of fluids in a syringe and temperature measurement, one for urine collection and two for intramuscular injection, not being possible to collect blood via femoral vein. The most favorable animals for the execution of the conditioning technique were those with the highest frequency of exploratory categories, peaceful interactions, and reduced agonistic interactions, where females were more easily conditioned than males. The experience with the animals of the study in application of the training enabled improving the conditioning techniques, aiming faster and more effective positive responses, allowing collection of varied biological samples, with the minimum of stress that was previously triggered by physical and/or chemical restraints. The study allowed the creation of an Animal Conditioning Program (ACP), with the proposal of a method of direct research with NHP on the referred subject, as a basis for the development of other works on animal conditioning. Results demonstrated potential reproducibility in research in favor of public health, thus serving as a technical basis for its application in other institutions that use NHP used for research.

Keywords: Nonhuman primates. Rhesus monkeys. Learning. Positive reinforcement.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do Modelo dos Cinco Domínios proposto por Mellor, Hunt e Gusset (2015) modificado a partir de Mellor e Beausoleil (2015).....	24
Figura 2 - Visão geral da colônia-sede de macaco rhesus, do criadouro científico da Fiocruz, RJ. Local onde foi desenvolvido o projeto.	48
Figura 3 - <i>Macaca mulatta</i> macho com identificação individual pela tatuagem na região peitoral, procedente do criadouro científico da Fiocruz, RJ.....	50
Figura 4 - Fluxograma de atividades realizadas no estudo para condicionamento de macacos rhesus no criadouro científico da Fiocruz, RJ.	51
Figura 5 - Gaiola de condicionamento confeccionada para condicionamento dos macacos rhesus do criadouro científico da Fiocruz, RJ: A) parte frontal; B) parte lateral.	54
Figura 6 - Janela de acesso com adaptação realizada na grade do recinto de macaco rhesus da colônia-sede da Fiocruz, RJ, como forma de permitir acesso à gaiola de condicionamento.....	54
Figura 7 - Termômetro digital infravermelho de testa utilizado para aferição de temperatura de <i>Macaca mulatta</i> durante execução da técnica de condicionamento operante, no criadouro científico da Fiocruz, RJ.	59
Figura 8 - Aparelho <i>clicker</i> utilizado como reforçador durante execução da técnica de condicionamento operante de <i>Macaca mulatta</i> , no criadouro científico da Fiocruz, RJ.	60
Figura 9 - <i>Macaca mulatta</i> fêmea sentada na lateral superior da gaiola de condicionamento, em posição adequada para coleta de amostra de urina, no criadouro científico da Fiocruz, RJ.	61
Figura 10 - Gráficos de avaliação comportamental de <i>Macaca mulatta</i> fêmea: A) categorias gerais; B) condutas agonísticas; C) comportamento exploratório.....	70
Figura 11 - Gráficos de avaliação comportamental de <i>Macaca mulatta</i> machos: A) categorias gerais; B) condutas agonísticas; C) comportamento exploratório.....	71
Figura 12 - <i>Macaca mulatta</i> fêmea manipulando artefato de enriquecimento ambiental. A) tubo de papelão; B) garrafa plástica.....	72
Figura 13 - <i>Macaca mulatta</i> macho, retirando com a boca uvas verdes presas na grade da gaiola de condicionamento.....	73

Figura 14 - <i>Macaca mulatta</i> machos, parados na porta de acesso à gaiola de condicionamento.	74
Figura 15 - <i>Macaca mulatta</i> , aceitando a ingestão de líquido através de uso de seringa (20 ml): A) fêmea na gaiola de condicionamento; B) macho no próprio recinto.	77
Figura 16 - <i>Macaca mulatta</i> macho, sendo condicionado para aferição de temperatura dentro do próprio recinto.	78
Figura 17 - <i>Macaca mulatta</i> fêmea em coleta de urina: A) urinando na posição correta; B) urina sendo coletada diretamente da bandeja; C) urina coletada na seringa.	78
Figura 18 - Passos para condicionamento de injeção intramuscular em <i>Macaca mulatta</i> fêmea proveniente do criadouro científico da Fiocruz, RJ: A) treinador apresentado a seringa; B) animal aceitando a perfuração de agulha; C) animal recebendo recompensa após <i>clicker</i>	80
Figura 19 - <i>Macaca mulatta</i> fêmea na gaiola de condicionamento, permitindo que sua perna seja acariciada.	82
Figura 20 - Código QR gerado que ao ser escaneado pela câmera do celular possibilita acesso ao Programa de Condicionamento Animal.	83
Figura 21 - <i>Macaca mulatta</i> macho em experimentação proveniente do criadouro científico da Fiocruz, RJ: A) macerando a fruta com substância a ser testada; B) ingerindo a substância a ser testada, diluída em suco e fornecida em seringa. ..	84
Figura 22 - <i>Macaca mulatta</i> em coleta de sangue: A) fase de adaptação ao treinador; B) animal dessensibilizado para colocar o braço em suporte de coleta de sangue.	85
Figura 23 - Gráfico com taxa de sucesso por idade para macaco rhesus condicionados para coleta de sangue em gaiolas individuais ou duplas (VERTEIN; REINHARDT, 1989; REINHARDT, 1991, 1992a).	89

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Presença de riscos no uso de animais condicionados ou sobre contensão física e/ou química relatados em diversos estudos.....	43
Quadro 2 – <i>Macaca mulatta</i> selecionados para treinamento com objetivo de elaboração do programa de condicionamento animal no criadouro científico da Fiocruz, RJ.	47
Quadro 3 - Situações adversas e soluções relacionadas às intercorrências apresentadas no processo de condicionamento operante com os macacos rhesus do criadouro científico da Fiocruz, RJ.	55
Quadro 4 - Etograma para avaliação comportamental da espécie <i>Macaca mulatta</i> do criadouro científico da Fiocruz, RJ.	66
Quadro 5 - Ação realizada em cada sessão de condicionamento para injeção intramuscular em <i>Macaca mulatta</i> macho e fêmea.	81
Quadro 6 - Ação executada em cada sessão de condicionamento para coleta de sangue na fêmea AM6.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de sessões necessárias para condicionamento dos animais da espécie <i>Macaca mulatta</i> no criadouro científico da Fiocruz, RJ.....	75
Tabela 2 - Número de sessões de condicionamento dos animais da espécie <i>Macaca mulatta</i> até ingestão de líquidos em seringa (20 ml) e aferição de temperatura, em criadouro científico da Fiocruz, RJ.	76
Tabela 3 - Tempo que cada <i>Macaca mulatta</i> fêmea demorou até a micção por sessão de condicionamento.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BEA – Bem-estar animal

CENP – Centro Nacional de Primatas

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

EA – Enriquecimento Ambiental

Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz

HHA – Hipotálamo-hipofisário-adrenal

ICTB – Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos

PCA – Programa de Condicionamento Animal

PEA – Programa de Enriquecimento Ambiental

PNH – Primatas Não Humanos

SCPrim – Serviço de Criação de Primatas Não Humanos

SNS – Sistema Nervoso Simpático

TRP – Treino com Reforço Positivo

3 Rs – *Reduction, Replacement, Refinement*

CPL – Copular

ACC - Aceitar Cópula

MTB – Masturbação

AMÇ – Ameaçar

AMO – Ameaçar o Observador

SAM – Ser Ameaçado

MOR – Morder

PER – Perseguir

FGR – Fugir

BGR – Balançar na Grade

EST – Estereotípias

URN – Urinar

DFC – Defecar

ATC – Autocatação

RZC – Realizar Catação

RCC – Receber Catação

BRI – Brincar

DJT – Dormir Junto

ABÇ – Abraçar

FOR – Forragear

ALM – Alimentar

EFR – Esfregar Ração

CAB – Consumir Alimento da Bolsa

BBA – Beber Água

EAF – Uso de Enriquecimento Físico

EAA – Uso de Enriquecimento Cognitivo-alimentar

CRD – Curiosidade

MGR – Morder a Grade

EFC – Esfregar o Chão

PAT – Parado Ativo

PAL – Parado Alerta

PIT – Parado Inativo

RFG – Refúgio

OTR – Outro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 BEM-ESTAR ANIMAL	22
2.1.1 Regulação neuro-endócrina do estresse	24
2.1.2 Fatores estressantes	26
2.2 CONDICIONAMENTO OPERANTE	27
2.2.1 Condicionamento animal e conservação	28
2.2.2 Tipos de aprendizagem	29
2.2.3 Avaliação do bem-estar e programa de condicionamento animal	31
2.3 PRIMATAS NÃO HUMANOS	32
2.3.1 Organização social	33
2.3.2 Enriquecimento ambiental de primatas não humanos	34
2.3.3 Condicionamento de primatas não humanos	36
2.4 OBJETO DO ESTUDO: MACACO RHESUS (<i>Macaca mulatta</i>)	38
2.5 PESQUISA BIOMÉDICA COM PRIMATAS NÃO HUMANOS	40
2.5.1 Pesquisa com animais sobre contenção física e/ou química	41
2.6 USO DE MACACO RHESUS NA FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ	43
3 JUSTIFICATIVA	45
4 OBJETIVOS	46
4.1 OBJETIVO GERAL	46
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
5 MATERIAIS E MÉTODOS	47
5.1 ANIMAIS	47
5.1.1 Alojamento e rotina de manejo na criação dos macacos rhesus do CTB	48
5.2 FLUXOGRAMA DE ATIVIDADES	51
5.2.1 Adaptação dos animais	52
5.2.2 Elaboração de etograma	52
5.2.3 Avaliação individual	52
5.2.4 Confecção de gaiola de condicionamento	53
5.2.5 Desafios referentes aos treinamentos	55
5.3 AÇÕES CONDICIONADAS	56
5.3.1 Condução à gaiola de condicionamento	58

5.3.2	Ingestão de líquidos em seringa	59
5.3.3	Aferição de temperatura	59
5.3.4	Coleta de urina	60
5.3.5	Injeção intramuscular	63
5.3.6	Coleta de sangue por venopunção	64
5.3.7	Animais de experimentação	64
5.4	ELABORAÇÃO DE UM PROGRAMA DE CONDICIONAMENTO ANIMAL	65
5.5	ANÁLISE DE RESULTADOS	65
6	RESULTADOS	66
6.1	ETOGRAMA	66
6.2	AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E SELEÇÃO DOS ANIMAIS	69
6.2.1	Desafios e soluções	72
6.3	CONDICIONAMENTO	74
6.3.1	Acesso à gaiola de condicionamento	75
6.3.2	Ingestão de líquidos em seringa	76
6.3.3	Aferição de temperatura	77
6.3.4	Coleta de urina	78
6.3.5	Injeção intramuscular	79
6.3.6	Coleta de sangue por venopunção	82
6.3.7	Programa de Condicionamento Animal (PCA)	83
6.3.8	Ingestão de medicamento por via oral em animais de experimentação	84
6.3.9	Tentativa de coleta sangue oral em animais de experimentação	85
6.4	FIM DAS SESSÕES DE TREINAMENTO	85
7	DISCUSSÃO	86
8	CONCLUSÃO	92
9	PERSPECTIVAS	93
	REFERÊNCIAS	95
	APÊNDICE A	114
	APÊNDICE B	115
	APÊNDICE C	119
	ANEXO A	122

1 INTRODUÇÃO

O Serviço de Criação de Primatas não Humanos (SCPrim) do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB), Fundação Oswaldo Cruz/Fiocruz, possui aproximadamente 700 exemplares símios, destes aproximadamente 510 são da espécie *Macaca mulatta* (macaco rhesus), 50 *Macaca fascicularis* (macaco cynomolgus) e 130 *Saimiri* spp. (macaco-de-cheiro), sendo os macacos rhesus os modelos mais utilizados em pesquisa científica na instituição.

A Resolução Normativa nº 28 de 13 de novembro de 2015 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (BRASIL, 2015) recomenda que sejam utilizados procedimentos baseados em reforçamento positivo para condicionamento de comportamentos de colaboração dos primatas, a fim de que os animais cooperem voluntariamente com os procedimentos. Entretanto, a referida técnica somente é utilizada em uma pequena parcela dos procedimentos, talvez por existirem poucas pessoas qualificadas para exercer técnicas de condicionamento.

O “Princípio dos 3 Rs” proposto por Russel e Burch (1959) assim denominado em função das iniciais em inglês de *replacement*, *reduction* e *refinement*, significam a substituição dos animais por métodos alternativos, redução do número de animais utilizados na pesquisa, e o aprimoramento dos métodos utilizados, no sentido de minimizar o sofrimento ao máximo possível, proporcionando o aumento do bem-estar animal (BEA). Seguindo este princípio, muitos procedimentos de refinamento de metodologias são aplicáveis em diferentes tipos de experimentos e podem ser adicionados ou sobrepostos ao procedimento escolhido para um determinado protocolo experimental. O condicionamento baseado em reforçamento positivo é um meio de reduzir significativamente o impacto adverso para procedimentos e rotinas de criação de primatas não humanos (PNH), sendo esta conduta considerada uma técnica de refinamento (PRESCOTT; BUCHANAN-SMITH, 2007).

Ao contrário do que ocorre com os animais criados para fins de conservação, muitas vezes, os animais mantidos para experimentação necessitam de contato mais próximo com os humanos, devido à maior frequência de manejo e intervenções. A punção venosa, ingestão de medicamentos, aferição de temperatura corporal e coleta de urina, estão entre os procedimentos de manejo mais comuns, aos quais os PNH são submetidos em pesquisas biomédicas. De

acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011), o treinamento e a habituação de animais a procedimentos de rotina de criação ou de experimentação, devem ser desenvolvidos sempre que possível, considerando o tipo, a duração necessária e a complexidade do procedimento.

A aplicação de técnicas aprimoradas de condicionamento animal em PNH em ambiente sob cuidados humanos permite desenvolver um manejo com mais segurança, tanto para os profissionais que lidam diretamente com eles, quanto para os próprios animais (YOUNG; CIPRESTE, 2004). Interações entre animais mantidos sob cuidados humanos e seus responsáveis podem promover melhorias nas rotinas diárias, constituindo uma importante medida de enriquecimento (BOERE, 2001).

O reforçamento positivo é o fortalecimento de uma resposta devido à apresentação de determinado estímulo; já o reforçamento negativo consiste no aumento da frequência de uma resposta pela remoção de um determinado estímulo (SKINNER, 2003). O condicionamento operante, tanto com reforço positivo quanto com reforçamento negativo pode ser eficaz, porém acredita-se que o reforço positivo tenha benefícios adicionais, como reduzir respostas de angústia, aumentar a escolha e o controle do animal, melhorando, portanto, o seu bem-estar (LAMBETH *et al.*, 2006). O treino com reforço positivo (TRP) pode ser aplicado em uma ampla variedade de situações; quando praticado de forma adequada e habilidosa, este representa uma opção viável para a abordagem tradicional no manejo de animais em laboratório (LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003). Notadamente existe uma nítida necessidade de mais pesquisas e compartilhamento de informações por meio de publicações de descobertas empíricas relativas ao sucesso e ao fracasso das tentativas de treinamento (PRESCOTT; BUCHANAN-SMITH, 2007).

Em se tratando de animais destinados a atividades experimentais, o condicionamento desempenha um papel crucial nos procedimentos que não podem ser realizados em animais anestesiados, reduzindo o estresse da contenção física e química, aumentando a estimulação cognitiva, facilitando a condução de protocolos de pesquisa e cuidados veterinários dos animais. Embora haja um crescente interesse em obter animais condicionados, o assunto é raramente abordado em pesquisas biomédicas de centros brasileiros de criação. Surge, portanto, o interesse de desenvolver um programa de condicionamento animal

(PCA) para PNH, com o intuito de contribuir com a melhoria do bem-estar dos animais envolvidos.

Acredita-se, desta forma, que com a possibilidade de desenvolver novos projetos que até hoje não foram realizados devido à limitação de manejo, o PCA ampliará as opções de pesquisas com PNH, desenvolvendo trabalhos mais seguros com animais dotados de equilíbrio emocional, compatível com os procedimentos neles realizados, sem que haja alterações nos resultados experimentais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Animais criados para fins científicos, necessitam de manejo constante para realização de procedimentos que podem ser considerados agentes estressores. Os benefícios da técnica de condicionamento são inúmeros e a minimização do estresse e consequente melhoria do bem-estar é um incentivo para que a técnica seja implantada como rotina laboratório (LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003).

2.1 BEM-ESTAR ANIMAL

Para Boom (1986), o bem-estar de um indivíduo é seu estado em relação às suas tentativas de adaptar-se ao seu ambiente e pode melhorar como consequência de algo que lhe seja fornecido. Já Fraser (2008) definiu bem-estar como três conceitos sobreponíveis, sendo eles estado físico e funcional; estado psicológico e mental (afetivo); capacidade para executar comportamentos naturais e viver em conformidade com o estado natural para a espécie.

Uma descrição geral de BEA utilizada até na atualidade é o conceito das Cinco Liberdades, que compõem as ideias centrais lançadas pelo Relatório Brambell (BRAMBELL, 1965) e instituídas pelo *Farm Animal Welfare Council* (1979). O conceito acima é reconhecido como forma de avaliação de bem-estar, tanto de animais de produção quanto para outras espécies animais mantidas em ambiente sob cuidados humanos. De acordo com as cinco liberdades os animais devem estar:

- 1) Livres de fome, sede e desnutrição;
- 2) Livres de desconforto;
- 3) Livres de dor, ferimentos e doenças;
- 4) Livres para expressar seu comportamento e
- 5) Livres de medo e estresse.

Molento (2006) propôs alterar essa nomenclatura original para uma forma mais atual e didática como:

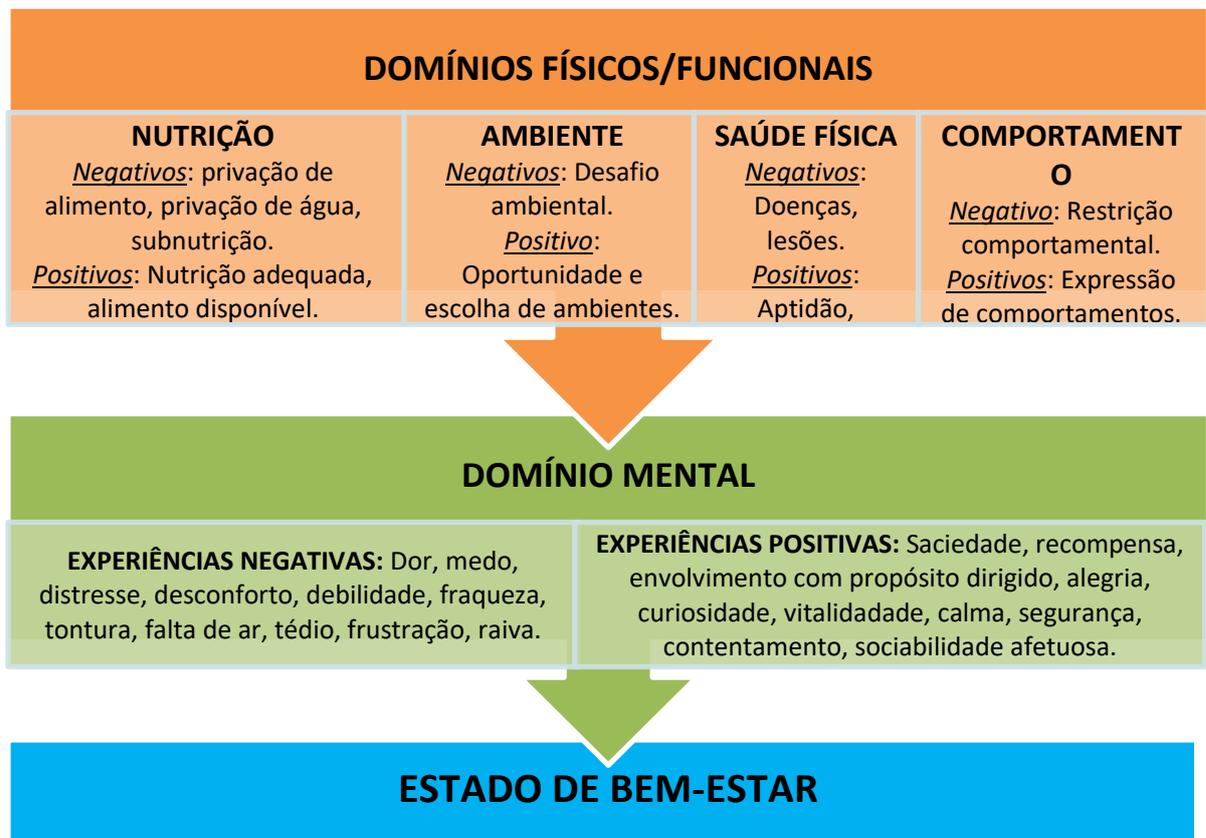
- 1) Liberdade nutricional;
- 2) Liberdade sanitária;
- 3) Liberdade ambiental;
- 4) Liberdade comportamental;

5) Liberdade psicológica.

Apesar de auxiliar, as Cinco Liberdades definem apenas um padrão mínimo do que deve ser avaliado no ambiente disponibilizado ao animal, sendo extremamente difícil disponibilizar ao animal todas as liberdades o tempo todo (HOLANDA, 2006).

O Modelo dos Cinco Domínios proposto por Mellor, Hunt e Gusset (2015) modificado a partir de Mellor e Beausoleil (2015) como parte da estratégia mundial de BEA dos zoológicos e aquários, não se destina a ser uma representação física e funcional precisa do corpo, mas é arquitetado para promover a compreensão e avaliação do BEA. Este modelo apresenta quatro domínios físicos/funcionais da “nutrição”, “ambiente”, “saúde física” e “comportamento”, e o quinto domínio, que é o estado “mental” do animal. E o impacto de todas essas experiências é avaliado como representando o estado de bem-estar do animal (Figura 1).

Figura 1 - Esquema do Modelo dos Cinco Domínios proposto por Mellor, Hunt e Gusset (2015) modificado a partir de Mellor e Beausoleil (2015).



Fonte: Mellor e Beausoleil (2015); Mellor, Hunt e Gusset (2015).

Existem várias definições, mas em qualquer avaliação de bem-estar, é necessário levar em conta as variações individuais ao se enfrentar adversidades e nos efeitos que elas exercem sobre os animais (BROOM; MOLENTO, 2004). Segundo Novak e Suomi (1988), o que mantém o bem-estar de um animal pode ser distinto para primatas de diferentes espécies, origens, idades, sexos ou temperamentos individuais. O melhor meio de avaliar o bem-estar psicológico de um animal deve ser direcionado para o indivíduo em si e não à natureza das instalações físicas ou aos procedimentos operacionais padrão.

Os animais que estão sob cuidado de seres humanos experimentam uma variedade de fatores que podem afetar o seu bem-estar (WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION, 2008). Embora se possa assumir que os animais estão familiarizados com os procedimentos de rotina diária, eles continuam a reagir a esses eventos e muitos destes têm um impacto maior nos animais do que geralmente se é reconhecido (LINE *et al.*, 1991).

Os PNH criados em ambiente sob cuidados humanos estão constantemente sujeitos a tensões emocionais diferentes daquelas de vida livre que dependem exclusivamente do ambiente em que vivem (PARRA-HERRA; ESTRADA-CELY, 2011). Um ambiente cativo inadequado pode afetar o comportamento, a saúde, o bem-estar e o desempenho do animal (EWING; LAY; VON BOVELL, 1999). É necessária uma postura ética frente à necessidade do desenvolvimento da ciência e a adoção de medidas que minimizam o sofrimento dos animais e favoreçam seu bem-estar (FRAJBLAT; AMARAL; RIVERA, 2008). Vale enfatizar que em se tratando de animais sencientes, há grande responsabilidade ética e compromisso moral por parte dos profissionais da área, devendo zelar pela qualidade de vida dos mesmos (PIZZUTTO *et al.*, 2013).

2.1.1 Regulação neuroendócrina do estresse

O conceito do estresse recebeu várias alterações, não existindo consenso entre os pesquisadores, talvez pelo fato do fenômeno ser estudado por diferentes áreas de conhecimento (GOLDBERGER; BREZNITZ, 1986). Selye (1974) definiu estresse como uma resposta biocomportamental do organismo frente a um desafio estressor capaz de alterar sua homeostase, chegando a comprometer a regulação

da resposta, sendo pertencente a todos os seres vivos. A homeostase exige que o animal se adapte e tenha controle diante de situações diversas com base nos seus mecanismos de defesa, comportamentais e imunológico, que juntos trabalham cooperativamente (MCMILLAN, 1999).

A classificação do estresse está relacionada à sua natureza, forma de manifestação e consequências desencadeadas, podendo ser chamado de eustresse (quando se tratar de um evento positivo, ou seja, do estresse necessário à sobrevivência do indivíduo frente à uma adversidade) ou distresse (quando o estresse desencadeado se tornar prejudicial ao organismo) (ORSINI; BONDAN, 2006). O eustresse normalmente se relaciona à fase de alarme do estresse, quando há retorno à homeostasia, e o distresse às fases de resistência e exaustão, quando podem começar a ocorrer danos orgânicos (JANOSIK; DAVIES, 1996).

Os sinais fisiológicos de estresse estão associados com a ativação do sistema nervoso simpático (SNS) e do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal (HHA). Quando o estresse é percebido pelo cérebro, o SNS desencadeia a liberação de adrenalina ou noradrenalina e a ativação de nervos simpáticos no organismo. A estimulação do eixo HHA resulta na secreção de cortisol, que provoca alterações no organismo, incluindo algumas respostas semelhantes à ativação do SNS. Existem ainda respostas relacionadas ao cortisol, tais como alterações na função dos sistemas imune e reprodutivo (WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION, 2018).

Os estímulos ambientais são captados pelo sistema sensorial (visual, olfativo e auditivo) que, por sua vez, conduz a mensagem através de neurônios, na forma de impulsos nervosos. Durante as respostas a curto prazo ao ambiente, por uma ameaça súbita ou uma situação de emergência, o animal se prepara para uma resposta de “luta ou fuga”, mediante a secreção de adrenalina (epinefrina) (WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION, 2018). A resposta de um indivíduo ao estresse agudo ou crônico é determinada por vários fatores, tais como: genéticos, experiência de vida precoce, condições ambientais, sexo e idade (HERMAN *et al.*, 2016).

O estresse fisiológico é um dos principais indicadores do BEA. Consiste em uma forma de resposta fisiológica do organismo a um estímulo do ambiente, na tentativa de manter a homeostasia, caracterizando-o, por conseguinte, como um fator adaptativo. Entretanto, o estresse quando prolongado ou crônico, por meio de

ação continuada de catecolaminas e glicocorticoides, gera impactos negativos sobre o organismo do animal (HOTZEL; MACHADO FILHO, 2000).

Ademais, o tipo de ambiente sob cuidados humanos pode alterar os parâmetros reprodutivos e endocrinológicas por estresse. Ambientes com gaiola individual, sistemas de criação de harém, curral ou ambiente livre promovem efeitos diferentes nos animais (DUKELOW; DUKELOW, 1989). Mensurações fisiológicas podem evidenciar que fatores estressantes estão alterando o bem-estar, indicado pelo aumento da frequência cardíaca e respiratória, aumento da concentração de hormônio adrenocorticotrófico e pela resposta imunológica reduzida (BROOM; MOLENTO, 2004). Medir metabólitos de cortisol fecal por exemplo, oferece a vantagem de ser uma técnica de amostragem simples e que permite estudos longitudinais de longo prazo, sendo ferramenta valiosa na área de BEA e etologia (MÖSTL; PALME, 2002).

2.1.2 Fatores estressantes

Diferenças significativas foram encontradas entre o padrão de atividades da população animal mantida em ambientes sob cuidados humanos e os de vida livre. Foram registrados comportamentos como automutilação, depressão manifestada por imobilidade prolongada, autoflagelação, dispersão fecal, ingestão de pelos e comportamentos estereotipados (PARRA-HERRA; ESTRADA-CELY, 2011). As estereotipias ocorrem geralmente sob condições de estresse contínuo, conflitos ou frustrações individuais, sendo tipicamente expressadas em elevado percentual de frequência e por longo período (DANTZER, 1986). A técnica de condicionamento operante com reforço positivo auxilia de forma considerável na prevenção do desenvolvimento desses tais comportamentos (BRUNELLI *et al.*, 2009).

De acordo com COSTA e PINTO (2008), os comportamentos anormais têm sido agrupados em categorias que caracterizam indicadores de problemas de bem-estar, como:

- Estereotipias: repetição de movimentos, aparentemente sem objetivo ou valor adaptativo (ex. balançar o corpo para os lados ou para frente e para trás, e andar de um lado para o outro, entre outras manifestações). Comportamento frequentemente observado em primatas em ambiente sob cuidados humanos;

- Comportamentos autodestrutivos: comportamento relacionado à automutilação, apetite por fezes, madeira, ingestão excessiva de água e alimentos;
- Agressividade exagerada: dirigida a outros animais do grupo, tendo como expressões extremas o infanticídio e o canibalismo;
- Falhas em funções comportamentais: inadequação de comportamento sexual, maternal e, até mesmo, movimentos básicos;
- Reatividade anormal: apatia, inatividade prolongada, hiperatividade, histeria;
- Comportamento no vácuo: construção de ninhos com materiais impróprios, atividade sexual dirigida a estímulos inadequados, dentre outros.

Em muitos casos, são buscadas soluções para problemas comportamentais sem uma adequada compreensão da base funcional e motivação subjacente ao comportamento realizado em ambientes cativos (NEWBERRY, 1995). Sabe-se que as práticas de manejo em ambiente sob cuidados humanos tradicionalmente abrangem uma grande quantidade de estímulo aversivo. Apesar do treinamento funcional, existe um custo inerente ao BEA quando ele é obrigado a cooperar perante a ameaça de um evento que provoca medo ou ansiedade (REINHARDT, 1992b). A indução de estresse crônico pode acarretar diversas alterações, entre elas úlceras gástricas, interferência nos sistemas biológicos de defesa, causando imunossupressão (CARLSTEAD, 1996).

2.2 CONDICIONAMENTO OPERANTE

Conforme supramencionado, o condicionamento operante fornece duas alternativas para gerenciamento do comportamento: procedimentos baseados em reforçamento positivo e em reforçamento negativo. No reforço positivo o animal recebe recompensa ao responder corretamente a um determinado comando e, assim, o treinador consegue a cooperação voluntária do animal. Ao contrário do que ocorre no reforço positivo, no sistema por reforço negativo, o animal emite uma resposta que evita ou suspende a apresentação de um estímulo aversivo (LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003). Em ambos os métodos, o comportamento não ocorre como evento isolado e não relacionado; as consequências que seguem as ações de um animal sejam apetitivas ou reforçadoras, aversivas ou indiferentes afetarão a frequência com que essas ações ocorrerão no futuro (LAULE, 2003).

É notório que um simples estímulo é capaz de mudar o comportamento de um organismo (CATANIA, 1999), sendo o condicionamento operante um tipo de aprendizado no qual os comportamentos são alterados, principalmente pelas consequências que os seguem (FARMERIE; NEFFER; VACCO, 1999). O treino com reforço positivo é uma forma de condicionamento operante (SKINNER, 2003), no qual diante de um estímulo, o sujeito emite uma resposta e tem como consequência um estímulo reforçador; geralmente são apresentadas como consequências recompensas comestíveis.

O reforço positivo é amplamente utilizado em zoológicos, como forma de facilitar o manejo dos animais. Envolve a capacidade de aprender a executar um comportamento específico frente a um estímulo particular, enquadrado como aprendizagem estímulo-resposta (GARCIA, 2015). Essa interação homem-animal pode ser considerada uma forma de enriquecimento ambiental (EA) (LAULE, 2003).

Uma avaliação de repertórios comportamentais pode ajudar a identificar os animais que serão relativamente fáceis de treinar. Também pode detectar os que precisam de técnicas de treinamento alternativas, como dessensibilização (COLEMAN, 2012). A dessensibilização é geralmente descrita como um processo pelo qual após sucessivos pareamentos entre um estímulo aversivo com um estímulo reforçador fazem com que o estímulo antes aversivo passe a apresentar função reforçadora. O TRP pode dessensibilizar os animais a estímulos potencialmente estressantes, como injeções, reduzindo, assim, o medo e a ansiedade em relação aos procedimentos (CLAY *et al.*, 2009; LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003)

2.2.1 Condicionamento animal e conservação

É de extrema importância para o bem-estar que o animal tenha capacidade de executar comportamentos naturais e viver em conformidade com o estado natural da espécie (FRASER, 2008). O desenvolvimento de técnicas não invasivas no monitoramento fisiológico, por exemplo, permite analisar a relação entre hormônio e comportamento dos animais, tanto em vida livre, como em ambiente sob cuidados humanos (FINCH; ROSE, 1995).

O comportamento das espécies silvestres é resultado de muitas gerações de seleção natural e adaptação à uma condição ambiental específica. Várias

espécies desenvolveram comportamentos oriundos da exploração de distintos habitats, reservas de alimento e condições climáticas; já outras espécies evoluíram a habilidade de se adaptarem a diversas condições, dependendo do período do ano, clima ou fatores biológicos predominantes durante um determinado tempo. Entretanto, a vida em ambiente sob cuidados humanos impõe a esses animais condições completamente diferentes daquelas em que eles evoluíram (CARLSTEAD, 1996).

Os animais mantidos em ambiente sob cuidados humanos são uma importante fonte de informação e recursos para a ciência. O conhecimento obtido através da observação e estudo de espécimes nestes ambientes pode ser direcionado para promover a conservação, sendo os programas de reintrodução uma contribuição inestimável para evitar a extinção das espécies (KOHN, 1994).

O condicionamento operante e o EA oferecem ferramentas e técnicas para melhorar a vida de animais que vivem sob cuidados humanos, alcançando maior grau de bem-estar (LAULE, 2003). Também é favorável na eliminação do estresse dos animais que necessitam ser submetidos a procedimentos veterinários, pois passam a cooperar em exames de rotina, sem que seja necessária a contenção química, que no geral é um risco para o animal (COSTA; PINTO, 2008).

2.2.2 Tipos de aprendizagem

O estudioso Burrhus Frederic Skinner, propôs que padrões comportamentais seguidos por estímulos reforçadores tendem a aumentar de frequência, concluindo, desse modo, que o controle da conduta pode ser determinado por suas consequências (COSTA; PINTO, 2008). O estudo do comportamento prioriza o seu enfoque nas relações entre os eventos, os estímulos, as ações do organismo e as respostas (CATANIA, 1999).

As estratégias de aprendizagem têm caráter consciente e intencional em que estão envolvidos processos de tomada de decisões, ajustado ao objetivo que se pretende alcançar, sendo necessário saber como, quando e por que utilizá-las, bem como controlar sua maior ou menor eficácia e modificá-las em função da tarefa. Estas são formadas pelas técnicas de aprendizagem e habilidades. O seu domínio exige também a habilidade no uso de certos métodos, cabendo refletir na forma mais apropriada em que devem ser aplicados (SANTOS; BORUCHOVITCH, 2011).

Para qualquer estímulo particular, sua apresentação pode aumentar ou diminuir a probabilidade de algumas respostas ou ainda não ter qualquer efeito sobre outras (CATANIA, 1999). Um estímulo só adquire propriedades reforçadoras condicionadas por meio de uma história de pareamento sistemático com estímulos reforçadores (ALÓ, 2007). Um estímulo só pode ser chamado de reforçador ou aversivo a depender da história de condicionamento a que ele foi exposto, ou seja, um estímulo só é reforçador se ao ser apresentado contingentemente a uma resposta teve como efeito o aumento da frequência desta no futuro. Caso o mesmo estímulo seja apresentado e a frequência da resposta diminuir, tem-se então um estímulo dito aversivo. Ou ainda um estímulo adquire funções reforçadoras se foi submetido a pareamentos sucessivos com estímulos reforçadores, passando a ter essa função (MOREIRA; MEDEIROS, 2007).

A aprendizagem é classificada de duas formas diferentes: aprendizagem não-associativa e associativa. Na aprendizagem não-associativa há mudança no comportamento do animal em resposta a um estímulo sem importância, mas que inicialmente foi considerado importante. Já na aprendizagem associativa, os animais aprendem a conexão entre estímulos e suas consequências, aumentando a capacidade de previsão sobre o ambiente. O condicionamento instrumental e o condicionamento clássico são tipos de aprendizagem associativa (COSTA; PINTO, 2008).

O condicionamento instrumental ou operante é uma aprendizagem do tipo resposta-estímulo e ocorre quando um animal apresenta uma ação e que, em consequência, leva à associação direta entre ação e recompensa, um comportamento voluntário, controlável por meio de suas consequências – reforços e punições. Já o condicionamento clássico, trata-se de aprendizagem associativa em que um estímulo é pareado a outro, resultando em uma resposta particular, podendo ser respostas involuntárias, emocionais e fisiológicas. Um estímulo neutro pode ser transformado em estímulo condicionado, produzindo uma resposta condicionada (exemplo: piscar os olhos, salivação) (AZEVEDO; CIPRESTE; YOUNG, 2008).

O comportamento é modificado pela experiência, o que resulta em mudança adaptativa do animal em relação ao ambiente (MANN; DAWKINS, 1998). As capacidades de aprendizagem, de antecipação, a memória e o reconhecimento individual constituem exemplos de capacidades cognitivas importantes para melhor

manejo do BEA (WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION, 2018). A riqueza de estímulos pode não só aumentar a capacidade de resolução de problemas, como também parece capacitar o indivíduo para melhor resposta ao estresse (BARTESAGHI; SERRAI, 2001).

2.2.3 Avaliação do bem-estar e programa de condicionamento animal

Os animais criados para fins de pesquisas são totalmente dependentes dos humanos, por isso há a necessidade de se conhecer o comportamento, motivações e percepções sensoriais, proporcionando a manutenção do seu bem-estar sempre que possível (RIVERA, 2017). Alguns animais podem desenvolver até mesmo comportamento autolesivo, tendo influência à frequência de eventos moderadamente estressantes (NOVAK, 2003). Além da análise fisiológica, medidas comportamentais são indispensáveis para melhorar o bem-estar individual (CANNON *et al.*, 2016).

Segundo Del-Claro (2004), os etogramas são importantes para se conhecer o comportamento de um determinado animal. Descreve comportamentos, buscando registrar a maior variação de atividades realizadas pelos animais (COSTA; PINTO, 2008). A caracterização dos comportamentos é uma estratégia básica na metodologia do etograma. Durante esse processo, são identificados os principais atos comportamentais e agrupados em categorias (SCHLINDWEIN; NORDI, 2013). O levantamento dessas categorias permite a necessária padronização para estudos quantitativos e comparativos (SOUTO, 2003).

Após a elaboração de etograma, torna-se necessário escolher uma técnica de amostragem, onde o observador precisa considerar as características de comportamento peculiares da espécie em questão e as interações sociais relevantes dos animais, sendo possível utilizar mais de um método de amostragem no mesmo estudo. Uma ferramenta frequentemente utilizada para amostragem é a técnica “Animal Focal” de Altmann (1974): “Nesse tipo de amostragem um indivíduo do grupo é observado entre intervalos definidos de tempo, anotando-se seu comportamento no momento da observação”. Esta é uma das técnicas mais empregadas em estudos de comportamento (MANACERO, 2016).

Em ambiente de laboratório, muitas vezes, não é possível alterar o recinto do animal, eliminar a presença de ruído ou diminuir a frequência de procedimentos

médicos. No entanto, é possível alterar a reação do animal a estímulos que provocam medo (CLAY *et al.*, 2009). Como forma de favorecer o bem-estar, o TRP é particularmente recomendado, porque incentiva o animal na participação e escolha nos resultados (PRESCOTT; BUCHANAN-SMITH, 2007). O TRP pode fornecer uma valiosa ferramenta de gerenciamento de colônias com economia de tempo e investimentos, resultante de um relacionamento cooperativo construído na confiança entre treinador e animal (JENNINGS *et al.*, 2009).

Tanto as avaliações subjetivas quanto as objetivas são consideradas fortes em favor do impacto positivo que o treino tem sobre o bem-estar de um animal (LAULE; WHITTAKER, 2007). Pesquisas publicadas demonstraram que o TRP reduziu o estresse, melhorando os índices comportamentais e fisiológicos associados a procedimentos realizados em PNH (SCHAPIRO; BLOOMSMITH; LAULE, 2003; REINHARDT *et al.*, 1990). Segundo Basset *et al.* (2003), saguis-de-tufos-brancos (*Callithrix jacchus*) treinados não mostraram mudança significativa no cortisol urinário excretado. Lambeth *et al.* (2006) relataram que os chimpanzés (*Pan troglodytes*) treinados para aceitar voluntariamente injeção de anestésico, apresentaram indicadores hematológicos de estresse mais baixos do que os chimpanzés que não foram treinados. Da mesma forma, *Macaca fascicularis* (macacos cynomolgus) envolvidos nas sessões diárias de TRP também mostraram medidas reduzidas de cortisol (KOBAN *et al.*, 2005).

2.3 PRIMATAS NÃO HUMANOS

A ordem dos primatas pode ser classificada em duas grandes subordens: Prosimii e Anthropeidea. A subordem Anthropeidea se divide na infraordem dos Platyrrhini (Novo Mundo) e do Catarrhini (Velho Mundo). Os Platyrrhini são os PNH das Américas, apresentam como característica morfológica padrão, aberturas nasais distanciadas e voltadas para os lados, são de menor porte e quase exclusivamente arborícolas. Os Catarrhini são os PNH originários da África e da Ásia, apresentam as aberturas nasais próximas e abertas para frente, possuem porte maior e passam grande parte do tempo no solo (MITTERMEIER *et al.*, 1999; NOWAK, 1999; KAVANAGH, 1984).

A diversidade na estrutura (variedade de tamanho e formas), comportamento e ecologia dos primatas é refletida pelas diferenças no habitat, dieta, hábitos

locomotores e organização social (BICCA-MARQUES; SILVA; GOMES, 2006). Em vida livre, os primatas podem ser classificados em diversos sistemas de acasalamentos, tais como monogamia (apenas um casal reproduz), poligamia (vários animais reproduzem), poliandria (fêmea copula com vários machos em um mesmo ciclo sexual) e poliginia (várias fêmeas reproduzem com um único macho) (KUGELMEIER; VALLE; MONTEIRO, 2010).

Pesquisas de campo há muito tempo mostraram diferenças individuais na personalidade, estilo comportamental ou temperamento e que essas características podem influenciar o sucesso social, ecológico e reprodutivo dos indivíduos (CLARKE; BOINSKI, 1995).

Em termos de estruturas hierárquicas de uma criação símia, os PNH devem ser alojados em grupos de indivíduos com compatibilidades aceitáveis para a manutenção de uma interação social estável (GONÇALVES *et al.*, 2010). Ao se construir recintos destinados a PNH, é imperioso oferecer ambientes devidamente projetados para a espécie símia envolvida, tendo em vista que as distintas espécies de primatas diferem muito entre si no tocante aos seus aspectos fisiológicos, apresentando, deste modo, diferentes necessidades biológicas concernentes às respectivas exigências espaciais, nutricionais, reprodutivas, genéticas, dentre outras (BRASIL, 2015).

2.3.1 Organização social

Talvez o conceito mais admirável no estudo do comportamento animal tenha sido a ideia da evolução por meio da Teoria da Evolução de Charles Darwin e Alfred R. Wallace, que proporcionou a estrutura evolucionária necessária para o desenvolvimento do estudo do comportamento. O comportamento pode ser entendido como “todo e qualquer ato executado por um animal, perceptível ou não, ao universo sensorial humano” (COSTA; PINTO, 2008).

Um dos principais diferenciais dos PNH em relação aos demais animais de laboratório consiste na elevada capacidade cognitiva, conferindo-lhes uma percepção aguçada de fatores externos, fato que promove uma maior interação do animal com o ambiente em que vive (GONÇALVES *et al.*, 2010).

Em vida livre, uma redução na estabilidade do grupo de PNH pode levar à separação do grupo original. Em ambiente sob cuidados humanos, o aumento das taxas de agressão e ferimentos são os principais indicadores de instabilidade de um grupo, sendo relacionados diretamente à diminuição da coesão entre os animais (FLACK; KRAKAUER; de WAAL, 2006; MCCOWAN *et al.*, 2008; OATES-O'BRIEN *et al.*, 2010). A variação individual e as diferenças entre as espécies são muito grandes no temperamento dos PNH (CLARKE; BOINSKI, 1995)

A intervenção não necessariamente tem uma influência positiva na estabilidade do grupo, algumas podem resultar na continuação do conflito original, contribuindo para a instabilidade, fato que pode desencadear uma sequência de agressões (MCCOWAN *et al.*, 2008; OATES-O'BRIEN *et al.*, 2010). Em muitos casos, buscam-se soluções para problemas comportamentais sem uma adequada compreensão da base funcional e motivação subjacente ao comportamento realizado em ambientes cativos (NEWBERRY, 1995).

A relação interindividual a partir de relações assimétricas entre os indivíduos é a dominância (IZAR, 1994). Quando os membros de um grupo podem ser ordenados de acordo com as suas relações de dominância, uma hierarquia de dominância está presente no grupo (LANGBEIN; PUPPE, 2004). Geralmente alcançada a partir do resultado de disputas, onde o dominante ameaça e o subordinado adota postura de submissão para evitar conflitos (WINANDY, 2012).

2.3.2 Enriquecimento ambiental de primatas não humanos

O EA está relacionado às melhorias que podem ser realizadas no ambiente sob cuidados humanos, para a melhoria nas funções biológicas dos animais (NEWBERRY, 1995). Ambientes inapropriados afetam adversamente o comportamento animal, principalmente devido à falta de estímulos (BOERE, 2001). A implementação de EA aumenta o tempo dedicado à alimentação, forrageamento e deslocamento diminuindo comportamento como de descanso, tornando o animal mais ativo, como na natureza (PARRA-HERRA; ESTRADA-CELY, 2011). O EA minimiza consideravelmente o tédio e a depressão em ambiente sob cuidados humanos, criando uma oportunidade interativa e complexa que estimula e colabora

para que os animais se comportem de maneira mais natural (SHEPHERDSON *et al.*, 1993)

Estudos sugerem que uma maior complexidade do recinto associada a novos estímulos, como formas diferentes de apresentar alimentos, contribui para a redução do comportamento anormal em animais cativos, aumentando potencialmente seu bem-estar físico e psicológico (RESENDE *et al.*, 2009). É necessário utilizar recursos que mantêm o enriquecimento interessante e inovador aos animais, incentivando-os a interagir com o seu ambiente (LAULE, 2003)

Para os PNH que vivem em ambiente sob cuidados humanos, a diversidade de atividades oferecida pelo EA é muito importante, pois este é um programa que incentiva os indivíduos a interagirem com um repertório de ações a eles ofertado que tem como objetivo promover a redução de comportamentos agressivos e estereotipados (BRYANT; RUPNIAK; IVERSEN, 1988).

Segundo Gonçalves *et al.* (2010) os EA podem ser categorizados em seis diferentes tipos, como:

- Físico: tem como objetivo remediar na medida do possível as condições deficitárias do ambiente sob cuidados humanos, com a introdução de objetos de distração;

- Cognitivo: visa oportunizar situações motivadoras por meio de desafios com consequências recompensadoras;

- Alimentar: promove uma forma mais natural da oferta de alimento, apresentando-o em seu tamanho natural e suas dificuldades reais;

- Sensorial: objetiva a estimulação das habilidades sensoriais;

- Ocupacional: são situações meramente de entretenimento, sem envolver metas de solução de problemas ou estimulação sensorial, visando apenas aumentar a diversidade comportamental do animal (exemplo: oferecer roupas, boné, revista).

- Social: Consiste em abrigar os animais em conjunto com outros indivíduos, como método alternativo de fornecimento de sons, cheiros, contato restrito.

Aliado ao EA, o condicionamento operante configura um outro recurso crucial para elevar o patamar do BEA, especialmente quando associado com o programa de enriquecimento ambiental (PEA). Desta forma, a adição de técnicas de treinamento bem orquestrado e enriquecedor se complementam (WESTLUND, 2014). Consiste em um “enriquecimento social” capaz de reduzir o estresse, sendo

um importante aprimoramento metodológico para protocolos de pesquisa (REINHARDT *et al.*, 1990).

2.3.3 Condicionamento de primatas não humanos

A técnica de condicionamento operante reduz o medo, a ansiedade e o estresse causado aos PHN pelos métodos tradicionais de manejo e procedimentos (REINHARDT; LISS; STEVENS, 1995). Incentiva relações de confiança entre os animais e seus cuidadores, promovendo mudanças positivas nas atitudes dos animais com a equipe envolvida (BAYNE, 2002; WAITT; BUCHANAN-SMITH; MORRIS, 2002; MINIER *et al.*, 2011). Permite execução de procedimentos médicos com maior segurança e menor probabilidade de acidentes (ALVES, 2015), pois os animais demonstram estarem mais confortáveis durante os procedimentos, sendo no geral o treino, uma atividade positiva (SAVASTANO; HANSON; MCCANN, 2003), dependendo da cooperação voluntária do animal (LAULE, 2003). Contudo, ensinar e treinar um animal requer que ele esteja disposto a participar do processo (LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003).

A punição física não é apropriada como técnica de treinamento e nenhuma privação de alimentos. Os animais devem ser alimentados com sua dieta de rotina e as recompensas pelo treinamento incluem partes dessa dieta ou guloseimas extras (LAULE, 2003). Características como hierarquia podem afetar o desenvolvimento individual durante as sessões de condicionamento, existindo um limite para o aprendizado e sua performance dentro de um grupo social (SCHAPIRO; BLOOMSMITH; LAULE, 2003).

Segundo PERLMAN *et al.* (2012) a proposta crucial é de se obter animais que respondam positivamente aos treinamentos; somente em último caso, utilizado o estímulo aversivo, quando então se aplica o mínimo de reforço negativo ao animal. Diante de um comportamento correto apresentado pelo animal, é preciso fornecer imediatamente uma recompensa e o estímulo aversivo deve ser removido.

Técnicas de condicionamento operante foram utilizadas com sucesso em PNH para coletas de saliva (FERRAZ *et al.*, 2013), estimulação e colheita de sêmen por vibroestimulação peniana (KUGELMEIER, 2011), exames ginecológicos e

obstétricos (MONTEIRO *et al.*, 2011), punção venosa (BUNYAK *et al.*, 1982), entre outros procedimentos.

Calitriquídeos se demonstraram interessados nas sessões de treino, sendo o desenvolvimento de um programa de treinamento recompensador para todos os indivíduos envolvidos desde o animal ao treinador (FARMERIE; NEFFER; VACCO, 1999). Chimpanzés treinados para receber injeções de anestésico tiveram os níveis de estresses reduzidos significativamente quando comparado com aqueles que foram anestesiados via dardos químicos (LAMBETH *et al.*, 2006.)

Nos últimos anos a inclusão da técnica para o treinamento de PNH em laboratórios tem despertado maior interesse nas pesquisas internacionais (SCHAPIRO; BLOOMSMITH; LAULE, 2003; COLEMAN; TULLY MCMILLAN, 2005; PERLMAN, *et al.*, 2012). Todavia, existem poucos estudos detalhando protocolos de treinamento em nível de grupo, juntamente com dados sobre o sucesso do treino (LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003; KEMP *et al.*, 2017). Os estudos publicados com descrições dos resultados dos treinos para PNH, geralmente envolvem um número relativamente pequeno de animais treinados ou em sua maioria são animais alojados em gaiolas individuais ou duplas (CLAY *et al.*, 2009; COLEMAN *et al.*, 2008).

É primordial saber quais as ações que demandam condicionamento, para que o programa tenha máxima eficácia para os animais, assim como para as pessoas envolvidas e as pesquisas realizadas. O PCA de PNH mais eficaz deve incluir objetivos de treinamento claramente definidos, responsabilidade, avaliação, refinamento do esforço desta prática, bem como educação continuada para a equipe (PERLMAN *et al.*, 2012).

2.4 OBJETO DO ESTUDO: MACACO RHESUS (*Macaca mulatta*)

O macaco rhesus é uma das espécies mais conhecidas de macacos do Velho Mundo. Tem origem nas mais amplas faixas geográficas comparado com qualquer outro PNH, ocupando desde pradarias a áreas áridas e florestais (GROVES, 2005). A espécie pertence à infraordem *Catarrhini* está distribuída pelo continente africano, sudeste asiático continental e ilhas da região (PISSINATTI; GOLDSCHMIDT; SOUZA, 2010).

São animais diurnos e predominantemente terrestres. Herbívoros principalmente, alimentando-se também de frutas, sementes, raízes, brotos, cascas e cereais (MAKWANA, 1979). Apresentam uma extensão na pele facial por meio de bolsas guturais, que se conectam à boca internamente, permitindo-lhes acumular temporariamente sua comida, além de auxiliar o processo de mastigação (RICHARD, 1985; MOURA *et al.*, 2010).

A espécie é filogeneticamente relacionada aos seres humanos e compartilha um antepassado comum em cerca de 25 milhões de anos atrás (KUMAR; HEDGES, 1998). Considerado o modelo de PNH mais testado para doenças humanas (SIMMONS, 2016; PISSINATTI; GOLDSCHMIDT; SOUZA, 2010), avaliado como adequado para estudos de doenças cardiovasculares (BENNETT; DEPETRILLO, 2005), neurológicas (DEANER; KHERA; PLATT, 2005), virais (CHONG *et al.*, 2019), hormonais (BHAT; PLANT; MANN, 2005), microbiológicas (BERENDIT, 1978), entre várias outras linhas de pesquisa.

Os macacos rhesus são classificados como poligâmicos do tipo múltiplos machos e múltiplas fêmeas, com grupo numeroso, incluindo machos e fêmeas dominantes, podendo ser divididos em subgrupos estruturados como haréns (KUGELMEIER; VALLE; MONTEIRO, 2010). Possuem uma hierarquia linear baseada em parentesco e relacionamentos (DEWAAL; LUTTRELL, 1985). A maturidade sexual ocorre entre dois a três anos de idade para as fêmeas e quatro a sete anos para os machos (HENDRICKX; DUKELOW, 1995). Os machos geralmente não desempenham nenhum papel em criar os filhotes, mas mantêm relações pacíficas com a prole de seus pares consorte (BEISNER *et al.*, 2012).

Na espécie *Macaca mulatta* existe uma marcante filopatria feminina, as fêmeas tendem a não deixar o grupo social e têm hierarquias matrilineares altamente estáveis, nas quais a posição da fêmea depende do grau de dominância social da matriarca (JUDGE; WAAL, 1997). Tal filopatria feminina é tão exacerbada, a ponto das mães serem capazes de impedirem que as filhas mais velhas formem coligações contra elas (HILL; OKAYASU, 1996). Em contraste, machos juvenis quando atingem a maturidade sexual são expulsos pelo dominante. Assim, os machos adultos alcançam o *status* de dominância por idade e com a experiência adquirida ao longo dos anos. Com base na classificação dentro do grupo, o "subgrupo central" ocupa o centro e determina todas as atividades, contém machos mais antigos e dominantes, conhecidos por codominantes, juntamente com as

fêmeas e sua prole (SOUTHWICK; BEG, 1965). Os subgrupos que ocupam a periferia do grupo central têm um macho dominante, inferior ao macho central, que mantém a ordem por comunicação entre os centrais. Na margem há o subgrupo de machos submissos que fazem chamadas de alarme (GOUZOULES; GOUZOULES; TOMASZYCKI, 1998).

Macaco rhesus são animais extremamente territorialistas, sendo frequente a expressão de comportamentos agonísticos entre indivíduos de um grupo social, na tentativa de demonstrar dominância, seja pela posse da fêmea ou pelo controle do grupo (PETERSDORF *et al.*, 2007). Em ambiente sob cuidados humanos, o conhecimento sobre o comportamento da espécie e manejo adequado são ferramentas essenciais. Por este motivo, quando se trata de macacos rhesus há necessidade de retirar do recinto os machos adolescentes, que começam a manifestar características reprodutivas de adultos, a fim de evitar conflitos e óbitos entre aqueles que lutam por posição hierárquica mais elevada dentro do grupo social (SOUZA *et al.*, 2016).

Flack, Krakauer e de Waal (2005) afirmam que os machos adultos do gênero *Macaca* são os principais controladores dos conflitos nos grupos sociais em que vivem, desempenhando papel importante na manutenção da estabilidade da estrutura familiar. De fato, o número de machos existentes tem o potencial de influenciar o grau de agressividade e estabilidade de um grupo. Assim, um manejo bem-sucedido consiste na correta composição do grupo em busca da proporção sexual ideal (BEISNER *et al.*, 2012).

Os indivíduos variam em relação a ampla variedade de características de comportamento e isso pode influenciar a forma como respondem, sendo o temperamento o fator que pode influenciar as necessidades comportamentais de cada indivíduo (COLEMAN, 2012).

2.5 PESQUISA BIOMÉDICA COM PRIMATAS NÃO HUMANOS

Grandes marcos históricos referentes ao uso do modelo primata foram registrados, tais como Pasteur, Chamberland e Roux (1884), que desenvolveram estudos sobre o vírus da raiva no final do século XIX e Landsteiner e Popper (1909), com vacinas contra poliomielite. A partir das décadas de 1950/60, os estudos relacionados à vacina anti-pólio desenvolvidos por Salk *et al.* (1953), impulsionaram

a expansão científica e conseqüente motivação na criação de primatas em ambiente sob cuidados humanos destinados a pesquisas biomédicas (PISSINATTI; ANDRADE, 2010).

A criação de animais silvestres em ambiente sob cuidados humanos contribui para a formação de importante reserva genética, oferecendo oportunidades para o desenvolvimento de pesquisas, muitas vezes, inexecutáveis com os animais livres na natureza (HUTCHINS; SMITH; ALLARD, 2003). A criação de PNH em ambiente sob cuidados humanos é necessária não somente para a pesquisa biomédica, como também para a conservação das espécies ameaçadas de extinção (COSTA; PINTO, 2008).

Em termos de estruturas hierárquicas na criação de símios, os PNH devem ser alojados em grupos de indivíduos com compatibilidades aceitáveis para a manutenção de interação social estável (GONÇALVES *et al.*, 2010). Deve se minimizar as variações que podem interferir nos resultados das pesquisas procedentes dos animais e dos dados que estes podem proporcionar (BRASIL, 2015).

Intervenções biomédicas, como ensaios vacinais e de drogas contra doenças infecciosas, utilizando roedores e outros biomodelos, muitas vezes, não exibem propriedades satisfatórias em diferentes ensaios clínicos, limitação esta que impõe a necessidade de utilizar PNH, visando obter resultados mais confiáveis e reprodutíveis (SHIVELY; CLARKSON, 2009). É sabido que os PNH são amplamente usados em pesquisas, principalmente devido à sua filogenética e proximidade fisiológica com os seres humanos (PISSINATTI; ANDRADE, 2010; CHAMANZA, 2012). Eles representam modelos ideais para mais de 70 doenças infecciosas humanas de diversas etiologias, incluindo uma multiplicidade de agentes infecciosos - bactérias, vírus, fungos, parasitas, príons (GARDNER; LUCIW, 2008).

O uso de PNH na biomedicina, na maioria dos países é rigidamente regulada por lei, todos os protocolos de pesquisa devem obter méritos científicos e éticos. Como resultado, o seu uso é altamente restrito (BANTROP, 2001). Além da questão ética e de rigorosas medidas de biossegurança, quando se trata de animais destinados à pesquisa, existem normativas que norteiam as condutas adequadas, no que diz respeito ao uso racional e cuidados deste modelo em estudos em prol da saúde humana e animal (CARDOSO; PRESGRAVE, 2010; BRASIL, 2015).

No Brasil dois grandes centros de PNH concentram a maior parte das pesquisas biomédicas desenvolvidas com eles: o criadouro científico do ICTB-Fiocruz, no Rio de Janeiro e o Centro Nacional de Primatas (CENP), no Pará, ambos vinculados ao Ministério da Saúde. O Brasil tem sido um dos principais contribuintes para o aumento das pesquisas com PNH no mundo (TORRES *et al.*, 2010). O envolvimento contínuo de instituições motivadas pela melhoria nos métodos de aquisição e manutenção dos animais, possibilitaram resultados mais qualificados e seguros (PISSINATTI; GOLDSCHMIDT; SOUZA, 2010).

2.5.1 Pesquisa com animais sobre contenção física e/ou química

A contenção química em animais silvestres é empregada para captura, transporte e tratamento, com o objetivo de minimizar os riscos do manuseio tanto para animais quanto para as pessoas envolvidas (SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 1999). O estresse ocasionado pela contenção física e química pode dificultar a condução de protocolos de pesquisa e cuidados veterinários. Em alguns casos, como no monitoramento ultrassonográfico da gestação, a utilização de anestésicos e o método de captura podem atuar como fatores químicos e ambientais que comprometem a gestação (MONTEIRO *et al.*, 2006).

Durante a coleta de urina, por exemplo, a contenção física pode induzir respostas estressantes (ROCHA, 2010). Devido ao fator estresse, o método pode ocasionar complicações como miopatia de captura, morte, além de ser perigosa para o profissional que está manejando o animal (CHAVES; ABIMUSSI, 2015). Animais com bem-estar comprometido resultam em comportamentos alterados e deficiências fisiológicas, como níveis permanentemente elevados de hormônios do estresse ou concentrações reduzidas de hormônios sexuais e um sistema imunológico prejudicado, tornando-os inadequados para execução de protocolos científicos (POOLE, 1997).

Vários estudos evidenciaram os benefícios proporcionados pelo condicionamento animal. O Quadro 1 aponta benefícios e riscos comprovados em diferentes trabalhos científicos realizados utilizando condicionamento, contenções físicas e/ou químicas em animais.

Quadro 1 – Presença de riscos no uso de animais condicionados ou sobre contenção física e/ou química relatados em diversos estudos.

MÉTODO UTILIZADO	Tempo de treinamento	Risco para a saúde do animal	Risco para o técnico	Resposta fisiológica alterada
Reinhardt (1991) (condicionamento)	Semanas à meses	0	0	0
Balcombe <i>et al.</i> , (2004) (contenção física)	*	sim	*	sim
Chaves e Abimussi (2015) (contenção física e química)	*	sim	sim	sim
Reinhardt <i>et al.</i> , (1990) (contenção física e química)	*	sim	sim	*

Fonte: Elaboração própria.

0: ausência ou risco mínimo

*: não relatado no estudo

A credibilidade do resultado da pesquisa depende do bem-estar vivenciado pelo animal durante sua realização, da sensibilidade do pesquisador para o entendimento dos sofrimentos e necessidades e do bom senso nas tomadas de decisões e atitudes (FRAJBLAT; AMARAL; RIVERA, 2008).

Resultados derivados de animais criados e/ou mantidos em condições inadequadas ou sem controle de qualidade podem levar a dados inconclusivos e sem validade. Os animais são extremamente sensíveis a alterações externas e necessitam de modificações consideráveis no metabolismo para compensar as variações do meio externo, que podem influenciar os resultados das pesquisas (HIROTSU; SOUZA; ANDERSEN, 2017). Torna-se, portanto, de grande importância o emprego de técnicas de condicionamento, sendo responsável por reduzir o nível de estresse crônico nos primatas de laboratório, proporcionando pesquisas de melhor qualidade (ANDRADE, 2002; KUGELMEIER, 2011).

A manutenção de condições estáveis assegura a reprodução de resultados experimentais, uma vez que resultados diferentes podem ser obtidos para idênticos parâmetros experimentais com animais em diferentes condições ambientais (PAIVA; MAFFILI; SANTOS, 2005). Entretanto, apenas recentemente foi compreendida a importância do bem-estar do modelo animal utilizado e a influência

desse fator nos resultados dos experimentos realizados (FRAJBLAT; AMARAL; RIVERA, 2006). O medo, o estresse e a angústia são consequências previsíveis dos procedimentos laboratoriais de rotina e esses fenômenos têm implicações científicas e humanas substanciais para o uso de animais em pesquisas de laboratório (BALCOMBE; BARNARD; SANDUSKY, 2004).

2.6 USO DE MACACO RHESUS NA FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

O SCPrim-ICTB tem a finalidade de criar e manter PNH dentro dos preceitos éticos e de BEA, objetivando viabilizar as pesquisas biomédicas em âmbito institucional, prioritariamente, e constituindo um recurso valioso para cooperação entre outras instituições. A colônia de *M. mulatta* do ICTB foi estabelecida em 1932, com 100 indivíduos importados da Índia, com a finalidade de desenvolver estudos que envolviam doenças tropicais, como forma de auxiliar na prevenção e controle de enfermidades de relevância epidemiológica que comprometem a saúde pública. Essa colônia foi estabelecida em sistema de criação seminatural, na ilha do Pinheiro, situada no município do Rio de Janeiro. Em 1980, foi transferida para o campus da Fiocruz, onde são mantidos em um sistema de criação em grupos familiares (PISSINATTI; ANDRADE, 2010). Atualmente o SCPRIM possui a maior população de macacos rhesus sob cuidados humanos destinados à pesquisa da América Latina, com aproximadamente 510 espécimes criados em colônia fechada desde sua implantação.

Na Fiocruz a espécie tem sido empregada como biomodelo para estudos relacionados a doenças tropicais, abrangendo desenvolvimento de vacinas recombinantes contra leishmaniose, desenvolvimento de vírus vacinal e testes de neurovirulência da febre amarela, dengue, hepatites virais, vírus da zika, tuberculose, circulação de *Campylobacter* spp., anomalias congênitas, além de ensaios de drogas contra malária (MEIRELES, 2019; PISSINATTI; ANDRADE, 2010).

3 JUSTIFICATIVA

Com o propósito de assegurar condições máximas de conforto aos PNH mantidos no criadouro científico da Fiocruz, a equipe do ICTB busca minimizar o estresse natural ocasionado pela situação de confinamento, acarretando, fundamentalmente interferências nos resultados experimentais devido ao imunocomprometimento causado pelo fator estressante.

Aliada à questão das falhas nas incontáveis variáveis biológicas inerentes à quebra da homeostasia do animal, existe o compromisso moral de gerar melhores estratégias de bem-estar, buscando continuamente inovações de práticas voltadas para a qualidade da saúde dos animais cativos. Nesse intuito, o PEA e o PCA são recursos primordiais para proporcionar bem-estar individual.

No âmbito do ICTB, atualmente existem profissionais treinados para elaborar e aplicar diferentes PEA nos animais do instituto; porém, ainda não existem pessoas com capacitação direcionada às técnicas de condicionamento. Desta forma, visando suprir essa lacuna, justifica-se desenvolver um PCA voltado para os PNH do ICTB, com definidas ações que permitam ser transmitidas a outros profissionais, que possam, assim, compor uma equipe especializada na referida área. Tal proposta se reveste de elevada relevância, visto que representa uma contribuição institucional inestimável.

4 OBJETIVOS

O presente estudo tem como alvo os seguintes objetivos:

4.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar um Programa de Condicionamento Animal (PCA) a partir do aprimoramento de técnicas de condicionamento operante por reforço positivo, direcionada à espécie símia *Macaca mulatta*, criada e mantida nas instalações do ICTB-Fiocruz, Rio de Janeiro, visando proporcionar seu bem-estar, refinando metodologias adotadas nos diferentes projetos de pesquisa científica da instituição.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar animais com perfis propícios ao método de condicionamento por meio de elaboração de etograma e observação comportamental;
- Elaborar e executar técnica que permita o consumo de líquidos, facilitando a ingestão de medicamentos orais, a fim de que o animal receba a oferta de forma espontânea;
- Elaborar e executar metodologias de condicionamento operante que permitam a coleta de urina e sangue, bem como aferição de temperatura e aplicação de injeção intramuscular, sem o uso de contenção física ou química;
- Identificar e capacitar profissionais lotados tanto na área de criação como na de experimentação de PNH do ICTB para formar uma equipe especializada na área de condicionamento animal, visando empregar o PCA como rotina na instituição.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Em consonância com os princípios éticos que norteiam a conduta dos cuidados e uso correto dos animais de laboratório, o presente projeto foi autorizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-Fiocruz) por meio da licença nº LW-26/19 (ANEXO A).

5.1 ANIMAIS

Para o desenvolvimento do projeto foram selecionados dois recintos de *Macaca mulatta*, sendo um composto por quatro fêmeas subadultas (quatro anos de idade) e outro contendo seis machos com idades variando de juvenil a subadulto (entre dezoito meses a quatro anos de idade). Todos os macacos rhesus foram pertencentes à colônia situada na sede do SCPrim.

O referido local foi escolhido por manter quantidade menor de animais em cada recinto, dispondo de uma área com menor interferência externa, comparada com a área da colônia principal de macacos rhesus.

Para avaliação comportamental foram selecionados três machos e três fêmeas, totalizando seis animais, conforme a descrição do Quadro 2. Os animais não tinham nenhuma experiência anterior com treinamento, não estavam acostumados com a presença diária do treinador e o critério de seleção foi a idade aproximada entre os animais, sendo então, analisados os exemplares mais velhos do grupo social.

Quadro 2 – *Macaca mulatta* selecionados para treinamento com objetivo de elaboração do programa de condicionamento animal no criadouro científico da Fiocruz, RJ.

IDENTIFICAÇÃO	SEXO	NASCIMENTO	RECINTO
AM2	Fêmea	20/01/2016	4S
AM4	Fêmea	11/11/2015	4S
AM6*	Fêmea	18/12/2015	4S
AM41*	Macho	24/11/2015	1S
AM85	Macho	07/11/2015	1S
AN23	Macho	07/10/2016	1S

Fonte: Elaboração própria.

*animal dominante do seu respectivo grupo social.

5.1.1 Alojamento e rotina de manejo na criação dos macacos rhesus do ICTB

O SCPrim-ICTB abriga cerca de 510 espécimes de *M. mulatta*, distribuídas em três diferentes colônias, localizadas em espaços diferenciados, assim definidos: colônia principal, com aproximadamente 426 animais alojados em 26 recintos de grupos familiares; colônia de fundação com 40 animais em cinco recintos de fêmeas e seus respectivos filhotes; e colônia-sede com 44 animais distribuídos em sete recintos.

A colônia-sede (

Figura 2), local onde foi desenvolvido o projeto, foi criada com o intuito de manter os animais totalmente protegidos de vetores. A área possui sete recintos de 9,40m² distribuídos entre área interna (refúgio) e externa, sendo esta última de 5,80m² (1,65m de largura x 3,5m de profundidade), dotada de poleiros de PVC e em bambu e bebedouros automáticos. Possui também um ambulatório de 11m² equipado para atendimento clínico a estes animais. Todo ambiente é envolvido por tela tipo mosquiteiro em aço inox.

Figura 2 - Visão geral da colônia-sede de macaco rhesus, do criadouro científico da Fiocruz, RJ. Local onde foi desenvolvido o projeto.



Fonte: Arquivo pessoal.

O manejo alimentar ocorre três vezes ao dia, com uma dieta composta por ração extrusada balanceada (“ração seca” – Quintia®) que é a base do plano alimentar, oferecida pela manhã, após a higienização dos recintos e no início da tarde; no final da manhã, momento de maior atividade dos animais é fornecida uma dieta complementada de hortifrutigranjeiros (“ração úmida”), sempre tendo água potável disponível *ad libitum*.

A higienização dos recintos é realizada diariamente com a varrição, o recolhimento e descarte de resíduos sólidos e lavagem com água sob pressão. A cada quinze dias é realizada a higienização com hipoclorito de sódio a 2% ou Virkon® 1kg/ 200L de água, tomando-se o cuidado de manter os animais afastados da área com produto químico.

Todo o processo de trabalho que envolve a criação e manejo dos PNH é realizado por uma equipe multidisciplinar por meio de vistorias diárias, atendimentos clínicos e cirúrgicos, quando necessários, e estudos em saúde, genética, anatomia, comportamento, bem-estar, nutrição e reprodução animal. Anualmente todos os animais das colônias são submetidos a um manejo médico-zootécnico, durante o qual se realizam biometrias (pesagens e mensurações corporais), controle antiparasitário, identificação alfanumérica com tatuagem na região ventral (peitoral) (Figura 3), colheita de fezes e sangue para exames laboratoriais e formação de um banco de soros (“soroteca”), para estudos epidemiológicos.

Figura 3 - *Macaca mulatta* macho com identificação individual pela tatuagem na região peitoral, procedente do criadouro científico da Fiocruz, RJ.



Fonte: Arquivo pessoal.

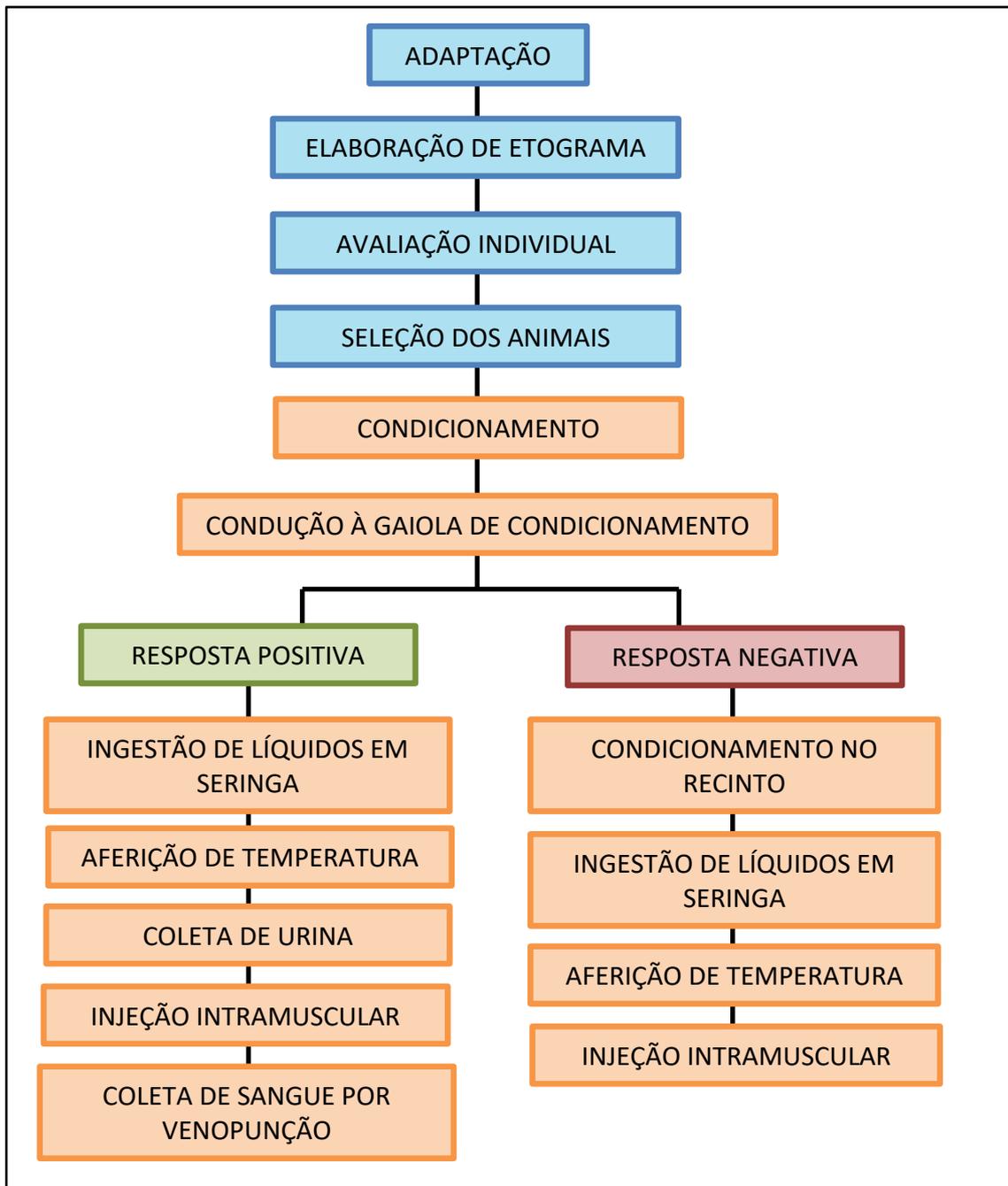
Atualmente existe um PEA, ordenado por cronograma de atividades periódicas, que proporcionam diferentes estímulos, como físicos, sociais, sensoriais e cognitivos. Para englobar tais estímulos, o PEA oferece itens variados aos animais, como: porções de alfafa peletizada, sementes de girassol, ervas aromáticas (hortelãs, manjeriço, capim limão, etc), flores de hibisco, frutas da estação disponíveis no pomar da área da criação (acerola, cajá, manga, pitomba, jambo, etc.), cana-de-açúcar, brinquedos (escada, tambor, etc.), piscina em dias quentes, bacia com maravalha em dias frios, dentre outros itens.

Durante todo o processo de condicionamento, os animais receberam os itens do PEA, respeitando a rotina já estabelecida pelo programa, com oferta de EA duas vezes na semana, sempre no período da tarde, após o fornecimento da ração seca.

5.2 FLUXOGRAMA DE ATIVIDADES

Na Figura 4 é apresentado o fluxograma do trabalho, ressaltando todas as suas etapas como forma de visualizar as atividades realizadas, demonstrando a ordem executada.

Figura 4 - Fluxograma de atividades realizadas no estudo para condicionamento de macacos rhesus no criadouro científico da Fiocruz, RJ.



Fonte: Elaboração própria.

5.2.1 Adaptação dos animais

Segundo Hilliard (2003), a habituação dos animais a uma ação nova prossegue de maneira mais eficaz e rápida com estímulos leves ou intensidade moderada. Embasado nesta afirmação, antes do início do treinamento, os animais passaram por um período de habituação para familiarizá-los com o treinador, momento em que há diminuição gradual da capacidade de resposta ao estímulo como resultado de repetidas exposições. Esse período de visitas diárias que durou três semanas serviu também para testar as preferências alimentares e, assim, decidir quais alimentos utilizar como recompensa durante as sessões de treinamento. Os animais foram incentivados a receber as recompensas da mão do treinador, estabelecendo relação de confiança.

Houve o cuidado de usar o mínimo possível de produtos açucarados e industrializados, tendo preferência por frutas desidratadas ou pequenos pedaços de frutas frescas.

5.2.2 Elaboração de etograma

Para realizar a análise comportamental e elaboração do etograma, o trabalho utilizou como base teórica, os estudos de Altmann (1974), Del-Claro (2004), Freitas e Nishida (2011) e Manacero (2016). Elaborou-se uma lista de atos comportamentais, os quais foram nomeados e descritos com base nas observações realizadas e em etogramas adaptados, procurando seguir as características da espécie em estudo (BAKER, 2012; MOTTA; REIS, 2009; OLIVEIRA, 2016; HAGE *et al.*, 2014). As observações *ad libitum* ocorreram durante cinco dias consecutivos, entre 12:30 e 16:30h. O horário definido visou não interromper a rotina diária de higienização do ambiente.

5.2.3 Avaliação individual

A fim de se obter eficácia na metodologia e havendo facilidade de identificação dos animais, foram combinados os métodos amostrais de coleta de dados comportamentais por escaneamento e animal focal. A metodologia aplicada

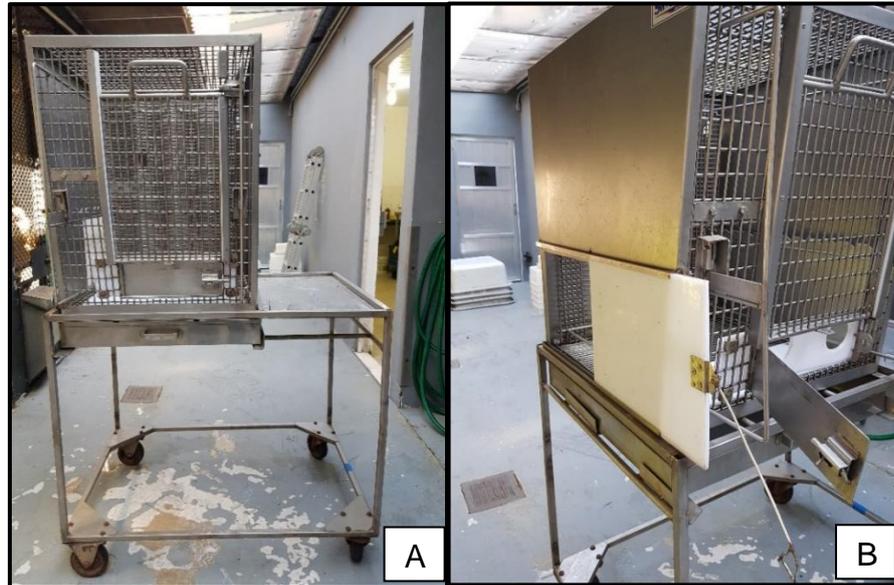
foi a de amostragem focal durante dez minutos, com registros instantâneos a cada 15 segundos e intervalos de dois minutos.

Por meio da avaliação individual, buscou-se identificar e selecionar os animais que expressassem maior frequência de comportamentos exploratórios, pois segundo Coleman, Tully e McMillan (2005), estes animais mais curiosos demoram menos tempo para aprender e são capazes de manter seu interesse no treino por um período mais longo de tempo do que os considerados inibidos.

5.2.4 Confeção de gaiola de condicionamento

Diante do desafio de realização de treinamento de um indivíduo específico dentro do grupo familiar, sem interferência de outros, a solução encontrada foi a de adaptação de uma gaiola de condicionamento, que foi confeccionada pela equipe da oficina do SCPrim em aço inox e prolipropileno, com parte traseira móvel e sistema de contenção do tipo *squeeze back* (a parede posterior da gaiola funciona como uma prensa contra o animal), e ainda com a presença de travas, permitindo uma redução opcional do espaço da gaiola. A gaiola de condicionamento possui também, além da porta de entrada para os animais, os recursos de abertura abaixo da porta frontal projetada para acesso à perna do animal e facilitação de procedimentos de coleta de sangue, por exemplo. Suas dimensões são 75cm (altura) x 60cm (largura) x 70cm (profundidade), como apresentado na figura 5.

Figura 5 - Gaiola de condicionamento confeccionada para condicionamento dos macacos rhesus do criadouro científico da Fiocruz, RJ: A) parte frontal; B) parte lateral.



Fonte: Arquivo pessoal.

Para que o animal tivesse acesso espontâneo à gaiola de condicionamento, houve a necessidade de realizar uma abertura na lateral direita da grade do recinto (Figura 6).

Figura 6 - Janela de acesso com adaptação realizada na grade do recinto de macaco rhesus da colônia-sede da Fiocruz, RJ, como forma de permitir acesso à gaiola de condicionamento.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.2.5 Desafios referentes aos treinamentos

Defrontando-se com as situações adversas, foram apresentadas as soluções que surgiram a partir das intercorrências que ocorreram neste trabalho. Para tanto, tomou-se como base o programa de condicionamento proposto por Farmerie, Neffer e Vacco (1999), que apontam alguns problemas e as respectivas soluções que usualmente ocorreram durante as sessões de treinamento (Quadro 3).

Quadro 3 - Situações adversas e soluções relacionadas às intercorrências apresentadas no processo de condicionamento operante com os macacos rhesus do criadouro científico da Fiocruz, RJ.

SITUAÇÃO ADVERSA	DESCRIÇÃO	SOLUÇÃO
Dominância	Animais dominantes que possam atrapalhar as sessões.	Manter os animais dominantes ocupados por períodos maiores, pode ser ofertado EA, como forma de proporcionar distrações mais complexas.
Cautelosos	Alguns animais são mais reservados que outros, com grau de dominância menor.	As etapas dos comandos devem ser intensificadas e mediante qualquer progresso nas suas respostas, não importa quão pequenas, o animal deve ser recompensado.
Habilidade perdida	Mediante algum evento negativo, o animal pode ficar com medo e deixar de realizar uma ação já condicionada.	Repetir os passos iniciais da ação condicionada para produzir o comportamento completo novamente.
Não aprende como os demais	Alguns indivíduos podem não aprender um comportamento que os outros aprendem mais facilmente.	Usar a criatividade e tentar alternativas diferentes para inicialmente produzir um comportamento que se deseja ser alcançado.
Distrações	Qualquer episódio fora do normal pode causar uma reação em cadeia de chamadas de alarme, que pode forçar o encerramento da sessão de treinamento.	Quanto mais confortável o animal se sentir com o seu treinador e com a equipe ao redor, melhores serão as chances de sucesso e de manter a atenção deles na sessão de treinamento. Entretanto, se o animal não se sentir confortável, a sessão deve ser encerrada.

SITUAÇÃO ADVERSA	DESCRIÇÃO	SOLUÇÃO
Técnicas heterogêneas	O uso de técnicas de treinamento diferentes confunde os animais.	Registro diário e boa comunicação entre os treinadores ajuda a garantir coerência do programa de treinamento.
Desinteresse pela recompensa	Animal perde o interesse pela recompensa.	A variedade dos itens ofertados deve ser ampliada.
Day off	Sem motivo aparente, um animal pode não estar interessado no treinamento.	A sessão deve ser encerrada.

Fonte: Elaboração própria, adaptado de Farmerie *et al.* (1999).

Com o início das sessões de treinamento, pôde-se perceber que a presença dos animais dos recintos ao lado interferia nas sessões, fato que tirava a concentração dos animais em análise, pois eles se distraíam devido à facilidade que os indivíduos do outro recinto tinham de visualizar a gaiola de condicionamento. Para resolver esta interferência os animais dos recintos ao lado foram condicionados a entrar no refúgio e ali ficaram confinados durante as sessões. Ao final das sessões o portão do refúgio era aberto e os animais liberados. Ao entrar e sair do refúgio os indivíduos do grupo não pertencentes ao presente estudo recebiam recompensa de cereais ou frutas desidratadas.

Durante o processo de treinamento, percebeu-se também que o fator dominância estava afetando a taxa de sucesso e, portanto, foi avaliada a contribuição desse fator. Além disso, alguns animais não estavam tendo avanço, mesmo após um treinamento considerável. Por conseguinte, o método proposto de solução de problemas foi testado para possível avanço do desempenho desses animais.

As sessões foram encerradas quando o sujeito parou de prestar atenção no treinador ou apresentou contínua agitação.

5.3 AÇÕES CONDICIONADAS

As sessões de treino foram realizadas duas a cinco vezes na semana, dependendo da rotina e ocorrências como intempéries e intervenções diversas no

local. Uma vez que o comportamento foi aprendido, uma vez na semana foi realizada a sessão de manutenção.

Os treinos foram realizados sempre no mesmo horário, por volta de 14:30h, objetivando habituar os animais à nova rotina e sem interferir na rotina diária. A frequência foi de um a cinco dias da semana, com duração máxima de 30 minutos de sessão para cada animal. Como forma de acompanhar a evolução dos animais no treinamento e de registrar a metodologia utilizada, as sessões foram gravadas por uma câmera Samsung® S8 com auxílio de tripé.

Em toda manipulação foram fornecidas iscas alimentares evitando produtos açucarados e industrializados, dando preferência para alimentos naturais (cereais, frutas frescas e desidratadas, sucos naturais, amendoim), estes itens foram utilizados para que os animais pudessem desenvolver comportamentos interativos, visando uma baixa agressividade (GALVÃO *et al.*, 2002). Para escolha das iscas, foram levadas em consideração as preferências individuais, respeitando o limite diário de ingestão de calorias estipulado pela equipe de nutrição do SCPrim, buscando evitar saciedade e superalimentação dos animais.

Para reduzir a agressão, os indivíduos foram recompensados com guloseimas quando apresentaram comportamento adequado e gentil. Por outro lado, quando se demonstravam agressivos, o treinador aguardava de 8-10 segundos, ignorando o comportamento do animal, a fim de não reforçar um comportamento indesejado, objetivando sua extinção.

❖ *Primeira fase de treinamento*

Inicialmente, os animais foram estimulados a entrar em uma gaiola individual de condicionamento, que foi posicionada na parte frontal do recinto, onde foram realizadas as sessões de treinamento. Em seguida, as primeiras ações condicionadas foram permanecer na gaiola de condicionamento, ingestão de líquidos em seringa, aferição de temperatura, e coleta de urina. À medida que o animal respondia positivamente às sessões, prosseguia-se para a segunda fase de treinamento. Os animais que não obtiveram sucesso na permanência dentro da gaiola de condicionamento foram treinados dentro do próprio recinto, de acordo com suas limitações. Foram utilizadas iscas alimentares para o animal alvo acessar a gaiola de condicionamento e EA para os demais do grupo não interferirem na sessão que estava em andamento.

❖ *Segunda fase de treinamento*

Consistiu nas ações que exigiam mais do animal por se tratar de processos incômodos, como injeção intramuscular e coleta de sangue por venopunção da veia safena. Por se tratar de condicionamento de estímulos desconfortáveis, a aproximação foi realizada em etapas de dessensibilização.

O programa foi formado por um treinador primário, o responsável por introduzir novos comportamentos aos animais. Uma vez que um comportamento foi assimilado pelo animal, treinadores secundários eventualmente atuaram, ajudando na manutenção dos comportamentos. A maioria do treinamento foi realizada por um treinador primário, com assistência ocasional de um treinador secundário, dependendo da disponibilidade da equipe, seguindo a conduta proposta por Savastano, Hanson e McCann (2003).

Os comportamentos condicionados foram considerados aprendidos quando se tornaram confiáveis e executáveis em três sessões de treinamento consecutivas, de acordo como disposto nos estudos de Schapiro, Bloomsmith e Laule (2003).

5.3.1 Condução à gaiola de condicionamento

Todo o treinamento foi executado pela grade do recinto ou gaiola de condicionamento, com os animais tendo livre acesso à gaiola durante o período máximo de 30 minutos. Os animais, primeiramente, foram condicionados a entrarem na gaiola de condicionamento confeccionada para este fim. Em casos onde o processo se tornou demorado e/ou estressante, as sessões foram realizadas com o animal dentro do seu próprio recinto.

Durante as sessões de condução à gaiola os animais ficaram livres para se locomover entre a área do recinto e a gaiola de condicionamento, sendo isolados momentaneamente por no máximo três minutos.

Os animais foram estimulados a entrar na gaiola de condicionamento, sendo atraídos com iscas alimentares. Uma vez dentro da gaiola, eles ficavam livres para pegar as iscas dispostas. Como reforço do treinador, os animais receberam iscas alimentares pela parte frontal da gaiola, a fim de serem encorajados a entrar e estimulados a permanecer no seu interior.

Uma vez que um macaco se sentia à vontade para entrar na gaiola ou ficar na grade do recinto, recebendo recompensas, as sessões de treinamento começavam. Treinar o dominante para se posicionar primeiro permitiu gerenciar o grupo com mais eficiência, visto que o animal ficava ansioso para participar da sessão.

5.3.2 Ingestão de líquidos em seringa

Muitos animais associam as seringas a algo incômodo, como anestésias ou medicações injetáveis, causando aversão à uma ferramenta que pode ser utilizada para facilitar ingestão de medicamentos orais. Com o objetivo de dessensibilizar os animais, foram ofertados líquidos agradáveis ao paladar da espécie, como sucos naturais de manga, acerola, para que com o condicionamento os animais aceitassem a ingestão desses sucos em seringas de 20 ml, facilitando a execução de protocolos científicos.

5.3.3 Aferição de temperatura

A aferição de temperatura foi feita via termômetro digital de testa Dual Mode IFR1DU1 (Figura 7). O animal foi condicionado a aproximar o corpo à grade da gaiola ou recinto para realizar a aferição pelo aparelho. Em seguida, a treinadora apresentou ao animal uma seringa com suco de fruta na grade do recinto ou gaiola de condicionamento. Quando o animal se posicionou para beber o suco, a treinadora aproximou o termômetro infravermelho de testa na face do animal primeiramente desligado, a fim de não o assustar com o alarme sonoro do aparelho. Ao aceitar o alarme, o condicionamento foi realizado com o termômetro ligado. O suco funcionou como estímulo para manter o animal na posição e o distraiu para que fosse aproximado o termômetro e aferida a temperatura.

Figura 7 - Termômetro digital infravermelho de testa utilizado para aferição de temperatura de *Macaca mulatta* durante execução da técnica de condicionamento operante, no criadouro científico da Fiocruz, RJ.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.3.4 Coleta de urina

A coleta de urina foi realizada em bandeja de coleta, localizada na parte inferior da gaiola de condicionamento, devidamente higienizada com água e sabão antes das sessões. Após responder adequadamente aos sinais ou comandos do treinador, os animais foram recompensados com acerola, uva ou frutas desidratadas (exemplo: damasco, *blueberry*, *cramberry*). Como ponte ao reforço condicionado foi utilizado um *clicker* (Figura 8), que repetidamente emparelhado à recompensa se tornou um reforçador (LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003).

Figura 8 - Aparelho *clicker* utilizado como reforçador durante execução da técnica de condicionamento operante de *Macaca mulatta*, no criadouro científico da Fiocruz, RJ.

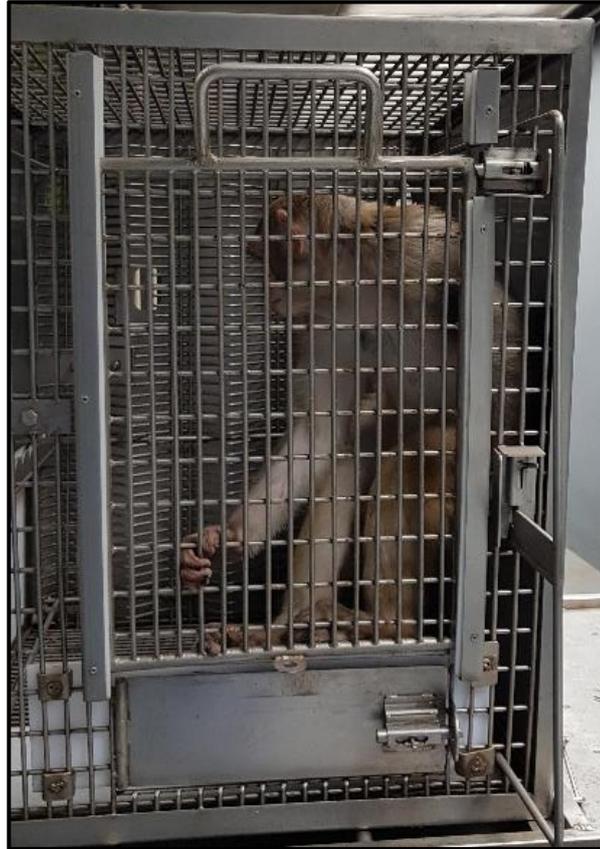


Fonte: Arquivo pessoal.

Somente durante o treinamento da fêmea AM2 para coleta de urina, a porta de acesso à gaiola foi fechada e o animal retido durante o período máximo de 20 minutos, variando de acordo com sua aceitação durante cada sessão ou liberada antes, em caso de micção. O isolamento momentâneo foi necessário visando facilitar a interação animal/treinador, sem a interferência da dominante AM6. A fêmea AM2 demonstrava muito interesse em participar dos treinos; entretanto, a dominante AM6 demandava atenção constante, sendo necessário separá-las durante as sessões da AM2, a fim de evitar intervenções.

Os animais foram condicionados a sentar na lateral superior da gaiola de condicionamento, como forma de facilitar a visualização no momento exato da ação a ser reforçada (Figura 9). Receberam até 200 ml de suco em seringas de 20 ml como forma de facilitar a micção e estimular o mesmo a permanecer sentado no local correto. Devido ao fato de somente as fêmeas obterem sucesso no acesso e permanência na gaiola de condicionamento, somente estas foram condicionadas para coleta de urina.

Figura 9 - *Macaca mulatta* fêmea sentada na lateral superior da gaiola de condicionamento, em posição adequada para coleta de amostra de urina, no criadouro científico da Fiocruz, RJ.



Fonte: Arquivo pessoal.

O treinamento para a coleta de urina seguiu as seguintes etapas:

1. Uma vez dentro da gaiola individual, o treinador apresentou ao animal uma seringa com suco de fruta (exemplo: manga, acerola, melancia, etc.);
2. O suco foi fornecido na posição de interesse, marcando o local adequado para coleta de urina (sentado na lateral da gaiola);
3. O animal tomou no máximo 200 ml de suco e a treinadora aguardou até 20 minutos para micção;
4. No momento em que o animal urinou, o *clicker* foi acionado e uma recompensa foi oferecida como forma de associação do som à mesma.

5.3.5 Injeção intramuscular

Como se tratou de estímulo que exige resposta do tipo invasiva, foi necessário apresentá-lo em doses gradativas (SKINNER, 1981). Primeiramente,

utilizou-se a técnica de aproximação sucessiva (LAULE; BLOOMSMITH; SCHAPIRO, 2003; COLEMAN, *et al.*, 2008), que consiste em dividir o comportamento em pequenas etapas e, posteriormente, ensinar um passo de cada vez, até que o comportamento desejado seja alcançado. Para aceitação da perfuração da injeção intramuscular, foi realizada a dessensibilização, objetivando que, gradativamente, o animal tolerasse e aceitasse o estímulo considerado assustador ou desconfortável. O animal então foi estimulado a sentar na grade da parte frontal do próprio recinto, na posição que alguns animais costumam ficar e se sentem confortáveis para observar e interagir com o treinador. O condicionamento seguiu as etapas seguintes:

1. O animal apresenta a coxa, sentando-se na grade na parte frontal do recinto;
2. O treinador tenta tocar na perna do animal com a ponta do dedo, delicadamente;
3. Após a aceitação do toque, tenta-se acariciar ou tocar de forma mais intensa a coxa do animal;
4. O treinador belisca com ponta dos dedos a coxa do animal;
5. Prossegue-se com a dessensibilização da sensação de pressão da seringa com tampa na pele;
6. Dessensibilização para perfuração de agulha de insulina no músculo;
7. Dessensibilização para aceitação de perfuração por seringa com agulha calibre 24G.

A cada passo os animais receberam uma recompensa alimentar de pequeno volume e na etapa que exigiu maior tolerância, como a perfuração da agulha, o animal recebeu recompensa como damascos ou tâmaras desidratadas inteiras. Os estímulos das etapas 1, 2, 3, 4 e 5 ocorreram com frequência de até quatro vezes na semana, e os estímulos mais fortes (6 e 7), uma a duas vezes na semana, de acordo com a aceitação do animal e possibilidade de realizar a sessão.

5.3.6 Coleta de sangue por venopunção

Assim como o condicionamento para injeção intramuscular, a coleta de sangue por venopunção exige uma resposta do tipo invasiva, sendo necessário

apresentá-lo em doses mais gradativas ainda. O condicionamento seguiu as seguintes etapas:

1. Estimular o animal a sentar posicionado-se no local da coleta de sangue dentro da gaiola de condicionamento;
2. Permitir que o treinador apenas toque na perna;
3. Permitir que o acesso à perna seja mais prolongado e o animal se sinta tranquilo com o treinador acariciando a pata;
4. O animal se sente à vontade, permitindo que o treinador puxe a perna para fora através da abertura na porta da gaiola;
5. Permitir que o treinador segure a perna para fora da gaiola;
6. Dessensibilizar para presença do material utilizado durante o procedimento de coleta de sangue com gaze embebida em álcool;
7. Dessensibilizar a presença de seringa com a tampa;
8. Dessensibilizar a sensação de pressão da seringa com tampa na pele;
9. Dessensibilizar a perfuração da pele com a agulha;
10. Dessensibilizar a compressão de algodão seco sobre a pele;
11. Dessensibilizar o acesso à veia e coleta de amostra de sangue (1 ml).

Durante todo o processo foi fornecido o suco de maior preferência do animal, como forma de distração e recompensa em cada etapa alcançada.

5.3.7 Animais de experimentação

Com o intuito de usar a técnica de condicionamento como rotina em animais em experimentação e havendo necessidade junto ao projeto que estava iniciando sua execução na colônia-sede, a ingestão de medicamento via oral foi realizada em oito macacos rhesus machos adultos. Além destes, duas fêmeas adultas alojadas em biotério de experimentação foram treinadas para tentativa de coleta de sangue via veia cefálica.

5.4 ELABORAÇÃO DE UM PROGRAMA DE CONDICIONAMENTO ANIMAL

O PCA, produto desta dissertação, foi elaborado com base na experiência adquirida durante a execução do projeto e com o levantamento bibliográfico realizado para a elaboração do mesmo. Trata-se de um manual técnico com informações detalhadas e fotos do processo de condicionamento dos animais, com cada etapa a ser executada que poderá auxiliar profissionais que tenham interesse em executar a técnica de condicionamento animal. O produto em formato PDF foi hospedado na plataforma Google Drive, podendo ser acessado através de link ou leitura de código QR (*Quick Response*), um código de barras bidimensional que pode ser facilmente escaneado, usando câmera de celular do tipo *smarthphone*. O referido código foi gerado com auxílio do aplicativo <https://www.the-qrcode-generator.com/>, ficando disponível publicamente.

5.5 ANÁLISE DE RESULTADOS

Os dados obtidos durante as observações foram transferidos para planilhas do programa *Microsoft Excel* 2013. No programa foi compilado o cálculo do somatório de cada categoria comportamental, possibilitando fazer uma análise individual, gerando gráficos de frequência.

Também foram analisados qualitativamente os dados de registro diário das sessões de treinamento, com relatos de todas as informações referentes às sessões realizadas para cada indivíduo.

6 RESULTADOS

A seguir são descritos os resultados obtidos neste estudo.

6.1 ETOGRAMA

Foram registrados todos os comportamentos identificáveis durante 20 horas de observações, servindo como base para elaboração de um etograma, onde foi possível determinar 35 comportamentos divididos em nove categorias comportamentais (Quadro 4).

Destacamos que as descrições de comportamento informam detalhes das ações a serem observadas no estudo, porém para pesquisas com observações sendo realizadas por mais de um observador, é essencial que haja exercícios preliminares de observações conjuntas e testes de confiabilidade entre eles antes do início das observações do estudo.

Quadro 4 - Etograma para avaliação comportamental da espécie *Macaca mulatta* do criadouro científico da Fiocruz, RJ.

COMPORTAMENTO	DESCRIÇÃO
	Categoria: Reprodução
COPULAR (CPL)	Animal sobe se apoiando nas costas do outro e se segura com as patas traseiras, tentando realizar a cópula.
ACEITAR CÓPULA (ACC)	Animal aceita que o outro indivíduo se apoie nas suas costas, aceitando a cópula.
MASTURBAÇÃO (MTB)	Manipular o próprio órgão genital com a ponta dos dedos ou com as mãos, seja puxando ou lambendo.
	Categoria: Condutas Agonísticas
AMEAÇAR (AMÇ)	Demonstrar ameaça a outro indivíduo, olhando com a boca aberta e mostrando os dentes, podendo emitir sons (grunhidos), estar parado ou em movimento pelo recinto.
AMEAÇAR O OBSERVADOR (AMO)	Animal ameaça o observador, olhando fixamente para ele, com a boca aberta e mostrando os dentes, podendo emitir sons.
SER AMEAÇADO (SAM)	Animal recebe ameaça de outro indivíduo, ficando com medo, inibido e acuado.

(continuação)

COMPORTAMENTO	DESCRIÇÃO
Categoria: Condutas Agonísticas	
MORDER (MOR)	Animal briga e ataca outro indivíduo, mordendo a pele ou o pelo.
PERSEGUIR (PER)	Corrida curta ou longa atrás de outro indivíduo, demonstrando superioridade.
FUGIR (FGR)	Animal assustado foge de outro indivíduo que o está perseguindo pelo recinto.
BALANÇAR NA GRADE (BGR)	Indivíduo se balança na grade com movimentos rápidos e com força, ação geralmente causada pela presença de outros animais nas gaiolas da frente.
ESTEREOTIPIAS (EST)	Movimentos repetitivos de andar ou correr de um lado para outro ou em círculo repetidas vezes.
Categoria: Fisiológico	
URINAR (URN)	Ato de urinar.
DEFECAR (DFC)	Ato de defecar.
AUTOCATAÇÃO (ATC)	Catar o próprio corpo, coçar-se ou puxar o próprio pelo.
Categoria: Interações Pacíficas	
REALIZAR CATAÇÃO (RZC)	Catar, coçar ou puxar a pele ou pelo de outro indivíduo.
RECEBER CATAÇÃO (RCC)	Parado e/ou relaxado enquanto um ou mais indivíduos o catam, coçam ou puxam sua pele ou pelos.
BRINCAR (BRI)	Interagir em forma de brincadeira com outro indivíduo. Puxar o pelo do outro e sair correndo, simular lutas.
DORMIR JUNTO (DJT)	Animais dormindo juntos, podendo estar abraçados, lado a lado ou um atrás do outro.
ABRAÇAR (ABÇ)	Animais abraçados, de olhos abertos, convivendo em momentos tranquilos e observando ao redor ou consumindo alimento da bolsa gular.
Categoria: Alimentação	
FORRAGEAR (FOR)	Explorar o recinto (telas, fendas, buracos, restos de alimentos pelo chão), utilizando as mãos e dedos em busca de alimentos, geralmente lambendo os dedos em seguida.
ALIMENTAR (ALM)	Levar o alimento até a boca, mastigar e engolir, sempre com alimento na mão e mastigando.
ESFREGAR RAÇÃO (EFR)	Esfregar a ração no chão molhado antes de consumir o alimento.

(continuação)

COMPORTAMENTO	DESCRIÇÃO
Categoria: Alimentação	
CONSUMIR ALIMENTO DA BOLSA (CAB)	Indivíduo parado observando o movimento e mastigando o alimento armazenado na sua bolsa gular.
BEBER ÁGUA (BBA)	Indivíduo bebe água do bebedouro ou de pequenas poças no chão.
Categoria: Locomoção	
LOCOMOVER (LCM)	Ato de se deslocar no ambiente. Inclui caminhar, correr, escalar e saltar, sem interesse de interação.
Categoria: Exploratório	
USO DE ENRIQUECIMENTO FÍSICO (EAF)	Qualquer interação com itens de enriquecimento físico que são colocados no recinto, seja morder, pendurar-se ou explorar.
USO DE ENRIQUECIMENTO COGNITIVO-ALIMENTAR (EAA)	Qualquer interação com itens de enriquecimento cognitivo e alimentar que são colocados no recinto, seja lambar, consumir ou cheirar.
CURIOSIDADE (CRD)	Explorar com as mãos elementos do recinto como canos, telas.
MORDER GRADE (MGR)	Animal parado morde a grade do recinto calmamente com os dentes da frente.
ESFREGAR O CHÃO (EFC)	Esfregar a palma das mãos nas poças de água do chão em movimentos contínuos.
Categoria: Parado	
PARAR ATIVO (PAT)	Permanecer sentado ou em pé, atento e observando algo ou alguém.
PARAR ALERTA (PAL)	Animal parado em postura de alerta, seja em relação a outro indivíduo ou movimentação humana, podendo emitir sons.
PARAR INATIVO (PIT)	Permanece sentado ou deitado, relaxado, em posição de descanso, sem demonstrar atividade. sonolento, podendo estar dormindo.
Categoria: Refúgio	
REFÚGIO (RFG)	Animal no refúgio, causando dificuldade de visualização do observador.
Categoria: Outro	
OUTRO (OTR)	Qualquer comportamento que não esteja descrito neste etograma.

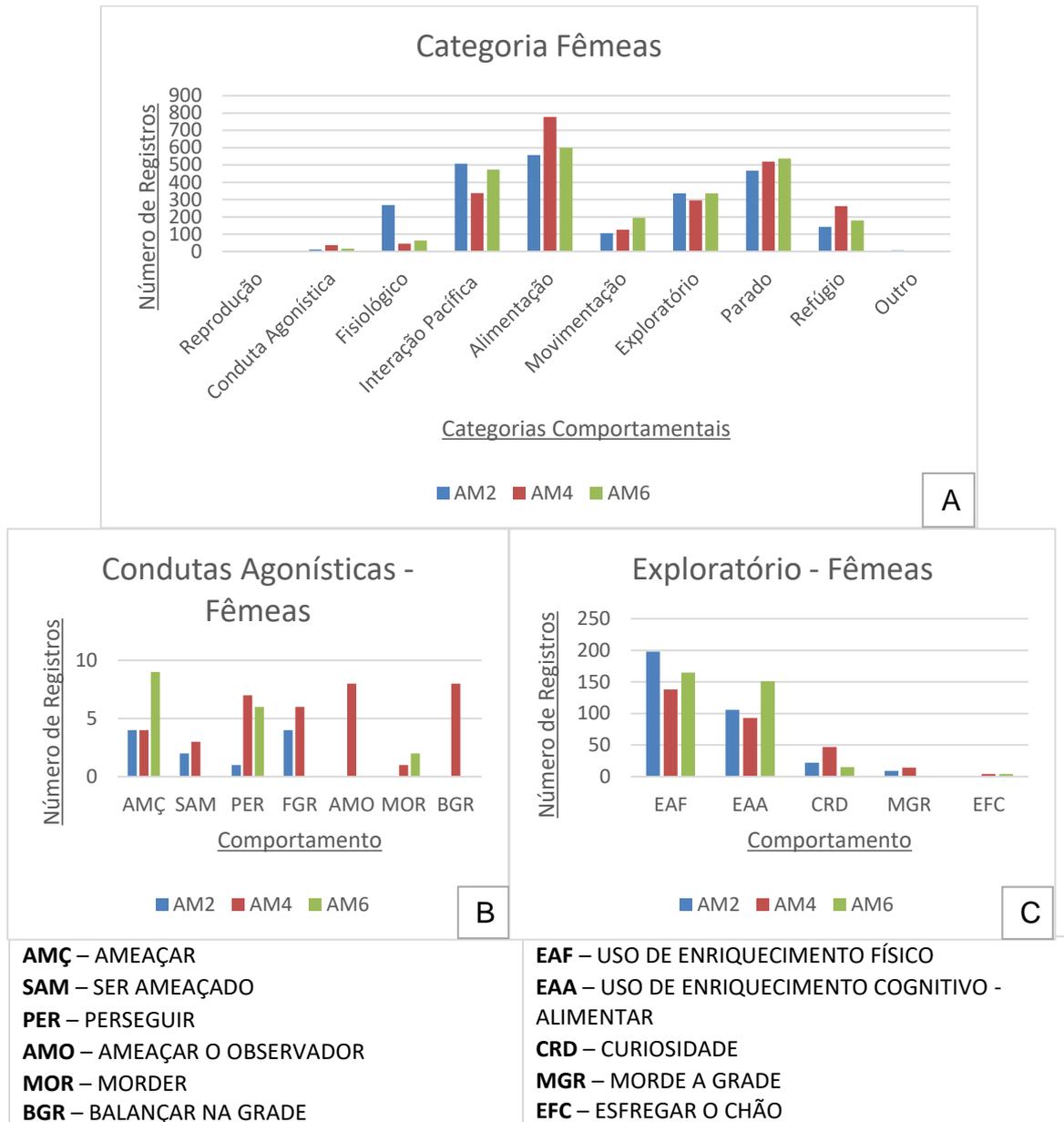
Fonte: Elaboração própria, adaptado de Baker, 2012; Motta e Reis 2009; Oliveira, 2016; Hage *et al.* 2014.

6.2 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Com base no etograma elaborado, foram registrados os eventos comportamentais em 10 horas de observação para cada indivíduo, totalizando 60 horas para os seis animais. Todas as observações foram registradas em planilha elaborada para as anotações (APÊNDICE A). O gráfico a seguir ilustra os resultados obtidos em cada categoria comportamental com registros realizados para as três fêmeas observadas (Figura 10).

Dentre as fêmeas, AM2 e AM6 apresentaram maior frequência de interações pacíficas e comportamentos exploratórios, provavelmente devido ao fato de a AM6 ser o animal dominante do grupo, aceitando na maioria dos momentos a presença da AM2 durante as interações, sendo ambas selecionadas para execução do TRP. AM6 foi considerada dominante, pois ameaçava os demais membros do grupo e tinha maior acesso aos recursos ofertados. Já AM4, subordinada, apresentou maior repertório de comportamentos considerados agonísticos.

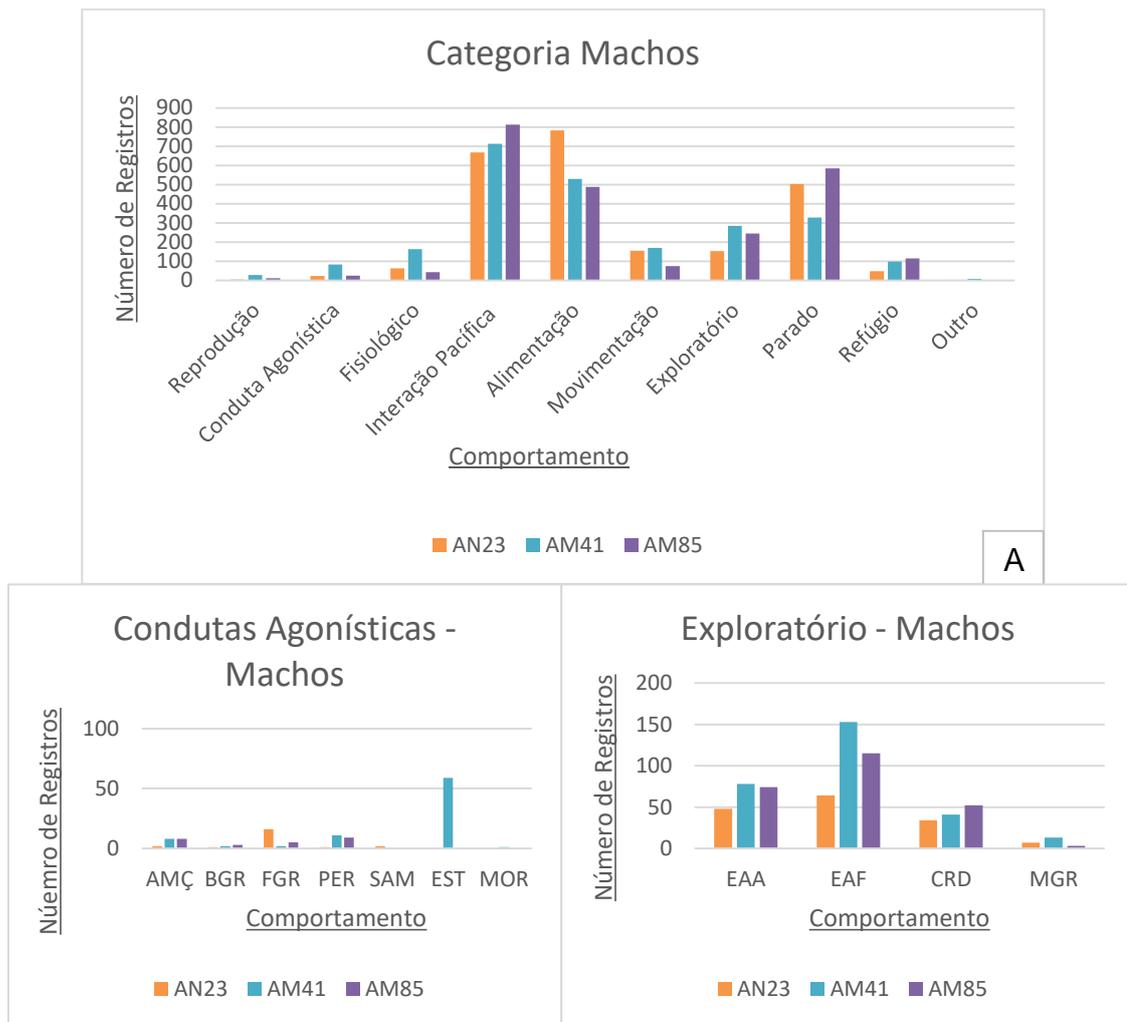
Figura 10 - Gráficos de avaliação comportamental de *Macaca mulatta* fêmea: A) categorias gerais; B) condutas agonísticas; C) comportamento exploratório.



Entre os machos, AM41 e AM85 apresentaram maior frequência de interações pacíficas e comportamentos exploratórios. De todos os animais observados, o AM41 foi o único que expressou comportamentos de estereotípias (Figura 11). Dentre os três machos com comportamento avaliado, o AN23 era o mais subordinado e AM41, o dominante do grupo, dominância observada através

das ameaças os demais membros do grupo e maior acesso aos recursos ofertados. Foi decidido, então, realizar o condicionamento dos machos AM41 e AM85.

Figura 11 - Gráficos de avaliação comportamental de *Macaca mulatta* machos: A) categorias gerais; B) condutas agonísticas; C) comportamento exploratório.



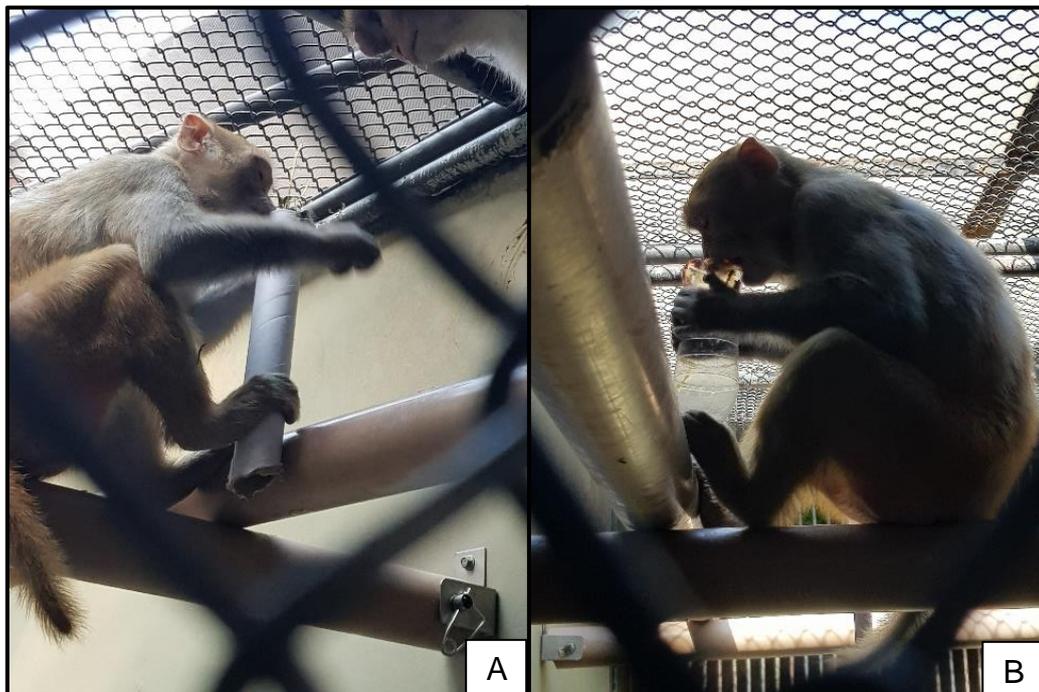
<p>AMÇ – AMEAÇAR BGR – BALANÇAR NA GRADE FGR - FUGIR PER – PERSEGUIR SAM – SER AMEAÇADO EST - ESTEREOTIPIA MOR – MORDER</p>	<p>EAA – USO DE ENRIQUECIMENTO COGNITIVO - ALIMENTAR EAF – USO DE ENRIQUECIMENTO FÍSICO CRD – CURIOSIDADE MGR – MORDE A GRADE</p>
--	--

Fonte: Elaboração própria

6.2.1 Desafios e soluções

Antes do início das sessões de condicionamento, ainda durante a fase de adaptação, percebeu-se que o fator dominância influenciaria em grande escala o acesso aos animais, visto que demonstravam intenso interesse em interagir com o treinador. Levando em consideração esse fator, todas as sessões de condicionamento iniciaram com os dominantes (AM6 e AM41) e ao final de sua sessão, recebiam EA como forma de distração, com o intuito de permitir o acesso dos outros animais (AM2 e AM85) à gaiola de condicionamento, ao treinador e às recompensas. Entre os EA utilizados, foram ofertadas garrafas plásticas com pequena quantidade de leite condensado e flores de hibiscos desidratadas, tubos de papelão com feno e uva passas (Figura 12). A ação funcionou com a fêmea dominante, AM6, que após receber o EA se distraía e permitia o acesso da AM2 à gaiola de condicionamento; porém, o mesmo não aconteceu com o macho dominante AM41, que perdia o interesse pelo EA muito rápido.

Figura 12 - *Macaca mulatta* fêmea manipulando artefato de enriquecimento ambiental. A) tubo de papelão; B) garrafa plástica.



Fonte: Arquivo pessoal.

Os machos não demonstraram estar confortáveis com a presença da gaiola de condicionamento, pois entravam e saíam muito rápido, mesmo recebendo recompensas dispostas no solo da gaiola. A alternativa utilizada para acessarem mais o interior da mesma foi prender frutas como acerola e uva na grade, dificultando um pouco o acesso a esses atrativos (Figura 13).

Figura 13 - *Macaca mulatta* macho, retirando com a boca uvas verdes presas na grade da gaiola de condicionamento.



Fonte: Arquivo pessoal.

Esta alternativa, entretanto, não foi satisfatória, pois o animal retirava as uvas presas e saía da gaiola de condicionamento, ficando no máximo parado na porta de acesso, observando o treinador (Figura 14).

Figura 14 - *Macaca mulatta* machos, parados na porta de acesso à gaiola de condicionamento.



Fonte: Arquivo pessoal.

Percebeu-se que os animais perdiam interesse pela mesma recompensa ofertada constantemente, sendo necessário variar com frequência os itens, alternado entre cereais, uva passas, uvas verdes e acerolas. Foram oferecidas também recompensas mais interessantes para estímulos mais fortes, como damascos e tâmaras desidratados. Com as preferências alimentares conhecidas, o reforço pôde variar de forma que os itens preferidos foram utilizados para comportamentos mais exigentes ou novos, enquanto itens moderadamente preferidos foram usados para comportamentos menos exigentes (REHRIG *et al.*, 2018).

6.3 CONDICIONAMENTO

As ações condicionadas foram consideradas aprendidas quando se tornaram confiáveis e executáveis em três sessões de treinamento consecutivas. Os animais dominantes, AM6 e AM41, no geral tiveram melhor desempenho nas sessões de condicionamento (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de sessões necessárias para condicionamento dos animais da espécie *Macaca mulatta* no criadouro científico da Fiocruz, RJ.

Nº TENTATIVAS					
Animal	Sexo	Líquido em Seringa	Aferição de Temperatura	Coleta de Urina	Injeção Intramuscular
AM2	Fêmea	6	6	25**	-
AM6*	Fêmea	6	10	9	10
AM41*	Macho	5	4	-	19
AM85	Macho	7	4	-	-

Fonte: Elaboração própria.

*Animais dominantes no seu grupo social.

**Não urinou no local correto.

6.3.1 Acesso à gaiola de condicionamento

A gaiola de condicionamento adaptada, confeccionada pela equipe da oficina do SCPrim-ICTB, foi eficaz para condicionar dois dos quatro animais selecionados neste estudo. Devido à dificuldade de acesso e permanência dos machos AM41 e AM85 na gaiola, mesmo após 55 sessões de tentativa, os mesmos foram condicionados dentro do próprio recinto, sendo a gaiola excluída de suas sessões (APÊNDICE B). As ações condicionadas desses indivíduos foram de acordo com o que se tornou possível pela grade do recinto.

Ao contrário do comportamento dos machos, as fêmeas AM2 e AM6 demonstraram muito interesse em permanecer no interior da gaiola de condicionamento, facilitando o acesso às mesmas e permitindo que mais ações pudessem ser treinadas. Após três dias de adaptação com as fêmeas, com um tempo de 30 minutos de acesso livre à gaiola, a fêmea AM6 foi isolada momentaneamente do grupo, ao passo que a AM2 foi isolada no 15º dia de treino. O isolamento do animal foi feito, fechando-se a porta de acesso, sendo esta travada. A ação iniciou em um minuto de isolamento e não ultrapassou três minutos, durante todo o tempo os animais receberam recompensas alimentares e foram liberados quando se sentiam incomodados com a situação.

No 13º dia de treino, mesmo após a porta de acesso da gaiola ao recinto ser aberta, a AM6 permaneceu na gaiola de condicionamento, demonstrando estar

confortável com a situação. A AM2 apresentou o mesmo comportamento na 15ª sessão de condicionamento de acesso à gaiola (APÊNDICE C).

6.3.2 Ingestão de líquidos em seringa

A fim de facilitar a ingestão de medicamentos orais e de que o animal receba a oferta de forma espontânea, a ingestão de líquidos foi realizada, sendo necessárias, em média, seis tentativas para que os animais aceitassem beber tranquilamente os sucos ofertados em seringas de 20 ml (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de sessões de condicionamento dos animais da espécie *Macaca mulatta* até ingestão de líquidos em seringa (20 ml) e aferição de temperatura, em criadouro científico da Fiocruz, RJ.

Nº SESSÕES			
Animal	Sexo	Líquido em Seringa	Aferição de Temperatura
AM2	fêmea	6	6
AM6	fêmea	6	10
AM41	macho	5	4
AM85	macho	7	4
Média		6	5

Fonte: Elaboração própria.

Os machos foram condicionados pela grade do recinto e as fêmeas através da grade da gaiola de condicionamento, sem nenhuma restrição física, já que os animais se adaptaram rapidamente a esse procedimento (Figura 15).

Figura 15 - *Macaca mulatta*, aceitando a ingestão de líquido através de uso de seringa (20 ml): A) fêmea na gaiola de condicionamento; B) macho no próprio recinto.



6.3.3 Aferição de temperatura

Para o condicionamento de aferição de temperatura via termômetro digital infravermelho de testa, a média necessária foi de cinco tentativas para que os animais permitissem tranquilamente a aferição com o aparelho ligado (Tabela 2)

Assim, como nos treinos de ingestão de líquidos em seringa, os machos foram condicionados através da grade do recinto e as fêmeas pela grade da gaiola de condicionamento. Portanto, nenhuma restrição física foi necessária (Figura 16).

Figura 16 - *Macaca mulatta* macho, sendo condicionado para aferição de temperatura dentro do próprio recinto.

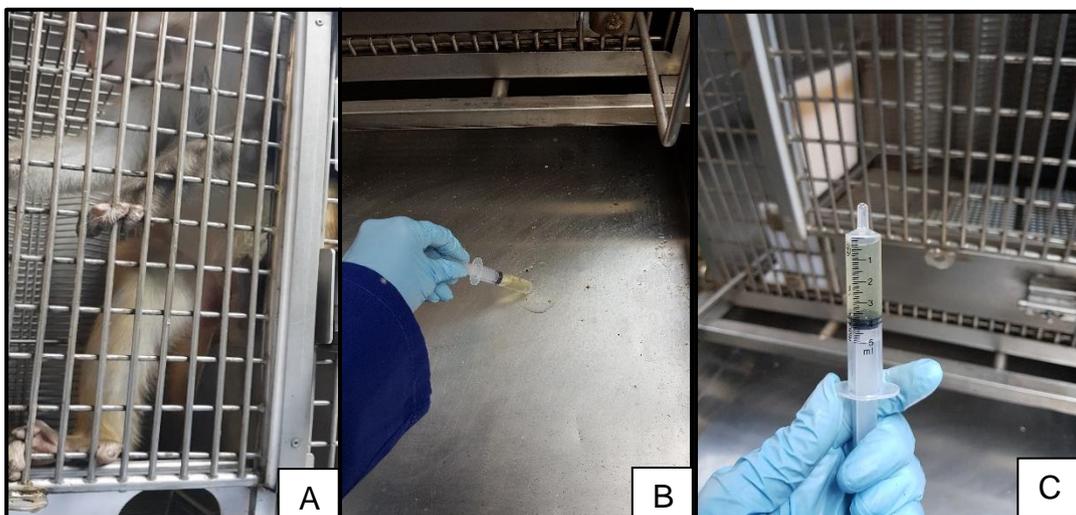


Fonte: Arquivo pessoal.

6.3.4 Coleta de urina

A fêmea AM6, após nove dias de treino, estava urinando no local correto e com o comportamento confiável e executável, durante 25 sessões de treino levou no mínimo três e no máximo 12 minutos para urinar (Figura 17). Já AM2, mesmo após 25 sessões de treino, continuou a urinar sentada no solo da gaiola, demorando de quatro a 14 minutos para urinar (Tabela 3).

Figura 17 - *Macaca mulatta* fêmea em coleta de urina: A) urinando na posição correta; B) urina sendo coletada diretamente da bandeja; C) urina coletada na seringa.



Fonte: Arquivo pessoal.

Tabela 3 - Tempo que cada *Macaca mulatta* fêmea demorou até a micção por sessão de condicionamento.

SESSÃO	AM6 (minutos)	LOCAL CORRETO	AM2 (minutos)	LOCAL CORRETO
1	10	Não	Sem micção	
2	11	Não	7	Não
3	11	Não	Sem micção	
4	10	Não	Sem micção	
5	Sem micção		13	Não
6	9	Não	Sem micção	
7	6	Sim	Sem micção	
8	11	Sim	Sem micção	
9	7	Sim	Sem micção	
10	9	Sim	10	Não
11	4	Sim	Sem micção	
12	1	Sim	8	Não
13	8	Sim	14	Não
14	9	Sim	Sem micção	
15	3	Sim	Sem micção	
16	4	Sim	4	Não
17	5	Sim	Sem micção	
18	6	Sim	Sem micção	
19	12	Não	Sem micção	
20	8	Sim	7	Não
21	6	Sim	9	Não
22	4	Sim	Sem micção	
23	4	Sim	6	Não
24	7	Sim	8	Não
25	4	Sim	5	Não

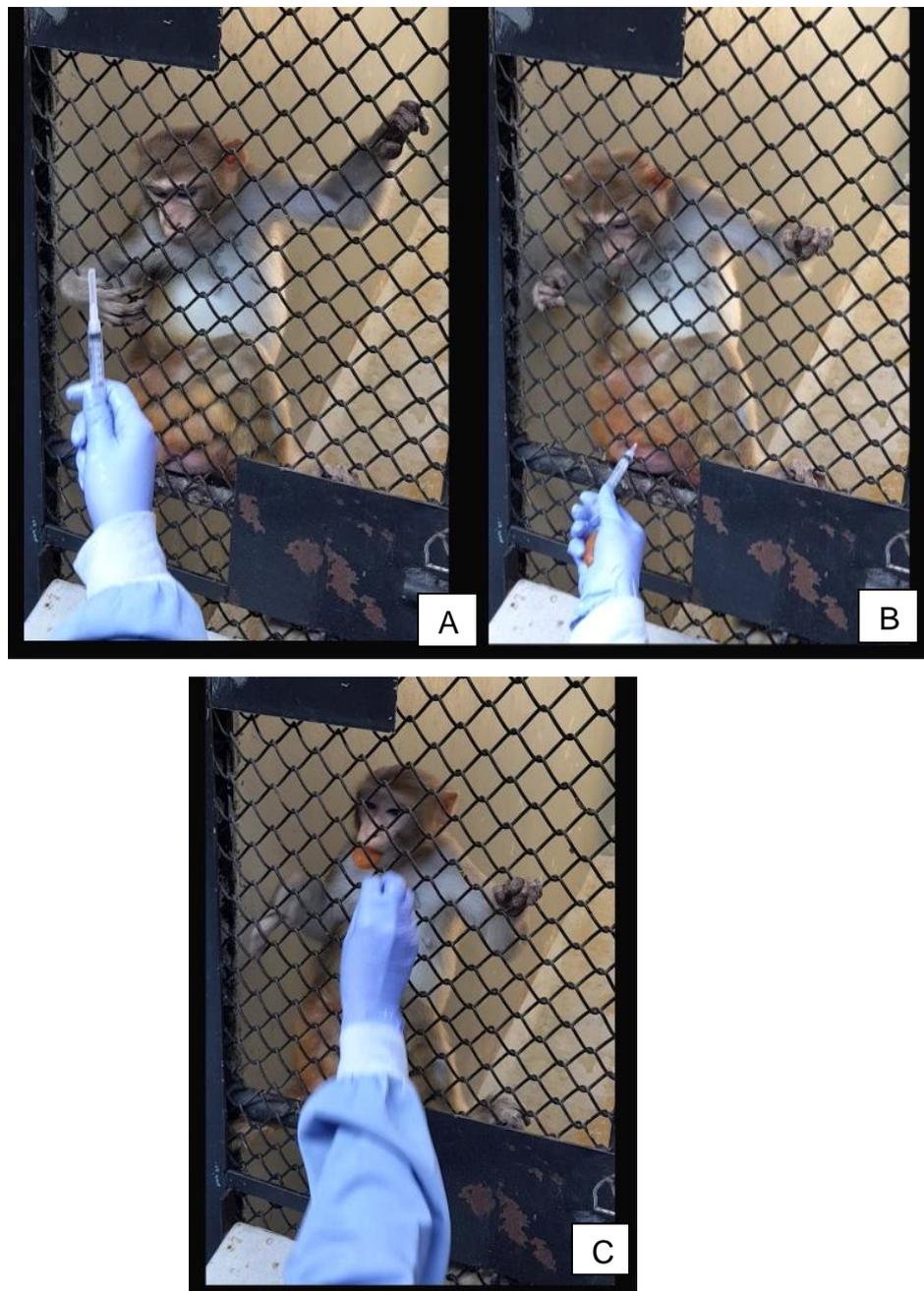
Fonte: Elaboração própria.

6.3.5 Injeção intramuscular

Percebeu-se que os animais costumavam apoiar-se em um determinado local da grade do recinto para observar e demonstrar interesse de interagir com o treinador. A posição, desta forma, foi reforçada para o mesmo permanecer e aceitar a injeção intramuscular.

Nenhuma restrição física foi necessária. Os indivíduos AM6 e AM41 foram dessensibilizados, aceitando a perfuração da agulha de forma confiável após 10 e 19 sessões de treinamento, respectivamente (Figura 18 e Quadro 5). O macho AM85 estava em processo de condicionamento e na 11ª sessão permitiu pequenos beliscões em sua coxa.

Figura 18 - Passos para condicionamento de injeção intramuscular em *Macaca mulatta* fêmea proveniente do criadouro científico da Fiocruz, RJ: A) treinador apresentado a seringa; B) animal aceitando a perfuração de agulha; C) animal recebendo recompensa após *clicker*.



Fonte: Arquivo pessoal.

Quadro 5 - Ação realizada em cada sessão de condicionamento para injeção intramuscular em *Macaca mulatta* macho e fêmea.

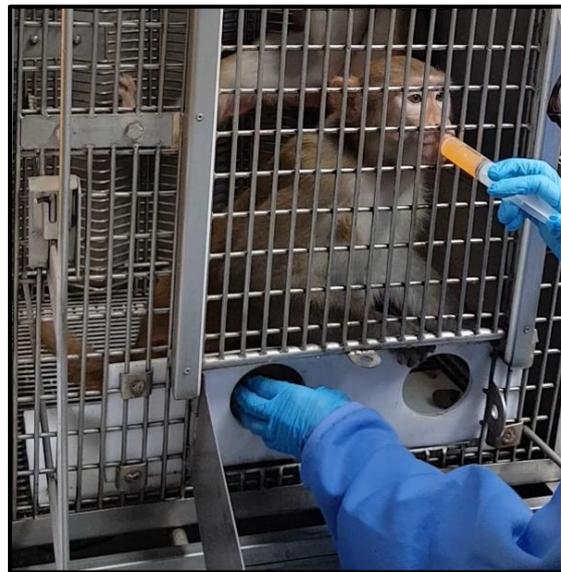
SESSÃO	AÇÃO CONDICIONADA		
	AM6 (fêmea)	AM41 (macho)	AM85 (macho)
1	Toque na coxa	Permanecer na posição	Permanecer na posição
2	Beliscão	Permanecer na posição	Toque na perna
3	Seringa com tampa	Toque na perna	Toque na perna
4	Agulha de insulina	Toque na perna	Toque na perna
5	Toque mais intenso	Toque na coxa	Toque na perna
6	Toque mais intenso	Toque na coxa	Toque na coxa
7	Agulha de insulina	Toque mais intenso	Toque na coxa
8	Agulha 24G	Toque mais intenso	Toque na coxa
9	Agulha 24G	Beliscão	Toque mais intenso
10	Agulha 24G	Beliscão	Toque mais intenso
11	Agulha 24G	Beliscão	Beliscão
12	Agulha 24G	Beliscão	---
13	Agulha 24G	Seringa com tampa	---
14	Agulha 24G	Toque mais intenso	---
15	Agulha 24G	Seringa com tampa	---
16	---	Agulha de insulina	---
17	---	Agulha 24G	---
18	---	Agulha 24G	---
19	---	Agulha 24G	---
20	---	Agulha 24G	---

Fonte: Elaboração própria.

6.3.6 Coleta de sangue por venopunção

A fêmea AM6 foi estimulada a sentar-se posicionada no local da coleta de sangue dentro da gaiola de condicionamento e com nove sessões de treino, permitiu ao treinador além de tocar, acariciar sua perna durante alguns segundos, enquanto suco em seringa era fornecido como estímulo para se manter na posição (Figura 19 e Quadro 6).

Figura 19 - *Macaca mulatta* fêmea na gaiola de condicionamento, permitindo que sua perna seja acariciada.



Fonte: Arquivo pessoal.

Quadro 6 - Ação executada em cada sessão de condicionamento para coleta de sangue na fêmea AM6.

SESSÃO	Ação
1	Sentar-se no solo da gaiola.
2	Sentar-se no solo da gaiola.
3	Sentar-se no solo da gaiola.
4	Permitiu toque na perna.
5	Permitiu toque na perna.
6	Permitiu toque na perna.
7	Permitiu toque na perna.
8	Permitiu toque na perna.
9	Permitiu acariciar sua perna.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.7 Programa de Condicionamento Animal (PCA)

O documento “PCA 2020”, fornece uma base eficiente para o desenvolvendo de trabalhos com condicionamento animal, com ênfase na técnica de reforço positivo, garantindo, assim, projetos mais seguros, bem como promovendo o bem-estar animal, sem que haja alterações nos resultados experimentais.

O PCA em formato PDF pode ser acessado publicamente através de link (<https://drive.google.com/file/d/1zQgwyTPj9AM6a8qdjAiCAe2vZnS0v19e/view?usp=sharing>) ou leitura de código QR com auxílio de câmera de celular (Figura 20).

Figura 20 - Código QR gerado que ao ser escaneado pela câmera do celular possibilita acesso ao Programa de Condicionamento Animal.



Fonte: Elaboração própria.

6.3.8 Ingestão de medicamento por via oral em animais de experimentação

O experimento supracitado necessitava que oito animais ingerissem doses da substância em teste, que foi aumentando gradativamente no decorrer das semanas. A primeira dose os animais consumiram sem problemas, estando mascarada em pedaços de banana. Com o aumento das doses, alguns animais passaram a sentir o sabor da substância e apresentaram dificuldades na ingestão.

Em alguns casos o animal macerava a fruta com a substância no chão da gaiola antes de comer, chegando a demorar horas para consumir. Com a introdução da técnica de condicionamento, os animais receberam as doses do medicamento fracionadas em seringas de 20 ml com sucos, sendo a técnica bem aceita pela maioria deles, o que garantiu que a substância analisada tenha sido consumida completamente pelos animais (Figura 21). O condicionamento foi introduzido por um treinador primário e eventualmente mantido por um treinador secundário.

Figura 21 - *Macaca mulatta* macho em experimentação proveniente do criadouro científico da Fiocruz, RJ: A) macerando a fruta com substância a ser testada; B) ingerindo a substância a ser testada, diluída em suco e fornecida em seringa.



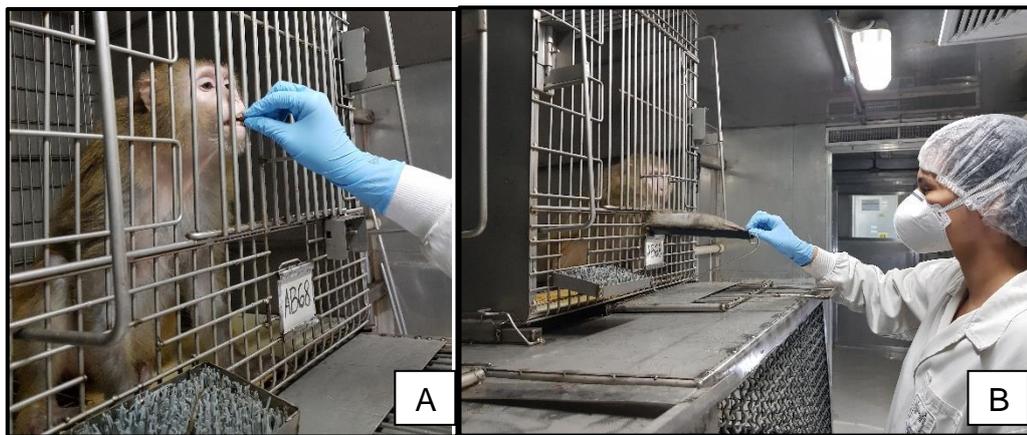
Fonte: Arquivo pessoal.

6.3.9 Tentativa de coleta sangue em animais de experimentação

Duas fêmeas adultas procedentes do biotério de experimentação do ICTB foram condicionadas para tentativa de coleta de sangue via veia cefálica. A equipe da oficina do SCPPrim desenvolveu um suporte para ser acoplado à grade do recinto individual, a fim de servir como apoio e facilitar o acesso ao braço do animal. Os animais não haviam tido nenhum contato com o treinador primário e a aproximação contou com ajuda de um treinador secundário ao qual os animais já estavam

adaptados. Após 38 sessões de condicionamento os animais precisaram ser transferidos para colônia-sede e as sessões foram suspensas para continuarem quando estes estiverem adaptados ao novo ambiente. As sessões realizadas permitiram adaptar os animais ao treinador e dessensibilizar os mesmos para colocarem o braço do suporte de coleta (Figura 22).

Figura 22 - *Macaca mulatta* em coleta de sangue: A) fase de adaptação ao treinador; B) animal dessensibilizado para colocar o braço em suporte de coleta de sangue.



Fonte: Arquivo pessoal.

6.4 FIM DAS SESSÕES DE TREINAMENTO

Em função do cenário da pandemia de COVID19 no Rio de Janeiro, houve a necessidade de encerrar as sessões antes do programado, mantendo apenas os serviços essenciais relacionados com o manejo dos animais da criação, dispondo de uma equipe reduzida. Tal situação prejudicou a conclusão do trabalho que vinha sendo realizado.

7 DISCUSSÃO

Segundo Fernström *et al.* (2009), o treinamento diário de macaco rhesus é mais propício ao sucesso do que o treinamento de três vezes na semana. Em sua pesquisa, não foram observados resultados satisfatórios com o treinamento duas vezes por dia.

De acordo com Coleman (2012), PNH com características temperamentais particulares, como indivíduos tímidos, inibidos ou altamente sensíveis ao estresse, podem não obter os mesmos benefícios em comparação com indivíduos mais exploradores. Tornando imprescindível despende mais tempo com os animais considerados mais assustados, dobrando os cuidados com animais com esta característica para que gradualmente se acostumem com o treinador. A ideia não é disciplinar ou dominar o indivíduo, mas sim motivá-lo a cooperar, reduzindo ou eliminando a necessidade de punição (KILEY-WORTHINGTON, 1990). Um animal submisso ou com medo não compreende os comandos do treinador, tentando fugir do mesmo (BAUMANS *et al.*, 2007).

Veeder *et al.* (2009) em trabalho realizado com *Cercocebus atys atys* relataram que, embora um programa com reforço positivo possa ser eficaz no treinamento de PNH, outros fatores, como a estrutura social e conflitos entre os indivíduos do grupo, precisam ser avaliados cuidadosamente, na tentativa de garantir o sucesso do programa de treinamento. O grau de dominância influenciou a capacidade de resposta às tarefas de treinamento. Assim como Wergård *et al.* (2016) relatam que indivíduos de *Macaca fascicularis* com grau de dominância mais baixa levam mais tempo para serem treinados.

Alguns macacos rhesus podem exigir apenas uma ou duas sessões de treinamento, enquanto outros podem requerer muitas sessões ou até mesmo nunca executarem o comportamento (SCHAPIRO; BLOOMSMITH; LAULE, 2003). Mesmo após 55 sessões, não foi possível condicionar os macacos rhesus machos a entrar e permanecer na gaiola de condicionamento, enquanto as fêmeas se interessaram desde o primeiro dia e, assim, permaneceram até o final deste estudo de condicionamento. Embora o treinamento de reforço positivo seja geralmente considerado para melhorar o bem-estar, há muita variação entre os indivíduos em relação ao treinamento. Alguns são relativamente fáceis de treinar e aprendem tarefas rapidamente, enquanto outros são relativamente difíceis de trabalhar e não

parecem treináveis (COLEMAN, 2012). A referida assertiva foi confirmada nesta análise mediante o surgimento de diferentes dificuldades referentes às características particulares de temperamentos de cada animal.

Um macaco rhesus que é facilmente distraído pode exigir sessões de treinamento mais curtas e frequentes, do que um mais focado (COLEMAN *et al.*, 2008). Isto pode justificar a diferença encontrada no número de sessões necessárias entre os indivíduos para a mesma ação condicionada. Vários autores sugerem que as diferentes personalidades devem ser levadas em consideração (VEEDER *et al.*, 2009; HERRELKO; VICK; BUCHANAN-SMITH, 2012). Os treinadores observaram que para PNH inibidos, o treinamento pode não ter proporcionado os mesmos benefícios psicológicos de bem-estar oferecidos a outros indivíduos mais exploradores. O treinamento pode até mesmo aumentar o estresse para esses animais, havendo a necessidade de se focar, principalmente, na dessensibilização desses animais (COLEMAN, 2012).

Macacos rhesus que receberam medicação oral por meio de gavagem ou contidos para manter a cabeça imóvel e a boca aberta, mostraram não estarem confortáveis com o procedimento, mesmo após 15 dias de treino sem sedação (ZHANG *et al.*, 2012). Já neste estudo, como explicitado nos resultados aqui apresentados, os animais se demonstraram bastante confortáveis ao receber medicação em sucos ofertados em seringa via oral. Da mesma forma, Baumans *et al.* (2007) utilizaram a técnica de administração oral para estudos farmacocinéticos em *Chlorocebus pygerythrus* com sucesso nos resultados, incluindo misturas amargas de ervas em concentrações razoavelmente altas.

Semelhante ao sucesso obtido neste projeto, outros autores treinaram macaco verde africano (KELLEY; BRAMBLETT, 1981) e chimpanzé (BLOOMSMITH *et al.*, 2015) para a coleta de urina, embora outras abordagens tenham sido utilizadas.

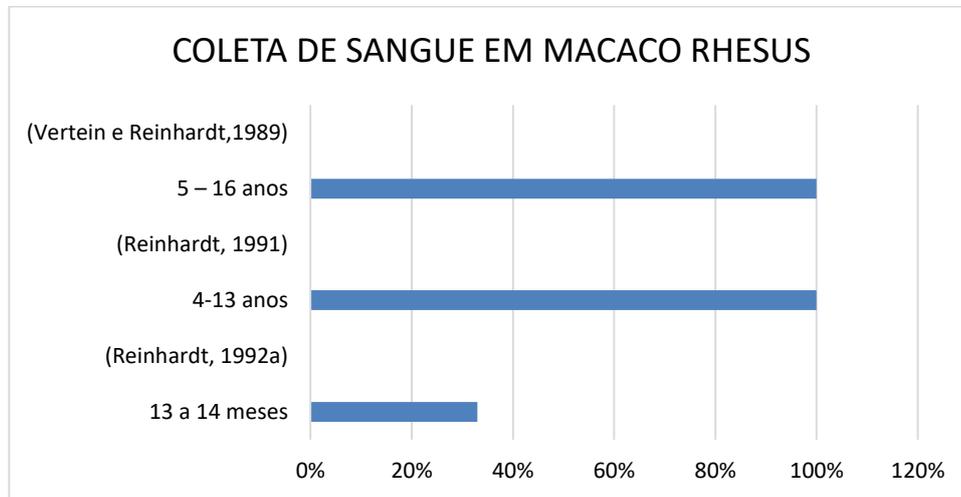
Assim como evidenciado nos resultados alcançados, o protocolo de treinamento para macacos rhesus em grupo, elaborado por Kemp *et al.* (2017), fêmeas dominantes demandaram menos tempo de treino do que fêmeas subordinadas. Segundo Herrelko *et al.* (2012) em comparação aos machos, fêmeas obtiveram maior resposta e estiveram presentes com maior frequência nas sessões, incluindo aquelas que participaram ativamente e aquelas que observaram outras participantes.

Talvez a mudança de ambiente do biotério de experimentação para a colônia-sede tenha sido um fator relevante nas tentativas de coleta de sangue das fêmeas em experimentação. Segundo Capitano, Kyes e Fairbacks (2006), quando as interferências realizadas nos animais envolvem mudança de ambiente entre outras alterações, um período de até três meses deve decorrer antes do início da coleta de dados relacionados ao protocolo experimental, visando mitigar os impactos nos resultados do experimento.

Schapiro, Bloomsmith e Laule (2003) treinaram 30 macacos rhesus para ficar à frente da gaiola. Entre eles, o animal mais rápido levou apenas 25 minutos para atender ao comando, enquanto o mais lento demorou mais de 16 horas e três animais nunca atenderam ao comando.

Reinhardt (1992a) treinou macaco rhesus juvenis e foi bem-sucedido em apenas 33% dos casos. Já uma taxa de sucesso de 100% foi relatada por Reinhardt (1991), em trabalho realizado com macacos rhesus adultos que viviam em pares ou sozinhos, com média de idade de oito anos, estes animais inicialmente foram colocados em gaiolas com dispositivo do tipo *squeeze*, e posteriormente condicionados para permitirem a retirada de suas pernas para fora da gaiola, após contenção física. Vertein e Reinhardt (1989) condicionaram oito fêmeas de rhesus adultas nas idades entre cinco e dezesseis anos, vivendo em gaiolas duplas, sem apresentarem resistência (Figura 23). Os protocolos utilizados nos trabalhos citados foram distintos no que se refere ao desenvolvimento do presente projeto, diferindo na faixa etária, alojamento e quantidade de animais, talvez motivo pelo qual o sucesso divergiu no resultado obtido.

Figura 23 - Gráfico com taxa de sucesso por idade para macaco rhesus condicionados para coleta de sangue em gaiolas individuais ou duplas (VERTEIN; REINHARDT, 1989; REINHARDT, 1991, 1992a).



Fonte: Elaboração própria.

Para elaboração do presente projeto não foi possível utilizar a técnica de contenção física prévia, visto que os animais disponíveis viviam em recinto coletivos, fato que ocasionava inevitáveis eventos estressantes na gaiola de condicionamento, pois ficavam assustados, com medo de acessar a mesma. Na maioria dos relatos publicados sobre punção venosa em macacos do gênero *Macaca*, foi aplicado algum tipo de restrição (BUNYAK *et al.*, 1982; REINHARDT *et al.*, 1990). Neste caso, os animais jovens, diferentemente dos adultos, provavelmente expressaram maior dificuldade em dominar seu medo natural, tendo sua capacidade de aprendizado inibida (REINHARDT, 1992a). Fêmeas de macacos rhesus treinadas para punção venosa dentro de sua gaiola de moradia sofreram menos estresse do que aquelas condicionadas que precisavam sair de sua gaiola para outra de transporte para então entrar em aparelho de retenção (REINHARDT *et al.*, 1990).

Segundo Coleman *et al.* (2008) o condicionamento envolve um investimento inicial substancial de tempo, entre quatro a oito meses para treinar o macaco rhesus para coleta de sangue, demorando menos tempo com animais treinados do que com animais não treinados. Talvez dando continuidade ao condicionamento do animal AM6, a coleta de sangue se torne possível.

O treino com reforço positivo é um programa que deve ser implantado por motivos de bem-estar animal, classificação positiva do centro de pesquisa e

validação pelos comitês nacionais e internacionais de saúde animal. Para a realização da certificação de bem-estar animal emitido, há um processo de verificação e avaliação criteriosa de parâmetros, procedimentos e formulário em BEA, ao qual a instituição deve estar adequada. Estas certificações colaboram não apenas diretamente para a melhoria da qualidade de vida dos animais, mas também ajudam a viabilizar as pesquisas que são desenvolvidas nestes ambientes, por apresentarem documentos que comprovem o respeito e o empenho institucional com questões relacionadas à saúde dos animais sob seus cuidados.

Os procedimentos que envolvem a implantação do TRP devem ser amplos e fazer parte de um programa institucional de BEA, já que apresentam diferentes níveis, por exigirem recursos financeiros, pessoas com aptidões e habilidades específicas, tempo de treinamento de funcionários, antes e concomitante ao treinamento dos animais. Sendo que para se tornar um bom treinador são necessárias características como dedicação, muita paciência, experiência e perseverança.

É importante levar em consideração que os treinamentos devem ser especializados, incluindo a mudança de mentalidade institucional, especialmente de todos os funcionários que trabalham diretamente com os PNH. A dificuldade em capacitar profissionais para integrar uma equipe direcionada ao PCA foi decorrente da falta de maior disponibilidade de tempo para atuar na área. Esse tipo mudança exige tempo, habilidade, recursos e esforços conjuntos de vários níveis de uma organização para que seja bem-sucedido. Então, enquanto o conceito fundamental do TRP for simples, implementar um programa de treinamento totalmente funcional certamente não é tarefa fácil (BLOOMSMITH, 2012).

Por fim, ressalte-se que em consonância com o princípio dos 3Rs, o condicionamento gera ações de refinamento das técnicas utilizadas em PNH de laboratório, proporcionando qualidade de vida aos animais envolvidos, com benefícios inestimáveis à pesquisa biomédica.

Para que os resultados obtidos possam ser apresentados como padrão, haveria necessidade de um número maior de animais e de tempo, entretanto, os resultados associados as informações de literatura mostram às vantagens e que isso é totalmente possível, realizável e vantajoso tanto para os animais, quanto para as pesquisas.

8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho, nas condições em que foi desenvolvido, permitiram alcançar as seguintes conclusões:

- Animais mais favoráveis para a técnica de condicionamento apresentam maior frequência de categorias exploratórias, interações pacíficas e reduzidas condutas agonísticas.
- As fêmeas de *Macaca mulatta* apresentam maior cooperação ao condicionamento operante quando comparadas aos machos.
- Animais com perfil de dominância elevado podem receber sessões de TRP sem a necessidade de conduzi-los à uma gaiola individual, uma vez que os submissos não interferem nas sessões.
- Macacos rhesus jovens (entre 4 e 5 anos de idade) são passíveis de condicionamento para ingestão de líquidos e aferição da temperatura após cinco a seis sessões em média.
- A partir da adoção do TRP, os animais aceitam a perfuração de agulha para injeção intramuscular sem necessidade de restrição física.
- Existe uma nítida necessidade de se aprofundar e desenvolver mais estudos sobre a técnica de TRP, com o desenvolvimento de cursos de treinamento voltados para esta abordagem.
- Considerando o fator custo-benefício entre o investimento inicial do PCA e o tempo de treinamento, as técnicas de condicionamento são fortemente indicadas na rotina do criadouro científico aqui estudado. Tal assertiva se baseia na notória redução do estresse dos animais, demonstrada pela tranquilidade que expressaram mediante os estímulos.

9 PERSPECTIVAS

O PCA apresentado na presente dissertação representa os primeiros passos da implantação desta incalculável ferramenta de BEA, com a demonstração dos benefícios comprovados pela aplicação do TRP em todas as suas etapas e da viabilidade de sua execução. Certamente, mediante a primeira experiência vivenciada e considerando as peculiaridades do criadouro científico de PNH analisado, existem aprimoramentos a serem trabalhados, sobretudo na perspectiva de adequá-lo a todas as espécies símias do plantel e de torná-lo um processo contínuo.

Os resultados obtidos a partir dos animais condicionados certamente denotam potenciais reprodutibilidades nas pesquisas em prol da saúde pública, servindo como embasamento técnico para a sua aplicação em outras instituições que utilizam PNH destinados a pesquisas, utilizando como base o PCA elaborado.

Para tanto, almeja-se aumentar a disponibilidade de profissionais atuando na área de BEA e que todas as pessoas envolvidas na rotina diária do criadouro científico possam ser conscientizadas em relação à sua influência na qualidade de vida dos animais. Assim, alinhados com o Núcleo de Bem-Estar Animal do ICTB-Fiocruz, pretende-se expressar a necessidade desta demanda, incentivando capacitação técnica e que sejam identificados potenciais candidatos a serem incorporados numa equipe atuante neste campo específico.

Adicionalmente, tendo em vista que tal atividade deve estar atrelada a análises periódicas de sua eficácia no que diz respeito aos agentes estressores que podem estar relacionados às técnicas do PCA, a mensuração hormonal não invasiva de alguns componentes neuroendócrinos presentes em amostras biológicas (ex: saliva, fezes), consiste em uma opção ideal de avaliação que deve ser incluída para a certificação periódica do sucesso ou fracasso do programa em questão. Neste sentido, a crescente busca por parcerias institucionais pode gerar estudos mais aprofundados em áreas de conhecimentos que se complementam, auxiliando nestas análises e ampliando caminhos científicos para futuros trabalhos de colaboração, incluindo a publicação de teses e artigos científicos. Tais trabalhos podem resultar na criação de uma grande linha de pesquisa promissora, com elaboração de cursos e geração de pesquisas específicas multidisciplinares.

Finalizando, externa-se a esperança de que este trabalho possa cumprir a sua missão e os seus objetivos, vindo a tornar um guia de orientação e consulta para diferentes profissionais que atuam com manejo de PNH. A implementação da técnica de condicionamento como rotina na instituição, indubitavelmente auxiliará na promoção do bem-estar tanto dos animais como das pessoas envolvidas na rotina diária da criação e da experimentação animal.

REFERÊNCIAS

- ALÓ, R. M. História de reforçamento. *In*: Abreu-Rodrigues, J.; M. R. Ribeiro. **Análise do comportamento: pesquisa, teoria e aplicação**. Porto Alegre: Artmed, 2007. Cap. 3, p. 45-62. Disponível em: https://www.academia.edu/37086120/Rodrigues_J._A._Ribeiro_M._R._2007_.An%C3%A1lise_do_Comportamento_Pesquisa_Teoria_e_Aplica%C3%A7%C3%A3o?email_work_card=view-paper. Acesso em: 28 fev. 2020.
- ALTMANN, J. Observational study of behavior: Sampling methods. **Behaviour**. [S.l.], v. 49, p. 227–266, 1974. Disponível em: https://brill.com/abstract/journals/beh/49/3-4/article-p227_3.xml. Acesso em: 29 mar. 2019.
- ALVES, S. M. F. **Treino de Animais de zoo para procedimentos médicos**. 2015. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Ciências e Tecnologia, Évora: Universidade de Évora, 2015. Disponível em: <http://rdpc.uevora.pt/handle/10174/18011>. Acesso em: 31 jul. 2018.
- ANDRADE, M. C. R. Criação e manejo de primatas não-humanos. *In*: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. D. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. Cap. 19, p. 142-154.
- AZEVEDO, C. S.; CIPRESTE, C. F.; YOUNG, R. J. Cognição e Aprendizagem. *In*: DEL-CLARO, K.; PREZOTO, F.; SABINO, J. **As distintas faces do comportamento animal**. 2 ed. Campo Grande, MS. UNIDERP, 2008. Cap. 2.11. p. 383-402.
- BAKER, K. **Personality assessment of three species of captive monkey *Macaca nigra*, *Macaca sylvanus*, and *Saimiri sciureus*: Cross-species comparisons of personality and implications for captivemanagement**. University of Exeter. Doutorado em filosofia e psicologia. 2012. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/12826804.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2019.
- BALCOMBE, J. P.; BARNARD, N. D.; SANDUSKY, C. Laboratory routines cause animal stress. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**. [S.l.], v. 43, p. 42–51. 2004. Disponível em: <https://www.psychologytoday.com/files/attachments/41209/lab-routines-cause-animal-stresspdf.pdf>. Acesso em: 18 mai. 2020.
- BANTROP, R. E. Non-human primates: essential partners in biomedical research. **Immunological Reviews**, [S.l.], v. 183, p. 5-9, 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1034/j.1600-065x.2001.1830101.x>. Acesso em: 22 abr. 2019.
- BARTESAGHI, R.; SERRAI, A. Effects of early environment on granule cell morphology in the dentate gyrus of the guinea-pig. **Neuroscience**, [S.l.], v. 102, n. 1, p. 87-100. 2001.

BASSETT, L.; BUCHANAN-SMITH, H. M.; MCKINLEY, J.; SMITH, T. E. Effects of training on stress-related behavior of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) in relation to coping with routine husbandry procedures. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 221-233. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14612270-effects-of-training-on-stress-related-behavior-of-the-common-marmoset-callithrix-jacchus-in-relation-to-coping-with-routine-husbandry-procedures/>. Acesso em: 10 fev. 2020.

BAUMANS, V.; COKE, C.; GREEN, J.; MOREAU, E.; MORTON, D.; PATTERSON-KANE, E.; REINHARDT, A.; REINHARDT, V.; LOO, P.V. Making Lives Easier for Animals in Research Labs. **Animal Welfare Institute**, Washington, p. 117-124. 2007. Disponível em: https://www.parsemus.org/wp-content/uploads/2012/11/Making_Lives_Easier1.pdf. Acesso em: 23 jan. 2020.

BAYNE, K. Development of the human-research animal bond and its impact on animal well-being. **Institute for Laboratory Animal Research**, [S.l.], v. 43, n. 1, p. 4-9. 2002. Disponível em: <https://academic.oup.com/ilarjournal/article/43/1/4/846604>. Acesso em: 09 mar. 2020.

BEISNER, B. A.; JACKSON, M. E.; CAMERON, A.; MCCOWAN, B. Sex ratio, conflict dynamics, and wounding in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v.137, n.3-4, p. 137-147. 2012.

BENNETT, A. J.; DEPETRILLO, P. B. Differential effects of MK801 and lorazepam on heart rate variability in adolescent rhesus monkeys. **Journal Cardiovascular Pharmacology**, [S.l.], v. 45, p. 383–388, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15821432>. Acesso em: 27 mar. 2019.

BERENDIT, R. F. Relationship of Method of Administration to Respiratory Virulence of *Klebsiella pneumoniae* for Mice and Squirrel Monkeys. **Infection and Immunity**, [S.l.], v. 20, n. 2, p. 581-583, 1978. Disponível em: <https://iai.asm.org/content/iai/20/2/581.full.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2019.

BHAT, G. K.; PLANT, T. M.; MANN, D. R. Relationship between serum concentrations of leptin, soluble leptin receptor, testosterone and IGF-I, and growth during the first year of postnatal life in the male rhesus monkey, *Macaca mulatta*. **European Journal of Endocrinology**, [S.l.], v. 153, p. 153-158, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15994757>. Acesso em: 27 mar. 2019.

BICCA-MARQUES, J. C.; SILVA, V. M.; GOMES, D. F. Ordem Primates. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina. 2006. Disponível em: <http://www.uel.br/pos/biologicas/pages/arquivos/pdf/Livro-completo-Mamiferos-do-Brasil.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2020.

BLOOMSMITH, M. A. Positive Reinforcement Animal Training in Primate Laboratories. The Enrichment Record. **Yerkes National Primate Research**

Center, Atlanta, p. 16-19. 2012. Disponível em: <http://enrichmentrecord.com/wp-content/uploads/2012/10/positive-reinforcement.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BLOOMSMITH, M.; NEU, K.; FRANKLIN, A.; GRIFFIS, C.; MCMILLAN, J. Positive Reinforcement Methods to Train Chimpanzees to Cooperate with Urine Collection. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**. [S.l.], v. 54(1), p. 66–69, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4311744/>. Acesso em: 18 mai. 2020.

BOERE, V. Environmental enrichment for neotropical primates in captivity. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 543-551, 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000300031. Acesso em: 10 jun. 2019.

BOOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, [S.l.], v. 142, p. 524-526, 1986. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/sdfe/pdf/download/eid/1-s2.0-0007193586901090/first-page-pdf>. Acesso em: 21 fev. 2019.

BRAMBELL, R. F. W. Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals Kept Under Intensive Livestock Husbandry Systems. London: Her Majesty's Stationery Office, 1965, p.1–84.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Anexo à Resolução Normativa nº 28, de 13 de novembro de 2015. [Dispõe sobre primatas não humanos em instalações de ensino e pesquisa]. **Diário Oficial da União**: Seção I: Brasília, DF, p. 44, 16 nov. 2015. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. D.O.U. de 16/11/2015, Seção I, p 44. Brasília, 2015

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: Conceito e questões relacionadas - Revisão. **Arquivos of Veterinary Science**, [S.l.], v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/4057/3287>. Acesso em: 1 mai. 2019.

BRUNELLI, R. L.; GOTTLIEB, D.; HOLCOMB, K.; SHARPE, N.; TATUM, L.; MCCOWAN, B. Effects of positive reinforcement training on infant behavioral development in nursery-reared macaques (*Macaca mulatta*). **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 71, p. 71-74, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/313527982_Effects_of_positive_reinforcement_training_on_infant_behavioral_development_in_nursery-reared_macaques_Macaca_mulatta. Acesso em: 10 mai. 2019.

BRYANT, C. E.; RUPNIAK, N. M. J.; IVERSEN, S. D. Effects of different environment enrichment devices on cage stereotypes and auto aggression in captive *Cynomolgus* monkeys. **Journal of Medical Primatology**. [S.l.], v. 17, p. 257-269, 1988. Disponível em: <https://www.awionline.org/content/effects-different->

environmental-enrichment-devices-cage-stereotypies-and-autoaggression-capt. Acesso em: 03 mar. 2020.

BUNYAK, S. C.; HARVEY, N. C.; RHINE, R. J.; WILSON, M. I. Venipuncture and vaginal swabbing in a enclosure occupied by a mixed-sex group of stumptailed macaques (*Macaca arctoides*). **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 2, n. 2, p. 201-204, 1982. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31995904-venipuncture-and-vaginal-swabbing-in-an-enclosure-occupied-by-a-mixed-sex-group-of-stumptailed-macaques-macaca-arctoides/>. Acesso em: 7 ago. 2019.

CANNON, T. H.; HEISTERMANN, M.; HANKISON, S. J.; HOCKINGS, K. J.; MCLENNAN, M. R. Tailored enrichment strategies and stereotypic behavior in captive individually housed macaques (*Macaca spp.*). **Journal of Applied Animal Welfare Science**, [S.l.], v. 19, n. 2, p. 171–182, 2016. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10888705.2015.1126786>>. Acesso em: 29 mar. 2019.

CAPITANIO, J. P.; KYES, R. C.; FAIRBANKS, L. A. Considerations in the selection and conditioning of old world monkeys for laboratory research: animals from domestic sources. **Institute for Laboratory Animal Research**, [S.l.], v. 47, n. 4, p. 294–306. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16963810-considerations-in-the-selection-and-conditioning-of-old-world-monkeys-for-laboratory-research-animals-from-domestic-sources/>. Acesso em: 15 ago. 2019.

CARDOSO, C. V. P.; PRESGRAVE, O. A. F. Princípios éticos na experimentação animal. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FILHO, J. F. (orgs). **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 435-450, 2010.

CARLSTEAD, K. Effects of captivity on the behavior of wild mammals. In: KLEIMAN, D. G.; ALLEN, M. E.; THOMPSON, K. V.; LUMPKIN, S. **Wild Mammals in Captivity: Principles and Techniques**. Chicago. The University of Chicago Press, 1996. p. 315-376.

CATANIA, A. C. **Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição**; trad. SCHMIDT, A.; SOUZA, D. G.; CAPOVILHA, F. C.; ROSE, J. C. C.; REIS, M. J. D.; COSTA, A. A.; MACHADO, L. M. C. M.; GADOTTI, A. 4 ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. Disponível em: https://www.academia.edu/12286144/Aprendizagem_Comportamento_Linguagem_Cogni%C3%A7%C3%A3o_-_Anthony_Charles_Catania. Acesso em 20 fev. 2020.

CHAMANZA, R. Non-human primates: cynomolgus (*Macaca fascicularis*) and rhesus (*Macaca mulatta*) macaques and the common marmoset (*Callithrix jacchus*). In: MANN, E. F. M. editor. **Background Lesions in Laboratory Animals**, 2012. p. 1-15. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/284726778_Non-human_primates_cynomolgus_Macaca_fascicularis_and_rhesus_Macaca_mulatta>

_macaques_and_the_common_marmoset_Callithrix_jacchus>. Acesso em: 27 abril 2019.

CHAVES, A. S. Y. R.; ABIMUSSI, C. J. X. Contenção de Grandes Felinos - Revisão de Literatura. **Almanaque de Medicina Veterinária e Zootecnia**. [S.l.], v. 1, n.1, p.6-15, 2015. Disponível em: <http://www.fio.edu.br/revistamv/arquivos/v1/Vol.1%20N%C2%BA1%20-%20jan.jun.%202015.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2020.

CHONG, H; XUE, J; ZHU, Y; CONG, Z; CHEN, T; WEI, Q; QIN, C; HE, Y. Monotherapy with a low-dose lipopeptide HIV fusion inhibitor maintains long-term viral suppression in rhesus macaques. **PLoS Pathogens**, [S.l.], v. 15, n. 2, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30716118>. Acesso em: 1 mai. 2019.

CLARKE, S. A.; BOINSKI, S. Temperament in nonhuman primates. **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 37, p. 103-125. 1995. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajp.1350370205>. Acesso em: 9 mar. 2020.

CLAY, A. W.; BLOOMSMITH, M. A.; MARR, M. J.; MAPLE, T. J. Habituation and desensitization as methods for reducing fearful behavior in singly housed rhesus macaques. **American Journal of Primatology**. [S.l.], v. 71, p. 30-39, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajp.20622>. Acesso em: 31 jan. 2020.

COLEMAN, K. Individual differences in temperament and behavioral management practices for nonhuman primates. **Applied Animal Behavior Science**, [S.l.], v.137 n. 3-4, p. 106-113. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168159111002462>. Acesso em: 10 fev. 2020.

COLEMAN, K.; PRANGER, L.; MAIER, A.; LAMBETH, S. P.; PERLAN, J. E.; THIELE, E.; SCHAPIRO, S. Training Rhesus Macaques for Venipuncture Using Positive Reinforcement Techniques: A Comparison with Chimpanzees. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, [S.l.], v. 47, p. 37-41, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2652623/>. Acesso em: 2 abr. 2019.

COLEMAN, K.; TULLY, L. A.; MCMILLAN, J. L. Temperament correlates with training success in adult rhesus macaques. **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 65, n. 1, p. 63-71, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15645460>. Acesso em: 2 abr. 2019.

COSTA, M. J. R. P.; PINTO, A. A. Princípios de etologia aplicada ao bem-estar anima. In: DEL-CLARO, K.; PREZOTO, F.; SABINO, J. **As distintas faces do comportamento animal**. 2 ed. Campo Grande, MS. UNIDERP, 2008. Cap. 2.8. p. 341-356.

DANTZER, R. Behavioral physiological and functions aspects of stereotyped behavior: a review and reinterpretation. **Journal of Animal Science**, [S.l.], v. 62, n. 6, p. 1176-1786. 1986 Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/19635411_Behavioral_physiological_and_functional_aspects_of_stereotyped_behavior_a_review_and_a_re-interpretation. Acesso em: 09 mar. 2020.

DEANER, R. O.; KHERA, A. V.; PLATT, M. L. Monkeys pay per view: adaptive valuation of social images by rhesus macaques. **Current Biology**, [S.l.], v. 15, p. 543-548, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15797023>. Acesso em: 27 mar. 2019.

DEL-CLARO, K. **Comportamento animal** - Uma introdução à ecologia comportamental. Jundiaí: Livraria Conceito, 2004.

DEWAAL, F. B. M., LUTTRELL, L. M. The formal hierarchy of rhesus macaques: an investigation of the bared-teeth display. **American Journal of Primatology**. [S.l.], v. 9, p. 73–85, 1985. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajp.1350090202>. Acesso em: 07 fev. 2020.

DUKELOW, W. R.; DUKELOW, K. B. Reproductive and endocrinologic al measures of stress and nonstress in nonhuman primates. **American Journal of Primatology**. [S.l.], v. 1, p. 17-24. 1989. Disponível em: <https://psycnet.apa.org/record/1990-21683-001>. Acesso em: 03 fev. 2020.

EWING, S., LAY, D.; VON BOVELL, E. **Stress: A challenge to well-being. Farm animal well-being**. Prentice Hall. New Jersey, p. 25- 81, 1999.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL. Five Freedoms. 1979. Disponível em: <https://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20121010012427/http://www.fawc.org.uk/freedoms.htm>. Acesso em: 04 mar. 2020.

FARMERIE, M.; NEFFER, D.; VACCO, K. Enrichment and operant conditioning of callitrichids. *In*: SODARO, V.; SAUNDERS, N. **Callitrichid husbandry manual**. Chicago Zoological Park, 1999. Disponível em: <http://uticazoo.org/wp-content/uploads/2012/11/CallitrichidHusbandry.Manual.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2019.

FERNSTRÖM, A.L.; FREDLUND, H.; SPANGBERG, M.; WESTLUND, K., 2009. Positive reinforcement training in rhesus macaques – training progress as a result of training frequency. **American Journal of Primatology**. [S.l.], v. 71, p. 373–379. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajp.20659>. Acesso em: 6 fev. 2020.

FERRAZ, M. C.; MATOS, A. V. R.; TEIXEIRA, C. R.; MIRANDA, B. S.; FRANCELINO, L. K. S.; SANTOS, T. F. M.; OBA, E. The use of operant instrumental conditioning with positive reinforcement for collection of saliva from marmosets (*Callithrix jacchus*) for research purposes. **Revista de Etologia**, São Paulo, v. 12, n. 1/2, p. 25-28. 2013. Disponível em:

http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-28052013000100004. Acesso em: 2 abr. 2019.

FINCH, C. E.; ROSE, M. R. Hormones and the physiological architecture of life history evolution. **The Quarterly Review of Biology**. [S.l.], v. 70, n. 1, p. 1-52. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7732161-hormones-and-the-physiological-architecture-of-life-history-evolution/>. Acesso em: 9 de mar. 2020.

FLACK, J. C., KRAKAUER, D. C., de WAAL, F. B. M. Robustness mechanisms in primate societies: a perturbation study. **Proceedings of the Royal Society Biological Sciences**. [S.l.], v. 272, p.1091-1099. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16024369/>. Acesso em: 9 de mar. 2020.

FRAJBLAT, M.; AMARAL, V. L. L.; RIVERA, E, A. B. Ciência em Animais de Laboratório. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 60, n. 2, p. 44-46. 2008. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252008000200019. Acesso em: 9 de mar. 2020.

FRAJBRAT, M.; AMARAL, V. L. L.; RIVERA, A. B. Bem-estar em Animais de Laboratório. *In*: CHRISTOFOLETTI, R.; BECK, A. A. H. (org.). **Ética, Ciência e Desenvolvimento**. Itajaí. Editora da Universidade do Vale do Itajaí, 2006. p. 117-128.

FRASER, D. Understanding Animal Welfare. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Canadá, v. 50. n. 1. S1. 2008. Disponível em: <https://animalstudiesrepository.org/cgi/viewcontent.cgi?article=1000&context=assawel>. Acesso em: 04 mar. 2020.

FREITAS, E. G.; NISHIDA, S. M. Comportamento Animal. *In*: VOLPATO, G. L.; YAMAMOTO, M. E. **Métodos de estudo do comportamento animal**. 2a edição. Natal/RN. 2011. p. 47-85. Rio Grande do Norte, Editora da UFRN. Disponível em: https://www.academia.edu/31086923/COMPORTAMENTO_ANIMAL. Acesso em: 29 jan. 2020.

GALVÃO, O. F.; BARROS, R. S.; ROCHA, C. A.; MENDONÇA, M. B.; GOURLART, P. R. K. Estudo de psicologia. **Escola experimental de primatas**, Pará, v. 7, n. 2, p. 361-370, 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141394X2002000200017&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 31 jul. 2018.

GARCIA, L. C. F. **Contribuição do condicionamento para o bem-estar de onças-pintadas (*Panthera onca*) em cativeiro**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323612977_CONTRIBUICAO_DO_CONDICIONAMENTO_PARA_O_BEM-ESTAR_DE_ONCAS-PINTADAS_Panthera_onca_EM_CATIVEIRO. Acesso em: 8 set. 2019.

GARDNER, M. B.; LUCIW, P. A. Macaque Models of Human Infectious Disease. **Institute for Laboratory Animal Research Journal**, [S.l.], v. 49, p. 220-255, 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/ilarjournal/article/49/2/220/675289>. Acesso em: 24 abr. 2019.

GOLDBERGER, L.; BREZNITZ, S. 1986. **Handbook of stress: Theoretical and clinical aspects**. New York: The Free Press.

GONÇALVES, M. A. B.; SILVA, S. L.; HENRIQUE-TAVARES, M. C.; GROSMANN, N. V.; CIPRESTE, C. F.; CASTRO, P. H. G. Comportamento e bem-estar animal: o enriquecimento ambiental. *In*: ANDRADE, A.; ANDRADE, M.C.R.; MARINHO, A.M.; FILHO, J.F. (orgs). **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 137-160, 2010.

GOUZOULES, H.; GOUZOULES, S.; TOMASZYCKI, M. Agonistic screams and the classification of dominance relationships: are rhesus monkeys fuzzy logicians? **Animal Behaviour**. [S.l.], v.55, n.1. p. 51-60, 1998. Disponível em: http://www.bioteriocentral.ufc.br/arquivos/apostilha_manipulacao.pdf. Acesso em: 5 abril de 2020.

GROVES, C. P. Order Primates. *In*: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. (eds). **Mammals species of the world: a taxonomic and geographic reference** (3 ed.). Baltimore: Johns Hopkins University Press, p. 163, 2005.

HAGE, S. R.; OTT, T.; EISELT, A.; JACO, S. N.; NIEDER, A. Ethograms indicate stable well-being during prolonged training phases in rhesus monkeys used in neurophysiological research. **Laboratory Animals**. [S.l.], v. 48, n. 1, p. 82-87. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24367036>. Acesso em: 10 jul. 2019.

HENDRICKX, A. G.; DUKELOW, W. R. Reproductive biology. *In*: BENNET, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. **Nonhuman Primates in Biomedical Research: Biology and management**. San Diego: Academic Press, 1995.

HERMAN, J. P., MCKLVEEN, J. M., GHOSAL, S., KOPP, B., WULSIN, A., MAKINSON, R., SCHEIMANN, J.; MYERS, B. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. **Comprehensive Physiology**, [S.l.], v. 6, n. 2, p. 603–621. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4867107/>. Acesso em: 04 mar. 2020.

HERRELKO, E. S.; VICK, S. J.; BUCHANAN-SMITH, H. M. Cognitive research in zoo-housed chimpanzees: influence of personality and impact on welfare. **American Journal of Primatology**. [S.l.], v. 74, p. 828–840. 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajp.22036>. Acesso em: 7 fev. 2020.

HILL, D.; OKAYASU, N. Determinants of dominance among female macaques: nepotism, demography and danger. *In*: FA, J.; LINDBURG, D. **Evolution and ecology of macaque societies**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996.

HILLIARD, S. Principles of animal learning. *In*: **Mine Detection Dogs. Training, Operations and Odour Detection**. ed. McLean IG, Geneva International Centre for Humanitarian Demining, Switzerland. 2003. p. 23-42. Disponível em: https://www.gichd.org/fileadmin/pdf/publications/MDD/MDD_ch1_part3.pdf. Acesso em: 12 fev. 2020.

HIROTSU, C.; SOUZA, M. C.; ANDERSEN, M. L. Estresse e Suas Interferências. *In*: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidado e Manejo de Animais de Laboratório**. 2ed. Rio de Janeiro: Ateneu, 2017.

HOLANDA, M. C. R. Conceitos em Bem-estar Animal. *In*: ENCONTRO DE BIOÉTICA E BEM-ESTAR ANIMAL DO AGRESTE MERIDIONAL PERNAMBUCANO, 1., 2006, Garanhuns. **Anais [...]** Pernambuco: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, 2006. *pen drive*.

HOTZEL, M. J. MACHADO FILHO, P. L. C. Estresse, fatores estressores e bem-estar na criação animal. *In*: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 18., 2000, Florianópolis. **Anais [...]**. Santa Catarina: Sociedade Brasileira de Etologia, 2000. *pen drive*.

HUTCHINS, M.; SMITH, B.; ALLARD, R. In defense of zoos and aquariums: the ethical basis for keeping wild animals in captivity. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. [S.l.], v. 223, n. 7, p. 958-66. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14552481-in-defense-of-zoos-and-aquariums-the-ethical-basis-for-keeping-wild-animals-in-captivity/>. Acesso em: 05 mar. 2020.

IZAR, P. **Análise da estrutura social de um grupo de macacos-prego (*Cebus apella*) em semi-cativeiro**. Dissertação (Mestrado em Psicologia Experimental) - Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/47/47132/tde-04122013-140542/pt-br.php>. Acesso em: 05 out. 2020.

JANOSIK, E. H.; DAVIES, J. L. Adaptional variations and disruptions. *In*: JANOSIK, E. H.; DAVIES, J. L. **Mental health and psychiatric nursing**. 2nd ed. Boston: Little Brown. 1996.

JENNINGS, M.; PRESCOTT, M. J.; BUCHANAN-SMITH, H. M.; GAMBLE, M. R.; GORE, M.; HAWKINS, P.; HUBRECHT, R.; HUDSON, S.; KEELEY, J. R.; MORRIS, K.; MORTON, D. B.; OWEN, S.; PEARCE, P. C.; ROBB, D.; RUMBLE, R. J.; WOLFENSOHN, S.; BUIST, D. Refinements in husbandry, care and common procedures for non-human primates. Ninth report of the BVA/AFW/FRAME/RSPCA/UFAW joint working group on refinement. **Laboratory Animals**. v. 43, p. 1–47. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19286892-refinements-in-husbandry-care-and->

common-procedures-for-non-human-primates-ninth-report-of-the-bvaawfframerspcaufaw-joint-working-group-on-refinement/. Acesso em: 6 fev. 2020.

JUDGE, P.; WAAL, F. Rhesus monkey behaviour under diverse population densities: coping with long-term crowding. **Animal Behaviour**, [S.l.], v. 54, n. 3, p. 643-662, 1997.

KAVANAGH, M. **A complete guide to monkeys, apes and other primates**. NovaYork: The Viking press.1984.

KELLEY, T. M.; BRAMBLETT, C. A. Urine collection from vervet monkeys by instrumental conditioning. **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 1, p. 95–97. 1981. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajp.1350010112>. Acesso em: 18 mai. 2020.

KEMP, C.; THATCHERA, H.; FARNINGHAMB, D.; WITHAMB, C.; MACLARNOND, A.; HOLMESD, A.; SEMPLED, S.; BETHELLA, E. J. A protocol for training group-housed rhesus macaques (*Macaca mulatta*) to cooperate with husbandry and research procedures using positive reinforcement. **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v.197. p. 90–100. 2017.

KILEY-WORTHINGTON, M. **Animals in circuses and zoos: Chiron's world?** Essex, England: Little Eco-Farms. 1990. Disponível em: http://www.the-shg.org/Kiley_Worthington/kwchapter6.htm. Acesso: em 31 out. 2019.

KOBAN, T. L.; MIYAMOTO, M.; DONMOYER, G.; HAMMAR, A. Effects of positive reinforcement training on cortisol, hematology and cardiovascular parameters in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). **American Society Primatologists**. [S.l.], v. 66, p 148-148. 2005. Disponível em: <https://asp.org/meetings/abstractDisplay.cfm?abstractID=919&expand=true&confEventID=1113&parenteventid=934>. Acesso em: 31 jan. 2020.

KOHN, B. Zoo and animal welfare. **Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties**, [S.l.], v.12, n. 1, p. 233-245, 1994. Disponível em: <https://doc.oie.int/seam/resource/directMedia/XEtoSaeL2cAWcOXMPzYJ3CO3B2aWjeJ9;jsessionid=a75b9f3fc9e56c3283b7f402ec57?binaryFileId=8432&cid=162>. Acesso em: 04 fev. 2020.

KUGELMEIER, T. **Colheita e análise do sêmen de macaco de cheiro (*Saimiri sciureus*) por vibroestimulação: do condicionamento ao coágulo seminal**. 2011. São Paulo: Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-08102012-153339/en.php>. Acesso em: 21 jul. 2018.

KUGELMEIER, T.; VALLE, RODRIGO DEL RIO; MONTEIRO, F. O. B. Biologia da reprodução. *In*: ANDRADE, A; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.;

FERREIRA FILHO, J. **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2010. p. 57-107.

KUMAR, S.; HEDGES, S. B. A molecular timescale for Vertebrate Evolution. **Nature**, [S.l.], v. 392, p. 917-920. 1998. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/31927>. Acesso em: 8 mar. 2020.

LAMBETH, S. P.; HAU, J.; PERLMAN, J. E.; MARTINO, M.; SCHAPIRO, S. J. Positive reinforcement training affects hematologic and serum chemistry values in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*). **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 68, n. 3, p. 245-256. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16477594-positive-reinforcement-training-affects-hematologic-and-serum-chemistry-values-in-captive-chimpanzees-pan-troglodytes/>. Acesso em: 31 jan. 2020.

LANDSTEINER, K.; POPPER, E. Übertragung der poliomyelitis acuta auf affen. **Z Immunitätsforsch. Exp. Ther.**, v.2, p.377-390, 1909.

LANGBEIN, J.; PUPPE, B. Analysing dominance relationships by sociometric methods: a plea for a more standardised and precise approach in farm animals. **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v. 87, p. 293-315. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168159104000358>. Acesso em: 05 out. 2020.

LAULE, G. E. Positive reinforcement training and environmental enrichment: enhancing animal wellbeing. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 223, n. 7, p. 969-72. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14552483-positive-reinforcement-training-and-environmental-enrichment-enhancing-animal-well-being/>. Acesso em: 05 mar. 2020.

LAULE, G. E.; BLOOMSMITH, M. A.; SCHAPIRO, S. J. The use of positive reinforcement training techniques to enhance the care, management, and welfare of laboratory primates. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 163-173, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14612265>. Acesso em: 31 jul. 2018.

LAULE, G.; WHITTAKER, M. Enhancing nonhuman primate care and welfare through the use of positive reinforcement training. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 31-38. 2007. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/10888700701277311?needAccess=true>. Acesso em: 3 fev. 2020.

LINE, S. W., MARKOWITZ, H., MORGAN, K. N., STRONG, S. Effects of cage size and environmental enrichment on behavioral and physiological responses of rhesus macaques to the stress of daily events. In: NOVAK, M., PETTO, A.J. (Eds.), **Through the Looking Glass: Issues of Psychological Wellbeing in Captive Nonhuman Primates**. American Psychological Association, Washington, DC, 1991, p. 160–179. Disponível em: <https://psycnet.apa.org/fulltext/1991-97574-016.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2020.

MAKWANA, S. Field, ecology and behavior of the rhesus macaque. Food, feeding and srinking in Dehra Dun Forests. **Indian Journal of Forestry**, [S.l.], v.2, n.3, p. 242-253, 1979.

MANACERO, B. R. **O condicionamento operante como ferramenta visando o bem-estar de calitriquídeos cativos e os benefícios da associação da homeopatia**. 2016. Tese (Mestrado em Medicina e Bem-estar Animal) – Universidade Santo Amaro, São Paulo, 2016. Disponível em: <http://dspace.unisa.br/handle/123456789/104>. Acesso em: 31 jul. 2018.

MANN, A.; DAWKINS, M. S. 1998. **An Introduction to Animal Behavior**. 5ed. Cambridge: Cambridge University Press.

MCCOWAN, B.; ANDERSON, K.; HEAGARTY, A.; CAMERON, A. Utility of social network analysis for primate behavioral management and well-being. **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v.109, p.396-405, 2008.

MCMILLAN, F. D. Influence of mental states on somatic health in animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [S.l.], v. 14, n.8, p. 1221- 1225, 1999.

MEIRELES, B. C. S. **Estudo da Brachyury Manifestada em um grupo familiar cativo de *Macaca mulatta* (Zimmermann, 1780) (Cercopithecidae, Primates)**. 2009. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência em Animais de Laboratório), Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro: 2019. Disponível em: https://www.ictb.fiocruz.br/sites/www.ictb.fiocruz.br/files/site/brachyury_em_rhesus.pdf. Acesso em: 8 de mar. 2020.

MELLOR, D. J.; BEAUSOLEIL, N. J. Extending the ‘Five Domains’ model for animal welfare assessment to incorporate positive welfare states. **Animal Welfare**, [S.l.], v. 24, p. 241–253. 2015.

MELLOR, D. J.; HUNT, S.; GUSSET, M. (eds) **Caring for Wildlife: The World Zoo and Aquarium Animal Welfare Strategy**. Gland: WAZA Executive Office. 2015.

MINIER, D. E.; TATUM, L.; GOTTLIEB, D. H.; CAMERON, A.; SNARR, J.; ELLIOT, R.; COOK, A.; ELLIOT, K.; BANTA, K.; HEAGERTY, A.; MCCOWAN, B. Humandirected contra-aggression training using positive reinforcement with single and multiple trainers for indoor-housed rhesus macaques. **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v. 132, n. 3-4, p. 178-186. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168159111001432>. Acesso 31 jan. 2020.

MITTERMEIER, R. A.; RYLANDS, A. B.; KONSTANT, W. R. Primates of the world: an introduction. *In*: NOWAK, R. M. **Walker’s primates of the world**. Baltimore e Londres: The Johns Hopkins University Press, 1999. p.1-52

MOLENTO, C. F. M. Repensando as cinco liberdades. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CONCEITOS DE BEM-ESTAR ANIMAL, 1., 2006, **Anais [...]**. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <http://www.labea.ufpr.br/wp-content/uploads/2013/10/MOLENTO-2006-REPENSANDO-AS-CINCO-LIBERDADES.pdf>. Acesso em: 04 mar. 2020.

MONTEIRO, F. O. B.; COUTINHO, L. N.; TAKESHITA, R. S. C.; SILVA, G. A.; SILVA, K. S. M.; WHITEMAN, C. W.; CASTRO, P. H. G.; MUNIZ, J. A. P. C.; VICENTE, W. R. R. A protocol for gynecological and obstetric examination by ultrasound in owl monkey. **Revista de Ciências Agrárias**, [S.l.], v. 51, p. 5-11, 2011. Disponível em: <http://periodicos.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/106>. Acesso em: 3 abr. 2019.

MONTEIRO, F. O. B.; KOIVISTO, M. B.; VICENTE, W. R.; AMORIM, C. R.; WHITEMAN, C. W.; CASTRO, P. H.; MAIA, C. E. Uterine evaluation and gestation diagnosis in owl monkey (*Aotus azaraei infulatus*) using the B mode ultrasound. **Journal Medical Primatology**, [S.l.], v. 35, p. 123-130, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16764669>. Acesso em: 3 abr. 2019.

MOREIRA, M. B.; MEDEIROS, C. A. **Princípios básicos de análise do comportamento**. Porto Alegre, ed. Artmed, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/324390805_Principios_Basicos_de_Analise_do_Comportamento. Acesso em: 23 mar. 2020.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Endocrinology**, [S.l.], v. 23, p. 67-74, 2002. Disponível em: <http://www2.univet.hu/users/knagy/lrodalomjegyz%E9k/7%20Mostl%202002%20hormones%20indicators%20of%20stress.pdf>. Acesso em: 05 out. 2020.

MOTTA, M. C.; REIS, N. R. Elaboração de um catálogo comportamental de gato-do-mato-pequeno, *Leopardus tigrinus* (Schreber, 1775) (Carnivora: Felidae) em cativeiro. **Biota Neotropica, Campinas**, v. 9, n. 3, p. 165-171, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bn/v9n3/v9n3a17>. Acesso em: 10 jul. 2019.

MOURA, A. M. A.; VIANA, C. F.; FASANO, D. M.; BRAVIN, J. S.; NASCIMENTO, L. W. Manutenção em cativeiro. *In*: ANDRADE, A.; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FILHO, J. F. (orgs). **Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Fiocruz, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. 8ª ed. Committee for the update of the guide for the care and use of laboratory animals., Washington, DC: The National Academic Press. n. 8, 2011. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/. Acesso em: 2 abr. 2019.

NEWBERRY, R. C. Environmental enrichment: increasing the biological relevance of captive environments. **Applied Animal Behavior Science**, [S.l.], v. 44, n. 2, p. 229-43, 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016815919500616Z>. Acesso em: 05 mar. 2020.

NOVAK, M. A.; SUOMI, S. J. Psychological well-being of primates in captivity. **American Psychologist**, [S.l.], v. 43, n. 10, p. 765-773, 1988. Disponível em: <https://psycnet.apa.org/record/1989-07518-001>. Acesso em: 2 abr. 2019.

NOVAK, M. Self-injurious behavior in rhesus monkeys: New insights into its etiology, physiology, and treatment. **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 59, n. 1, p. 3-19, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12526035>. Acesso em: 2 abr. 2019.

NOWAK, R. M. **Primatologia: Walker's primates of the world**. Baltimore e Londres: The Johns Hopkins University Press, 1999.

OATES-O'BRIEN, R. S.; FARVER, T. B.; ANDERSON-VICINO, K. C.; MCCOWAN, B.; LERCHE, N. W. Predictors of matrilineal overthrows in large captive breeding groups of rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, [S.l.], v. 49, p. 196-201, 2010.

OLIVEIRA, M. F. **Etograma de mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus*, Mikán, 1823) em cativeiro, com ênfase no comportamento reprodutivo**. 2016. Tese (Mestrado em Conservação da Fauna) - Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/8129/DissMFO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 de jul 2019.

ORSINI, H.; BONDAN, E. F. Fisiopatologia do estresse em animais selvagens em cativeiro e suas implicações no comportamento e bem-estar animal – revisão da literatura. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, [S.l.], v. 24, n. 1, p. 7-13. 2006. Disponível em: https://www3.unip.br/presencial/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2006/01_jan_mar/V25_N1_2006_p7-14.pdf. Acesso em: 05 mar. 2020.

PAIVA, F. P.; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. C. S. Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz. Salvador, Bahia. 2005.

PARRA-HERRA, J. P.; ESTRADA-CELY, G. E. Patrón de comportamiento de monos ardilla (*Saimiri sciureus macrodon*) cautivos com diferentes enriquecimientos ambientales. **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, Medellín, v.6, n 2, p. 30-46, jul/2011. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072011000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=es. Acesso em: 03 fev. 2020.

PASTEUR, L.; CHAMBERLAND, M. M.; ROUX, M. E. Physiologie experimentale - nouvelle communication sur la rage. C.R. Hebd Seances. **Academy Sciences**, [S.l.], v.98, p.457-463, 1884.

PERLMAN, J. E.; BLOOMSMITH, M. A.; WHITTAKER, M. A.; MCMILLAN, J. L.; MINIER, D. E.; MCCOWAN, B. Implementing positive reinforcement animal

training programs at primate laboratories. **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v. 137, p. 114-126, 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/235990955_Implementing_positive_reinforcement_animal_training_programs_at_primate_laboratories>. Acesso em: 2 abr. 2019.

PETERSDORF, M.; DUBUC, C.; GEORGIEV, A. V.; WINTERS, S.; HIGHAM, J. P. Is male rhesus macaque facial coloration under intrasexual selection? **Behavioral Ecology**, [S.l.], v.28, n. 6, p.1472-1481. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29622929-is-male-rhesus-macaque-facial-coloration-under-intrasexual-selection/>. Acesso: 28 fev. 2020.

PISSINATTI, A.; ANDRADE, M. C. R. Histórico: Uso de primatas em experimentação. *In*: ANDRADE, A; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Fiocruz, 2010. Cap. 1, p. 21-40.

PISSINATTI, A.; GOLDSCHMIDT, B.; SOUZA, I. V. Taxonomia. *In*: ANDRADE, A; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2010. Cap. 2, p. 41-56.

PIZZUTTO, C. S.; SCARPELLI, K. C.; ROSSI, A. P.; CHIOZZOTTO, E. N.; LECHONSKI, L. Bem-estar no cativeiro: Um desafio a ser vencido. **Revista de educação continuada em medicina veterinária e zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 2, p. 6-13, 2013. Disponível em: <https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/16218>. Acesso em: 5 fev. 2018.

POOLE, T. "Happy animals make good science". **Laboratory Animals**, [S.l.], v. 31, n. 2, p. 116-124, 1997. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1258/002367797780600198>. Acesso em: 9 mar. 2020.

PRESCOTT, M. J.; BUCHANAN-SMITH, H.M. Training laboratory-housed non-human primates, part 1: A UK survey. **Animal Welfare**, [S.l.], v. 16, p. 21–36. 2007.

PRESCOTT, M.; BUCHANAN-SMITH, H. M. Training nonhuman primates using positive reinforcement techniques. **Journal of Applied Animal Welfares Science**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 157-161. 2003. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/1011/dd8bb6b7542856835844bd532ec0cd948125.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2019.

REHRIG, A.; DIVINCENTI, L.; NAPOLITANO, D.; MCADAM, D. Assessing laboratory macaque food preferences in positive reinforcement training. *AWI Quarterly*, winter. **Animal Welfare Institute**. [S.l.], v. 67, n. 4. 2018. Disponível em: <https://awionline.org/awi-quarterly/winter-2018/assessing-laboratory-macaque-food-preferences-positive-reinforcement>. Acesso em: 16 out. 2019.

REINHARDT, V. (a) Difficulty in training juvenile rhesus macaques to actively cooperate during venipuncture in the homecage. **Laboratory Primate Newsletter**. [S.l.], v. 31, n. 3, 1992. Disponível em: <https://www.brown.edu/Research/Primate/lpn31-3.html#diff>. Acesso em: 14 out. 2019.

REINHARDT, V. (b) Improved handling of experimental rhesus monkeys. *In*: DAVIS, H.; BALFOUR, A. **The inevitable bond: examining scientist-animal interactions**. Cambridge, England: Cambridge University Press, 1992, p. 171–177.

REINHARDT, V. Training adult male rhesus monkeys to actively cooperate during in homecage venipuncture. **Institute of Animal Technology**, [S.l.], v. 42, p. 11-17, 1991. Disponível em: <https://awionline.org/content/training-adult-male-rhesus-monkeys-actively-cooperate-during-homecage-venipuncture>. Acesso em: 19 jan. 2020.

REINHARDT, V.; COWLEY, D.; SCHEFFLER, J.; VERTEIN, R.; WERGNER, F. Cortisol response of female rhesus monkeys to venipuncture in homecage versus venipuncture in restraint apparatus. **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 19, n. 6, p. 601-606, 1990. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2246780>. Acesso em: 1 mai. 2019.

REINHARDT, V.; LISS, C.; STEVENS, C. Restraint methods of laboratory nonhuman primates: a critical review. **Animal Welfare**, [S.l.], v. 4, p. 221-238, 1995.

RESENDE, L.S.; REMY, G. L.; RAMOS JR, V.A.; ANDRIOLO, A. The influence of feeding enrichment on the behavior of small felids (Carnivora: Felidae) in captivity. **Zoologia (Curitiba, Impr.)**, v. 26, n. 4, p. 601-605, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-46702009000400003&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 03 Mar. 2020.

RICHARD, A. F. Primate diets: patterns and principles. *In*: RICHARD, A. F. **Primates in Nature**. New York: Freeman and Company, 1985.

RIVERA, E. A. B. Bem-estar de animais de laboratório. *In*: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidados e manejo de animais de laboratório**. Rio de Janeiro: Ateneu, 2017. Cap. 4, p. 35-46.

ROCHA, C. G. **Estudos dos perfis de metabólitos hormonais urinários e fecais de cortisol e testosterona em machos de sagui-de-tufos-pretos (*Callithrix penicillata*, Geoffroy, 1812) submetidos à contenção física**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2010. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-18022011-081957/publico/Cintia_Germano_Rocha.pdf. Acesso em: 9 de mar. 2020.

RUSSEL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. London, 1959.

SALK, J. R.; BENNETT, B. L.; LEWIS, L. J.; WARD, E. N.; YOUNGER, J. S. Studies in human subjects on active immunization against poliomyelitis. 1 - A preliminary report of experiments in progress. **Journal of the American Medical Association**, [S.l.], v. 151, p. 1081-1098, 1953. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2728267>. Acesso em: 27 fev. 2020.

SANTOS, O. J. X.; BORUCHOVITCH, E. Estratégias de aprendizagem e aprender a aprender: concepções e conhecimento de professores. **Psicologia: Ciência e Profissão**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 284-295, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-98932011000200007&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 20 fev. 2020.

SAVASTANO, G.; HANSON, A.; MCCANN, C. The development of an operant conditioning training program for new world primates at the Bronx Zoo. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 247-261, 2003. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/loi/haaw20>. Acesso em: 1 mai. 2019.

SCHAPIRO, S. J.; BLOOMSMITH, M. A.; LAULE, G. E. Positive reinforcement training as a technique to alter nonhuman primate behavior: quantitative assessments of effectiveness. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, [S.l.], v. 6, n. 3, p. 175-187, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14612266>. Acesso em: 10 mai. 2018.

SCHLINDWEIN, M. N.; NORDI, N. Ecologia Comportamental e Biologia da Conservação. In: PIRATELLI, A. J.; FRANCISCO, M. R. **Conservação da Biodiversidade, dos conceitos as ações**. Technical Books, 2013. Cap.3, p. 69-97.

SELYE, H. Fisiologia y patologia de la ecposicion al "stress": sufrimiento, Barcelona: **Científico Médica**, [S.l.], v. 2. p. 336. 1974.

SHEPHERDSON, D. J.; K. CARLSTEAD; MELLEN, J.D.; SEIDENSLICKER, J. Influence of food presentation on the behaviour of small cats in confined environments. **Zoo Biology**, [S.l.], v.12, p. 203-216. 1993. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/zoo.1430120206>. Acesso em: 03 fev. 2020.

SHIVELY, C. A.; CLARKSON, T. B. The unique value of primate models in translational research. **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 71, p. 715-721. 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajp.20720>. Acesso em: 24 abr. 2019.

SIMMONS, H. A. Age-associated pathology in rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 53, n. 2, p. 399-416, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26864889>. Acesso em: 20 fev. 2019.

SKINNER, B. F. **Ciência e comportamento humano**. Tradução: João Carlos Todorov, Rodolfo Azzi. 11 ed. São Paulo: Martins Fontes, 2003. Título original: Science and Human Behavior.

SKINNER, B. F. **Selection by consequences**. The Behavioral and Brain Sciences. 7ed. p. 477-510, 1981.

SOUTHWICK, C.; BEG, M.; SIDDIQI, R. Rhesus monkeys in North India. *In*: DEVORE, I. **Primate behavior: field studies of monkeys and apes**. San Francisco: Holt, Rinehart and Winston, 1965.

SOUTO, A. **Etologia: princípios e reflexões**. Universidade Federal de Pernambuco. Pernambuco: Recife, 2ed. p. 38-41, 2003.

SOUZA, I. V.; SILVA, F. A.; TOLEDO, D. C.; ANDRADE, M. C. R. Estratégias de manejo para minimizar situações conflitivas na introdução de macacos rhesus (*Macaca mulatta*) machos em um mesmo grupo social. **Revista da Sociedade Brasileira em Ciência em Animais de Laboratório**, [S.l.], v. 4, n.1, p. 56, 2016.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p. 165-178.

TORRES, L. B.; ARAUJO, B. H. S.; CASTRO, P. H. G.; CABRAL, F. R.; MARRUAZ, K. S.; ARAUJO, M. S.; SILVA, S. G.; MUNIZ, J. A. P. C.; CAVALHEIRO, E. A. The use of new world primates for biomedical research: an overview of the last four decades. **American Journal of Primatology**, [S.l.], v. 72, n. 12, p. 1055 - 1061, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20626038>. Acesso em: 22 abr. 2019.

VEEDER, C.; BLOOMSMITH, M.; MCMILLAN, J.; PERLMAN, J.; MARTIN, A. Positive reinforcement training to enhance the voluntary movement of group-housed sooty mangabeys (*Cercocebus atys atys*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, [S.l.], v. 48, p. 192–195. 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2679662/>. Acesso em: 26 jan. 2020.

VERTEIN, R.; REINHARDT, V. Training female rhesus monkeys to cooperate during in-homecage venipuncture. **Laboratory Primate Newsletter**, [S.l.], v. 28, n. 2, p. 1-3, 1989.

WAITT, C.; BUCHANAN-SMITH, H. M.; MORRIS, K. The effects of caretaker-primate relationships on primates in the laboratory. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, [S.l.], v. 5, n. 4, p. 309–319, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16221081-the-effects-of-caretaker-primate-relationships-on-primates-in-the-laboratory/>. Acesso em: 7 fev. 2020.

WERGÅRD, E. M.; WESTLUND, K.; SPÅNGBERG, M.; FREDLUND, H.; BJORN, F. Training success in group-housed long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) is better explained by personality than by social rank. **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v. 177, p. 52–58. 2016. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/291557280_Training_success_in_group-housed_long-tailed_macaques_Macaca_fascicularis_is_better_explained_by_personality_than_by_social_rank. Acesso em: 7 fev. 2020.

WESTLUND, K. Training is enrichment – and beyond. **Applied Animal Behaviour Science**, [S.l.], v. 152, p. 1-6. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016815911300316X>. Acesso em: 11 fev. 2020.

WINANDY, M. M. **O período juvenil em macacos-prego (*Sapajus sp.*): ontogenia das relações sociais e do forrageamento**. Dissertação (Mestrado em Psicologia Experimental) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/47/47132/tde-19072012-105740/publico/winandy_corrigeida.pdf. Acesso em: 05 out. 2020.

WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION. 2018. Diretrizes para o bem-estar animal da WSAVA. Disponível em: <https://wsava.org/wp-content/uploads/2020/01/WSAVA-Animal-Welfare-Guidelines-2018-PORTUGUESE.pdf>. Acesso em: 04 mar. 2020.

YOUNG, R. J.; CIPRESTE, C. F. Applying animal learning theory: training captive animals to comply with husbandry and veterinary procedures. **Animal Welfare**, [S.l.], v. 13, p. 225-232. 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233510832_Applying_animal_learning_theory_Training_captive_animals_to_comply_with_veterinary_and_husbandry_procedures. Acesso em: 05 mar. 2020.

ZHANG, S.; YE, B.; ZENG, L.; CHEN, Y.; HE, S.; WANG, C.; LI, X.; ZHAO, J.; SHI, M.; WANG, L.; LI, H.; CHENG, J.; WANG, W.; LU, Y. Drug-containing gelatin treats as an alternative to gavage for long-term oral administration in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, [S.l.], v. 51, n. 6, p. 842–846. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23294893-drug-containing-gelatin-treats-as-an-alternative-to-gavage-for-long-term-oral-administration-in-rhesus-monkeys-macaca-mulatta/>. Acesso em: 25 jan. 2020.

APÊNDICE B - Quadro de acompanhamento das sessões de acesso à gaiola de condicionamento de *Macaca mulatta* machos, AM41 e AM85, realizadas em criadouro científico da Fiocruz, Rio de Janeiro/RJ.

SESSÃO	AM41		AM85	
	Ação	Comportamento observado	Ação	Comportamento observado
1	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Ficou somente na porta de acesso. Muita tensão.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Ficou somente na porta de acesso. Muita tensão.
2	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Entrou para pegar recompensa da gaiola. Muita tensão.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Entrou para pegar recompensa da gaiola. Muita tensão.
3	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Interagiu com o AM85 dentro da gaiola, mas sempre em alerta.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Interagiu com o AM41 dentro da gaiola. Sempre em estado de alerta.
4	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Interagiu com o treinador e recebeu cereal. Tensão diminuiu.	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Entrou somente para pegar recompensa da gaiola. Sempre em estado de alerta.
5	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Interagiu com o AM85 dentro da gaiola. Tensão diminuiu.	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Interagiu com o AM41 dentro da gaiola. Sempre em estado de alerta.
6	Isolado por 30 seg.	Ficou muito assustado e não quis a recompensa. Quando o acesso foi aberto saiu em disparada.	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Depois que AM41 foi isolado não quis entrar.
7	Gaiola disponível por 5 min. com uvas passas no solo.	Distraído e incomodado - encerrado por presença de barulho externo.	Gaiola disponível por 5 min. com uvas passas no solo.	Distraído e incomodado - encerrado por presença de barulho externo.
8	Gaiola disponível por 10 min. com uvas vitória no solo.	Irritado - encerrado devido a presença de pessoas diferentes no local.	Gaiola disponível por 10 min. com uvas vitória no solo.	Irritado - encerrado devido a presença de pessoas diferentes no local.

(continuação)

SESSÃO	AM41		AM85	
	Ação	Comportamento observado	Ação	Comportamento observado
9	Gaiola disponível por 30 min. com uvas vitória no solo.	Entrou para pegar recompensa da gaiola. Tensão diminuiu.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas vitória no solo.	Entrou para pegar recompensa da gaiola. Tensão diminuiu.
10	Gaiola disponível por 30 min. com uvas vitória no solo.	Ficou somente na porta de acesso, após AM85 ter sido isolado.	Isolado por 30 seg.	Ficou assustado, mas pegou a recompensa. Quando o acesso foi aberto saiu em disparada.
11	Gaiola disponível por 30 min. com uvas verdes no solo.	Ficou na porta e só pegou as recompensas mais próximas.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas verdes no solo.	Entrou uma vez para pegar recompensas.
12	Gaiola disponível por 30 min. com uvas verdes no solo.	Ficou na porta e só pegou as recompensas mais próximas.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas verdes no solo.	Ficou na porta e só pegou as recompensas mais próximas.
13	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Ficou na porta e só pegou as recompensas mais próximas.	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Entrou três vezes para pegar recompensas.
14 - 15	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Ficou na porta de acesso pegando as recompensas e dominando o local.	Gaiola disponível por 30 min. com amendoins no solo.	Entrou uma vez para pegar recompensas.
16 - 17	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Perdendo o interesse, permitiu o acesso dos outros animais do grupo.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Entrou duas vezes para pegar recompensas.
18 - 20	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Ficou na porta de acesso pegando as recompensas e dominando o local.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Entrou duas vezes para pegar recompensas.
21	Gaiola disponível por 4 min. com amendoins no solo.	Atacou outro animal do grupo que acessou a gaiola. Sessão encerrada.	Gaiola disponível por 4 min. com amendoins no solo.	Sessão encerrada.

(continuação)

SESSÃO	AM41		AM85	
	Ação	Comportamento observado	Ação	Comportamento observado
22	Recebeu EA.	Apresentou movimento de estereotipia quando perdeu interesse pelo EA.	Gaiola disponível por 30 min.	Entrou uma vez para pegar recompensas.
23	Gaiola disponível por 30 min. com uvas verdes no solo.	Entrou duas vezes para pegar recompensas e permitiu acesso dos outros animais do grupo.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas verdes no solo.	Entrou três vezes para pegar recompensas
24	Tentativa de sessão com presença dos técnicos.	Assustado e agressivo. Sessão cancelada.	Tentativa de sessão com presença dos técnicos.	Assustado e agressivo. Sessão cancelada.
25-30	Gaiola disponível por 30 min. com uvas vitória no solo.	Ficou na porta e só pegou as recompensas mais próximas.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas vitória no solo.	Entrou para pegar recompensas.
31	Gaiola disponível por 7 min. com uvas vitória no solo.	Sessão encerrada.	Gaiola disponível por 7 min. com uvas vitória no solo.	Atacou outro do grupo que tentou entrar na gaiola. Sessão encerrada.
32	Gaiola disponível por 30 min. com uvass verde no solo.	Ficou dominando a porta e só pegou as recompensas mais próximas.	Gaiola disponível por 30 min. com uvass verde no solo.	Na ausência do AM41 entrou para pegar as recompensas.
33-34	Recebeu EA.	Logo perdeu o interesse e voltou para porta da gaiola.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas no solo.	Na ausência do AM41 entrou para pegar as recompensas.
35	Gaiola disponível por 30 min. com acerolas no solo.	Ficou dominando a porta e só pegou as recompensas mais próximas.	Gaiola disponível por 30 min. com acerolas no solo.	Na ausência do AM41 entrou para pegar as recompensas.

(conclusão)

SESSÃO	AM41		AM85	
	Ação	Comportamento observado	Ação	Comportamento observado
36 - 37	Recebeu EA.	Perdeu o interesse e voltou para porta da gaiola.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas verdes no solo.	Na ausência do AM41 entrou para pegar as recompensas.
38 - 39	Gaiola disponível por 30 min.	Com EA preso do interior da gaiola, não entrou.	Gaiola disponível por 30 min.	Com EA preso do interior da gaiola, não entrou.
40 - 43	Recebeu EA.	Perdeu o interesse e voltou para porta da gaiola.	Gaiola disponível por 30 min. com uvas passas e cereal no solo.	Na ausência do AM41 pegou as recompensas mais próximas da porta.
44	Suco em seringa para se manter afastado da gaiola.	Se manteve distraído e afastado da gaiola.	Gaiola disponível por 5 min. com uvas passas no solo.	Na ausência do AM41, entrou e se sentou no solo da gaiola pela primeira vez.
45	Recebeu EA.	Se manteve distraído e afastado da gaiola.	Uvas e acerolas presas na grade da gaiola.	Na ausência do AM41, entrou e pegou as recompensas. Teve acesso ao EA e perdeu interesse na gaiola.
46	Chuva intensa	Sessão encerrada.	Chuva intensa.	Sessão encerrada.
47	Uvas verdes presas na grade da gaiola.	Entrou e pegou a maioria das recompensas.	Uvas verdes presas na grade da gaiola.	Na ausência do AM41, entrou e pegou as recompensas.
48 - 55	Suco em seringa para se manter afastado da gaiola.	Se manteve distraído e afastado da gaiola.	Uvas presas na grade da gaiola.	Na ausência do AM41, entrou e pegou as recompensas.

Fonte: Elaboração própria.

APÊNDICE C - Quadro de acompanhamento das sessões de acesso à gaiola de condicionamento de *Macaca mulatta* fêmea, AM2 e AM6, realizadas em criadouro científico da Fiocruz, Rio de Janeiro/RJ.

SESSÃO	AM2		AM6	
	Ação	Comportamento Observado	Ação	Comportamento Observado
1	Gaiola disponível por 30 min.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorar a gaiola, mas com tensão.	Gaiola disponível por 30 min.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorar a gaiola, mas com tensão.
2	Gaiola disponível por 30 min.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorar a gaiola, mas com tensão.	Gaiola disponível por 30 min.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorar a gaiola, mas com tensão.
3	Gaiola disponível por 30 min.	Interagiu com AM6 dentro da gaiola, tensão diminuiu.	Gaiola disponível por 30 min.	Interagiu com AM2 dentro da gaiola. Está muito interessada e querendo dominar o local em alguns momentos.
4	Gaiola disponível por 30 min.	Ficou incomodada no momento que AM6 ficou isolada, mas depois acessou a gaiola.	1 min. isolada.	Mesmo um pouco assustada pegou recompensa. Quando o acesso foi aberto saiu em disparada.
5	Gaiola disponível por 30 min.	Ficou incomodada no momento que AM6 ficou isolada, mas depois acessou a gaiola e interagiram.	1 min. isolada.	Ficou tranquila e pegou recompensa. Quando o acesso foi aberto saiu em disparada.
6	Gaiola disponível por 15 min.	Estava muito agitada e irritada.	Gaiola disponível por 15 min.	Estava muito agitada e irritada e só permaneceu na gaiola junto com AM2.
7	Gaiola disponível por 5 min.	Distraída e incomodada - encerrado por presença de barulho externo.	Gaiola disponível por 5 min.	Distraída e incomodada - encerrado por presença de barulho externo.

(continuação)

SESSÃO	AM2		AM6	
	Ação	Comportamento Observado	Ação	Comportamento Observado
8	Gaiola disponível por 30 min.	Recebeu recompensa enquanto AM6 estava presa e ficou tranquila.	1 min. isolada.	Ficou tranquila e pegou recompensa da mão da treinadora. Quando o acesso foi aberto saiu em disparada.
9	Gaiola disponível por 10 min.	Irritada - encerrado devido a presença de pessoas diferentes no local.	Gaiola disponível por 10 min.	Irritada - encerrado devido a presença de pessoas diferentes no local.
10	Gaiola disponível por 30 min.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorou a gaiola, com tranquilidade.	Gaiola disponível por 30 min.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorou a gaiola, com tranquilidade.
11	30 min. de acesso livre à gaiola.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorou a gaiola, com tranquilidade.	30 min. de acesso livre à gaiola.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorou a gaiola, com tranquilidade.
12	30 min. de acesso livre à gaiola.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorou a gaiola, com tranquilidade.	30 min. de acesso livre à gaiola.	Entrou para pegar recompensa da mão da treinadora e explorou a gaiola, com tranquilidade.
13	Recebeu EA.	Ficou incomodada no momento que AM6 ficou isolada, mas depois acessou a gaiola e interagiram.	3 min. isolada.	Recebeu recompensas e permaneceu na gaiola, mesmo após a porta ser aberta.
14	Recebeu EA.	Ficou incomodada no momento que AM6 ficou isolada, mas depois acessou a gaiola e interagiram.	3 min. isolada.	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, após a porta ser aberta saiu, mas voltou.

(conclusão)

SESSÃO	AM2		AM6	
	Ação	Comportamento Observado	Ação	Comportamento Observado
15	1 min. isolada	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta.	3 min. isolada.	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta. Quando AM2 foi isolada, ficou incomodada.
16	2 min. isolada	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta.	3 min. isolada. Recebeu EA.	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta. Quando AM2 foi isolada, se distraiu com EA.
17	3 min. isolada	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta.	3 min. isolada. Recebeu EA.	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta. Quando AM2 foi isolada, se distraiu com EA.
18	3 min. isolada	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta.	3 min. isolada. Recebeu EA	Recebeu recompensas e permaneceu tranquila na gaiola, mesmo após a porta ser aberta. Quando AM2 foi isolada, se distraiu com EA.

Fonte: Elaboração própria.

ANEXO A - Licença da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-Fiocruz)



Comissão de Ética
no Uso de Animais

LICENÇA

LW-26/19

Certificamos que o protocolo (P-8/19-3), intitulado "Condicionamento operante de macacos rhesus (*Macaca mulatta*), cynomolgus (*M. fascicularis*) e macacos-de-cheiro (*Saimiri sciureus*) como ferramenta de aprimorar o bem-estar animal e viabilizar protocolos científicos", sob a responsabilidade de MARCIA CRISTINA RIBEIRO ANDRADE, atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A referida licença não exige a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Esta licença tem validade até 24/06/2021 e inclui o uso total de :

Macaca mulatta

- 3 Machos.
- 3 Fêmeas.

Macaca fascicularis

- 3 Machos.
- 3 Fêmeas.

Saimiri sciureus

- 3 Machos.
- 3 Fêmeas.

Rio de Janeiro, 24 de junho de 2019

Octavio Augusto França Presgrave
Coordenador da CEUA