

USO DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO ESTIMULO E ANÁLISE DO COMPORTAMENTO ANIMAL EM CAMUNDONGOS DE LINHAGENS PIGMENTADAS E NÃO PIGMENTADAS

*Andréa Rocha Oliveira**

*Enée Pereira Gottschalk Morais**

*Ivanildo Gama**

*Lilian Leyve Barbosa Marinho**

*Tiago Braga Souza Albuquerque**

*Camila Magalhães Pigozzo ***

* Bacharel em Ciências Biológicas do Centro Universitário Jorge Amado – Unijorge

** Orientadora - Docente e Coordenadora dos Cursos de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas do Centro Universitário Jorge Amado – Unijorge

RESUMO: O uso de animais de laboratório em experimentos científicos é comum e amplamente difundido em diversos países, entretanto pouca importância era dada aos níveis de estresse causado a esses animais. Devido as recentes pesquisas em comportamento animal observou-se a necessidade de minimizar tais sofrimentos, proporcionando assim melhores resultados para o desempenho da pesquisa. A implantação de novas metodologias de manejo e desenvolvimento de equipamentos para enriquecimento ambiental voltado ao bem-estar animal, atiza a discussão da eficácia de tais implementos. Assim, o objetivo deste trabalho é analisar os comportamentos apresentados pelas diferentes linhagens de camundongos no uso do enriquecimento ambiental home mouse.

Palavras-chave: Animais de laboratório. Home mouse. Bem-estar.

ABSTRACT: The use of laboratory animals in scientific experiments is common and widespread in several countries, however little importance was given to the stress levels caused to these animals. Due to recent research on animal behavior, the need to minimize such suffering has been observed, thus providing better results for research performance. The implementation of new methodologies for the management and development of equipment for environmental enrichment aimed at animal welfare, encourages the discussion of the effectiveness of such implements. Thus, the objective of this work is to analyze the behaviors presented by the different mouse strains in the use of environmental home mouse enrichment.

Keywords: Laboratory animals. Home mouse. Welfare.

INTRODUÇÃO

Durante décadas se fez o uso de animais em experimentos científico, contribuindo para o desenvolvimento da ciência e bem estar humano. No entanto o bem-estar dos animais não era considerado e sua importância negligenciada. Com a publicação de diversos trabalhos percebeu-se a importância não só de escolher um modelo animal apropriado para as diferentes pesquisas, mas também como proporcionar o mínimo de stress durante a criação e manipulação desses animais, melhorando assim os resultados experimentais. Segundo Galhard e Rui (2006), a percepção do estado em que os animais se encontram e a compreensão do que necessitam tem aumentado substancialmente esse conhecimento tem vindo a modelar normas de boas práticas, linhas de orientação e legislação acerca de como devem ser tratados em cativeiro.

Assim, surge a ciência em animais de laboratório, onde o tema principal do estudo é o próprio animal que será utilizado na pesquisa, essa ciência engloba uma série de áreas que servem de base para todas as outras ciências que enfatizam o bem-estar do animal em seus trabalhos. (FRAJBLAT; LÂNGARO; RIVERA, 2008). Propondo alterações nos procedimentos ou protocolos experimentais que minimizem a dor e o estresse.

De acordo com Manosevitz e Montemayor (1972), citado por Carvalho *et.al* (2009), o uso de enriquecimento ambiental muda o ambiente apresentando materiais ou objetos que são estimulantes aos animais, permitindo-lhes expressar mais seu repertório natural do comportamento. Testes de comportamento sobre os efeitos de enriquecimento ambiental mediante ratos demonstraram um efeito distinto em comparação com aqueles observados em animais em condições normais, tais como atividade locomotora e explorativa melhorada.

A Home Mouse é um importante produto de enriquecimento ambiental. É estrategicamente, produzida na cor vermelha, pois os camundongos enxergam esta cor como negro, proporcionando a eles uma sensação de um ambiente escuro e seguro. Sua transparência garante que o pesquisador observe os comportamentos adotados por esse animal.

Segundo Bentham (1979), citado por Filho e Gurgel (2001), define a ética como a arte de dirigir as ações do homem para a produção da maior quantidade possível de felicidade em benefício daqueles cujos interesses estão em jogo. Assim a aplicação de enriquecimento ambiental pode apresentar o aprimoramento da ética no uso de animais de laboratório e do princípio dos três R's desenvolvido por Russell e Burch. Esses autores conseguiram sintetizar o Princípio Humanitário da Experimentação Animal, usando três palavras: Replacet, Reduction e Refinement, que indicam a substituição dos

USO DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO ESTIMULO E ANÁLISE DO COMPORTAMENTO...

animais por outros materiais como meios de cultura, recomenda a redução do número de animais usado sendo esse cálculo feito por análise estatística e que haja aprimoramento nas técnicas de manipulação e qualificação das pessoas envolvidas no processo (ANDRADE; PINTO E OLIVEIRA, 2002). O Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA, em 1991, cria os Princípios Éticos na Experimentação Animal, postulando Artigos que passam a nortear a conduta dos professores e dos pesquisadores na prática do uso de animais.

O estudo e uso do enriquecimento ambiental são importantes para a realização de pesquisas cada vez mais humanitárias e eticamente viáveis, possibilitando a esses animais terem o direito do seu bem-estar garantido, proporcionando a esses animais demonstrarem diversos comportamentos frente a diferentes ambientes, possibilitando também a compreensão da adaptabilidade humana (SNOWDON, 1999). É necessária uma postura ética frente à necessidade do desenvolvimento da ciência e a adoção de medidas que diminuam o sofrimento dos animais e favoreçam seu bem-estar. É importante lembrar sempre que a credibilidade do resultado da pesquisa depende do bem-estar vivenciado pelo animal durante sua realização, da sensibilidade do pesquisador para o entendimento de seus sofrimentos e necessidades e do bom senso nas tomadas de decisão e atitudes (FRAJBLAT; LÂNGARO; RIVERA 2008).

Este trabalho tem como objetivo analisar os comportamentos apresentados por duas diferentes linhagens de camundongos, no uso do enriquecimento ambiental.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 08 camundongos machos, 04 da linhagem Balb/c (animais não pigmentados) e 04 da linhagem C57bl/6 (animais pigmentados). Esses animais foram selecionados por idade constando entre 4 e 6 semanas no início do experimento de 24 à 28 de Outubro de 2011. Foi realizada a pesagem desses animais, sendo posteriormente alojados em microisoladores Modelo ALE. MIL.01.03 com cama (Pinus Elliotti) contendo ou não a Tecniplast Mouse House®, que consiste em uma “casa de rato” utilizada como forma de enriquecimento ambiental, visando o bem-estar animal. Foram utilizados dois microisoladores, um contendo 04 camundongos da linhagem de animais pigmentados e o outro contendo 04 da linhagem de não pigmentados, e ambos continham uma house mouse. Os camudongos foram abastecidos com ração (Biobase) em pellets e água *ad libitum*. As caixas foram acondicionadas em estantes Ventilada marca ALESCO indicada para filmagem e gravação.

USO DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO ESTIMULO E ANÁLISE DO COMPORTAMENTO...

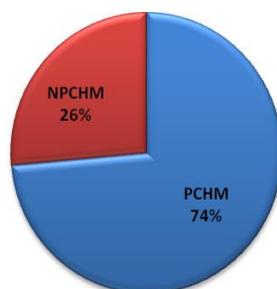
A temperatura foi mantida em $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com umidade relativa do ar de 55%. O ciclo claro / escuro foi 12 horas luz e 12 horas escuras, sem luz natural. A luz estava acesa 06h00min am - 06h00min pm. Todos os testes foram realizados no período inativo dos camundongos, período diurno (luzes acesas). Os testes foram realizados através da análise de filmagens dos animais dentro das gaiolas contendo ou não uma Tecniplast Mouse House®, onde foi observado o comportamento de cada animal sobre a utilização da home mouse pelos mesmos.

As gravações foram feitas com uma Handycam Sony 2000 câmera e gravadora de vídeo digital com HD de 60 Gb, com tempo total de teste de observação para cada animal de 25 horas. O comportamento dos camundongos foram categorizados com o número de entradas e saídas da home mouse calculados para cada indivíduo, quantidade de movimento, deslocamento, parado, subidas no teto da home mouse, empenurar, enconstar e morder a grade.

Para a tabulação dos dados foi utilizado o programa Microsoft Office Excel 2007, onde foram anotados os comportamentos dos animais dentro e fora da home mouse. Dentro da home mouse foi observado se os animais estavam em movimento, deslocando-se ou parado, já os comportamentos fora da home mouse foram descritos como, em movimento, deslocando, parado ou em cima da home mouse, e se os mesmos utilizavam a grade da gaiola, onde eram observados os comportamentos de empenurado, mordendo e encostado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As linhagens gastaram diferentes quantidades de tempo no home mouse e demonstraram diferenças em comportamentos para animais pigmentados e não pigmentados. O número de entradas na home mouse foi significativamente maior nos camundongos não pigmentados em comparação aos pigmentados. (Figura 1).



USO DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO ESTIMULO E ANÁLISE DO COMPORTAMENTO...

Figura 1 - Média do percentual de vezes de entradas na home house.

Legenda: *NPCHM* – Não pigmentado com Home Mouse; *PCHM* – Pigmentado com Home Mouse.

Quanto ao tempo gasto dentro do home mouse a linhagem não pigmentada ficou mais tempo em detrimento da linhagem pigmentada (Figura 2). A média de tempo dos animais com comportamento parado foi mais evidenciado para os pigmentados e sem a presença da home mouse. (Figura 3).

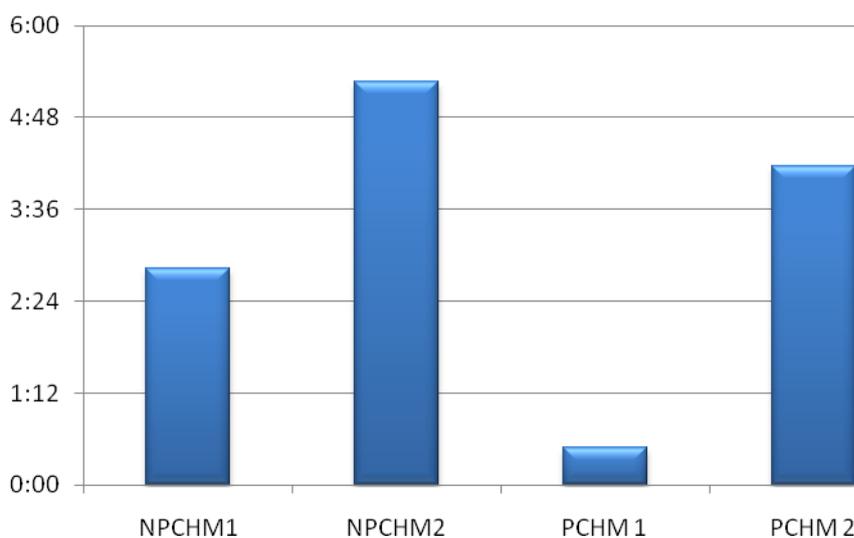


Figura 2 - Tempo gasto dentro da home house.

Legenda: *NPCHM1* – Não pigmentado com Home Mouse; *NPCHM2* – Não pigmentado com Home Mouse; *PCHM1*– Pigmentado com Home Mouse; *PCHM2*– Pigmentado com Home Mouse.

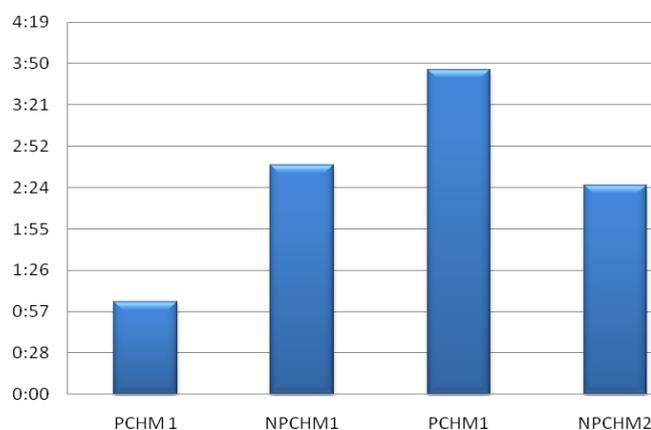


Figura 3 - Média de tempo dos animais parados.

Legenda: *NPCHM* – Não pigmentado com Home Mouse; *PCHM* – Pigmentado com Home Mouse; *PSHM* – Pigmentado sem Home Mouse; *NPCHM* – Não Pigmentado com Home Mouse.

O resultado do trabalho vai de encontro com o trabalho de Soerensen, Moeller e Larsen (2009), onde o Balb/c linhagem não pigmentada passa menos tempo na home mouse do que as cepas pigmentadas. No entanto corroboram com esse trabalho, quando essa linhagem demonstra comportamento mais ativo.

Parece que o enriquecimento ambiental propociona o bem estar à estes animais, onde os comportamentos mais frequentes nos mesmos com o uso desse objeto foi, movimento para Balb/c e parado para C57bl/6. Se comparado ao grupo controle que demonstrou comportamento com evidencias de estresse, com deslocamento frenetico e frequência de comportamentos estereotipados. Por a home mouse ter cor vermelha e o animal encher gar escuro, ele se sente protegido nesse ambiente. Fato demonstrado em nosso experimento e também no de Soerensen, Moeller e Larsen (2009) no quais os experimentos foram realizados no período diurno, sendo que nesse período os animais estão mais sensíveis e vulneráveis, pois possuem hábitos noturnos, a presença da home mouse torna-se um abrigo seguro. De acordo com Andrade, Pinto e Oliveira (2002), o medo é um dos fatores que influenciam no resultado do experimento, sendo fundamental propiciar um ambiente agradável para esses animais.

Os animais C57bl/6 demonstraram o comportamento de deslocamento mais evidenciados em relação ao Balb/c, e este, comportamento parado para animais que não tiveram associação ao uso da home mouse.(grafico 1).

Na comparação da linhagem Balb/c entre animais com enriquecimento e animais sem, observou-se que o uso do enriquecimento propociona diminuição do nível de excitabilidade onde esses animais ficam parados ou em movimento dentro da home mouse. E para a linhagem C57bl/6 houve a diminuição da apresentação de comportamentos associados ao estresse, por exemplo, morder a caixa. O estresse pode ser definido como um estímulo ambiental sobre um indivíduo que sobrecarrega seus sistemas de controle e reduz sua adaptação, ou parece ter potencial para tanto (FRASER e BROOM, 1990; BROOM e JOHNSON, 1993; BROOM, 1993), citados por BROOM e MOLENTO (2004).

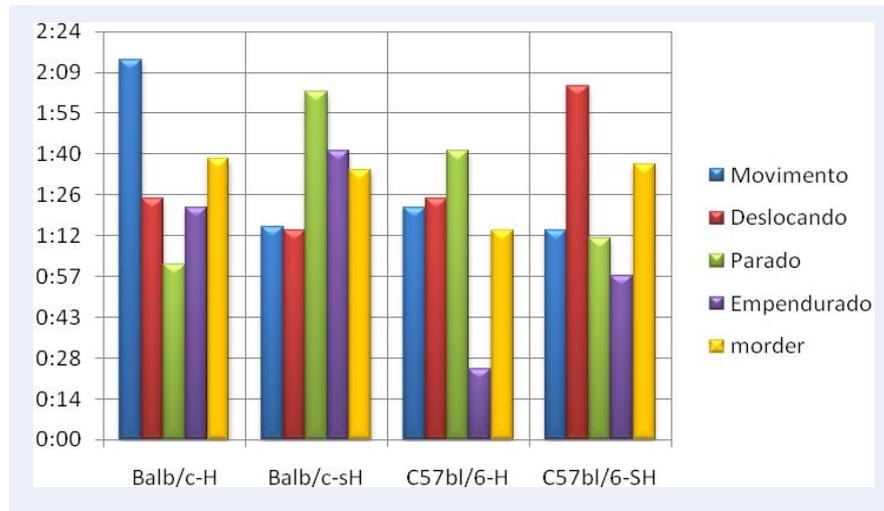


Figura 4. Média de tempo de acordo com as categorias e grupos de comportamento.

Legenda: Balb/c-H *Pigmentado com Home Mouse*; Balb/c-sH *Pigmentado sem Home Mouse*; C57bl/6-H *não Pigmentado com Home Mouse*; C57bl/6-SH *não Pigmentado sem Home Mouse*

CONCLUSÃO

A home mouse mostrou-se eficiente como instrumento de enriquecimento ambiental, possibilitou a redução dos níveis de estresse entre os animais, aumento do repertório de comportamentos apresentados pelas linhagens e minimizou comportamentos estereotipados e deslocamento frenético.

No entanto outros estudos ainda devem ser realizados com maior número de horas observadas e também em período noturno, além de usar novas linhagens nesses experimentos.

Assim poderemos Inferir de forma mais consistente sobre os benefícios da home mouse ao bem-estar animal. Proporcionando o desenvolvimento da ciência de forma consciente e eticamente correta quanto ao uso e manipulação de animais de laboratório.

REFERÊNCIAS

ANDRADE Antenor; PINTO C. Sérgio; OLIVEIRA S. Rosilene. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz 2002.

ARNALDO S. M. Filho; WILDOBERTO B. Gurgel. **Ética, método e experimentação animal**. Cad. Pesq. São Luís, v. 18, n. 3, set./dez. 2011.

BROOM, D.M.; MOLENTO, C.F.M. **Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas – Revisão**. Archives of Veterinary Science v.9, n.2, p.1-11, 2004.

CARVALHO, AFU; ARAÚJO AJ; FARIAS, DF; ROCHA-BEZERRA LCB. and CAVALHEIRO MG. **Development and reproductive performance of Swiss mice in an enriched environment**. Laboratório de Fisiologia Animal, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceará – UFC, Av. Mister Hull, s/n, Campus do Pici, CEP 60455-760, Fortaleza, CE, Brazil

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal COBEA. Disponível em: <http://www.cobea.org.br> Acessos em 09 dez. 2011.

FILHO ASM; GURGEL WB. ÉTICA, MÉTODO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL: A questão do especismo nas ciências experimentais. **Cad. Pesq.** São Luís, v. 18, n. 3, set./dez. 2011.

FRAJBLAT, Marcel; AMARAL, L. Lângaro Vera; RIVERA, A.B, Ekaterina. CIÊNCIA EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO. Experimentação animal /artigos. **Cienc. Cult.** vol.60 no.2 São Paulo 2008.

GALHARDO, Leonor; OLIVEIRA, Rui. Bem-estar animal: Um conceito legítimo para peixes. **Rev. Etol.**, São Paulo, v. 8, n. 1, jun. 2006. Disponível em <http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-28052006000100006&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 02 dez. 2011.

SOERENSEN D. B.; MOELLER M. R.; LARSEN L. R.; The Use of the Techniplast Mouse House® in Four Strains of Mice. **Scand. J. Lab. Anim. Sci.** v. 36 No. 2 2009.

SNOWDON Charles T. O significado da pesquisa em Comportamento Animal. **Estudos de Psicologia**, 1999 *4a(n2i)m*, *a3l653-367*.