

INFLUÊNCIA DO MANEJO NA PRODUTIVIDADE E NO DESENVOLVIMENTO DE CAMUNDONGOS (*MUS MUSCULUS*)

M.M. Braggio¹, A.R.S. Martins², V.B. Valero³

¹Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: braggio@biologico.sp.gov.br.

RESUMO

Os animais de laboratório são recursos biológicos, usados em pesquisa, que reagem a fatores internos relacionados com suas condições sanitárias e a fatores externos relacionados ao meio ambiente. Para minimizar a variabilidade e atingir a reprodutibilidade dos resultados experimentais, esses fatores devem ser considerados para o estabelecimento do manejo e de procedimentos padronizados empregados aos animais. Esse estudo visou aumentar a produtividade da colônia de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster do biotério do Instituto Biológico de São Paulo. Foram selecionados camundongos de ambos os sexos para acasalamento aos 70 dias de idade. A ninhada foi limitada a 8 filhotes/fêmea e o período de amamentação foi de 21 dias. Ao desmame os animais foram separados em grupos de machos e de fêmeas e mantidos em gaiolas de polipropileno sob condições ambientais controladas de temperatura, umidade, fotoperíodo e renovação de ar. As curvas de pesos foram obtidas durante a fase de crescimento frente à administração de duas rações comerciais (A e B); também foi avaliado o consumo de ração e água. As medidas de padronização resultaram em aumento da taxa de fertilidade, do índice de natalidade e do peso do animal ao desmame, como também propiciaram o estabelecimento da curva de peso dos animais em crescimento. Os peso dos animais alimentados com as rações A e B não apresentaram diferença significativa. Os resultados indicaram que a padronização do manejo foi efetiva em aumentar a produtividade animal da colônia de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster.

PALAVRAS-CHAVE: Camundongos (*Mus musculus*), manejo, reprodução, produtividade.

ABSTRACT

INFLUENCE OF THE HANDLING IN THE PRODUCTIVITY AND IN THE PERFORMANCE OF MICE (*MUS MUSCULUS*). The laboratory animals are biological resources, used in research, that react internal factors related with their sanitary conditions and external factors related to the environment. To minimize variability and to reach the reproductibility of the experimental results, these factors must be considered for the establishment of standardized handling procedures for the animals. This study was aims at increasing the productivity of the Swiss Webster (*Mus musculus*) mice colony of the Laboratory Animal Center of the Instituto Biológico of São Paulo. Mice of both sexes for breeding to at 70 days of age were selected. The litters were limited to 8 young/female and the period of weaning was 21 days. At weaning the animals were separated in groups of males and of females. The animals were kept in polypropylene cages under controlled environmental conditions of temperature, humidity, photoperiod and air changes. Weight curves were obtained during the growth phase with the administration of two commercial rations (A and B), and consumption of ration and water was evaluated. The measures of standardization resulted in an increase in the fertility rate, of the natality index and also the weight of the animal at weaning, and the weight curve of the animals during there growth phase was established. The weight of the animals fed with the rations A and B did not presented a significant difference. The results indicated that the measures of standardization of the handling were effective in increasing the productivity of the colony of mice (*Mus musculus*) Swiss Webster.

KEY WORDS: Mice (*Mus musculus*), management, reproduction, productivity.

²Bolsista da UNIFESP/EPM

³Laboratório de Experimentação Animal, Instituto Nacional de Farmacologia da UNIFESP/EPM, São Paulo, SP Brasil.

INTRODUÇÃO

Os animais de laboratório são usados na pesquisa biomédica como instrumentos de medição. A qualidade do animal de laboratório resulta do equilíbrio entre as influências que compõem o macro e o microambiente que o envolvem, além das medidas de intervenção do homem que visam o bem estar animal. Influências externas como as causadas pelas condições do meio ambiente (temperatura, umidade e iluminação) e aquelas disponíveis no microambiente, como natureza da cama do animal e frequência de troca, número de animais na caixa, a frequência no manuseio e a qualidade da água e da dieta, devem ocorrer em condições padronizadas e a intervalos regulares (FOSTER *et al.*, 1983; SAIZ MORENO *et al.*, 1983; CLOUGH, 1984; RIVERA, 1992). A padronização do ambiente deve atingir todos os animais, uma vez que mesmo em uma única sala, observam-se diferenças nas condições físicas do ambiente e, particularmente, diferenças de pesos entre os animais (CLOUGH, 1987).

A saúde é essencial para animais de boa qualidade. A interação homem-animal é necessária para os animais usados em laboratório, pois propiciam a docilidade (POOLE & MORGAN, 1973), aumentam a produção e causam efeitos fundamentais nos resultados experimentais (HURNI, 1981).

Atender a demanda de animais em um determinado período, com economia e eficiência, passa pela decisão do número de fêmeas a serem acasaladas, e isso requer conhecimento da fertilidade efetiva das fêmeas e do tamanho médio da ninhada.

Os experimentos realizados com animais de laboratório definidos e padronizados são imprescindíveis para assegurar a integridade e reprodutibilidade nas pesquisas biológicas (FESTING, 1987). No caso de colônias heterogênicas, a estabilidade genética pode ser obtida a longo prazo (FESTING, 1968 & 1976), pela manutenção de colônias fechadas evitando ao máximo a consangüinidade. Portanto, a elaboração de registros é fundamental podendo resultar em melhor proveito do animal e economia para a Instituição.

Os animais de laboratório como os camundongos, apresentam comportamento complexo e o emprego de dieta peletizada, com formulação constante, oferece o benefício de atender ao comportamento de roedor (FORD, 1977), e assegura que os animais não apresentem variação em termos de nutrientes ingeridos (COATES, 1986), proporcionando digestão semelhante. Medidas administrativas devem garantir condições seguras e adequadas de armazenagem de tal modo que o alimento possa ser consumido dentro do período de validade do produto.

Este trabalho teve o objetivo de verificar o impacto de uma metodologia de manejo na produtividade de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster; determinar o consumo de duas rações comerciais e de água e, também, estabelecer uma referência de desenvolvimento para os camundongos dessa colônia.

MATERIAL E MÉTODOS

No estudo utilizou-se camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster da colônia do biotério do Instituto Biológico de São Paulo. Foram comparados dados de um mês da produção animal (controle), e os de dois meses após a introdução das medidas de padronização do manejo (experimental). Após o primeiro levantamento dos dados, foram selecionados 220 machos e 660 fêmeas para o experimento, animais saudáveis, com 70 dias de idade, em número igual ao encontrado na maternidade da colônia. Os animais foram acasalados na proporção 1 macho/3 fêmeas e foi o registro dos nascimentos efetuado diariamente. As ninhadas foram limitadas a 8 filhotes/fêmea, ao nascimento e ninhadas menores receberam irmãos adotivos da mesma data de nascimento para que o tamanho da ninhada fosse constante. O período de amamentação foi de 21 dias. Após o desmame as ninhadas foram separadas em grupos de machos e fêmeas (10 animais/caixa). A metodologia empregada no manejo da colônia envolveu acasalamentos em proporção adequada à prolificidade da espécie, a limitação do tamanho das ninhadas e ao período de amamentação.

Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno substituídas em dias alternados por outras contendo cama em maravalha de pinho branco autoclavada (121° C/30 minutos). As caixas foram lavadas com água quente sob pressão e desinfetadas com hipoclorito de sódio (250 ppm/2 horas).

A cada mês do estudo foram comparadas: a taxa de fertilidade (número de fêmeas prenhes no período/número de fêmeas acasaladas), taxa de prolificidade (número de filhotes nascidos/número de fêmeas prenhes), índice de natalidade (número de filhotes nascidos/número de fêmeas acasaladas) e a taxa de desmame (número de filhotes desmamados/número de filhotes nascidos x 100). Semanalmente as fêmeas e os machos entre 21 a 70 dias de idade foram pesados; também foi avaliado o consumo de duas rações comerciais peletizadas A (n = 16) e B (n = 15) e da água, oferecidas *ad libitum*.

As condições ambientais obedeceram aos seguintes padrões: ar com 15 renovações/hora à temperatura de 22 ± 2° C; a umidade de 50% e o foto-período com 12 horas de claro/12 horas de escuro.

Os resultados foram expressos como médias \pm erro padrão e submetidas à análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey-Kramer. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados levantados durante os três meses do estudo estão apresentados na Tabela 1. No primeiro mês do estudo, os dados coletados referem-se às condições encontradas na colônia (controle) e aqueles observados nos segundo e terceiro meses são consequências dos procedimentos adotados.

Tabela 1 - Levantamento dos dados no período do estudo de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster da colônia do biotério do Instituto Biológico de São Paulo.

Grupos	1º Mês (controle)	2º Mês	3º Mês
Nº de fêmeas acasaladas	660	660	660
Nº de fêmeas prenhes	208	352	382
Nº de filhotes nascidos	1355	2708	2749
Nº de filhotes desmamados	1104	2037	2185

Tabela 2 - Índices de produtividade no período do estudo de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster da colônia do biotério do Instituto Biológico de São Paulo.

Parâmetros	1º Mês (controle)	2º Mês	3º Mês
Taxa de fertilidade	31,0%	53,0%	58,0%
Índice de prolificidade	6,0	7,0	7,0
Índice de mortalidade	2,0	4,0	4,0
Taxa de desmame	81,0%	75,0%	85,0%

O aumento do número de fêmeas prenhes e o aumento do número de filhotes nascidos foram observados no segundo e terceiro mês de estudo, em relação aos números encontrados na colônia, demonstrando que a idade para o acasalamento foi adequada.

Na Tabela 2, estão apresentados os dados coletados durante o estudo que expressam os índices de referência indicativos de produtividade.

O conhecimento da taxa de fertilidade é útil para o atendimento da demanda em um determinado período porque expressa a porcentagem de fêmeas prenhes até 4 dias após o acasalamento, e forneceu a margem de segurança do número de fêmeas a serem acasaladas.

O índice de prolificidade expressa o tamanho médio da ninhada, que em colônias heterogênicas é ao redor de 10 filhotes/fêmea, colônias essas com boas condições de saúde (FESTING, 1976). Entretanto, deve ser levada em conta o tamanho da ninhada praticado uma vez que fêmeas dessa espécie dispõem de 3 pares de mamas e amamentando ninhadas de 8 filhotes, garantem peso mais homogêneo e superior àquele de ninhadas maiores ao desmame. As ninhadas maiores levam a mãe muitas vezes a evitar os filhotes protegendo o abdome na lateral da caixa e, ao desmame, o peso dos filhotes tem grande variação.

O aumento do índice de natalidade de 2 para 4 filhotes/fêmea acasalada pode ser atribuído à melhor condição de saúde dos animais. A introdução dos registros possibilitou a observância de fêmeas improdutivas que foram substituídas por outras no início da vida reprodutiva.

A obtenção da taxa de desmame de 75% no primeiro mês de estudo é consequência do fornecimento de animais para experimentação antes de 21 dias de idade. Exceto situações como essa, a taxa de desmame baixa pode indicar a presença de doença nos recém-nascidos.

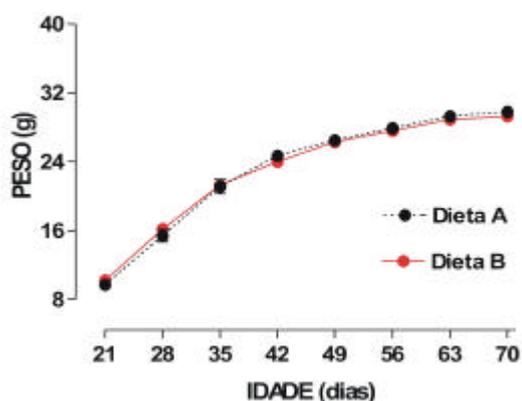


Fig. 1 - Crescimento de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster, fêmeas, de 21 a 70 dias de idade submetidas à ração A (n=16) e B (n=15). Os símbolos e barras verticais representam, média \pm e.p.m. dos pesos dos animais em gramas.

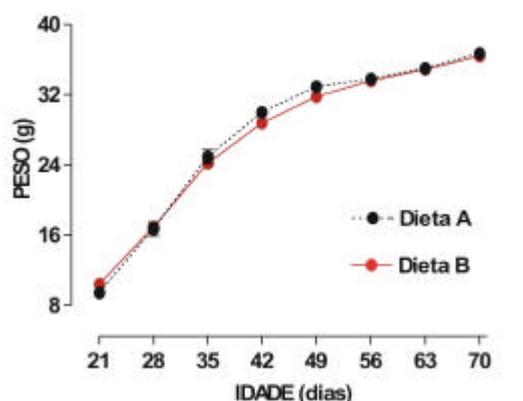


Fig. 2 - Crescimento de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster, machos, 21 a 70 dias de idade submetidos à ração A (n=16) e B (n=15). Os símbolos e barras verticais representam, média \pm e.p.m. dos pesos dos animais em gramas.

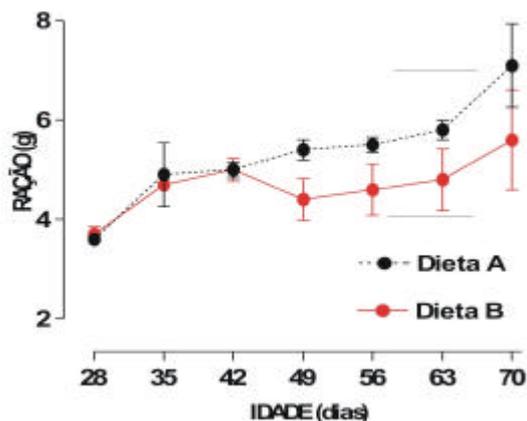


Fig. 3 - Consumo de ração de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster, fêmeas, submetidas à ração A (n=16) e B (n=15). Os símbolos e barras verticais representam, média \pm e.p.m. do peso da ração em gramas.

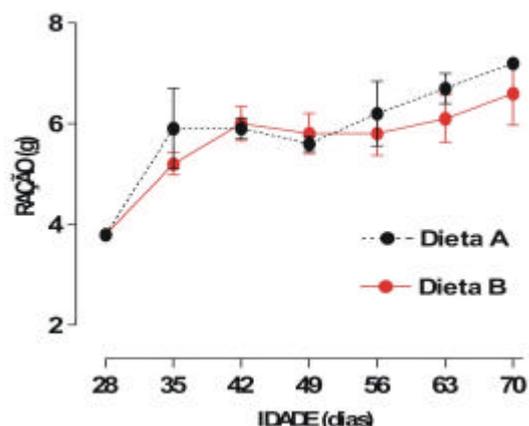


Fig. 4 - Consumo de ração de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster, machos, submetidos à ração A (n=16) e B (n=15). Os símbolos e barras verticais representam, média \pm e.p.m. do peso da ração em gramas.

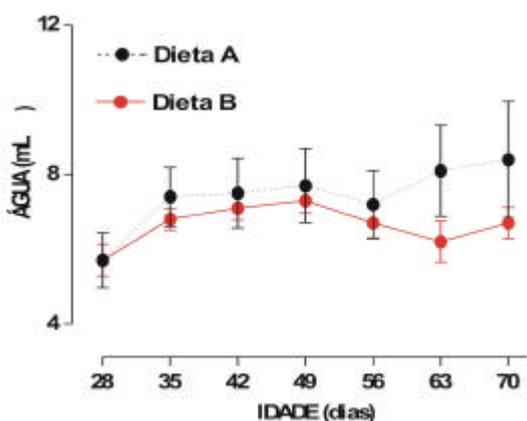


Fig. 5 - Consumo de água de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster, fêmeas, submetidas à ração A (n=16) e B (n=15). Os símbolos e barras verticais representam, média \pm e.p.m. do volume de água em mililitros.

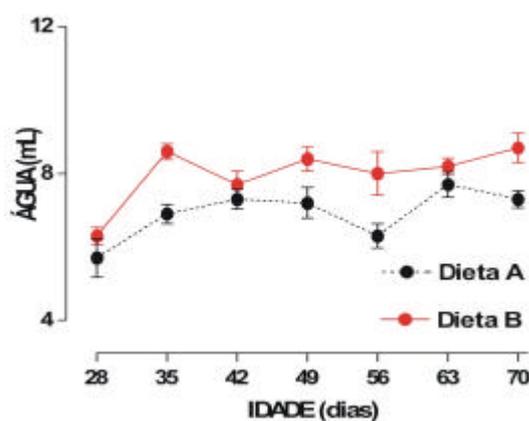


Fig. 6 - Consumo de água de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster, machos, submetidos à ração A (n=16) e B (n=15). Os símbolos e barras verticais representam, média \pm e.p.m. do volume de água em mililitros.

As curvas de peso das fêmeas (Fig. 1) e dos machos (Fig. 2) heterogênicos obtidas com as dietas A e B, permitiram o estabelecimento de uma referência de desenvolvimento dos animais dessa colônia. A semelhança das curvas de peso obtidas com as rações A e B, tanto para fêmeas como para machos, indicou que ambas apresentaram os requisitos nutricionais necessários a essa espécie animal.

Na Figura 3 estão representados os resultados do consumo de ração das fêmeas. A diferença entre a ração A e a ração B observada a partir de 49 até os 63 dias de idade, não foi estatisticamente significativa o que pode ser atribuída a sensibilidade do método utilizado. Entretanto, esse aspecto não diminuiu o desenvolvimento dos animais, como observado na Figura 1.

O consumo das duas rações (A e B) pelos camundongos machos foi semelhante durante o período de tratamento (Fig. 4). Foi verificado aumento no

consumo de ração tanto para as fêmeas como para os machos até os 35 dias de idade, na fase de crescimento acelerado dos animais. Esses resultados mostraram que o consumo médio diário foi compatível com aqueles apresentados na literatura para camundongos Swiss (FOSTER *et al.*, 1983).

Nas Figuras 5 e 6 estão representados os resultados do consumo de água das fêmeas e dos machos, respectivamente. Também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no consumo de água pelos animais alimentados com as duas dietas (A e B).

CONCLUSÕES

A metodologia aplicada no manejo da colônia de camundongos (*Mus musculus*) Swiss Webster, foi eficiente para o aumento da produtividade animal como

mostram os índices de prolificidade, de natalidade e a taxa de desmame, no segundo e terceiro meses de observação. A obtenção de um índice de desmame menor no segundo mês do estudo foi justificado pelo fato das ninhadas que antes eram mantidas integralmente, passaram a ser limitadas em 8 filhotes/mãe. Essa intervenção contribuiu para o aumento e a homogeneidade do peso dos animais ao desmame.

Os animais destinados a reprodução com 70 dias de idade apresentaram, boa produtividade já na primeira ninhada, permitindo a otimização no uso de animais com a diminuição de gastos com insumos pela a Instituição. A ausência de prenhez no período de 21 dias, indica que a fêmea deve ser afastada da maternidade.

Com a elaboração da curva de peso dos camundongos, foi possível estabelecer uma referência de idade em função do peso que auxilie o pesquisador quanto ao momento da utilização dos animais.

As curvas de peso obtidas com os animais alimentados com a ração A e com a ração B não apresentaram diferenças significativas, indicando que ambas rações dispõem dos requerimentos nutricionais necessários ao bom desenvolvimento dos animais. Os resultados indicaram equivalência na relação peso/idade/sexo com aqueles descritos na literatura.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro recebido da UNIFESP-EPM e a valiosa colaboração dos estagiários Juliana Martins Soares e Cláudio Fontes Souza, bem como dos funcionários do Biotério Central do Instituto Biológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CLOUGH, G. Environmental factors in relation to the confort and well-being of the laboratory rats and mice. In:

- LASA-UFAP SYMPOSIUM: STANDARDS IN LABORATORY ANIMAL MANAGEMENT – UFAW. 1984, London. *Proceedings*, London: 1984. p.5-24.
- COATES, M.E. The influence of the diet of laboratory animals on experimental results. In. ROTHSCCHILD, H.A., ROSENKRANZ, A & DUARTE, F. A. MOURA; *Laboratory animal studies in the quest of health and knowledge*. São Paulo, Brasil, 1986. p.13-21.
- FESTING, M.F.W. Some aspects of reproductive performance in inbred mice. *Lab. Anim.*, v.2, p.89-100, 1968.
- FESTING, M.F.W. Phenotypic variability of inbred and outbred mice. *Nature*, v.263, p.230-232, 1976.
- FESTING, M.F.W. Animal production and breeding methods In: TREVOR POOLE UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals. London: 1987, p.18-34.
- FORD, D.J. Influence of diet pellet hardness and particle size on food utilization by mice, rats and hamsters. *Lab. Anim.*, v.11, p.241-246, 1977.
- FOSTER, H.L.; SMALL, J.D.; FOX, J.G. *The mouse in biomedical research*. New York: Academic Press, 1983. v.1-4.
- HURNI, H. Daylength and breeding in the domestic cat. *Lab. Anim.*, v.1, p.229-233, 1981.
- POOLE, T.B. & MORGAN, H.D.R. Differences in aggressive behaviour between male mice (*Mus musculus* L.) in colonies of different sizes. *Animal Behaviour*, v.21, p.788-795, 1973.
- RIVERA, E.A.B. Ética e bem-estar na experimentação animal. *Rev. Cons. Fed. Méd. Vet.*, v.1, p.12-15, 1992.
- SAIZ MORENO, L; GARCIA DE OSMA, J.L.; COMPAIRE, F. *Animales de Laboratorio: producción, manejo y control sanitario*. Madrid: Instituto Nacional de Investigaciones Agrárias/Ministério de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1983. 25p.
- VALERO-LAPCHIK, V.B. & MERUSSE, J.L.B. *Manual para técnicos em bioterismo*. São Paulo: Comissão de Ensino Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA, 1996, p.15. cap. 3: Instalações e equipamentos.

Recebido em 16/12/02

Aceito em 6/5/03