

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

EFEITO DOS RUÍDOS GERADOS POR ATIVIDADE HUMANA EM RATAS  
*WISTAR*: AVALIAÇÃO DA NATIMORTALIDADE E DESENVOLVIMENTO  
PONDERAL DOS NEONATOS

**VANESSA PERLIN FERRARO DE ÁVILA**

PORTO ALEGRE, 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

EFEITO DOS RUÍDOS GERADOS POR ATIVIDADE HUMANA EM RATAS  
*WISTAR*: AVALIAÇÃO DA NATIMORTALIDADE E DESENVOLVIMENTO  
PONDERAL DOS NEONATOS

**VANESSA PERLIN FERRARO DE ÁVILA**

Dissertação apresentada como um dos  
requisitos para obtenção do grau de  
Mestre em Ciências Veterinárias

Orientador:

Prof. André Silva Caríssimi

Co-orientador:

Prof. Rafael Antônio Comparsi  
Laranja

PORTO ALEGRE, 2012

CIP - Catalogação na Publicação

Ávila, Vanessa Perlin Ferraro de  
Efeito dos ruídos gerados por atividade humana em  
ratos wistar: avaliação da natimortalidade e  
desenvolvimento ponderal dos neonatos / Vanessa  
Perlin Ferraro de Ávila. -- 2012.  
53 f.

Orientador: André Silva Caríssimi.  
Coorientador: Rafael Antônio Comparsi Laranja.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,  
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Estresse. 2. Rato Wistar. 3. Ruídos. 4.  
Natimortos. I. Caríssimi, André Silva, orient. II.  
Laranja, Rafael Antônio Comparsi, coorient. III.  
Título.

**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

Vanessa Perlin Ferraro de Ávila

Efeito dos ruídos gerados por atividade humana em ratas *wistar*: avaliação da natimortalidade e desenvolvimento ponderal dos neonatos

Aprovado por:

---

Profa. Dra. Patrícia Sesterhein (UFRGS)

Membro da Banca

---

Profa. Dra. Luisa Maria Gomes de Macedo Braga (FEPPS)

Membro da Banca

---

Prof. Dr. David Driemeier (UFRGS)

Membro da Banca

---

Prof. Dr. André Silva Caríssimi (UFRGS)

Professor Orientador

## AGRADECIMENTOS

Ao meu amor, Arthur Sponchiado de Ávila, por todo apoio e compreensão durante o mestrado e pelo incentivo das minhas decisões ao longo do nosso trajeto.

Aos meus pais, Cláudio e Salete, pelo carinho, apoio e exemplos de luta e perseverança.

Ao meu orientador, prof. André Silva Caríssimi, pela paciência, desprendimento e transmissão de conhecimentos.

Ao meu co-orientador, prof. Rafael Laranja, por toda a ajuda na parte dos ruídos, pelo desprendimento, paciência e disponibilidade nas horas de aperto. Sua ajuda foi fundamental para a realização desse trabalho.

Ao Creal, pela disponibilidade de realização do experimento e a todos funcionários envolvidos em sua realização.

À médica veterinária, amiga e colega Lorena Orlandini, pelos ensinamentos, conversas, disposição e oportunas brincadeiras.

As minhas amigas de longa data e de coração Alice, Cristina, Francine e Mariana, por todo apoio e oportunos momentos de descontração. Mariana, obrigada por toda ajuda, desabafos e pela parceria durante esses dois anos.

À bolsista Camila Vieira, pela imprescindível ajuda durante o trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ, pelo auxílio financeiro na execução deste trabalho.

## RESUMO

Animais de laboratório estão sujeitos a uma variedade de ruídos diários que podem afetar seu bem estar, havendo estudos que apontam o trabalho humano nas salas de animais como uma importante fonte de ruídos com intensidades e frequências variáveis capazes de causar alterações comportamentais e fisiológicas nesses animais. Este trabalho teve como objetivo analisar os possíveis efeitos dos ruídos gerados durante a atividade humana na gestação de ratas wistar e no crescimento ponderal dos neonatos. Quarenta e quatro ratas wistar de 120 dias de idade, alojadas em sistema de gaiola aberta, oriundas do CREAL/UFRGS, foram acasaladas e submetidas à rotina de trabalho normal (grupo controle) ou expostas a ruídos em duas sessões de 20 minutos/dia com intervalo de 15 segundos entre cada ruído (grupo tratado) durante toda a gestação e na primeira semana de vida dos filhotes. Os ruídos foram previamente selecionados com base no trabalho humano realizado nas salas de animais e registrados por meio do microfone de um medidor de nível de pressão sonora com resposta de frequência 20 Hz-20kHz. As frequências foram avaliadas utilizando-se um software editor de áudio (Audacity® 1.3). Os partos de ambos os grupos (tratado e controle) foram acompanhados e durante os mesmos anotou-se o número de filhotes vivos e natimortos. Para avaliação do peso ponderal dos neonatos pesaram-se os três filhotes maiores de cada ninhada das fêmeas uma vez ao dia entre 14:00 e 16:00 hs. Utilizou-se o teste- T para análise do número de natimortos no qual demonstrou diferença significativa ( $p= 0,021$ ) entre os grupos. O teste de variância Anova para medidas repetidas e o Tukey-Kramer foram utilizados para comparar o peso médio dos três filhotes maiores, o qual foi observado diferença significativa do peso médio dos três filhotes maiores nos dias 4 ( $p= 0,0026$ ), 5 ( $p<0,001$ ), 6 ( $p=0,0005$ ) e 7 ( $p< 0,0001$ ). Este estudo demonstra que ruídos gerados por atividade humana podem gerar filhotes natimortos e interferir no comportamento materno diminuindo o peso do filhote a partir do quarto dia na primeira semana de vida.

Palavras-chaves: rato wistar, ruídos, atividade humana, natimortos

## ABSTRACT

Laboratory animals are subjected to a variety of daily noises which can affect their well-being. There are studies that suggest the human work in animal rooms is an important source of noise with varying frequencies and intensities which may cause physiological and behavioral changes in the animals. This work had as its main objective the analysis of the possible effects that the noise generated by professionals while doing their activities may have on pregnancy of Wistar rats, evaluating the natimortality and the weight development of newborns. Forty-four 120 days old Wistar rats from CREAL/UFRGS accommodated in an open cage system have been paired and have undergone a normal work routine (control group) or have been exposed to noise in two sessions of 20 minutes/day with interval of 15 seconds between each noise (treated group) throughout their pregnancy and in the first week of their offspring's life. The noises were previously selected on the basis of the human work carried out in animal rooms and recorded through the use of a microphone sound pressure level meter frequency response of 20 Hz-20kHz. The frequencies were evaluated using an audio editor software (Audacity® 1.3). The delivery in both groups (treated and control) were accompanied and during them it was taken note the number of living and stillborn offspring. To evaluate the weight of newborns, the three biggest ones of each litter rats were weighed up once a day between 2:00 and 4:00 p.m. It was used the T-test for examining the number of stillborns which showed a significant difference ( $p = 0.021$ ) between the groups. The Anova variance test for repeated measures and the Tukey-Kramer test were used to compare the average weight of the three biggest offspring. It was observed significant difference of average weight in the three biggest ones on day 4 ( $p = 0.0026$ ), 5 ( $p < 0.001$ ), 6 ( $p = 0.0005$ ) and 7 ( $p < 0.0001$ ). This study shows that noise generated by human activity may cause stillborn offspring and interfere with maternal behavior by decreasing the weight of the new born from the fourth day the first week of life.

Keywords: Wistar rats, noise, human activity, stillborn

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Parâmetros reprodutivos da rata.....	17
FIGURA 2 - Efeitos do ruído sobre os diferentes sistemas nos roedores.....	24
FIGURA 3- Sonômetro e computador portatil .....	28
FIGURA 4- Altofalante utilizado para emissão do ruído .....	28
FIGURA 5- Leiaute da sala utilizada no experimento.....	29
FIGURA 6- Equipamento de som conectado ao altofalante .....	29
FIGURA 7- Utilização do sonômetro para medição do ruído de fundo .....	30
FIGURA 8- Espectro de frequência do ruído de fundo .....	31
FIGURA 9- Verificação de peso da rata <i>wistar</i> .....	32
FIGURA10- Leiaute da sala com posicionamento das prateleiras .....	34
FIGURA 11- Pesagem do filhote individual.....	35
FIGURA 12- Pesagem dos filhotes maiores em conjunto .....	35
FIGURA 13- Ruído: Chave caindo na prateleira, ruído global: 88,5 dB.....	36
FIGURA 14- Ruído: cair caixa, ruído global: 96,1 dB .....	36
FIGURA 15- Ruído- bater porta, ruído global: 110,1 dB.....	37
FIGURA 16- Ruído- arrastar banco, Ruído global: 84,6 dB .....	37
FIGURA 17- Ruído- arrastar caixa, Ruído global: 86,6dB .....	38
FIGURA 18- Ruído- colocar tampa, ruído global: 84,3 dB.....	38
FIGURA 19- Fêmea Wistar parindo .....	41
FIGURA 20- Filhote natimorto do grupo tratado (seta) .....	41
FIGURA 21- Filhotes natimortos de fêmea do grupo J (tratado) .....	41
FIGURA 22- Ganho de peso diário dos filhotes do grupo controle e tratado.....	43

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Ruído selecionado, a reprodução e o valor de nível de pressão sonora Global.....	27
TABELA 2- Número de partos com natimortos, filhotes vivos e natimortos do grupo controle.....	39
TABELA 3- Número de partos, partos com natimortos, filhotes vivos e natimortos do grupo tratado .....	40
TABELA 4- Análise estatística do número de filhotes natimortos entre o grupo tratado e o controle .....	42

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

Hz- Hertz

KHz- Quilohertz

dB- Escala de decibéis

Pa- Pascal

NPS- Nível de pressão sonora

TRF- Transformada rápida de Fourier

CREAL- Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório

UFRGS- Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CEUA- Comitê ético no uso de animais

ACTH- Hormônios adenocorticotróficos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1 Problema de pesquisa .....	14
1.2 Hipóteses .....	14
1.2 Objetivos .....	14
1.3.1 Objetivo geral.....	14
1.3.2 Objetivos específicos .....	14
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>16</b>
2.1 O rato wistar.....	16
2.1.1 Fisiologia reprodutiva da rata.....	16
2.2 Espectro de frequência dos ratos .....	17
2.3 Fundamentos do som e sua medição .....	18
2.4 A presença do ruído nos biotérios e nos locais de experimentação .....	20
2.5 Efeitos não auditivos do ruído nos roedores .....	22
2.5.1 Efeitos do ruído na gestação de ratas .....	24
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
3.1 Seleção e gravação dos ruídos .....	26
3.2 Medição do ruído de fundo .....	29
3.3 Espectro das frequências .....	30
3.4 Animais .....	31
3.5 Alojamento dos animais.....	31
3.6 Manejo dos animais .....	32
3.7 Acasalamento.....	32
3.8 Grupo experimental.....	33
3.8.1 Grupo controle .....	33
3.8.2 Grupo Tratado .....	33
3.8.3 Crescimento ponderal dos filhotes .....	34
3.9 Análise estatística .....	35
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>36</b>
4.1 Pressão sonora e frequências.....	36
4.2 Grupo experimental.....	39
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>49</b>

<b>7 PERSPECTIVAS .....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>51</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Um programa de manejo para animais de laboratório deve prover ambiente e cuidados de modo a possibilitar aos animais crescimento, desenvolvimento e reprodução adequados, assim como boa saúde e bem-estar, minimizando o impacto das variáveis que podem afetar os resultados de pesquisas (POOLE, 1997).

Entre as variáveis que podem alterar a resposta dos animais, os fatores ambientais como iluminação, temperatura, umidade e os poluentes possuem uma grande importância para as atividades de alojamento de animais e, portanto, recebem uma atenção especial por parte de técnicos de biotérios e pesquisadores (SALES *et al.*, 1988; YAMAGUCHI, 1995; TURNER *et al.*, 2005). Dessa forma, o controle ambiental e os efeitos das variáveis acima mencionadas nos animais são amplamente estudados, já existindo recomendações e metodologias para seu monitoramento. Entretanto, algumas condições ambientais necessitam de maior estudo, entre as quais, destaca-se o ruído.

O guia para cuidado e uso de animais de laboratório (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2010) determina a pesquisadores e pessoas que trabalham em estabelecimentos com esses animais que não deixem de levar em consideração o ruído ao criar e manter um ambiente para animais de laboratório.

Apesar das recomendações sobre o ruído ambiental, à acústica do ambiente é dada pouca consideração, possivelmente refletindo uma suposição de que o som ambiental possui pouco impacto no comportamento e fisiológico dos animais de laboratório (MILLIGAN; SALES; KHIRNYKH; 1993). Essa premissa dada ao som ambiental é preocupante, uma vez existirem fortes indícios mostrando que o ruído ambiental pode exercer um impacto significativo na variedade de sistemas em animais de laboratórios e humanos (TURNER *et al.*, 2005).

Estudos utilizando gravações de frequências ultra-sônicas em biotérios sugerem que a maioria do ruído gerado em instalações de animais de laboratório decorre de duas principais fontes: a atividade direta de pessoas que utilizam as instalações e o aumento da atividade (vocalização, batidas nas gaiolas) dos animais em resposta à presença e ações de pessoas (MILLIGAN; SALES; KHIRNYKH; 1993).

Sons produzidos por equipamentos, animais e pessoas são inerentes às instalações de animais de laboratórios (HUGHES, 2007). Muitas espécies de animais escutam sons que são inaudíveis para humanos (FAY, 1988) e o som pode causar efeitos auditivos e não auditivos nesses animais (PETERSON *et al.*, 1981; ARMARIO; CASTELLANOS; BALASCH, 1985; TURNER *et al.*, 2005). Em roedores, os efeitos não auditivos têm sido relacionados a alterações fisiológicas tais como a hipertensão, hipertrofia cardíaca, alterações no metabolismo de eletrólitos, alterações nas respostas imunes, ciclo estrais irregulares, diminuição de peso do neonato e gestação interrompida (TURNER *et al.*, 2005; NAFF *et al.*; RABAT, 2007).

A literatura sobre o assunto aborda principalmente os ruídos de alta frequência, apontando-os como prejudiciais aos animais. Por outro lado, nas instalações dos biotérios e salas de experimentação, também são gerados ruídos de baixa frequência, como os sons provenientes de um aparelho ar-condicionado. Sons gerados por atividade humana são relatados como um problema a ser considerado nas instalações, porém, as pesquisas vistas até o momento sobre o ruído da atividade humana nos biotérios limitaram-se à sua medição durante a atividade profissional e não relacionaram seus possíveis efeitos aos animais. Ruídos gerados por atividade humana podem ser tanto de baixa quanto alta frequência podendo gerar danos aos mesmos.

Medições de ruído feitas em biotérios nos horários de trabalho humano indicam que há um aumento da intensidade sonora considerável durante esse período, podendo prejudicar o bem estar dos animais e possivelmente interferir nos resultados das pesquisas (VOIPO, 2006). Partindo-se dessa premissa - o ruído ambiental em biotérios e locais de experimentação animal é maior durante as atividades humanas -, este trabalho teve como objetivo analisar os possíveis efeitos que o ruído, gerado pelos profissionais em atividades (técnicos, pesquisadores, estudantes) possam ter na gestação das ratas, avaliando a natimortalidade e o desenvolvimento ponderal dos neonatos.

## 1.1 PROBLEMA DE PESQUISA

A rotina diária no manejo de animais de laboratório é capaz de afetar o bem estar de ratos pela geração de ruídos decorrentes de atividade humana na faixa audível aos animais?

A gestação de ratas wistar e o crescimento ponderal de neonatos são afetados pelos ruídos gerados por atividade humana durante o manejo com os animais?

## 1.2 HIPÓTESE DE PESQUISA

1. O estilo de trabalho humano gera ruídos que são audíveis para os ratos que podem afetar o seu bem estar.
2. Ruídos gerados por atividade humana durante a gestação de ratas wistar geram aumento de filhotes natimortos e diminuição de peso do recém nascido.
3. Ruídos gerados por atividade humana interferem no crescimento neonatal.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 Objetivo geral

Analisar os efeitos dos ruídos gerados durante a atividade humana na gestação de ratas wistar e no crescimento ponderal dos neonatos.

### 1.3.2 Objetivos específicos

1. Medir a frequência dos ruídos gerados por funcionários e pesquisadores durante as atividades com os animais de laboratório.

2. Verificar se fêmeas expostas aos ruídos gerados por atividade humana durante a gestação geram filhotes natimortos.
3. Verificar se fêmeas expostas aos ruídos durante a gestação geram filhotes com peso menor ao nascer.
4. Verificar se ruídos interferem no comportamento materno durante a amamentação, influenciando no crescimento ponderal de neonatos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O rato *wistar*

O *Rattus norvegicus* foi o primeiro mamífero a ser domesticado para a pesquisa científica. É um animal que apresenta muitas vantagens no seu uso para a pesquisa pois é barato, facilmente disponível, de fácil criação, além de ser inteligente e de fácil adaptação e manuseio (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009).

O rato Wistar teve sua origem no Instituto Wistar quando Henry Donaldson e equipe trabalharam para padronizar o rato albino a fim de realizar estudos reprodutíveis sobre o crescimento e desenvolvimento do sistema nervoso. O seu trabalho possibilitou à fundação a utilização do rato em muitas disciplinas, incluindo a nutrição, genética, endocrinologia e bioquímica. O Instituto Wistar forneceu o “rato wistar” para outros laboratórios até 1960, quando as matrizes reprodutoras e todos os direitos foram vendidos a uma empresa comercial (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009).

#### 2.1.1 Fisiologia reprodutiva da rata

As fêmeas nascem com uma membrana que fecha a vagina e que se rompe espontaneamente antes da puberdade, geralmente aos 33-42 dias de idade. Com 40-60 dias as fêmeas atingem a puberdade e apresentam ovulação espontânea com ciclo estral de quatro a cinco dias (LOHMILLER; SWING, 2006; EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009).

O ciclo estral da rata é dividido em 4 fases: proestro, estro, metaestro e diestro. O proestro é a fase em que ocorre o amadurecimento dos folículos e sua duração é de 12 horas podendo ser observado pelo inchaço da vagina. O estro é a fase do ciclo em que a fêmea apresenta interesse sexual e está apta para o acasalamento. Possui 12 horas de duração e ocorre geralmente no período escuro. O metaestro tem duração de 21 horas e corresponde à fase de formação dos corpos lúteos, que produzem a progesterona. A última fase, o diestro, com aproximadamente 55 horas de duração, corresponde à atuação da progesterona, impedindo a formação de novos folículos e permitindo a manutenção da gestação (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009).

O período de gestação da fêmea tem duração de 21 a 23 dias (LOHMILLER; SWING, 2006; EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009) e no período pós parto existe um período fértil (EBISUI; FONTES; LAPCHIK 2009).

PARÂMETROS REPRODUTIVOS	
Maturidade sexual	40-60 dias
Ciclo estral	4-5 dias
Duração do estro	12 horas
Gestação	21-23 dias
Glândulas mamárias	6 pares
Número médio de filhotes	8-14
Peso ao nascer	5-6 gramas
Desmame	21 dias
Final da reprodução	10-12 meses

Figura 1- Parâmetros reprodutivos da rata (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009).

De acordo com Ebisui; Fontes; Lapchik, (2009) durante o parto a fêmea limpa sua vulva removendo com cuidado a bolsa, realiza a placentofagia e lambe o recém nascido. Após o termino do parto, a fêmea anda ao redor da ninhada, deita e se curva sobre os filhotes.

O canibalismo pós-morte não é incomum nas fêmeas. A fêmea devora um filhote natimorto ou um que tenha morrido após o nascimento. Esse comportamento ocorre como uma forma da rata manter o ninho limpo ou a mãe entende o filhote morto como alimento protéico (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009).

## 2.2 Espectro de frequência dos ratos.

Os ratos têm sensibilidade auditiva na faixa de frequência ultra-sônica, sendo o seu alcance de audição situado entre 200 Hz (hertz) a 80 kHz (quilohertz) (Fay,1988). O ser humano possui o alcance de audição na faixa de 20 Hz a 20 kHz. Sons acima de 20 kHz são denominados ultra-som e os abaixo de 20 Hz denominam-se infra-som (MILLIGAN, 1993).

Os mamíferos localizam a fonte do som através de três tipos de sinalizações; Os dois primeiros sinais de localização são o posicionamento das duas orelhas separadas pela largura da cabeça. Um som vindo da esquerda chega ligeiramente antes e mais alto ao ouvido esquerdo do que ao direito. O cérebro utiliza o tempo de atraso e diferença de volume sonoro para localizar a fonte do som no espaço no plano esquerda-direita. O terceiro tipo envolve o ouvido externo (pavilhão), responsável por localizar o som no espaço nos plano de frente para trás e de cima para baixo. Sons provenientes da frente da orelha serão mais altos do que aqueles que vêm de trás. Além disso, o som é modificado à medida que passa pelas circunvoluções do ouvido externo, permitindo-se diferir a origem de sua fonte, superior ou inferior (OLDFIELD; PARKER 1984).

Turner; Bauer; Rybak, (2007) relatam que o ruído permite aos animais ouvirem predadores ou presas em ambiente escuro a grandes distâncias; além disso, o sistema auditivo responde mais rápido que os outros sistemas sensoriais e seu circuito neural suporta a ativação rápida que caracteriza resposta de luta ou fuga, desempenhando papel crítico na comunicação e sobrevivência dos animais.

### **2.3 Fundamentos do som e sua medição**

O som é a propagação de uma alteração temporária da densidade de partículas de um meio elástico e é produzido quando um corpo vibra dentro de um meio elástico como por exemplo o ar (HUGHES, 2007). As partículas de ar que nos circundam formam uma massa distribuída uniformemente, um corpo elástico sujeito a alterações pela vibração de outros corpos nele inseridos (pessoas e objetos). Assim, ao batermos um martelo promovemos uma alteração temporária na densidade das partículas do ar (corpo elástico), resultando em som.

A amplitude de um som está relacionada ao deslocamento das partículas. Como esse deslocamento é mínimo, é praticamente impossível de medi-lo, razão pela qual se mede a amplitude do som pela alteração da pressão que essas partículas exercem numa superfície. Ou seja, é mais fácil medir a amplitude do som pelas mudanças de pressão em que se movem as partículas em vez do deslocamento das próprias partículas (HUGHES, 2007).

Por sua vez, a chamada intensidade sonora corresponde à energia que flui por uma determinada área por segundo. A intensidade é relacionada ao deslocamento das

partículas de ar da seguinte maneira: o trabalho exercido para deslocar uma partícula de ar é expresso em termos de força exercida na massa multiplicada pela distância em que essa massa se move (HUGHES, 2007). Nem todos os sons com a mesma amplitude possuem a mesma intensidade; isso se dá porque a intensidade é proporcional tanto à amplitude quanto à frequência. Sons de alta frequência (mais ciclos por segundo) contêm mais energia que sons de baixa frequência com a mesma amplitude.

Joseph Fourier demonstrou que qualquer onda sonora complexa (com parcela real e imaginária) pode ser representada como uma série de ondas senoidais de diferentes frequências, amplitudes e fases (tempo relativo de duas ou mais ondas senoidais). A análise espectral refere-se ao processo de especificar a amplitude, frequência e fase de relações entre os componentes senoidais de uma onda complexa. Frequência de uma senóide refere-se ao número de oscilações senoidal durante um determinado período segundo e é medida normalmente em hertz (HUGHES; RABAT, 2007). Sons de alta frequência são aqueles que possuem um menor comprimento da onda; Já sons de baixa frequência são aqueles que possuem um maior comprimento de onda (HUGHES, 2007).

O som é caracterizado principalmente com base na amplitude e frequência. A intensidade sonora é proporcional ao quadrado das variações na pressão sonora. Um aumento de 10 vezes na pressão reflete um aumento de 100 vezes na intensidade. No caso de pressão sonora, essa é expressa em relação a algum nível de referência, sendo a amplitude, devido a sua grande variação, medida em escala de decibéis (dB) ou seja, décimo de bell (TURNER *et al.*, 2005). A medição em decibéis é determinada pelo valor da unidade de medida para amplitude de pressão do som, o pascal (Pa) e convertendo este número para uma escala de decibéis, utilizando o nível de pressão sonora (NPS). O NPS é uma escala logarítmica que permite a medição de uma ampla gama de variações de pressão detectável pelo ouvido do ser humano (HUGHES, 2007).

$$\text{NPS} = 10 \cdot \log \frac{P^2_{\text{medido}}}{P^2_{\text{referência}}}$$

$$P^2_{\text{referência}}$$

$P_{\text{medida}}$  = pressão medida em Pa.

$P_{\text{referência}}$  =  $2 \cdot 10^{-5}$  Pa.

O conteúdo de frequência e amplitude dos sons ambientais pode ser medido ou caracterizado pelo uso de equipamentos. A frequência sonora pode ser medida pela análise da onda sonora por meio de filtros ou pelo uso da transformada rápida de Fourier (TRF). O microfone é utilizado em equipamentos para medição do som detectando toda variação de pressão que está dentro de sua faixa de frequência. Normalmente os sonômetros ou medidores de nível de pressão sonora apresentam duas curvas de ponderação em escala “A” e a escala “C”. No caso do uso da curva de ponderação “A”, essa é a representação do comportamento do NPS versus frequência do ouvido humano (REYNOLDS *et al.*, 2010). Nas instalações de animais de laboratórios o ajuste linear, ou seja, medidas sem o uso de escala de ponderação, é o mais indicado por desenvolver uma leitura geral e o seu valor global é a soma de todas as variações de pressão sonora detectada pelo microfone (HUGHES, 2007).

#### **2.4 A presença do ruído nos biotérios e nos locais de experimentação animal**

Diretrizes básicas em matéria de ruído em instalações de animais de laboratório foram publicadas no Guia e Uso de Animais de Laboratório (National Research Council, 2010). Este guia recomenda sejam consideradas a intensidade do som, frequência, rapidez de início, duração, potencial de vibração e exposição ao ruído, audição, alcance e sensibilidade das espécies expostas, alojamento de animais ruidosos separados dos animais quietos.

As instalações para animais de laboratório tendem a ser construídas de tetos com pintura epóxi, paredes e pisos de concretos. Esse tipo de construção, enquanto minimiza superfícies que podem acumular poeira e pêlos, por outro lado agrava os problemas de ruído ambiental ao pouco absorver ruídos, contribuindo também para o aumento no tempo de reverberação do som (CARLTON; RICHARDS, 2002). Hughes (2007) explica que quando um som encontra um objeto no meio circundante, várias coisas podem ocorrer dependendo primariamente (1) da densidade do objeto e da densidade do meio e (2) o tamanho e a forma do objeto em relação ao comprimento de onda do som. O som poderá ser refletido ou vai fazer com que o objeto vibre e transmita o som. Quanto mais semelhante a densidade do objeto maior a proporção do som que será transmitido ao invés de refletido. A quantidade de energia sonora transmitida ou refletida também depende das características de absorção do objeto. Materiais que são duros e lisos normalmente são pobres amortecedores de energia sonora enquanto

aqueles que são macios, porosos, ou superfícies rugosas geralmente são melhores absorventes (HUGHES, 2007).

A presença do ruído ambiental nas instalações não está relacionada somente com o tipo de construção do biotério ou locais para experimentação animal. A rotina diária do manejo com os animais de laboratório expõe esses animais a uma variedade de níveis de sons durante toda a vida. Vários fatores podem afetar a geração do som durante esses procedimentos, como o processo do trabalho em si, os materiais utilizados e o estilo do trabalho (Voipo *et al.*, 2006) além dos equipamentos e o próprio ruído gerado pelos animais (PFAFF; STECKER, 1976).

Pfaff; Stecker, (1976); Pterson, (1980); Milligan; Sales; Khrnykh, (1993) exemplificam três possíveis fontes responsáveis de ruído ambiental: dispositivos técnicos (aparelhos de ar condicionado, manipuladores de ar, sistema de rack ventilado, eletrônicos, monitores de vídeo, equipamentos de laboratório, alarmes de incêndio), manutenção (abre/fecha sala e porta das gaiolas, motores e máquinas de lavar gaiola, carrinhos de empurrar, outros equipamentos, vozes dos trabalhadores) e os próprios animais (mastigação, vocalizações).

Milligan; Sales; Khrnykh, (1993) citam estudos sobre gravações de frequências ultra-sônicas em biotérios que indicam que a maioria do ruído gerado em instalações de animais de laboratório é devido a duas principais fontes: a atividade direta de pessoas que utilizam as instalações e o aumento da atividade (vocalização, batidas nas gaiolas) dos animais em resposta à presença e ações das pessoas. Para esse estudo foram realizadas gravações no biotério nos turnos diurno e noturno, inclusive nos finais de semana. Os níveis maiores de ruídos registrados foram quando havia presença de trabalhadores e pesquisadores exercendo funções de rotina na sala dos animais. Pfaff ; Stecker, (1976) também mediram a intensidade do som em biotérios durante a atividade humana de curta duração na sala. No período da manhã registraram valores de intensidade superiores a 90 dB e valores superiores a 100 dB á noite.

Lauer *et al.*, (2009) mediram e identificaram fontes de ruído acima de 80 dB nas salas de alojamento de roedores durante o horário de trabalho e constataram as seguintes fontes: fechamentos de porta (84-105 dB), colocação das gaiolas nos racks (80-97 dB), procedimentos experimentais (75-100 dB), falar ou gritar (83-100 dB), ruídos externos

com a porta aberta (83 – 92 dB). Conforme análise da frequência, todas essas fontes de ruído estavam dentro do alcance auditivo dos ratos.

O estilo de trabalho também é importante dentro das instalações dos animais. Voipo *et al.*, (2006) compararam estilos de trabalho (calmo e apressado) nas seguintes tarefas: (i) retirada da gaiola do rack, (ii) colocação da gaiola na mesa e (iii) recolocação da mesma no rack. Os valores para os estilos calmo e apressado variaram de 70 a 90 dB, sendo o estilo apressado 10 a 15 dB mais elevado que o calmo.

Outro tipo de ruído encontrado dentro das instalações de animais de laboratório é o ruído de fundo decorrente de sistemas elétricos e sistemas mecânicos como racks ventilados, sistema de iluminação e ventilação (Lauer *et al.*,2009). Os mesmos autores relatam que o ruído de fundo é preocupante se o nível do som é elevado o suficiente para causar dano, estresse ou impactos nos resultados.

## 2.5 Efeitos não auditivos do ruído nos roedores

O ruído ativa a divisão simpática do sistema nervoso, produzindo uma resposta fisiológica de estresse com características semelhantes aos provocados por outros sentidos e estímulos psicossociais (SELYE, 1976).

As consequências da exposição ao ruído dependem em muito do contexto e as características da agressão acústica, incluindo a duração do estímulo, padrão, índice de frequência e intensidade (MOORE; RIVOLI; ISON; TURNER *et al.*, 2005). Estudos frequentemente têm se concentrado na intensidade do som e muitas vezes concluem que sons inferiores a 85 dB são relativamente seguros (TURNER *et al.*,2005). Trabalhos mais recentes sugerem que os efeitos do ruído são muito mais complexos do que pode ser previsto avaliando intensidade sozinha. Ising; Kruppa (2004) sugerem que o conteúdo das informações do som o torna ainda mais relevante do que a intensidade do som. Níveis de sons de baixa intensidade podem ter um impacto considerável na fisiologia e comportamento, envolvendo estruturas límbicas e centros superiores envolvidos na determinação do contexto e significado (ISING; KRUPPA, 2004).

Estudos de estresse audiogênicos em roedores comumente ocorrem com estímulos de ruído que excedam 90 dB de natureza crônica ou cíclica (PETERSON, 1980; CLOUGH, 1982). No entanto, mesmo moderado, o ruído de curto prazo pode induzir alterações na fisiologia e comportamento. Por exemplo, a exposição

a um ruído branco de 90 dB por 5 minutos diários gerou alterações morfológicas no epitélio intestinal (BALDWIN; PRIMEAU; JOHSON, 2006).

Em animais de laboratório, Peterson *et al.* (1981) relatam que a exposição crônica (6 a 9 meses) de primatas não-humanos a níveis de ruído moderado (> 85 dB) resultou na elevação da pressão arterial, não retornando aos níveis pré-exposição dentro um mês após a remoção do ruído. Henkin; Knigge (1963) sugeriram que, em ratos, o hormônio cortisol elevado na circulação, o qual foi induzido pelo ruído alto e contínuo, pode permanecer em circulação por até 12 horas após a remoção do ruído.

Nos roedores, além da exposição crônica ao ruído, ruídos inesperados, alterações na intensidade ou exposição a ruídos acima de 65 dB podem gerar estresses e alterações imunológicas e metabólicas. Outras alterações fisiológicas descritas nessa espécie causadas pelo ruído são: hipertrofia cardíaca, alterações no metabolismo de eletrólitos, alterações nas respostas imunes, ciclo estrais irregulares, diminuição na fertilidade, aumento de números de prematuros, diminuição de peso do neonato e gestação interrompida (TURNER *et al.* 2005; NAFF *et al.*; RABAT,2007), redução de peso e canibalismo (TEIXEIRA; FILHO, 2009) (Figura 2).

Sistema	Efeitos
Cardiovascular	Aumento da pressão sanguínea e frequência cardíaca; vasoconstrição
Hormonal/bioquímico	Aumento da noraepinefrina, cortisol, colesterol, corticosterona, IgM e natural killers no baço; diminuição da proliferação de linfática no baço e atividade fagocítica periférica
Reprodutor	Diminuição do estro, fertilidade, aumento de peso dos ovários, mortalidade fetal e reabsorção embrionária
Outros	Aumento da permeabilidade microvascular, ruptura do revestimento intestinal, cicatrização lenta, diminuição de peso, aumento de leucócitos, adrenal e fígado

Figura 2 – Efeitos do ruído sobre os diferentes sistemas nos roedores. (TURNER; BAUER; RYBAK, 2007).

### 2.5.1 Efeitos do ruído na gestação de ratas

O período perinatal pode ser dividido em 4 etapas: implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e período neonatal. O início da prenhez, da fertilização até a implantação, é um período crítico durante o qual podem ocorrer perdas gestacionais (CASTRO, 2006). Haque *et al.*, (2004) relatam que o estresse interfere na reprodução, influenciando adversamente na implantação e crescimento fetal, podendo ocorrer aborto. Trabalhos sobre estresse audiogênicos demonstraram efeitos como teratogênese (MURATA; TAKIGAWA; SAKAMOTO, 1993) e embriotoxicidade (NAWROT; COOK; HAMM, 1981).

O ruído é um estressor e sua exposição gera respostas do sistema neuroendócrino e o aumento dos níveis de corticosterona, noraepinefrina e colesterol (TURNER *et al.*, 2005). Os mesmos autores relatam que o aumento dos níveis hormonais sugere que o ruído induz a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal podendo causar vários problemas relacionados aos níveis elevados dos hormônios do estresse na circulação.

Os efeitos deletérios que o ruído gera na gestação estão relacionados na liberação de hormônios adrenocorticotróficos (ACTH), cortisol e (nor) adrenalina (GAFVELS *et al.*, 1988; JANSSON, 1988 TEIXEIRA *et al.*, 1999).

Os corticosteróides têm um efeito direto sobre os níveis de estrogênio e progesterona, os quais regulam a expressão e secreção de citocinas inflamatórias IL1 $\alpha$  e IL6 que, por sua vez, possuem influência direta no blastocisto e na implantação do embrião (BASAK *et al.*, 2002; GOLUB *et al.*, 2004). A (nor)adrenalina também possui efeitos deletérios na gestação de ratos. Jansson (1988) relata que, em ratos, infusão de noraadrenalina reduz agudamente o fluxo de sangue no ovário e útero; em cobaias a infusão de noroepinefrina diminui o fluxo sanguíneo placentário em 24% a 46%, dependendo da dose administrada (JANSSON, 1988).

Sales, (1988); Turner *et al.*, (2005) relatam, entre outros efeitos do ruído, o aumento da mortalidade e reabsorção fetais. Rasmussen *et al.*, (2009) observaram aumento de nascimentos de camundongos natimortos oriundos de fêmeas Swiss Webster que foram submetidas a ruídos gerado por serra de 70, 80 e 90 dB por 1 hora diária em diferentes fases da gestação.

Outro efeito deletério de exposição crônica ao ruído é a redução do peso corporal do recém nascido (SARKAKI; KARAMI, 2004). Este efeito também foi observado em mulheres grávidas expostas ao ruído aéreo: seus filhos nasceram com 69g a menos do que os recém-nascidos cujas mães eram expostas a ruídos menores (KNIPSCHILD; MEIJER; SALLE, 1981).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Esse estudo foi desenvolvido no Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório, órgão auxiliar do Instituto de Ciências Básicas e da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CREAL-UFRGS), localizado na cidade de Porto Alegre, RS. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA- UFRGS,) sob o no. 19253, em 13/07/2010.

#### **3.1 Seleção e gravação dos ruídos**

Os ruídos foram previamente selecionados com base no trabalho realizado por funcionários, pesquisadores, bolsistas e estagiários nas salas de experimentação e criação de animais. Dentre os avaliados foram selecionados os ruídos típicos mostrados na tabela 1. Esses ruídos selecionados foram registrados por meio do microfone de um medidor de nível de pressão sonora marca ICEL® modelo DL-4100, classe 2, com resposta de frequência 20Hz-20kHz. O som capturado pelo sonômetro foi armazenado em computador portátil (HP DV 2600 com placa de áudio 3D Sound Blaster Pro de 16 bit) (figura 3) para posterior gravação em arquivo de áudio sem compactação para ser transmitido por um equipamento portátil de CD player marca Lenoxx® conectado em um alto-falante com amplificador Wattson® modelo popline 100. Teve-se o cuidado de avaliar tanto o nível de pressão sonora durante a gravação, na execução e durante a indução, como também as frequências foram avaliadas utilizando-se um software editor de áudio (Audacity® 1.3).

Tabela 1- Ruído selecionado, a reprodução e o valor de nível de pressão sonora global

Tipo de Ruído e reprodução do ruído	Nível de Pressão Sonora Global [dB linear]
Arrastar Banco (arrastar banco de uma distância de 90 cm)	84,6
Arrastar Caixa (retirar a gaiola da estante e colocá-la novamente)	86,6
Bater porta (bater a porta ao fechá-la)	110,1
Colocar caixa na mesa (“largar” a gaiola em cima de uma mesa)	96,1
Chave Caindo na Prateleira (chaveiro com 4 chaves caindo de uma altura de 40 cm na prateleira)	88,5
Colocar Tampa da gaiola (colocar tampa na gaiola)	84,3
Ruído de Fundo	71,6



Figura 3- sonômetro e computador portátil

Os ruídos foram gravados em faixas de ordens aleatórias com duração de 20 minutos com intervalos de 15 segundos entre cada faixa. A indução do ruído foi feita de forma aleatória das 8:00 até as 17:00 horas. A escolha dos horários para indução do ruído foi feita através de sorteio. O ruído foi emitido por um alto-falante posicionado a 30cm do solo e ao lado da porta (figura 4) entre as duas estantes como mostra o leiaute da figura 5; o equipamento de som posicionado no lado de fora da sala de experimentação estava conectado ao autofalante (figura 6). A escolha do tempo do ruído foi estipulada pelo número de animais alojados, tamanho da sala e o tempo que uma pessoa levaria sozinha para fazer o manejo dos animais de forma apressada.



Figura 4- Altofalante utilizado para emissão do ruído

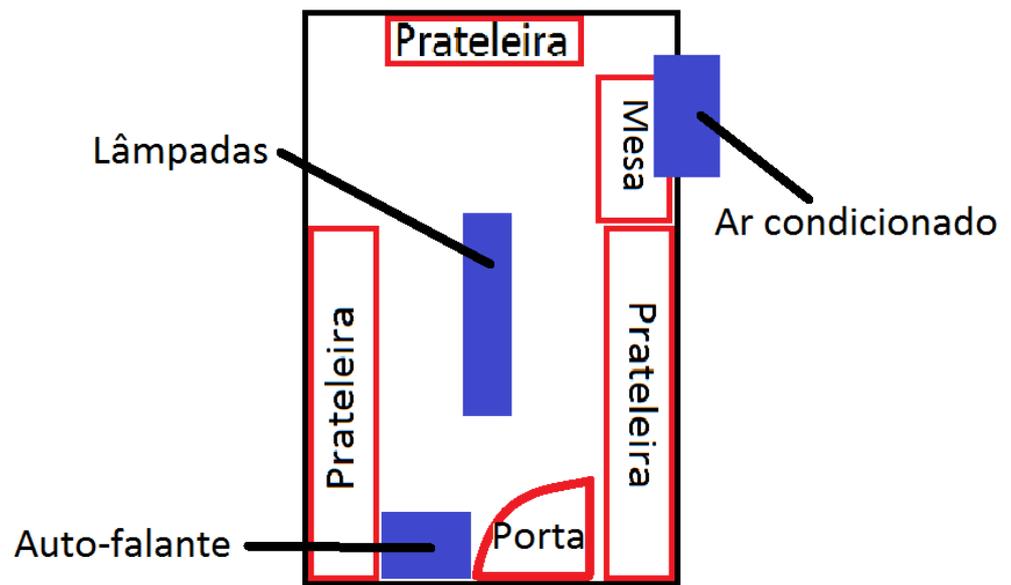


Figura 5: Leiaute da sala utilizada no experimento.



Figura 6- equipamento de som conectado ao altofalante.

### 3.2 Medição do ruído de fundo

O ruído de fundo é o ruído gerado pelos equipamentos que pertencem e estão permanentemente ligados na sala. No presente trabalho, o ruído de fundo foi medido duas vezes em cada grupo (tratado/controle), pois deveria ser monitorado para que se mantivesse constante (Figura 7). Quanto ao ruído de fundo, convém comentar que esse se manteve com uma diferença mínima de 10 dB do ruído gerado. Isso é importante tanto para evitar o mascaramento do ruído gerado quanto para que a influência do ruído de fundo seja desprezível, uma vez que sua contribuição quando na soma em decibéis, por ser uma escala logarítmica, é irrisória. Sendo assim, mesmo com o uso de ar-

condicionado, o ruído de fundo foi inferior ao ruído gerado, tendo permanecido constante para ambos os grupos. Semanalmente foram conferidos o ruído emitido (para o grupo tratado) e ruído de fundo para ambos os grupos, de forma a garantir a constância do ruído ambiental.



Figura 7- Utilização do sonômetro para medição do ruído de fundo

### 3.3 Espectro das frequências

Em todos os casos, os sinais dos ruídos foram analisados por meio da transformada rápida de Fourier. Convém mencionar que, em todos os casos, as principais frequências encontraram-se na faixa de frequência mínima de 200 Hz e máxima de 3200 Hz, mesmo adquirindo-se o ruído entre 20 Hz e 20 kHz. Para um melhor esclarecimento, o gráfico da figura 8 mostra o espectro da frequência do ruído de fundo, com os valores na vertical em nível de pressão sonora e na horizontal em frequência dada em hertz (Hz).

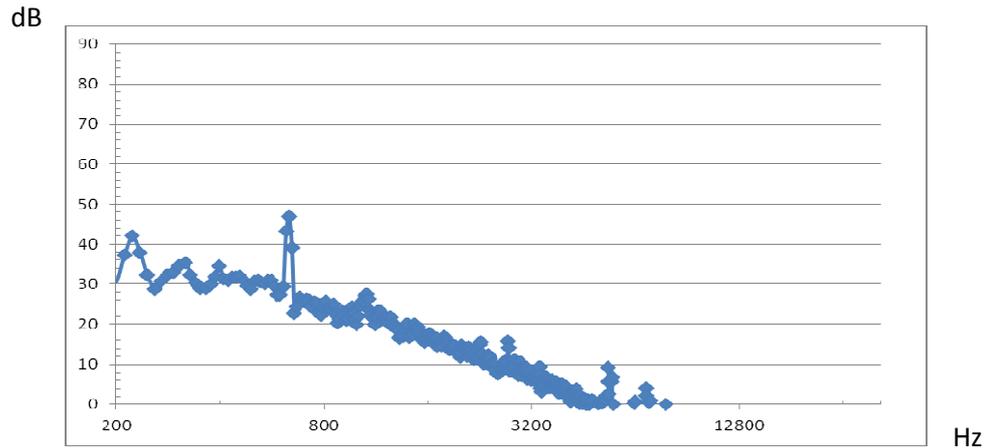


Figura 8: Espectro de frequência do ruído de fundo

Em relação a figura 8, a principal frequência geradora de ruído de fundo encontra-se em 240 e 700 Hz. O ruído de fundo nesse caso é o proveniente dos aparelhos existentes na sala como o reator das lâmpadas fluorescentes e do ar-condicionado.

### 3.4 Animais

Oitenta e dois ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), padrão sanitário convencional, foram utilizadas neste trabalho, sendo 67 fêmeas com idade aproximada de 120 dias e 15 machos, com idade aproximada de 70 dias. Os animais foram fornecidos pelo CREAL-UFRGS.

Os animais foram divididos em 2 grupos: (i) grupo tratado que foi submetido a indução do ruído e (ii) grupo controle que não fora submetido ao ruído. O manejo dos animais foi idêntico para ambos os grupos.

### 3.5 Alojamento dos animais

Os animais foram mantidos em sala privativa de aproximadamente 7m<sup>2</sup> no setor de experimentação do CREAL-UFRGS, dotada de controle de temperatura de 20 a 24°C, umidade 55 a 70% e luz (fotoperíodo 12h/12h claro e escuro). Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno em sistema aberto com dimensões de 340mm de largura x 490mm de comprimento x 180 mm de altura. A cama foi constituída por maravalha de pinus previamente esterilizada por calor úmido, sendo trocada em dias alternados; água e ração comercial peletizada eram fornecidos *ad libitum*. Para efeitos

de ambientação, os animais foram alojados na sala duas semanas antes do início do experimento.

### 3.6 Manejo dos animais

Ao início da ambientação, as fêmeas foram separadas aleatoriamente em grupos de 3 por gaiola, identificadas individualmente com marcador temporário (caneta hidrocor) na cauda para, então, por fim, serem pesadas. Foram separados aleatoriamente 4 machos por gaiola e um grupo com 3 machos, identificados da mesma maneira que as fêmeas e pesados ao final. A troca da cama e o fornecimento de água e ração foram feitos sempre pela mesma pessoa.

### 3.7 Acasalamento

Para o acasalamento utilizou-se 1 macho para três fêmeas durante o período de cinco dias, sendo retirado no sexto dia.

Para a verificação da prenhez, as fêmeas foram pesadas um dia antes da colocação dos machos e no sétimo dia após o acasalamento, sendo consideradas prenhes as fêmeas com aumento de peso de 5 a 8 gramas (TARABLA, 2000; FIALHO, 2009). As fêmeas eram pesadas a cada 4 dias para controle do aumento de peso durante toda gestação (figura 9).



Figura 9: Verificação do peso da rata *wistar*

### **3.8 Grupo Experimental**

#### **3.8.1 Grupo controle**

Nesse grupo foram utilizadas 32 fêmeas separadas em 11 grupos identificados por letra alfabética (A ao L) e cada fêmea do grupo por cores (laranja, verde ou roxo). Nesse grupo não houve a indução de ruído e as fêmeas foram separadas ao 21º dia de gestação em gaiolas individuais para os partos. Os partos foram acompanhados das 6:30 até as 22:00min. Durante o ciclo escuro, ligava-se luz vermelha.

No decorrer dos partos verificava-se o número de filhotes vivos e o número de filhotes natimortos. Os filhotes vivos eram pesados duas horas após o término do parto e as demais pesagens foram feitas entre 14:00 e 16:00 hs.

Devido o ruído de fundo ser diferente nas salas de alojamentos e este pode interferir nos resultados, o grupo controle foi alojado na mesma sala do grupo tratado após o término do experimento do grupo tratado.

#### **3.8.2.2 Grupo Tratado**

Foram utilizadas 35 fêmeas separadas em 12 grupos. Cada grupo foi identificado por letra do alfabeto (A ao M) e cada fêmea do grupo por cores (vermelha, azul ou preta)

No dia da retirada do macho (sexto dia após a colocação para o acasalamento), iniciou-se a indução do ruído duas vezes ao dia, em sessões de vinte minutos cada, com intervalo de 15 segundos entre cada ruído. As sessões prosseguiram durante todo o período de gestação (21-23 dias) e avançaram até a primeira semana de vida dos filhotes; eram realizadas em horários alternados durante os 5 dias da semana, cessando no final de semana. Até o término da gestação, ao final de cada dia, era feito o rodízio das gaiolas nas prateleiras das estantes. As gaiolas eram reordenadas numa sequência de baixo para cima, com o objetivo de que todas, em algum momento, ficassem próximas à caixa de som. A figura 10 demonstra o leiaute da sala com posicionamento das prateleiras.

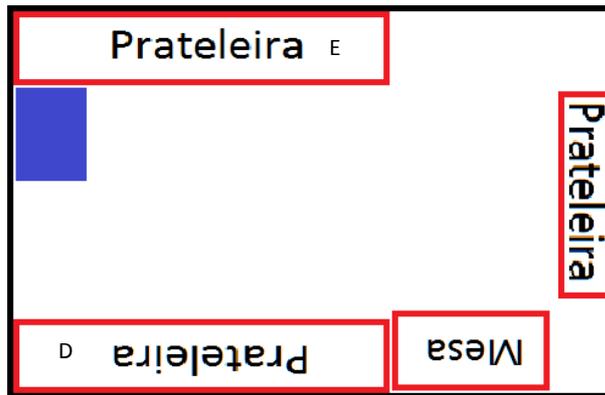


Figura 10: Leiaute da sala com posicionamento das prateleiras.

Ao 21º dia de gestação as fêmeas foram separadas em gaiolas individuais para os partos, os quais foram acompanhados das 06h30min até às 22h00min. Para observação do parto durante o ciclo escuro, ligava-se luz vermelha.

Durante o parto verificava-se o número de filhotes vivos e o número de filhotes natimortos.

### 3.8.3 Crescimento ponderal dos filhotes

Para avaliação do crescimento ponderal, os filhotes eram diariamente pesados em balança digital (figura 11 e 12). Os filhotes foram pesados uma vez ao dia por 7 dias. A primeira pesagem foi feita duas horas após o término do parto e as demais foram feitas entre 14:00 e 16:00 hs.

Primeiro pesava-se o três filhotes machos maiores da ninhada individualmente e, posteriormente em conjunto.



Figura 11: Pesagem do filhote individual



Figura 12: Pesagem dos filhotes maiores em conjunto

### 3.9 Análise estatística

Os dados obtidos foram reunidos em planilha eletrônica (Microsoft Excel) e analisados mediante utilização do software SAS<sup>®</sup>, versão 9.2. O nível de significância para as análises foi de 5%.

A análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas e o teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer foram utilizados para comparar o peso médio dos três filhotes maiores.

Para a análise do número de natimortos entre os grupos utilizou-se o teste T.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Pressão sonora e frequências

Os valores de pressão sonora e os espectros das frequências dos ruídos gravados estão apresentados nos gráficos das figuras 13 a 18 a seguir mostram o espectro das frequências, com os valores na vertical em nível de pressão sonora e na horizontal em frequência dada em hertz (Hz), para cada um dos tipos de ruído gerado. Para esclarecimento, o valor global nada mais é que a soma logarítmica de cada um dos valores de pressão sonora para cada uma das frequências. Ou seja, o valor global corresponde à integral da curva do espectro sonoro, ou, em outras palavras, a área sob a curva.

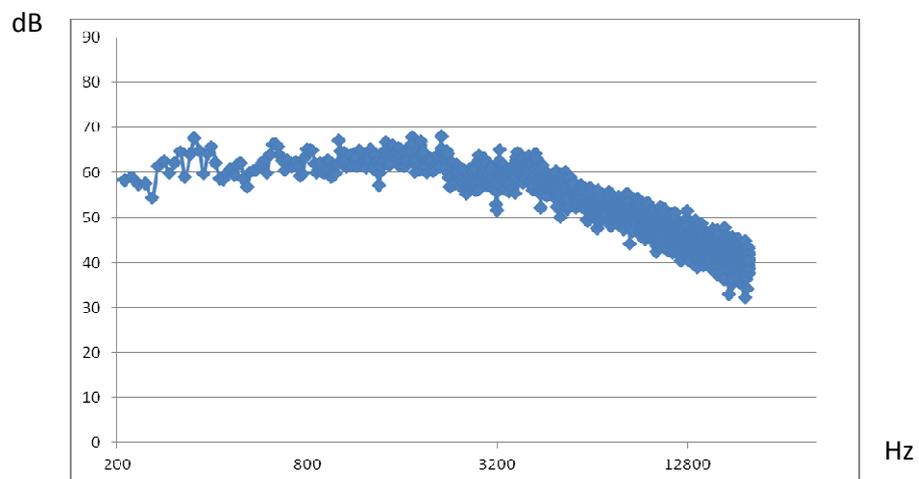


Figura 13: Ruído: Chave caindo na prateleira, ruído global: 88,5 dB

Nota-se na figura 13 que a principal frequência geradora do ruído encontra-se 300 a 2000 Hz, com valores variáveis de pressão sonora de 55 a 68 dB.

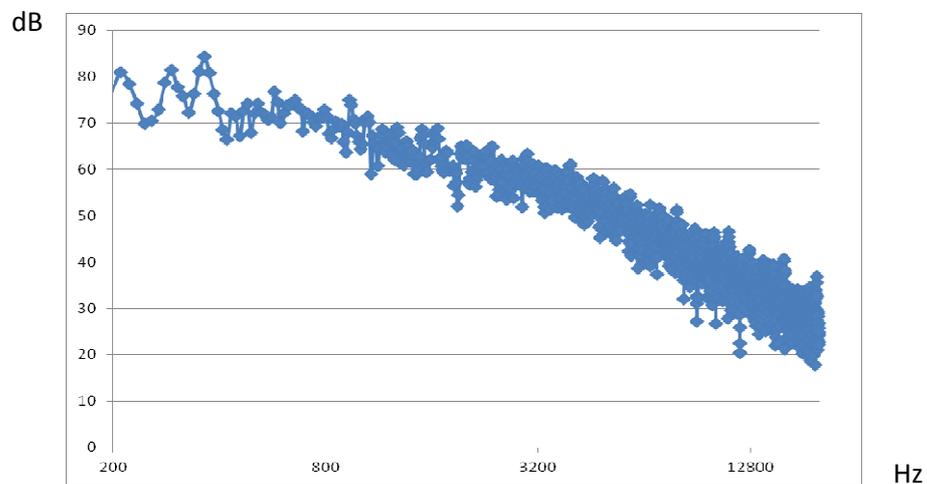


Figura 14: ruído - cair caixa, ruído global: 96,1 dB

A principal frequência geradora do ruído encontra-se 200 a 2000 Hz, com valores variáveis de intensidade sonora de 58 a 85 dB. Na faixa de 400 Hz o nível de pressão sonora foi maior.

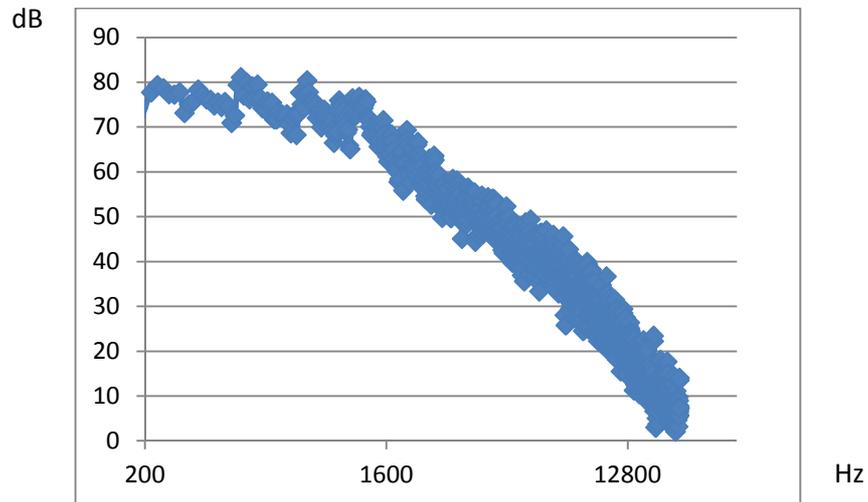


Figura 15: Ruído- bater porta, ruído global: 110,1 dB

A principal frequência geradora do ruído encontra-se 200 a 2000 Hz, com valores variáveis de intensidade sonora de 58 a 82 dB.

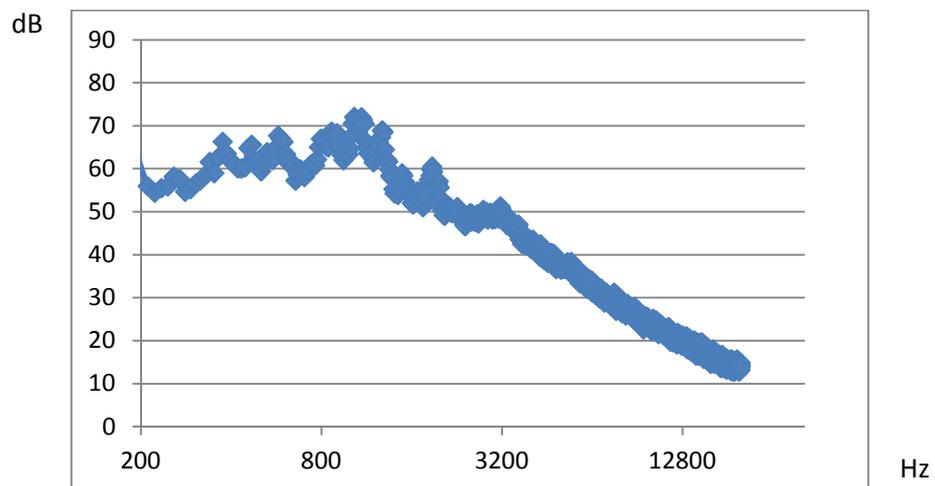


Figura 16: Ruído- arrastar banco, Ruído global: 84,6 dB

A principal frequência geradora do ruído encontra-se 300 a 1400 Hz, com valores variáveis de intensidade sonora de 50 a 72 dB. Observa-se um considerável aumento no nível de pressão sonora na faixa de 900 a 1000 Hz.

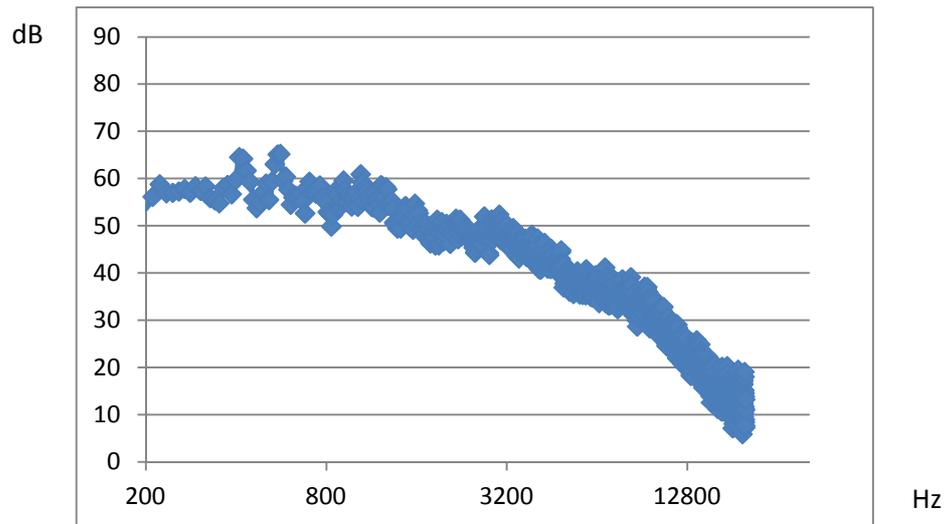


Figura 17: Ruído- arrastar caixa, Ruído global: 86,6dB

A principal frequência geradora do ruído encontra-se 200 a 3200 Hz com valores variáveis de intensidade sonora de 45 a 68 dB. Nos valores de 400 Hz e 700 Hz foi observado maiores níveis de intensidade sonora.

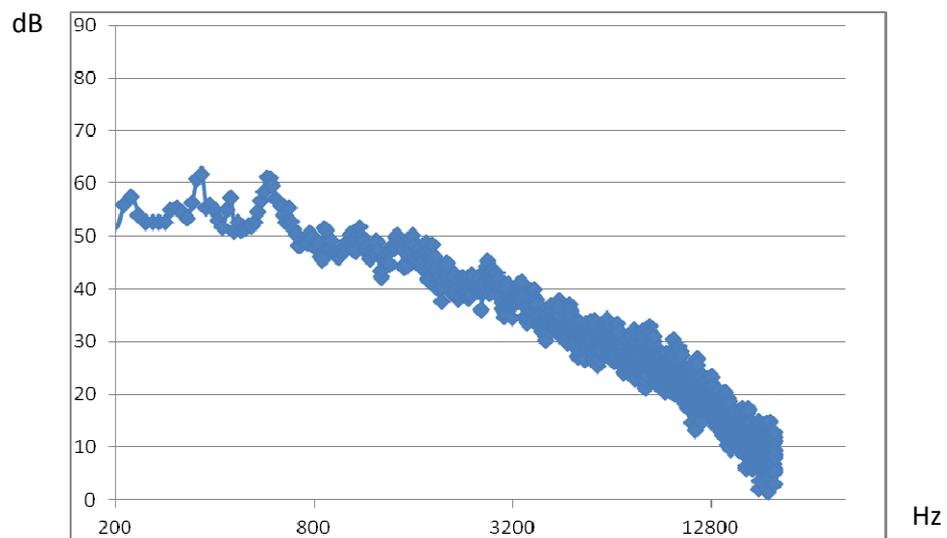


Figura 18: Ruído- colocar tampa, ruído global: 84,3 dB

A principal frequência geradora do ruído encontra-se 200 a 1600 Hz. com valores variáveis de intensidade sonora de 50 a 62 dB. Observa-se nos valores de 500 a 600 Hz maiores níveis de intensidade sonora.

## 4.2 Grupo experimental

### Grupo controle

Em relação ao grupo controle das 32 fêmeas utilizadas, 25 emprenharam. Das 25 fêmeas, duas tiveram partos com natimortos, duas tiveram partos distócicos e morreram. Numa fêmea do grupo “B”, o parto não fora acompanhado; ela mantinha 4 filhotes vivos quando foi avaliada e, durante a noite seguinte, fez canibalismos em todos esses filhotes. Tanto a fêmea que não teve o parto acompanhado quanto aquelas com distocia foram retiradas da análise estatística.

No total houve 194 filhotes vivos e dois natimortos.

O comportamento de canibalismo pós-morte foi observado em três fêmeas pertencentes aos grupos “C e B”. Na tabela 2 observa-se o número de partos, partos com natimortos, filhotes vivos e natimortos do grupo controle.

Tabela 2- Número de partos com natimortos, filhotes vivos e natimortos do grupo controle

<i>GRUPO</i>	<i>Nº de partos</i>	<i>Nº de partos com natimortos</i>	<i>Nº filhotes vivos</i>	<i>Nº natimortos</i>
A	3	0	23	0
B	2	0	13	0
C	2	0	21	0
D	2	1	16	1
E	2	1	13	1
F	1	0	9	0
G	2	0	17	0
H	2	0	23	0
I	2	0	21	0
J	2	0	20	0
L	2	0	18	0
TOTAL	22	2	194	2

### Grupo tratado

Em relação ao grupo tratado, das 35 fêmeas utilizadas, 22 emprenharam e levaram a gestação a termo. Dos 22 partos (figura 19), 10 fêmeas tiveram partos com natimortos. Em relação ao número de neonatos totalizaram-se no total 200 filhotes vivos e 15 natimortos.

Durante os partos foi observado o comportamento de “canibalismo pós-morte” em três fêmeas pertencentes aos grupos “A, C e J”. Na tabela 3 observa-se o número de partos, partos com natimortos, filhotes vivos e natimortos do grupo tratado.

Tabela 3: número de partos, partos com natimortos, filhotes vivos e natimortos do grupo tratado

<i>GRUPO</i>	<i>Nº de partos</i>	<i>Nº de partos com natimortos</i>	<i>Nº filhotes vivos</i>	<i>Nº natimortos</i>
A	1	1	9	1
B	1	0	11	0
C	2	2	22	3
D	2	0	23	0
E	1	0	7	0
F	2	2	25	2
G	2	0	17	0
H	2	1	17	1
I	2	1	24	1
J	2	2	2	5
L	2	0	17	0
M	3	1	18	2
TOTAL	22	10	200	15



Figura 19: Fêmea *Wistar* parindo



Figura 20: Filhote natimorto do grupo tratado (seta)



Figura 21: Filhotes natimortos de fêmea do grupo J (tratado)

Para a análise do número de filhotes natimortos entre o grupo tratado e o grupo controle utilizou-se o T-test, no qual mostrou diferença significativa entre os dois grupos ( $p=0,021$ ) (Tabela 4)

Tabela 4: Análise estatística do número de filhotes natimortos entre o grupo tratado e o controle

<i>GRUPO</i>	<i>Nº de partos</i>	<i>Nº de partos com natimortos</i>	<i>Nº filhotes vivos</i>	<i>Nº natimortos</i>
Tratado	22	10	200	15
Controle	22	2	194	2
TOTAL	44	12	394	17

( $p=0,021$ )

Em relação ao crescimento neonatal houve a perda de 1 filhote de uma ninhada de 8 filhotes pertencente ao grupo “G” por esmagamento no grupo tratado. No grupo controle, houve a perda de 6 filhotes das ninhadas pertencentes aos grupos “A, C, E, F, G”. Desses filhotes, 4 morreram por esmagamento.

Em relação ao ganho de peso diário, os filhotes de ambos os grupos (controle e tratado) nasceram com 5 e 6 gramas e ganhavam em média 1 grama de peso diário. Dos 200 filhotes vivos, 53 filhotes do grupo tratado no segundo dia não tiveram aumento de peso, assim como 21 filhotes no terceiro dia e 9 filhotes no quarto dia.

No grupo controle, dos 194 filhotes vivos, foi observado que 20 filhotes o peso ficou estabilizado no segundo dia e 10 filhotes no terceiro dia.

Para a análise dos pesos dos filhotes foi utilizado a análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Através do teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer, conclui-se que nos dias 4, 5, 6 e 7 o peso médio dos filhotes do grupo controle difere significativamente do peso médio dos 3 filhotes maiores das ninhadas do grupo experimental,  $p=0,0026$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,0005$  e  $p<0,0001$ , respectivamente (figura 20).

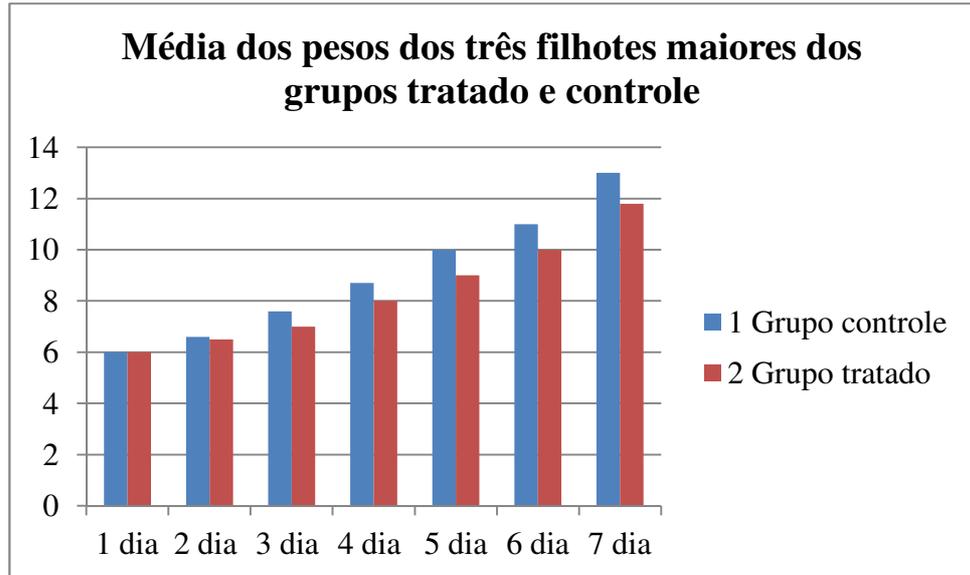


Figura 22- Ganho de peso diário dos filhotes do grupo tratado e controle

## 5. DISCUSSÃO

Em relação ao ruído, obtiveram-se os seguintes valores globais de nível de pressão sonora: arrastar banco (84,6dB), arrastar caixas (86,6 dB), bater porta (110,1 dB), cair caixa (96,1 dB), chave caindo na prateleira (88,5 dB), colocar tampa da gaiola (84,3 dB). Durante o período de observação dos funcionários, pesquisadores, bolsistas e estagiários, notou-se que a área experimental (onde realizavam experimentos), em especial a situada próxima ao setor de lavagem, eram os setores mais ruidosos e o estilo de trabalho nesses lugares era de forma apressada e bruta. Devido a essa observação, os ruídos foram gravados e reproduzidos no estilo apressado, resultando em valores de intensidade sonora elevados. Esses valores elevados de intensidade sonora concordam com Voipo *et al.*, (2006) os quais gravaram e avaliaram dois estilos de trabalho (calmo e apressado) durante a rotina com roedores nas seguintes ações: retirada da gaiola do rack, colocar a gaiola na mesa e repondo a mesma no rack. Os valores variaram de 70 a 90 dB e o estilo apressado foi 10 a 15 dB mais elevado que o calmo. Os resultados do presente trabalho também vai de encontro com Lauer *et al.*, (2009) os quais identificaram fontes de ruído acima de 80 dB realizados por atividade humana. Trabalhos mais antigos também relatam valores altos gerados por atividade humana (PFAFF & STECKER, 1976; MILLIGAN; SALES; KHIRNYKH, 1993).

Convém mencionar, que no presente trabalho, o espectro das frequência variou de 200 Hz a 3200 Hz. Esses ruídos são audíveis para os ratos cujo seu espectro de audição é 200 Hz a 80 KHz (FAY, 1988). Em termos de comportamento animal quando da indução do ruído, notou-se que os ruídos de cair chave na prateleira, arrastar caixa e banco eram os que mais incomodavam os ratos. Em todos os ruídos, a impressão da reação dos animais era de “susto” e alguns ficavam bem próximos se aninhando. Com passar dos dias, percebeu-se que alguns animais aparentemente se adaptaram ao ruído, pois não mais demonstravam alteração visível de comportamento. Todavia, mesmo aparentando adaptação, o ruído repetido pode causar danos. Voipo *et al.*, (2006) apud Voipo (1997) explicam que embora ratos adaptem-se aos sons após repetidos estímulos, a memória desses animais é curta e a adaptação ao mesmo tipo de som faz com que aja uma resposta semelhante diante do ruído.

Foi observado também que o grupo tratado era mais agitado em relação ao grupo controle. Em ambos os grupos o manejo dos animais era feito pela mesma pessoa e de

forma calma para não interferir no resultado do experimento, observando-se que o grupo controle teve comportamento mais dócil e calmo do que o tratado.

Cabe salientar que tanto os valores globais de pressão sonora quanto a frequência são importantes para a avaliação de ruído dentro das instalações dos animais de laboratório. O fato de ter um valor alto de pressão sonora não necessariamente terá valores de frequência alta, assim como o inverso também é válido. A análise do espectro da frequência é importante para verificar se o valor obtido pela medição da pressão sonora possui o espectro de frequência da espécie animal alojada.

A medição do ruído de fundo nas instalações também é importante porque o mesmo pode causar danos (LAUER *et al.*, 2009). No presente trabalho, apesar do ruído de fundo apresentar frequência dentro do espectro auditivo dos ratos, não influenciou nos resultados obtidos, uma vez que o ruído induzido foi mais elevado que o de fundo, o qual manteve-se igual em ambos os grupos (tratado e controle).

Em relação ao grupo experimental, o grupo tratado apresentou 10 partos com filhotes natimortos, totalizando 15 filhotes natimortos, ao passo que, no grupo controle, apenas duas fêmeas tiveram partos com natimortos, totalizando dois filhotes. A análise do T-test mostrou diferença significativa entre os dois grupos ( $p=0,021$ ). Esses resultados estão de acordo com Rasmussen *et al.*, (2009), que induziram ruídos de construção (serra) de 70, 80 e 90 dB com frequência acima de 2 a 8 kHz por 1 hora em grupos diferentes nas 3 fases da gestação em fêmeas camundongos Swiss webster e observaram aumento de nascimentos de natimortos (24) em relação ao grupo controle (1). Trabalhos anteriores descritos por Sales *et al.*, (2005); Turner *et al.*, (2005) também revelam efeitos causados pelo ruído no sistema reprodutor como diminuição do estro, das taxas de fertilidade, aumento da mortalidade fetal e reabsorção fetal.

A explicação para a ocorrência desses efeitos pode ser atribuído ao estresse gerado pelo ruído na fêmea durante a gestação. É suposto que o ruído ativa a divisão simpática do sistema nervoso produzindo uma resposta fisiológica de estresse com características semelhantes aos provocados por outros sentidos e estímulos psicossociais (SELYE, 1976). Nos roedores, essa resposta neuroendócrina aumenta os níveis de corticosterona (TURNER *et al.*, 2005) podendo permanecer na circulação por até 12 horas após a remoção do ruído (HENKIM; KNIGGE 1963). Teixeira *et al.*, (1999) acrescenta que em situações de estresse vários hormônios são liberados para a corrente sanguínea, incluindo o ACTH, cortisol e (nor)adrenalina em grandes quantidades.

Sabendo-se que, nos ratos, a infusão de noradrenalina reduz o fluxo de sangue no útero e ovário (GAFVELS *et al.*, 1988) pode-se atribuir ao ruído o desencadeamento da liberação desses hormônios, influenciando na saúde fetal (RASMUSSEN *et al.*, 2009).

Camundongos tem sensibilidade auditiva ultrasônica (2 a 91KHz, a 60 dB)(HEFFNER; HEFFNER, 2007). Apesar das diferenças de sensibilidade auditiva do rato (200Hz a 80 KHz) e do camundongo, os resultados dos trabalhos foram semelhantes porque os espectros de frequências de cada trabalho estavam no alcance auditivo das espécies estudadas. No estudo de Rasmussen *et al.*, (2009), o espectro da frequência situava-se entre 2 a 8 KHz, enquanto nesse trabalho foi de 200 a 3200 Hz.

Rasmussen *et al.*, (2009), no mesmo estudo citado anteriormente, observaram redução no tamanho da ninhada durante o período de peri-implantação: o grupo tratado apresentou média de 5,8 filhotes por ninhada, enquanto o grupo controle teve média de 10,2. Os autores atribuem a redução no tamanho da ninhada à ação dos corticosteróides e seu efeito sobre o estrógeno e progesterona, os quais possuem direta influência na implantação de blastocisto nos ratos.

Ratos Wistar parem 8 a 14 filhotes por ninhada (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009). No presente trabalho, as ratas pariram ninhadas de 7 a 15 filhotes, mas houve quatro ninhadas no grupo tratado de apenas 1, 3, 4, 6 filhotes e uma fêmea prenhe voltou ao peso anterior ao acasalamento na primeira semana da indução do ruído. No grupo controle, apenas duas ninhadas foram de número reduzido, com 4 e 5 filhotes cada.

Em relação ao crescimento neonatal, Sarkaki; Karami (2004) relatam que a exposição crônica a ruído durante a gestação reduz o peso corporal do recém nascido nos animais e seres humanos. A diminuição de peso do recém nascido foi observada em mulheres grávidas expostas ao ruído aéreo, constatando-se que os recém nascidos dessas mulheres nasceram com 69g a menos do que mulheres grávida expostas a áreas de menor ruído (KNIPSCHILD; MEIJER; SALLE, 1981). No presente trabalho, os filhotes de ambos os grupos nasceram com pesos entre 5 e 7 gramas, valor considerado normal para a espécie (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009) a exposição diária de 20 minutos em dois turnos pode ter sido insuficiente para gerar filhotes com menor peso ao nascer.

Por outro lado, o ganho de peso diário dos filhotes teve diferença significativa nos dias 4, 5, 6 e 7 onde o peso médio dos filhotes maiores do grupo controle difere significativamente do peso médio dos 3 filhotes maiores das ninhadas do grupo experimental,  $p= 0,0026$ ,  $p<0,001$ ,  $p= 0,0005$  e  $p<0,0001$ , respectivamente. Esses resultados diferem dos obtidos por Rasmussen *et al.*, (2009), que não constatou redução de peso na primeira semana de vida dos filhotes. Cabe salientar que esse trabalho foi realizado com camundongos, enquanto que o presente trabalho utilizou ratos, o que pode justificar a diferença observada nesse item. Pela medição dos pesos diários notou-se que os filhotes de ambos os grupos ganhavam em média 1 grama de peso diário, mas em alguns filhotes (53) do grupo tratado o peso ficou estabilizado em dois (21), três (23) e quatro dias (9). No grupo controle também foi observado que, em alguns filhotes, o peso ficava estabilizado (30), o que, todavia, não durava mais que dois dias.

Rasmussen *et al.*, (2009) levantaram a hipótese de que a redução de peso dos neonatos poderia ser atribuída ao comportamento materno alterado, em relação à amamentação, pela presença do ruído. Assim, observando-se o comportamento materno foi constatado que, nas primeiras 24 horas, as fêmeas ficavam agitadas com a presença do ruído, cobrindo os filhotes no ninho com maravalha. Enquanto os filhotes estavam no ninho, elas ficavam por fora agitadas, retornando apenas depois do término do ruído. No decorrer dos dias as fêmeas não mais alteravam seu comportamento pela presença do ruído, seguindo junto aos filhotes na amamentação. Esse comportamento de “guarda” das ratas em relação aos filhotes pode ser atribuído ao instinto materno de proteção a prole e também pelo fato dos roedores serem considerados espécies “presas”, exigindo atenção a ruídos que possam indicar a presença de predador. O sistema auditivo do rato permite a identificação do predador no escuro a grandes distâncias, funcionando esse sistema como um “gatilho” para a excitação, respondendo mais rápido que os outros sistemas sensoriais; seu circuito neural suporta a ativação rápida que caracteriza luta ou fuga (TURNER; BAUER; RYBACK, 2007).

Os roedores, por terem essa característica de estar alertas, justificam o comportamento das fêmeas em “esconder” os filhotes em ninhos protegidos, mantendo-se alertas a possíveis ameaças. No decorrer do experimento, ao adquirirem familiaridade com o ruído, esse não mais representaria uma ameaça para as fêmeas e seus filhotes, deixando de interferir na amamentação. Mesmo assim, essa alteração do comportamento materno nos primeiros dias da lactação pode ter gerado a diminuição do peso a partir do

quarto dia, uma vez que os filhotes do grupo tratado tiveram seu peso estabilizado e os do grupo controle ganharam peso.

Por outro lado, também a manipulação diária com os filhotes pode afetar o comportamento materno (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009). Todavia, não se verificou comportamento agressivo das durante a manipulação dos filhotes, o que pode ser atribuído ao fato de ser sempre a mesma pessoa a manipular todos os animais desde o início do experimento, bem como o cuidado de retirar e devolver os filhotes no ninho. Por fim, a pesagem dos filhotes era feita ao lado da gaiola e as fêmeas, propiciando às fêmeas acompanhar a manipulação de seus filhotes.

## 6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos foi concluído que:

- A atividade humana na rotina diária em sala de animais é capaz de gerar ruídos dentro da faixa de sensibilidade auditivas dos ratos.
- O estilo do trabalho de forma apressada produz ruídos de baixa e alta frequências audíveis para os ratos podendo causar alterações fisiológicas e comportamentais.
- Ratas wistar expostas a ruídos gerados por atividade humana duas vezes ao dia por 20 minutos, com níveis de pressão sonora de 84,3 a 110,1 dB e frequências entre 200 Hz a 3200 Hz, podem gerar filhotes natimortos.
- O comportamento materno é afetado nas 24 horas iniciais quando ratas lactantes são expostas a ruídos de nível de pressão sonora de 84,3 a 110,1 dB e frequências entre 200 Hz a 3200 Hz, podendo causar diminuição de peso dos filhotes na primeira semana de vida.

## **7. PERSPECTIVAS**

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, sugerimos estudos com mensuração de hormônios de estresse (corticosterona) para melhor entendimento das respostas fisiológicas causada pelo estresse e sua relação na viabilidade fetal.

Para melhor compreensão do efeito do ruído no crescimento ponderal de neonatos, seriam indicados estudos relacionados ao comportamento materno com análise de parâmetros comportamentais, mensuração de hormônios corticosterona e prolactina, bem como o acompanhamento de peso dos filhotes até o desmame (21 dias).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMARIO, A.; CASTELLANOS, J.M.; BALASCH, J. Chronic noise stress and insulin secretion in male rats. *Physiol Behav*, 34:359–361, 1985.
- BALDWIN, A.L.; PRIMEAU, R.L.; JOHNSON, W.E. Effect of noise on the morphology of the intestinal mucosa in laboratory rats. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v.45, p.74–82, 2006
- BASAK, S. *et al.* Expression of pro-inflammatory cytokines in mouse blastocyst during implantation: modulation by steroid hormones. **American Journal Reproductive Immunology**. v. 47, n.1, p. 2-11, 2002.
- CARLTON, D. L.; RICHARDS, W. Affordable noise control in a laboratory animal facility. **Laboratory Animal**, v.31, p.47-48, 2002.
- CASTRO, V. L. Estudo experimental em ratos da interação Mãe-filhote expostos a agroquímicos. **Circular Técnica**. n.13, p. 1-7, 2006.
- CHANG, E. F; MERZENICH, M. M. Environmental noise retards auditory cortical development. **Science**, v.300, p. 498–502, 2003.
- CLOUGH G. Environmental effects on animals used in biomedical research. **Biologicals Reviews**, v. 57, n.3, p.487–523, 1982.
- EBISUI, L.; FONTES, R. S.; LAPCHIK, V. B. V. Rato. *In*: LAPCHICK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. Atheneu editora: São Paulo, 2009. p. 229-250.
- FAY, R.R. **Hearing in vertebrates: a psychophysics databook**. Winnetka (IL): Hill-Fay Associates. 1988. 621p.
- FIALHO, C. G. **Modelo Hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse, 1839) para o estudo da toxoplasmose congênita**. 2009. 162f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre
- GAFVELS, M. *et al.* Hormonal influence on utero-ovarian blood flow distribution in the midluteal pseudopregnant rat. **Acta Physiologica Scandinavica**, V. 132, p. 329-334, 1988.
- GOLUB, M.S. *et al.* Effects of restraint stress in gestation: implications for rodent developmental toxicology studies. **Birth Defects Research (part b) Developmental and Reproductive Toxicology**. v. 71, p.26–36, 2004.
- HAQUE, S. F. *et al.* Anesthesia and acoustic stress-induced intra- uterine growth retardation in mice. **Journal of Reproduction and Development**, v. 50, n.2, p.185-190, 2004.
- HEFFNER, H.; HEFFNER, R. Hearing Ranges of laboratory animals. **Journal American Association for Laboratory Animal Science**, v. 46, n.1, p.20-22, 2007.

HENKIN, R. I.; KNIGGE, K. M. Effect of sound on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **American Journal of Physiology**, v.204, p.701-704, 1963.

HUGHES, L. F. The fundamentals of sound and its measurements. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v.46, p.14-19, 2007.

ISING, H.; KRUPPA, B. Health effects caused by noise: evidence in the literature from the past 25 years. **Noise Health**, v.6, n.22, p.5-13, 2004.

JANSSON. Responsiveness to epinephrine of the vessels supplying the placenta of growth-retarded fetuses. **American Journal of Obstetrics & Gynecology** v. 158, p.1233-1237, 1988.

KNIPSCHILD, P.; MEIJER, H.; SALLE, H. Aircraft noise and birth weight. **International Archives Occupational and Environment Health**, v. 48, p. 131-136, 1981.

LAUER, A. M. *et al.* Sound levels in modern rodent housing rooms are an uncontrolled environmental variable with fluctuations mainly due to human activities. **Laboratory Animal (NY)**, v.5, p.154-160, 2009.

LOHMILLER, J. J.; SWING, S. P. Reproduction and breeding. *IN:*, SUCKOW, M. A.; WEISBROTH, S. H.; FRANKLIN, C. L. **The Laboratory Rat**. 2 ed. Elsevier Academic press: San Diego. P.148-.155, 2006.

MILLIGAN, S. R.; SALES, G. D.; KHIRNYKH, K. Sound levels in rooms housing laboratory animals: an uncontrolled daily variable. **Physiology and Behavior**, v.53, p.1067-1076, 1993.

MOORE, J. T.; RIVOLI, P. J; ISON, J. R. The behavioral response of mice to gaps in noise depends on its spectral components and its bandwidth. **Journal of the Acoustical Society of America**, v. 117, p.3944–3951, 2005.

MURATA M, TAKIGAWA H, SAKAMOTO H. Teratogenic effects of noise and cadmium in mice: does noise have teratogenic potential? **Journal of Toxicology Environment Health**, v. 39, p.237–245, 1993

NAFF, K. A. *et al.* Noise Produced by Vacuuming Exceeds the Hearing Thresholds of C57Bl/6 and CD1 Mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 46, n.1, p.52-57, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Guide for the care and use of animals**. Washington, D.C: National Academy Press, 2010. 162p

NAWROT, P.S; COOK, R.O, HAMM, C.W. Embryotoxicity of broadband high-frequency noise in the CD1 mouse. **Journal of Toxicology Environment Health**, v. 8, p.151–157, 1981.

OLDFIELD, S. R; PARKER, S. P. "Acuity of sound localisation: a topography of auditory space. I. Normal hearing conditions" **Perception**, v.13, p 581 – 600, 1984

PETERSON, E. A. Noise and laboratory animal. **Laboratory Animal Science**, v. 30, n.2, p.422-439, 1980.

- PETERSON, E.A. *et al.* Noise raises blood pressure without impairing auditory sensitivity. **Science**, v.211, p.1450–1452, 1981.
- PFAFF, J.; STECKER, M. Loudness level and frequency content of noise in the animal house. **Laboratory Animals**, v.10, p. 111-117,1976.
- POOLE, T. Happy animals make good science. **Laboratory Animals**, v.31, n. 2, p. 116-124, 1997
- RABAT, A. Extra-auditory effects of noise in laboratory animals: the relationship between noise and sleep. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v.46, p.35–41, 2007.
- RASMUSSEN, S. *et al.*, Construction noise decreases reproductive fertility efficiency in mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, V. 48, n.4, p.363-3709, 2009.
- REYNOLDS, R. P. *et al.* Noise in a Laboratory Animal Facility from the Human and Mouse Perspectives. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**. V. 49, n. 5. P. 592-597, 2010.
- SALES, G.D. *et al.* Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the welfare and use of laboratory animals. **Laboratory Animal**, v. 22, p.369–75, 1988.
- SARKAKI, A.; KARAMI, K. Impaired Learning Due to Noise Stress During Pregnancy in Rats Offspring. **Journal of Research in Medical Sciences**. v. 6. p. 275-279, 2004.
- SELYE, H. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. **Canadian Medical Association Journal**, v.115, n.1,p.53-56, 1976.
- TARABLA, H. **Epidemiologia diagnóstica**.Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé (Argentina)p. 37-53, 2000.
- TEIXEIRA, M. A.; FILHO, A. F. Impacto dos fatores ambientais. *In*: LAPCHICK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. editora Atheneu: São Paulo, 2009. p. 101-111.
- TURNER, J. G.; BAUER, C. A.; RYBAK, L. P. Noise in animal facilities: Why it matters. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**. v.46, n.1.p. 10-13, 2007.
- TURNER, J.G. *et al.* Hearing in laboratory animals: Strain differences and nonauditory effects of noise. **American Association for Laboratory Animal Science**. v.55, n. 1, p. 12-23, 2005.
- VOIPIO, H. M. *et al.* Role of cage material, working style and hearing sensitivity in perception of animal care noise. **Laboratory Animals**, n.40, p. 400-409, 2006.
- VOIPIO, H. M. How do rats react to sound? **Scandinavian Journal of Laboratory Animal**. v. 24, n.1, p. 1-80, 1997.
- YAMAGUCHI, C. Studies on the environmental control of laboratory animals. **Experimental. Animal**. v.44, n1, p.9-21, 1995.