

ARTIGO DE PESQUISA  
(CIENTÍFICO OU TÉCNICO)

# Avaliação de índices zootécnicos e suas aplicações no dimensionamento de colônias de animais de laboratório

Marcos Antonio Maioli<sup>1\*</sup> , Maurício de Rosa Trotta<sup>1</sup> , Claudemir Rodrighero<sup>1</sup>, Heloisa Allegro Baptista<sup>1</sup><sup>1</sup> Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia – CEDEME, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, SP, Brasil.**Como citar:** Maioli MA, Trotta MR, Rodrighero C, Baptista HA. Avaliação de índices zootécnicos e suas aplicações no dimensionamento de colônias de animais de laboratório. *Bio M Res Tech.* 2024;4(1):e00022023. <https://doi.org/10.4322/2675-9225.00022023>

## Abstract

The goal of this work was demonstrating the zootechnical indices calculations and their applications in a methodology for colonies sizing, aiming at the adjustment of production. For this, 120 breeders of Wistar rats were evaluated, with data collection carried out between January and December 2021. The information recorded were: dates of birth of the male and female, date of mating and parturition, number of pups/parturition, number of male and female weaned/parturition, number of euthanized animals. The zootechnical indices (IZ) calculated were: time to first parturition, interval between parturitions (IEP), culling rate, monthly parturition index (IMP), number of animals weaned/parturition, weaning rate, proportion of male and females weaned/parturition, pre-weaning mortality and reproductive lifespan. Descriptive statistics were performed and when necessary, ANOVA was performed followed by Tukey's post-test with a significance of  $p < 0.05$ . Based on IZ information, a methodology was proposed to calculate the number of breeders. To size the colony, the first step was calculating the number of parturitions, i.e., dividing the number of animals demanded by the number of pups weaned/parturition. The second step consisted in calculating a correction factor, dividing the IEP by 30 and multiplying by the IMP, applying this, the time required for the breeder to have new offspring and the percentage of breeders that gave birth monthly were considered in the calculus. Finally, to calculate the number of breeders, just divide the number of births by the correction factor. The systematization of the IZ enables to consider important colony characteristics for sizing production, optimizing the use of resources and reducing over production.

**Keywords:** colony management, reproductive indices, productive adjustment.

## INTRODUÇÃO

Russel e Burch<sup>1</sup> em 1959 propuseram uma ciência aplicada, cujo objetivo era melhorar o tratamento dos animais usados em pesquisa enquanto melhoravam a qualidade das pesquisas médicas científicas. Os 3Rs, como Russel e Burch chamaram inicialmente, tem como fundamentos a substituição (*replacement*), redução (*reduction*) e refinamento (*refinement*).

Os fundamentos dos 3Rs tem como principais objetivos a otimização do número de animais utilizados em experimentos, a substituição do uso por métodos alternativos sempre que possível e o aperfeiçoamento dos procedimentos adotados, visando melhorar as técnicas e procedimentos experimentais.

Geralmente aplicados à experimentação, os fundamentos abordados pelos 3R, devem ser estendidos as técnicas aplicadas nos biotérios de criação, uma vez que o refinamento das técnicas produtivas implica em melhoras no bem-estar animal.

**\*Corresponding author:** marcos.maioli@unifesp.br**Competing interests:** No conflicts of interest declared concerning the publication of this article.**Recebido:** Março 10, 2023. **Aceito:** Dezembro 13, 2023.

Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution, que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.

A legislação brasileira adotou o conceito dos 3Rs como princípio e fundamentação para a elaboração de diversas normativas. No Anexo da Resolução Normativa CONCEA n. 55, de 05 de outubro de 2022, foi atualizada a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA<sup>2</sup>. No capítulo dos PRINCÍPIOS GERAIS PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA ATIVIDADES DE ENSINO OU DE PESQUISA CIENTÍFICA, aponta que deve ser considerado que, dentro do conceito de Redução, “A produção de animais para atividades de ensino ou de pesquisa deve ser feita de forma planejada e controlada para evitar o descarte desnecessário de animais.” Em outro trecho, salienta que o responsável pela produção deve “planejar a produção e fornecimento dos animais”.

Contudo, para que haja aprimoramento no processo produtivo é necessário que os gestores do biotério conheçam os padrões produtivos e reprodutivos das linhagens com que trabalham, sendo para isso essencial o registro de informações como: idade ao primeiro parto, idade da fêmea e do macho quando colocados em reprodução, registro da data dos partos, número de animais nascidos/parto e número de animais desmamados/parto.

Estas informações são utilizadas para o cálculo dos índices zootécnicos, ferramentas essenciais para avaliar qualitativamente e quantitativamente os padrões produtivos das colônias mantidas no biotério.

Os índices zootécnicos aliados ao conhecimento da demanda de animais da instituição podem ser aplicados em metodologias de cálculo para determinação do número adequado de matrizes e reprodutores necessários para atingir a produção desejada, tornando assim o sistema produtivo sustentável, mais eficiente e alinhado as políticas de bem-estar animal. Além disso, a produção otimizada tem impactos econômicos significativos, como por exemplo sobre o consumo de insumos e mão-de-obra. Adicionalmente, o monitoramento constante desses índices pode ser uma maneira de detectar precocemente alterações de padrão que possam indicar mudanças genéticas ou sanitárias;

Considerando o exposto acima, o presente trabalho, que utilizou como exemplo uma colônia de ratos Wistar, tem como objetivo apresentar o cálculo dos índices zootécnicos em biotérios de produção de animais utilizados em pesquisa e sua aplicação no dimensionamento de colônias, sendo este conhecimento passível de aplicação a diferentes espécies animais.

## METODOLOGIA

### Local das avaliações e período de coleta de dados

A avaliações foram realizadas no Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Biologia e Medicina (CEDEME), biotério onde são produzidas e mantidas diferentes linhagens de ratos e camundongos utilizadas em experimentação nos *Campi* da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Os dados foram coletados entre os meses de janeiro a dezembro de 2021.

### Animais

Os animais avaliados como exemplo para este estudo foram casais de ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar convencional, que eram mantidos em uma sala exclusiva (maternidade), cujo esquema reprodutivo era o de acasalamentos ao acaso. Na maternidade de Wistar, ao longo do período de avaliação, eram mantidos 120 casais com idades entre 12 e 49 semanas de vida que estavam entre o 1° e 8° parto em sistema monogâmico intensivo.

As gaiolas utilizadas para o alojamento dos animais eram de policarbonato da marca Tecniplast®, modelo 1500U (dimensões 21 x 37,5 x 48 cm), acopladas a racks com capacidade para 20 caixas e sistema de tratamento de ar Smart Flow®, ajustado para fazer 75 renovações de ar por hora. O material utilizado como forração nas gaiolas foi flocos de pinus esterilizado em autoclave a 121°C por 20 min, com trocas realizadas uma vez por semana. A sala utilizada como maternidade possuía ciclo claro/escuro de 12 horas

A ração fornecida foi a Nuvilab CR-1 irradiada, fornecida pela empresa Quimtia. Os níveis de garantia eram: umidade (máx.) 12,5%, proteína bruta (min.) 22%, extrato etéreo (min.) 5%, matéria

mineral (max.) 9%, fibra bruta (max.) 7%, cálcio (min-máx.) 1 a 1,4% e fósforo (min.) 0,6%. A água de bebida foi acidificada com adição de HCl (pH entre 2,8 e 3) e esterilizada em autoclave a 121°C por 20 min. Ração e água eram fornecidas *ad libitum*.

## Registro e coleta de dados

As informações dos casais mantidos na maternidade eram registradas em uma ficha fixada em cada gaiola e continham as seguintes informações: data de nascimento do macho e da fêmea, data de formação do casal (início do acasalamento), data dos partos, número de filhotes nascidos a cada parto, data do desmame e número de filhotes machos e fêmeas desmamados/parto.

## Índices zootécnicos

*Tempo entre a formação do casal e o primeiro parto:* consistiu na determinação do número de dias necessários para que aconteça o primeiro parto após a formação do casal de reprodutores;

*Intervalo entre partos (IEP):* consistiu na determinação do número de dias entre um parto e outro;

*Índice mensal de partos (IMP):* consistiu no cálculo da porcentagem de matrizes paridas em um mês em relação ao número total de matrizes acasaladas;

*Número de animais desmamados/parto:* após o desmame, foi realizado o registro do número de animais desmamados por parto;

*Taxa de desmame:* foi calculado a partir da divisão do número de animais desmamados pelo número total de filhotes nascidos, com o resultado da divisão multiplicado por 100;

*Proporção entre filhotes machos e fêmeas desmamados/parto:* baseado no número total de filhotes desmamados, calculou-se a porcentagem de machos e de fêmeas;

*Mortalidade pré-desmame:* foi calculada a partir da divisão do número de animais canibalizados pelo número total de filhotes nascidos, com o resultado da divisão multiplicado por 100;

*Vida útil dos reprodutores:* foi definida como a idade em que é possível observar uma queda no desempenho dos reprodutores, sendo isso baseado no número de animais desmamados/casal em função do avanço da idade.

Além dos índices listados acima, foram calculados a idade ao primeiro parto e o número de animais nascidos/parto.

## Análise estatística

As informações foram inseridas em uma tabela de Excel e os índices zootécnicos calculados para cada casal. Posteriormente realizou-se análise estatística descritiva.

Nos casos que foi necessário testes de comparação múltipla foi aplicado o ANOVA seguido pelo pós-teste de Tukey, utilizando nível de significância de  $p < 0,05$ .

Para a análise estatística e as representações gráficas foi utilizado o programa GraphPad Prism, 6.0.

## Proposta de cálculo para dimensionamento de colônia

O primeiro passo consistiu na determinação do número de partos necessários para suprir a demanda, sendo para isso necessário aplicar a fórmula descrita abaixo:

$$\text{Número de partos} = \frac{\text{Número de filhotes demandados}}{\text{Número de filhotes desmamados/parto}} \quad (1)$$

Posteriormente, calculou-se o fator de correção. O fator é composto pela combinação de duas variáveis, sendo a primeira obtida com o cálculo do número médio de partos/mês, ou seja, divide-se o intervalo médio entre partos por 30 dias. Posteriormente, multiplica-se esse valor pelo índice mensal de partos.

$$\text{Fator de correção} = \frac{\text{IEP}}{30} \times \text{IMP} \tag{2}$$

Por fim, para obter o número de matrizes necessárias para produzir os animais demandados, aplicou-se a fórmula descrita abaixo:

$$\text{Número de matrizes} = \frac{\text{Número de partos}}{\text{Fator de correção}} \tag{3}$$

## RESULTADOS

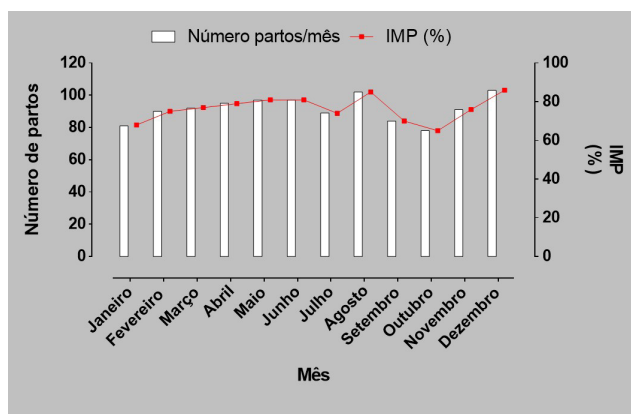
### Índices zootécnicos

Na Tabela 1 estão apresentados os índices zootécnicos da colônia de ratos Wistar-EPM mantidos no CEDEME. Como pode ser observado, o IMP variou de 68 (janeiro) a 86% (dezembro), sendo a média anual igual a 76% (Figura 1). A média de animais nascidos por parto se manteve praticamente estável ao longo do ano (10 filhotes/parto).

**Tabela 1.** Acompanhamento mensal dos Índices Zootécnicos da colônia de ratos Wistar ao longo do ano de 2021

Mês	Núm. Partos	IMP	Média	MPD	Descarte	Desmame	% de desmame	
		(%)	nascidos/ parto				(%)	Machos
Janeiro	81	68	11	31,5	24,6	43,9	67,6	32,4
Fevereiro	90	75	10	8,7	24,4	66,9	64,7	35,3
Março	92	77	10	1,2	22,4	76,4	65,5	34,5
Abril	95	79	10	3,5	23,7	72,8	66,2	33,8
Mai	97	81	11	7,3	28,6	64,1	68,7	31,3
Junho	97	81	11	9,5	27,4	63,1	68,3	31,7
Julho	89	74	10	11,8	25,9	62,3	63,1	36,9
Agosto	102	85	10	12,3	19,4	68,3	62,2	37,8
Setembro	84	70	9	11,2	15,9	72,9	58,8	41,2
Outubro	78	65	10	2	24,2	73,4	62,9	37,1
Novembro	91	76	10	3	24	73	64	36
Dezembro	103	86	10	4	23	73	62	38

IMP: Índice Mensal de Partos; MPD: Mortalidade pré-desmame. Os dados apresentam informações referentes à 120 casais.



**Figura 1.** Acompanhamento do número mensal de partos e Índice Mensal de Partos (I.M.P.) em colônia de ratos Wistar em 2021.

Com relação aos dados produtivos, é possível notar que no mês de janeiro houve um aumento considerável na mortalidade pré-desmame (31,5%), o que implicou em redução na taxa de desmame.

Durante o mês de janeiro, houve um problema com a climatização fazendo com que a média das temperaturas máximas e mínimas fossem de 29,6 e 26,8°C, respectivamente, expondo as matrizes à aproximadamente 7°C acima dos valores normalmente encontrados na sala de criação. Estas temperaturas estão acima da recomendação do *Guide for the care and use of laboratory animals*<sup>3</sup>, em que a faixa de temperatura indicada para manutenção de roedores de laboratório varia de 20 a 26°C.

A exposição dos animais a ambientes com variações na temperatura e flutuações na umidade pode afetar o comportamento, a fisiologia e causar alterações morfológicas que podem afetar negativamente o bem-estar animal bem como os resultados de protocolos experimentais<sup>4,5</sup>. Sendo assim, o aumento na mortalidade pré-desmame encontrada no mês de janeiro pode ser sido reflexo do aumento das temperaturas na sala de criação.

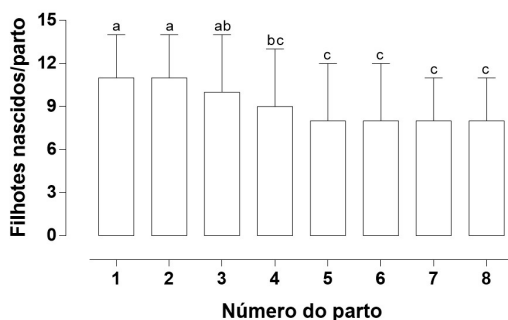
Nos meses de julho, agosto e setembro pode-se observar que a mortalidade pré-desmame foi um pouco mais alta (em torno de 11%) do que a média anual, que foi de aproximadamente 7% (Tabela 1), contudo, durante esse período foram realizadas algumas obras de manutenção estrutural próximas a sala da maternidade. De acordo com Heine<sup>6</sup>, ruídos na sala de manutenção dos animais, tanto constantes como abruptos e irregulares podem levar à comportamento anormal, o que pode ter refletido no aumento da mortalidade pré-desmame durante o período de realização das obras.

A taxa de descarte, com exceção dos meses de agosto e setembro (19,4 e 15,9%, respectivamente) estão em torno de 25%. Esse valor se mantém praticamente constante em função do manejo adotado, uma vez que antes da desmama é realizado o descarte do excedente de fêmeas, mantendo-se em média 2 fêmeas por ninhada. Esse manejo é adotado em função do perfil de animais utilizados dessa linhagem pela instituição, que em sua grande maioria são machos, o que inviabiliza a manutenção de todas as fêmeas. Nos meses em que a taxa de descarte foi menor houve uma maior demanda por fêmeas.

Diretamente afetado pela taxa de descarte, está a porcentagem de machos e fêmeas desmamadas, pois quando nenhuma intervenção é realizada essa proporção mantém-se em 50% de machos e 50% de fêmeas. Contudo, ao descartar o excedente de fêmeas, a porcentagem de desmame de machos em relação as fêmeas artificialmente aumentou para aproximadamente 65:35 (macho:fêmea).

Além dos índices acima citados, o intervalo entre partos (IEP) médio foi de 33 dias e o tempo médio entre a formação do casal e o primeiro parto foi de 28 dias.

Ao analisar a vida útil dos reprodutores (Figura 2), do primeiro ao terceiro parto não foi encontrada diferença estatística do número de filhotes nascidos/parto, contudo, a partir do quarto parto existe redução significativa no número de filhotes que se mantém até o oitavo parto.



**Figura 2.** Acompanhamento do número de animais nascidos do primeiro ao oitavo parto em ratas Wistar. Letras diferentes indicam diferenças entre o número de filhotes nascidos/parto (Média±DP;  $p < 0,05$ ).

A colônia de animais utilizada como exemplo para os cálculos é heterogênea, ou seja, a variabilidade genética é fundamental para sua manutenção. Levando em consideração essa necessidade, optou-se por não realizar a renovação da colônia logo no terceiro ou quarto parto, visto que isso encurtaria o tempo entre gerações e aceleraria o aumento da consanguinidade. Além

disso, como mencionado anteriormente, a produção de filhotes foi reduzida e não cessada, por isso optou-se por manter os casais de reprodutores até o sexto parto. Em colônias de animais *inbred*, ou seja, onde a consanguinidade não é um fator limitante, a renovação dos casais pode ser realizada a partir da identificação da queda no desempenho reprodutivo.

Compilando as informações apresentadas, o panorama produtivo de um casal de reprodutores da linhagem Wistar, mantida no CEDEME, se inicia com a formação dos casais quando os animais possuem 63 dias de vida (9 semanas), com o primeiro parto acontecendo após 28 dias. A partir desse ponto, em média a cada 33 dias a fêmea tem um novo parto com uma média de 10 filhotes nascidos/parto. Dos animais nascidos, são desmamados em média 5 machos e 2 fêmeas (7 filhotes desmamados/parto), ou seja, uma relação macho:fêmea próxima de 70:30, respectivamente. As demais fêmeas, como mencionado anteriormente, são descartadas antes do desmame (aproximadamente 25% dos filhotes nascidos).

Por fim, como os casais passaram a ser mantidos ativos na colônia até o sexto parto, a idade média dos animais ao final do ciclo produtivo é de 35 a 40 semanas, com uma produção total de aproximadamente 60 filhotes, dos quais são desmamados 42 (30 machos e 12 fêmeas).

### Aplicação dos índices zootécnicos para dimensionamento da colônia e planejamento de produção

O dimensionamento da colônia e o planejamento da produção foram realizados utilizando como exemplo a previsão de animais apresentada na Tabela 2. Além disso, os índices zootécnicos utilizados foram os calculados previamente para a colônia de ratos Wistar, mantidas no CEDEME, composta por 120 casais de reprodutores.

**Tabela 2.** Exemplo de uma previsão de ratos Wistar machos

Idade (semanas)	Mês de retirada					
	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
0-2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	157	258	255	264	210	175
9	0	0	0	0	0	0
10	0	30	0	0	30	0
11	121	139	163	120	20	20
12	116	165	92	131	42	5
<b>Total</b>	394	592	510	515	302	200

Considerando essa premissa, inicialmente foi calculado o potencial produtivo atual da colônia, ou seja, quantos animais poderiam ser produzidos mensalmente. Para isso procedeu-se da seguinte forma:

1°- multiplicou-se o número de casais (120) pelo índice mensal de partos (76%), obtendo-se então o número de fêmeas que pariram em um determinado mês, ou seja, o número de partos.

$$120 \times 0,76 = 91,2 \approx 91 \text{ partos} \quad (4)$$

2°- para calcular a produção mensal de machos, multiplicou-se o número de partos pelo número médio de filhotes machos desmamados (5 filhotes) a cada parto.

$$91 \times 5 = 455 \text{ machos} \quad (5)$$

Ao realizar essa análise foi possível notar que a colônia não tem a capacidade de suprir a demanda de ratos Wistar machos, no mês de maior demanda (592 animais em agosto), e por isso seria necessário expandi-la.

Para expandi-la deve-se conhecer qual o número de casais necessários para produzir a quantidade solicitada e para isso, aplicou-se a metodologia de cálculo proposta para o dimensionamento da colônia, composta pelas seguintes etapas:

1°- determinação no número de partos para fornecer 592 ratos machos, considerando que a cada parto são desmamados em média 5 ratos machos.

$$\text{Número de partos} = \frac{592 \text{ ratos machos}}{5 \text{ ratos machos desmamados/parto}} = 118,4 \approx 119 \text{ partos} \quad (6)$$

2°- calcular o fator de correção, que leva em consideração o intervalo entre partos e o índice mensal de partos. Ao fazer isso, foi gerado um fator de correção que leva em consideração o número de partos que uma fêmea pode ter dentro de um determinado mês bem como o número de partos que acontecem, em média, mensalmente na colônia. Para isso são utilizados o IEP (33 dias) e o IMP (76% ou 0,76).

$$\text{Fator de correção} = \frac{33}{30} \times 0,76 = 0,836 \quad (7)$$

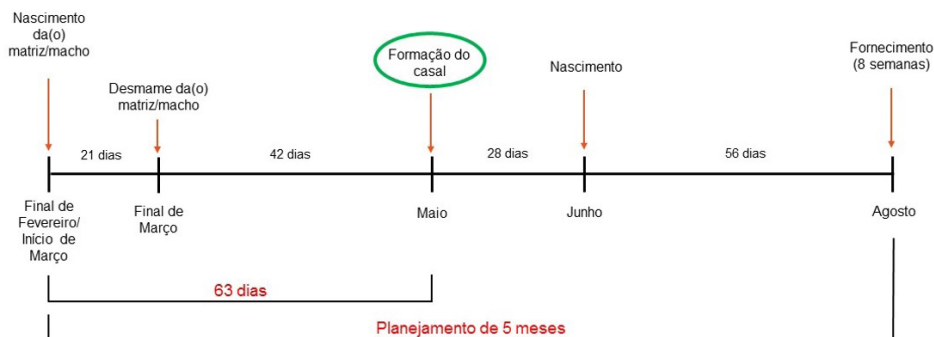
3°- para determinar o número de matrizes necessárias para produzir 592 ratos Wistar machos, fez-se a divisão do número de partos para suprir a demanda pelo fator de correção.

$$\text{Número de matrizes} = \frac{119}{0,836} = 142,34 \approx 143 \text{ matrizes ou casais} \quad (8)$$

Sendo assim, para ajustar a colônia à produção desejada seria necessário aumentar 23 casais.

Contudo, após dimensionar a colônia é preciso, além de conhecer o mês de maior demanda (agosto), saber a idade dos animais solicitados, que no exemplo, são em maior quantidade de 8 semanas, seguido por 11 e 12 semanas de idade. Dessa forma, pode-se estabelecer os prazos para seleção de novas matrizes e início dos acasalamentos para a expansão, e para isso os índices zootécnicos são importantes aliados.

Na Figura 3, segue uma linha do tempo contendo as etapas do planejamento de expansão. Para que em agosto sejam entregues 592 ratos Wistar machos, sendo 258 de 8 semanas, é necessário que os mesmos tenham nascido em junho do mesmo ano. Todavia para que isso aconteça, o casal de reprodutores deve ser formado impreterivelmente até o início do mês de maio, pois é preciso um intervalo de 28 dias para que aconteça o primeiro parto de um casal de reprodutores recém-formado.



**Figura 3.** Cronograma de planejamento para expansão da colônia para atender a demanda de animais a serem entregues em agosto com idade de 8 semanas.

A seleção das novas matrizes e reprodutores deve ser realizada em média 42 dias antes (final de março) da formação do casal, uma vez que essa geralmente acontece durante o desmame dos animais nascidos no entre final de fevereiro e início de março. Esses prazos devem ser respeitados, pois baseado em experiências anteriores, são obtidos bom resultados quando animais com uma média 63 dias (9 semanas) são colocados em acasalamento.

Considerando o exposto acima, a programação para expansão da colônia, baseada nos índices zootécnicos de ratos Wistar mantidos no CEDEME, deve ser iniciada 5 meses antes.

Após o pico de produção, a partir do final de agosto pode-se fazer a redução do número de casais da colônia para atender a demanda de 302 animais, uma vez que os animais a serem fornecidos em setembro e outubro com 8 semanas já nasceram nos meses de julho e agosto, respectivamente. Essa redução deve seguir os mesmos moldes de cálculo apresentados previamente, sendo o número adequado para suprir a demanda em novembro de 72 casais.

No entanto, a redução do número de casais deve levar em consideração o perfil genético dos animais (*outbred*, *inbred*), uma vez que dependendo do sistema de acasalamentos utilizado a diminuição drástica pode acarretar em prejuízos genéticos a colônia.

**Fonte de financiamento:** The authors declare that no financial support was received.

## REFERÊNCIAS

1. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. London: Universities Federation for Animal Welfare; 1959
2. Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Resolução Nº 55, de 5 de outubro de 2022. Diário Oficial da União; Brasília; 07 outubro 2022. p. 10.
3. Institute for Laboratory Animal Research. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington (DC): The National Academies Press; 2011.
4. Garrard G, Harrison GA, Weiner JS. Reproduction and survival of mice at 23°C. J Reprod Fertil. 1974;37(2):287-98. <http://dx.doi.org/10.1530/jrf.0.0370287>. PMID:4824696.
5. Gordon CJ. Thermal biology of the laboratory rat. Physiol Behav. 1990;47(5):963-91. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90025-Y](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384(90)90025-Y). PMID:2201986.
6. Heine WO. Environmental management in laboratory animal units. Berlin: Pabst Science Publishers; 1998.