

**Escola Superior de Ensino do Instituto Butantan**  
**Programa de Pós-graduação *Lato Sensu***  
**Especialização em Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal**

**Esther Salgado Gorgatti**

**Enriquecimento ambiental com aveia em camundongos Swiss**

**São Paulo**  
**2022**

**Esther Salgado Gorgatti**

**Enriquecimento ambiental com aveia em camundongos Swiss**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Especialização em Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal do Programa de Pós- graduação *Lato Sensu* da Escola Superior do Instituto Butantan como requisito básico para a obtenção do título de Especialista em Biologia Animal.

Orientador (a): Allan Rodrigo Calarga.

**São Paulo  
2022**

**Catlogação na Publicação  
Instituto Butantan  
Dados inseridos pelo(a) aluno(a)**

Gorgatti, Esther Salgado  
ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COM AVEIA EM CAMUNDONGOS SWISS / Esther  
Salgado Gorgatti ; orientador(a) Allan Rodrigo Calarga. - São Paulo, 2023.  
37 p. : il.

Monografia (Especialização) - Escola Superior do Instituto Butantan,  
Especialização na Área da Saúde - Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal.

1. enriquecimento ambiental 2. camundongos. 3. bem-estar I. Calarga., Allan  
Rodrigo. II. Escola Superior do Instituto Butantan. III. Especialização na Área da Saúde  
- Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal. IV. Título.

## AUTORIZAÇÃO PARA ACESSO E REPRODUÇÃO DE TRABALHO

Eu, Esther Salgado Gorgatti, aluna do Curso de Especialização em Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal, autorizo a divulgação do meu trabalho de conclusão de curso por mídia impressa, eletrônica ou qualquer outra, assim como a reprodução total deste trabalho de conclusão de curso após publicação, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Prazo de liberação da divulgação do trabalho de conclusão de curso após a data da avaliação:

- imediato  
 06 meses  
 12 meses  
 Outro prazo      Justifique:

**São Paulo, 08 de fevereiro de 2023.**

  
.....

**Aluna: Esther Salgado Gorgatti.**

De acordo:.....  


**Orientador: Allan Rodrigo Calarga.**

Dedico este trabalho a todos que se empenham diariamente a promoção do bem-estar dos animais de laboratório, ao instituto Butantan e não menos importante, dedico este trabalho a todos os animais que foram, são e serão utilizados em experimentação, visto que o sacrifício deles viabilizaram a ciência ter um conhecimento e resultados que salvam vidas tanto humanas quanto não humanas.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus amados professores de graduação, Fabiola Setim, Carlos Firmo e Vinício Moreno Godoi, que sempre acreditaram na minha capacidade e sempre me deram apoio emocional quando precisei.

A todos os funcionários da Biblioteca pelo amparo, atenção e carinho no apoio as pesquisas e normatizações da ABNT.

Ao meu orientador Allan Rodrigo Calarga, pelo apoio, paciência e orientação deste trabalho.

Aos meus amigos, Priscilla, Ligia, Fabio, que tanto me apoiaram e me ampararam nos momentos que mais me senti emocionalmente fragilizada.

A todos funcionários do Biotério Central, principalmente Tamiris, Eduardo, Gabriel e Bruno.

Ao Instituto Butantan e a ESIB (Escola Superior do Instituto Butantan) que ofereceram o curso e viabilizaram minha permanência no curso.

E por último, porém não menos importante, agradeço não só a todos os animais que foram utilizados no experimento, mas como todos os animais do Biotério Central que já foram, são e serão utilizados em experimentos já que sem eles dúvida deles teríamos o conhecimento que temos hoje para salvar vidas. Deixo aqui registrado meu profundo respeito e agradecimento a todos os animais de laboratório.

## RESUMO

GORGATTI, Esther Salgado. **Enriquecimento ambiental com aveia em camundongos Swiss**. 2022. 37 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Animais de interesse em saúde: Biologia Animal) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2022.

Hoje podemos dizer que é quase impossível pensar em pesquisa sem modelos animais, e o modelo mais icônico utilizado desde meados do século XVIII é o Camundongo Doméstico (*Mus musculus*), tem como antepassado com origem na Ásia central.(ANDRADE, 2002; KO e LUCA, 2009) O experimento foi realizado com animais com comportamentos estereotipados característicos do estresse como agressividade, movimentos repetitivos e roer as grades, os animais foram organizados em 4 grupos, destes, cada um possuía 3 subgrupos, dos quais, foi ofertado a cada grupo enriquecimentos ambientais do tipo alimentar, feitos com mistura a base de aveia em duas texturas. A avaliação foi feita durante 45 dias, em 6 pesagens, os dados obtidos foram analisados no programa GraphPad Prism 9, que possibilita a avaliação estatística e de variância, além da construção de gráficos. Concluímos que apesar dos enriquecimentos serem distintos entre si não ocorreu mudança significativa no ganho de peso entre eles, mas sim ocorreu mudanças comportamentais distintas entre cada grupo e cada subgrupo.

**Palavras-chave:** enriquecimento ambiental. Camundongos. bem-estar.

## ABSTRACT

GORGATTI, Esther Salgado. **Environmental enrichment with oats in Swiss mice.** 2022. 37 p. Monograph (Specialist in Animals of interest in health: Animal Biology) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2022.

Today we can say that it is almost impossible to think of research without animal models, and the most iconic model used since the mid-17th century is the House Mouse (*Mus musculus*), whose ancestor originated in Central Asia. (ANDRADE, 2002; KO and LUCA, 2009). The experiment was carried out with animals with stereotyped behaviors characteristic of stress such as aggressiveness, repetitive movements and gnawing the bars, the animals were organized into 4 groups, each of which had 3 subgroups, of which each group was offered environmental enrichments of the type foodstuffs, made with an oat-based mixture in two textures. The evaluation was carried out during 45 days, in 6 weighings, the data obtained were analyzed in the GraphPad Prism 9 program, which allows the statistical and variance evaluation, in addition to the construction of graphs. We concluded that despite the enrichments being different from each other, there was no significant change in weight gain between them, but there were distinct behavioral changes between each group and each subgroup.

**Keywords:** environmental enrichment. Mice. welfare.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Gráfico 1</b> - Comparativo final entre os grupos.....	23
<b>Gráfico 2</b> - Grupo G1 e suas 6 pesagens.....	24
<b>Gráfico 3</b> - Grupo G2 e suas 6 pesagens.....	24
<b>Gráfico 4</b> - Grupo G3 e suas 6 pesagens.....	25
<b>Gráfico 5</b> - Grupo G4 e suas 6 pesagens.....	25
<b>Gráfico 6</b> - 1° Pesagem comparativas entre os grupos.....	26
<b>Gráfico 7</b> - 2° pesagem comparativa entre grupos.....	26
<b>Gráfico 8</b> - 3° pesagem comparativa entre grupos.....	27
<b>Gráfico 9</b> - 4° pesagem comparativa entre grupos.....	27
<b>Gráfico 10</b> - 5° pesagem comparativa entre grupos.....	28
<b>Gráfico 11</b> - 6° pesagem comparativa entre grupos.....	28
<b>Gráfico 12</b> - Pesagem da ração consumida, pelos grupo.....	30

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	14
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	15
<b>3.1. Materiais</b> .....	15
3.1.1 Aveia .....	15
3.1.2 Autoclave .....	15
3.1.3 Balança de precisão .....	15
3.1.4 Colheres medidoras .....	15
3.1.5 Régua de alumínio .....	15
3.1.6 Água filtrada .....	16
3.1.7 Becker .....	16
3.1.8 Feno autoclavado .....	16
3.1.9 Sabugo de milho desidratado .....	16
3.1.10. Tesoura .....	16
3.1.11. Ração em pó .....	16
<b>3.2. Processo de montagem do enriquecimento</b> .....	17
<b>3.3. Local do experimento</b> .....	18
<b>3.4. Manejo dos animais</b> .....	19
<b>3.5. Animais</b> .....	19
3.5.1 Formação dos Grupos .....	20
3.5.2 Observação clínica e medidas de peso .....	20
3.5.3 Período de maior consumo .....	20
3.5.4 Tempo até o consumo completo .....	20
3.5.5 Teste de preferência de sabor .....	21
<b>3.6. Análise estatística</b> .....	21
<b>4. RESULTADO</b> .....	22
<b>4.1. Observações gerais</b> .....	22
<b>4.2. Análise do comportamento dos grupos</b> .....	23
<b>4.3. Pesagens e Análise estatística</b> .....	23
4.3.1 Dados gerais dos animais .....	23
4.3.2 Análise estatística .....	24
<b>4.4. Consumo EA</b> .....	30

<b>4.5. Tempo para Consumo EA.....</b>	<b>30</b>
<b>4.6. Preferência de sabor EA.....</b>	<b>30</b>
<b>4.7. Consumo médio da ração em função do EA.....</b>	<b>30</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>35</b>

## 1.INTRODUÇÃO

Hoje podemos dizer que é quase impossível pensar em pesquisa sem modelos animais, e o modelo mais icônico utilizado desde meados do século XVIII é o Camundongo Doméstico (*Mus musculus*), cujo antepassado originou-se na Ásia central. (ANDRADE, 2002; KO; LUCA, 2009). Trabalhos com linhagens como *Outbred* e *Inbred*, mas ainda havia a necessidade da promoção do bem-estar desses animais. Inúmeros trabalhos foram realizados nesta área e diversos tipos de enriquecimentos ambientais divididos em 4 categorias: alimentares, alojamento, objetivos(exploração/aprendizado) e sociais; Se tornaram grandes aliados para promoção da qualidade de vida e melhora na reprodução de animais.(LAPCHIK *et al.*, 2009)

A cada dia torna-se mais clara a necessidade da implementação de enriquecimentos ambientais para animais de laboratório, independente se este seja do tipo físico já muito bem ilustrada sua eficiência nos trabalhos de Coimbra (2013), Silveria e Pinheiro (2016), Rae (2019) e Moreira *et. al* (2019) como é também presente na literatura, em capítulos de livros, dos quais descrevem o que se deve ser observado antes de sua implementação, sendo eles Mattaraia (2009), Oliveira, Brück e Martis (2018) e por fim Santos e Fontes (2018).

Todos que foram citados anteriormente apesar de algumas possíveis discordâncias sobre alguns detalhes como se de fato o enriquecimento pode ou não melhorar no desempenho reprodutivo, todos concordam com o fator que enriquecimento diminui a agressividade assim como promove qualidade de vida para os animais. Enriquecimentos ambientais do tipo alimentar, apesar de serem muito mais presentes em trabalhos com animais em zoológicos ou em centros de reabilitação de fauna Cubas (2017).

Várias formas como bloquinhos prensados ou mesmo esferas de feno são considerados bons enriquecimentos ambientais. A aveia é hoje considerada um alimento funcional, ou seja, possui a capacidade de prevenir problemas de saúde e promover bem-estar, possui fibras solúveis chamadas de  $\beta$ -Glucana, que auxiliam no funcionamento intestinal, melhora da flora intestinal, antioxidante, antiinflamatório, reduz os níveis totais de colesterol e os níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL), combate a obesidade e previne o aparecimento de doenças

cardiovasculares.(SAHAIDAK, 2009; OLIVEIRA; BRITO; FREITAS; SOUZA; RÊGO; MACHADO, 2020; POLANCZY, 2021). Estudos vistos por Polonczy (2021) não fecha a aveia como um alimento totalmente emagrecedor, já que a 2ª maior porção de indivíduos ganharam peso durante o experimento e uma pequena porção manteve o peso.

Mattaraia (2009) define o fator bem-estar, não só como a ausência da dor, angústia ou comportamento anômalo, mas como a menor exposição possível perante necessidades psíquicas e fisiológicas, tentando ao máximo possível viabilizar satisfazer as necessidades de atividades naturais dos animais. A autora também define os tipos de enriquecimentos ambientais, sendo eles físicos abrangendo estímulos sensoriais como auditivo, visual, olfativo e tátil; como os nutricionais que abrangem a ofertas de tipos de alimentos como hábitos alimentares. Os enriquecimentos do tipo nutricionais apesar de pouco utilizados em biotérios, podem ser de grande ajuda para muitos contratempos encontrados no dia-a-dia, tanto para a melhoria do bem-estar dos animais quanto na melhora da produção.

## **2.OBJETIVOS**

Avaliar o uso da aveia como enriquecimento alimentar para camundongos. Acompanhar o tempo de consumo entre os diferentes grupos e implementar a aveia como uma forma de enriquecimento para camundongos.

### 3.METODOLOGIA

#### 3.1.Materiais

Para a realização do experimento serão utilizados:

##### 3.1.1.Aveia

Não foi usada nenhuma marca específica, se deu preferência pela mistura de 50% flocos grossos e 50% flocos finos para se manter um alto índice de fibras não processadas e também não perder a facilidade no manejo do insumo na fabricação do Enriquecimento Alimentar.

##### 3.1.2.Autoclave

Foram autoclavados as gaiolas de polipeptileno, grades de aço inox, maravalha, sabugo de milho e Feno tipo tifton.

- a)Baumer - Hi Vac, capacidade 2 mil litros
- b)Modelo: B-2008-P
- c)N° de série: 1119.00.003
- d)Tempo de esterilização: 121°C por 20 minutos
- e)Tempo de secagem: 15 minutos

##### 3.1.3.Balança de precisão

Marca Shimadzu, modelo UX 82005.

##### 3.1.4.Colheres medidoras

Medidas de 15 ml, 7 ml, 5 ml, 2,5 ml,1 ml.

##### 3.1.5.Régua de alumínio

Para medir o tamanho da rama de feno a ser cortada.

### 3.1.6.Água filtrada

Água filtrada obtida de ponto existente dentro da área que é utilizado para montagem de bebedouros.

### 3.1.7.Becker

O becker é de material plástico, autoclavável, milimetrado, com capacidade de 1 litro da marca Nalgon.

### 3.1.8.Feno autoclavado

O feno utilizado no trabalho é o do tipo Tifton, vem da fazenda onde o Instituto Butantan mantém cavalos para a produção de soro.

### 3.1.9.Sabugo de milho desidratado.

Substrato utilizado para montagem de gaiolas, como forração ou cama, tem a função de dificultar o acesso à parte saborosa no enriquecimento. Fornecido pela empresa JR MARAVALHA COMÉRCIO DE SERRAGENS LTDA - ME.

### 3.1.10.Tesoura

Weldon Stainless Steel CE WS-019-061.

### 3.1.11.Ração em pó

A ração ofertada para os animais, Nuvilab<sup>®</sup> da empresa QUIMTIA<sup>®</sup> é do tipo peletizada e normalmente apresenta pó no fundo do saco, o que ocorre com alimentos peletizados, e será usado como teste, se altera palatabilidade e se torna o enriquecimento ambiental mais atrativo ou não. Tem também como ideia evitar desperdício de alimento que seria jogado fora.



### **3.2.Processo de montagem do enriquecimento.**

Realizou-se a confecção de bolinhas de massa base de aveia em farelos grossos, que foram levemente processados no processador de alimentos, para serem mais fáceis de formarem uma massa modelável, porém sem perder a qualidade das fibras presentes na aveia. A proporção dos ingredientes para massa é de 2:1, aveia e respectivamente a água. A aveia deve ser amassada e sovada até consistência maleável, quando necessário se deve umedecer as mãos para evitar que a massa seque em demasia. Com a base pronta, a massa foi separada uniformemente em 4 partes, sendo que 3 terão mais ingredientes, obtendo assim cada um dos 3 grupos ao final dará origem a um enriquecimento ambiental distinto. O feno deve ser cortado com a tesoura em pedaços de até 4 cm, medido por meio de um paquímetro pequeno, e em seguida levado no processador para ser levemente triturado de forma a ser mais eficiente e melhorando o processo de englobamento do feno à massa.

A Ração em pó deverá ser umedecida aos poucos, pois este tende a absorver uma grande quantidade de água de forma desuniforme e mudando de acordo com a umidade do ambiente. Logo, assim que o pó de ração mais água adquira uma consistência mais firme do que pastosa pode-se misturar com a massa base, sempre tendo o cuidado de abrir a massa base para facilitar o processo de sova e homogeneização, que ocorre relativamente rápido devido a propriedade emulsionante do pó de ração.

Para confeccionar a massa de enriquecimento com sabugo, deve-se ter o cuidado de abrir a massa, colocar porções de sabugo na massa aberta e sovar até uniformizar o enriquecimento. Após a uniformização modelar em forma de esfera mantendo a superfície levemente úmida, visando formar uma crosta, dificultando o acesso a parte suculenta do enriquecimento. Já no enriquecimento unicamente feito de aveia, ao modelá-lo em forma esférica, com a superfície levemente umedecida, rolar-lo nos farelos grossos de aveia viabilizando textura diferenciada entre parte externa e interna do enriquecimento.

Abaixo segue a tabela 1, com os grupos de enriquecimentos, contendo seus ingredientes e proporções.

**Tabela 1** - porcentagem de ingredientes das receitas

	<b>Aveia</b>	<b>Feno</b>	<b>Ração em pó</b>	<b>Sabugo</b>
<b>G1</b>	100%	-	-	-
<b>G2</b>	49%	5%	46%	-
<b>G3</b>	95%	5%	-	-
<b>G4</b>	64,8%	3,6%	-	32%

**Fonte:** próprio autor, 2022

Após a confecção dos enriquecimentos, estes serão embalados em material próprio para serem autoclavado, sendo esta embalagem para esterilização, padrão grau cirurgico, e posteriormente dentro da área passará por uma segunda secagem, que se resume em deixar o material aberto próximo aos exaustores, o que será facilitar a evaporação da água residual presente, tornando assim o enriquecimento firme, denso e duro, tornando-o resistente a mordidas e de difícil quebra. O enriquecimento será fornecido aos animais a cada 7 (sete) dias, sendo que será ofertada uma esfera para cada grupo.

### **3.3.Local do experimento**

Os animais são oriundos e mantidos no Biotério Central do Instituto Butantan, no setor de camundongos. O ambiente de criação é rigorosamente controlado, tanto no fator referente de temperatura (20°C – 24°C) e umidade (40% – 60%) conforme Resolução Normativa nº 15, de 16 de dezembro de 2013 (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO, 2013; CONCEA, 2019), assim como fotoperíodo de 12 – 12 horas claro e escuro. Antes do início dos experimentos, os animais foram alojados, por um período de 7 dias, em gaiolas de propileno (28 x 17x 12 cm), com maravalha de pinus e sabugo de milho desidratado como forraçãostas gaiolas devidamente acondicionadas em salas cuja temperatura ambiente (20 a 24 C) e umidade (40 a 60 %) controladas por meio de data loggers; Sendo alocados em estante com 6 prateleiras, cada um dos grupos alocados em uma prateleira específica para facilitar o acompanhamento, também identificados por meio de etiquetas com informações dos animais alojados nas gaiolas.

### **3.4. Manejo dos animais.**

Foi tomado o devido cuidado com relação ao manejo, visto que o manejo está diretamente ligado ao bem-estar animal (RIVEIRA; 2009). A forma de retirar o animal da gaiola foi sempre a mesma, primeiramente permitindo o animal de cheirar a mão, deixando que ele se aproximasse, e em seguida com movimento lento tocar o animal com as pontas dos dedos rostro para caudal, e por fim com a mão inteira em formato de cocha, envolvendo o animal delicadamente, podendo ser tanto no sentido do plano transversal sentido lateral para medial ventral, atentando para dar apoio para as patas e usando o dedo mínimo para apoiar a cauda do animal; Ou do sentido rostro caudal com passagem dos dedos em curva se deslocando na diagonal, sentido transversal medial ventral caudal. viabilizando apoio do ventre, patas e cauda. Desta forma os animais não ficariam “pendurados” pela parte basal da cauda, nem haveria o fator agressivo de contenção rápida, já que como camundongos tendem a fugir de toques bruscos, teve-se o cuidado de evitar ao máximo manejo agressivo ou que induzisse o animal a uma memória negativa com relação ao manejo. O estresse abordado por Lapchik, Mattaraia e Ko (2009) o manejo durante as trocas podem desencadear o distress, que é a forma aguda de ansiedade e prevalente, teve-se o cuidado neste trabalho de deixar a gaiola com o enriquecimento escondido na forração como forma "compensatória" pelo estresse ocorrido, gaiolas com o volume de 5 animais o Enriquecimento ambiental foi quebrado o enriquecimento para melhor dispersão, e contribuindo para a possibilidade de atividade de forragiação.

### **3.5. Animais.**

Utilizou-se camundongos machos e fêmeas recém desmamados da linhagem Swiss, provenientes de gaiolas do estoque, cada um dos 4 grupos (G1, G2, G3 e G4) dispostos em 3 gaiolas, uma composta por 1 casal (FM), outra por 5 machos (MG) e uma por 5 fêmeas (FG). Os animais serão utilizados segundo as normas e procedimentos éticos relativos ao uso de animais de laboratório do CONCEA os quais são seguidos rigorosamente pelo Biotério Central do Instituto Butantan, foi obtido liberação CEUA da instituição (número de protocolo 5294201022), os animais após o trabalho foram colocados novamente na colônia estoque. Os testes foram realizados em animais recém desmamados. Os animais serão alimentados com 200g de ração

autoclavável balanceada para roedores QUIMTIA® por semana, ou seja, a cada 7 dias. A água será fornecida *ad libitum* durante todos os experimentos. Após o período de adaptação de uma semana, procederemos à realização dos experimentos como descrito em sequência.

#### 3.5.12. Formação dos Grupos

Serão usados para o experimento animais recém desmamados (com 21 dias de vida), sendo escolhidos os que apresentavam comportamento de agitação e que mais brigavam logo após ao desmame.

#### 3.5.13. Observação clínica e medidas de peso

BIOMÉTRICAS/ OBSERVACIONAIS. A medição do peso dos animais será realizada uma vez por semana e irá ser formado 4 grupos para o trabalho sendo ofertado para cada um enriquecimentos ambientais diferentes:

- a) 1: bolinhas de aveia e oferta de ração;
- b) 2: bolinhas de aveia e feno e oferta de ração
- c) 3: obtenção das bolinhas de aveia, feno e sabugo e oferta de ração
- d) 4: bolinha de aveia, ração em pó e feno.

O peso dos animais será medido com uma balança eletrônica, modelo UX8200 da marca Shimadzu. A medição do peso dos animais será realizada uma vez por semana, sempre às quintas-feiras, diariamente os animais serão acompanhados no período da manhã e no período da tarde para identificar:

#### 3.5.14. Período de maior consumo

Observar os períodos (manhã ou tarde) dos quais os animais mais consomem o enriquecimento.

#### 3.5.15. Tempo até o consumo completo

Quantos dias em média os animais demoram para desfazer uma bolinha autoclavada em cada grupo?

### 3.5.16. Teste de preferência de sabor

As avaliações serão realizadas utilizando um cronômetro e o tempo será comparado entre os grupos. As observações serão realizadas sempre no mesmo período do dia (entre 8:00 e 15:00), 40 minutos por gaiola, intercalando-se os animais dos 4 diferentes grupos.

- a) obtenção das bolinhas de aveia;
- b) obtenção das bolinhas de aveia, feno e ração em pó Nuvilab<sup>®</sup> da QUIMTIA<sup>®</sup> ;
- c) obtenção das bolinhas de aveia e feno;
- d) obtenção das bolinhas de aveia, feno e sabugo;

### 3.6. Análise estatística

A análise foi qualitativa, já que o comportamento dos animais foi avaliado sem aferição de parâmetros quantitativos. Foi utilizado o *Software* GraphPad Prism<sup>®</sup> 9.4.1.681, versão 9.4.1.681 para Windows 64 - bits; 2022 onde os dados foram submetidos à testes de análise de variância ANOVA de uma via e seguido pelo teste de Tukey-Kramer de comparações múltiplas para verificação de possíveis diferenças entre grupos, utilizou também a análise de variância ANOVA de duas vias para verificação de possíveis diferenças entre grupos e tempo. O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, a probabilidade de  $p < 0,05$  foi considerada como capaz de revelar diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

## 4.RESULTADO

### 4.1.Observações gerais

No primeiro dia não ocorreu na maioria das gaiolas interação com os EA, os animais recém desmamados preferiram explorar a gaiola, estabeleceram as hierarquias de convívio, se limpavam e dormiram juntos. G3.MG logo de primeira já demonstrou interesse até causando um pouco de atrito entre os integrantes da gaiola, mas o atrito não durou muito tempo, G3.FG demonstrou curiosidade, porém não mordiscou o EA mais arrastavam e puxavam o EA pela gaiola. Nos próximos dias obtivemos resultados diversos como por exemplo o do grupo G4 em geral teve atitudes de cavar no EA para remover os sabugos.

Todos os animais após 5 dias de EA não apresentaram reações adversas, apresentavam aparência saudável com comportamento ativo, pelos com alta densidade e extremamente brilhantes e macios, olhos brilhantes, orelhas, nariz, patas e caudas de coloração rosadas dentro do padrão. Bigodes, orelhas e olhos não apresentam feição de dor, animal relaxado e sem traço de agressividade.(GUIMARÃES; MÁVARO, 2013)

Nas gaiolas foi observado a mudança nas excretas, sendo elas: as fezes se tornam menores e mais secas; na urina, odor muito mais suave do que se é observado normalmente no biotério que foi realizada a pesquisa. gaiola se mantém mais limpa aproximadamente por 4 dias. Machos não apresentaram brigas sérias, ou de longa duração, dentro de 30 minutos ocorria o início e o fim da circunstância agressiva, sendo esta não grave e ocorreu somente na primeira e segunda colocação de EA. Em sequência, todos os grupos tenderam ao consumo intenso dos EA, e com atividade intensa desde a de brincadeira como o de limpeza dos colegas de gaiola como escavação.

A urina mais suave para mais forte, G1> G4> G2> G3. As fezes durante o consumo do EA demonstraram um padrão pequenos, mais secas e de coloração marrom- escuro, ausentes de cheiros e bem firmes. Os animais apresentaram comportamento de colocar o EA dentro do ninho e também tiveram o costume de dormir sobre o mesmo, acordando em alguns momentos e já mordiscando o alimento. Um fator analisado é que no começo da oferta dos EA, o consumo de ração cai vertiginosamente, a contraponto que o consumo de EA era quase constante e rápido.

Com o decorrer do experimento, os animais por si só foram equilibrando o consumo de Enriquecimento ambiental e o de ração, aumentando a permanência do enriquecimento no ambiente da gaiola.

## **4.2. Análise do comportamento dos grupos**

A princípio os animais apresentavam temperamento arredo ao toque humano, com presença de comportamento de tentativas constantes de fuga, e mordidas. O manejo piloto consiste no cuidado redobrado na hora de segurar o animal, assim como o cuidado de manter o enriquecimento alimentar escondido entre a forração antes dos animais serem colocados nas gaiolas.

Uma melhora na docilidade no decorrer da segunda troca, dos quais, foram observados:

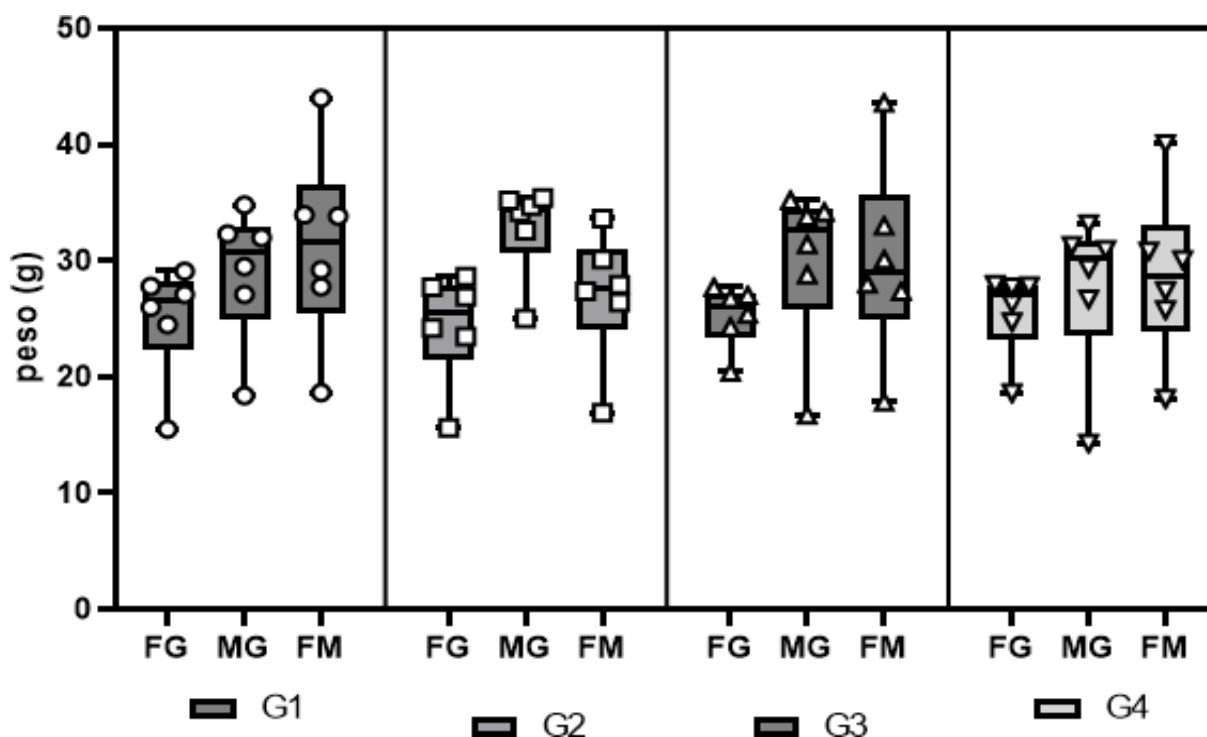
- a) Não fogem ou oferecem tanta resistência no momento da contenção. Animais tentam menos fugas.
- b) Demonstrem mais curiosidade e se aproximam dos humanos que passam perto das gaiolas.
- c) Apresentam menos medo ao toque humano. Não ocorrem mais mordidas.
- d) Ficam menos agitados no momento da pesagem.
- e) Menos ocorrência de brigas na gaiola dos machos após a troca.

## **4.3. Pesagens e Análise estatística**

### **4.3.17. Dados gerais dos animais**

Os dados obtidos nas pesagens foram organizados e com eles foram montadas e realizadas as análises. Abaixo no Gráfico 1 temos o total de ganho de peso durante 6 semanas, e as médias de cada semana. Pode ser observado que alguns grupos mantiveram a média de peso mais estável, ao contrário de outras que apresentaram uma variação maior.

**Gráfico 1** - Comparativo final entre os grupos G1, G2, G3 e G4.



Fonte: próprio autor, 2022

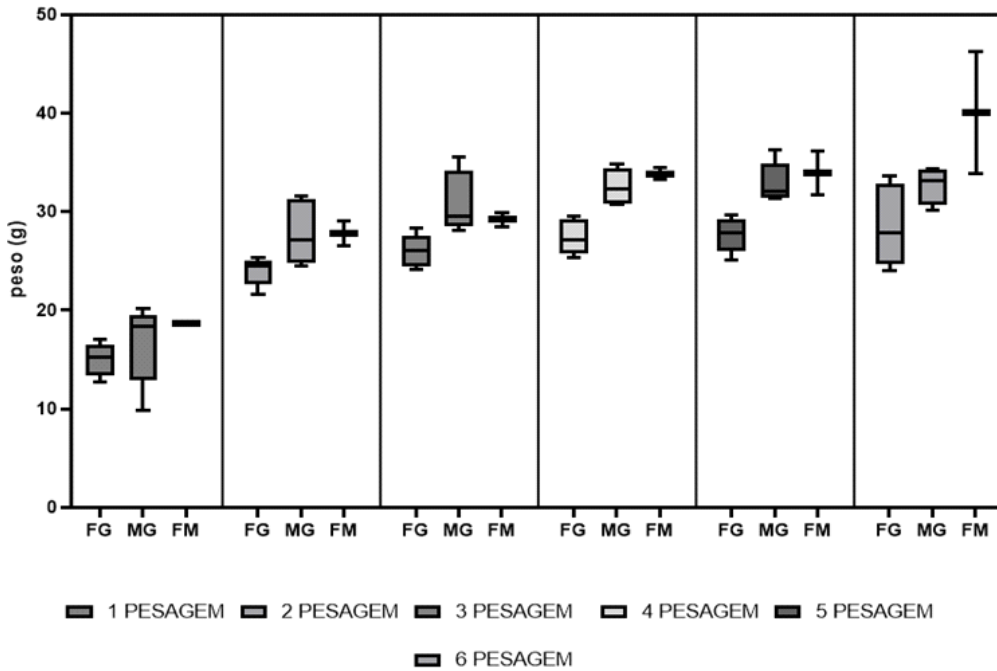
**Legenda:** O Gráfico mostra os valores e a média final do peso adquirido durante o período de experimento.

#### 4.3.18. Análise estatística

A análise feita descreveu que a exposição dos animais a enriquecimentos distintos obtiveram efeitos similares, cada enriquecimento foi responsável por diferenças muito significativas, apresentando a valor P igual 0,0015, e o valor da variável (F) igual a 8,07. Em análise isolada, dos grupos nenhum teve um aumento significativo fora da curva padrão, ou mesmo teve queda de forma acentuada. No subgrupo FG, formado exclusivamente por fêmeas, não ocorreu diferenças significativas entre os enriquecimentos, apesar das fêmeas terem obtido mais peso da semana anterior o ganho foi relativamente na mesma proporção.

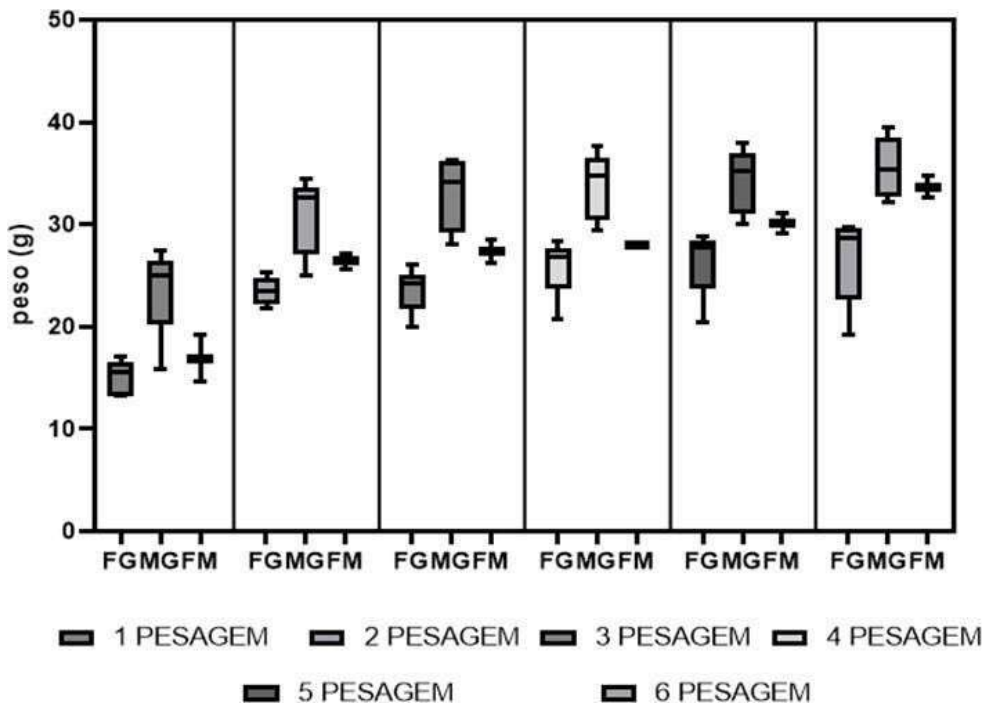


**Gráfico 2** - comparativo do peso dos subgrupos de G1 ao longo das 6 pesagens



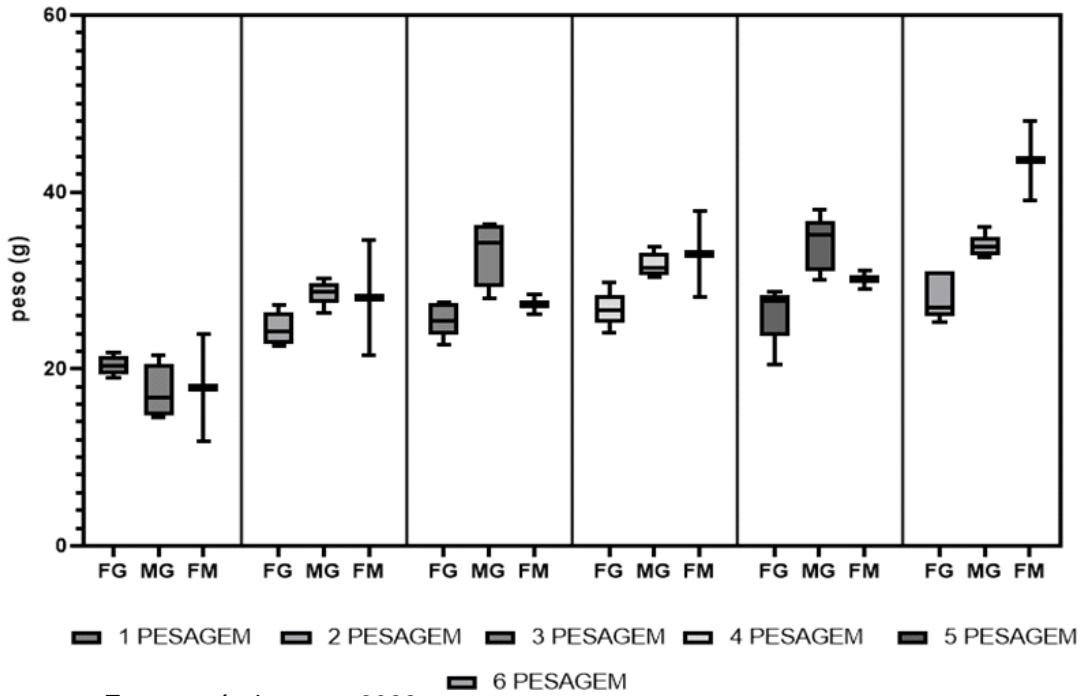
Fonte: próprio autor, 2022

**Gráfico 3** - comparativo do peso dos subgrupos de G2 ao longo das 6 pesagens



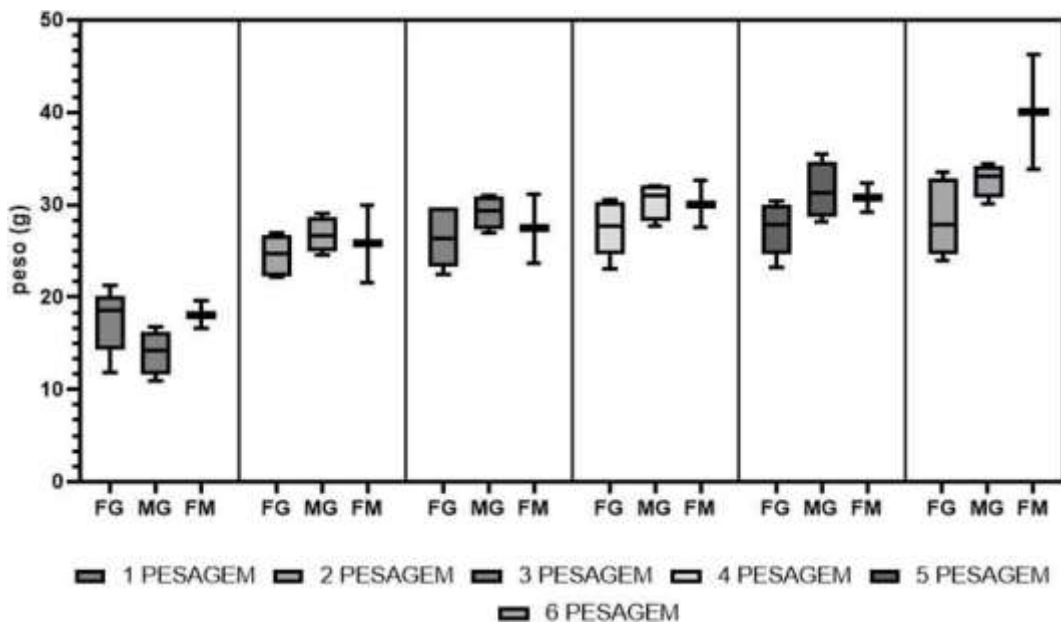
Fonte: próprio autor, 2022

**Gráfico 4 - Grupo G3 e suas 6 pesagens.**



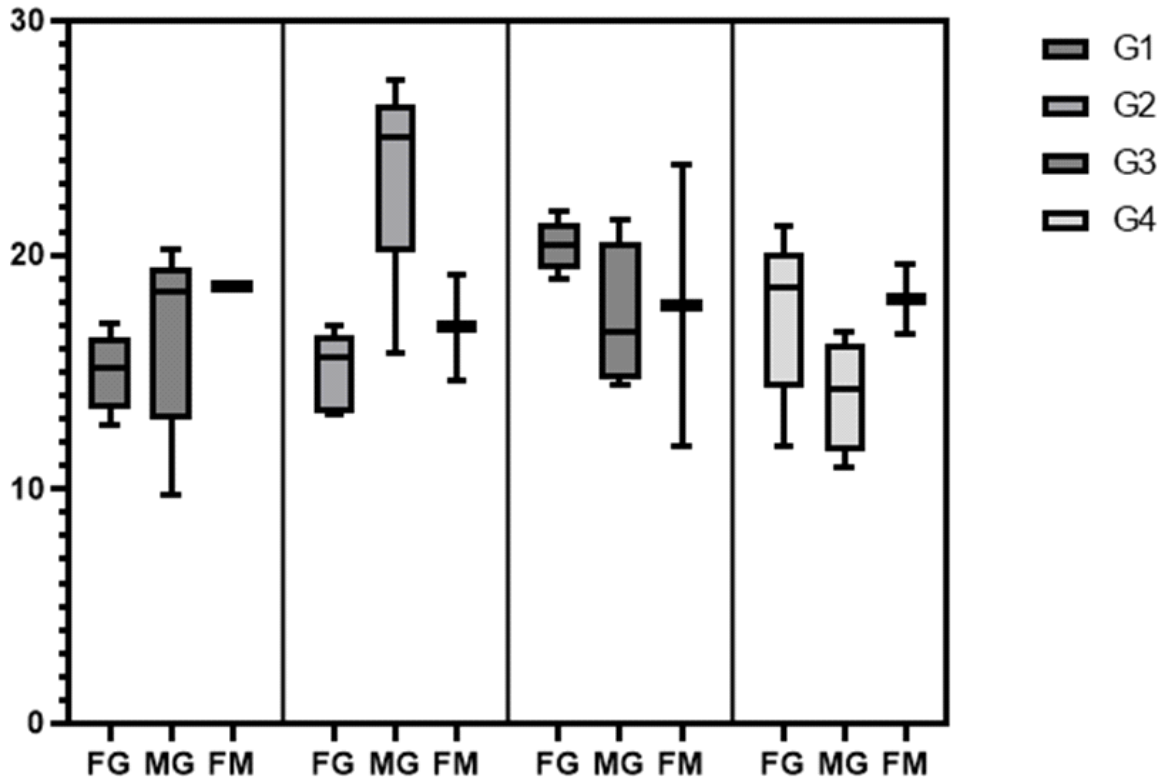
Fonte: próprio autor, 2022

**Gráfico 5 - Grupo G4 e suas 6 pesagens**

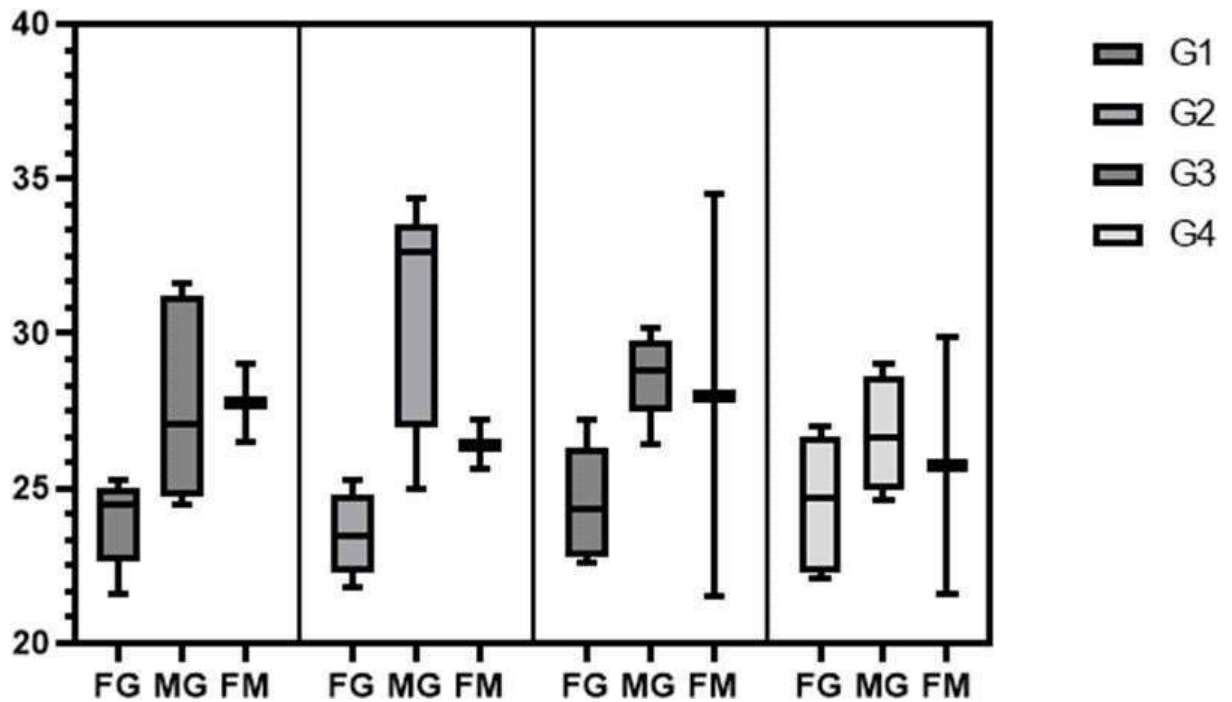


Fonte: próprio autor, 2022

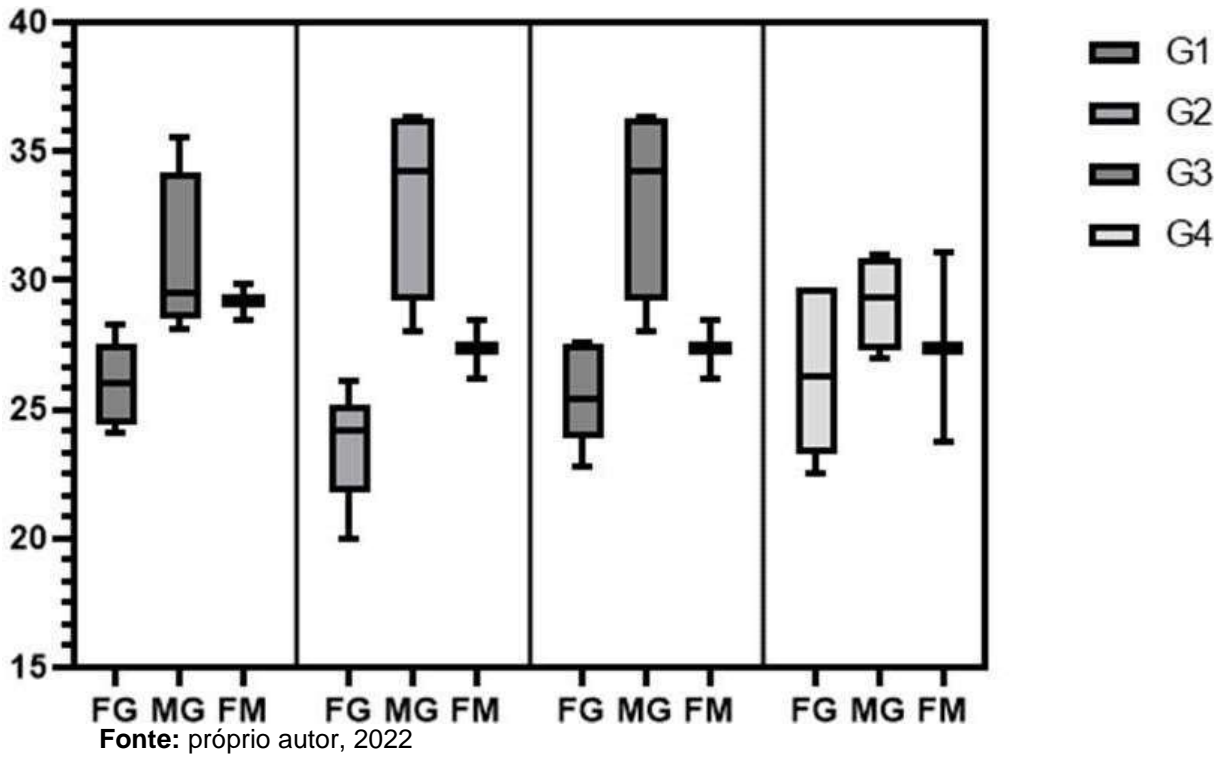
**Gráfico 6 – 1º Pesagem comparativas entre os grupos**



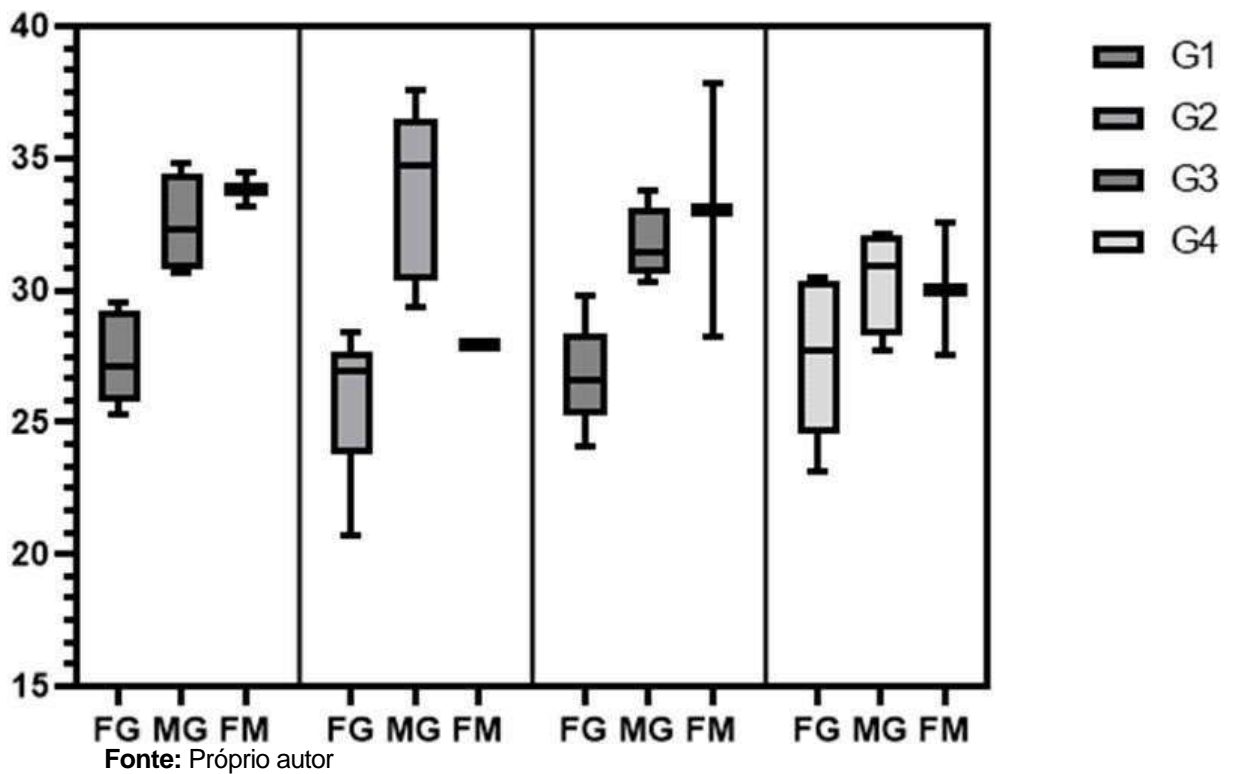
**Gráfico 7 - 2º pesagem comparativa entre grupos.**



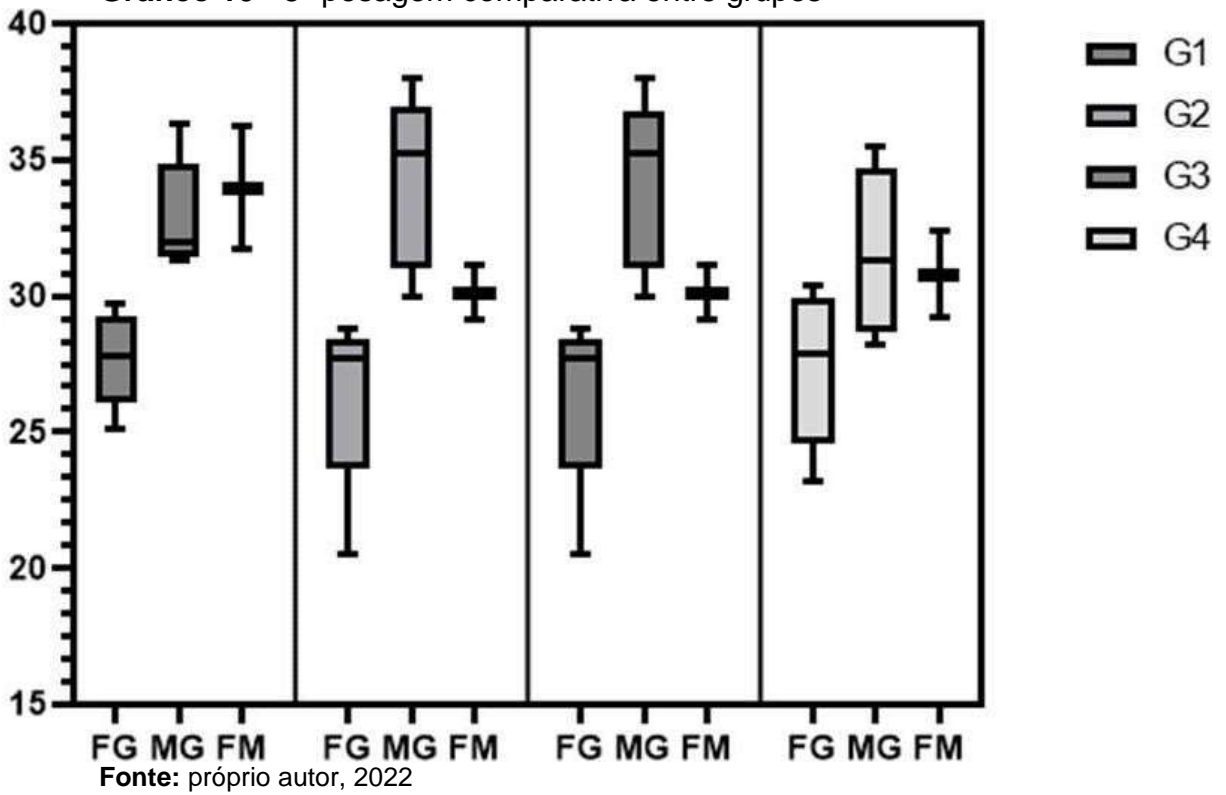
**Gráfico 8 - 3º pesagem comparativa entre grupos**



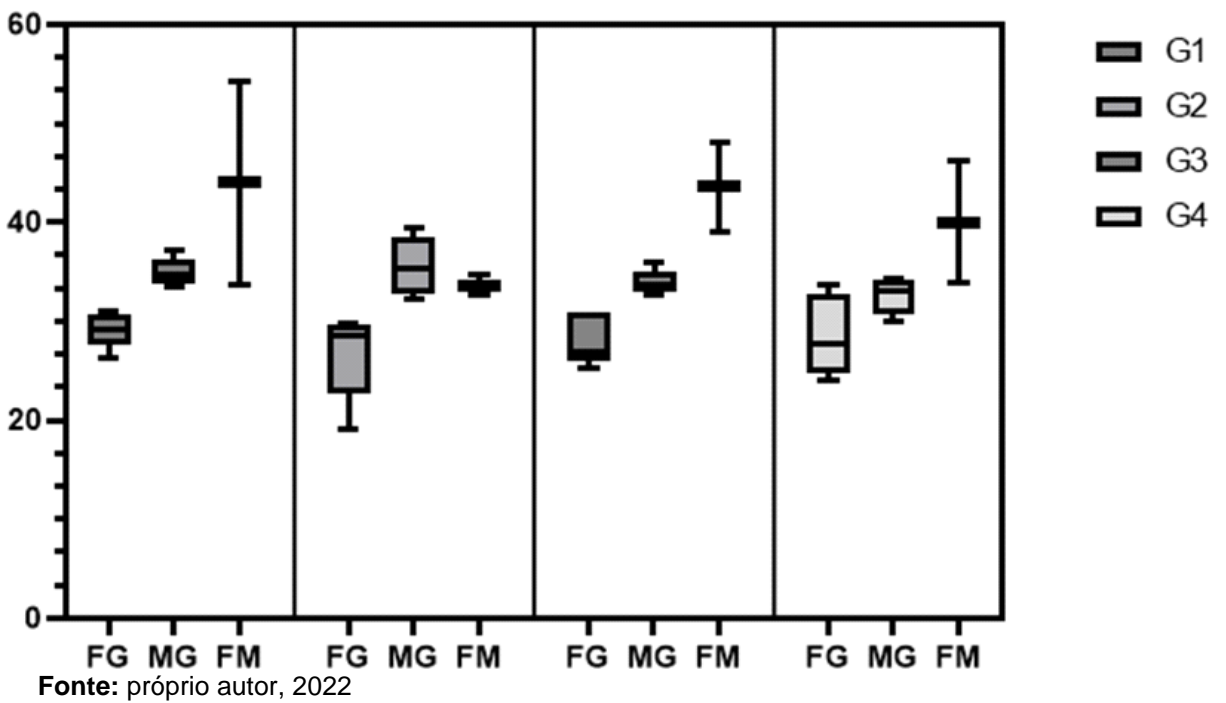
**Gráfico 9 - 4º pesagem comparativa entre grupos**



**Gráfico 10 - 5º pesagem comparativa entre grupos**



**Gráfico 11- 6º pesagem comparativa entre grupos**



#### **4.4. Consumo EA**

Foi pesado o enriquecimento para ter um comparativo sobre seu consumo, sendo que o consumo era mais intenso no período da manhã e provavelmente noturno, já que no começo das observações diárias o EA era menor do que no dia anterior e na tarde do período anterior os animais apresentavam o comportamento de dormir majoritariamente.

#### **4.5. Tempo para Consumo EA.**

O consumo dos grupos formados por 5 indivíduos do mesmo sexo, variou de 2 dias para o consumo total do EA, já nos casais o tempo de consumo variável de 3 a 4 dias. Com o tempo de costume com o EA o consumo demonstra uma amplitude maior de tempo para ser consumido, sendo de 3 dias e meio a 4 dias para seu consumo completo em gaiolas de estoque e em gaiolas de casal podia chegar até a 1 semana.

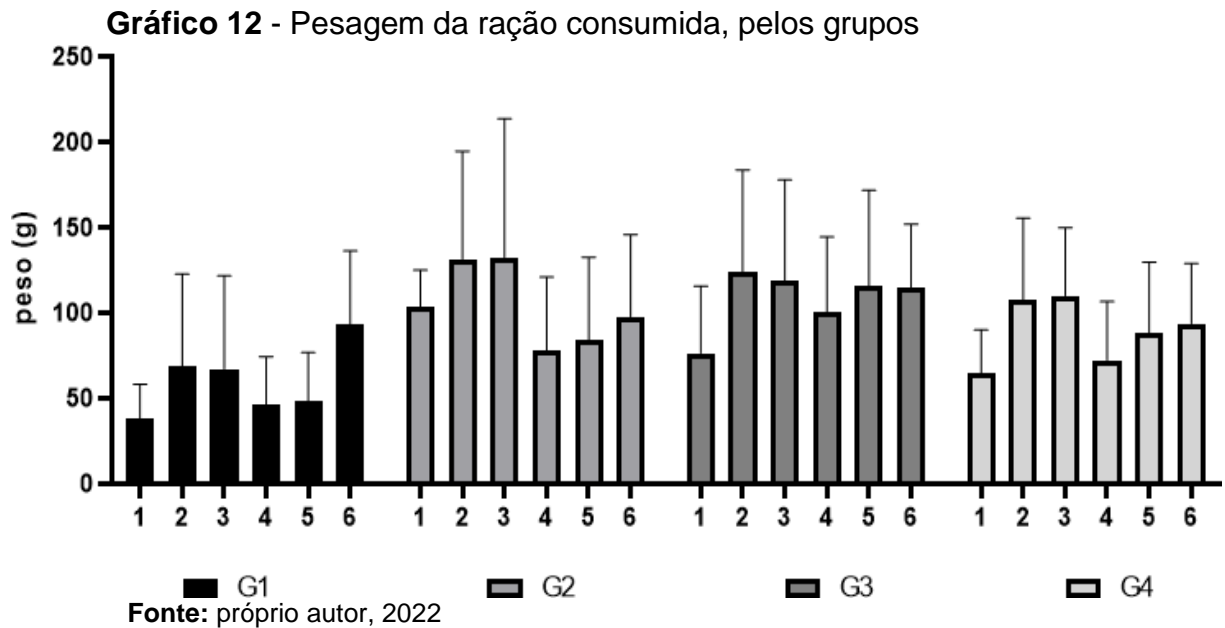
#### **4.6. Preferência de sabor EA.**

Foram avaliados que os animais consumiam mais rapidamente, o EA de aveia (aproximadamente 1 dia e meio) em seguida o de aveia + ração em pó + feno (um dia e meio a 2 dias), logo em seguida o EA de aveia e feno (3 dias) e por último o que mais demorava para ser consumido o EA aveia + sabugo + feno (4 a 5 dias). Nos casais a ordem no geral se altera com o andamento do amadurecimento com liderança entre o EA aveia + ração com o EA pó + feno com aveia + feno, com o tempo o consumo se torna igual, sendo o tempo de consumo de 2 dias. seguidos pelo consumo do EA somente de aveia e novamente por último o EA aveia + sabugo + feno, demorando 3 dias .

#### **4.7. Consumo médio da ração em função do EA**

Foi observado que os que receberam o enriquecimento alimentar com o pó de ração (G2) teve um consumo da ração diminuído de forma mais expressiva, comparado aos demais que não possuíam (G1, G3 e G4) o pó de ração presente no

enriquecimento. Os grupos que menos consumiram ração foram os grupos formados por casais, estes focam mais no consumo do EA. A quantidade de consumo de ração foi variável de acordo com o tipo de enriquecimento alimentar ofertado, com medida do tempo que os animais se habituaram com o EA o consumo foi levemente aumentando como ilustrado no gráfico 12.



## 5.DISSCUSSÃO

Pedro (2014) mostra que o enriquecimento ambiental do tipo alimentar é aplicável em animais de experimentação em microisoladores e que o mesmo observa que há uma melhora no ganho de peso de fêmeas Balb/c, apesar da linhagem ser diferente, é também visível por meio dos gráficos apresentados o ganho acentuado de peso nos animais expostos ao enriquecimento alimentar, e sem a perda do escore corporal considerado saudável para a espécie. Sendo que cada tipo de enriquecimento apresentou-se mais eficiente em determinado grupo, como por exemplo o enriquecimento do grupo G3 (aveia e feno) foram eficientes com os integrantes da gaiola exclusivamente de fêmeas (FG).

Já G4 se mostrou eficiente na gaiola exclusivamente de machos (MG) com relação ao fator de diminuição de atitudes agressivas, G2 (aveia, feno e pó de ração) se apresentou eficiente de forma igual no fator de ganho de peso e manutenção do escore corpóreo, G1 tem destaque na melhora do peso de gaiolas com casais, visto que na última pesagem a fêmea já apresentava estágio de gravidez. Mattaraia (2009) cita sobre trabalhos dos quais foram realizados em coelhos e na oferta de feno em horários controlados e como isso auxiliou em estereotípias. Como qualquer enriquecimento é preciso ter controle e estudo. Por conta disso no trabalho se fez uso de fatores como o que haveria de ser ofertado e o como, já que se teve como premissa de que deveria ser de difícil obtenção, tornando o enriquecimento alimentar menos previsível possível. Santos e Fontes (2018) e por Cubas (2017) apontam que um dos grandes problemas do tipo de enriquecimento alimentar, é que se deve avaliar se não haverá impactos negativos na dieta balanceada dos animais e o fator que também deve ser levado em conta é que o enriquecimento pode vir a se tornar previsíveis demais, assim como a alimentação rotineira que sempre é posta no mesmo horário e sem dificuldade na obtenção. Foi escolhido como item base para o enriquecimento uma mistura de aveia, 50% farelo fino e 50% farelo grosso, para que a textura fosse diferente do comum. A presença do feno em alguns tipos de enriquecimentos feitos durante o experimento, foi observado que o feno que se apresentava ao redor era o primeiro a ser mastigado, o que podemos dizer que feno tipo tifton pode ser usado no futuro como um enriquecimento alimentar, para camundongos, por ser um alimento tipo volumoso, ou seja, maior quantidade de fibras, podendo no futuro auxiliar no desgaste dentário.



Obtivemos animais ao fim da 6ª pesagem, que de fato perderam peso, assim como relato aos estudos de Polonczy (2021) a perda de peso que ocorreu foi em virtude de outros fatores e não da alimentação com aveia, foram por motivos que os animais apresentaram má oclusão dentária, mas também não podemos fechar o conceito do uso da aveia como um fator de engorda simplesmente, já que os animais do trabalho ganharam peso, aparentemente de forma saudável, de acordo com o trabalho de Ullman-Culleré e Foltzvc (1999) os animais mantiveram o escore corporal correto e saudável BC3 para a espécie, independente do enriquecimento ofertado, em contrapartida com animais só alimentados com a ração comum que apresentam escore mais redondo e por vezes apresentando posturas apáticas ou irritadas, o que podemos afirmar que apesar dos enriquecimentos terem suas particularidades todos obtiveram um padrão similar de ganho de peso mesmo em subgrupos com particularidades extremamente específicas. A melhora do temperamento dos animais pode ter fator múltiplo tal como também a melhora do sistema digestivo já que se foi observada na gaiola que as fezes eram menores, mais secas e quase sem odor.

Sahaidak (2009) em seu trabalho avaliou a função tanto da aveia para evitar constipação em *Rattus norvegicus* tendo constatado sua funcionalidade e ainda acrescentando que seus efeitos na melhora do peristaltismo intestinal eram potencializados quando os animais eram expostos a atividades físicas. Apesar da gaiola ser dimensionada para 5 animais (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO, 2013; CONCEA, 2019) , foi visto o aumento da atividade exploratória assim como visto no trabalho de Mattaraia (2009), Orsini e Bondan (2014), Almeida (2022), explicam que é uma utopia o conceito de haver forma de acabar com o estresse por completo e ainda destrincham o conceito afirmando que o estresse é dividido em dois tipos, o eustresse e o distresse, sendo o primeiro o estresse "positivo" do qual é o estresse adaptativo e normalmente de curta duração, já o segundo é o estresse prejudicial ou também crônico, do qual faz com que o corpo tenha mudanças que se perpetuam por tempo prolongado, e causando problema graves a saúde do animal e podendo até levar à morte dependendo das circunstâncias.

## 6. CONCLUSÕES

Apesar de enriquecimentos ambientais do tipo nutricionais não serem comuns em ambientes experimentais ou de biotérios de criação, percebe-se que é uma opção viável e de múltiplos resultados, não só no quesito de controle de agressividade entre machos após troca, que é um dos processos mais estressantes para os animais em criação extensiva, ocorreu aumento de peso sem alterar o escore corporal dos animais. O enriquecimento com o pó de ração pode ser uma alternativa para acabar com o desperdício de pó de ração que já vem nos sacos de ração, e anteriormente era jogado fora e com o uso deste para a produção do enriquecimento alimentar se tem uma economia já que este rende muito. Um fator a ser também reforçado é o de que os animais expostos ao enriquecimento, apresentaram ser mais mansos ao manejo, sendo extremamente curiosos a presença humana, e sendo receptivos no momento da pesagem e da troca.

Não apresentaram agressividade como mordidas, sendo mais observado a postura de curiosidade e exploratória dos animais. É importante apontar que o dado experimento pode ter melhorias, sendo no fator secagem, formato, esterilização e até mesmo no preparo. A dificuldade na secagem do enriquecimento foi o grande problema deste experimento, já que inicialmente foi idealizado o formato esférico, que na prática não foi o melhor formato para a secagem total do enriquecimento após autoclavagem, logo seria recomendável que o formato fosse replanejado, em forma mais achatada.

O processo de autoclavação apresenta alta temperatura o que poderia causar uma queda considerável na presença das fibras, há a necessidade de ter um planejamento melhor sobre processos de esterilização, sendo uma boa opção a esterilização por irradiação ionizante. Um fator interessante a ser observado é o processamento do enriquecimento por meio de extrusão, vindo a ser interessante tanto no fator durabilidade, dureza e palatabilidade, porém deve-se fazer mais pesquisas e experimentos sobre o assunto, já que o enriquecimento só manteria sua função com a presença das texturas variadas (grãos de aveia e as ramas de feno) e a dureza (resistência às mordidas dos animais.)

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

- ANDRADE, A., PINTO, SC.; OLIVEIRA, RS., orgs. **Animais de Laboratório: criação e experimentação** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002.
- ALMEIDA, C. S. **Enriquecimento ambiental perinatal, seu impacto sobre o comportamento análogo á ansiedade e implicações transgeracionais**. 2016. 100 f. Tese (Doutorado) - Curso de Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016. Disponível em: <https://tede.ufrrj.br/handle/jspui/1964>. Acesso em: 25 nov. 2022.
- ALMEIDA, I. B.; BARROS NETO, J. J.; OLIVEIRA, T. K. B. **Princípios básicos de pesquisa de animais de laboratório**. 1. ed., Aracaju: Edifs, 2016. 54 p. Disponível em: <https://repositorio.ifs.edu.br/biblioteca/handle/123456789/642>. Acesso em: 20 nov. 2022.
- COIMBRA, F. C. **Efeito do enriquecimento ambiental sobre o bem-estar de camundongos (*Mus musculus*) alojados no Biotério Central da UFAM**. Manaus - Am: Universidade Federal do Amazonas, 2013. 29 p. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Departamento de Apoio à Pesquisa, Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica.
- CONCEA. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Brasil). **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica**. Fascículo 2: roedores e lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/mcti/pt-br/composicao/conselhos/concea/paginas/publicacoes-legislacao-e-guia/legislacao-do-concea>. Acesso em: 3 nov. 2022
- CUBAS, Z. S. 1963- **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. Zalmir Silvino Cubas, Jean Carlos Ramos Silva, José Luiz Catão-Dias. - 2. ed. -[Reimpr.]. - São Paulo: Roca, 2017. 2470 p.: il.; 28 cm
- GUIMARÃES, M.A.; MÁVARO, R. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo; 2004. 166p.
- KO, M. G.; LUCA, R. R. Camundongos. In: LAPCHIK, V.B.V. *et al.* **Cuidados E Manejo de Animais de Laboratório**. Rio de Janeiro - Rj: Atheneu, 2009. p. 137-165.
- LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. M.; KO, G. M. Cuidados e manejo de animais de laboratório. 1 ed. São Paulo - SP: Atheneu, 2009. 760 p. MATTARAIA, Vânia Gomes de Moura. Enriquecimento ambiental. In: LAPCHIK, Valderez Bastos Valero; MATTARAIA, Vania Moura; KO, Gui Mi. **Cuidados e manejo de animais de laboratório**. 1 ed. São Paulo - Sp: Atheneu, 2009. Cap. 33. p. 537-545.

<sup>1</sup> ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023: Informação e documentação - referências - elaboração**. Rio de Janeiro: ABNT, 2018.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Conselho Nacional de Experimentação Animal**. Resolução Normativa nº 16/2013, de 16 de Dezembro de 2013: <https://www.gov.br/mcti/pt-br/composicao/conselhos/concea/paginas/publicacoes-legislacao-e-guia/legislacao-do-concea> Acesso em: 3 nov. 2022.

MOREIRA, V. B. **Eficiência reprodutiva de camundongos endogâmicos Balb/C em diferentes idades de acasalamento, com ou sem enriquecimento ambiental**. 2011. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu - Sp, 2011.

MOREIRA, V. B.; MATTARAIA, V.G.M; RODRIGUES, M.V; DE ALBUQUERQUE, C.Z; MOURA, A (2019). **Comportamento parental e ansiedade em camundongos isogênicos e endogâmicos com acesso a dois tipos de materiais de nidificação. Ciência Aplicada do Comportamento Animal**. doi:10.1016/j.applanim.2019.03.012 10.1016/j.applanim.2019.03.012. Acesso em:

ORSINI, H.; BONDAN, E. F. Fisiopatologia do estresse. *In*: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2017. cap. 5, p. 192-231. *E-book* (2470 p.).

OLIVEIRA, G. M.; BRÜCK, M. A.; MARTINS, T. V. A. **Enriquecimento Ambiental: Qual a melhor forma de utilização do Enriquecimento Ambiental para camundongos em biotério?** Rio de Janeiro – Rj: Fiocruz, 2018. 119 p. (ISBN: 978- 85-5522-322-8).

OLIVEIRA, C. B. C.; BRITO, L. A.; FREITAS, M. A.; SOUZA, M. P. A.; RÊGO, J M. C.; MACHADO, R. J. A. Obesidade: inflamação e compostos bioativos: inflamação e compostos bioativos. **Journal Of Health & Biological Sciences**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1, 3 jan. 2020. Instituto para o Desenvolvimento da Educação. <http://dx.doi.org/10.12662/2317>. Acesso em: 10 nov. 2022

PEDRO, D. A. *et al.* Ganho médio de peso de camundongos balb/c submetidos ao enriquecimento alimentar em sistema de estante ventilada. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 13, n. 3, p. 72-72, 2015.

POLANCZYK, A. K. Peso de pacientes submetidos a tratamento com fibra solúvel por 30 dias: Estudo piloto. *In*: **Seminário de Inovação e Tecnologia**, 10., 2021, Ijuí - Rs. Seminario. Ijuí - Rs: Unijuí, 2021. p. 1-5.

RAE, M. B. **Estudo do enriquecimento ambiental na recompensa e na modulação do sistema de oxitocina**. 2019. 89 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

SAHIDAK, S. **Estimativa da ingestão de fibras alimentares em rato wistar fêmeas**. 2009. 19 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciências Biológicas, Faculda de Assis Gurgacz, Cascavel - Pr, 2009.

SANTOS, R. A.; FONTES, R. S. Comportamento e Enriquecimento para Ratos e Camundongos. In: NEVES, S. M. P. *et al* (ed.). **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo: Fcf-Iq/Usp, 2013. Cap. 3.

SILVEIRA, R. U.; PINHEIRO, R. C. S. A Utilização de enriquecimento ambiental nas Práticas em análise experimental do comportamento. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, v. 3, n. 1, 2016.

ULLMAN-CULLERÉ M.H.; FOLTZ C.J. (1999) Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. **Laboratory Animal Science** 49(3):319-323.