

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular
Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos

JOEL MAJEROWICZ

**PROCEDIMENTOS DE BIOSSEGURANÇA PARA AS NOVAS
INSTALAÇÕES DO LABORATÓRIO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(Laean) DE BIO-MANGUINHOS**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Tecnologia de Imunobiológicos

RIO DE JANEIRO

2005

Trabalho realizado no Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, no Laboratório de Experimentação Animal do Departamento de Controle de Qualidade, sob a orientação do Prof. Dr. Renato Sergio Marchvesky

Ficha Catalográfica na Fonte

CICT/ FIOCRUZ

Biblioteca de Manguinhos – Setor de Processamento Técnico de Monografias/Multimeios

M233p Majerowicz, Joel

Procedimentos de biossegurança para as novas instalações do Laboratório de Experimentação Animal (Laean) de Bio-Manguinhos./ Joel Majerowicz. – Rio de Janeiro, 2005.

xv, 92; il.

Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos) – Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) em parceria com Instituto Oswaldo Cruz, Biologia Celular e Molecular, 2005.

1. Animais de Laboratório 2. Biossegurança 3. Experimentação Animal
4. Roedores I.Título

CDD.: 660.6

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas possibilidades infinitas...

A minha esposa Aida e meus filhos David e Daniel, sem os quais a minha vida não teria o brilho que percebo, brilho que irradia de seus seres.

Aos meus pais Szymon e Sofia e minhas irmãs Selma e Isa por tudo que fizeram e o muito que fazem com sua presença constante.

Aos meus amigos que, presentes ou ausentes, fazem-se perceber.

Aos colegas que compuseram parte desse trabalho e sem os quais não o estaria apresentando.

À Fiocruz, pela formação técnica e profissional que me proporcionou.

Ao Dr. Akira Homma pela visão estratégica e pelo empenho em possibilitar-nos a realização de uma pós-graduação profissional.

Ao meu mestre, orientador e amigo,
Dr. Renato Sergio Marchevsky
pela dedicação, empenho, críticas,
orientação, bom humor, seriedade,
enfim, por tudo que é, como é, e
que rogo a Deus que sempre seja
assim.

*"Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados,
capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só
depende de nossa vontade e perseverança".*

Albert Einstein

ÍNDICE

RESUMO	X
ABSTRACT	XI
LISTA DE ABREVIATURAS	XII
LISTA DE FIGURAS	XIV
LISTA DE FOTOS	XV
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Animais de laboratório	1
1.1.2. Caracterização genética dos animais	2
1.1.3. Qualidade sanitária	4
1.1.4. A quarentena e sua importância no padrão microbiológico	7
1.2. Instalações e suas influências na experimentação animal	9
1.3. Macro e microambiente	10
1.4. Biossegurança	13
1.4.1. Biossegurança em biotérios	15
1.4.2. Legislação em biossegurança	16
1.4.3. Recomendações de biossegurança em biotérios	17
1.4.3.1. Nível de biossegurança 1 – NB 1	17
1.4.3.2. Nível de biossegurança 2 - NB 2	17
1.4.3.3. Nível de biossegurança 3 – NB 3	18
1.5. Boas práticas	19
2. RELEVÂNCIA	23
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivo geral	24
3.2. Objetivos específicos	24
4. METODOLOGIA	25
5. RESULTADOS	26
5.1. O Atual biotério de experimentação animal de Bio-Manguinhos	26
5.1.1. Descrição das áreas	32
5.2. O Projeto do novo biotério de experimentação animal	32
5.2.1. Descrição das áreas	33

5.2.2. Instalações prediais e utilidades	36
5.2.2.1. Sistema de condicionamento de ar, ventilação e exaustão mecânica	36
5.2.2.2. Iluminação	37
5.2.2.3. Hidráulica	37
5.2.2.4. Elétrica	37
5.2.2.5. Comunicação	39
5.2.2.6. Controle de acesso de técnicos	39
5.2.2.7. Efluentes	39
5.2.2.8. Circuito de televisão e vídeo (CTV)	40
5.2.2.9. Alarme de emergência	40
5.2.2.10. Intertravamento de portas	40
5.2.2.11. Controle de fotoperíodo	40
5.2.3. Dos fluxos definidos em projetos	41
5.2.3.1. Fluxo de técnicos	41
5.2.3.2. Fluxo de animais	42
5.2.3.3. Fluxos de materiais, insumos e produtos	42
5.3. Procedimentos operacionais	43
5.3.1. Dos fluxos operacionais	44
5.3.1.1. Acesso e saída de técnicos	44
5.3.1.1.1. À área de higienização	45
5.3.1.1.2. À sala de técnicos	46
5.3.1.1.3. Às áreas de experimentação animal	46
5.3.1.1.3.1. À área NB-A2	46
5.3.1.1.3.2. À área NB-A3	47
5.3.1.1.4. À quarentena	49
5.3.1.2. Da introdução de materiais, insumos e produtos	50
5.3.1.3. Da introdução de vacinas, produtos e outros materiais provenientes dos laboratórios de controle ou pesquisa	51
5.3.1.4. Retirada de amostras biológicas e animais do Laean	52
5.3.1.5. Do acesso de animais	52
5.3.2. Dos processos de esterilização por calor e descontaminação química	53

5.3.2.1. Da esterilização por autoclavação	53
5.3.2.1.1. Da esterilização de materiais e insumos.....	53
5.3.2.1.2. Da esterilização de materiais contaminados e carcaças animal	55
5.3.2.2. Da desinfecção química	57
5.3.2.2.1. Da desinfecção no “pass-through”	57
5.3.2.2.2. Da desinfecção no “air-lock”	58
5.3.2.2.3. Da desinfecção de ambientes, bancadas e equipamentos	59
5.3.2.2.3.1. Dos ambientes	59
5.3.2.2.3.2. Das bancadas.....	60
5.3.2.2.3.3. Dos equipamentos	60
5.3.3. Do treinamento	60
5.3.3.1. Treinamento básico para início de atividade experimental.....	60
5.3.4. Da identificação dos riscos	62
5.3.4.1. Da identificação de riscos nos ambientes e de equipamentos	62
5.3.4.2. Da identificação dos animais	63
5.3.5. Manipulação de animal envolvido com risco biológico.....	63
5.3.5.1. Manipulação de camundongos	64
5.3.6. Vacinação	65
5.3.7. Das recomendações gerais.....	66
5.3.8. Plano de emergência	66
5.3.9. Das autorizações	67
5.3.9.1. Autorização de acesso às instalações de experimentação animal	67
5.3.9.2. Autorização de acesso em dias não úteis e horários especiais.....	76
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78
7. ANEXOS	80
7.1. Anexo 1 – Planta baixa do projeto original do biotério de	

experimentação animal de Bio-Manguinhos (1981)	81
7.2. Anexo 2 – Planta baixa dos Laboratório de Experimentação Animal (Laean) e Laboratório de Neurovirulência (Laneu).....	82
7.3. Anexo 3 – Planta baixa do Laboratório de Experimentação Animal (Laean) – 1996	83
7.4. Anexo 4 – Planta baixa do Laboratório de Experimentação Animal (Laean) - 2001	84
7.5. Anexo 5 – Planta baixa do novo Laboratório de Experimentação Animal (Laean) - em construção 85	85
7.6. Anexo 6 - Planta de fluxos do novo Laboratório de Experimentação Animal (Laean)	86
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

RESUMO

Os biotérios de experimentação são uma extensão dos laboratórios de pesquisa. Em unidade de produção de imunobiológicos, são partes do controle de qualidade e fundamentais ao desenvolvimento de novos produtos. Instalações adequadas e procedimentos operacionais padrão são exigências legais e recomendadas para que se obtenham resultados confiáveis.

No caso específico do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos da Fiocruz (Bio-Manguinhos), devem ser incorporados, obrigatoriamente, às atividades, as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Boas Práticas de Laboratório (BPL), atendendo à regulamentação das agências governamentais.

As atividades com animais de laboratórios são especiais, visto as particularidades que só são encontradas em biotérios, como por exemplo, os riscos inerentes aos animais, especialmente os físicos, que compreendem aqueles em que o profissional é exposto a mordidas, arranhões ou outra forma de defesa; os biológicos próprios da sua biota, zoonótica ou experimental e a produção de alérgenos; os químicos, tais como, os produtos de limpeza e desinfecção e os relacionados aos trabalhos experimentais.

Apresenta-se, nesta dissertação, uma comparação entre as atuais e as futuras instalações do Laboratório de Experimentação Animal de Bio-Manguinhos (Laean), descrevendo suas características e procedimentos operacionais relativos a biossegurança.

O objetivo deste trabalho é expor, de modo ordenado e sistemático os procedimentos de biossegurança para o acesso e saída de técnicos, de materiais e animais; de esterilização e descontaminação de produtos, insumos e descartes; de desinfecção de materiais e ambientes e, aqueles relativos ao manuseio de animais envolvidos com risco biológico.

ABSTRACT

Animal housing is an extension of the research laboratories. In an immunobiological production unit, they are part of the quality control and the development of new products. Adequate facilities and standardized operational procedures are legal and recommended requirements for the reliability of results.

Specifically speaking about the Institute of Technology on Immunobiologicals of Fiocruz (Bio-Manguinhos) Good Manufacturing Practices (GMP) and Good Laboratory Practices (GLP) must become part of the activities in order to meet governmental agencies regulations.

Activities with laboratory animals are special due to their peculiarities that are found in animal housings only, as for example, animals inherent risks to include those which professionals are exposed: physical like bites, scratches or any other defense actions; biological pertaining to biota, zoonotic or experimental and allergen production; chemical like cleaning products and those related to experimental works.

In this dissertation, a comparison is made between the current and future facilities of the Laboratory of Animal Experimentation in Bio-Manguinhos (Laean). It describes the characteristics and operational procedures related to biosafety.

The objective of this work is to expose order and systematically biosafety procedures for entrance and exit of personnel, materials and animals, sterilization and decontamination of products, input and disposal, disinfection of materials and environments, and those related to handling of animals involved in biological risks.

LISTA DE ABREVIATURAS

AnGM – Animal Geneticamente Modificado
Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Bio-Manguinhos – Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos
BPB – Boas Práticas em Biotérios
BPF – Boas Práticas de Fabricação
BPL – Boas Práticas de Laboratório
CCB – Cabine de Contenção Biológica
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
Cobio – Setor de Controle Biológico
CQ – Controle de Qualidade
CQB – Certificado de Qualidade em Biossegurança
CTNBio- Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
CTV – Centro Tecnológico de Vacinas
FDA – Food and Drug Administration
Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz
GQ – Garantia da Qualidade
HEPA – High Efficiency Particulate Air
Ibama – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IN – Instrução Normativa
Inmetro - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
Laean – Laboratório de Experimentação Animal
NB-1 – Nível de Biossegurança 1
NB-2 - Nível de Biossegurança 2
NB-3 - Nível de Biossegurança 3
NB-A2 – Nível de Biossegurança Animal 2
NB-A3 – Nível de Biossegurança Animal 3
OECD - Organization for Economic Co-operation and Development
OGM – Organismo Geneticamente Modificado
POP – Procedimento Operacional Padrão
SPF – Specific Pathogen Free

UGQ – Unidade de Garantia da Qualidade

UO – Unidade Organizacional

LISTA DE FIGURAS

Figura 5.1 – Esquema de sistema para troca de filtros com segurança “bag in – bag out”	36
---	----

LISTA DE FOTOS

Foto 5.1 – Ralo tamponado com tampa cega em aço inoxidável, que visa eliminar o acesso de insetos e roedores por essa via à sala de animais	29
Foto 5.2 – Vista geral do piso técnico e sistema de condicionamento de ar	30
Foto 5.3 a – Estantes abertas para animais antes da inoculação e cabine de Contenção biológica	31
Foto 5.3 b – Estantes ventiladas para manutenção de animais inoculados.....	31
Foto 5.4 – Condicionadores de ar da área de biossegurança animal 3 (NB-A3)..	38
Foto 5.5 – Luminária e grelha de insuflamento de ar na sala de biossegurança animais 2 (NB-A2)	38

1. INTRODUÇÃO

O projeto das novas instalações do biotério de experimentação animal de Bio-Manguinhos, ainda em construção, foi idealizado para atender às atividades: 1) de controle de qualidade, 2) de desenvolvimento tecnológico de vacinas e 3) da produção de soro animal hiperimune.

Nessas atividades, os animais utilizados são camundongos (*Mus musculus*), cobaias (*Cavia porcellus*) e coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). Os projetos de arquitetura e de engenharia dessas instalações foram desenvolvidos de modo a permitir o alojamento de outras espécies de animais de laboratório – desta forma, a estrutura do laboratório não será comprometida nos procedimentos zootécnicos, operacionais, fluxos ou normas de biossegurança. A construção atende aos requisitos para o alojamento de animais livres de germes patogênicos específicos (*specific pathogen free* – SPF), possuindo as barreiras sanitárias compatíveis a esse padrão sanitário. Outro fato relevante no projeto são as condições de biossegurança, que consta de duas áreas distintas para experimentação animal, sendo uma de nível de biossegurança animal 2 (NB-A2) e outra de nível de biossegurança animal 3 (NB-A3). As áreas de apoio operacional e de suporte técnico foram dimensionadas e localizadas de maneira a atender as necessidades das áreas de experimentação animal e não permitir o cruzamento de fluxos.

1.1. Animais de laboratório

Os animais de laboratório são imprescindíveis para o desenvolvimento das ciências biológicas e ciências da saúde, sendo de grande relevância para a saúde humana e animal.

A pesquisa científica e as atividades relacionadas ao desenvolvimento tecnológico e controle de qualidade de imunobiológicos requerem animais de laboratório para prosseguir realizando avanços na compreensão da vida, na prevenção e no tratamento de doenças. Para a continuidade do progresso dessas áreas, beneficiando a saúde humana e animal, é fundamental a experimentação animal, uma vez que ainda não há disponíveis, sistemas alternativos que permitam a substituição completa dos animais.

A pesquisa básica e aplicada com animais fornece meios inestimáveis no estudo comparativo, visto que há muitas similaridades entre a fisiologia e a genética dos animais e dos seres humanos. Embora os seus organismos e os do homem não sejam exatamente os mesmos, as diferenças – em muitos casos – são suficientemente pequenas de modo que os animais de laboratório podem servir como modelos relevantes para o homem ou para outras

espécies. A pesquisa animal, conduzida com ética e responsabilidade, oferece sempre expectativas para o desenvolvimento de novos métodos de prevenção, tratamento, cura e controle de doenças, do sofrimento e da dor (ACLAM 2004).

A disponibilidade de animais de laboratório por si só não traduz a importância que representam nos resultados dos experimentos em que estão envolvidos. É preciso observar sobretudo que determinadas características são fundamentais para que os animais desempenhem de forma satisfatória seu papel. Podemos compará-los a equipamentos laboratoriais que, para cumprir adequadamente sua função, exigem manutenção competente e rotineira, calibração dos instrumentos que os integram, validação de ciclos de trabalho e, finalmente, a certificação.

Logo, os animais produzidos com a finalidade de serem utilizados em pesquisa devem possuir características genéticas e sanitárias (que determinem um padrão de qualidade), sempre avaliadas rotineiramente, visando à certificação das colônias de criação animal. É necessário, portanto, constante supervisão para aplicação correta das técnicas de manejo zootécnico, garantindo a condição sanitária e genética, monitoramento das condições ambientais recomendadas à cada espécie animal, enfim, propiciando bem-estar de forma a não interferir no equilíbrio fisiológico, biológico e comportamental. Além disso, o emprego de práticas e procedimentos de biossegurança, destinados a evitar a contaminação dos animais, pessoas, ambientes interno e meio ambiente também devem ser considerados.

1.1.2. Caracterização genética dos animais

Algumas pesquisas exigem animais com características conhecidas, que são encontradas de forma consistente entre linhagens de mesma origem: criações chamadas de “outbred”, caracterizadas como linhagens geneticamente heterozigotas para muitos dos pares de alelos e criadas em sistemas de cruzamento randômico e as denominadas “inbred”, mantidas por sistema de acasalamento entre irmãos por mais de 20 gerações e homozigotas para quase todos os pares de genes alelos (Jonas 1976, Festing 1993).

O principal objetivo na manutenção de animais “outbred”, também conhecidos como animais heterogênicos ou exocriados, é assegurar que a colônia permaneça constante em todas as suas características genéticas em maior número de gerações possível. O manejo reprodutivo, requerido para produzir variações genéticas uniformes em uma população animal, deve adotar um plano de acasalamento formal e reprodutível, eliminando uma fonte de erro devido à incerteza do grau de variabilidade genética que possa estar presente nessa população. Para que uma colônia permaneça constante em suas características, esta deve ser

fechada, isto é, não deve receber reprodutores externos a essa colônia, sem seleção para novas características e que tenha menos de 1% de índice de homozigose (“inbreeding”) por geração (Poiley 1970, Santos 2002).

Já as linhagens “inbred”, isogênicas, consangüíneas ou endocriadas são aquelas obtidas por 20 ou mais gerações de acasalamentos entre irmãos. Este último é o sistema mais utilizado, contudo o acasalamento entre pais e filhos pode ser empregado em situações especiais em que não se disponha de um casal de irmãos. Essas linhagens são originárias de um único casal e os subseqüentes acasalamentos, entre irmãos, aumentam o índice de homozigose a cada geração (Festing 1993, COBEA 1996). Uma linhagem isogênica deve ter o índice de homozigose entre pares de genes alelos de pelo menos 98,6%, que é o mínimo requerido para ser considerada uma linhagem consangüínea (Afife & Rosenkranz 1990).

De grande importância são as características genéticas no que se refere à seleção e ao manejo dos animais para uso em colônias de reprodução e em pesquisa biomédica. A variabilidade genética pode ser monitorada por meio de simulações computadorizadas, marcadores bioquímicos, de DNA, imunológicos ou análises genéticas quantitativas de variáveis fisiológicas (NRC 2003).

Muitos fatores genéticos foram identificados como responsáveis por alterações na resposta do animal às condições variadas de experimentos e do ambiente (Lang 1975, Wyss-Spillmann & Homberger 1995).

Passos (2003) acrescenta:

“Entretanto, se por um lado as linhagens de camundongo, quando padronizadas, atuam como ferramentas, capazes de simular as complexas interações entre órgãos e sistemas, possibilitando a compreensão in vivo dos eventos relacionadas ao desenvolvimento da doença, experimentos realizados em animais contaminados são profundamente alterados, comprometendo a exatidão dos resultados, dificultando sua interpretação e tornando o animal inadequado como modelo experimental”.

1.1.3. Qualidade sanitária

De uma forma figurada, o avanço do controle de doenças, em animais de laboratório, pode ser traduzido da seguinte forma: no início do século passado, o pesquisador dizia: “não posso realizar meu experimento, porque todos os meus ratos estão mortos”; na metade do mesmo século dizia “não posso realizar meu experimento, porque todos os meus ratos estão doentes”. Atualmente, o pesquisador diz “não posso realizar meu experimento, porque meus ratos são soropositivo” (Baker 1998).

A história do combate contra patógenos de roedores de laboratório pode ser dividida, nos últimos 100 anos, em três períodos.

O primeiro, de 1880 a 1960, foi conhecido como período de domesticação, representando o início da utilização de roedores em pesquisa. Neste período, pouca importância era dada ao controle de doenças, pois, na verdade, pouco se sabia sobre a ocorrência natural de doenças em roedores que podiam afetar o resultado dos estudos. A mortalidade significativa de roedores de laboratório “antes” e “durante” o processo de experimentação por doenças, ocorridas naturalmente, era aceita como parte do processo experimental. No entanto, nesse período, muitas melhorias foram desenvolvidas e implementadas em instalações para animais, nas áreas de sanitização, nutrição, controle ambiental e outros aspectos da criação animal (Baker 1998). O resultado foi a grande redução na variação e prevalência de patógenos encontrados em animais de laboratório.

O segundo período, de 1960 a 1985, denominado período da rederivação¹ de animais gnotobióticos, estabeleceu o uso da técnica de cesárea asséptica como um meio de repor estoques de animais infectados com filhotes não-infectados. Este processo teve muito sucesso na eliminação de patógenos que não atravessam a placenta e, portanto não havendo a transmissão vertical (Baker 1998).

O terceiro período, de 1985 a 1996, descrito como de erradicação de viroses murinas, marcou a redução da incidência de patógenos nos animais (Baker 1998): a utilização de testes sorológicos de anticorpos específicos e, subsequentemente, a eliminação dos animais contaminados (ou a rederivação por cesárea de colônias soropositivas) contribuiu para o avanço nos métodos de criação animal (Baker 1998).

(1) A rederivação é o processo usado para se obter uma linhagem de camundongos livres de germes patogênicos específicos que tenha um problema de infecção ou um desconhecido padrão de saúde (IVIS 2003). Essa técnica é utilizada para outras espécies animal (nota do autor).

Atualmente, há uma tendência de se utilizar animais de laboratório de acordo com o padrão sanitário:

(i) animais “convencionais”, criados em biotérios, que não possuem barreiras sanitárias adequadas para impedir introdução de microrganismos, possuindo, portanto, uma microbiota desconhecida. São usualmente criados em sistemas de gaiolas abertas e em condições de livre acesso a sala de animais, estando, por isso, sempre sujeitos a novas infecções (NCR 1976, COBEA 1996, Górska 2000, IVIS 2003);

(ii) animais “livres de microrganismos patogênicos específicos” (*specific pathogen free* - SPF) são isentos de organismos patogênicos definidos que causam doenças clínicas ou subclínicas ou, ainda, potencialmente patogênicos a uma determinada espécie animal. Esse padrão de saúde dependerá de uma lista individual de exclusão de microrganismo (Górska 2000, IVIS 2003). Os animais SPF são mantidos em biotérios que possuem eficientes barreiras sanitárias ou são alojados em equipamentos que lhes garantam seu padrão microbiológico. Sua microbiota é controlada, de forma que alberguem somente agentes não-patogênicos à espécie (COBEA 1996). A microbiota é desconhecida, porém os microrganismos patogênicos que são indesejáveis não devem ser detectados nos exames realizados (Górska 2000);

(iii) animais “axênicos”, são derivados por histerectomia, criados e mantidos em isoladores com técnicas para animais livres de microrganismos e livres de todas as formas associadas de vida (NRC 1976, COBEA 1996, Górska 2000, IVIS 2003);

(iv) animais “gnotobióticos”, criados e mantidos como os animais axênicos, porém apresentam alguma forma de vida adicional. Essas podem ser poucas em números e não-patogênicas (NRC 1976, IVIS 2003);

(v) animais com “microbiota definida associada”, também conhecidos como “flora definida” são animais axênicos os quais foram intencionalmente associados com um ou mais microrganismos (NRC 1976, IVIS 2003). Górska (2000) classifica os animais flora definida em função do número de microrganismos associados à biota do animal em monobióticos, dibióticos e polibióticos;

(vi) animais “mantido em barreiras” são animais originalmente flora definida que foram removidos dos isoladores e alojados em biotério com barreiras sanitárias. Assim, os animais são repetidamente testados para monitorar a presença desses microrganismos deliberadamente inoculados e a presença de organismos acidentalmente adquiridos (NRC 1976, IVIS 2003); e

(vii) animais “monitorados” alojados em sistema de barreira de baixa segurança e que, por monitoramento periódico, revelam-se livres da maioria de patógenos. Outros não-patógenos associados são desconhecidos (NRC 1976).

Atualmente, os critérios na pesquisa científica exigem animais com padrão sanitário conhecido o que tem contribuído para que instituições nacionais invistam na melhoria de seus biotérios. A padronização microbiológica tem diminuído o número de animais usados pela redução das variações dentro e entre os grupos de testes, contribuindo, portanto, para o bem-estar e a saúde dos animais de laboratório, reduzindo os riscos para a saúde humana devido a zoonoses (FELASA 1999).

Ora, a qualidade microbiológica implica segurança adicional, visto o alto risco de introduzir uma infecção em colônias de roedores no recebimento de animais. Essa prática é rotineira nos biotérios de experimentação animal. A todo instante, animais são introduzidos nessas instalações, colocando-se a população animal residente em risco, que são cumulativos. O recebimento inadvertido de um único animal infectado pode causar uma doença epidêmica acarretando perda de tempo e de dados de pesquisa, já que a eliminação da contaminação de um patógeno no biotério pode levar anos. A introdução de novos animais é imprescindível na realização de determinados projetos ou pesquisas, fazendo-se necessário minimizar os riscos por meio de exames do padrão de saúde para todos os novos animais (IVIS 2003).

Segundo alguns autores, a ocorrência de enfermidades nos animais residentes pode ser evitada por precauções que devem ser tomadas na origem dos animais (CCAC 1993, FELASA 1996, IVIS 2003, NRC 2003). Assim, a qualidade começa com a definição do padrão microbiológico e parasitário do animal. O ideal é que os biotérios de criação possuam, em suas instalações, barreiras sanitárias e programas de vigilância de saúde que certifiquem que suas colônias são livres de patógenos específicos e quais microrganismos são monitorados (Jonas 1976, IVIS 2003). A garantia da qualidade e os programas de vigilância, utilizados atualmente em colônias de roedores, são vitais para prevenção de doenças clínicas, como também de agentes adventícios que possam interferir com a pesquisa (IVIS 2003). Rehg e Toth (1998), por exemplo, enfatizam que, em estudos com animais, a validade e a reprodutibilidade dos ensaios são influenciadas pelo estado microbiológico destes, é, então, fundamental assegurar a qualidade para que os resultados não sejam prejudicados devido à interferência causada por doença infecciosa.

A decisão sobre que agentes monitorar é específico para cada instituição. A tolerância do risco, o uso de animais importados, o tempo de alojamento nas instalações e as considerações financeiras constituem fatores a serem considerados (IVIS 2003). Nicklas (1999) destaca ainda que, no monitoramento sanitário dos animais, deve-se definir quais os microrganismos, qual o tamanho da amostra, sua frequência e idade dos animais. Yoshimura *et al.* (1997) afirmam também que o controle microbiológico dos animais de laboratório contribui para assegurar a confiabilidade e reprodutibilidade de resultados experimentais.

Na interpretação do padrão microbiológico dos animais de laboratório, infecção não é sinônimo de doença. A infecção simplesmente indica a presença do microrganismo, que pode ser patogênico, oportunista ou comensal, sendo os dois últimos mais numerosos. Poucos microrganismos, encontrados hoje em animais de laboratório, determinam manifestações clínicas. É esperado que o pesquisador entenda que as doenças provocadas por microrganismos nem sempre expressam manifestações clínicas e – mesmo assim – podem interferir nos resultados do experimento. Portanto, animais considerados saudáveis podem ser inadequados para pesquisas devido a falhas de avaliação dos sinais clínicos locais, sistêmicos ou comportamentais, causados pela presença de vírus, bactérias e parasitos que possam estar infectando ou parasitando o animal (Baker 1998). Muitas infecções em roedores são subclínicas e modificações nos resultados de pesquisas ocorrem por infecções naturais com ausência de manifestações clínicas (FELASA 1996).

1.1.4. A quarentena e sua importância no padrão microbiológico

Como se afirmou, é de fundamental importância, na segurança do padrão microbiológico dos animais e do ambiente do biotério, a origem dos animais, porém nem sempre a certificação sanitária apresentada pelo fornecedor é suficiente para se ter segurança plena. A quarentena cumpre um papel de relevância em situações em que o padrão microbiológico de novos animais pode acarretar danos à saúde dos outros residentes, e dos indivíduos envolvidos no ambiente do biotério (Rehg & Toht 1998).

A quarentena configura, pois, a manutenção de animais recém-adquiridos em instalações isoladas até que se determine o estado de saúde e, possivelmente, o perfil microbiológico destes (CCAC 1993, Technical Bulletin 1971, NRC 2003). Tem também, como propósitos, a segregação do animal com suspeita ou reconhecida infecção e a separação de espécies incompatíveis (Technical Bulletin 1971).

O tempo de quarentena e a estratégia de exames dependem da origem da colônia, do sistema de barreiras de segurança, dos exames de vigilância e da destinação dos animais nas novas instalações (IVIS 2003). O tempo deve considerar a espécie animal, o estoque ou linhagem, o fornecedor, o modo de transporte e as observações realizadas durante a quarentena (Hessler & Moreland 1984).

A aplicação de uma quarentena eficiente reduz, por conseguinte, a chance de introdução de patógenos em uma colônia estável (NRC 2003). As informações obtidas do vendedor ou fornecedor sobre a qualidade dos animais são importantes para evitar riscos para os técnicos e, eventualmente, determinar o tratamento dos animais (WHO 2001, NRC 2003).

Para roedores de laboratório, com certificação sanitária, a quarentena pode ter seu tempo bem limitado, obedecendo-se a uma criteriosa inspeção. O conhecimento institucional da qualidade animal e a prática para o fornecimento podem reduzir, ao mínimo necessário, este período (Technical Bulletin 1971). Nesse sentido, a quarentena pode ser dispensada para os roedores, se os exames sobre o estado de saúde dos animais adquiridos forem atuais e completos e se a exposição potencial a patógenos durante o transporte foi considerada (IVIS 2003, NRC 2003). Essa premissa se baseia em que roedores são usualmente criados para fins laboratoriais e são, portanto, advindos de criações com conhecidos padrões de saúde, nutricional e genético (CCAC 1993).

Logo, independente do tempo da quarentena, os animais recém-adquiridos devem passar por um período de adaptação fisiológica, psicológica e nutricional antes de serem utilizados. A adaptação dependerá do tipo e do tempo de transporte dos animais, da espécie envolvida e de seu uso pretendido (Small 1984, WHO 2001, CPCSEA 2003, NRC 2003). Recomenda-se, também, a separação física dos animais por espécie para evitar a transmissão interespecífica de doenças e eliminar o estresse, bem como possíveis alterações fisiológicas e comportamentais ocasionadas por conflitos entre as espécies (NRC 2003).

Um fator importante a considerar, na segurança microbiológica dos animais, técnicos e ambientes em biotérios diz respeito a materiais biológicos, particularmente quando de origem externa, que devem ser monitorados para prevenir a introdução de agentes transmissíveis que podem influenciar a saúde humana por agentes zoonóticos, de outros animais ou resultados da própria experimentação animal (Small 1984, FELASA 1996).

As infecções latentes são mais comuns em animais capturados no campo ou em animais vindo de populações não selecionadas (Richmond 2000). As gaiolas de transporte

nunca devem entrar nas instalações. As de material descartável serão incineradas e as reutilizáveis, limpas, desinfetadas ou esterilizadas antes de novo uso (CCAC 1993).

Importante ressaltar que o risco de introdução de organismos indesejáveis (vírus, bactérias, fungos, parasitos) é maior em biotérios de experimentação do que em colônias de criação. Em geral, unidades de experimentação contêm uma variedade de espécies ou linhagens originárias de diferentes biotérios de criação, utilizam materiais que não podem ser esterilizados e permitem maior acesso de indivíduos aumentando, assim, o risco da introdução de infecções e contaminações. Portanto, a adoção de barreiras sanitárias adequadas, para os diversos tipos de acessos, deve ser enfatizada, a fim de minimizar os riscos de contaminação (FELASA 1996).

1.2. Instalações e suas influências na experimentação animal

“Os animais devem ser alojados em instalações construídas ou destinadas para esse fim e não simplesmente ser acomodados em laboratórios” (NRC 2003).

As espécies devem ser criadas ou mantidas em instalações apropriadas e sob condições que permitam a padronização (Clough 1982, Cardoso 2000). As situações criadas com a carência de informações levam muitas vezes à improvisação e a soluções não adequadas. Essa assertiva é reafirmada em vários textos técnicos que, em síntese, visam garantir ou minimizar a perda do padrão de qualidade, proporcionar o bem-estar e condições ambientais adequadas aos animais. Majerowicz (2000a) considera que a condição sanitária dos animais é determinada não somente pela origem dos animais, mas também pelo meio ambiente em que estão vivendo. Assim, as respostas biológicas, comportamentais e fisiológicas são afetadas pelo ambiente.

Biotérios constituem, pois, instalações onde se pode produzir e manter espécies animais destinadas a servir como elementos biológicos, para atender às necessidades dos programas de pesquisa, ensino, produção e controle de qualidade nas áreas biomédicas, ciências humanas e tecnológicas segundo a finalidade da instituição (Cardoso 2001). Sendo assim, os biotérios devem ser projetados a atender as recomendações para a criação ou manutenção de animais e para minimizar os efeitos do meio ambiente nas variáveis do animal (WHO 2001, CPCSEA 2003).

Para que os animais sejam bem cuidados e adequadamente alojados, é necessário, portanto, dispor de instalações bem planejadas, bem construídas e que disponham de manutenção zootécnica apropriada. A edificação é um elemento importante para o funcionamento eficiente, econômico e seguro, essencial ao bem-estar dos animais, à qualidade dos dados de pesquisa e para os programas de ensino, desenvolvimento tecnológico e controle de qualidade em que se utilizam o trinômio animais, saúde e segurança dos indivíduos envolvidos (Richmond 2000, IVIS 2003, NRC 2003).

1.3. Macro e microambiente

“... um animal que foi criado e mantido em condições adversas e manuseado de forma inadequada pode atuar como viés à pesquisa, que, na maioria das vezes, é imperceptível aos olhos do técnico ou pesquisador; não por erro metodológico, mas por falta de treinamento para reconhecer as condições de mal-estar, angústia, estresse e sofrimento do animal” (Lessa 2003).

Os fatores ambientais podem ter um efeito significativo na saúde e no bem-estar dos animais, como também no resultado experimental. As reações biológicas dos animais de laboratório estão correlacionadas às condições sanitárias, genéticas e aos fatores relacionados ao meio ambiente. A temperatura, a umidade, a taxa de troca do ar, o nível da iluminação e os níveis de ruído são alguns dos fatores que podem afetar a saúde, o comportamento e o bem-estar dos animais, influenciando nos resultados de pesquisa ou ensaios experimentais. Para evitar grandes alterações metabólicas e influências no comportamento dos animais, as condições ambientais devem ser mantidas nos padrões recomendados a cada espécie animal (Jonas 1976, Besch 1980, Clough 1982, Cardoso 2001, NIH 2002, Braggio et al. 2003, CPCSEA 2003, NRC 2003).

O controle dos parâmetros ambientais, onde os animais estão alojados, é muito importante para evitar mudanças no padrão fisiológico, bioquímico e comportamental destes. Os requerimentos dos animais são indubitavelmente muito complexos. O controle do meio ambiente deve ser suficiente para prevenir variações devido às condições climáticas externas (NRC 1976). Um bom programa de gerenciamento deve incluir instalação, ambiente e cuidados que permitam ao animal crescer, desenvolver, reproduzir, manter boa saúde, ter bem-estar e minimizar as variações que podem afetar resultados de pesquisa (NIH 2002).

O microambiente diz respeito ao espaço físico imediatamente próximo ao animal, ou seja, a gaiola, com parâmetros próprios para temperatura, umidade relativa, composição de gases e partículas do ar. O macroambiente, por sua vez, refere-se ao ambiente físico secundário – como por exemplo, a sala, o estábulo ou hábitat externo. Embora ambos estejam relacionados, o ambiente na gaiola pode ser bem diferente do secundário e sofre influência pelo desenho dos dois ambientes (NRC 2003). Em muitas situações, mensurar as características do microambiente pode ser difícil em gaiolas de pequenas dimensões, porém (e segundo dados disponíveis) pode-se afirmar que a temperatura, a umidade e as concentrações de gases e de material particulado são mais altas no microambiente do que no macroambiente (Besch 1980, Majerowicz 2000a, NRC 2003).

Portanto, os fatores físicos ambientais que mais influenciam as respostas biológicas dos animais são a temperatura, a umidade relativa, a ventilação, a intensidade de luz, o fotoperíodo, os ruídos, os gases e as substâncias particuladas (Lang & Vesell 1975, Besch 1980, CPCSEA 2003).

Mudança na temperatura ambiental resultará em alterações compensatórias que afetaram o padrão metabólico, circulação periférica, atividade e comportamento (Clough 1982, Majerowicz 2000a). No caso de animais alojados em espaços confinados, as variações diárias de temperatura devem ser mínimas de modo a evitar, pelo menos, grandes e contínuas alterações dos processos metabólicos e comportamentais, empregados para compensar as mudanças de temperatura do ambiente. Geralmente, a exposição de animais não adaptados à temperatura, elevada ou baixa, sem acesso a abrigos ou a outros mecanismos de proteção, pode induzir a enfermidades que oferecem risco à vida. Há de se ressaltar, também, que os animais podem se adaptar a extremos por meio de mecanismos comportamentais, fisiológicos e morfológicos, mas tal adaptação requer tempo e pode alterar os resultados do protocolo, ou, de outro modo, afetar o desempenho e a saúde destes animais (NRC 2003). Os animais de laboratório, em sua maioria homeotérmicos, mantêm a temperatura corporal constante. O calor do corpo é perdido por três principais processos físicos: radiação, convecção por condução e evaporação (Clough 1982).

O controle da umidade relativa do ar também é necessário, ainda que não de modo tão rigoroso e preciso quanto a temperatura (Clough 1982, NRC 2003). O excesso de calor, na maioria das espécies animais, é compensado pelo aumento do ritmo respiratório. Contudo, se o ar inspirado possuir alto índice de umidade, afetará a capacidade do animal no ajuste da

temperatura corporal. Flutuações e extremos na umidade relativa podem, por conseguinte, propiciar o aparecimento de doenças, principalmente respiratórias, bem como alterações no consumo de ração e água (Clough 1982). A umidade relativa é, então, a maior responsável pela rapidez de evaporação e dispersão de gotículas que, em suspensão, influenciam na sobrevivência de microrganismos (Majerowicz 2000a).

Cumpra ainda observar que os animais homeotérmicos mantêm um contínuo processo fisiológico envolvendo os líquidos corpóreos, nutrientes e oxigênio. Esses animais estão constantemente perdendo calor, umidade, dióxido de carbono, entre outros produtos metabólicos, que irão se acumular no ambiente, se a sala não possuir ventilação adequada. O acúmulo de amônia, por exemplo, que é derivada da ação de bactérias urease positivas, sobre as excretas, pode afetar o sistema respiratório dos animais propiciando infecções secundárias (Majerowicz 2000a). O número de trocas de ar do recinto influencia, pois, na concentração de gases, na temperatura e na umidade relativa do ambiente. Entretanto, ainda não foi estabelecido o número de trocas de ar ideal para as espécies de roedores de laboratório (NRC 2003).

Já a luz pode afetar a fisiologia, o metabolismo e o comportamento de várias espécies animais. Fatores luminosos potencialmente estressantes incluem ciclos de luz (fotoperíodo), intensidade luminosa e qualidade espectral da luz. O fotoperíodo é um regulador crítico do comportamento reprodutivo em muitas espécies de animais e pode alterar a ingestão de alimentos (NRC 2003). A regularidade do fotoperíodo também é relevante para a manutenção da normalidade comportamental dos animais, como a sincronização do ciclo circadiano, ciclos reprodutivos e efetividade de drogas (Majerowicz 2000a).

A intensidade e a frequência do som, por sua vez, são dois aspectos que também podem afetar os animais, (Clough 1982). Assim, a exposição a sons acima de 85 dB pode causar tanto efeitos auditivos quanto sistêmicos, como: eosinopenia, aumento de peso das supra-renais, fertilidade reduzida em roedores e aumento de pressão arterial em primatas não-humanos (NRC 2003). Jain e Baldwin (2003) demonstram que fontes comuns de sons e de atividades relacionadas a biotérios impedem a normalidade fisiológica e comportamental dos animais. Animais de laboratório são comumente expostos a ruídos ultra-sônicos (acima de 20 kHz). Ratos e camundongos são sensíveis a frequência acima de 80 kHz e, como exemplo de sons que emitem essa faixa de frequência, estão telefones, rangidos de portas/cadeiras, gotejamento de torneiras e, particularmente, equipamentos de limpeza. Esses sons podem

constituir fator de estresse e induzirem a efeitos adversos, similares aos atribuídos aos sons audíveis (Sales et al. 1998).

De grande importância para um ambiente saudável aos animais são também os insumos rotineiramente utilizados na alimentação, manutenção, conforto e higienização de materiais e ambientes. A aquisição, transporte, armazenamento e manipulação de alimentos deve ser criteriosa para evitar a introdução de doenças, parasitas, vetores potenciais de doenças e resíduos químicos nas instalações (NRC 2003). Logo: a) a presença de contaminantes nos alimentos pode causar efeitos perigosos em processos bioquímicos e fisiológicos, ainda que as concentrações dos agentes de contaminação sejam muito baixas para provocar sintomas de intoxicação (NRC 2003); b) a escolha do método de tratamento da água de bebida pode causar alterações fisiológicas, mudanças na microflora ou efeitos nos resultados experimentais e c) o material utilizado para as camas dos animais configura fator que pode influenciar os dados experimentais e o bem-estar animal (como a maravalha de cedro que desprende hidrocarbonetos aromáticos que têm sido relacionados com o aumento de incidência de câncer) (NRC 2003).

Além disso, produtos químicos – destinados a inibir os odores produzidos pelos animais – não devem ser utilizados nas instalações onde os animais estão alojados. Em lugar do uso desses produtos, devem-se adotar boas práticas de higiene ou o fornecimento de ventilação adequada. É preciso, ainda, considerar que tais produtos expõem os animais a compostos voláteis, alterando processos fisiológicos e metabólicos importantes (NRC 2003).

Um erro comum na pesquisa básica é assumir que os animais – utilizados em diferentes laboratórios ou sobre variadas condições ambientais no mesmo laboratório – são similares em suas respostas (Lang & Vesell 1976). O ideal é que se possa ter um ambiente constante em todos os parâmetros recomendados e, assim, poder reproduzir experimentos com animais sem variações ambientais que interfiram nos resultados, porém a possibilidade de controle total é pequena (Clough 1982).

1.4. Biossegurança

Princípio da precaução – “Quando uma atividade representa ameaças de danos ao meio ambiente ou à saúde humana, medidas de precaução devem ser tomadas, mesmo se algumas relações de causa e efeito não forem plenamente estabelecidas cientificamente” (Berg et al. 1975).

A biossegurança deve ser entendida como elemento de grande importância e integrar-se rotineiramente em qualquer atividade, principalmente nos laboratórios onde os riscos (sejam químicos, físicos ou biológicos) estejam presentes em maior grau. Teixeira e Valle (1996) definem, de forma abrangente, a biossegurança como o conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, visando à saúde do homem, dos animais, a preservação do meio ambiente e a qualidade dos resultados. Para Costa (1996), a biossegurança representa o conjunto de medidas técnicas, administrativas, educacionais, médicas e psicológicas, empregadas para prevenir acidentes em ambientes biotecnológicos.

Os manuais de biossegurança tradicionalmente enfatizam o uso de boas práticas de laboratório (BPL), a utilização apropriada dos equipamentos de proteção, instalações bem planejadas e construídas e ações administrativas visando minimizar riscos de infecção ou acidentes involuntários para trabalhadores do laboratório e impedir a contaminação do ambiente externo. A possibilidade de se empregarem materiais biológicos, químicos e radioativos como agentes de terrorismo resultaram, principalmente nos Estados Unidos, em revisão substancial de regulamentos existentes e na criação de novos regulamentos relacionados à segurança do laboratório (Richmond & Nesby-O'Dell 2002).

No Brasil, a legislação vigente trata exclusivamente da biossegurança com organismo geneticamente modificado (OGM), não regulamentando as atividades que envolvam outros riscos biológicos.

Assim, em 26 de maio de 1998, a presidência da Fundação Oswaldo Cruz percebendo essa lacuna, normatizou – pela Portaria da Presidência número 200/98-PR – o trabalho em contenção com agentes biológicos no *campi* da Fiocruz. Em seus objetivos postula que:

1. Todo trabalho em contenção com agentes biológicos, realizado na Fiocruz, deverá obedecer às normas estabelecidas pela Instrução Normativa (IN) nº 7, de 6 de junho de 1977, publicado no Diário Oficial da União de 9 de junho de 1977.

2. Define agente biológico como microrganismo (incluindo bactérias, fungos, vírus, clamídias, riquetsias, micoplasma); linhagens celulares; parasitos e organismos afins, geneticamente modificados ou não.

Desta forma, os laboratórios, áreas produtivas e demais setores, que manipulem riscos biológicos no *campi* da Fiocruz, estão obrigados a seguirem as diretrizes contidas na referida IN, da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) (Fiocruz 1998).

Por outro lado, os setores que manipulam OGMs ficam, também, obrigados por lei a requisitarem o Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) a CTNBio, conforme Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995 e Instrução Normativa nº 1, de 6 de setembro de 1996, além de atenderem rigorosamente às INs emanadas da CTNBio na sua área de atuação, sem o que estarão trabalhando à margem da Lei (CTNBio 1996, 1997, 1998a).

Bitencourt (2002) considera em sua tese que:

“... com os avanços da ciência e tecnologia surgem novos questionamentos principalmente nos conceitos de saúde e riscos, pois são conceitos que podem variar dentro dos processos culturais que certamente irão refletir nas atitudes e nos comportamentos dos profissionais que trabalham em ambientes de risco biológico ou em qualquer outro ambiente de riscos. É necessária uma interface entre os processo científico e técnico, e nunca separadamente do processo de conscientização dos riscos, pois é esta demanda que necessita cada vez mais da aplicação de medidas de biossegurança”.

De grande relevância é a conscientização de que a espinha dorsal da prática da biossegurança é a avaliação de risco. Apesar das ferramentas disponíveis para ajudar nesta avaliação, o componente mais importante é o julgamento profissional. Portanto, tais avaliações devem ser executadas pelos indivíduos com experiência e conhecimento das características específicas dos microrganismos que estão sendo considerados para o uso. É fundamental o domínio dos equipamentos laboratoriais, dos modelos animais e dos equipamentos de contenção que podem ser utilizados, bem como das instalações disponíveis (WHO 2003).

1.4.1. Biossegurança em biotérios

A biossegurança em biotérios assume uma dimensão diferenciada de outras atividades em função da presença do animal. Esse elemento diferenciador assume grande importância pelo risco biológico agravado, em virtude de circunstâncias especiais do trabalho ou das condições em que este se realiza. A flora microbiana e parasitária, a produção de alérgenos e a agressão animal são capazes de causar danos à saúde ou à vida de técnicos envolvidos nessa atividade. Os microrganismos e parasitas merecem cuidadosas normas de biossegurança devido às zoonoses. A produção constante de proteínas eliminadas pela urina, secreções e descamação da pele – que são encontradas em suspensão no ar ou depositadas nos materiais e equipamentos – torna os biotérios ambiente propício para o desenvolvimento de alergias. Fora isso, a agressão animal, presente no manejo, pode causar ferimentos e determinar infecções.

Os biotérios de experimentação assumem papel de maior importância tendo em vista os riscos potenciais e efetivos dos experimentos com agentes patogênicos de diferentes classes de risco.

Conseqüentemente os aspectos de biossegurança, relacionados às atividades com animais de laboratório são amplos, uma vez que podem estar envolvidos diferentes riscos, alguns comuns a todos os animais e, outros, únicos e diferentes em grau. Os riscos específicos ficam, portanto, na dependência das espécies animais envolvidas e da natureza da atividade de pesquisa (Cardoso 2000, Richmond 2000, Majerowicz 2003).

Quanto às medidas específicas de segurança para experimentação animal com agentes perigosos, deve ser dada especial atenção aos procedimentos sobre cuidados e alojamento de animais, armazenamento de agentes de risco e prevenção contra perigos causados por esses agentes, dosagem e administração de medicamentos, manuseio de tecidos e fluidos corporais, eliminação de excretas e carcaças e proteção pessoal. Exige-se o emprego de equipamento de segurança específico, bem como o seu manejo adequado, além de práticas seguras. Em suma, para uma segurança eficaz, é necessário pessoal treinado e que siga rigorosamente a aplicação das normas de proteção contra riscos (NRC 2003).

Claro é que os indivíduos que lidam com animais de laboratório, em locais de pesquisa com agentes infecciosos, apresentam um risco muito maior de exposição devido às mordidas, arranhões e aerossóis provocados por eles (Richmond 2000, Cardoso 2001). Os técnicos envolvidos diretamente na pesquisa, e os que estão presentes nas instalações, devem receber proteção de segurança, o que inclui instalações e equipamentos apropriados (NRC 2003).

Logo, um programa eficiente de saúde e de segurança do trabalho deve permitir que os riscos que dizem respeito ao uso experimental de animais sejam reduzidos a níveis aceitáveis. Possíveis riscos – como mordidas de animais, agentes químicos de limpeza, alérgenos e zoonoses conforme referenciado anteriormente – devem ser identificados e avaliados (NRC 2003). Portanto, cada laboratório deverá desenvolver ou adotar um manual de biossegurança ou de operações que identifique os riscos e que especifique as práticas e procedimentos para minimizar ou eliminar as exposições a estes perigos (Richmond 2000).

1.4.2. Legislação em biossegurança

As Instruções Normativas da CTNBio que normalizam as questões relativas a animais geneticamente modificados são as **IN nº 12** (*Normas para trabalho em contenção com animais geneticamente modificados*), **IN nº 13** (*Normas para importação de animais*

geneticamente modificados (ANGMs) para uso em trabalho em regime de contenção), **IN nº 15** (*Normas para contenção em regime de contenção com animais não geneticamente modificados onde organismos geneticamente modificados – OGMs são manipulados*). Indiretamente deve ser atendida a **IN nº 7**, visto sua citação e referência na **IN nº 15** (CTNBio 1997, CTNBio 1998a, b, c, Valle 1998, CTNBio 2002).

1.4.3. Recomendações de biossegurança em biotérios

No Manual de Biossegurança de Laboratório (WHO 2003), encontram-se diretrizes para a experimentação animal que sumarizam as recomendações de outros guias e recomendações nacionais e estrangeiras (Seamer & Wood 1981, CTBio 1998a, CTBio 1998b, CTBio 1998c, CDC & NIH 1993, Majerowicz 2000a, Richmond 2000, Neves & Guinski-Chaguri 2001, Majerowicz 2003).

1.4.3.1. Nível de biossegurança 1 – NB 1

Este é adequado para a manutenção da maioria dos estoques de animais após quarentena (exceto para primatas não-humanos, quando a autoridade nacional deve ser consultada) e para animais inoculados com agentes do grupo de risco 1.

São exigidas, assim, boas práticas de microbiologia. O diretor do biotério deve estabelecer políticas, procedimentos e protocolos para todos os procedimentos e acesso a essas instalações.

1.4.3.2. Nível de biossegurança 2 – NB 2

É apropriado para animais inoculados com agentes do grupo de risco 2.

As seguintes precauções de segurança são aplicadas:

1. Todas as exigências para o nível de biossegurança 1 devem ser atendidas.
2. O símbolo de advertência de risco biológico deve ser afixado em portas e em outros lugares apropriados. Identificando-se o (s) agente (s) infeccioso (s) em uso.
3. A edificação deve ser projetada para facilitar a limpeza e a manutenção.
4. As portas, com fechamento automático, devem abrir para o interior das salas.
5. A temperatura, ventilação e iluminação devem ser apropriadas.
6. Se há ventilação mecânica, o fluxo de ar deve ser para o interior do ambiente. O ar de exaustão é descarregado ao exterior e não pode ser re-circulado para qualquer parte do edifício.
7. O acesso deve ser limitado às pessoas autorizadas.

8. Nenhum animal deve ser admitido à exceção daqueles para o uso experimental.
9. Deve haver um programa de controle de artrópodes e de roedores.
10. A janela, se presente, deve ser segura, resistente à quebra e, se possível de ser aberta, ser provida de tela contra artrópodes.
11. Após o uso, superfícies de trabalho devem ser descontaminadas com desinfetantes eficazes.
12. Cabines de contenção biológica (Classes I ou II), com suprimento de ar e de exaustão por filtros HEPA ou gaiolas microisoladoras, são utilizadas para o trabalho que pode envolver a geração de aerossóis.
13. Uma autoclave estará disponível no local ou próximo.
14. O material de forração das gaiolas (cama) deve ser removido de maneira que minimize a geração de aerossóis e de poeira.
15. Todo lixo e material de forração das gaiolas (cama) devem ser descontaminados antes da eliminação.
16. O uso de instrumentos perfuro-cortantes será de uso restrito, sempre que possível. Os perfuro-cortantes devem sempre ser coletados em recipientes à prova de ruptura, providos de tampa e tratados como infecciosos.
17. O material para esterilização ou incineração será transportado com segurança em recipientes fechados.
18. As gaiolas de animais devem ser descontaminadas depois do uso.
19. As carcaças dos animais devem ser incineradas.
20. A roupa protetora (bem como o equipamento de proteção individual) deve ser utilizada nas instalações. Ambos são removidos, ao sair. Luvas apropriadas devem ser utilizadas.
21. Pias para lavagem das mãos devem estar disponíveis para que a equipe de funcionários lave suas mãos antes de sair do biotério.
22. Todos os ferimentos, por menos importante que sejam, devem ser relatados e registrados.
23. Comer, beber e aplicar cosmético deve ser proibido nas instalações.
24. Todo o pessoal deve receber treinamento apropriado.

1.4.3.3. Nível de biossegurança 3 – NB 3

É recomendado para animais inoculados com agentes do grupo de risco 3.

Todos os sistemas, práticas e procedimentos necessitam ser revistos e certificados anualmente. Assim, têm-se:

1. Todas as exigências para o nível de biossegurança 2 devem ser atendidas.
2. O acesso deve ser estritamente controlado.
3. As instalações devem ser separadas de outras áreas de laboratório e a área de animais, por um ambiente com as duas portas, formando uma ante-sala.
4. Pias e chuveiros devem ser instalados nessa ante-sala.
5. Deve haver ventilação mecânica para assegurar um direcionamento de ar através de todos os ambientes. O ar de exaustão deve passar através dos filtros HEPA antes de ser descarregado na atmosfera e sem recirculação. O sistema deve ser projetado para impedir o fluxo reverso acidental e a pressurização positiva em qualquer parte do biotério.
6. Uma autoclave deve estar disponível em uma posição conveniente no biotério, onde o risco biológico é contido. O descarte infeccioso deve ser esterilizado antes que seja removido para outras áreas da edificação.
7. Um incinerador deve estar disponível no local ou uma alternativa deve ser elaborada com as autoridades envolvidas.
8. Os animais infectados, com os microrganismos do grupo de risco 3, devem ser alojados em gaiolas microisoladoras ou em salas com pontos de exaustão colocados atrás das gaiolas.
9. O material utilizado para forração das gaiolas (cama) deve estar livre de poeira o quanto possível.
10. A roupa protetora deve ser usada nessas instalações. Tal roupa não deve ser usada fora do laboratório e deve ser descontaminada antes que seja lavada.
11. As janelas devem ser fechadas, seladas e resistentes à quebra.
12. A equipe de funcionários deve ser imunizada apropriadamente.

1.5. Boas práticas

“Fazer as coisas bem-feitas é um esforço conceitual, uma mudança de mentalidade e por último, de cultura; que exige vontade, concentração, meticulosidade, perseverança e fundamentalmente educação” (Ricard 1992).

O conceito formal de boas práticas de laboratório foi desenvolvido pela primeira vez nos Estados Unidos da América, nos anos 70, por causa da preocupação da validade de dados provenientes de ensaios pré-clínicos submetidos ao “Food and Drug Administration” (FDA) (McPherson 1984). Irregularidades na análise e inspeção não só de ensaios experimentais como também de instalações resultaram na indicação de inadequado planejamento,

incompetente execução de experimentos, documentação insuficiente, além de fraude. Como exemplo, verificaram-se a substituição de animais que morreram durante o experimento sem a devida documentação do ocorrido, uso de dados hematológicos de animais controles provenientes de outros grupos controles não associados ao experimento, rasura de observações de necropsia ou a correção de discrepâncias em dados e tabelas no relatório final.

Essas deficiências foram divulgadas publicamente no que ficou conhecido como Audiência de Kennedy no Congresso Americano. O resultado dessa política foi a subsequente publicação, em 1976, pelo FDA de uma proposta de regulamentação sobre BPL. Em 1977, esses princípios foram revisados e o regulamento tomou efeito legal em junho de 1978 (McPherson 1984, WHO 2001). A observação das BPL é assim defendida como pré-requisito para o aceite mútuo de dados (WHO 2001). Silva (2004) em sua tese cita que:

“A Organização para a Cooperação Econômica e o Desenvolvimento (Organization for Economic Cooperation and Development-OECD) publicou pela primeira vez em 1992, os princípios de BPL. A partir de então, a aplicação destes princípios e de diretrizes complementares da OECD passou a ser mutuamente reconhecida pelos países membros e aderentes, com a finalidade de se obterem dados laboratoriais sobre as propriedades de produtos químicos e/ou sobre sua segurança com relação à saúde humana e animal, assim como a proteção ambiental.”

No Brasil, as BPL (recomendadas pela legislação ambiental do IBAMA) aplicam-se, obrigatoriamente, aos laboratórios que trabalham nas áreas de toxicologia, ecotoxicologia e ecossistemas. As diretrizes e os princípios das BPL foram publicados pela primeira vez pelo Inmetro em 1995 (Silva 2004). Atualmente, são aplicados os critérios contidos na Norma Inmetro N° NIT-DICLA-028, baseados em documentos originais da OECD (Silva 2004).

Logo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define, pela resolução RDC n ° 210, de 4 de agosto de 2003, Boas Práticas de Fabricação (BPF) como a parte da Garantia da Qualidade (GQ) que assegura que os produtos são consistentemente produzidos e controlados, com padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e requerido pelo registro. O cumprimento das BPF está dirigido primeiramente à diminuição dos riscos inerentes a qualquer produção farmacêutica, os quais não podem ser detectados pela realização de ensaios nos produtos terminados. Os riscos são constituídos essencialmente: a) por contaminação-cruzada; b) por contaminação por partículas; e c) por troca ou mistura de produto (Anvisa 2003a).

O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro), por sua vez, define, em sua norma nº NIT-DICLA-028, de setembro de 2003 - “*Critérios para o credenciamento de laboratórios de ensaios segundo os princípios BPL - Boas Práticas de Laboratório*”, ou seja, reúne diretrizes para a concretização de um sistema da qualidade que abranja o processo organizacional e as condições em que estudos são planejados, gerenciados, desenvolvidos, monitorados, registrados, arquivados e relatados (Inmetro 2003).

BPL é definida, nos princípios da OECD, como:

“Um sistema da qualidade preocupado com o processo organizacional e sobre em que condições de saúde e ambiente os estudos de segurança são planejados, executados, monitorados, registrados, arquivados e relatados”.

A proposta desses princípios de BPL é, desta maneira, o de promover o desenvolvimento da qualidade dos dados de testes e prover um instrumento diretivo que assegure a saudável abordagem gerencial, incluindo conduta, informação e arquivamento dos estudos de laboratório (WHO 2001). BPL para instalações de animais visa a assegurar a manutenção da qualidade e a segurança dos animais usados no laboratório que conduz estudos biomédicos, comportamentais e ensaios para teste de produtos (CPCSEA 2003).

Segundo Nassani (2002), os conceitos básicos da GQ, BPF e do Controle de Qualidade (CQ) são inter-relacionados. O gerenciamento de sistema de BPL pressupõe a ligação a um sistema de qualidade reconhecido e aprovado, para que possa ser direcionado no gerenciamento de procedimentos comuns a todos o sistema da qualidade. O sistema de qualidade, organizado nessa via, pode também se integrar com outros sistemas da qualidade como parte desse, para se obter princípios e procedimentos para tópicos específicos (Invernizzi 2002).

BPL é hoje reconhecida como um padrão de qualidade, tanto que foi incorporada na declaração da OECD, desde 1997 (Dent 1998). Os princípios de BPL são muito flexíveis e uma interpretação precisa é requerida na aplicação da fase. Um sistema de BPL, como todo sistema da qualidade, é dinâmico (e não estático) com contínuas implementações, dependendo da evolução do estado da arte, que é essencial. Conseqüentemente, apresenta várias dificuldades, como os diferentes modos de aplicação dos princípios da BPL. O conhecimento, a experiência e a adoção por todos aos princípios das BPL – combinado com o conhecimento do problema – são mandatórios para selecionar correta e adequadamente os métodos a serem aplicados (Brunetti 2002).

O papel do laboratório no que diz respeito à adoção de sistema que assegure a consistência requerida ao produto reflete a necessidade de boas práticas de fabricação como parte da garantia da qualidade (Milstien 2002). Toda Unidade Organizacional (UO) deve ter Procedimentos Operacionais Padrão (POP) escritos, revisados, numerados e aprovados, como documento da qualidade, pela Unidade da Garantia da Qualidade (UGQ). Garante-se, assim, que as condições técnicas e de gerenciamento dos fatores que influenciam na qualidade dos ensaios que compõem um estudo sejam aderentes aos critérios da BPL (Inmetro 2003). Uma coleção de bons POPs é um pré-requisito para o sucesso de conformidade de BPL. A composição de um sistema de POPs é, muitas vezes, a mais importante ação e exige consumo de tempo para a conformidade desse trabalho (WHO 2001).

2. RELEVÂNCIA

À necessidade de operacionalização das futuras instalações do Laboratório de Experimentação Animal de Bio-Manguinhos, surge o desafio de incorporar os conceitos e preceitos recomendados para a experimentação animal. Nessas instalações, onde as questões relativas a biossegurança são específicas, a estrutura física possui características particulares e há diversidade de atividades, requerendo, portanto, considerações voltadas a atender essas características.

As condições de biossegurança em biotérios, que, em parte, são negligenciadas pelo desconhecimento, pela inexistência de legislação específica ou, ainda, pela falta de definições de procedimentos operacionais, serão abordadas no contexto desta dissertação e relacionadas a essa nova instalação no que concerne às questões operacionais relativas aos animais, técnicos e materiais, além daquelas pertinentes às atividades anteriormente mencionadas.

Como já se afirmou, as atividades em biotérios de experimentação envolvem riscos químicos, físicos e biológicos exigindo, portanto, novos requerimentos de biossegurança. No caso específico de Bio-Manguinhos, como instituição de produção de imunobiológicos, também devem ser incorporados obrigatoriamente a essas atividades, as Boas Práticas de Laboratório (BPL) e/ou Boas Práticas de Fabricação (BPF), atendendo à regulamentação das agências governamentais.

Os princípios das boas práticas, os conceitos da garantia da qualidade, as legislações, as recomendações de biossegurança e manejo de animais de laboratório representarão, portanto, uma etapa fundamental para o estabelecimento da qualidade, reprodutibilidade e confiabilidade nos experimentos realizados em Bio-Manguinhos.

A proposta de estabelecimento de Boas Práticas em Biotério (BPB) pretende contribuir, então, para a segurança individual e coletiva dos profissionais que exerçam atividades ligadas direta e indiretamente ao biotério e para a segurança dos ambientes internos e externos associados a essas instalações. Permitirá um melhor desempenho das atividades que demandam animais de laboratório, resultando no aprimoramento da manutenção zootécnica e na garantia do padrão sanitário do animal.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Padronizar práticas e procedimentos operacionais de biossegurança para o novo Laboratório de Experimentação Animal (Laean) de Bio-Manguinhos.

3.2. Objetivos específicos

Elaborar procedimentos operacionais e práticas relacionadas:

- I) Ao acesso às instalações.
- II) Aos fluxos de técnicos, animais, matérias e produtos em geral.
- III) À esterilização e desinfecção de materiais, insumos, equipamentos e ambientes.
- IV) À identificação de ambientes e manipulação de animais, envolvidos com risco biológico.

4. METODOLOGIA

A metodologia utilizada para alcançar os objetivos propostos é fundamentada em pesquisa documental das recomendações nacionais e internacionais e na legislação brasileira para biossegurança. A avaliação do projeto arquitetônico e a infra-estrutura de engenharia do projeto do novo Laean foram analisados quanto à concepção de fluxos e disposição de ambientes e utilidades prediais. Desta forma, adotamos como seqüência:

(I) Pesquisa documental das recomendações nacionais e internacionais e na legislação brasileira para biossegurança;

(II) Avaliação do projeto arquitetônico e a infra-estrutura de engenharia do projeto do novo Laean quanto à concepção de fluxos e de disposição de ambientes e utilidades prediais, identificando e analisando os fluxos de técnicos, animais, materiais, insumos e produtos específicos de atividades experimentais, de desenvolvimento tecnológico e de controle de qualidade;

(III) Identificação das recomendações e textos legais pertinentes aos processos de experimentação animal; e

(IV) Elaboração de procedimentos operacionais e práticas considerando as espécies animais envolvidas, as práticas experimentais e os riscos inerentes.

5. RESULTADOS

5.1. O atual laboratório de experimentação animal de Bio-Manguinhos

As instalações do biotério de experimentação animal de Bio-Manguinhos foram concebidas em 1981 para atender à demanda de controle de qualidade de imunobiológicos, quando os conceitos de bem-estar animal, ética, biossegurança, BPL e BPF ainda não estavam amplamente difundidos e incorporados ao cotidiano das atividades que envolvem a experimentação animal. O projeto original (Anexo 1) foi elaborado para alojar roedores (camundongos e cobaias), lagomorfo (coelho) e primatas não-humanos. Esse projeto não incorporou, de forma ampla, os conceitos de barreiras sanitárias, de fluxos, da segregação de áreas e de acesso ao biotério. Desta forma, verifica-se que há vários acessos às áreas internas, diretamente do exterior, expondo os animais, as pessoas e as atividades às condições do meio externo e às possíveis interferências climáticas e de contaminantes. No sentido oposto, não há proteção do ambiente externo aos riscos inerentes, ou especificamente envolvidos nas atividades de experimentação animal. Além disso, em determinadas áreas, há contra-fluxo de técnicos, materiais, insumos e animais. A única autoclave é alocada de forma a atender somente a descontaminação de materiais com risco biológico, não tendo sido previsto a esterilização de materiais e insumos destinados aos animais e às práticas experimentais.

Tendo sido projetado para atender espécies animais com características, necessidades, condições ambientais e de manejo zootécnico diferentes, verificou-se que essa instalação foi, de fato, separada em duas unidades de trabalho distintas: uma atendendo aos trabalhos com primatas não-humanos e outra, para roedores e lagomorfo.

Em 1996, com a reforma de modernização da área destinada às atividades relacionadas com primatas não humanos (Anexo 2), houve uma pequena, mas significativa redução da área do biotério de experimentação de roedores e lagomorfo. Os ambientes que eram utilizados como almoxarifado e para a guarda de ração e outros insumos, respectivamente, “sala de paramentação” e “ração” (Anexo 1), foram incorporados a esse novo projeto, visto serem áreas originalmente prevista a atender às atividades dessa parte da edificação. Como consequência, adaptou-se uma sala destinada a animais, na área de roedores e lagomorfo, para a guarda de insumos e materiais zootécnicos, identificada como “depósito” (Anexo 2).

(Nota: As palavras entre aspas referem-se a identificação das áreas conforme plantas baixas – Anexo 1 e 2)

A partir de então, algumas implementações de engenharia foram realizadas, de forma a minimizar as conseqüências das interferências decorrentes das modificações efetuadas nessas instalações e dos equívocos do projeto original (Anexo 3).

O objetivo dessas reformas foi o de eliminar o contato direto do interior do prédio com o ambiente externo, melhorando fluxos internos e condições de trabalho. Assim, duas portas externas com o “corredor de serviço” e “corredor de acesso” foram retiradas e seus vãos fechados com alvenaria. Criaram-se duas antecâmaras, uma para o acesso de técnicos – “acesso ao lab.” e outra, para acesso de materiais e animais vindos do exterior – “recepção de materiais”.

Uma sala foi redimensionada e dividida, de forma a possuir ambientes independentes e segregados para atender, respectivamente:

- a) a primeira, ao manuseio de gaiolas e dejetos provenientes das salas de animais e armazenamento e conservação de material biológico com risco – “limpeza de gaiolas” e
- b) a outra área, com acesso pela antecâmara de recepção de materiais, para o armazenamento de insumos e preparo de materiais zootécnicos destinados à experimentação – “depósito”.

Havendo apenas um vestiário, a área “depósito de caixas” (Anexo 1) foi adaptado para servir como segundo vestiário, de forma que os técnicos de ambos os sexos tivessem condições de higiene e asseio no próprio prédio, não necessitando, portanto, fazê-lo em outra edificações.

Foi transferido para o segundo andar do pavilhão Rockefeller o Setor de Controle Biológico (Cobio), que ocupava uma sala de animais para o desenvolvimento das atividades de controle de vacinas, diluentes e produtos intermediários, permitindo, portanto, a utilização desse ambiente para alojar uma das espécies animal de uso no Laean.

O sistema de efluentes também foi modificado, com a substituição dos ralos comuns por ralos sifonados, no corredor de serviço. O fechamento dos ralos das salas de animais foi feito por tamponamento com tampas cegas e fixas – ação que visou evitar o retorno de efluentes e o acesso de insetos e outros animais indesejáveis na área de experimentação por essa via (Foto 5.1).

O sistema de condicionamento de ar, ventilação e exaustão mecânica foi reformado e incorporou-se ao sistema filtros para retenção de partículas e insetos. A performance dos

(Nota: As palavras entre aspas referem-se a identificação das áreas conforme plantas baixas – Anexo 1 e 3)

equipamentos foi reajustada para melhorar as condições ambientais, permitindo, assim, um controle mais efetivo da temperatura e da renovação de ar. (Foto 5.2).

Com os recentes avanços na utilização de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) e a obrigatoriedade de se obter a extensão do Certificado de Qualidade de Biossegurança (CQB) de Bio-Manguinhos para o Laean, solicitou-se a visita técnica da CTNBio, conforme determina a Instrução Normativa (IN) nº 1, desta comissão técnica (CTNBio 1996). Disto resultou a emissão do comunicado de nº 160 de 25 de outubro de 2001, que inclui o Laean no CQB de Bio-Manguinhos de nº 0110, de 23 de abril e 20 de maio de 1999, emitidos por meio dos comunicados de números 80 e 83, respectivamente.

Com essa nova demanda e para atender as exigências legais, houve uma reestruturação interna das áreas de experimentação animal e de serviços. Essa exigência advém das IN nº 7 e IN nº 12 que determinam a segregação de riscos e de animais envolvidos nos experimentos com OGMs (CTNBio 1997, 1998a).

Atendendo às citadas Instruções Normativas, uma sala de animais foi equipada com estantes ventiladas, equipamentos que possuem sistema de circulação de ar com filtragem na entrada e saída e portas, (Foto 5.3 a, b), com a finalidade de alojar camundongos para trabalhos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico que envolvam OGMs.

Com essa modificação, destinando uma sala especificamente para atender a segregação de risco, houve a necessidade de adaptação de outras áreas. Assim, criou-se uma área para acesso de técnicos – “antecâmara” e outra, para “administração” (tendo como uma das finalidades o controle de acesso), ao mesmo tempo em que se disponibilizava área anteriormente ocupada pela administração do biotério para dar lugar ao “almoxarifado”. A sala que era utilizada para guarda de materiais e insumos – “depósito” (Anexo 3) – foi revertida para a manutenção de animais, criando-se uma antecâmara de separação do corredor de “circulação” com essa sala. O Anexo 4 ilustra essa nova configuração das instalações.

(Nota: As palavras entre aspas referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 4)



Foto 5.1 – Ralo tamponado com tampa cega em aço inoxidável, que visa eliminar o acesso de insetos e roedores por essa via à sala de animais.



Foto 5.2 – Vista geral do piso técnico e sistema de condicionamento de ar

Foto 5.3 - Sala de camundongos para o trabalho com Organismos Geneticamente Modificados (OGMs)



Foto 5.3 a – Estantes abertas para animais antes da inoculação e cabine de contenção biológica.



Foto 5.3 b – Estantes ventiladas para manutenção de animais inoculados.

5.1.1. Descrição das áreas

Esse prédio possui dois pavimentos, com uma área total de 912 m². No primeiro (Anexo 4), com 456 m² de área, estão localizados os ambientes operacionais propriamente ditos e, no segundo, também com 456 m² de área, está o piso técnico onde alocam-se os equipamentos de ar condicionado, ventilação e exaustão mecânica, partes dos circuitos elétricos, tubulação de água potável e vapor de caldeira.

No primeiro pavimento, a “antecâmara” faz a interligação da área externa com o interior do biotério. Contígua a ela está a “administração”, que tem como uma das finalidades o controle de acesso de técnicos. A “circulação” dá acesso direto ao “almoxarifado”; à esquerda, às áreas de serviço e à direita, ao “corredor de acesso”. Desse último ambiente, tem-se acesso às salas de “animais”. O “corredor de serviço” interliga-se, por sua vez, com a “lavagem e esterilização”, através de uma antecâmara e se tem acesso à sala “limpeza de gaiolas” (localizada ao final desse corredor). Nele também estão localizados os acessos à “lixeira” e à autoclave que se comunica, pelo sistema de dupla porta, com a área de “lavagem e esterilização”.

Têm-se ainda:

I- A “saída de pessoal” é a via pela qual os técnicos saem da área de experimentação, fazendo retirada da paramentação descartável e higienização das mãos. Retornam ao corredor “circulação” e, deste, à “antecâmara”, por onde saem do biotério;

II- A área de “lavagem e esterilização” é acessada pela “circulação”, que também dá acesso aos vestiários e sanitários; e

III- A “recepção de materiais” é uma antecâmara que se destina ao recebimento de materiais, insumos e animais. Nesse ambiente, tem-se acesso ao “depósito”, onde os insumos e materiais são armazenados e, posteriormente, preparados, quando necessários, para uso nas áreas de experimentação. Os animais são encaminhados diretamente às suas respectivas salas pelo corredor de “circulação” e “corredor de acesso”.

5.2. O projeto do novo biotério de experimentação animal

A estrutura utilizada é de concreto armado. As paredes de vedação e divisões dos ambientes são em alvenaria e, eventualmente por meio de divisórias. Os revestimentos adotados permitem fácil limpeza e manutenção, com superfícies lisas, planas e resistentes,

(Nota: As palavras entre aspas referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 4)

evitando-se cantos, rebaixos e reentrâncias. O piso de alta resistência suporta as agressões térmica, mecânica e de agentes químicos. As paredes são revestidas de pintura resistentes à água e a calor moderado. Os cantos das paredes, tetos e rodapés são arredondados, evitando acúmulo de poeira e outras sujidades.

Fora isso, as bancadas, em chapa de aço inoxidável 304, conferem maior resistência e facilitam a limpeza e desinfecção. Já as janelas e os visores são metálicos e possuem vidros duplos, laminados, instalados de forma a facearem a superfície das paredes internas. As luminárias, por sua vez, são em aço inoxidável e vidro que faceia a superfície do teto e o acesso às lâmpadas e ao sistema elétrico é feito pelo piso técnico (segundo piso). As portas são em chapa de aço carbono galvanizado, com pintura epóxi.

Cumprе ressaltar ainda que:

a) a separação dos ambientes é obtida através de antecâmaras ou “air-locks” com portas intertravadas. No caso dos “air-locks” o diferencial de pressão é proveniente do sistema ventilação e exaustão mecânica;

b) o acionamento das torneiras das áreas de biossegurança NB-A2 e NB-A3 é realizado por pedal evitando o uso das mãos;

c) a interligação das áreas de experimentação e apoio operacional é realizada por meio de corredores de acesso e de saída e por meio de equipamentos de esterilização e desinfecção, “pass-through”, antecâmaras ou “air-locks”, todos dotados de dupla-portas intertravadas, de forma a evitar a comunicação direta entre as áreas; e

d) a cobertura utilizada é a espacial, o que possibilita vãos absolutamente livres no segundo piso. A estrutura é constituída por banzos em alumínio e recobrimento em telha de alumínio com isolamento térmico.

5.2.1. Descrição das áreas

O novo prédio, em construção, do Laboratório de Experimentação Animal (Laean) possui dois pavimentos, com uma área total de 1.764,70 m². No primeiro pavimento (Anexo 5), com 882,35 m² de área, estão localizados os ambientes operacionais propriamente ditos e, no segundo, também com 882,35 m² de área, é utilizado como o piso técnico onde estão alocados os equipamentos e dutos de ar condicionado (ventilação, exaustão, distribuição e

(Nota: As palavras “air-lock” e “pass-through” utilizadas no texto, são termos técnicos comumente utilizados em engenharia e arquitetura. Seus significados em português, podem ser traduzidos por: ambiente com diferencial de pressão e trampa de passagem, respectivamente).

filtragem de ar), luminárias e circuitos de iluminação, tubulações e dutos de distribuição de utilidades elétrica, hidráulica, ar comprimido, gases e água potável filtrada, necessários ao funcionamento de equipamentos e operações técnicas.

A “administração” (043) está localizada próxima ao “hall” (001) de acesso às instalações e, dentre uma de suas finalidades está a de controlar o acesso de técnicos às áreas internas.

Cumprir observar que o acesso a essas áreas é realizado pelos vestiários denominados “banheiro” (002 e 003). O corredor – “circulação” (005) – dá acesso a “higienização” (006) pelo lado esquerdo, e pelo direito, às áreas de experimentação NB-A2 e NB-A3. Nesse corredor estão localizadas as salas para “técnico” (042 e 048) e depósito de material de limpeza – “mat limp.” (049).

O acesso à área de experimentação NB-A2 é por meio do “air-lock” (007) que, a seu turno, dá acesso à paramentação – “param” (009). O ambiente, denominado “circ. limpa” (010 e 068), é um corredor de acesso às salas de animais e área de recebimento de materiais para uso interno e está separado por um “air-lock” (067) segregando, portanto, a área de recebimento de materiais, insumos, materiais e produtos esterilizados ou desinfetados da área de experimentação animal propriamente dita. Nesse corredor, estão localizados dois depósitos – “depósito” (020 e 021) para materiais, insumos e produtos de uso nas áreas de experimentação, um “laboratório” (046) para preparo de soluções, diluições e outras atividades prévias a experimentação animal e que necessitem de suporte de equipamentos de laboratório, de segurança ou de conservação a frio. No final do corredor, há uma pequena área para guarda de material de limpeza – “mat limp.” de uso específico a esses ambientes.

As sete salas de “animais” e sala de “pirogênio” (011 a 018) estão localizadas entre os corredores – “circ. limpa” (010) e “circ. periférica” (025). Estão dotadas de bancadas secas de trabalho e bancada com cuba, ambas em aço inoxidável.

A “circ. periférica” (025) comunica as salas de “animais” e “pirogênio” (011 a 018), de um lado, a área de descontaminação – “descont.” (028) e pelo outro ao ambiente pelo qual os técnicos saem dessa área de experimentação – “saída” (026).

Na área de descontaminação – “descont.” (028) está alocado a autoclave, destinado à descontaminação dos materiais com risco biológico e que também dá acesso ao “air-lock”

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

(029) destinado a descontaminação química dos materiais que se destinam à área de lavagem, provenientes das salas de animais (011 a 018) e “quarentena” (023 e 023A).

O “air-lock” (029) se comunica à área de “higienização” (006) através do corredor denominado “circulação” (044).

Próximo à “descont.” (028) localiza-se o “laboratório” (045), para atividades de coleta de sangue e outros tecidos animal, necropsia, sacrifício animal e outras atividades pós-experimentais.

Ainda no corredor “circ. periférica” (025), há uma área para guarda de material de limpeza de uso exclusivo desses ambientes.

Pelo outro sentido de fluxo do corredor, “circ. periférica” (025), chega-se à “saída” (026) por onde os técnicos saem da área de experimentação, com a retirada da paramentação descartável de uso exclusivo nessa área.

Já no corredor denominado “circulação” (044), estão localizados o “depósito” (031), o “air-lock” (034) e o ambiente “recepção animal” (032), onde estes serão triados e encaminhados à “quarentena” (023 e 023A) por meio de um “pass-through” de dupla porta. Nesse corredor (044), há um “pass-through” de dupla porta que se comunica com a “descontaminação” (028) e destina-se à desinfecção de materiais e produtos provenientes da área de experimentação e que serão encaminhados a outros laboratórios.

A “quarentena” é constituída de um corredor “circ.” (024) e duas salas para animais “quarentena” (023 e 023A).

A área de “higienização” (006), por sua vez, está localizada de forma a se comunicar com a “circ. limpa” (068) pela autoclave de esterilização, pelo “pass-through” e pelo “air-lock” (022). Possui um depósito – “depósito mat.limp.” (033) para armazenamento de materiais e produtos utilizados na higienização, desinfecção e esterilização.

Finalmente, o acesso e saída da área de experimentação NB-A3 é realizada por três ambientes: “air-lock” (035), “chuveiro” (036) e “air-lock” (041). Por esse último, chega-se à “circulação” (062), que se comunica com as demais áreas internas que são, “animais” (038), “laboratório” (065), “acesso materiais” (040) e “autoclave” (063). O “air-lock” (037) comunica a “circulação” (005) com “animais” (038) e foi projetado para a entrada e retirada de equipamentos de grande porte.

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

5.2.2. Instalações prediais e utilidades

5.2.2.1. Sistema de condicionamento de ar, ventilação e exaustão mecânica

O sistema de condicionamento de ar, ventilação e exaustão mecânica foi projetado para que as áreas de experimentação animal sejam contempladas com as condições recomendadas para o bem-estar animal e de biossegurança. Nesse sentido, as salas de animais, área de maior risco, estão em pressão negativa em relação aos ambientes adjacentes.

As condições ambientais atenderam ao preconizado, mantendo as salas de animais e pirogênio com temperatura entre 20 e 24°C, umidade relativa de 55 +/- 5% e com trocas de ar de 20 vezes o volume do ambiente por hora.

Os dutos de insuflamento, localizados no piso técnico, acessam os ambientes do primeiro piso pelo teto. Assim: a) As grelhas de insuflamento possuem aletas que direcionam o ar de modo uniforme no ambiente; b) As grelhas de exaustão de ar, da área NB-A2, estão localizadas a 30 cm do piso, facilitando a retirada de sujidades em suspensão e gases provenientes do desdobraimento microbiano e de dejetos animal; e c) Na área NB-A3 as grelhas de exaustão estão localizadas no teto, em função do sistema de segurança para troca dos filtros absolutos, sistema “bag in - bag out” (Figura 5.1).

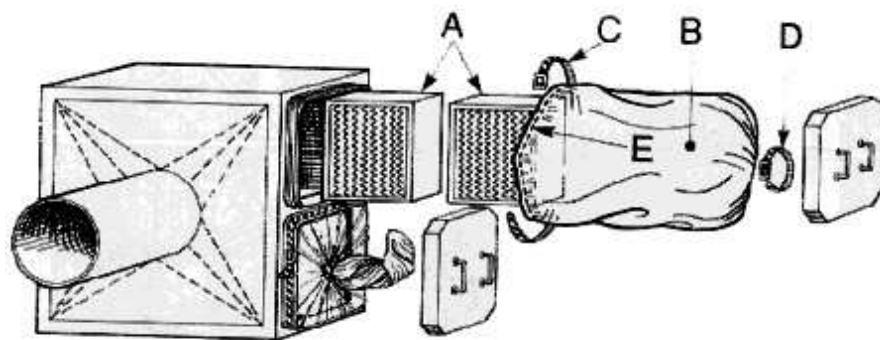


Figura 5.1 – Esquema de sistema para troca de filtros com segurança “bag in – bag out” fonte: NIH 1995

O sistema de filtração na entrada de ar, utilizado na área de experimentação NBA-2, é composto de pré-filtro, filtro bolsa e filtro terminal, com filtragem de 95% de eficiência para partículas de 0,3 μm . Utiliza 100% de ar exterior, não havendo, portanto, recirculação de ar. Não há tratamento do ar na saída dos ambientes.

Na área NBA-3, tanto os filtros de entrada como os de saída são de 99,99% de eficiência para partículas de 0,3 μm . Os filtros de saída são em número de dois sequenciais.

Há um equipamento de ar condicionado de reserva, de forma que o sistema funcione ininterruptamente em caso de defeito no equipamento principal (Foto 5.4).

5.2.2.2. Iluminação

A iluminação dos ambientes são com lâmpadas fluorescentes do tipo “daylight”, as quais são as que mais se aproximam do espectro de luz solar. A intensidade de iluminação é de 250 lux a um metro do piso e o fotoperíodo de 12/12 horas.

Nas salas de animais, as luminárias são dispostas de modo à melhor distribuir a luminosidade por todo o ambiente de forma uniforme.

As luminárias (Foto 5.5) são de construção especial, faceiam a superfície do teto, evitando acúmulo de sujidades, facilitando a limpeza e desinfecção, sendo sua estrutura em aço inoxidável resistente à lavagem e produtos químicos. O acesso à manutenção e troca de lâmpadas é feito pelo segundo piso, evitando o acesso de pessoas da manutenção à área de experimentação.

5.2.2.3. Hidráulica

O sistema de água potável, que atende a área de experimentação animal, possui filtros para retenção de partículas 20 µm e estão localizados no piso técnico (2º piso), evitando a necessidade de acesso de técnico de manutenção e engenharia nas áreas experimentais do biotério. As torneiras das salas de experimentação NB-A2 e NB-A3, saída de pessoal e laboratórios são de acionamento por pedal evitando o uso das mãos.

5.2.2.4. Elétrica

As diversas áreas do biotério são servidas por circuitos elétricos de 110 e 220 volts. As tubulações desse sistema predial são tamponadas com material vedante, evitando, assim, ser uma via de contaminação entre ambientes interno e externo por meio de correntes de ar ou pelo acesso de pequenos insetos.



Foto 5.4 – Condicionadores de ar da área de biossegurança animal 3 (NB-A3)



Foto 5.5 – Luminária e grelha de insuflamento de ar na sala de biossegurança animais 2 (NB-A2)

Por questões operacionais e de segurança alguns pontos desse sistema são atendidos por gerador de energia elétrica de emergência, entre os quais estão contemplados o intertravamento de portas, circuitos alternados de iluminação nos corredores e a área de lavagem, controle de fotoperíodo das salas de animais, ventilação e exaustão mecânica do sistema de ar condicionado, tomadas dos laboratórios e salas de animais e autoclaves.

5.2.2.5. Comunicação

As diversas áreas serão contempladas por sistema de comunicação interno e com pontos de acesso externo, o qual utilizará sistema de viva voz, não possuindo fone, de forma que não se tenha o contato de uma peça com a superfície corporal, principalmente da face, minimizando a transmissão de infecções.

5.2.2.6. Controle de acesso de técnicos

O acesso aos vestiários e às áreas NB-A2 e NB-A3 serão controlados eletronicamente. A abertura das portas dos vestiários (masculino e feminino) e dos acessos às áreas de experimentação animal serão realizadas por esse sistema que possibilitará identificar, individualmente, o dia e horário de acesso e saída de cada técnico. A autorização de acesso às diferentes áreas serão específicos para cada técnico. Daí, somente as pessoas autorizadas a desenvolverem a experimentação animal poderão acessar as áreas de experimentação.

5.2.2.7. Efluentes

Os diversos ambientes das áreas NB-A2 possuem ralos sifonados com tampa hermética e o sistema de efluente compõe ramal separado dos demais ramais de efluentes do biotério. Os ralos sifonados das salas de animais e corredores serão conectados a um ramal principal que possui sistema de válvula de fechamento da tubulação. Essa válvula só é aberta, por sistema elétrico, quando da higienização dos ambientes, evitando a entrada de insetos e refluxo de esgoto por essa via.

Em função da exigência legal, elencada na IN nº 7 da CTNBio, de tratamento dos efluentes por calor e avaliação de eficiência da descontaminação por métodos físicos e biológicos, optou-se por não haver sistema de efluentes na área NB-A3, com exceção do chuveiro, que, conforme a mesma IN, não exige tratamento especial. O único ponto de hidráulica, localizado na sala de animais, terá sua captação de efluentes por “container” de aço inoxidável, que será submetido à descontaminação por autoclavação.

5.2.2.8. Circuito de televisão e vídeo (CTV)

O CTV monitora o acesso de técnicos às áreas internas e o fluxo de entrada e saída das áreas de NB-A2 e NB-A3. Duas câmaras, localizadas no corredor “circulação” (005) visualizam a saída dos banheiros masculino e feminino e o acesso e saída das áreas de experimentação NB-A2 e NB-A3. Objetiva-se, com tal procedimento, identificar os técnicos que transitam nas dependências internas suas origens e destinos.

Na área NB-A3, há ainda uma câmara no ambiente “animais” (038) e outra na “circulação” (062). Para maior segurança dos profissionais em atividade, esse sistema possibilita a avaliação de situações de emergência e sua gravidade, a melhor forma de intervenção e aplicação dos procedimentos de segurança a cada caso de emergência .

5.2.2.9. Alarme de emergência

Todas as áreas do biotério possuirão sistema de detecção e alarme de emergência contra incêndio com sinalizador visual e sonoro.

A área NB-A3 contará com um sistema específico para ser acionado pelos técnicos em caso de acidente com riscos biológicos, químico ou físico, ou seja:

“Dentro de cada sala deverá haver um sistema de alarme capaz de acionar as medidas necessárias, sem que haja necessidade do usuário acidentado deixar o biotério sem seguir as normas de descontaminação, o que poderia aumentar a gravidade do acidente” (CTNBio 1998a).

5.2.2.10. Intertravamento de portas

As portas das áreas de experimentação animal NB-A2 e NB-A3, incluindo-se as dos equipamentos, possuirão sistema elétrico ou eletrônico que impedem que as portas abram simultaneamente. As portas dos ambientes são abertas pelo acionamento de comando elétrico, instalado somente no sentido de fluxo, não permitindo, portanto, o contra-fluxo.

5.2.2.11. Controle de Fotoperíodo

Os circuitos de iluminação das salas de animais e corredores das áreas de experimentação possuirão sistema de controle de tempo em que as lâmpadas permanecem acesas. Prevê-se, para atender as espécies animais a serem alojadas, o fotoperíodo das 7:00

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

às 19:00 horas, cumprindo-se com as recomendações de 12 horas “de claro” e 12 horas “de escuro”.

Caso haja necessidade de trabalho, nesses ambientes, fora do horário acima estipulado, o sistema permite a sua alteração, manualmente e em um só ambiente, não interferindo com o fotoperíodo das outras salas de animais.

5.2.3. Dos Fluxos definidos em projeto

O Anexo 6 demonstra os diversos fluxos definidos quando da elaboração do projeto.

5.2.3.1. Fluxo de técnicos

Os técnicos acessam as áreas internas pelos “banheiro” (002 e 003), masculino ou feminino. Pelo corredor “circulação” (005) têm acesso, à esquerda, à área de “higienização” (006) e à direita, às salas de “técnicos” (042 e 048) ou às áreas experimentais NB-A2 e NB-A3. O retorno se faz no sentido inverso.

Já na área NB-A2 o fluxo é unidirecional: após os técnicos chegarem à “circ. limpa” (010), pelo “air-lock” (007) e da “param.” (009), podem-se dirigir a um dos ambientes a que esse corredor dá acesso – “depósito” (020 ou 021), “laboratório” (046), salas de “animais” e “pirogênio” (011 a 018) – ou se dirigir à “quarentena” (023 e 023A) por intermédio do “air-lock” (022).

A saída da área NB-A2 é realizada pelo corredor de “circ. periférica” (025), por onde os técnicos chegam ao ambiente denominado “saída” (026). Desse ambiente retornam ao corredor “circulação” (005) e a um dos “banheiro” (002 ou 003), por onde saem para o “hall” (001).

O fluxo da área NB-A3 é bidirecional. Os técnicos acessam a área pelo “air-lock” (035), atravessam o “chuveiro” (036) e o “air-lock” (041) chegando à “circulação” (062) por onde têm acesso ao “laboratório” (065), “autoclave” (063), “acesso de materiais” (040) e à sala de “animais” (038). O retorno se faz no sentido inverso, ou seja passando pelo “air-lock” (041), “chuveiro” (036) e “air-lock” (035) por onde chegam ao corredor “circulação” (005) e desse ambiente, ao “banheiro” (002 ou 003) e, finalmente, ao “hall” (001).

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme plantas baixas – Anexos 5 e 6)

5.2.3.2. Fluxo de animais

O acesso de animais ao biotério de experimentação é feito pelo “air-lock” (034). Desse ambiente, as gaiolas de transporte são encaminhadas à “recepção animal” (032) e os animais transferidos, pelo “pass-through”, para uma das salas de “quarentena” (023, 023A). Desses ambientes são levados às áreas experimentais NB-A2 e NB-A3 pelo “air-lock” (022). Na primeira chegam às salas de animais diretamente pela “circ. limpa” (010). Na segunda, são transferidos da “circ limpa” (010), pelo “pass-through” do “acesso materiais” (040).

A saída das carcaças dos animais é precedida por autoclavação, fazendo-se uso dos equipamentos das respectivas áreas NB-A2 ou NB-A3.

A retirada dos animais da “quarentena”, não utilizados, ocorre pelo “air-lock” (029) que se comunica com a “circ. periférica” (025), seguindo, então, o mesmo fluxo da área NB-A2.

O descarte das carcaças é feito pela “lixeira” (sem numeração) para ambas as áreas de experimentação.

No caso de retirada de animais vivos da área NB-A2, esse processo realiza-se pelo “pass-through” localizado na “descontaminação” (028) e as gaiolas com os animais são transferidas para o “pass-through” localizado no “hal” (001), por onde são retirados do biotério.

5.2.3.3. Fluxos de materiais, insumos e produtos

Os materiais e insumos, provenientes da área externa, têm acesso ao biotério de experimentação pelo “air-lock” (034). São armazenados nos “depósitos” (031 e 033) e – quando encaminhados à área NB-A2 – são esterilizados na autoclave ou desinfetados no “pass-through” da área de “higienização” (006) ou no “air-lock” (022).

Na área interna, esses materiais e insumos são armazenados nos “depósitos” (020 e 021) ou no “laboratório” (046). Quando necessários são transportados, às salas de “animais” e “pirogênio” (011 a 018).

Os materiais e insumos destinados a área NB-A3 são transferidos dos “depósitos” (020 e 021) para o ambiente “acesso materiais” (040) pelo “pass-through”, alocado nesse ambiente ou encaminhados diretamente após o processo de esterilização ou desinfecção.

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme plantas baixas – Anexo 5 e 6)

Cumpra observar ainda que:

I - Os materiais, utilizados rotineiramente na manutenção zootécnica e de uso exclusivamente interno, são encaminhados às áreas NB-A2 e NB-A3 pelas mesmas vias de esterilização ou desinfecção dos demais materiais e insumos.

II - A retirada dos materiais e resíduos das áreas NB-A2 e da “quarentena” é realizada pela autoclave da “descont.” (028) ou pelo “air-lock” (029).

III - Na área NB-A3 a retirada de todos os materiais e resíduos ocorre pela “autoclave” (063).

IV - Os dejetos animal são retirados da área NB-A2 e da “quarentena” pelo “air-lock” (029) e processados, quando assim indicado, pela autoclave.

V - Na Área NB-A3, os dejetos animal são sempre retirados pela autoclave.

VI - O descarte dos dejetos do biotério é feito pela “lixeira” (sem numeração).

VII - Os produtos provenientes dos laboratórios, usuários do biotério (sejam amostras vacinais para controle biológico, sejam cultivos ou suspensão de microorganismos para pesquisa científica ou desenvolvimento tecnológico) são encaminhados às áreas experimentais por intermédio do “pass-through”, localizado no “hall” (001). Seguem à “higienização” (006) e pelo “pass-through”, localizado nessa área, são transferidos à área NB-A2. Os produtos que se destinam a área NB-A3 são transferidos para esse ambiente pelo “pass-through” do ambiente “acesso materiais” (040).

5.3. Procedimentos operacionais

A motivação para implantar um programa de saúde ocupacional e de segurança é derivada de dois aspectos principais: a obrigação moral de salvaguardar o empregado de riscos desnecessários e de regulamentação legal (NCR 1997).

Procedimentos operacionais visam, portanto, entre outros aspectos, promover a segurança e qualidade na pesquisa e na produção. No caso específico de trabalho em biotérios, objetivam também o cuidado e uso ético de animais de laboratório (Ohio 1999).

O comprometimento dos envolvidos com os procedimentos operacionais e práticas relativas à biossegurança e BPL para uma área específica (nisto incluem-se mesmo aqueles com atividades secundárias com animais de laboratório ou experimentação animal) é fundamental à segurança individual e coletiva e à confiabilidade de resultados. Todavia,

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme plantas baixas – Anexo 5 e 6)

infelizmente, apesar dos recentes avanços da biossegurança, notadamente com organismos geneticamente modificados (OGMs), as questões relativas a biotérios e experimentação animal ainda são relegadas a um plano secundário.

A adoção de procedimentos padronizados, em conformidade com as BPF e BPL, é uma ferramenta de suporte que possibilita maior segurança, minimiza os riscos e permite aumentar a confiabilidade e ter reprodutibilidade de resultados em um laboratório ou biotério.

As práticas de trabalho constituem assim, os mais importantes elementos de controle de exposição aos riscos. Os empregados devem entender sobre os riscos associados com os procedimentos que praticam, reconhecer a rota por meio da qual eles podem ser expostos a esses riscos, selecionar o procedimento ou prática de trabalho que minimize sua exposição e, por treinamento e experiência, adquirir disciplina e habilidade necessárias a assegurar competente conduta para práticas seguras (NCR 1997).

5.3.1. Dos fluxos operacionais

5.3.1.1. Acesso e saída de técnicos

“A porta principal deverá estar sempre trancada. O acesso ao biotério deverá ser restrito às pessoas credenciadas, conforme determinado pela CIBio da Instituição” (CTNBio 1998a).

“O acesso deve ser limitado às pessoas autorizadas” (WHO 2003).

Os funcionários do Laean e de outras Unidades Organizacionais (UOs) autorizados a trabalharem no biotério possuirão um código individual de acesso de abertura das portas dos “banheiro” (002 e 003), masculino e feminino. O sistema eletrônico de aberturas das portas será capaz de identificar, individualmente, o dia e horário de acesso e tem por finalidade prevenir o acesso de pessoas não autorizadas a essas instalações.

“No interior do laboratório, os freqüentadores devem utilizar roupas apropriadas tais como jalecos, gorros, máscaras, etc.” (CTNBio 1997).

Os funcionários da área de manutenção e engenharia, de metrologia e validação e técnicos de outras UOs, que necessitem acessar as áreas internas, com exceção das áreas NB-A2 e NB-A3, farão uso de sapatilha descartável. No caso de trabalhos na área NB-A2, o uniforme utilizado será o especificado para essa área. Esses prestadores de

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

serviço são acompanhados por técnico do Laean. Na área NB-A3 as atividades que demandem esses serviços técnicos só ocorrerá quando não houver experimento em andamento, podendo portanto, essa área ser franqueada livremente.

5.3.1.1.1. À área de higienização

- No “hall” (001) o técnico (com o código individual de acesso) aciona o sistema eletrônico de abertura da porta do “banheiro” (002 ou 003), masculino ou feminino;

- Nesse ambiente, “banheiro” (002 ou 003) e no espaço anterior às duchas, faz a troca da roupa de uso pessoal por uniforme composto de calça, camiseta e calçado (sapato ou bota plástica);

- Atravessa o ambiente da ducha, sem necessidade de banho, e se dirige à área “higienização”(006);

- Quando do efetivo exercício das práticas de lavagem, descontaminação ou esterilização, faz uso de EPIs adicionais;

- Na lavagem e desinfecção usa avental tipo jardineira, luva de látex, óculos de proteção, gorro descartável, máscara descartável e bota plástica;

- Na esterilização usa gorro descartável, óculos de proteção, sapato ou bota plástica e luva de amianto ou “keflar”.

“Antes de sair do laboratório para áreas externas (biblioteca, cantina, escritório administrativo), a roupa protetora deve ser retirada e deixada no laboratório” (CTNBio 1997).

- Ao término da atividade, despreza, em recipiente apropriado, os EPIs descartáveis e higieniza o avental tipo jardineira e os óculos de proteção, guardando-os em armários destinados a esse fim;

- Retorna ao “banheiro”, retirando o uniforme, guardando-o em armário;

- Faz a higienização corporal antes de se recompor com as roupas de uso pessoal;

- Aciona o sistema eletrônico de abertura da porta com o “hall” (001), por onde sai do biotério.

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

5.3.1.1.2. À sala de técnicos

- No “hall” (001), aciona o sistema eletrônico de abertura da porta do “banheiro” (002 ou 003), masculino ou feminino;
- Nesse ambiente, “banheiro” (002 ou 003) e no espaço anterior às duchas, faz a troca do calçado de uso pessoal por calçado de uso interno (tênis ou sapato) e veste guarda-pó em tecido;
- Atravessa o ambiente da ducha, sem necessidade de banho, e se dirige à sala de “técnicos” (042 ou 048);
- Ao retornar ao banheiro, coloca o guarda-pó em armário destinado a esse fim e faz a troca de calçados;
- Aciona o sistema eletrônico de abertura da porta com o “hall” (001), por onde sai do biotério.

5.3.1.1.3. Às áreas de experimentação animal

5.3.1.1.3.1. À área NB-A2

“É obrigatório o uso de máscara, gorro, luva, e protetores para os pés. Estes materiais deverão ser sempre descontaminados após o uso” (CTNBio 1988a).

“A roupa protetora e equipamento de proteção devem ser utilizadas nas instalações, e removidos ao sair. Luvas apropriadas devem ser utilizadas” (WHO 2003).

- No “hall” (001), aciona o sistema eletrônico de abertura da porta do “banheiro” (002 ou 003), masculino ou feminino;
- Nesse ambiente, “banheiro” (002 ou 003) e no espaço anterior às duchas, faz a troca da roupa de uso pessoal por uniforme composto de calça, camiseta e calçado (sapato ou bota plástica);

(Nota: Não é permitido entrar na área NB-A2 com objetos de uso pessoal como relógio, telefone celular, cordões, brincos, anéis, canetas, lápis - esses são guardados em armários no “banheiro” (002 ou 003)).

- Atravessa o ambiente da ducha, sem necessidade de banho, e se dirige à área NB-A2 pelo corredor “circulação” (005);
- Aciona a abertura da porta do “air-lock” (007) por meio do sistema eletrônico;

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

- Nesse ambiente aciona a abertura da porta oposta por meio do sistema elétrico;

(Nota: A abertura das portas, que são acionadas pelo sistema elétrico, são intertravadas e, portanto, não se abrem caso a porta oposta não esteja devidamente fechada).

- No ambiente denominado “param.”(009) faz uso de EPIs descartáveis (calça, guarda-pó, sapatilha, touca, máscara e dois pares de luvas) e óculos de proteção;

- Aciona a botoeira elétrica de abertura da porta com a “circ. limpa” (010);

- Da “circ. limpa” (010) tem acesso aos diversos ambientes com que esse corredor comunica;

- Para entrar em uma das salas de “animais” e “pirogênio” (011 a 018), aciona o sistema elétrico de abertura de portas;

- Antes de sair da sala de “animais” ou “pirogênio” (011 a 018) retira o par de luvas mais externo e desinfeta o outro par com álcool etílico 70%;

- Sai da sala “animais” (011 a 018) pela porta com o corredor “circ. periférica” (025), acionando o sistema elétrico de abertura de portas;

- Pelo corredor “circ. periférica” (025), chega à “saída” (026) onde retira os EPIs depositando-os em recipientes apropriados;

“Antes de sair do laboratório para áreas externas (biblioteca, cantina, escritório administrativo), a roupa protetora deve ser retirada e deixada no laboratório” (CTNBio 1997).

- Higieniza as mãos com sabão anti-séptico;

- Sai pela porta com o corredor “circulação” (005), que se abre pelo acionamento do sistema elétrico;

- Retorna ao “banheiro” (002 ou 003), retirando o uniforme, guardando-o em armário;

- Faz a higienização corporal antes de se recompor com as roupas de uso pessoal;

- Aciona o sistema eletrônico de abertura da porta com o “hall” (001), por onde sai do biotério.

5.3.1.1.3.2. À área NB-A3

“O acesso deve ser estritamente controlado” (WHO 2003).

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

- No “hall” (001) aciona o sistema eletrônico de abertura da porta do “banheiro” (002 ou 003), masculino ou feminino;

- Nesse ambiente, “banheiro” (002 ou 003) e no espaço anterior as duchas, faz a troca da roupa de uso pessoal por uniforme composto de calça, camiseta e calçado;

(Nota: Não é permitido entrar na área NB-A3 com objetos de uso pessoal como relógio, telefone celular, cordões, brincos, anéis, canetas, lápis, etc. - esses são guardados em armários no “banheiro” (002 ou 003)).

- Atravessa o ambiente da ducha, sem necessidade de banho, e se dirige à área NB-A3 pelo corredor “circulação” (005);

- Aciona a abertura da porta do “air-lock” (035) por meio do sistema eletrônico;

- Nesse ambiente, faz a troca, do uniforme por paramentação de uso exclusivo na área NB-A3, composta de macacão com capuz, óculos de proteção, máscara descartável, meias de algodão, botas plásticas, um par de luvas de nitrila e um par de luvas tipo cirúrgica;

- Após a paramentação, aciona a abertura da porta do “chuveiro”, atravessando esse ambiente, sem a necessidade de banho;

- Passa pelo ambiente “air-lock” (041), de onde tem acesso aos ambientes “circulação” (062), “animais” (038), “laboratório” (065), “acesso materiais” (040) e “autoclave” (063);

- Após o término do manuseio de animais ou trabalho com material com risco biológico, as luvas do tipo cirúrgicas são trocadas, desprezando as luvas usadas em recipiente apropriado;

- A saída da área é feita com a retirada completa da paramentação no ambiente “air-lock” (041);

*“Todo o pessoal deverá tomar banho ao deixar essas áreas de trabalho”
(CTNBio 1997).*

- Faz a higienização corporal com sabão anti-séptico no ambiente “chuveiro” (036);

- No “air-lock” (035), seca-se com toalha de algodão, recompõem-se com o uniforme e se dirige pelo corredor “circulação” (005) e deste ao “banheiro” (002 ou 003), onde faz a troca do uniforme pela roupa de uso pessoal.

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

(Nota: Os ambientes que fazem parte do trajeto de entrada e saída, especificamente “air-lock” (035), “chuveiro” (038) e “air-lock” (041) possuem sensores de presença, de forma que as portas do “air-lock” (035) com a “circulação” (005) e da “saída” (041) com “circulação” (062) ficam bloqueadas enquanto houver alguém fazendo um dos percursos, de entrada ou de saída dessa área de experimentação animal. Objetiva-se, com isso, que não haja o cruzamento de fluxos de técnicos e assim minimize ao máximo os riscos inerentes à entrada e à saída dessa área de experimentação animal, bem como evita o constrangimento de serem vistos sem roupas).

5.3.1.1.4. À quarentena

- No “hall” (001), aciona o sistema eletrônico de abertura da porta do “banheiro” (002 ou 003), masculino ou feminino;

- Nesse ambiente, “banheiro” (002 ou 003) e no espaço anterior às duchas, faz a troca da roupa de uso pessoal por uniforme composto de calça, camiseta e calçado (sapato ou bota plástica);

(Nota: Não é permitido entrar na área NB-A2 e na quarentena com objetos de uso pessoal como relógio, telefone celular, cordões, brincos, anéis, canetas, lápis - guardados em armários no “banheiro” (002 ou 003)).

- Atravessa o ambiente da ducha, sem necessidade de banho, e se dirige a área NB-A2 pelo corredor “circulação” (005);

- Aciona a abertura da porta do “air-lock” (007) por meio do sistema eletrônico;

- Nesse ambiente aciona a abertura da porta oposta por meio do sistema elétrico;

(Nota: A abertura das portas que são acionadas pelo sistema elétrico são intertravadas, e portanto, não abrem se a porta oposta não estiver devidamente fechada).

- No ambiente denominado “param.” (009) faz uso de EPIs descartáveis (calça, guarda-pó, sapatilha, touca, máscara e dois pares de luva) e óculos de proteção;

- Aciona a botoeira elétrica de abertura da porta com a “circ. limpa” (010);

- Da “circ. limpa” (010) encaminha-se ao “air-lock” (022), aciona o sistema elétrico de abertura da porta e, após estar nesse ambiente e estando as portas devidamente fechadas, aciona a abertura da porta com o corredor “circ.” (024);

- A partir desse corredor, tem livre acesso às duas salas de “quarentena” (23 ou 23A);

- Antes de sair de uma das salas de “quarentena” (23 ou 23A) retira o par de luvas mais externo e desinfeta o outro par com álcool etílico 70%;

- Sai da sala “quarentena” (23 ou 23A), acionando o sistema elétrico de abertura de portas por onde chega ao “air-lock” (029) e encaminha-se ao corredor “circ. periférica” (025);

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

- Pelo corredor “circ. periférica” (025) chega a “saída” (026) onde retira os EPIs, depositando-os em recipientes apropriados;
- Higieniza as mãos com sabão anti-séptico;
- Sai pela porta com o corredor “circulação” (005), que se abre pelo acionamento do sistema elétrico;
- Retorna ao “banheiro” (002 ou 003), retirando o uniforme, guardando em armário;
- Faz a higienização corporal antes de se recompor com as roupas de uso pessoal;
- Aciona o sistema eletrônico de abertura da porta com o “hall” (001), por onde sai do biotério.

5.3.1.2. Da introdução de materiais, insumos e produtos

Os materiais e insumos provenientes da área externa ao Laboratório de Experimentação Animal (Laean) chegam a essas instalações pelo “air-lock” (034), quando oriundos do Almojarifado de Bio-Manguinhos, Centro de Criação de Animais de Laboratório (Cecal) da Fiocruz ou diretamente de fornecedores. Os entregadores acionam o intercomunicador localizado na parte externa desse ambiente. A porta é aberta por dispositivo localizado no corredor “circulação” (044).

(Nota: As portas desse “air-lock” são intertravadas, não permitindo a abertura das duas portas ao mesmo tempo).

- Os materiais e insumos são colocados nesse ambiente e, após a conferência, são transferidos e armazenados nos depósitos.

- Os materiais, insumos e produtos são introduzidos na área de experimentação NB-A2 por diferentes processos de esterilização ou desinfecção. A definição do método adotado ocorre em função de sua estrutura física, tamanho e risco inerentes a sua produção, transporte e armazenamento.

- São utilizados a autoclave, o “pass-through” e o “air-lock” (022) para os processos de esterilização ou desinfecção. Após o procedimento de esterilização ou desinfecção esses materiais, insumos e produtos são armazenados nos depósitos (020 e 021), ou levados diretamente aos laboratórios (045 e 046) ou às salas de animais (011 a 018).

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

5.3.1.3. Da introdução de vacinas, produtos e outros materiais provenientes dos laboratórios de controle ou pesquisa

“O Pesquisador Principal remetente deve assegurar que o OGM a ser transportado estará contido em embalagens firmemente fechadas ou vedadas, para prevenir o escape do mesmo. Serão utilizados sempre dois recipientes, ambos claramente identificados: um interno (tubo de ensaio, placa de Petri, envelope com sementes), o qual conterá o OGM a ser transportado, dentro de um segundo recipiente inquebrável. O recipiente externo deverá ser cuidadosamente embalado para a remessa, em caixa de papelão, madeira ou outro material que ofereça resistência durante o transporte.

Para todos os casos acima, as embalagens devem ser claramente identificadas com o símbolo de biossegurança e de "frágil" com a seguinte mensagem: "Cuidado: abertura autorizada apenas no interior do laboratório por técnico especializado". A embalagem externa deverá conter o nome, endereço completo e telefone, tanto do destinatário quanto o remetente” (CTNBio 1996a).

Os produtos provenientes dos laboratórios, sejam amostras de vacinas, soluções, suspensão de microrganismo, perecíveis ou outros que contenham risco biológico e que se destinam às áreas NB-A2 e NB-A3 são transportados até o Laean em recipiente primário apropriado e, como recipiente secundário, caixa termoplástica com trava de segurança.

Ambos os recipientes são rotulados de forma a identificar o produto. Os produtos com risco biológico são identificados com: o símbolo universal de risco biológico; o agente etiológico; o nível de risco; e o responsável técnico (sua localização na instituição e telefone de contato).

- A caixa de transporte (termoplástica), contendo o recipiente primário, é encaminhada para a área interna do biotério pelo “pass-through” localizado no “hall” (001);

- É transportada para a “higienização” (006) onde é desinfetada no “pass-through” dessa área;

- A seguir, é levada ao “laboratório” (046) ou a uma das salas de animais (011 a 018), onde o recipiente primário é retirado da caixa de transporte e manuseado com a segurança que o risco requer;

- No caso de se destinar à área NB-A3, a caixa de transporte é transferida para a pelo “pass-through” de comunicação entre a “circ. limpa” (068) e “acesso materiais” (040), onde novamente é desinfetada;

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

- Finalmente, é encaminhada ao “laboratório” (065), onde o recipiente é retirado e devidamente manuseado.

5.3.1.4. Retirada de amostras biológicas e animais do Laean

“Materiais contaminados só podem ser retirados do laboratório em recipientes rígidos e à prova de vazamentos” (CTNBio 1997).

A retirada de espécimes clínicos (urina, sangue, secreções etc.), tecidos e órgãos será feita em recipiente inquebrável, impermeável e desinfetado no “pass-through” localizado no corredor “descont.” (028). O transporte desse recipiente primário será feito em caixa termoplástica. Ambos os recipientes são identificados de forma a caracterizar o risco, o responsável, sua localização física e telefone de contato.

Em casos excepcionais – em que animais vivos tenham que ser utilizados em outro local que não no Laean – serão transportados em gaiolas com filtro (microisoladoras) com reforço do fechamento das tampas. Estas serão desinfetadas externamente antes de serem retiradas da área de experimentação NB-A2. Essa desinfecção é feita no “pass-through” da “descontaminação” (028). As gaiolas são, assim, transportadas até o “pass-through” do “hall” (001) de onde são levadas para fora do prédio do biotério. Em nenhuma hipótese, os animais manipulados no NB-A3 deixarão essas instalações. Todos os procedimentos experimentais com animais vivos serão realizados nesse ambiente de segurança.

5.3.1.5. Do acesso de animais

“As instalações para o cuidado dos animais devem incluir área de isolamento para a quarentena de animais que ingressam e área para armazenar os alimentos” (Anvisa 2003a).

- Os animais chegam ao biotério de experimentação pelo “air-lock” (034);
- As gaiolas de transporte, com os animais, são encaminhadas à “recepção animal” (032);
- As gaiolas de transporte são descontaminadas externamente com solução desinfetante;
- Os animais são transferidos para gaiolas apropriadas à espécie;

(Nota: As palavras entre aspas e os números entre parênteses referem-se a identificação das áreas conforme planta baixa – Anexo 5)

- As gaiolas com os animais são transferidas para a “quarentena” (023 e 023A) por meio do “pass-through”, localizado entre essas duas áreas;

- As gaiolas de transporte, se descartáveis, são desprezadas na “lixeira” (sem numeração). Se reutilizáveis, encaminhadas à “higienização” (006) para lavagem e desinfecção;

- Os animais provenientes do Centro de Criação de Animais de Laboratório (Cecal), que possuam certificado de qualidade microbiológica, são imediatamente transferidos para uma das áreas de experimentação animal NB-A2 ou NB-A3 pelo “air-lock” (022);

- Os animais provenientes de fornecedores, que não atestem o padrão sanitário dos animais, permanecerão em observação e serão transferidos para uma das áreas de experimentação após a liberação pelo veterinário responsável.

5.3.2. Dos processos de esterilização por calor e descontaminação química

5.3.2.1. Da esterilização por autoclavação

Antes do uso rotineiro da esterilização por autoclavação, tanto no acesso de materiais à áreas de experimentação, bem como na descontaminação de materiais provenientes da experimentação animal, deve ser demonstrada a efetividade dos ciclos de esterilização (Ohio, 1999). A certificação dos ciclos, bem como a calibração dos instrumentos e validação do equipamento, são fundamentais à segurança do processo.

Os materiais e insumos são distribuídos nas prateleiras do carrinho da autoclave ou no piso da câmara interna do equipamento de maneira a ter espaços livres entre os volumes, permitindo a livre circulação do vapor entre eles. Essa distribuição deve atender ao que foi pré-definido quando da validação do ciclo de esterilização e não pode ser modificada sem que novo processo de validação seja realizado.

Nunca se deve processar, por esses equipamentos, substâncias químicas perigosas, principalmente as inflamáveis (Ohio, 1999).

5.3.2.1.1. Da esterilização de materiais e insumos

A esterilização de materiais e insumos, no acesso às áreas de experimentação animal, objetiva a eliminação de contaminantes microbiológicos que possam vir a comprometer a saúde animal e humana e interferir nos padrões microbiológicos dos ambientes internos.

Os materiais e insumos a serem processados pela autoclave são os termoresistentes à alta temperatura (121°C ou 134°C).

Pela diversidade de materiais e insumos rotineiramente utilizados na manutenção zootécnica e operação das áreas de experimentação animal, alguns itens podem ser processados no mesmo ciclo de esterilização, desde que esse tenha sido certificado pelas análises de metrologia e validação recomendadas.

Os materiais e insumos a serem processados por autoclavagem são:

a) Rações peletizadas são acondicionadas em caixas de metal, abertas e perfuradas lateralmente, visando facilitar a penetração do calor entre os peletes. As caixas são distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave;

b) Maravalha e feno são acondicionados em saco de aninhagem, de estopa ou de papel. Os sacos de aninhagem e de estopa são fechados com corda de algodão e os de papel com grampos metálicos. São distribuídos nas prateleiras do carrinho da autoclave ou empilhados diretamente na câmara interna.

c) Frascos plásticos com água de bebida são acondicionados em caixas plásticas com aberturas laterais. As caixas são distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave ou empilhadas diretamente na câmara interna.

d) Gaiolas plásticas são empilhadas umas sobre as outras por serem auto-portantes. As de camundongos, em pilhas de (no máximo) 20 gaiolas, as de cobaias e coelhos, em pilhas de (no máximo) 10 gaiolas. As pilhas são distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave ou empilhadas diretamente na câmara interna do equipamento.

e) Comedores, suportes para frascos de água e rolhas com bico, estruturadas em aço inoxidável, são acondicionados em caixas de metal, empilhadas e distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave ou empilhadas diretamente na câmara interna do equipamento.

f) Tampas em aço inoxidável para gaiolas de camundongos são empilhadas, no máximo, com 30 tampas e distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave.

g) Formulários, fichas de papel, paramentação descartável (sintéticas) e panos em tecido de algodão são embalados em sacos plásticos resistentes à autoclavagem, fechados com fita adesiva ou acondicionados em caixas plásticas ou de metal. As embalagens ou caixas são arrumadas nas prateleiras do carrinho da autoclave

h) Material cirúrgico e de necropsia são acondicionados em caixas de metal com tampa. As caixas são distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave.

5.3.2.1.2. Da esterilização de materiais contaminados e carcaças animal

“Nenhum material biológico capaz de propagar o agente infeccioso poderá deixar o biotério antes de eliminada a viabilidade do agente infeccioso (por exemplo, a extração de ácidos nucleicos de órgãos ou células deverá ser realizada dentro do biotério)” (CTNBio 1997).

“Todo material proveniente dos animais geneticamente modificados deverá ser descartado de forma a impossibilitar seu uso como alimento por outros animais, salvo o caso em que este seja o propósito do experimento, ou se especificamente autorizado pela CIBio, CTNBio ou outra instituição competente, se aplicável” (CTNBio 1998a).

“Todo lixo de laboratório e da sala de animais deve ser adequadamente descontaminado antes de ser descartado” (CTNBio 1998a).

Com relação ao nível 3 de biossegurança animal (NB-A3), a IN n° 12 determina que:

“É necessário que exista a possibilidade de descontaminação de material dentro do biotério. Isto deverá ocorrer através da utilização de autoclave com porta dupla, uma abrindo pela Sala de Materiais e outra abrindo pela Sala de Animais ou Sala de Experimentação, se esta existir”.

A esterilização por calor é recomendada para vários tipos de líquidos e materiais sólidos infecciosos. Materiais que se incluem nessa caracterização são órgãos, sangue e outros tecidos, seringas e agulhas usadas, culturas microbianas, frascos, tubos, recipientes, carcaças de animais e resíduos da “cama” contaminados (Ohio 1999).

Quando forem utilizados sacos plásticos para embalar materiais com risco biológico, esses devem ser fechados com fitas adesivas resistentes à autoclavação, de forma que não se permita o extravasamento de líquido, mesmo quando virados de boca para baixo. Nunca abrir os sacos antes da descontaminação (Fiocruz 2003).

Materiais perecíveis (tecidos, órgãos e carcaças) que não possam ser descontaminados no mesmo dia, são mantidos sob refrigeração em equipamento destinado exclusivamente para essa finalidade (Fiocruz 2003).

Os materiais provenientes das áreas de experimentação que são descontaminados por autoclavação são representados por:

- 1) Gaiolas de animais retiradas das salas em pilhas de (no máximo) 20 gaiolas de camundongos e pilhas de (no máximo) 10 gaiolas de cobaias ou de coelhos. Transportadas em carrinhos de transporte e arrumadas diretamente no piso da câmara interna da autoclave.

(Nota: a “cama” (maravalha ou feno) com dejetos e outros resíduos são esterilizados dentro das próprias gaiolas de camundongos e cobaias. As gaiolas de coelhos não retém os dejetos que são coletados por bandejas de metal localizadas abaixo das gaiolas).

2) Dejetos de coelhos removidos das bandejas coletoras são esvaziados em saco plásticos resistentes à autoclavação, fechados com fita adesiva ou corda de algodão. Os sacos são acondicionados em bandeja que é colocada no piso da câmara interna da autoclave.

3) Bandeja coletora de dejetos empilhadas em número máximo de 10 unidades e arrumadas diretamente no piso da câmara interna da autoclave.

4) Resto de rações retiradas dos comedouros e ensacadas em sacos plásticos resistentes à autoclavação, fechados com fita adesiva. Os sacos são distribuídos nas prateleiras do carrinho da autoclave.

5) Frascos plásticos com resíduos de água de bebida acondicionados em caixas plásticas com aberturas laterais. As rolhas com bico de aço são retiradas dos frascos e colocadas em caixas de metal ou plástica. As caixas são distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave ou empilhadas diretamente na câmara interna.

(Nota: As rolhas com bicos de aço podem ser esterilizadas no mesmo ciclo utilizado para os frascos).

6) Comedouros e suportes para frascos de água em aço inoxidável, acondicionados em caixas de metal. Empilhados e distribuídos nas prateleiras do carrinho da autoclave ou depositados diretamente no piso da câmara interna.

7) Tampas em aço inoxidável para gaiolas de camundongos empilhadas em pilhas de no máximo 30 tampas. Distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave.

8) Material cirúrgico e de necropsia acondicionado em caixas de metal com tampa. As caixas são distribuídas nas prateleiras do carrinho da autoclave.

9) Equipamentos de proteção individual descartáveis acondicionados em sacos plásticos autoclaváveis, fechados com fita adesiva. Os sacos são distribuídos nas prateleiras do carrinho da autoclave ou arrumados diretamente no piso da câmara interna.

10) Paramentação acondicionadas em sacos plásticos autoclaváveis, fechados com fita adesiva. Os sacos são distribuídos nas prateleiras do carrinho da autoclave.

11) Seringa, gaze, algodão descartados em latas de lixo com saco plástico autoclavável, fechados com fita adesiva e depositados diretamente no piso da câmara interna da autoclave.

12) Perfuro-cortantes descartados em caixas apropriadas, ensacadas em saco plástico autoclavável e fechados com fita adesiva, distribuídos nas prateleiras do carrinho da autoclave.

13) Resíduos de varredura de piso ensacados em saco plástico autoclavável, fechados com fita adesiva e arrumados no piso da câmara interna da autoclave.

14) Formulários e fichas de papel embalados em saco plástico resistente à autoclavação, fechados com fita adesiva. As embalagens são arrumadas nas prateleiras do carrinho da autoclave.

15) Carcças embaladas em duplo saco plástico, fechados com fita adesiva de forma que, mesmo que tombe, não permita o extravasamento de líquido. São colocados dentro de uma gaiola para cobaias, arrumadas diretamente no piso da câmara interna da autoclave.

(Nota: A utilização da gaiola para cobaia, por possuírem bordas laterais altas, objetiva conter o derramamento de líquido, quando do rompimento do saco plástico).

5.3.2.2. Da desinfecção química

Nos processos de desinfecção química as bases desinfetantes utilizadas devem ser diversificadas e alternadas, visando a diminuir a formação de espécies microbianas resistentes (Mcdonnel & Russel 1999).

A diluição das substâncias desinfetantes devem ser as recomendadas pelo fabricante.

A validação dos processos de desinfecção deve ser realizada antes de serem adotados na rotina de operação no biotério.

5.3.2.2.1. Da desinfecção no “pass-through”

Os materiais a serem desinfetados nesse dispositivo são aqueles que, por serem sensíveis à alta temperatura, não podem ser esterilizados pela autoclave.

A desinfecção é realizada com produtos químicos líquidos, pulverizados, injetados ou liberados na câmara interna do “pass-through”. Esse processo deve ser validado para cada agente químico e material a ser processado.

Os itens a serem desinfetados são, sempre que possível, higienizados previamente com detergente neutro, enxaguados em água corrente e, na câmara do “pass-through”, pulverizados ou umedecidos em toda superfície com solução desinfetante.

Os materiais processados por esse método se caracterizam, normalmente, por não apresentar risco, ou mesmo ser, em nível muito baixo, não precível e resistente à umidade.

De fácil desinfecção – por apresentarem características construtivas sem reentrâncias – proporcionam facilidade de limpeza e higienização.

Os seguintes materiais são desinfetados no “pass-through”:

- a) Recipientes em material plásticos ou em metal;
- b) Embalagens plásticas de produtos diversos;
- c) Seringas e agulhas descartáveis (invólucro);
- d) Envelopes plásticos para fichas de identificação animal;
- e) Rações e maravalha esterilizadas previamente (invólucro);
- f) Material de limpeza (vassouras, rodos, baldes, etc.);
- g) Luvas plásticas (invólucro);
- h) Caixa de transporte de materiais com risco biológico;
- i) Equipamentos de pequeno porte, como balanças e centrífugas; e
- j) Gaiolas com filtros (microisoladores) contendo animal.

(Nota: As gaiolas para transporte de animais vivos do Laean para outra unidade não conterão “cama” (maravalha) e, no processo de desinfecção, o filtro, será protegido com fita adesiva, preservando sua integridade).

5.3.2.2.2. Da desinfecção no “air-lock”

A utilização desse ambiente para desinfecção se destina aos materiais e equipamentos que não podem ser esterilizados pela autoclave por serem sensíveis à alta temperatura ou aqueles que pela suas dimensões não caibam no “pass-through”.

As substâncias desinfetantes a serem utilizadas são as mesmas de que se faz uso no “pass-through” (aspergidas nas superfícies externas dos materiais e equipamentos).

Esse processo deve ser validado para cada agente químico e material a ser processado.

Os seguintes materiais e equipamentos são processados nesse ambiente:

- a) Estantes em metal para gaiolas;
- b) “Rack” em aço inoxidável para gaiolas microisoladoras;
- c) Estantes ventiladas para gaiolas;
- d) Carrinhos de transporte e carrinhos de serviço;
- e) Cabines de Contenção Biológica (CCB); e
- f) Armários, mesas, outros móveis e utensílios.

5.3.2.2.3. Da desinfecção de ambientes, bancadas e equipamentos

Todas as áreas de animais (incluindo as com risco) devem ser mantidas organizadas e limpas, a saber:

- 1) as superfícies de trabalho, com desinfetantes, antes do início do trabalho, imediatamente após derramamento ou respingo e ao final da atividade;
- 2) o piso deve ser desinfetado ou descontaminado a cada dia (ou semanalmente, como apropriado ao risco potencial); e
- 3) apropriado método para a retirada de poeira e sujidades devem ser utilizados (NRC 1997).

5.3.2.2.3.1. Dos ambientes

Os ambientes, incluídas as salas de animais, contam com utensílios e materiais de limpeza e desinfecção de uso exclusivo, não podendo ser utilizados em outras áreas. Esses materiais são identificados com o número do ambiente ou área para evitar a troca (Creighton University 2004). Cada sala de animal possui armário próprio para a guarda desses materiais. As demais áreas possuem ambientes específicos para essa finalidade.

As sujidades no piso são recolhidas com rodo e pá de lixo, evitando-se movimentos rápidos ou bruscos para não criar aerossóis (a seguir, são ensacadas e encaminhadas para a descontaminação).

Nos ambientes, excluindo-se as salas de animais e quarentena, o piso é lavado e desinfetado uma vez por semana.

Nas salas de animais a lavagem é realizada: uma vez por semana nas salas de camundongos e três vezes por semana nas salas de cobaias e coelhos. Enquanto o piso é desinfetado diariamente.

Na quarentena, segue-se o mesmo padrão de lavagem e desinfecção.

As paredes e teto são lavados e desinfetados uma vez por mês em todos os ambientes. Em função da espécie animal alojada e grau de sujidade apresentada, as salas de animais podem ser lavadas e desinfetadas mais vezes por mês, a critério do supervisor da área ou chefia do Laean.

A área de quarentena é desinfetada completamente (piso, paredes e teto) após os animais serem transferidos (para a área de experimentação), descartados e antes da recepção de novos animais.

5.3.2.2.3.2. Das bancadas

“Todas as superfícies deverão ser descontaminadas diariamente e sempre após o término de qualquer manipulação. Manipulações independentes em um mesmo dia necessitam descontaminações independentes” (CTNBio 1998a).

Ao finalizar o trabalho no ambiente “animais” ou “laboratório”, é de responsabilidade do usuário a desinfecção da mesa, bancada e carrinho de serviço utilizados, com gaze ou algodão embebido em álcool etílico 70° ou álcool iodado.

Retiram-se as sujidades e dejetos com gaze embebida em solução desinfetante. Desprezam-se na lata de lixo, efetuando-se, em seguida, a desinfecção.

No período da tarde, técnico do Laean faz a desinfecção de todas as superfícies de bancadas, armários, carrinhos de serviço como descrito acima, independente de terem sido usados.

As estantes para gaiolas de camundongos, cobaias e coelhos e outros móveis de uso nas salas de animais também são higienizados e desinfetados, por técnicos do Laean, uma vez por semana.

5.3.2.2.3.3. Dos equipamentos

“As superfícies de trabalho das cabines de segurança e de outros equipamentos de contenção devem ser descontaminadas sempre ao término do trabalho com moléculas de DNA/RNA recombinantes” (CTNBio 1997).

Ao finalizar o trabalho no ambiente “animais” ou “laboratório”, é de responsabilidade do usuário a desinfecção dos equipamentos utilizados, com gaze embebida em álcool etílico 70°.

Os equipamentos de manutenção animal, “rack” para gaiolas microisoladoras e estantes ventiladas são higienizados e desinfetados uma vez por semana pela equipe do Laean.

5.3.3. Do treinamento

5.3.3.1. Treinamento básico para início de atividade experimental

“O Pesquisador Principal deve estabelecer políticas e procedimentos com ampla informação a todos que trabalhem no laboratório sobre o potencial de risco relacionado ao trabalho, bem como sobre os requisitos específicos para entrada

em laboratório e em salas onde ocorra manipulação de animais” (CTNBio 1997).

A instrução normativa nº 12 da CTNBio reafirma essa responsabilidade:

“O Pesquisador Principal garantirá o cumprimento destas normas, em conformidade com o CQB e sob supervisão da CIBio. Ele assegurará que todas as pessoas envolvidas no trabalho sejam conscientizadas dos riscos envolvidos e que sejam devidamente treinadas para o cumprimento destas normas” (CTNBio 1998a).

Os profissionais envolvidos devem receber treinamento adequado sobre os potenciais riscos, associados com o trabalho em que estão envolvidos, orientação para as precauções necessárias para prevenir exposições durante o desenvolvimento de práticas experimentais. O reforço de treinamento é anual e adicional quando houver mudanças de procedimentos ou políticas de biossegurança (WHO 2001, 2003).

Propõe-se, portanto, a adoção das recomendações da FELASA (FELASA 1995, 2000) e do Manual para Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (NRC 2003) bem como a instituição de um manual de treinamento básico de experimentação animal, obrigatório para todos os técnicos que venham a desenvolver atividades no biotério de Bio-Manguinhos.

De acordo com as recomendações acima mencionadas os seguintes aspectos seriam abordados no referido manual:

- Estar ciente das legislações nacionais e recomendações relativas à conduta experimental e outros procedimentos experimentais com animais e de biossegurança;
- Estar ciente dos aspectos sociais e éticos relacionados à experimentação animal;
- Entender e respeitar as regras gerais do biotério, as de biossegurança e onde, como e porquê os procedimentos são realizados;
- Entender teoricamente a base das tarefas a serem realizadas, para preservar o bem-estar animal, a relevância das finalidades científicas e a biossegurança;
- Ser competente no manuseio de animais e de outras técnicas relacionadas à experimentação animal;
- Ser hábil para reconhecer a dor e o desconforto assim como saber avaliar o “status” de bem-estar do animal com que esta trabalhando;
- Estar ciente da necessidade e ser capaz de ações apropriadas, quando eventos adversos ocorrerem durante ou seguido ao experimento;

- Ser conhecedor dos aspectos concernentes ao uso de animais de laboratório e, competente para aplicar medidas apropriadas visando minimizar interferência de fatores, que afetam seu o bem-estar, quando procedimentos são conduzidos; e

- Ter conhecimento dos Procedimentos Operacionais Padrão (POP) em uso no Laean e aos que dizem respeito à experimentação animal e biossegurança.

Complementando o treinamento haverá o acompanhamento, pelo período mínimo de 30 dias, por profissional com experiência comprovada em experimentação animal. Este orientará o neófito nos procedimentos do biotério e práticas experimentais, necessárias ao desenvolvimento dos ensaios biológicos.

Os profissionais e técnicos – que comprovem formalmente a realização de cursos ou treinamentos em experimentação animal – podem ser dispensados do treinamento básico, a critério do pesquisador principal, do responsável pelo Laean e da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) de Bio-Manguinhos.

5.3.4. Da identificação dos riscos

5.3.4.1. Da identificação de riscos nos ambientes e de equipamentos

“Deve ser colocado um aviso sinalizando o risco, identificando o agente e o nome do Pesquisador Principal, endereço completo e diferentes possibilidades de sua localização ou outra pessoa responsável” (CTBio 1997).

“Todos os requisitos necessários para a entrada no laboratório devem estar assinalados na porta de entrada” (CTNBio 1977).

“O símbolo de advertência de risco biológico deve ser afixado em portas e em outros lugares apropriados e identificando-se o (s) agente (s) infeccioso(s) em uso” (WHO 2003).

As portas de acesso às áreas NB-A2 e NB-A3 serão identificadas com o símbolo de risco biológico e conterão aviso informando que *“somente pessoas autorizadas podem entrar nessas áreas”*.

Os “air-locks”, destinados à paramentação (NB-A2) ou troca de roupa (NB-A3), serão identificados com os símbolos dos EPIs de uso obrigatório para acesso às áreas de experimentação animal.

A porta de acesso de cada sala de animal conterá o símbolo de biossegurança, a identificação do nível de risco, o(s) agente(s) infeccioso(s), o nome do pesquisador principal, sua localização física na instituição e telefones do trabalho e de uso pessoal.

Nos ambientes haverá a indicação da rota de fuga para os casos de emergência. Essas indicações direcionam o técnico para a saída mais próxima da sua localização.

O equipamento, quando for o caso, será identificado com seus riscos inerentes, tais como risco biológico no caso de cabines de contenção biológica (CCB), risco físico – baixa ou alta temperatura – no caso de congeladores ou autoclave, respectivamente.

5.3.4.2. Da identificação dos animais

As gaiolas dos animais serão identificadas com ficha que conterá informações, tais como: a data de recebimento, a espécie animal, (sexo, peso e número de animais), laboratório usuário (responsável técnico e contatos telefônicos) e indicação do risco biológico.

O funcionário da Laean, no recebimento dos animais, preencherá os campos correspondentes à espécie animal, data de recebimento, sexo, peso, laboratório usuário, responsável técnico (telefone), fixando a ficha na gaiola.

O laboratório usuário será o responsável por sinalizar na ficha se há (ou não) risco biológico envolvido no experimento. Em caso afirmativo, informa-se o agente de risco.

Essa ficha é de uso obrigatório e permanente, não podendo ser removida da gaiola. Seu verso pode ser utilizado para anotações diversas, bem como outras fichas podem ser utilizadas e fixadas na gaiola.

Os coelhos são identificados individualmente por tatuagem a tinta na parte interna do pavilhão auricular, conforme número recebido na ficha de identificação. Camundongos e cobaias, por serem alojados em grupos, não são identificados individualmente. Caso seja necessária a identificação individual, são marcados com solução de azul de metileno em diversas regiões do corpo, padronizadas e constantes da ficha de experimento.

5.3.5. Manipulação de animal envolvido com risco biológico

Os experimentos desenvolvidos no Laean se limitam ao nível de risco 2 e, em sua totalidade, utilizam camundongos para os ensaios biológicos. Coelhos e cobaias são utilizados nos controles de qualidade de vacinas, produção de soro hiperimune, teste de imunogenicidade, entre outros, os quais não apresentam risco biológico ou são do nível 1.

Visando separar os materiais com risco daqueles que não os contêm, a manipulação zootécnica de camundongos será realizada às segundas-feiras, sendo reavaliada a necessidade de nova troca de gaiolas e acessórios às quintas.

A manutenção de coelhos e cobaias será realizada às terças-feiras e a reavaliação da necessidade de nova troca de gaiolas e acessórios, nas sextas.

Desta forma, pretende-se separar, nos dias da semana, os materiais que são, obrigatoriamente, esterilizados por autoclavagem. Todas as gaiolas e acessórios de camundongos (que forem retirados das salas nesses dias da semana) são esterilizados em autoclave, mesmo aqueles sem risco biológico.

5.3.5.1. Manipulação de camundongos

Essa espécie animal será alojada em sistema de gaiolas microisoladoras, as quais isolam o ambiente interno da gaiola do ambiente da sala. O sistema de circulação de ar faz com que o ar filtrado entre na gaiola por válvula individual, circule no interior da gaiola e na saída atravesse o filtro localizado na parte superior da gaiola. Ali, é captado pelo sistema de exaustão, onde o ar é novamente filtrado antes de ser liberado no ambiente da sala. Esse sistema permite ambiente isolado entre gaiolas do mesmo “rack”.

A manipulação animal é realizada na cabine de contenção biológica (CCB) e os seguintes procedimentos são básicos para preservar a qualidade sanitária dos animais e contenção do risco biológico:

- Ligar a CCB 10 minutos antes de iniciar a manipulação animal,
- Limpar e desinfetar a CCB, se necessário à prática experimental,
- Separar no interior da CCB área para material limpo e usado,
- Retirar a gaiola do “rack” e levá-la a CCB,

(Nota: - Não manipular na CCB mais que uma gaiola por vez).

- Abrir a gaiola, retirando os animais e procedendo a manipulação experimental,
- Ao término da manipulação, fechar devidamente a gaiola e recolocá-la no “rack”.

Na troca de gaiolas, realizada pela equipe do Laean, os procedimentos são realizados como descrito acima, sendo a manipulação dos animais realizada com pinça, que é submersa em álcool etílico 70% a cada nova troca de gaiola.

- A CCB é previamente arrumada com gaiolas limpas e acessórios,

- Cada gaiola é individualmente levada à CCB. Seguem-se os procedimentos subsequentes:

- A tampa com filtro é retirada,
- Retira-se o frasco para água, colocando-o em engradado ou caixa plástica fora da CCB,

- Retira-se a grade de aço e efetua-se a troca dos animais, fazendo uso de pinça,
- Submerge-se a pinça em álcool etílico 70%,
- Repõe-se a grade de aço,
- Coloca-se novo frasco para água e ração, se necessário,
- Fecha-se a gaiola com a tampa com filtro e a repõe no “rack”.

5.3.6. Vacinação

“Quando organismos contendo moléculas de DNA/RNA recombinantes estiverem sendo manipulados são exigidos requisitos especiais para a entrada de pessoal no laboratório (por exemplo a vacinação)” (CTNBio, 1997).

“Quando apropriado, estas pessoas deverão estar vacinadas contra os agentes infecciosos relacionados ao experimento” (CTNBio, 1998a).

Medidas profiláticas como imunizações são recomendadas de acordo com o tipo de exposição e o agente infeccioso envolvido (como exemplo: vacina contra hepatite B, febre amarela, raiva e poliomielite e toxóides tetânico e diftérico) (NRC 1997).

Importante observar que todos os técnicos que trabalhem com animais de laboratório devem estar vacinados contra o tétano. Apesar da vacinação ter validade de dez anos, deve ser refeita nos casos de mordidas ou arranhões de animais, a critério médico (Creighton University 2004).

A indicação das vacinas para a imunização dos técnicos compete ao pesquisador principal e ao supervisor do Laean, consoante com a área médica da instituição.

Quanto ao corpo técnico do Laean, são adotadas, compulsoriamente, as imunizações contra difteria, tétano, febre amarela e hepatite B.

Para os técnicos dos laboratórios usuários do Laean, deve-se considerar todo o contexto dos riscos a que estão sujeitos no ambiente do biotério, além dos agentes envolvidos no experimento.

As datas das imunizações devem ser confirmadas, registradas e monitoradas para revacinação, quando expirar o prazo de cobertura vacinal.

Na hipótese de novos experimentos, em que exista imunização contra o agente, os técnicos do Laean devem ser vacinados, recorrendo-se anteriormente à opinião médica.

5.3.7. Das recomendações gerais

- Não é permitido fumar, beber, comer, guardar alimentos, aplicar cosméticos, manusear lentes de contato.

- Não é permitido pipetar com a boca. Utilizar pipetador automático ou pêra de borracha.

- Antes de manipular qualquer substância química, leia atentamente o rótulo ou bula.

- Vidrarias quebradas devem ser segregadas para descarte.

- Ao manipular substâncias químicas ou superfícies quentes, utilize luvas de proteção adequadas.

- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas ao menos uma vez ao dia (e toda vez que ocorrer o derramamento de substância potencialmente perigosas).

- Lavar as mãos sempre ao retirar luvas e antes de sair do laboratório ou biotério.

- Não tocar com as mãos a boca, olhos, nariz e face do rosto.

- Evite usar agulhas e seringas. Quando possível, utilize agulhas sem ponta ou cânula.

- Manusear animais com cuidado e utilizar métodos apropriados de contenção para evitar mordida e arranhão.

- Executar as práticas de maneira a se evitar a formação de aerossóis.

- As portas dos ambientes laboratoriais devem permanecer fechadas.

- É proibida a entrada de crianças no biotério.

- Todos os acidentes devem ser comunicados ao responsável ou pesquisador principal.

5.3.8. Plano de emergência

“A preservação da vida se sobrepõe à contenção do risco” (Majerowicz 2004)²

Na ocorrência de alguma emergência, proceder conforme instrução a seguir:

- Interromper a atividade.

- Acionar o alarme, se houver e for o caso.

Além disso, em instalações para o nível 3 de biossegurança a IN n° 12 determina:

“Dentro de cada sala deverá haver um sistema de alarme capaz de acionar as medidas necessárias, sem que haja necessidade do usuário acidentado deixar o biotério sem seguir as normas de descontaminação, o que poderia aumentar a gravidade do acidente” (CTNBio, 1998a).

- Desligar os equipamentos que não sejam vitais aos animais, desde que não se exponha a maiores riscos.
- Retirar os EPIs, conforme instruções de saída da área de risco.
- Sair pelo fluxo normal de saída ou utilizar a saída de emergência, se mais próxima de sua localização.
- Evitar correr.
- Seguir as instruções do grupo responsável pelo abandono de área.

5.3.9. Das autorizações

5.3.9.1. Autorização de acesso às instalações de experimentação animal

A instrução normativa nº 7 cita:

“O acesso ao laboratório deve ser limitado ou restrito de acordo com a definição do Pesquisador Principal, quando estiver sendo realizado experimento”(CTBio 1997).

Essa determinação legal é reafirmada na instrução normativa nº 12.

“Para todos os níveis de segurança os biotérios deverão possuir, no mínimo, as seguintes características: A porta principal deverá estar sempre trancada. O acesso ao biotério deverá ser restrito às pessoas credenciadas, conforme determinado pela CIBio da Instituição...” (CTBio 1988a).

“O diretor do biotério deve estabelecer políticas, procedimentos e protocolos para todos os procedimentos e acesso a essas instalações” (WHO 2003).

Essas citações se aplicam ao nível 1 de biossegurança. Para os demais níveis, são acrescidas exigências que visam a aumentar a segurança no acesso às instalações de animais.

Atendendo aos preceitos legais, recomendação internacional e Portaria da presidência da Fiocruz para a manipulação de riscos biológicos (Fiocruz 1998), a adoção de um protocolo de experimentação animal cumpre, certamente, esse papel e permite estabelecer dados relevantes a serem avaliados para o entendimento dos riscos associados ao experimento e que devam ser considerados no plano de segurança.

(2) Citação do autor.

A co-responsabilidade entre o pesquisador principal e o responsável pela área de experimentação animal deve existir, de forma que possam compartilhar tanto as decisões quanto as ações a serem antecipadamente definidas e a serem adotadas em cada caso específico.

O protocolo deve abranger, além das questões de biossegurança, condições particulares de manutenção, ética e bem-estar animal. É um meio que auxilia a conscientização dos aspectos éticos e desperta o interesse em aprimoramento de técnicas recomendadas e aplicáveis a animais de laboratório, pelos profissionais envolvidos na experimentação animal.

A autorização para o desenvolvimento de experimentação animal será licenciada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – Fiocruz), de acordo com a Portaria 242/99-PR de 19/11/99,

“Toda e qualquer atividade que envolva o uso de animais de laboratório no âmbito da Fiocruz, deverá ser previamente submetida à análise e aprovação da CEUA-Fiocruz, a partir de 31 de março de 2000” (Fiocruz 2004)

O protocolo que apresentamos a seguir foi baseado no que é empregado na Universidade da Califórnia (UCD 2004).

Protocolo de Experimentação Animal

1. Responsabilidade

Responsável:	Dept.	Telefone
Co-responsável:	Dept.	Telefone
Co-responsável:	Dept.	Telefone
Outro:	Dept.	Telefone

2. Espécie(s) Animal

2.1.Nome comum:

2.2. Número estimado por ano:

2.3. Origem dos animais:

2.4. Número total no projeto:

3. Localização do Biotério:

4. Validade

Este protocolo é para revalidação? Sim Não

Em caso positivo, qual o número?

5. Descreva sucintamente os procedimentos experimentais a serem empregados com os animais no projeto. NÃO USE ANEXOS. Estas informações irão auxiliar aos bioteristas na definição dos procedimentos de manejo animal.

6. Requerimentos Especiais

Esses animais requerem algum cuidado especial ? Sim Não.

Se não for indicado nenhum cuidado especial, os animais serão mantidos de acordo com os padrões do biotério.

6.1. Temperatura : (°C): Umidade (%): Horas luz / horas escuro:

6.2. Tipo de Gaiola: Com filtros? Sim Não Trocas por semana:

6.3. Forração da gaiola: Autoclavada? Sim Não Trocas por semana:

6.4. Água (estéril, acidificada, clorada etc.)

6.5. Requerimento alimentar: Dieta especial?

Se houver outro que não “*ad libitum*”, indique a quantidade:

7. Verifique os Procedimentos Abaixo e Assinale sua (s) Opção (s)

7.1. Instruções para animais doentes:

Comunicar ao responsável []

Tratamento clínico []

Sacrificar []

7.2. Instruções para descarte de animais mortos:

Comunicar ao responsável []

Necropsia []

Descartar em saco apropriado []

8. Materiais com Risco:

Indicar agente infeccioso, carcinogênico ou químico PRESENTE NA SALA DE ANIMAIS:

8.1. Agente Infeccioso? [] Sim [] Não

Agente(s):

8.2. Carcinogênico? [] Sim [] Não

Agente(s):

8.3. Químico? [] Sim [] Não

Agente(s):

9. Descreva, em detalhes, como cada grupo animal, acima definido, será tratado. Descreva cada procedimento a que serão submetidos os animais nos diferentes grupos.

Inclua uma lista dos agentes físicos, químicos e biológicos (nome, dose, rota, frequência) que deve ser administrado.

10. Esses Animais Serão Utilizados Para a Produção de Anticorpos?

Sim Não.

Em caso positivo, complete a secção abaixo:

10.1. Anticorpos Policlonal ou Monoclonal?

policlonal monoclonal

Se Monoclonal, produzirá ascite ou neoplasia nos animais?

Sim Não

10.2. Que tipo(s) de antígeno(s) será(ão) utilizado(s)?

10.3. Os antígenos são esterilizados?

10.4. Que adjuvante será utilizado na inoculação inicial?

10.5. Que adjuvante será utilizado nas inoculações subseqüentes?

11. Procedimentos de Inoculação

11.1. Que via será utilizada para as inoculações?

11.2. Qual a localização anatômica das inoculações?

11.3. Quantas inoculações serão realizadas por vez?

11.4. Com que frequência serão realizadas?

11.5. Que volume será injetado em cada local?

15. O estudo envolve alguma manipulação invasiva não cirúrgica?

(cateterização, coleta de sangue, entubação, etc.?)

Sim Não

Em caso positivo, descreva a manipulação no espaço abaixo:

16. Serão os animais contidos, enquanto conscientes, em sistema de contenção?

(gaiolas metabólicas, calhas ou outro meio). Sim Não

Em caso positivo, descreva o método de contenção no espaço abaixo:

16.1. Método de Contenção

16.2. Duração da contenção (em minutos, horas ou dias):

16.3. Frequência da contenção:

17.. Serão os Animais Submetidos a Jejum? Sim Não

17.1. Em caso positivo, indique a duração do jejum?

17.2. Com que frequência o animal será submetido ao jejum?

18. Descreva potenciais efeitos adversos do procedimento experimental no animal (dor, desconforto, redução do crescimento, febre, anemia ou outro sinal clínico agudo ou crônico ou deficiência nutricional/neurológica ou comportamento anormal).

(Nota: Se algum efeito não descrito ocorrer durante o período de estudo, uma completa descrição desse(s) efeito(s) e das medidas para atenuá-lo(s) devem ser encaminhadas para complementar este protocolo).

18.1. Como os sinais listados serão atenuados ou aliviados? Se os sinais não são atenuados ou aliviados, justifique.

18.2. A morte do animal é “ponto final” do procedimento experimental? [] Sim [] Não

(Nota: “Ponto final” refere-se aos estudos em que o animal não é sacrificado, mas morre como resultado direto do experimento. Se a morte é o “ponto final”, explique por que não é possível sacrificar o animal antes desse ponto do estudo. Se for possível sacrificar o animal antes do “ponto final”, descreva os sinais clínicos que irão indicar que o animal deva ser sacrificado)

19. Foi Pesquisada a Literatura para determinar que:

19.1. Não há metodologia alternativa para a condução desse estudo?

19.2. Há metodologia alternativa, mas não é apropriada para este estudo em particular?

19.3. Que base de dados específica foi pesquisada?

19.4. O que foi encontrado com respeito a metodologias alternativas?

19.5. Este estudo já foi previamente realizado? Em caso positivo, explique por que é cientificamente necessária a repetição do experimento.

20. Descarte dos Animais

20.1. Em que ponto, se houver, os animais serão sacrificados?

20.2. Métodos de eutanásia:

Espécie Animal	Metodologia de Eutanásia

21. Equipe envolvida no projeto: Indique os nomes de todos que irão trabalhar com os animais nesse projeto. Exclua os bioteristas que trabalhem diretamente no biotério em que os animais serão alojados. Inclua todos os investigadores, estudantes, pesquisadores associados e assistentes laboratoriais que irão trabalhar com os animais. Todos os indivíduos que trabalhem com os animais devem ter treinamento apropriado.

O investigador principal é o responsável pela atualização dessa listagem. Se alguém for acrescentado ou retirado desse projeto, deve ser informado.

Nome	Matrícula	Cargo / Função	Departamento	Laboratório

22. Garantia Para o Cuidado Humanitário e Uso de Animais

22.1. Declaração do Pesquisador Principal

Tenho conhecimento e concordo em cumprir os procedimentos institucionais para o bem-estar animal. Este projeto será administrado conforme o Manual para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (NRC 2003). Eu atenderei as Leis Federais, Estaduais e Municipais que regulamentem o uso de animais em pesquisa. Eu informarei, por escrito, ao responsável pelo Laboratório de Experimentação Animal qualquer mudança significativa nos procedimentos ou pessoal envolvidos neste projeto.

_____ / _____
Pesquisador Principal

Data

22.2. Veterinário Responsável

Os tipos e quantitativos de medicamentos, analgésico, anestésico, ou tranqüilizante demonstrados acima são apropriados pelos padrões profissionais atuais para aliviar a dor e aflição dos animais, como justificado acima pelo pesquisador. Os Métodos de eutanásia são compatíveis com as recomendações nacionais.

5.3.9.2. Autorização de acesso em dias não úteis e horários especiais

Em caso de necessidade de atividades de experimentação animal, em horário fora do expediente ou em dias não-úteis, será solicitada, por formulário próprio, a devida autorização com antecedência mínima de quarenta e oito horas. Essa autorização é subscrita pelo pesquisador principal pelo experimento. Faz parte ainda deste item:

a) Pelo menos um funcionário do Laean será designado como plantonista para estar presente e dar o devido suporte operacional aos técnicos que desenvolverão as atividades experimentais;

b) Os técnicos autorizados serão identificados e devem estar relacionados nos protocolos de experimentação do Laean e da CEUA; e

c) Caso seja necessária a utilização de equipamentos, materiais ou insumos estes devem ser relacionados no formulário.

Formulário de Solicitação de Acesso em Horário Especial

Esse formulário destina-se à solicitação de acesso ao Laean em horário fora do expediente ou em dias não-úteis.

1. Solicitação em:

Data: / /

2. Data e horário especial:

Dia: / / Horário de início previsto: Horário de término previsto:

3. Identificação do Projeto:

Número do protocolo Laean:

Número Protocolo CEUA:

4. Autorização de Acesso para:

Nome: Dept. Telefone

Nome: Dept. Telefone

Nome: Dept. Telefone

Nome: Dept. Telefone

5. Equipamentos, Materiais e Insumos

Relacionar os equipamentos, materiais e insumos necessários ao desenvolvimento da atividade.

5.1. Equipamento

5.2. Material

5.3. Insumo

6. Autorização do Pesquisador Principal

Nome: Assinatura:

7. Plantonista do Laean

Nome: Assinatura:

Nome: Assinatura:

Nome: Assinatura:

8. De acordo da Chefia do Laean

Nome: Assinatura:

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proposta de se construir um novo biotério de experimentação animal para atender às necessidades de atividades com animais de laboratório do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos surgiu em final de 1996. Baseou-se em estudo realizado por empresa especializada em engenharia, no qual se concluiu que os custos de reforma do atual prédio seriam equivalentes ao de uma nova construção. Além dos custos, outros fatores foram considerados para essa tomada de decisão.

O número de salas de animais, nas atuais instalações, em número de quatro, são insuficientes para a demanda crescente de projetos de desenvolvimento tecnológico que utilizam animais de laboratório. As novas instalações contarão com oito salas na unidade NB-A2 e um complexo NB-A3, atendendo à segregação dos riscos por categoria microbiológica, por grupo de trabalho ou, ainda, para atendimento a BPF, no que diz respeito ao controle biológico de imunobiológicos.

O sistema de condicionamento de ar atual, apesar de atender aos quesitos de temperatura, troca de ar e ventilação, foi projetado sem filtração terminal de ar no insuflamento, portanto não atendendo aos requisitos para manutenção sanitária dos animais. A umidade relativa do ambiente é controlada pela condensação da umidade do ar quando do seu resfriamento. Está, portanto, sujeita às variações das condições ambientais externas.

Outro fator é a captação do ar, hoje insuficiente para manter os níveis de odores e gases dentro de padrões recomendados. A pressão diferencial de ar é oposta à recomendada, ou seja, positiva nas salas dos animais em relação aos corredores adjacentes. As futuras instalações, porém – como descrito anteriormente – atenderão a essas premissas, permitindo um controle efetivo de todos os parâmetros de meio ambiente recomendados ao bem-estar animal e segurança ambiental.

Fora isso, atualmente, há uma única autoclave que se destina tanto à esterilização como à descontaminação, sejam de materiais e insumos, como de carcaças e de materiais com risco biológico. Dessa forma, os procedimentos são realizados em turnos diferentes para se evitar o cruzamento de fluxos de materiais limpos e sujos. As futuras instalações contarão com três autoclaves dedicadas a finalidades distintas, sendo uma exclusiva na descontaminação da área NB-A3.

O único corredor de serviço (atualmente existente) traz como consequência um contra-fluxo de materiais limpo e sujo, o que é contornado com a adoção de horários diferenciados para seu manuseio. O mesmo ocorre com relação ao fluxo de animais e pessoas em função de um único corredor de serviço. No futuro, o fluxo de todos os elementos será unidirecional, não havendo, portanto, cruzamento de fluxos.

A iluminação da instalação atual é adequada e atende quanto à intensidade de luz, porém não há controle de fotoperíodo, o que se agrava pela existência de janelas nos corredores que permitem a incidência de luz natural nas salas dos animais. Esses dois quesitos estarão contemplados nos projetos do futuro biotério: não havendo a incidência de luz solar nos ambientes de alojamento dos animais e perfazendo-se o efetivo controle (por sistema automatizado do ciclo de luz claro e escuro) garantir-se-á o ciclo circadiano recomendado às espécies animal alojadas.

O prédio atual não possui uma área de quarentena e não há, nessas instalações, local para o preparo de produtos ou manipulação de culturas de microrganismos (ou mesmo para preparo de diluições dos produtos a serem testados pelo controle de qualidade). Não existe, tampouco, uma área específica para manuseio de animais doentes ou qualquer atividade pós-experimental. Nas futuras instalações, além da quarentena com salas para atender, concomitantemente, a possível demanda de duas espécies animal, ou mesma espécie animal de origens diferentes, estão projetadas áreas para manuseio de produtos, culturas de microrganismos, a serem testados nos animais, e um laboratório para manuseio de animais pós-experimentação.

Por esses motivos, fica a patente – a nosso ver – a decisão acertada de buscar uma estrutura que ofereça condições a experimentação animal com maior confiabilidade e reprodutibilidade assegurada. Deixarão de existir, por conseguinte, as interferências que uma instalação sem as condições ambientais e de infra-estrutura operacional adequadas, podem causar ao desenvolvimento de pesquisas e desenvolvimento tecnológico.

7. ANEXOS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afif MO, Rosenkranz A. **Guia para el uso de animales de laboratorio**, parte I. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá; 1990.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medidas para ampliar qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos. Brasília: ANVISA. **Rev. Saúde Pública** 2003;37(6):821-824.

_____. **Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos**. Resolução RDC nº 210 [on line] Brasília: ANVISA; 2003a. [Capturado em 18 mar. 2004] Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/210_03rdc.pdf

American College of Laboratory Animal Medicine (ACLAM). **Position statement on animal experimentation** [on line]. Illinois, United States; 2004. [capturado em 18 abr. 2004] Disponível em: http://www.aclam.org/PDF/pub_animal_experimentation.pdf

Baker DG. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. **Clin Microbiol Rev** 1998 Apr.;11(2):231-266.

Berg P, Baltimore D, Brenner S, Roblin RO, Singer MF. Summary statement of the Asilomar conference on recombinant DNA molecules. **Proc Natl Acad Sci USA**, 1975 Jun; 72(6):1981-4

Besch EL. Environmental quality within animal facilities. **Lab Animal Sci** 1980;30(2):385-406.

Bitencourt MS. **Análise do comportamento e conhecimento em biossegurança de profissionais que trabalham em área de risco biológico no hemosc**. Florianópolis; 2002. Mestrado [Dissertação no Programa de pós-graduação de Engenharia de produção] - Universidade Federal Santa Catarina.

Braggio MM, Martins ARS, Valero VB. Influência do manejo na produtividade e no desenvolvimento de camundongos (*Mus musculus*). **Arq Inst Biol** 2003;70(2):169-173.

Brasil. Ministério da Ciência e Tecnologia. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Instrução Normativa nº 1, **Emissão do certificado de qualidade em biossegurança**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, 6 set. 1996, seção 1, páginas 17694–17696

_____. Instrução Normativa nº 7, **Normas para o trabalho em contenção com organismos geneticamente modificados – OGMs**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, 9 jun. 1997, seção 3, páginas 11827–11833.

_____. Instrução Normativa nº 12, **Normas para trabalho em contenção com animais geneticamente modificados**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, 28 mai. 1998a, seção 1, páginas 10–12.

_____ Instrução Normativa n° 13, **Importação de animais geneticamente modificados para uso em trabalhos de contenção**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, 2 de jun. 1998b, seção 1, página 28.

_____ Instrução Normativa n° 15, **Normas para o trabalho em regime de contenção com animais não geneticamente modificados onde organismos geneticamente modificados - OGMs são manipulados**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, 14 de jun. 1998c, seção 1, páginas 14–15.

_____ **Caderno de biossegurança legislação** [on line] Brasília, Brasil; set. 2002 [capturado em 14 de abr. 2004] Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/ctnbio/legis/Publicacao.pdf>

Brunetti MM. Critical aspects in the application of the principles of good laboratory practice (GLP). **Ann Super Sanita** 2002;38(1):41-45.

Canadian Council on Animal Care (CCAC). **Guide to the Care and Animal Use of Experimental**. Ottawa: 2. ed; Olfer ED, Cross BM, McWilliam AA, 1993. 1 v.

Cardoso TAO. Programa arquitetônico de biotérios. In: Teixeira P, org. **Curso de Aperfeiçoamento em Biossegurança**. Rio de Janeiro: EAD/Ensp; 2000. p.21-42.

_____ Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. **Bol Centr Panam Fiebre Aftosa** 2001;64-67:3-17.

Center for Disease Control and Prevention (CDC) & National Institutes of Health (NIH). **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories**. Washington: 3. ed; HHS publication n° 93-8359, 1993.

Clough G. Environmental Effects on animals used in biomedical research. **Biol Rev** 1982;57:487-523.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). **Manual para Técnicos em Bioterismo**. São Paulo: 2. ed; De Luca RR, Alexandre SR, Marques T, Souza NL, Merusse JLB, Neves SP. Winner Graph; 1996.

Committee for the Purpose of Control and Supervision on Experiments on Animals (CPCSEA). Guidelines for laboratory animal facility. **Indian J Pharmacol** 2003;35:257-274.

Costa MAF. **Biossegurança: Segurança química básica para ambientes hospitalares e biotecnológicos**. São Paulo: Santos; 1996.

Creighton University. **Standard Operating Procedures**. [on line] Omaha: USA. 2004. [capturado em 14 nov. 2004]. Disponível em: http://www.creighton.edu/researchcompliance/IACUC/Animal_Resource_Facility_SOP.pdf

Dent NJ. Essentials of quality in “the gold Standard veterinary clinical trial”. **Qual Assur** 1998;6(3):16-72.

Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA). FELASA recommendations for the education and training of persons working with laboratory animals: categories A and C. **Lab Anim.** 1995;29:121-131.

_____. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig and rabbit experimental units. **Lab Anim.** 1996 nov.;30:193-208.

_____. FELASA guidance paper for the accreditation of laboratory animal diagnostic laboratories. **Lab Anim.** 1999;33(suppl 1),51:19-51.

_____. FELASA recommendations for the education and training of persons carrying out animal experiments (category B) **Lab Anim.** 2000;34:229-235.

Festing MF. Genetic variation in outbred rats and mice and its implications for toxicological screening. **J Exp Anim Sci** 1993;35(5-6):210-220.

Fundação Oswaldo Cruz. Comissão Técnica de Biossegurança (CTBio). **Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ.** Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 1998.

_____. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos). **Descarte de material de risco biológico.** Procedimento operacional padrão nº 101030.027. Rio de Janeiro: Bio-Manguinhos; 2003.

_____. Vice-Presidência de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico. **Comissão de Ética no Uso de Animais.** [on line] Rio de Janeiro: Fiocruz; 2004. [capturado em 16 set. 2004] Disponível em: <http://www.fiocruz.br/presidencia/vppdt/index.htm>

Górska P. Principles in laboratory animal research for experimental purposes. **Med Sci Monit** 2000;6(1):171-180.

Hessler JR, Moreland AF. Design and management of animal facilities. In: Fox JG, Cohen BJ, Loew FM, eds. **Laboratory Animal Medicine.** Orlando. Academic Press; 1984.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro). **Critérios para o credenciamento de laboratórios de ensaios segundo os princípios BPL – Boas Práticas de Laboratório,** Norma nº NIT-DICLA-028. 2003. [capturado em 18 mar. 2004] Disponível em: www.inmetro.gov.br/kits/nitdicla028r01.doc.

International Veterinary Information Service (IVIS). Quality Assurance / surveillance monitoring programs for rodent colonies. In: Reuter JD and Suckow MA, eds. **Laboratory Animal Medicine and Management.** New York; 2003.

Invernizzi E. Compatibility of different quality control system. **Ann Super Sania** 2002;38(1):47-51.

Jain M, Baldwin AL. Are laboratory animals stressed by their housing environment and are investigators aware that this stress can affect physiological data? **Med Hypotheses** 2003;60(2):284-289.

Jonas AM. The research animal and the significance of a health monitoring program. **Lab Anim Sci** 1976;26(2):339-343.

Lang CM, Vessel ES. Introduction. In: **Environmental and genetics factors affecting laboratory animals: Impact on biomedical research**. 59th annual meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology. New Jersey; 1975.

Lessa SC. Biotérios: um potencial para o desenvolvimento científico e tecnológico do país. **Jornal da Ciência e-mail nº 2280**, de 19 de Maio de 2003. [capturado em 18 mar. 2004] Disponível em: <http://www.jornaldaciencia.org.br/Detail.jsp?id=9901>.

Majerowicz J. Procedimentos de segurança envolvendo animais de laboratório. In: Teixeira P, org. **Curso de Aperfeiçoamento em Biossegurança**. Rio de Janeiro: EAD/Ensp; 2000. Cap. 18, p.1-10.

_____ Risco biológico e níveis de proteção. In: Teixeira P, org. **Curso de Aperfeiçoamento em Biossegurança**. Rio de Janeiro: EAD/Ensp; 2000a. Cap. 18. p.11-26.

_____ Biossegurança em Biotérios de Experimentação. in: Valle S, Telles JL, orgs. **Bioética e Biorrisco – Abordagem Transdisciplinar**. Rio de Janeiro: 2003. P.315-340.

Mcdonnel G , Russel AD. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, Jan. 1999, p. 147–179

McPherson CW. Laws, regulations, and policies affecting the use of laboratory animals. In: **Laboratory Animal Medicine**. Orlando: Academic Press;1984.

Milstien J. Regulatory process and three Rs alternatives. **Dev Biol** (Basel) 2002;111:15-9.

Nassani M. Qualification of quality control laboratories. **J Val Technol** 2002;8(3):260-272.

National Institutes of Health (NIH). Environment, housing and animal management. in: **Institutional Animal Care and use Committee guidebook**. Bethesda. NIH Publication nº.92-3415.2ª ed. 2002.

_____ Primary Containment for Biohazards: Biological Safety Cabinets. in: **Laboratory Hazards and Risk Assessment**. Bethesda, 1995. [capturado em 7 de nov de 2004] Disponível em: <http://www.nih.gov/od/ors/ds/pubs/bsc/section4.html>

National Research Council (NRC). **Long-Term Holding of Laboratory Rodents**. Washington. ILAR News; 1976; XIX, v. 4.

_____ **Occupational Health and Safety in the Care and Use of Research Animals**. Washington, DC. National Academy Press; 1997.

_____ **Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório**. Goiânia. National Academy Press; 2003.

Neves SMP, Guinski-Chaguri LCA. Biossegurança em Biotérios. In: Hirata MH, Filho JM, eds. **Manual de Biossegurança**. São Paulo: USP; 2001.

Nicklas W. Microbiological standardization of laboratory animals. **Berl Munch Tierarztl Wochenschr** 1999;Jun-Jul;112(6-7):201-10. (resumo)

Passos LAC. **Análise do determinismo genético da resistência de camundongos infectados experimentalmente com a cepa y de *Trypanosoma cruzi***. Campinas; 2003. Doutorado [Tese de doutorado em Ciências Biológicas, curso de Genética e Biologia Molecular] - Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas

Poiley SM. Animal husbandry and laboratory. **Animals Lab Anim Care** 1970;20(6):1159-60.

Rehg JE, Toth LA. Rodent quarantine programs: purpose, principles, and practice. **Lab Anim Sci** 1998;Oct;48(5):438-447.

Ricard R. **La cultura de la calidad total, Um enfoque global para competir sin deshumanizar su empresa**. Buenos Aires. Ed fausto. 1992.

Richmond JY. **Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia**. Brasília. Ed. Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde; 2000.

Richmond JY, Nesby-O'Dell SL. Laboratory security and emergency response guidance for laboratories working with select agents. **MMWR Recomm Rep** 2002;6;51(RR-19):1-6.

Sales GD, Wilson KJ, Spencer KEV, Milligan SR. Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the welfare and use of laboratory animals. **Lab Anim** 1998;22:369-375.

Santos BF. Classificação dos animais de laboratório quanto ao status genético. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS, orgs. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2002.

Seamer JH, Wood M. Safety in the Animal House. In: **Laboratory animal handbooks 5**. London: Lab Anim Ltd;1981.

Silva ABM. **Proposta para a implantação, implementação e avaliação de um programa de gestão da qualidade nos laboratórios de referência para a vigilância epidemiológica da Fiocruz**. Rio de Janeiro; 2004. Mestrado [Dissertação em Mestrado Profissional em Gestão de C&T em Saúde] – Escola Nacional de Saúde pública. Fiocruz.

Small JD. Rodent and lagomorph health surveillance – quality assurance. In: **Laboratory Animal Medicine**. Orlando. Academic Press.1984.

Teixeira P, Valle S. Riscos biológicos em laboratórios. In: **Biossegurança uma abordagem multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1996.

The Ohio State University (Ohio). **Biosafety in Animal Research**. In: Institutional Laboratory Biosafety Manual. Ohio; 1999.

United States of American. Departments of the Army. Navy publication nº 255. In: **Technical bulletin** (TB). Washington, D.C. The Navy and the Air Force; 1971.

University of California, Davis (UCD). Office of Environmental Health and Safety. Animal. Use and Care Administration Advisory Committee. **Protocol for Animal Use and Care**. California 2004. [capturado em 7 de março de 2004]. Disponível em: <http://www.ehs.ucdavis.edu/animal/protdown.cfm>

Valle S. **Regulamentação da Biossegurança em Biotecnologia**. Rio de Janeiro. Ed Auriverde, Rio de Janeiro; 1998.

World Health Organization (WHO). **Good Laboratory Practice Handbook**. [on line] Geneva. 2001. [capturado em 22 de abril de 2004] Disponível em: <http://www.who.int/tdr/publications/publications/glp-handbook.htm>

_____. **Laboratory Biosafety Manual**. 2. ed. [on line] Geneva. 2003. [capturado em 21 de maio de 2004] Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/who_cds_csr_lyo_20034/en/

Wyss-Spillmann SK, Homberger FR. Procedures for health monitoring in a breeding facility for specific pathogen free mice and rats. **Schweiz Arch Tierheilkd** 1995;137(11):505-14. (resumo)

Yoshimura M, Endo S, Ishihara K, Itoh T, Takakura A, Ueyema, Ohnishi. Quarantine for contaminated pathogens in transplantable human tumors or infections in tumor bearing mice. **Exp Anim** 1997;46(2):161-164.