

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**CAMPUS DE ARAÇATUBA**

**EFEITOS ETOLÓGICOS E ENDÓCRINOS DO  
ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O BEM-ESTAR DE  
CÃES MANTIDOS EM CANIL**

**Letícia Vinhas Rampim**

Bióloga

ARAÇATUBA – SP

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**CAMPUS DE ARAÇATUBA**

**EFEITOS ETOLÓGICOS E ENDÓCRINOS DO  
ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O BEM-ESTAR DE  
CÃES MANTIDOS EM CANIL**

**Letícia Vinhas Rampim**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Valéria Nobre Leal de Souza Oliva**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

ARAÇATUBA – SP

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da FMVA / UNESP

R177e Rampim, Letícia Vinhas  
Efeitos etológicos e endócrinos do enriquecimento ambiental sobre o bem-estar de cães mantidos em canil / Letícia Vinhas Rampim. – Araçatuba: [s.n.], 2017.  
50 f. : tab.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba.  
Orientador: Profa. Dra. Valéria Nobre Leal de Souza Oliva

1. Hidrocortisona 2. Comportamento 3. Manejo I. Título.

CDD 636.7



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Efeitos etológicos e endócrinos do enriquecimento ambiental sobre o bem-estar de  
TÍTULO: cães mantidos em canil

**AUTORA: LETÍCIA VINHAS RAMPIM**

**ORIENTADORA: VALERIA NOBRE LEAL DE SOUZA OLIVA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. VALERIA NOBRE LEAL DE SOUZA OLIVA

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dr. SERGIO DINIZ GARCIA

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dr. NATALIA FELIX NEGREIROS

Departamento de Ciências Biológicas / Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium do Campus de Araçatuba - UNISALESIANO

Araçatuba, 19 de maio de 2017.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**LETÍCIA VINHAS RAMPIM** – nascida em Araçatuba - SP no dia 13 de abril de 1992, possui graduação com honra ao mérito como primeira da turma em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium, onde foi bolsista de iniciação científica. Cursou especialização em Ecologia pela Universidade de Araraquara e atualmente cursa Licenciatura em Biologia pela Universidade de Franca. Realizou estágio na Universidade Federal do Espírito Santo, na Universidade de São Paulo e na Universidade Estadual Paulista – onde foi bolsista FAPESP de iniciação científica. Ingressou no mestrado em Ciência Animal em 2015 sob orientação da Professora Valéria Nobre Leal Oliva com bolsa CAPES.

## EPÍGRAFE

“Não há diferença fundamental entre o Homem e os animais nas suas faculdades mentais (...) Os animais, como o Homem, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento”

(Charles R. Darwin)

## DEDICATÓRIA

Aos animais deste estudo!

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Valéria Nobre Leal Oliva pela sabedoria e paciência, me orientando desde a iniciação científica. Por acreditar em meu potencial e sempre instruir-me para o crescimento acadêmico e pessoal. Muito obrigada pela confiança e oportunidade.

Aos meus pais que estão sempre lutando pelas melhores oportunidades de estudo para seus filhos. Muito obrigada pela compreensão, apoio e confiança em mim capacidade nesta fase. Obrigada também pela ajuda direta neste trabalho com a implementação do enriquecimento ambiental e organização dos canis. Sem vocês ao meu lado, não teria sido possível concluir essa etapa de meus estudos.

À minha família, sempre me apoiando com as escolhas acadêmicas e me acolhendo em suas casas para estágios e congressos. Em especial à minha tia Solange Alves Vinhas, por me acolher em sua casa e em seu trabalho, me oferecendo aprendizagem e conselhos essenciais à minha formação.

Aos meus queridos companheiros Darwin, Pitty, Nina, José e Nero, assim como os cães deste estudo, Açucena, Aladdin, Alice, Anastácia, Asterix, Flor, Branca e Boneca. Obrigada por todo amor.

Aos colegas Juliana Tessália Wagatsuma, Acácio Duarte Pacheco e Carlos Eduardo Siqueira pela ajuda nas coletas das amostras e pelo apoio.

Ao professor Guilherme de Paula Nogueira por disponibilizar o laboratório de endocrinologia e ao pós doutorando Marcos Antônio Maioli.

Aos professores que fizeram parte de minha formação. Vocês me despertaram o amor pela ciência e inspiraram a seguir esta carreira.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, à faculdade de Medicina Veterinária e a Universidade Estadual Paulista.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio financeiro.

Agradeço a todos que mesmo indiretamente ajudaram na realização deste trabalho.



## SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO.....	16
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
Fisiologia do estresse.....	18
Influência hormonal no comportamento.....	19
Redução do estresse e enriquecimento ambiental.....	20
Diversidade comportamental.....	20
Animais de biotério.....	21
Animais utilizados em Terapia Assistida por Animais.....	22
III. MATERIAL E MÉTODO.....	23
Animais e manejo.....	23
Delineação experimental.....	26
Avaliação dos dados.....	27
IV. RESULTADOS.....	28
Grupo B.....	28
Grupo L.....	33
Correlação.....	37
V. DISCUSSÃO.....	37
Grupo B.....	38
Grupo L.....	41
VI. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ACTH** Adrenocorticotrófico

**AÇU** Açucena

**ALA** Aladin

**ALI** Alice

**ANA** Anastácia

**ANS** Ansiedade

**AST** Asterix

**ATE** Atenção

**ATI** Atividade

**BON** Boneca

**BRA** Branca

**BRI** Brincadeira

**C** Controle

**DOM** Dominância

**FLO** Flor de Liz

**FMVA** Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba

**HPA** Hipofisário-pituitária-adrenal

**IDC** Índice de Diversidade Comportamental

**NE** Necessidade

**OCI** Ociosidade

**SAS** Síndrome de Ansiedade de Separação

**T** Tratado

**TAA** Terapia Assistida por Animais

**VOC** Vocalização

**μL/dL** Microlitro/Decilitro

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Etograma (PALMA et al, 2005) utilizado para análise comportamental.....	25
<b>Tabela 2:</b> Médias das durações (segundos) dos comportamentos antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental, os respectivos desvios padrões (S) e o p valor encontrado através do teste <i>t</i> pareado, dos cães do grupo B.....	29
<b>Tabela 3:</b> Índice de Diversidade Comportamental (IDC) em cada categoria comportamental durante as observações antes(C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental dos cães do grupo B.....	31
<b>Tabela 4:</b> Concentrações de Cortisol Sérico ( $\mu\text{l/dL}$ ) nas amostras de sangue colhidas antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental, em cães do grupo B.....	32
<b>Tabela 5:</b> Médias das durações (segundos) dos comportamentos antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental, os respectivos desvios padrões (S) e o p valor encontrado através do teste <i>t</i> pareado dos animais do grupo L.....	34
<b>Tabela 6:</b> Índice de Diversidade Comportamental (IDC) em cada categoria comportamental durante as observações antes(C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental dos cães do grupo L.....	35
<b>Tabela 7:</b> Concentrações de Cortisol Sérico ( $\mu\text{l/dL}$ ) nas amostras de sangue colhidas antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental, em cães do grupo L.....	37

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Enriquecimento Ambiental realizado no canil experimental. Letícia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2015.....26
- Figura 2:** Enriquecimento Ambiental realizado no canil de TAA. Letícia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2016.....27
- Figura 3:** Representação gráfica das durações das categorias comportamentais individuais dos cães do grupo B, antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental com desvio padrão.....29
- Figura 4:** (a) Cães olhando para o Hospital Veterinário. (b) Cão bebendo água na fonte implantada. (c) Cães em repouso. (d) Comportamento exploratório. Letícia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2015.....30
- Figura 5:** Disposição do Índice de Diversidade Comportamental (IDC) durante as observações de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo B.....31
- Figura 6:** Distribuição do tempo em porcentagem dos comportamentos realizados pelos cães do grupo B.....32
- Figura 7:** Representação gráfica das concentrações de cortisol nos períodos de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo B.....33
- Figura 8:** Representação gráfica das durações das categorias comportamentais individuais dos cães do grupo L, antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental, com desvio padrão.....34
- Figura 9:** (a) Cães em repouso. (b) Cães olhando para fora do canil. (c) Cães brincando. (d) Comportamento de dominância. Letícia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2016. ....35
- Figura 10:** Disposição do Índice de Diversidade Comportamental (IDC) durante as observações de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo L.....36
- Figura 11:** Distribuição do tempo em porcentagem dos comportamentos realizados pelos cães do grupo L.....36
- Figura 12:** Representação gráfica das concentrações de cortisol nos períodos de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo L.....37

## **EFEITOS ETOLÓGICOS E ENDÓCRINOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O BEM-ESTAR DE CÃES MANTIDOS EM CANIL**

**RESUMO** – O enriquecimento ambiental consiste em técnicas para modificação do ambiente físico ou social de animais mantidos em cativeiro. Utilizado desde a década de 1970 para promover o bem-estar de animais silvestres cativos, o enriquecimento ambiental ainda é pouco utilizado para animais domésticos. A falta de desafios na vida doméstica de um animal tende a gerar distúrbios comportamentais. Estes distúrbios têm sido apontados como a maior causa de abandono de cães e gatos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a promoção de bem-estar em cães de biotério e cães de Terapia Assistida por Animais (TAA), através de técnicas de enriquecimento ambiental, sendo avaliado o comportamento, a diversidade comportamental e as concentrações de cortisol sérico. Nos cães de biotério, foi possível observar diminuição de comportamentos de ansiedade e vocalização. Já nos cães de TAA, houve diminuição dos comportamentos de atenção e aumento dos comportamentos de brincadeira. Houve diferença significativa da diversidade comportamental somente no grupo dos cães de biotério e os mesmos também obtiveram diminuição significativa nas concentrações de cortisol. Não foi detectada correlação entre a diversidade comportamental e as concentrações de cortisol. O enriquecimento ambiental mostrou-se uma técnica eficaz para promover o bem-estar de cães mantidos em biotérios, mas não se mostrou tão eficaz em cães de TAA mantidos em canil, fazendo-se necessário a investigação de técnicas diferentes para este grupo de cães de trabalho.

**Palavras-Chave:** comportamento, cortisol, manejo

## **BEHAVIOURAL AND ENDOCRINE EFFECTS OF ENVIRONMENTAL ENRICHMENT ON KENNEL DOGS WELFARE**

**ABSTRACT**– Environmental enrichment is used to modify the physical or social environment of animals kept in captivity. Used since the 1970s to promote the welfare of captive wild animals, environmental enrichment is still little bit used for domestic animals. The lack of challenges in the domestic life of an animal tends to generate behavioral disorders. These disorders have been pointed out as a major cause of abandonment of dogs and cats. The objective of this work was to promote well-being in lab dogs and dogs of Animal-Assisted Therapy (AAT), through environmental enrichment techniques. Behavior, behavioral diversity and serum cortisol concentrations were evaluated. In the lab dogs, it was possible to observe the reduction of anxiety and vocalization behaviors. In AAT dogs, there was a decrease in attention behaviors and an increase in play behavior. There was a significant difference in the behavioral diversity only in the group of the lab dogs and they also obtained a significant decrease in cortisol concentrations. There was no correlation between a behavioral diversity and cortisol concentrations. Environmental enrichment has proved to be an effective technique to promote the welfare of dogs kept in labs, but it has not been shown to be effective in work dogs from AAT kept in kennels, thus making it necessary to investigate different techniques for this group.

**Keywords:** Behaviour, Cortisol, animal husbandry

## I. INTRODUÇÃO

O estudo do comportamento animal teve sua origem conhecida com Aristóteles – que escreveu sobre emoções e inteligência em animais. Já no século XIX, Charles Darwin, em seu livro “A expressão das emoções no homem e nos animais”, explorou como humanos e outros animais transmitem suas emoções e agem impulsivamente baseados na mesma. A transição para a ciência moderna veio no começo do século XX com George Romanes e Konrad Lorenz, onde o estudo do comportamento animal ficou conhecido como Etologia (BREED; MOORE, 2011).

Uma das áreas da Etologia é o estudo do bem-estar e ética animal. Feijó, Santos e Grey (2010), constataram uma crescente preocupação da sociedade com a crueldade animal. Contudo, os autores ressaltam a importância da não antropomorfização dos comportamentos e necessidades dos animais – para atingir uma ética que respeite as individualidades de cada espécie, visando o bem-estar destes animais.

O estudo científico do comportamento animal, os conhecimentos dos processos de evolução natural, os relatos neurofisiológicos e as similaridades genéticas entre espécies, geram dados para o reconhecimento da complexidade da vida animal individual, sendo fundamentais para definições sobre o bem-estar (MOLENTO, 2007).

A avaliação do bem-estar animal tem sido baseada no estudo endocrinológico e parâmetros comportamentais. Os hormônios são os mensageiros que ajudam a integrar as funções fisiológicas ao comportamento. Normalmente regulam mudanças à longo prazo, como desenvolvimento juvenil e mudanças estacionais (BREED; MOORE, 2011).

Medidas comportamentais também são importantes para a avaliação do bem-estar. Comportamentos anormais, como estereotípias, automutilação ou comportamento agressivo, indicam baixo grau de bem-estar. Todas as estereotípias tendem a ocorrer em circunstâncias nas quais os indivíduos não tem controle sobre suas interações com o seu meio ambiente (BROOM; FRASER, 2010).



Hurnik (1992) definiu o bem-estar como o estado de harmonia entre o animal e seu meio ambiente, caracterizado por condições físicas e fisiológicas ótimas e alta qualidade de vida dos animais. Porém, estes podem estar em ótimas condições físicas e estar bem nutridos, mas estarem sofrendo mentalmente. Sendo assim, a manifestação de comportamentos de dor, angústia, medo, frustração, agressividade e parâmetros endócrinos indicativos de estresse constituem-se em evidências de que não há bem-estar animal.

Canis são comumente conhecidos como ambientes estressantes gerando comportamentos compulsivos e repetitivos, devido ao confinamento, tédio, lotação ou isolamento social (PRYOR, 2002). Para reduzir estes comportamentos tem sido utilizado o enriquecimento ambiental e medicamentos psicotrópicos (WELLS, 2009).

Heath e Wilson (2014) defendem o enriquecimento ambiental para cães mantidos em canis, abrigos ou casas, devido aos seus benefícios na saúde mental e física.

O enriquecimento ambiental é uma área do manejo animal que têm como objetivo aumentar a qualidade de vidas de animais mantidos em cativeiro, fornecendo estímulos para comportamentos típicos da espécie, reduzindo o estresse e tornando o ambiente mais complexo (SHEPHERDSON, 1993).

Contudo, os trabalhos a respeito do bem-estar de cães mantidos em canis de pesquisa, ainda que com condições ambientais e de manejo adequadas, são escassos. Por outro lado, o bem-estar de cães de trabalho é condição essencial, não somente pelos aspectos éticos e humanitários como, também, para o bom rendimento laboral destes animais, o que justifica a realização de estudos a respeito.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o comportamento e a concentração de cortisol em cães de experimentação e em cães de Terapia Assistida por Animais, durante a permanência em canil e os efeitos do enriquecimento ambiental neste comportamento, na hipótese de que o enriquecimento ambiental possa ser eficiente em reduzir estresse e aumentar o bem-estar de cães mantidos em canis.

## II. REVISÃO DE LITERATURA

**Fisiologia do estresse** - Um agente estressor é aquele que possui capacidade para alterar a homeostasia, provocando a ativação do eixo hipofisário-pituitária-adrenal (HPA). Esses agentes estressores podem ser fome, dor, calor/frio, ansiedade, medo, entre outros (DUKES, 1996).

O cortisol é produzido como uma consequência da produção da interleucina 1-beta pela ativação do eixo HPA e em seguida, do hormônio liberador de corticotrofina, que leva à liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), a partir da adeno-hipófise. O ACTH estimula a glândula adrenal, cuja parte mais externa, o córtex adrenal, produz glicocorticoide e o libera no sangue (BROOM; FRASER, 2010).

O glicocorticoide cortisol é produzido pelo eixo HPA em primatas, na ordem Carnívora, na antiga ordem Ungulata e em peixes, e tem função de disponibilizar mais energia, a partir de reservas de glicogênio (BROOM; FRASER, 2010).

Em níveis normais, há aumento das enzimas necessárias para a conversão de aminoácidos em glicose pelas células hepáticas que provocam a modificação de aminoácidos a partir dos tecidos extra-hepáticos, principalmente dos músculos. Esses efeitos do cortisol permitem que outros hormônios glicolíticos, tais como epinefrina e glucagon, mobilizem glicose em momentos de estresse (HALL, 2011).

Praticamente, qualquer tipo de estresse físico ou neurogênico provoca aumento imediato e acentuado da secreção de ACTH pela hipófise anterior seguido, minutos depois, por grande aumento na secreção adrenocortical de cortisol (HALL, 2011).

Alguns dos diferentes tipos de estresse que aumentam a liberação de cortisol são traumas de praticamente qualquer tipo: infecção, calor ou frio intenso, injeção de norepinefrina e outros fármacos simpatomiméticos, cirurgia, injeção de substâncias necrosantes sob a pele, restrição dos movimentos do animal e praticamente qualquer doença debilitante (HALL, 2011).

**Influência hormonal no comportamento** - O bem-estar animal pode ser analisado por avaliações comportamentais em conjunto com avaliações fisiológicas. Nos vertebrados, vários hormônios como estrogênio, testosterona, progesterona, prolactina, ocitocina e vasopressina têm papel na expressão comportamental (BREED; MOORE, 2011).

O estrogênio, por exemplo está ligado à receptividade sexual feminina e na maturação. Já a testosterona está ligada à receptividade sexual masculina, maturação e dominância. O comportamento parental está ligado à progesterona e à prolactina (BREED; MOORE, 2011).

O hormônio cortisol está relacionado ao comportamento de estresse. Sabe-se que o estresse aumenta a atividade do eixo HPA e resulta no aumento da secreção de corticosteroides a partir do córtex adrenal. O cortisol e corticosterona são, portanto, muitas vezes utilizados como biomarcadores para o estresse e transtornos depressivos (GONG et al., 2015).

A adrenalina também possui papel determinante no estado de estresse. É um neurotransmissor e um hormônio simpaticomimético derivado da tirosina e secretado pelas glândulas suprarrenais. Em momentos de estresse, as suprarrenais secretam quantidades abundantes de adrenalina que preparam o organismo para esforços físicos (BERECK; BRODY, 1982).

Este hormônio também desencadeia o estado de alerta e o comportamento de “lutar ou correr” que é frequentemente visualizado em reações de medo ou desconforto. Os efeitos do aumento de adrenalina no sangue são o aumento das frequências cardíaca e respiratória, e a vasoconstrição. Verifica-se, portanto, que assim como os hormônios desencadeiam comportamentos, o ambiente também influencia na fisiologia animal, afetando o bem-estar (BREED; MOORE, 2011).

Outra alternativa para avaliação do bem-estar animal é a mensuração da ocitocina, conhecida como hormônio do prazer. É um hormônio nonapeptídeo secretado no núcleo paraventricular do hipotálamo e, posteriormente, armazenado na neurohipófise. Este hormônio melhora a resposta ao estresse induzido pela redução da secreção de hormônio adrenocorticotrófico e cortisol. Juntamente com outros hormônios e neurotransmissores, a ocitocina participa de comportamentos essenciais

para que se produzam vínculos sociais e amorosos, bem como, da manutenção destes vínculos (DACOME; GARCIA, 2008).

**Redução do estresse e enriquecimento ambiental** - O enriquecimento ambiental tem objetivo de tornar o ambiente mais adequado às necessidades comportamentais dos animais. É uma área do manejo animal que visa a redução do estresse e a diminuição de distúrbios comportamentais para que os animais alcancem o seu bem-estar físico e psíquico (CAMPOS et al., 2010).

O bem-estar também depende do ambiente e, no caso de cativeiro, o espaço disponível. Muitas vezes, por exemplo, uma espécie que necessita de grande espaço para locomoção é mantida em gaiolas pequenas ou com lotação excessiva, limitando os movimentos do animal e impedindo manifestações comportamentais naturais (SILOTO et al., 2009).

As técnicas de enriquecimento ambiental são divididas em enriquecimento físico (relacionada à estrutura física do recinto), enriquecimento sensorial (introdução de elementos que estimulem os cinco sentidos), enriquecimento cognitivo (mecanismos para estimular capacidades intelectuais), enriquecimento social (interação intra ou inter-específica criada dentro do recinto) e enriquecimento alimentar (estabelecer certa dificuldade em obter alimentos, estimulando o forrageamento) (DOMINGUEZ, 2008).

Os parâmetros que podem ser alterados por meio de técnicas de enriquecimento ambiental são: diminuição do nível de excitabilidade dos animais diante de procedimentos de manipulação experimental, melhoras nas condições gerais de saúde, redução dos níveis de agressão intraespecífica, redução da frequência de comportamentos estereotipados e melhora no comportamento social com o grupo e redução da ociosidade (SAAD; SAAD; FRANÇA, 2011).

**Diversidade Comportamental** - O Índice de diversidade de Shannon é utilizado em Ecologia para medir a diversidade em dados categóricos. O índice também tem sido utilizado para calcular a diversidade comportamental em estudos de ecologia comportamental, etologia aplicada e bem-estar animal (SHEPERSON et al., 1993).

**Animais de biotério** - Várias áreas do conhecimento científico fazem a utilização recorrente de animais para pesquisas (BAUMANS; VANLOO, 2013). Os efeitos do ambiente e do manejo podem afetar os resultados destas pesquisas e diminuir a reprodutibilidade dos resultados (FAITH; HUERKAMP, 2009).

Taylor et al. (2008) estimaram que em 2005, foram criados 115,3 milhões de vertebrados para experimentação. O enriquecimento ambiental aumenta a qualidade de vida do animal, porém as técnicas são utilizadas mais comumente em estudos de neurociência e pouco em reconhecimento da necessidade de bem-estar na vida do animal (FISCHER et al., 2016).

Em animais de laboratório, o estresse é causado principalmente por manejos incorretos, desconforto, estímulos de medo e incapacidade de manter padrões normais de comportamento. Porém a maior causa de estresse nestes animais é a dor. Ao sentir dor, o animal tenta se adaptar por meio de posturas ou comportamentos estereotipados (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

A preocupação com o bem-estar de animais de experimentação fez com que em 1959, Russel e Burch idealizassem o Princípio dos 3Rs (Replacent, Reduction e Refinement), que defendia a substituição de animais por cultura de tecidos e modelos em computador, diminuição do número de animais utilizados e utilização de técnicas menos invasivas. O princípio é ainda hoje discutido e estimulado (CRISSIUMA; ALMEIDA, 2006).

Russel e Burch, em 1959, também consideraram o enriquecimento ambiental como uma necessidade ética no ambiente dos animais de laboratório sendo, porém, ainda pouco utilizado em biotérios por representar trabalho extra na rotina de limpeza e manejo. Entretanto, animais mantidos em ambientes artificiais são modelos menos adequados para extrapolação de resultados experimentais para humanos e a ausência de esconderijos para que o animal se sinta seguro, impede a expressão normal de comportamentos (NEVES; MANCINI; MENEZES, 2013).

Os efeitos benéficos do enriquecimento ambiental em animais de laboratório podem ser obtidos sem prejudicar a validade dos dados das pesquisas que utilizam estes animais. Diminuindo os níveis de estresse e contribuindo para a expressão

natural de comportamentos, os dados experimentais se mostram mais confiáveis e reprodutíveis (MEDINA, 2012).

Contudo, sistemas de alojamento para animais de laboratório têm sido concebidos, frequentemente, com base em aspectos econômicos e ergonômicos com pouca ou nenhuma consideração para o bem-estar animal. As técnicas de cuidado e manutenção tradicionalmente utilizadas em animais de laboratório, não incluem, normalmente, as necessidades específicas de espécies em relação ao seu ambiente (BAUMANS, 2005).

Cães da raça Beagle são utilizados em pesquisas há muito tempo. Recentemente, começou-se a observar uma crescente pressão da população por considerarem estas pesquisas cruéis ou que os cães não devem ser mantidos em biotérios por toda a vida (GRAEBIN, 2014).

O canil experimental da Faculdade de Medicina Veterinária-UNESP Araçatuba, mantém cães da raça Beagle, adquiridos de biotério oficial, para desenvolvimento de pesquisas na área de anestesiologia veterinária e em treinamento de estudantes de graduação e pós-graduação.

**Animais utilizados em Terapia Assistida por Animais** - Por séculos, os animais têm sido utilizados para modificação do comportamento humano. Instituições de saúde desenvolvem formas alternativas de humanizar a assistência ao paciente hospitalizado e entre essas atividades está a Terapia Assistida por Animais (TAA). A TAA é uma intervenção direcionada, individualizada e com critérios específicos em que o animal é parte integrante do processo do tratamento (KOBAYASHI et al., 2009).

Vários estudos evidenciam o benefício da TAA com a redução dos níveis de estresse em pessoas submetidas a procedimentos médicos. A interação animal diminui a concentração de componentes fisiológicos do estresse (VIRUÉS-ORTEGA; COX, 2016).

Esses benefícios são utilizados desde os anos 1700, em que animais domésticos e de fazenda eram utilizados em instituições de tratamento psiquiátrico. No século 18, a equoterapia começou a ser utilizada no tratamento médico. Na Alemanha, em 1867, pessoas já eram tratadas com TAA. No Brasil, os primeiros relatos surgem em 1955 (DOTTI, 2005).

O cão tem sido uma das espécies mais utilizadas em TAA, por seu comportamento social e pela proximidade ao ser humano. Diversos estudos mostram o benefício dessa atividade para pacientes de hospitais, que reportam sentimentos positivos após a visita dos cães, além de benefícios a longo prazo (REED; FERRER; VILLEGAS, 2012).

Arqueólogos sugerem que a relação entre cães e humanos surgiu há 140.000 anos. Atualmente, os cães possuem vários papéis na sociedade, não só como pets, mas também são empregados na polícia, no exército e na saúde (BARDILL; HUTCHINSON, 1997; SOLOMON, 2010).

Um cão terapeuta auxilia na terapia em processos de reabilitação em Terapia Ocupacional, fisioterapia, fonoaudiologia, reabilitação cognitiva, entre outros (STAPLETON, 2016).

Estudos constataam altos níveis de estresse em cães de trabalho, devido ao tempo de permanência no canil. O estresse afeta o trabalho realizado pelo cão, sendo necessário o estabelecimento de ligações entre o bem-estar e o trabalho (ROONEY et al., 2009).

O projeto Cão-Cidadão-Unesp é um projeto de extensão da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP no qual são utilizados cães da raça labrador retriever na TAA de pacientes com necessidades especiais e idosos.

### III. MATERIAL E MÉTODO

**Animais e manejo** - Os cães utilizados neste estudo pertencem à UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba e constituem dois grupos distintos, sendo o número de animais utilizados igual ao número disponível de animais nos canis da faculdade:

Grupo B: cães da raça Beagle utilizados em ensaios biológicos e em aulas práticas do curso;

Grupo L: cães da raça Labrador Retriever utilizados em Terapia Assistida por Animais.

No canil do grupo B, foram incluídos no estudo cinco cães da raça Beagle destinados a pesquisa e ensino na área de anestesiologia veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba UNESP.

Os cães – dois machos e três fêmeas – todos adultos, foram adquiridos de biotério comercial para a realização de experimentos. Chegaram às dependências da faculdade com seis meses de idade e permaneceram nestas instalações por três anos, sendo utilizados em alguns ensaios anestesiológicos e na realização de aulas práticas aos alunos de graduação em medicina veterinária. No momento de utilização neste trabalho, os cães já estavam há dois anos e meio no canil da faculdade e totalmente ambientados.

No segundo grupo (L), foram observadas três cadelas da raça Labrador Retriever pertencentes ao projeto de TAA Cão-Cidadão-Unesp de Araçatuba-SP. Os animais nasceram no próprio canil, foram adestrados para as atividades e saem todos os dias da semana para o atendimento do projeto às instituições.

Todos os animais são mantidos em canil coberto à noite, em baias individuais. Durante o dia, das 8 às 18 horas, são mantidos em solários coletivos, com acesso a ambientes de sol e sombra, ao ar livre.

O manejo alimentar constituiu-se no oferecimento de ração comercial seca de boa qualidade (super premium), em quantidades determinadas de acordo com o porte de cada animal, duas vezes ao dia (8 e às 18 horas) e acesso irrestrito a água limpa e fresca.

Os cães são vermifugados a cada seis meses com vermífugos de amplo espectro e periodicamente são realizados exames parasitológicos para pesquisa de helmintos ou protozoários.



O esquema de vacinação utilizado é o preconizado pelo setor de Clínica Médica de Pequenos Animais da faculdade qual seja: vacinação antirrábica, polivalente V10 (parvovirose, coronavirose, cinomose, hepatite infecciosa, laringotraqueíte, prainfluenza e leptospirose) e contra Leishmaniose Canina, anualmente.

Ao iniciar este trabalho, os cães foram avaliados por médicos veterinários do Hospital Veterinário, atentando a sanidade de todos os indivíduos.

**Delineação experimental** - A avaliação comportamental dos cães foi contabilizada em etogramas baseados em Palma et al. (2005) (Tabela 1), por meio do método de Focal Sampling. Os animais foram observados por câmeras de filmagem (Canon Powershot SX400IS e DVR HD) durante o fim de semana, quando os mesmos não possuem atividades e são mantidos nos solários durante todo dia. Foram realizadas cinco observações de 30 minutos cada, sempre durante o dia, em dois momentos experimentais: antes e depois do enriquecimento ambiental.

Tabela 1 – Etograma (PALMA et al., 2005) utilizado para análise comportamental

Categoria Comportamental	Comportamentos
Ansiedade	Coçar, circular, tremer, choramingar, automutilar, lambe objetos, bocejar.
Agressividade	Rosnar, pelo eriçado, morder.
Atenção	Orelhas levantadas, olhar para fora, olhar para o ambiente, olhar para outro cão levantar pata dianteira, farejar o ambiente, farejar outro cão, farejar objetos.
Atividade	Andar, trotar, escavar, correr.
Brincadeira	Brincar, chamando para brincar.
Dominância	Montar, urinar com a perna levantada.
Medo	Cauda entre as patas, próximo ao chão, tenso, salivar, tentado escapar.
Ociosidade	Deitar, sentar, dormir.
Sociabilidade	Balançar a cauda, lambe e/ou farejar área ano genital de outro cão.
Vocalização	Latir.

Após realizadas as cinco avaliações sem o enriquecimento ambiental, foram incluídos cinco tipos de enriquecimento ambiental: alimentar (frutas congeladas) social (passeios para socialização com alunos do campus), cognitivo (quebra-cabeças, petiscos escondidos e aulas de adestramento), sensorial (grama, estopa e brinquedos pendurados por sisal) e físico (fonte de água corrente, túnel casinha, piscina de bolinhas) (Figura 1 e 2), e mais cinco avaliações foram feitas, da mesma maneira como anteriormente.



Figura 1 - Enriquecimento Ambiental realizado no canil experimental. Leticia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2015.



Figura 2 - Enriquecimento Ambiental realizado no canil de TAA. Letícia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2016.

Para avaliação hormonal. Foram colhidas amostras sanguíneas em cinco dias, com intervalo de sete dias entre si, nas duas etapas de avaliação. As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular no volume de 5ml, sendo imediatamente centrifugadas para extração do plasma e congelados a  $-80^{\circ}\text{C}$  para análise laboratorial em uma única etapa, ao final dos períodos de coleta.

O método de dosagem utilizado foi o imunoenensaio competitivo de fase sólida de enzimas químico-luminosas (fosfatase alcalina). Foram utilizados  $10\mu\text{l}$  da amostra para dosagem com o Kit Immulite Cortisol (Lote 0419 nº de catálogo LKCO1). Para construção da curva foi utilizado plasma canino tratado com carvão ativado. A dosagem foi realizada no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba.

**Avaliação dos dados** - Os vídeos obtidos foram analisados por meio do *software* AviTricks, permitindo a visualização em câmera lenta e aproximações, seguindo a metodologia *Focal Sampling*. Os comportamentos foram contabilizados em duração (segundos) e anotados em fichas. Foram comparados os resultados obtidos nas etapas anteriores e posteriores à introdução do enriquecimento ambiental, utilizando utilizando-se teste t pareado.

Foi calculado o Índice de Diversidade Comportamental (IDC) (SHANNON; WEAVER, 1949) adaptado por Sheperson et al. (1993), através do software PAST, para verificar a correlação da diversidade apresentada com as concentrações de cortisol pelo teste de Spearman. O IDC também foi comparado entre os períodos anterior e posterior ao enriquecimento ambiental.

Foram comparados os resultados das concentrações de cortisol entre o período anterior e o período posterior ao enriquecimento ambiental através do teste *t* pareado. Os valores de cortisol plasmático também foram correlacionadas ao IDC pelo teste de Spearman.

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do *software* BioEstat 5.0, considerando o nível de confiança de 95% após realização do teste de normalidade Shapiro-Wilk.

#### **IV. Resultados**

**Grupo B** - Apenas dois itens foram destruídos pelos cães (bolinhas), sem prejuízo ao projeto.

Os comportamentos de agressividade, medo e subordinação não foram observados em nenhuma ocasião. O comportamento de Ansiedade diminuiu significativamente ( $p=0,011$ ) ao longo do experimento. A vocalização também foi diminuída significativamente ( $p=0,034$ ). O comportamento de Necessidade aumentou significativamente ( $p=0,005$ ).

As médias e o desvio padrão de cada categoria comportamental estão dispostas da Tabela 2 e Figura 3.

Tabela 2 - Médias das durações dos comportamentos antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental, os respectivos desvios padrões (S) e o p valor encontrado através do teste t pareado dos cães do grupo B

Cão	ANS				ATE				ATI				BRI				DOM				NEC				OCI				SOC				VOC			
	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S
AÇU	97,6	51	48	31	314	63	261	83	517	63,7	451	89,6	5	8	7,6	25,4	0	0	0	0	93,6	41	139	24	539	73,7	755	94,8	100	27	43	21,6	110	41	36	9,3
ALA	128	73	21	15	310	58	310	85	506	45,3	501	53,7	0	0	0	0	137	30	150	35	224	29	244	66	331	67,2	429	96,2	23	21	32	19,7	94	51	57	37
ALI	82,8	63	54	54	342	36	189	85	422	106	470	91,7	5	8	7,9	15,8	0	0	0	0	94,8	52	128	63	637	179,3	737	115,8	79	61	36	23,8	109	32	79	46
ANA	107	86	16	6,4	329	49	210	76	482	47,2	441	40,5	0	0	51	32,9	0	0	0	0	44	35	106	44	736	181,8	915	105,5	57	55	39	34,5	0	0	0	0
AST	85	33	37	19	251	45	336	79	509	59,8	413	44,4	0	0	0	0	152	9,2	186	58	210	20	270	60	371	81,7	383	72,2	59	23	42	11,3	107	68	55	25
p Valor	<b>0,011</b>				0,318				0,27				0,102				0,23				<b>0,005</b>				<b>0,027</b>				0,09				<b>0,034</b>			

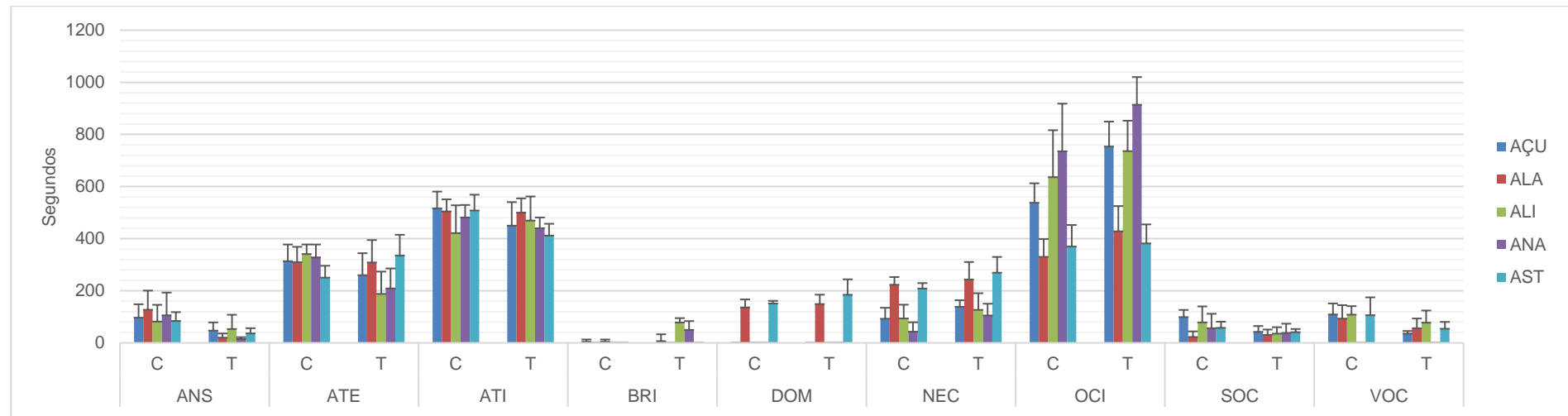


Figura 3 - Representação gráfica das durações das categorias comportamentais individuais dos cães do grupo B, antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental e o desvio padrão.

Apesar de ser um dos objetivos do enriquecimento ambiental, a diminuição da Ociosidade não foi constatada. Ao contrário, foi observado um aumento significativo ( $p=0,027$ ). Não houve diferença significativa nos comportamentos de Brincadeira ( $p=0,084$ ).

Alguns dos comportamentos apresentados estão representados na Figura 4.



Figura 4 - (a) Cães olhando para o Hospital Veterinário. (b) Cão bebendo água na fonte implantada. (c) Cães em repouso. (d) Comportamento exploratório. Letícia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2015.

Houve diferença significativa entre os IDC de antes e depois do enriquecimento ambiental ( $p=0,05$ ) (Tabela 3; Figura 5).

Tabela 3 - Índice de Diversidade Comportamental (IDC) em cada categoria comportamental durante as observações antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental dos cães do grupo B

Categorias	C1	C2	C3	C4	C5	T1	T2	T3	T4	T5
ANS	108,6	96,6	126,2	75,2	84,6	14,2	23,2	55,6	45,6	37,2
ATE	297,2	294,8	341,2	285,4	315,2	277,4	241	236,6	254,8	295,6
ATI	472,2	481,8	475,4	507,2	493,8	468,2	433,2	451,4	463	460
BRI	6,8	0	0	4	0	33,2	35,8	43,8	35,8	29
DOM	73,4	61,6	54,2	46	63	79	87,8	46	60,6	62,2
NEC	143	125	145	106,6	155	165,4	238,4	149,8	150,8	183
OCI	544,8	546,6	454	610,2	502,8	642,2	596	684,6	660	635,2
SOC	43	72,8	67,2	45,2	85	36,4	28,4	44	43,8	39,8
VOC	71,8	83,2	83,6	88,4	57	38	53,4	51,6	45	39,2
<b>IDC</b>	<b>1,797</b>	<b>1,757</b>	<b>1,798</b>	<b>1,676</b>	<b>1,761</b>	<b>1,652</b>	<b>1,723</b>	<b>1,686</b>	<b>1,685</b>	<b>1,683</b>

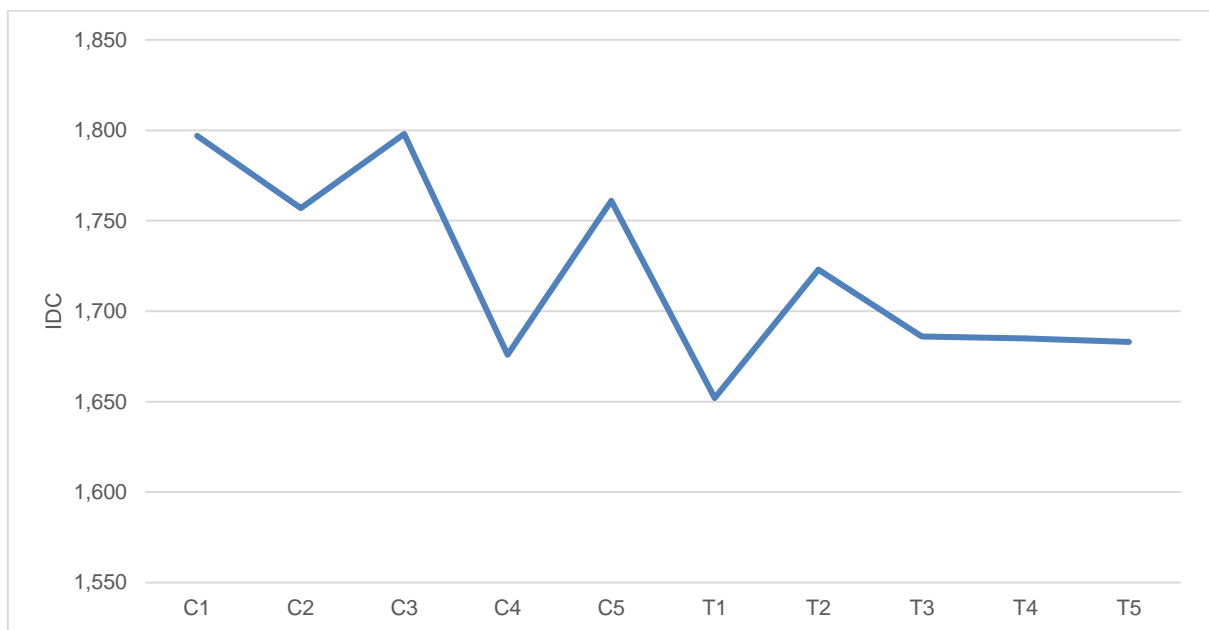


Figura 5 - Disposição do Índice de Diversidade Comportamental (IDC) durante as observações de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo B.

A Figura 6, demonstra a distribuição de tempo realizados nas categorias comportamentais, nos cães do grupo B.

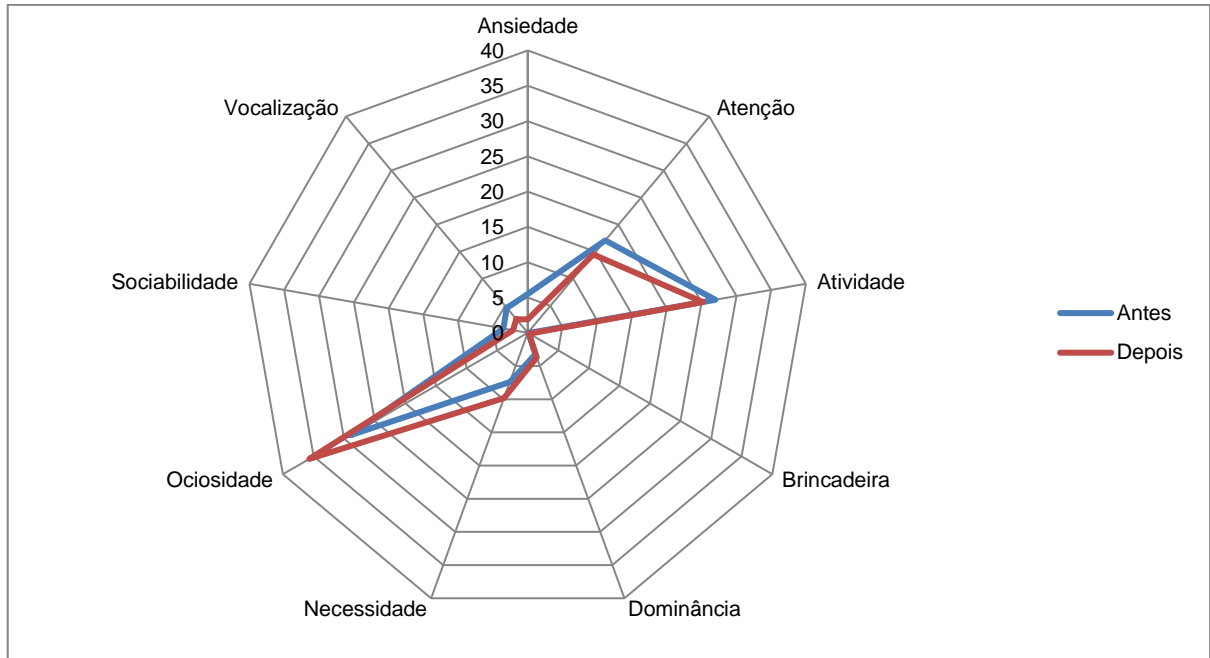


Figura 6 - Distribuição do tempo em porcentagem dos comportamentos realizados pelos cães do grupo B.

Houve diminuição significativa das concentrações de cortisol sérico ( $p=0,031$ ) (Tabela 4; Figura 7).

Tabela 4 - Concentrações de Cortisol Sérico ( $\mu\text{l/dL}$ ) nas amostras de sangue colhidas antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental, em cães do grupo B

Cão	C1	C2	C3	C4	C5	T1	T2	T3	T4	T5
AÇU	1,77	1,66	1,68	<1	1,93	<1	<1	1,15	1,31	1,3
ALA	1,45	1	1,93	<1	1,57	<1	1,06	1,75	1,01	2,03
ALI	1	1,99	1,22	<1	1,91	<1	1,52	1,31	1,02	1,55
ANA	1,81	2,32	3,21	1,53	2,82	1,72	1,33	1,71	2,37	2,35
AST	1,34	1,04	1,85	<1	1,41	<1	<1	<1	<1	<1



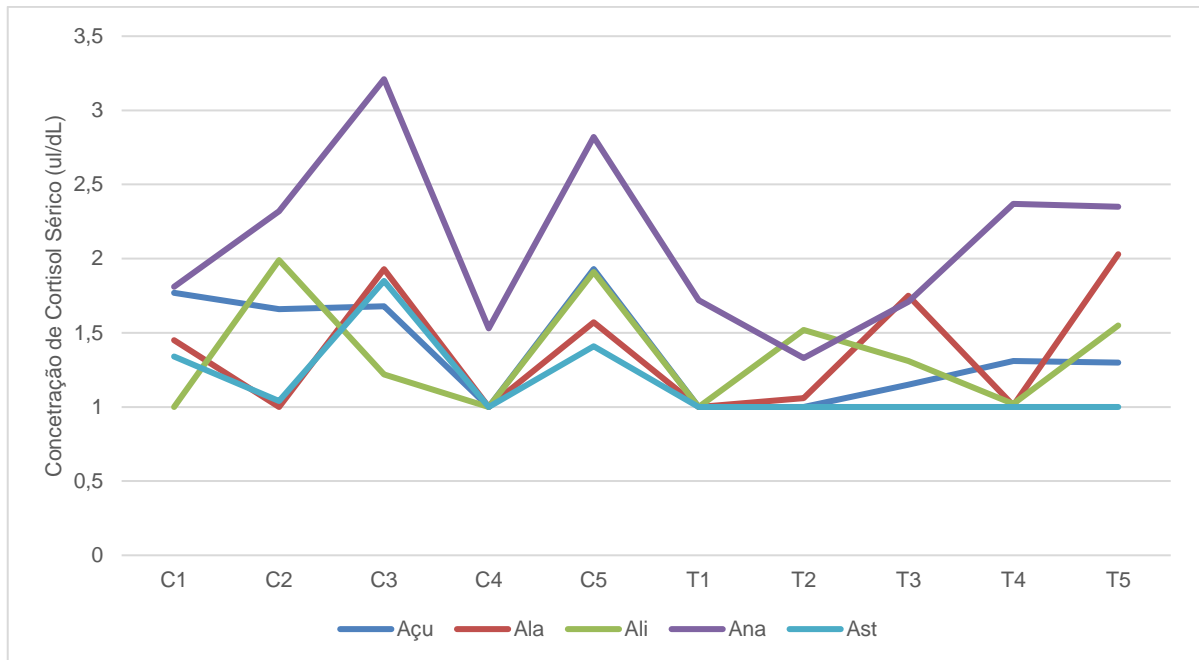


Figura 7 – Representação gráfica das concentrações de cortisol nos períodos de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo B.

**Grupo L** - Apesar do comportamento destrutivo não ser observado nas filmagens – não aumentando a duração do comportamento de ansiedade – foram encontrados vários itens destruídos e com marcas de mordidas.

Houve diminuição significativa no comportamento de atenção ( $p=0,0038$ ) e aumento significativo no comportamento de brincadeira ( $p=0,024$ ) (Tabela 5; Figura 8).

Tabela 5 - Médias das durações (segundos) dos comportamentos antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental, seus respectivos desvios padrões (S) e o p valor encontrado através do teste *t* pareado dos animais do grupo L

Cão	Ans				Ate				Ati				Bri				Dom				Nec				Oci				Soc				Sub				Voc			
	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S	C	S	T	S				
BON	108	71,6	111	54,4	<b>154</b>	105,7	<b>55,6</b>	83,6	279	74,2	339	33,7	<b>54</b>	27,7	<b>125</b>	14,9	0	0	0	0	93,7	79,6	70	33,9	664	86,3	686	77,8	258	79,9	252	83,1	18	28,8	19	21,5	172	211,3	142	203,3
BRA	152	48,8	152	73,3	<b>217</b>	80	<b>104</b>	68,8	233	97	298	80,1	<b>68</b>	24	<b>124</b>	7,5	0	0	0	0	101	60,3	72	28,7	663	104,6	697	78,5	170	107,5	222	47,8	44	41,9	14	27	153	52	117	166,3
FLO	140	176,1	109	78,5	<b>257</b>	79,4	<b>73</b>	49,6	306	94,9	264	61,3	<b>59</b>	42,7	<b>155</b>	23,4	66	66,6	35	20,5	44,5	51	61	21,9	699	105,1	940	76,3	38	24,7	38,2	13,5	0	0	0	0	192	251,5	124	135,4
p Valor	0,48				<b>0,038</b>				0,504				<b>0,024</b>				0,423				0,504				0,299				0,488				0,427				0,06			

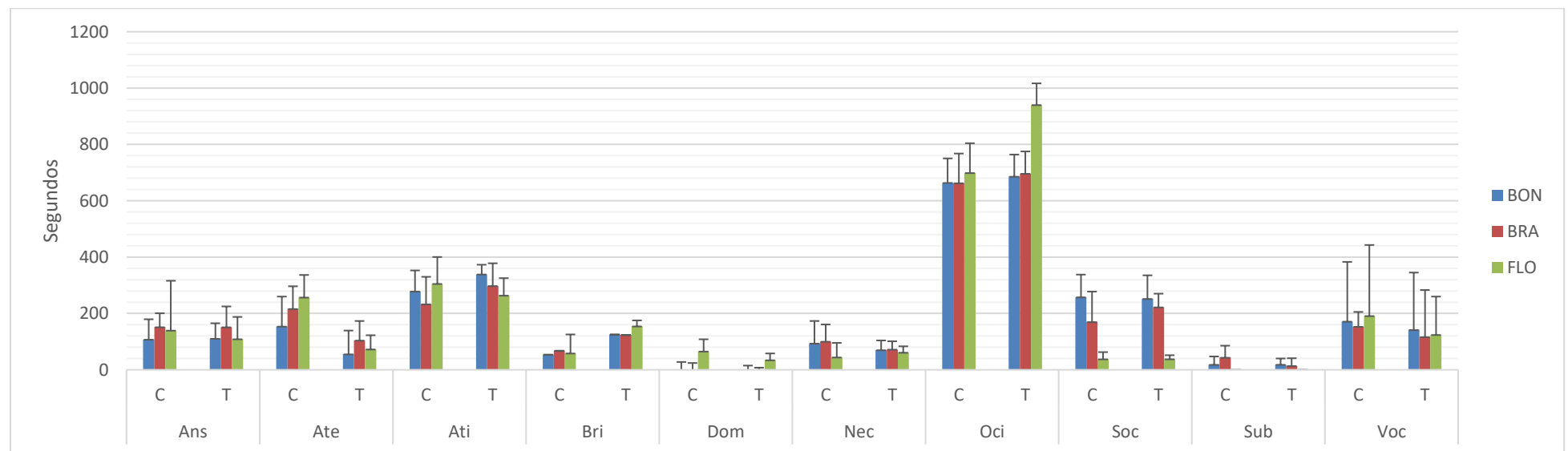


Figura 8 - Representação gráfica das durações das categorias comportamentais individuais dos cães do grupo L, antes (C) e depois (T) do enriquecimento ambiental com desvio padrão.

Alguns dos comportamentos apresentados estão representados na Figura 9.



Figura 9 - (a) Cães em repouso. (b) Cães olhando para fora do canil. (c) Cães brincando. (d) Comportamento de dominância. Letícia Vinhas Rampim, Araçatuba, 2016.

Não houve diferença significativa entre o IDC de antes e depois do enriquecimento ambiental ( $p=0,812$ ) (Tabela 6; Figura 10).

Tabela 6 - Índice de Diversidade Comportamental (IDC) em cada categoria comportamental durante as observações antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental dos cães do grupo L

Categorias	C1	C2	C3	C4	C5	T1	T2	T3	T4	T5
ANS	73,8	121	172	225	136	99,6	205	108	104	103
ATE	168	249	172	276	186	119	45	92	101	31,6
ATI	309	302	237	283	340	254	290	252	305	400
BRI	63,9	74,2	39,1	37,3	81,8	128	130	146	140	130
DOM	20,6	0	46,6	46,6	42	12,6	0	16,6	16,6	11,6
NEC	84	91,4	84,3	27	73,4	57	92	59	60	72
OCI	699	684	686	574	562	863	743	871	684	711
SOC	166	116	242	95,1	142	158	153	133	213	197
SUB	20,4	0	0	40	42,8	15	0	20,6	15,3	3,3
VOC	195	162	121	195	194	93,6	142	102	161	140
<b>IDC</b>	<b>1,847</b>	<b>1,799</b>	<b>1,856</b>	<b>1,922</b>	<b>1,996</b>	<b>1,708</b>	<b>1,751</b>	<b>1,712</b>	<b>1,859</b>	<b>1,739</b>

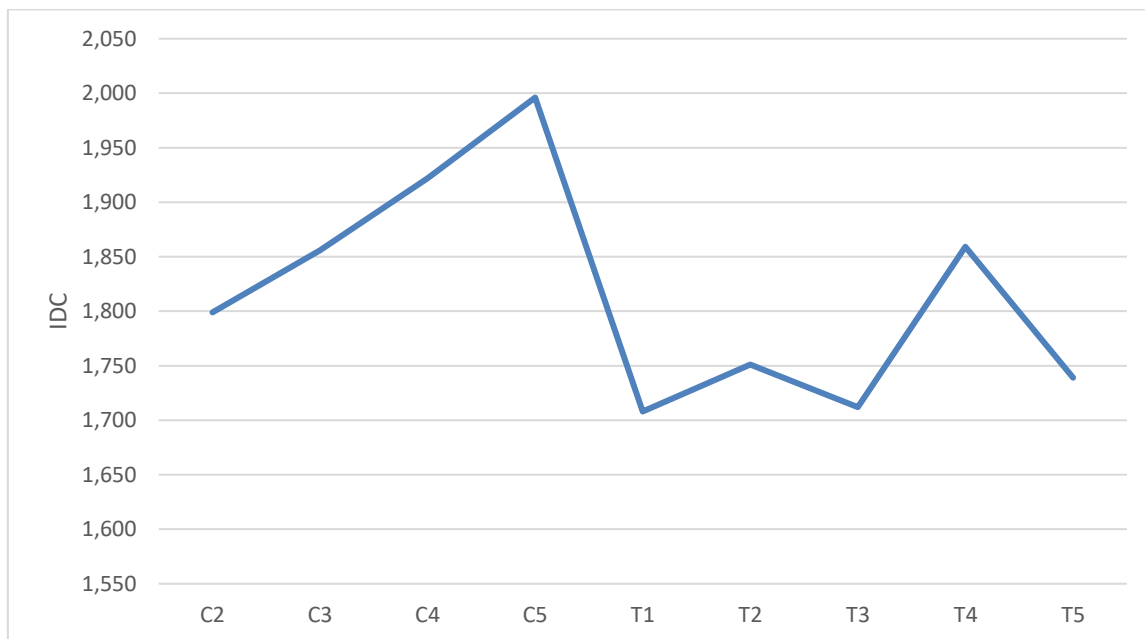


Figura 10 – Disposição do Índice de Diversidade Comportamental (IDC) durante as observações de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo L.

A Figura 11, demonstra a distribuição de tempo realizados nas categorias comportamentais.

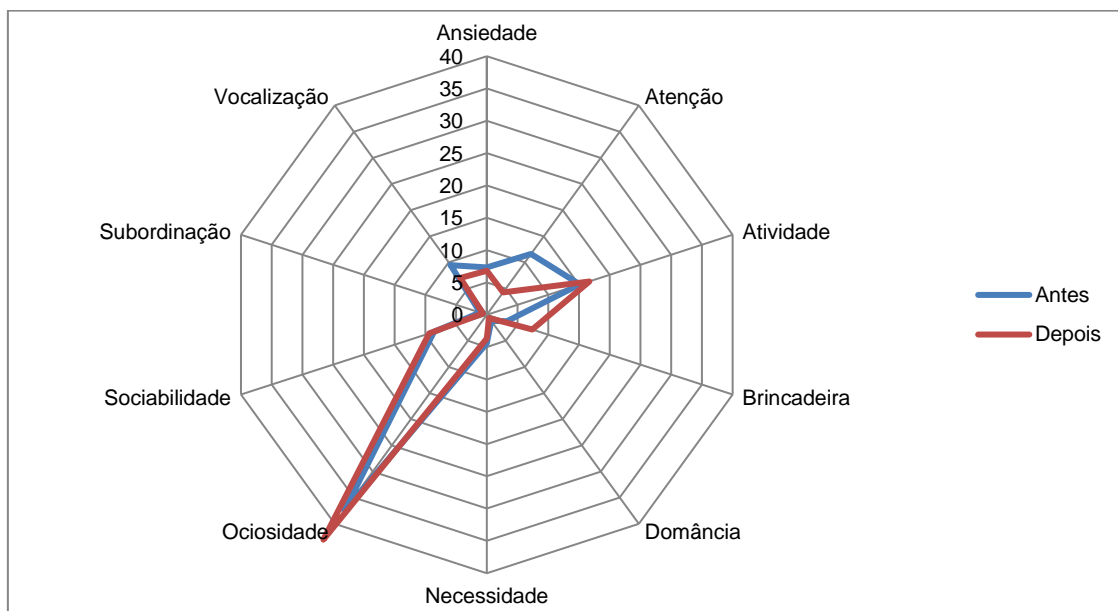


Figura 11 - Distribuição do tempo em porcentagem dos comportamentos realizados pelos cães do grupo L.

Não houve diferença significativa entre as concentrações de cortisol ( $p=0,43$ ) (Tabela 7. Figura 12).

Tabela 7 - Concentrações de Cortisol Sérico ( $\mu\text{l/dL}$ ) nas amostras de sangue colhidas antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) do enriquecimento ambiental, em cães do grupo L

Cão	C1	C2	C3	C4	C5	T1	T2	T3	T4	T5
Boneca	<1	1,2	<1	<1	2,92	1,32	1,65	<1	1,05	1,1
Branca	1,23	1,51	<1	<1	<1	<1	1,56	<1	<1	<1
Flor	1,31	<1	<1	1,36	1,35	<1	1,7	1,15	<1	<1

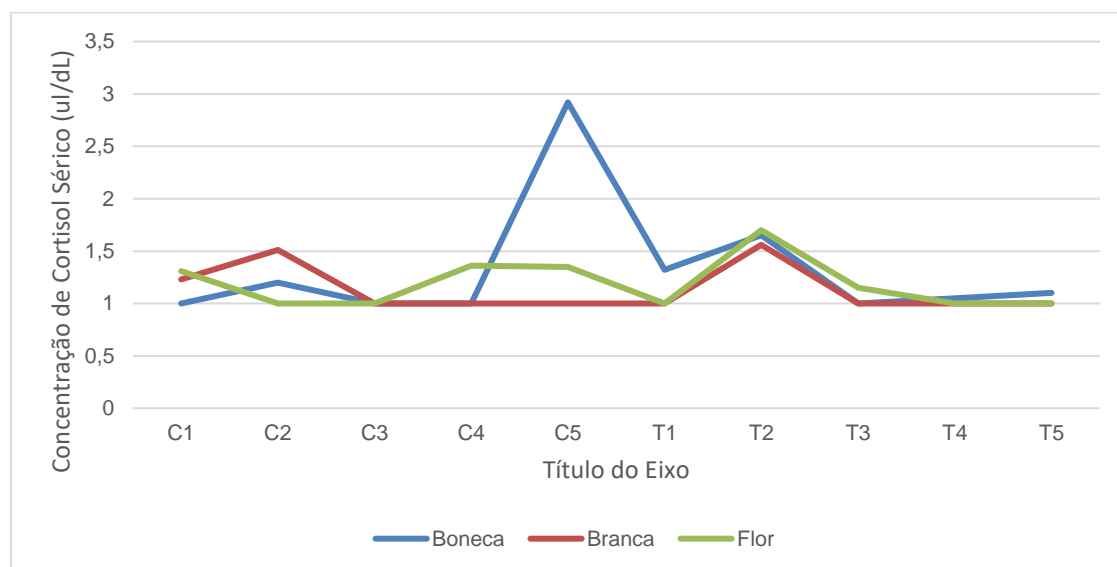


Figura 12 - Representação gráfica das concentrações de cortisol nos períodos de antes (C1 a C5) e depois (T1 a T5) dos cães do grupo L.

**Correlação** – Não houve correlação significativa entre a concentração de cortisol ( $\mu\text{l/dL}$ ) e o Índice de Diversidade Comportamental ( $r_s = -0,11$ ;  $p = 0,61$ ).

## V. DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão deste trabalho foram analisados separadamente por haver manejos diferentes nos dois canis, não sendo possível a comparação entre os grupos. As experiências vividas pelos grupos também

diferem abundantemente, influenciando seu comportamento. O único teste realizado com os dados dos dois grupos foi o teste de correlação de Spearman.

Considera-se como limitação deste estudo o número reduzido de animais em cada grupo, em especial no grupo dos Labradores (grupo L), em que foram utilizados apenas três cães. Contudo, as condições homogêneas das amostras (animais em mesmas condições ambientais, mesmo manejo) minimizam este problema., devendo-se levar em conta, ainda, o ineditismo do trabalho especialmente no que se refere a cães de TAA.

A não correlação demonstrou que o Índice de Diversidade Comportamental (IDC) não depende dos níveis de cortisol. O tempo gasto em poucas categorias comportamentais durante um determinado período não é desejado, segundo as técnicas de enriquecimento ambiental. Porém as baixas concentrações de cortisol sérico encontradas no presente estudo, demonstram que os cães não parecem sofrer estresse por este fato.

Provavelmente devido a variação do índice de Shannon ser baixa (1-3,5), não foi possível detecção significativamente estatística.

No caso do Grupo B, houve diminuição significativa do IDC, porém os outros parâmetros avaliados e a não correlação com as concentrações de cortisol revelaram pouca importância do IDC no bem-estar destes animais.

Em estudo de Catapani, Pires e Vasconcellos (2014), o índice foi utilizado para calcular a diversidade comportamental de 10 tamanduás-mirim em cativeiro sobre efeitos de enriquecimento social, onde foi possível detectar aumento significativo da diversidade, porém aliado à realização do etograma, pode-se concluir que a diversidade comportamental é um bom método de avaliação de animais silvestres. Tal fato não pôde ser confirmado no presente trabalho.

**Grupo B** - Segundo Landsberg et al. (2013), o comportamento destrutivo pode ser explicado pela presença de fobias, síndrome de ansiedade de separação, ambientes pobres em estímulos e outros possíveis transtornos de ansiedade. Foram adicionados mais de 30 itens ao ambiente, portanto a baixa

frequência de comportamentos destrutivos corrobora com a diminuição dos comportamentos ansiosos.

Em um estudo de caso de Veeder e Taylor (2009), uma cadela prenha de sete anos da raça Beagle foi submetida a eutanásia após apresentar letargia, desidratação, vômitos e posteriormente aborto dos filhotes. Na necropsia foram encontradas peças de plásticos no piloro do estômago. Estas peças pertenciam a uma cama que fazia parte do programa de enriquecimento ambiental do animal. O estudo enfatiza que enriquecimentos devem ser cuidadosamente avaliados antes da implementação.

Não foi observado nenhum comportamento de medo durante as observações, porém os cães demonstraram medo durante a coleta de sangue e durante interações com pessoas desconhecidas, principalmente do sexo masculino.

Segundo Foyer et al. (2014), as experiências vividas pelos cães no começo da vida, influenciam o desenvolvimento do comportamento. A adolescência também é um período importante e suas experiências causam efeitos à longo prazo. O medo apresentado pode ser explicado pelo histórico dos cães, como por exemplo, os experimentos e as aulas práticas onde os mesmos eram utilizados. Além disso, estes animais ao serem adquiridos, já com seis meses de idade, apresentavam comportamento arreado, face de medo e comportamento submisso ao contato com qualquer pessoa. Este comportamento foi se atenuando, sem, no entanto, desaparecer por completo ao longo do tempo de permanência nas dependências da FMVA primando sempre pelo manejo suave e não-violento destes cães.

A diminuição significativa da ansiedade e da vocalização é explicada pela adequação de ambiente e à existência de estímulos durante a fase de enriquecimento ambiental. McCrave (1991) caracterizou a ansiedade canina em comportamentos como: vocalização excessiva, comportamento destrutivo e realização de necessidades fisiológicas em locais inapropriados.

Antes do enriquecimento ambiental ser implantado, os cães expressavam comportamentos como circular e choramingar com as patas dianteiras apoiadas na mureta do canil, olhando para fora constantemente. O canil experimental está localizado ao lado do Hospital Veterinário e os cães respondiam a qualquer ruído com comportamentos de ansiedade e vocalização.

O aumento significativo da necessidade deveu-se, provavelmente, à implantação de uma fonte de água corrente, já que segundo Feldman et al. (2010), a água corrente estimula a ingestão hídrica em animais domésticos.

O aumento da ociosidade não pareceu causar danos ao bem-estar dos cães, levando em consideração a diminuição significativa da ansiedade, a não diferença significativa observada nos comportamentos de atividade e a afirmação de Arhant (2010) de que os cães são incapazes de descansar quando em estado de alerta, estresse ou ansiedade.

Houve pouco comportamento de brincadeira nas duas fases do experimento. A interação dos cães com os brinquedos foi basicamente investigativa, como o ato de farejar os objetos. O comportamento exploratório é tão importante quanto o comportamento de brincadeira. Anteriormente considerado um comportamento basicamente instintivo, o comportamento exploratório requer um alto nível de processamento sensorial. Um novo ambiente ou novos objetos oferecem oportunidades para aprender e explorar sendo essenciais para o desenvolvimento cognitivo da espécie. A exploração depende de circuitos precordiais intactos, bem como da função cerebelar (KELLEY et al., 1989; PIERCE; COURCHESNE, 2011; SIWAK et al., 2001). Desta maneira, apesar de não brincarem, o que pode ser explicado pela própria condição em que os animais cresceram, sem estímulos lúdicos na primeira infância, o interesse em investigar foi considerado positivo e produtor de bem-estar aos animais.

Em estudo de Hubrecht (1993), o autor comparou o enriquecimento social e físico sobre o bem-estar de beagles mantidos em biotério e mostrou que o enriquecimento ambiental pode aumentar a complexidade do repertório



comportamental dos cães, alterar a expressão de alguns comportamentos e ajudar a prevenir comportamentos indesejáveis. O enriquecimento físico é o mais recomendável, porém o autor defende que os funcionários do biotério devem ser incentivados a socializar com os cães.

A diminuição significativa das concentrações de cortisol sérico corrobora com os parâmetros comportamentais, podendo-se afirmar que o enriquecimento ambiental foi eficiente na promoção do bem-estar neste grupo.

Diminuições das concentrações de cortisol, através do enriquecimento ambiental e/ou social em cães também foram observadas em por Willen et al. (2016). O mesmo foi observado em animais silvestres, de produção e peixes (XINBO et al., 2015; CASAL et al., 2016; GIACOMINI et al., 2016).

**Grupo L** - Em estudo de 2015, os mesmos cães foram observados em canil fechado. Todos obtiveram uma alta frequência de comportamento de ansiedade. O fato foi explicado pela Síndrome de Ansiedade de Separação (SAS) (RAMPIM; NEGREIROS; OLIVA, 2015).

O comportamento destrutivo notado por alunos e funcionários após o enriquecimento ambiental demonstra que a técnica não foi efetiva para diminuição da ansiedade e, conseqüentemente, não pôde ser considerado um tratamento adequado para a SAS na situação apresentada.

Segundo King et al. (2000), o comportamento destrutivo quando os tutores não estão por perto é um dos principais sintomas da SAS. A hipervinculação é a condição necessária para a ocorrência da síndrome, através da rotina do cão e do tutor, havendo sinais de ansiedade em resposta ao afastamento da figura de vínculo (SOARES et al., 2010). Tais cães não possuem um único vínculo, pertencendo ao projeto de TAA e interagindo com diferentes pessoas sem, aparentemente, reconhecerem nenhuma delas como seu único ou preferencial tutor. No entanto, a falta de atividade e permanência no canil sem pessoas por perto, poderia, em nossa visão, desencadear a SAS.

A diminuição no comportamento de atenção pode ser explicada pelo aumento do comportamento de brincadeira, estimulado pelo enriquecimento ambiental. Um dos sintomas da SAS, o comportamento de ficar olhando para fora do canil, diminuiu significativamente. Segundo Soares et al. (2010), o comportamento de brincadeira é pouco realizado em cães com SAS.

Apesar disso, as outras categorias não obtiveram diferenças significativas, ao contrário de outros trabalhos que enriqueceram o ambiente de canis (HUBRECHT, 1993; PALMA et al., 2005; HERRON et al., 2014). O enriquecimento pode não ter sido o ideal para esses animais. Não há relatos de enriquecimento ambiental realizado para cães de TAA, portanto sugere-se que o enriquecimento ambiental para essa categoria de cães trabalhados necessita aprofundamento de estudos e o teste de outros tipos de estímulos além dos convencionalmente utilizados. Considera-se que este é um largo e aberto campo para estudo, tendo em vista o tipo de manejo e às características específicas de cães com perfil para TAA.

O enriquecimento ambiental não se mostrou importante no aumento da diversidade comportamental dos cães. Em porcentagem é possível visualizar (Figura 11) que os cães passam quase 100% das filmagens concentrados em apenas duas categorias comportamentais, não havendo distribuição significativa do tempo gasto.

Não houve diferença significativa das concentrações de cortisol sérico nos períodos anterior e posterior ao enriquecimento ambiental. Porém, os resultados mantiveram-se baixos, não evidenciando estado de estresse. Segundo o controle utilizado, disponibilizado pelo kit Immulite validado com plasma canino, a curva encontra-se entre  $<1 \mu\text{l/dL}$  e  $3,45 \mu\text{l/dL}$ . Das 30 amostras, 53% obteve resultado de  $<1 \mu\text{l/dL}$  e 40% obteve resultado entre 1 e  $2 \mu\text{l/dL}$ .

Em estudo de Yamamoto et al. (2012) foi analisadas as concentrações de cortisol sérico e salivar de cães terapeutas em diferentes momentos durante a Terapia Assistida por Animais. Em relação ao cortisol sérico, a média se mostrou acima das encontradas no presente estudo em momentos como: em repouso

(3,8 ul/dL), antes da atividade (5,2 ul/dL) e depois da atividade (4,8 ul/dL). Os cães obtiveram concentrações mais baixas somente no momento 4 (24h depois da atividade) com (2 ul/dL).

## **VI. CONCLUSÕES**

O presente trabalho constatou que o enriquecimento ambiental é eficaz na promoção do bem-estar em cães mantidos em biotérios, diminuindo as concentrações de cortisol sérico e os comportamentos de ansiedade, assim como aumentando comportamentos desejáveis.

Já em cães de Terapia Assistida por Animais mantidos em canil, o enriquecimento ambiental não demonstrou eficácia para a promoção do bem-estar, sendo necessário estudos posteriores para investigação de outras técnicas possíveis para redução da ansiedade.

O enriquecimento ambiental não revelou uma relação significativa com as concentrações de cortisol sérico, pois as concentrações permaneceram baixas nos dois momentos experimentais.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; OLIVEIRA, Rosilene Santos de. **Animais de laboratório criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. 288 p.

ARHANT, Christine et al. Behaviour of smaller and larger dogs: Effects of training methods, inconsistency of owner behaviour and level of engagement in activities with the dog. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 123, n. 3-4, p.131-142, mar. 2010.

BARDILL, Norine; HUTCHINSON, Sally. Animal-Assisted Therapy With Hospitalized Adolescents. **Journal Of Child And Adolescent Psychiatric Nursing**, v. 10, n. 1, p.17-24, jan. 1997.

BAUMANS, V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals. **Revue Scientifique Et Technique**, Estocolmo, v. 24, n. 2, p.503-514, jan. 2005.

BAUMANS, V.; VANLOO, P. How to improve housing conditions of laboratory animals: The possibilities of environmental refinement. **The Veterinary Journal**, v. 195, n. 1, p.24-32, jan. 2013.

BERECK, K.H; BRODY, M.J. Evidence for a neurotransmitter role for epinephrine derived from the adrenal medulla. **American Journal Of Physiology**, Nova York, v. 242, n. 4, p.593-601, abr. 1982.

BREED, Michael D.; MOORE, Janice. **Animal Behavior**. 4. ed. New York: Academic Press, 2011. 496 p.

BROOM, D. M.; FRASER, A. F.. **Comportamento e Bem-Estar de Animais Domésticos**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2010. 438 p.

CAMPOS, Josiane A. et al. Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dias. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal Of Agricultural Science**, Recife, v. 5, n. 2, p.272-278, 6 jul. 2010.

CASAL, N. et al. Effect of environmental enrichment and herbal compound supplementation on physiological stress indicators (chromogranin A, cortisol and tumour necrosis factor- $\alpha$ ) in growing pigs. **Animal**, p.1-9, 8 dez. 2016.

CATAPANI, Mariana Labão; PIRES, José Salatiel Rodrigues; VASCONCELLOS, Angélica da Silva. **Comportamento de tamanduá-mirim, *Tamandua tetradactyla* (Linnaeus, 1758) (Pilosa, Myrmecophagidae) em condições de cativeiro: implicações ao bem-estar**. 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

CRISSIUMA, A L; ALMEIA, e C P. Experimentação e bem-estar animal – artigo de revisão. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v. 1, n. 2, p.1-10, jan. 2006.

DACOME, Ocimar Aparecido; GARCIA, Rosângela Fernandes. Efeito modulador da ocitocina sobre o prazer. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 2, p.193-200, maio 2008.

DOMINGUEZ, T. N.. **Enriquecimento ambiental em zoológicos**. 2008. 50 f. TCC (Graduação) - Curso de Zootecnia, Instituto de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

DOTTI, J. **Terapia & Animais**. São Paulo: PC Editorial, 2005.

DUKES, H.H. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11<sup>o</sup> edição. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, 1996.

FAITH, Robert E.; HUERKAMP, Michael J.. Environmental considerations for research animals. In: HESSLER, Jack R.; LEHNER, Noel D. M.. **Planning and Designing Research Animal Facilities**. Londres: Elsevier, 2009. p. 59-85.

FEIJÓ, Anamaria Gonçalves dos Santos; SANTOS, Cleopas Isaías dos; GREY, Natália de Campos. O animal não-humano e seu status moral para a ciência e o Direito no cenário brasileiro. **Revista de Bioética y Derecho**, Barcelona, v. 19, n. 1, p.2-7, maio 2010.

FELDMAN, Edward C et al. **Canine & Feline Endocrinology**. 4. ed. Davis: Saunders, 2-15. 688 p.

FISCHER, Marta Luciane et al. Enriquecimento ambiental como princípio ético nas pesquisas com animais. **Revista Bioética**, v. 24, n. 3, p.532-541, dez. 2016.

FOYER, Pernilla et al. Behaviour and experiences of dogs during the first year of life predict the outcome in a later temperament test. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 155, p.93-100, jun. 2014.

GIACOMINI, Ana Cristina V. V. et al. Environmental and Pharmacological Manipulations Blunt the Stress Response of Zebrafish in a Similar Manner. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p.40-48, 28 jun. 2016.

GONG, Shuai et al. Dynamics and Correlation of Serum Cortisol and Corticosterone under Different Physiological or Stressful Conditions in Mice. **Plos One**, v. 10, n. 2, p.1-16, 20 fev. 2015.

GRAEBIN, Cristian. Os movimentos sociais 2013: A invasão do Instituto Royal e a efetivação dos direitos de proteção aos animais não humanos. **Revista Eletrônica do Mestrado em Direito da UFAL**, Maceió, v. 5, n. 1, p.138-155, jan. 2014.

HALL, John E.; GUYTON, Arthur. **Guyton & Hall: Tratado de Fisiologia**. 12. ed. São Paulo: Elsevier, 2011. 1176 p.

HEATH, Sarah; WILSON, Clare. Canine and Feline Enrichment in the Home and Kennel. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 44, n. 3, p.427-449, maio 2014.

HERRON, Meghan E.; KIRBY-MADDEN, Taylor M.; LORD, Linda K.. Effects of environmental enrichment on the behavior of shelter dogs. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 244, n. 6, p.687-692, 15 mar. 2014.

HUBRECHT, R. **Dog Housing and Welfare**. Universities Federation For Animal Welfare, 1993. 13 p.

HURNIK, J.F. **Farm animals and the environment**. Wallingford: CAB International, 1992, p. 235-244.

KELLEY, Ann E.; CADOR, Martine; STINUS, Louis. Exploration and Its Measurement: A Psychopharmacological Perspective. **Psychopharmacology**, p.95-144, 1989.

KING, J. et al. Treatment of separation anxiety in dogs with clomipramine: results from a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, multicenter clinical trial. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 67, n. 4, p.255-275, abr. 2000.

KOBAYASHI, Cassia Tiemi et al. Desenvolvimento e implantação de Terapia Assistida por Animais em hospital universitário. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 62, n. 4, p.632-636, ago. 2009.

LANDSBERG, G. et al. **Behaviour Problems of the Dog & Cat**. 3. ed. Edimburgo: Saunders Elsevier, 2013. 453 p.

MCCRAVE, Elizabeth A.. Diagnostic Criteria for Separation Anxiety in the Dog. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 21, n. 2, p.247-255, mar. 1991.

MEDINA, Marcelo Pizzio. **Efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento e bem-estar de animais de laboratório convencionais.** 2012. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

MOLENTO, Carla Forte Maiolino. Bem-estar animal: Qual é a novidade? **Acta Scientiae Veterinariae**, Paraná, v. 35, n. 2, p.224-226, jun. 2007.

NEVES, Silvânia M. P.; MANCINI, Jorge; MENEZES, Elizabete Wendel de. **Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do biotério de produção e experimentação da FCF-IQ/USP.** FCF-IQ/USP. São Paulo: Fcf-iq/USP, 2013. 234 p.

PALMA, Costanza de et al. Evaluating the Temperament in Shelter Dogs. **Behaviour**, v. 142, n. 9, p.1307-1328, set. 2005.

PIERCE, Karen; COURCHESNE, Eric. Evidence for a cerebellar role in reduced exploration and stereotyped behavior in autism. **Biological Psychiatry**, v. 49, n. 8, p.655-664, abr. 2001.

PRYOR, K.. Clicker Training in the Shelter Environment, A Working Guide. **Science Report**, Nova York, v. 1, n. 2, p.1-10, ago. 2002.

RAMPIM, Letícia Vinhas et al. **Caracterização comportamental de cães terapeutas durante atividades de terapia assistida por animais (TAA).** In: 8º CONGRESSO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA DA UNESP, Araçatuba: Unesp, 2015. p. 1 – 8.

REED, Reiley; FERRER, Lilian; VILLEGAS, Natalia. Natural healers: a review of animal assisted therapy and activities as complementary treatment for chronic conditions. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, v. 20, n. 3, p.612-618, jun. 2012.

ROONEY, Nicola; GAINES, Samantha; HIBY, Elly. A practitioner's guide to working dog welfare. **Journal Of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 4, n. 3, p.127-134, maio 2009.



SAAD, Carlos Eduardo do Prado; SAAD, Flávia Maria de Oliveira Borges; FRANÇA, Janine. Bem-estar em animais de zoológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Lavras, v. 40, n. 1, p.38-43, jun. 2011.

SHANNON, C e; WEAVER, W. **The Mathematical Theory of Communication**. Illinois: University Of Illinois, 1949. 117 p.

SHEPHERDSON, David J. et al. The influence of food presentation on the behavior of small cats in confined environments. **Zoo Biology**, v. 12, n. 2, p.203-216, 1993.

SILOTO, Estela Valéria et al. Temperatura e enriquecimento ambiental sobre o bem-estar de coelhos em crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p.528-533, mar. 2009.

SIWAK, C. T.. Effect of Age and Level of Cognitive Function on Spontaneous and Exploratory Behaviors in the Beagle Dog. **Learning & Memory**, v. 8, n. 6, p.317-325, 1 nov. 2001.

SOARES, Guilherme Marques; PEREIRA, João Telhado; PAIXÃO, Rita Leal. Estudo exploratório da síndrome de ansiedade de separação em cães de apartamento. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p.548-553, mar. 2010.

SOLOMON, Olga. What a Dog Can Do: Children with Autism and Therapy Dogs in Social Interaction. **Ethos**, v. 38, n. 1, p.143-166, mar. 2010.

STAPLETON, Mary. Effectiveness of Animal Assisted Therapy after brain injury: A bridge to improved outcomes in CRT. **Neurorehabilitation**, v. 39, n. 1, p.135-140, 6 jul. 2016.

TAYLOR, Katy et al. Estimates for Worldwide Laboratory Animal Use in 2005. **Atla**, Londres, v. 36, n. 1, p.327-342, jan. 2008.

VEEDER, Christin L; TAYLOR, Douglas K. Injury Related to Environmental Enrichment in a Dog (Canis familiaris): Gastric Foreign Body. **Journal Of The**

**American Association For Laboratory Animal Science**, v. 48, n. 1, p.76-78, jan. 2009.

VIRUES-ORTEGA, Javier; COX, Alison D.. Animal-Assisted Therapy for Older Adults. **The Encyclopedia Of Adulthood And Aging**, p.1-5, 20 dez. 2015.

WELLS, Deborah L.. Sensory stimulation as environmental enrichment for captive animals: A review. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, n. 1-2, p.1-11, abr. 2009.

WILLEN, Regina M. et al. Factors determining the effects of human interaction on the cortisol levels of shelter dogs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 186, p.41-48, jan. 2017.

XINBO, Hu et al. Effects of environmental enrichment on behaviors and fecal cortisol levels in captive golden snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*). **Acta Theriologica Sinica**, Pequim, v. 37, n. 3, p.304-311, maio 2015.

YAMAMOTO, K.C.M. et al . Avaliação fisiológica e comportamental de cães utilizados em terapia assistida por animais (TAA). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte , v. 64, n. 3, p. 568-576, June 2012.