

Capítulo 4

Animais de laboratório

Etelcia Moraes Molinaro

Joel Majerowicz

Sebastião Enes R. Couto

Cleide Cristina Apolinário Borges

Wildeberg Cal Moreira

Simone Ramos

1. Considerações gerais

A pesquisa científica, o ensino e as atividades relacionadas ao desenvolvimento tecnológico e à produção e ao controle da qualidade de vacinas e medicamentos utilizam-se de animais de laboratório. Seu uso com objetivos científicos ainda é absolutamente necessário para alcançar avanços na compreensão da biologia descobrindo-se novos medicamentos para o tratamento ou a profilaxia de enfermidades e permitindo pesquisas básicas, desenvolvimento tecnológico, ensino, produção e testes de imunobiológicos. Uma vez que ainda não há sistemas alternativos disponíveis que permitam a substituição completa dos animais, é necessário o estabelecimento de uma cultura de cuidados, consciência e responsabilidade dirigidos à melhoria e confiabilidade das descobertas científicas e ao bem-estar animal.

Os biotérios¹ são planejados de forma a atender às diretrizes de Biossegurança² e garantir as condições adequadas de trabalho com animais, suas secreções e seus tecidos, além de considerar a transmissão de zoonoses³ e os riscos inerentes aos agentes potencialmente perigosos.

A utilização de animais de laboratório permite várias abordagens experimentais que não são possíveis, ou mesmo permitidas por lei, em seres humanos. Além disso, é possível mantê-los em condições controladas (em biotérios) que permitam estudar uma doença, seu agente patogênico, os sinais clínicos e sua própria evolução. Há também algumas linhagens de animais que são geneticamente padronizadas e auxiliam a compreensão de fatores ambientais e genéticos que incidem na evolução de determinada enfermidade, sendo assim, é possível estudá-las em raças e/ou linhagens criadas para esse fim.

Animais de laboratório ou modelos biológicos são aqueles utilizados com o intuito de alcançar analogia dos resultados experimentais que seriam transferidos para os homens e outros animais. Por exemplo, em estudos pré-clínicos, uma das etapas mais importantes para a pesquisa na área da saúde. Estes animais são selecionados, criados em biotérios com adequações quanto à segurança biológica, tem seu comportamento, origem e linhagem conhecidos, recebem cuidados especiais para a manutenção de seus ambientes (alojamentos, temperatura e umidade controlados) e é ofertada nutrição adequada visando ao seu bem-estar.

¹ Biotérios: 'casa da vida'. Termo genérico que designa o local onde é criado ou mantido qualquer animal de laboratório ou modelo experimental.

² 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 e dos animais, a preservação do meio ambiente e a qualidade dos resultados (TEIXEIRA & VALLE, 1996).

³ Zoonoses são doenças transmitidas entre animais e o homem.

Ética e bem-estar: princípios

O controle da experimentação animal é regido por legislações restritivas internacionais que impulsionam a maior conscientização dos cientistas envolvidos na manipulação e adoção de boas práticas. É consenso que, além da atualização da formação técnica, é imperioso exigir conscientização ética e imputação de responsabilidade legal na manipulação animal. Organizações de fomento para pesquisas, protocolos internacionais de produção de vacinas e medicamentos, bem como para a publicação de resultados em periódicos científicos, exigem que todos os trabalhos que se utilizem de animais sejam avaliados, monitorados e licenciados por Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs)⁴ visando ao seu bem-estar.

A Associação Mundial de Veterinária (WVA), por exemplo, sugere requisitos de bem-estar animal que deverão ser seguidos:

- Ausência de fome e sede (água e comida adequadas à espécie).
- Não podem permanecer desconfortáveis. O ambiente animal deve possuir abrigo e local para descanso.
- Prevenção e diagnóstico de enfermidades, bem como providenciar os melhores meios para evitar dor, traumatismos e injúrias.
- Os animais devem possuir liberdade para manifestarem comportamentos normais e estar em companhia de outros de sua espécie.
- Assegurar as melhores condições para que não ocorra estresse, medo e situações aflitivas.

Ressalta-se que os beneficiários de vários experimentos, vacinas e medicamentos são os próprios animais, no campo da medicina veterinária.

⁴Comissões de ética são órgãos colegiados instituídos obrigatoriamente em instituições que se utilizam de animais para fins científicos.

Em 1959, foi sustentada pelos cientistas W. M. S. Russel e R. L. Burch a ideia dos três 'Rs' (redução, refinamento e substituição - o terceiro erre 'replacement', do inglês) sendo considerados como princípios básicos no mundo científico contemporâneo para verificar os objetivos, as necessidades e a importância da utilização de animais pelos cientistas.

É fundamental ter-se a consciência de que o animal, como ser vivo, possui hábitos de vida próprios da sua espécie, apresenta memória, preserva o instinto de sobrevivência e é sensível à angústia e à dor, razões que preconizam posturas éticas tanto na criação como no desenvolvimento dos estudos experimentais.

2. Conceitos básicos

Edificação e instalações prediais

Os biotérios classificam-se basicamente em criação e experimentação. Os de criação se destinam à reprodução e/ou manutenção das diversas espécies e linhagens de animais, com o objetivo de manter o padrão genético e sanitário das colônias, através de técnicas de manejo zootécnico⁵ e procedimentos operacionais (POP). Os biotérios de experimentação são destinados à realização dos experimentos e testes com animais.

O desenvolvimento de projetos de arquitetura e o planejamento operacional de biotérios são processos criativos que devem ser cuidadosamente avaliados de acordo com as espécies animais envolvidas. Os riscos associados aos experimentos e outras particularidades para estas instalações também

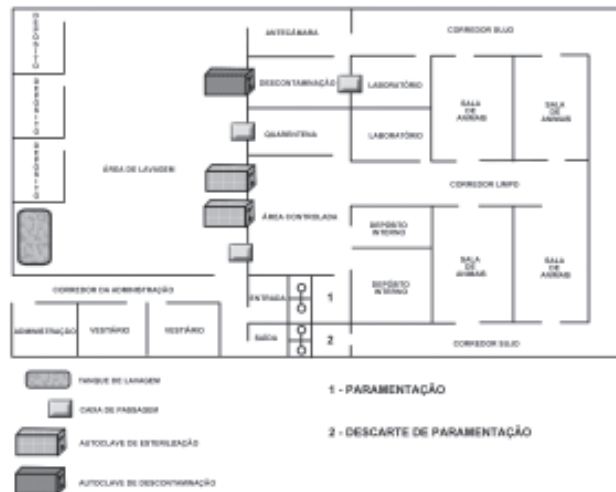
⁵ Manejar: em sua forma literal, significa 'conduzir ou trabalhar com as mãos'. Na área animal, é um conjunto de técnicas de reprodução, criação e manutenção que propicie bem-estar comportamental e fisiológico e que garanta os padrões genético e sanitário.

são considerados. O projeto arquitetônico das instalações prediais, as barreiras sanitárias e as barreiras de contenção são elaborados de modo a facilitar as atividades e atender as condições ambientais próprias às espécies, minimizando ou mesmo eliminando a ocorrência de contaminações (animais, pessoal e de ambientes).

As instalações são fisicamente separadas de outras construções e planejadas visando à correta higienização e desinfecção e para facilitar a manutenção predial e de seus equipamentos. Os fluxos de processos e pessoal devem ser delineados para que não ocorra o cruzamento entre entrada e saída desses elementos, evitando a contaminação.

A arquitetura de um biotério compreende uma estrutura básica composta de salas de animais entre dois corredores. Na Figura 1, observa-se um esquema da estrutura básica de um biotério com as instalações necessárias para a criação, manutenção e experimentação de roedores e coelhos. Estas instalações também são adequadas para a manutenção de primatas não-humanos.

Figura 1 – Desenho esquemático básico de um biotério



Áreas comuns (administração e vestiários). Área de lavagem contendo depósitos, tanque de imersão, autoclaves de dupla porta, guichês de passagem. Antecâmara de acesso, corredores limpo (de distribuição) e sujo (de recolhimento) e quarentena. Salas de animais, procedimento ou laboratórios.

Algumas recomendações:

- As superfícies de pisos, paredes e tetos devem ser lisas, resistentes e impermeáveis, fáceis de lavar e desinfetar. Acessórios internos, como luminárias, dutos de ar e tubulações, são instalados de modo a evitar pontos de acúmulo de poeira. Uma pia para higiene das mãos deve estar disponível próxima da saída das salas, provida de torneira com acionamento por pedal, com o cotovelo ou automática. A exaustão do sistema de ar condicionado é diretamente para o exterior do prédio, sem recirculação dependendo do nível de biossegurança exigido.
- A quarentena possui dois objetivos: avaliar a saúde e dar condições aos animais de se recuperarem do transporte, aclimatando-se ao novo ambiente. Se possível, a quarentena deve ser isolada de outras áreas do biotério. Em primatas, a quarentena é necessariamente realizada em ambientes externos à área de criação e seus procedimentos são os mais restritos. Ainda para este animal, o local da quarentena possui áreas contíguas para apoio diagnóstico e de cuidados de manejo.
- As áreas para estocagem de rações secas, equipamentos e materiais utilizados pelos animais deverão ser arejadas, a fim de minimizar a proliferação de microrganismos e evitar outras contaminações. Um refrigerador ou uma câmara frigorífica deve estar disponível para o armazenamento de hortifrutigranjeiros.
- A área de higienização, desinfecção e esterilização é isolada e afastada das salas de animais, para não causar distúrbios a eles, uma vez que as autoclaves e os equipamentos de higienização geram níveis elevados de ruídos, umidade e calor. A ventilação deve ser suficiente para evitar o acúmulo de odores e temperaturas elevadas, e os tanques são dimensionados para a higienização e desinfecção dos diversos materiais de uso na manutenção animal. O ideal é que haja separação entre ambientes 'limpo' e 'sujo'.

- As salas de animais são construídas de forma a permitir a separação por espécie/linhagem. São isoladas dos outros ambientes e constantemente higienizadas. Só é permitido o acesso aos trabalhadores habilitados à manipulação animal. Nos biotérios de experimentação, cada pesquisa é desenvolvida em ambiente exclusivo e salas especiais devem ser preparadas para os estudos que envolvam o uso de radiações, agentes infecciosos com alto potencial de risco e substâncias tóxicas.
- A paramentação dos trabalhadores, de uso exclusivo, é obrigatória nas áreas técnicas, de forma a não carrear possíveis contaminantes. Conforme a classificação microbiológica dos animais, a higienização corporal dos trabalhadores é obrigatória no acesso e na saída da área controlada.

Barreiras sanitárias ou de contenção

As barreiras sanitárias ou de contenção compreendem as instalações prediais, os equipamentos e materiais utilizados para esterilização ou desinfecção e os procedimentos de boas práticas. Essas barreiras são determinadas em função das espécies e da quantidade de animais, tipos de materiais, fluxos de processos, manejo animal etc. Serão mais complexas quanto maior forem a exigência microbiológica e/ou os riscos biológicos associados.

O biotério deve possuir como condições mínimas:

- Sistema de ventilação apropriado assegurando a filtração do ar para evitar a contaminação de áreas contíguas.
- Possuir um programa de controle periódico de animais invasores, utilizando produtos químicos não tóxicos para vertebrados.
- Fazer uso de sistemas que impeçam o refluxo de água, gases e a penetração de insetos e outros animais.
- Higienização ambiental regularmente.

- **Materiais, equipamentos, alimentos e todos os insumos vindos do exterior podem estar contaminados e devem ser esterilizados ou desinfetados e estocados em local específico.**

As barreiras sanitárias ou de contenção impedem que partículas indesejáveis tenham acesso às áreas de criação ou de experimentação e que agentes patogênicos se dispersem no ambiente, garantindo o *status* sanitário dos animais.

Alguns equipamentos são essenciais para garantir o *status* sanitário dos animais de criação ou de experimentação:

- **Autoclave** – É o principal equipamento utilizado na esterilização de materiais e insumos, uma vez que a esterilização por calor sob pressão é um dos métodos mais seguros e confiáveis. Os materiais autoclaváveis são: gaiolas, tampas de gaiolas, frascos bebedouros, comedouros, ninhos, materiais de enriquecimento ambiental, bicos, forração de gaiolas,⁶ uniformes, fichas e rações. Em biotérios de experimentação, é recomendado que existam duas autoclaves: um para entrada de matérias e insumos e outro para descontaminação de resíduos e materiais, evitando o contrafluxo.
- **Estufa de óxido de etileno** – Equipamento utilizado para materiais que não podem ser esterilizados por calor. O gás de óxido de etileno atua oxidando as proteínas dos seres vivos presentes nos materiais, promovendo sua inativação. Os materiais normalmente processados neste equipamento são os mesmos citados para a autoclave, com exceção de rações e material de forração das gaiolas, pois concentram o gás que pode intoxicar os animais se ingerido ou inalado.

⁶ Para forração de gaiolas, são utilizados a maravalha (raspas de madeira especial), sabugo de milho etc. É também chamada de 'cama'.

• **Isoladores** – Utilizado para criar e manter animais livres de microrganismos. Os isoladores comportam várias gaiolas de pequenos animais dependendo de sua capacidade. Existe uma variedade de modelos de isoladores, como os rígidos e os flexíveis, providos de filtros de entrada e saída de ar, onde a renovação do ar é mantida através de ventilação forçada, com pressão positiva ou negativa.⁷ A introdução de insumos e materiais é feita pelo ‘porto de passagem’⁸ com auxílio do cilindro de esterilização,⁹ onde os materiais foram previamente esterilizados. A utilização de isoladores com pressão negativa, em estudos com risco biológico, confere ao pesquisador um eficiente método de segurança, além de propiciar a vantagem de ter numa mesma sala isoladores com inóculos diferentes.

• **Microisolador** – São gaiolas para pequenos animais com tampa com filtro, que isolam o ambiente interno da gaiola. São indicadas para preservar a condição microbiológica dos animais e também para evitar que aerossóis do seu interior se dispersem pelo ambiente. Há o inconveniente de uma menor troca de ar da gaiola com o ambiente, aumentando a temperatura, a umidade relativa e a concentração de gases. Todas as atividades que necessitam da abertura deste tipo de gaiola serão realizadas em cabine de contenção biológica.

• **Módulo para microisoladores** – Existem dois tipos. Um possui portas e o fluxo de ar filtrado circula por todo o ambiente interno do módulo. No outro tipo, as gaiolas contêm filtro e válvulas para conexão de ar individual e não têm porta, pois a circulação do ar é restrita ao seu interior. Esses equipamentos podem ser de pressão positiva ou negativa.

⁷ Pressão positiva ou negativa em biotérios está relacionada ao diferencial de pressão entre duas áreas ou ambientes diferentes. A movimentação de ar segue um fluxo contínuo e controlado da área de maior pressão para a de menor pressão. Isto impede que partículas em suspensão circulem ou sejam carreadas de um ambiente para outro.

⁸ Porto de passagem: abertura do isolador que, por métodos químicos, pode ser esterilizada e permitir a entrada e saída de materiais, insumos e animais.

⁹ Cilindro de esterilização: acessório utilizado em isoladores para esterilização de materiais e insumos.

São equipamentos de contenção primária¹⁰ que têm como uma das principais vantagens a contenção de aerossóis e de alérgenos no interior da gaiola. Como vantagem adicional, há o controle dos parâmetros relativos à temperatura, umidade relativa e ventilação, propiciando um ambiente favorável aos animais.

3. Biossegurança

Diferente de laboratórios, os biotérios possuem características particulares. Pelo fato de alojarem animais, há sempre riscos associados a seu manejo. Além deste, outros riscos associados aos biotérios são os riscos químicos, físicos e ergonômicos.¹¹

Os riscos químicos estão relacionados principalmente ao uso rotineiro e de grandes quantidades de desinfetantes e sanitizantes na higienização de materiais e ambientes, bem como de substâncias tóxicas ou perigosas utilizadas na experimentação animal. Já os riscos físicos envolvem o modo como os animais se defendem perante os fatores de estresse ou medo. Arranhaduras e mordeduras são as causas mais representativas de acidentes.

Os problemas de ergonomia estão associados ao levantamento de materiais e cargas de peso considerável e aos movimentos repetitivos na troca de gaiolas e de outras práticas no manejo animal.

Os animais são reservatórios naturais de várias zoonoses e podem, portanto, abrigar ou serem suscetíveis a agentes infecciosos capazes de causar doenças também nos seres humanos (riscos biológicos). Dependendo da sensibilidade individual dos trabalhadores, podem ocorrer sérios distúrbios de saúde, pois os animais produzem constantemente, através de dejetos, urina,

¹⁰ Contenção primária: é a proteção individual e do ambiente diante de um agente infeccioso. Essa contenção se efetiva pelo emprego de técnicas de manejo animal e pelo uso de equipamentos de proteção individual e/ou coletivo.

¹¹ É a ciência que estuda as relações da adequação do ambiente de trabalho ao homem. (COSTA e COSTA, 2003).

secreções e descamação da pele, substâncias causadoras de alergias (reação de hipersensibilidade).

Risco biológico e níveis de proteção

Forma de escape – O agente infeccioso pode ser expelido pelos animais por via natural ou artificial. Excreções do agente pela urina, saliva e fezes ou através de lesões na pele são exemplos. Há vários mecanismos de escape artificial, como biópsia, coleta de sangue, tecidos e fluidos corpóreos, necropsia e instrumental cirúrgico contaminado.

Transmissão – A transmissão do agente do animal ou do laboratório pode ocorrer por várias rotas. A mais frequente envolve agulhas e seringas contaminadas e a formação de aerossóis e sua fácil disseminação é uma forma comum de transmissão.

Exposição – A inalação, o contato com membranas mucosas e a inoculação parenteral são as formas de exposição mais frequentes. Os mecanismos mais comuns de exposição, quando animais de laboratório estão envolvidos, são:

- Inoculação direta por agulhas, contaminação de cortes ou arranhões preexistentes por instrumentos contaminados e agressão animal;
- Inalação de aerossóis durante o manejo animal e nos procedimentos e manipulação na experimentação animal;
- Contato das membranas mucosas dos olhos, boca ou narinas por gotículas de materiais, mãos e superfícies contaminadas;
- Pipetar com a boca, embora esta ingestão seja pouco comum, uma vez que as Boas Práticas Laboratoriais (BPL) desaprovam esta ação.

As características do animal, o agente infeccioso envolvido, o treinamento e a experiência do pessoal, as atividades e os procedimentos requeridos na experimentação devem ser considerados na avaliação e seleção das regras de biossegurança.

Os laboratórios que manipulam microrganismos patogênicos ou que tenham a possibilidade de contê-los no material de trabalho são especiais. Nesses ambientes de trabalho, há risco de se contrair doenças infecciosas tanto pelo pessoal que nele trabalhe como para os que estão próximos. A minimização ou mesmo a eliminação dos riscos se tornam possíveis quando se faz uso das BPL e empregam-se normas de biossegurança específicas ao nível do risco.

- **Contenção** – São métodos e técnicas, procedimentos e práticas, equipamentos de proteção individual e coletivo e condições de instalações laboratoriais que devem ser empregados ou é condição básica preconizada na manipulação ou estocagem de agentes infecciosos no ambiente laboratorial. A finalidade da contenção é eliminar ou reduzir a exposição do pessoal, do laboratorial e do ambiente externo ao agente de risco.
- **Contenção primária** – É a proteção individual e do laboratório diante de um agente infeccioso. Essa contenção se efetiva pelo emprego de técnicas laboratoriais e pelo uso de equipamentos de proteção individual e/ou coletivo.
- **Contenção secundária** – É a proteção das áreas externas ao laboratório de uma contaminação do agente em uso. Isso ocorre por meio de instalações, sistemas de utilidades prediais e métodos operacionais.

Recomendações de biossegurança em biotérios

O nível de biossegurança de um experimento é determinado segundo o microrganismo de maior risco. Existem quatro níveis de biossegurança, crescentes em função do grau de contenção e complexidade do nível de proteção. A seleção do nível apropriado de biossegurança para o trabalho com um determinado agente ou em experimentos com animais depende de inúmeros fatores. Alguns mais importantes são: virulência, patogenicidade,¹² estabilidade biológica, meio de propagação, natureza e função do laboratório, procedimentos e manipulações envolvendo o

¹² É a capacidade do patógeno de causar enfermidades e suas manifestações clínicas nos hospedeiros suscetíveis.

agente, endemicidade¹³ do agente e existência de vacina ou medidas terapêuticas efetivas (Tabela 1).

Tabela 1 – Recomendações de biossegurança para atividades com vertebrados

Nível	Agentes de risco	Práticas	Equipamentos (Barreiras primárias)	Instalações (Barreiras secundárias)
1	Não causa doença.	Manejo e procedimentos padrões preconizados para animais e vigilância sanitária.	Os normalmente preconizados para alojamento das espécies animais.	Biotério convencional, sem recirculação de ar, o direcionamento de ar é recomendado.
2	Associado com doença humana. Contaminação por autoinoculação, ingestão e exposição de membranas mucosas.	As práticas do nível 1 mais: acesso limitado; símbolo de risco biológico; alerta de precaução; manual de biossegurança; descontaminação de todo material infeccioso e gaiolas de animais antes da lavagem.	Os equipamentos do nível 1 mais: equipamentos de contenção apropriado por espécie; equipamentos de proteção individual (EPI); proteção facial e respiratória, se necessário.	As instalações do nível 1 mais: autoclave; pia na saída da área de animais.
3	Nativo ou exótico com potencial de risco por aerossóis; doenças que podem causar sérios efeitos à saúde.	As práticas do nível 2 mais: acesso controlado; descontaminação das roupas antes de lavar; descontaminação de gaiolas antes de remover a forração da gaiola; desinfecção de calçados.	Os equipamentos do nível 2 mais: equipamentos de manutenção e manuseio de animais; cabines classe I ou II para manipulação que possam criar aerossóis (inoculação, necropsia etc.); EPI; proteção respiratória apropriada.	As instalações do nível 2 mais: separação física entre corredores de acesso; acesso por dupla porta com fechamento automático; autoclave no biotério; janelas lacradas; aberturas seladas.
4	Agentes perigosos / exóticos que ponham em risco a vida por inexistência de tratamento; transmissão por aerossóis ou agente relacionado com riscos desconhecidos de transmissão.	As práticas do nível 3 mais: entrada com troca de roupas onde roupas pessoais são retiradas e paramentação apropriada é usada; banho na saída; todo material é descontaminado antes de removido do biotério.	Os equipamentos do nível 3 mais: equipamentos de contenção máxima (classe III) ou equipamento de contenção parcial em combinação com proteção total do corpo, suprimento de ar sob pressão, usado em todos os procedimentos e práticas.	As instalações do nível 3 mais: prédio separado ou em zona isolada; sistema de suprimento e exaustão de ar, vácuo e descontaminação exclusivos; outros requerimentos específicos.

¹³ Caráter de endêmico de uma enfermidade. Presença de uma doença ou de um patógeno em uma população ou área geográfica.

Os requerimentos de construção, os procedimentos, as práticas, os equipamentos e as precauções que devem ser consideradas na elaboração de projetos e no desenvolvimento de atividades que envolvam animais vertebrados e em função do nível de biossegurança estão descritos a seguir.

Nível de biossegurança 1

Práticas padrões

A – Acesso ao biotério é limitado ou restrito ao critério do coordenador.

B – Fazer a higienização das mãos após manusear culturas e/ou animais e após remover as luvas e antes de sair do biotério.

C – Nas áreas de animais, não é permitido comer, beber, fumar, estocar alimentos de uso humano, aplicar cosméticos e manusear lentes de contato.

D – Todos os procedimentos devem ser realizados cuidadosamente, visando a minimizar a formação de aerossóis.

E – As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas após o uso ou imediatamente após o derrame de material viável.

F – As portas das salas de animais devem abrir para seu interior e serem de fechamento automático.

G – Todo resíduo proveniente da sala de animais deve ser apropriadamente descontaminado, preferencialmente por autoclave, antes de ser disponibilizado como lixo. Carcaças de animais são incineradas.

H – Deve haver um programa efetivo para controle de insetos e roedores.

Práticas especiais

A – O coordenador do biotério é o responsável pelo acesso limitado às áreas de animais e deve informar dos riscos potenciais a quem precisa entrar nessas áreas. Em geral, pessoas em condições que possam elevar os riscos de aquisição de infecções não devem ter acesso às áreas de animais.

B – O coordenador do biotério deve estabelecer diretrizes e procedimentos pelos quais as pessoas tomarão conhecimento dos riscos em potencial e procedimentos específicos antes de terem a liberação para o acesso às salas de animais.

C – O material utilizado para forração das gaiolas é removido de forma a minimizar a criação de aerossóis e deve ser descartado em concordância com os requerimentos apropriados (legais ou institucionais).

D – As gaiolas podem ser lavadas manualmente ou em máquinas. A temperatura final de enxágue na lavagem mecânica deve ser de 82,7°C (180°F).

E – Deve-se usar roupas apropriadas (jalecos, aventais ou uniformes) na área de animais. Recomenda-se que o uniforme de uso no biotério não deva ser usado em outras áreas.

F – Um manual de biossegurança é preparado e adotado. As pessoas são informadas dos riscos especiais e é requerido que elas leiam e sigam as instruções, práticas e/ou procedimentos.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

Não são requeridos equipamentos de contenção para animais no nível 1 de biossegurança.

Instalações (barreiras secundárias)

A – O biotério deve ser projetado e construído visando a facilitar a limpeza, desinfecção e manutenção.

B – Pias para higiene das mãos devem estar disponíveis em diversas áreas do biotério.

C – No caso de existência de janelas que se abram, estas devem estar protegidas contra a penetração de insetos.

D – A exaustão de ar deve ser descarregada para o exterior do prédio, sem recircular por outros ambientes.

Nível de biossegurança 2

Práticas padrões

Todas as recomendações do nível de biossegurança 1.

Práticas especiais

Todas as recomendações do nível de biossegurança 1, acrescidas de:

A – Quando agente(s) patogênico(s) estiver (em) sendo usado(s) nas salas de animais, deve-se assegurar que todas as providências requeridas e necessidades especiais de entrada sejam efetivadas ou estejam disponíveis, tais como vacinação e EPI.

B – Um aviso com símbolo universal de biossegurança deve ser afixado no acesso da área de risco e na porta da sala de animais. O aviso de risco deve identificar o agente patogênico em uso, nome e telefone dos supervisores ou outros responsáveis e indicar os EPI requeridos para entrada na sala.

C – As pessoas devem receber imunização apropriada quando uma vacina estiver disponível.

D – Avaliações sorológicas periódicas das pessoas, considerando o agente de risco, é uma medida que deve ser adotada quando técnicas para tal estiverem disponíveis.

E – Um manual de biossegurança deve ser elaborado e adotado. Todos devem ser informados de riscos especiais e são instruídos a ler e seguir as instruções de práticas e procedimentos.

F – Todos devem receber treinamento apropriado em riscos associados com o trabalho e aprender sobre as precauções para prevenir exposições aos riscos. Devem receber, anualmente, reforço de treinamento ou treino adicional quando houver mudanças de procedimentos técnicos e operacionais.

G – Preocupação adicional deve ser observada com materiais e utensílios contaminados (agulhas, seringas, lâminas, pipetas, tubos capilares). Agulhas e seringas ou outros utensílios perfurocortantes são restritos às áreas de animais para uso somente quando não há alternativas, como inoculações parenterais, coleta de sangue ou aspiração de fluidos de animais e de frascos. Tubos plásticos devem ser usados em substituição aos de vidro, quando possível.

H – Agulhas descartáveis nunca devem ser dobradas, cortadas, quebradas, reencapadas ou removidas de seringas descartáveis ou outra forma de manipulação, com as mãos, depois de descartadas. Preferencialmente, elas devem ser cuidadosamente colocadas em um recipiente resistente a perfurações usado para materiais descartáveis. Utensílios não descartáveis são obrigatoriamente colocados em recipientes de paredes espessas para transporte à área de descontaminação.

I – Frasco de vidro quebrado não deve ser manuseado diretamente com as mãos, e sim removido mecanicamente através de

vassoura e pá de lixo ou pinças. Recipiente para agulhas, peças de equipamentos e cacos de vidro devem ser descontaminados antes de descartados.

J – Culturas, tecidos animal e fluidos corpóreos são colocados em recipiente que previna vazamento durante a coleta, o manuseio, o processamento, o estocagem, o transporte ou o envio.

K – Gaiolas são apropriadamente descontaminadas, preferencialmente por autoclave, antes da limpeza e lavagem.

L – Equipamentos e superfícies de trabalho devem ser descontaminados com desinfetante apropriado em uma rotina básica após o término do trabalho com materiais infecciosos e especialmente após o derrame, gotejamento ou outra forma de contaminação com esse material.

M – Equipamentos contaminados devem ser descontaminados de acordo com as recomendações antes de serem enviados ou disponibilizados para reparo ou manutenção ou transportados para fora das instalações.

N – Derramamentos ou acidentes que resultem em exposição ao material infeccioso são imediatamente relatados ao coordenador do laboratório. Acompanhamento médico é providenciado e os registros devem ser mantidos.

O – Animais que não estejam envolvidos no trabalho em andamento não são permitidos no biotério.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

A – Cabine de Segurança Biológica (CSB) e EPI (ex.: proteção respiratória, máscaras faciais) são usados sempre que procedimentos com alto potencial de formação de aerossóis são conduzidos. Isso in-

cluiu necropsia, coleta de tecidos ou fluidos de animais, inoculação intranasal e manipulações com alta concentração ou grande volume de material infeccioso.

B – Apropriada proteção facial e respiratória é usada por todas as pessoas que entrem nas salas de primatas não-humanos.

C – Aventais, jalecos ou uniformes são usados nas áreas de animais. Essas roupas de proteção são retiradas antes de sair dessas áreas.

D – Especial cuidado deve ser tomado para evitar a contaminação da pele com materiais infecciosos. O uso de aventais com manga comprida e luvas é obrigatório quando manusear animais infectados e quando o contato de material infectado com a pele for inevitável.

Instalações (barreiras secundárias)

Todas as recomendações do nível de biossegurança 1, acrescidas de:

A – Se houver ralos, esses devem possuir tampas e serem sifonados de forma a conter sempre um volume de água e/ou solução desinfetante.

B – É recomendado, porém não exigido, que a direção do fluxo de ar seja para o interior da sala de animais.

C – Autoclave, que pode ser usada para descontaminação de resíduos e outros materiais do biotério, deve estar alocada nessa instalação.

D – A exaustão das CSBs ou de outros equipamentos de contenção é descarregada diretamente para fora da edificação.

E – Deve haver um sistema de gerador de energia elétrica para atender as áreas críticas da edificação.

Nível de Biossegurança 3

Práticas padrões

Todas as recomendações do nível de biossegurança 1.

Práticas especiais

Todas as recomendações do nível de biossegurança 2, acrescidas de:

A – É proibido o acesso de pessoas com maior propensão a riscos, incluindo-se crianças, mulheres grávidas e pessoas que são imunodeficientes ou estão imunosuprimidas. O coordenador tem a responsabilidade final para definir cada circunstância e determinar quem pode entrar ou trabalhar no biotério.

B – Todos os resíduos oriundos das salas de animais são descontaminados, preferencialmente por autoclave, antes de disponibilizados como lixo ou enviados para reprocessamento.

C – Todas as carcaças de animais são incineradas. Animais mortos são transportados da sala de animais para o incinerador em recipientes herméticos e à prova de vazamentos.

D – O trabalho sempre é realizado por pelo menos duas pessoas. Não é permitido acessar sozinho as áreas de animais.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

Todas as recomendações do nível de biossegurança 2, acrescidas de:

A – EPI são usados para todas as atividades que envolvam manipulações de material infeccioso ou animais infectados.

B – Uniformes de frente fechada ou de frente sólida são usados pelas pessoas para entrar nas salas de animais. Vestimentas com botões na parte anterior são inadequadas ou impróprias. As

vestimentas devem ser acondicionadas em recipientes antes de encaminhadas para descontaminação.

C – As luvas são removidas assepticamente e autoclavadas como outros resíduos das salas de animais antes de descartados.

D – Apropriadas proteções de olhos, face e respiratória são usadas por todos que entram nas salas de primatas não-humanos.

E – Deve-se fazer uso, quando indicado, de calçados, sapatilhas ou outra proteção dos calçados. A desinfecção desses é obrigatória na saída da área de experimentação.

F – Contenção física e equipamentos apropriados para cada espécie animal são usados para todos os procedimentos e manipulações de material infeccioso e animais infectados.

G – O risco de infecção por aerossóis, provenientes dos animais ou do material usado na forração das gaiolas, pode ser reduzido ou mesmo eliminado se os animais são alojados em gaiolas com filtro (mini-isoladores), sendo a abertura das gaiolas em local de ventilação fechada (CSB).

Instalações (barreiras secundárias)

Todas as recomendações do nível de biossegurança 2, acrescidas de:

A – O biotério é construído obrigatoriamente separado de outras áreas abertas e que não tenham restrição de trânsito de pessoas.

B – Uma antecâmara com portas intertravadas é um requerimento básico antes da área de animais.

C – Separação física das salas de animais dos corredores de acesso ou de outras áreas de trabalho deve ser por dupla porta intertravada.

D – As superfícies das paredes internas, dos pisos e dos tetos devem ser resistentes à água e ao calor moderado para facilitar a limpeza.

E – As tubulações e os dutos são selados ou possíveis de serem selados para facilitar a fumigação ou descontaminação.

F – As pias devem ter torneiras de acionamento por pedal, com o cotovelo ou automática e devem ser alocadas próximas da porta de saída.

G – O processo usado para descontaminação de efluentes com risco biológico deve ser validado física e biologicamente pelo uso constante de registro de temperatura através de sensor, em conjunto com um indicador microbiológico com uma definida suscetibilidade ao calor.

H – Efluentes de banho podem ser descarregados no sistema sanitário sem tratamento.

I – Se um sistema de vácuo é usado, cada ponto de serviço deve ter sifão com líquido desinfetante e filtros Hepa.

J – Visores ou janelas nas salas de animais não podem ser de abrir e são seladas.

K – Autoclave para descontaminação de resíduos é obrigatória no biotério e deve ser de dupla porta, de forma a retirar os materiais e resíduos diretamente da área após a descontaminação.

L – O sistema de ventilação e exaustão de ar é sem recirculação. O insuflamento e a exaustão são balanceados de forma a ter um direcionamento de ar para o interior das salas de animais.

M – O sistema central de exaustão em instalações com trabalhos em CSB classe III é tratado por passagem através de filtro Hepa antes de descarregá-lo no exterior do prédio. Os filtros Hepa são localizados o mais próximo possível do ambiente, de modo a minimizar a extensão do risco potencial de contaminação do duto.

N – Deve haver um sistema de gerador de energia elétrica para atender a todo o sistema da edificação.

Nível de Biossegurança 4

Práticas padrões

Todas as recomendações do nível de biossegurança 3.

Práticas especiais

Todas as recomendações do nível de biossegurança 3, acrescidas de:

A – Somente pessoas envolvidas nos programas ou que dão suporte técnico são autorizadas a entrar nas instalações ou em uma determinada sala de animais.

B – O acesso ao biotério é limitado por segurança e portas trancadas. O acesso é controlado pelo supervisor do biotério, pela chefia da biossegurança ou por outra pessoa responsável pela segurança física do prédio.

C – Antes de permitir o acesso às áreas de experimentação, as pessoas são advertidas dos riscos em potencial e instruídas sobre como devem se proteger. Elas devem concordar e se comprometer a seguir todos os procedimentos de entrada e saída.

D – Um protocolo para situações de emergência deve ser estabelecido.

E – Avaliação sorológica periódica do pessoal, considerando o agente de risco, é uma medida que deve ser adotada quando técnicas para tal estiverem disponíveis.

F – Entrada e saída de pessoal do biotério deve ser feita somente através de troca de roupas e banho. Pessoal toma banho a cada vez que sai do biotério.

G – As roupas são removidas em área própria e depositadas em recipiente apropriado e específico. A paramentação completa inclui roupas de baixo, calça, camisa ou jaleco, calçados e luvas. Quando da saída, a paramentação é retirada no interior da área própria antes de entrar no boxe de banho. Roupas usadas são autoclavadas antes de lavadas.

H – Suprimentos e materiais que são trazidos para o interior da instalação são introduzidos por autoclave de dupla porta, câmara de fumigação ou antecâmara.

I – Deve ser estabelecido procedimento para relato de acidentes no biotério e exposições a agentes patogênicos.

J – É necessário existir, nas instalações, uma área de quarentena, isolamento e cuidados médicos para pessoa com suspeita ou com conhecida enfermidade associada ao trabalho.

K – Materiais e animais não relatados no experimento não são permitidos nas instalações.

Equipamentos de segurança (barreiras primárias)

Todas as recomendações do nível de biossegurança 3, acrescidas de:

A – Animais infectados com agentes classificados no risco 4 são alojados em gabinetes de máxima contenção em área especial em que todas as pessoas são requeridas a usar roupa com pressão positiva e sistema de suporte de oxigênio.

B – Trabalhos com vírus que requerem nível 4 de biossegurança e nos quais uma vacina de alta efetividade é existente podem ser feitos com contenção parcial e sem a roupa de ventilação de pressão positiva se as instalações são descontaminadas regularmente, se não há outro experimento em andamento que exija o

nível 4 de biossegurança, tanto de barreiras primárias como das secundárias, e se todos os procedimentos padrões e especiais são efetivamente postos em prática.

Instalações (barreiras secundárias)

Todas as recomendações do nível de biossegurança 3, acrescidas de:

A – O biotério é localizado em um prédio separado ou em zona claramente demarcada e isolada.

B – Paredes, pisos e tetos das instalações são construídos de modo a não terem superfícies que acumulem sujidades e facilitem a limpeza dessas superfícies. O acabamento dessas superfícies deve resistente a líquidos e substâncias químicas, de modo a permitir a limpeza e descontaminação.

C – Acessórios internos, como luminárias, dutos de ar e tubulações, são instalados de forma a minimizar superfícies horizontais que acumulem poeira.

D – Se há uma central de vácuo, essa não pode servir outras áreas fora dessa instalação. O sistema de vácuo possui filtro Hepa instalado o mais próximo de cada ponto de uso ou válvula de serviço. Filtros são instalados de forma a permitir, no local, sua descontaminação e substituição.

E – Outros sistemas de líquidos ou gases são protegidos para evitar o refluxo.

F – Portas externas do biotério são de fechamento automático e estanque.

G – Todas as janelas são à prova de impacto e seladas.

H – Autoclave de dupla porta é disponibilizada para descontaminação de materiais que saem do biotério. A porta da

autoclave que se abre para o exterior das áreas de animais é controlada por sistema automático, de forma que somente se abra após o ciclo de esterilização ter sido realizado.

I – Efluentes oriundos de pias, CSB e autoclave são descontaminados por calor antes de descarregados no sistema sanitário.

J – O sistema de ar condicionado é exclusivo e sem circulação de ar. O insuflamento e a exaustão são balanceados para assegurar o direcionamento do fluxo de ar da área de maior risco. O diferencial de pressão entre áreas adjacentes é monitorado e deve possuir alarme que indique falha de funcionamento do sistema.

K – Área para troca de roupa deve ser providenciada para que as pessoas que entrem nessa área usem uma roupa de pressão positiva, ventilada e que possua suporte de respiração artificial.

L – A entrada nessa área é feita por antecâmara com diferencial de pressão, com portas com fechamento estanque.

M – Um chuveiro químico é instalado para descontaminação da superfície da roupa antes da saída da área.

N – A exaustão de ar oriunda dessas áreas é filtrada por dois jogos de filtros Hepa instalados em série. Duplicação das unidades de filtração e exaustão é providenciada.

3.5. Modelo animal

A pesquisa científica é necessária para que o ciclo do conhecimento se complete e se renove. Tem o objetivo de proteger o homem e os animais de danos causados por substâncias e produtos indesejáveis ou efeitos colaterais de medicamentos e, ainda, entender e pesquisar a cura de doenças. Diversas espécies de animais são utilizadas na pesquisa biológica e médica, entre estas,

sapos, rãs, peixes, aves, roedores, coelhos, cães, gatos, primatas não-humanos e animais de fazenda.

A utilização de animais com objetivos científicos é uma prática comum, sendo absolutamente necessário o estabelecimento de uma cultura de cuidados, consciência e responsabilidades dirigida à melhoria da descoberta científica e ao bem-estar. Esses conhecimentos são de fundamental importância tanto para o estabelecimento de colônias de animais de laboratório como para a sua utilização na experimentação (Tabela 2).

Modelo animal – Animal utilizado em pesquisa biomédica.

O conhecimento da Biologia (anatomia, fisiologia, genética e aspectos etológicos) e do manejo da espécie animal possibilita a padronização e a harmonização dos ensaios, aumentando a *confiabilidade dos resultados*, garantindo, simultaneamente, o bem-estar dos animais e a alta qualidade dos dados.

Tabela 2 – Classificação taxonômica de algumas espécies de animais de laboratório

	Ordem	Família	Gênero	Espécie
Camundongo			<i>Mus</i>	<i>M. musculus</i>
Rato	<i>Rodentia</i>		<i>Rattus</i>	<i>R. norvegicus</i>
Hamster		Cricetidae	<i>Mesocricetus</i>	<i>M. auratus</i>
Cobaia		Cavidae	<i>Cavia</i>	<i>C. porcellus</i>
Coelho	<i>Lagomorfa</i>	Leporidae	<i>Oryctolagus</i>	<i>O. cuniculis</i>
Macaco Rhesus			Macaca	<i>Macaca mulatta</i>
Macaco Cynomolgus	<i>Primate</i>		Macaca	<i>Macaca fascicularis</i>
Macaco Esquilo			Saimiri	<i>Saimiri sciureus</i>
Macaco da noite		Aotidae	<i>Aotus</i>	<i>Aotus trivirgatus</i>

Manejo e características gerais dos animais de laboratório

Uma criação de animais de laboratório deve ser iniciada com animais comprovadamente puros, de *pedigree* e criteriosamente selecionados pelos valores genéticos e sanitários. Os métodos de acasalamento empregados devem ser de acordo com o comportamento social dos animais e as condutas relacionadas com a reprodução e o cuidado com os filhos.

Para se instituir o manejo adequado, é importante considerar também as instalações, o conforto físico e proporcionar um estado adequado de nutrição aos animais. Este conjunto proporciona a prevenção de fatores predisponentes às doenças e possibilita a adoção de métodos de controle.

As instalações devem ser planejadas de maneira a permitir a realização de procedimentos de higienização, desinfecção e outros que sejam necessários, bem como respeitar os aspectos etológicos. A construção deve permitir o controle da iluminação e ventilação e a manutenção de temperatura adequada, ser de material resistente e de fácil higienização.

Etológico – Estudo do comportamento animal em seu *habitat*. Constitui conjunto de comportamentos resultantes da evolução da espécie.

As gaiolas devem ser sólidas e seguras, apropriadas para a espécie alojada, livres de superfícies perfurantes ou cortantes, fáceis de serem lavadas, construídas de modo a prevenir fugas ou a entrada de animais estranhos.

Outro aspecto importante do manejo é o conforto físico para os animais, assim como para os profissionais de criação ou experimentação. Os animais alojados devem ser mantidos em ambiente seco, limpo, livre de ruído excessivo, com trocas de ar fresco e filtrado, com intensidade luminosa e ciclos de claro e escuro controlados, dentro da faixa de temperatura e umidade relativa adequada a cada espécie. No caso dos roedores, as trocas de 'cama' (material absorvente) podem variar de uma a três vezes por semana, depen-

dendo da necessidade, o que evita o acúmulo excessivo da amônia em decorrência da decomposição bacteriana de fezes e urina. Este gás pode provocar irritação do trato respiratório daqueles animais e mesmo dos trabalhadores.

Os animais de laboratório possuem características particulares e próprias de cada espécie. Por esse motivo, não devem ser alojadas espécies diferentes em uma mesma sala de criação ou experimentação. Da mesma forma, os profissionais, sempre que possível, deverão trabalhar exclusivamente em uma única área predeterminada. Proceder rotineiramente à inspeção dos animais e de seus alojamentos, detectando precocemente alterações que necessitem intervenção, favorece o bem-estar e o estado sanitário.

As barreiras sanitárias e o acasalamento controlado têm sido as medidas utilizadas pelos bioteristas para obter as linhagens da espécie animal com padrão sanitário e genético recomendado para pesquisa. O padrão sanitário dos animais se classifica em três grupos distintos: animais gnotobióticos, que possuem microbiota associada definida e devem ser criados em ambiente com barreiras sanitárias absolutas; animais livres de germes patogênicos específicos (*specific pathogen free* – SPF), que não apresentam microbiota capaz de determinar doença, ou seja, albergam somente microrganismos não patogênicos; e animais denominados de convencionais, que possuem microbiota indefinida por serem mantidos em ambiente desprovido de barreiras sanitárias rigorosas.

Quanto ao padrão genético, são classificados em dois grandes grupos: não-consanguíneos e consanguíneos. Os animais não-consanguíneos, heterozigotos ou *outbred* são aqueles que apresentam constituição genética variada, em estado de heterozigose, o que deve ser conhecido e mantido.

Para o acasalamento monogâmico de roedores e poucas espécies de primatas, mantém-se um macho para uma fêmea, na gaiola, em caráter permanente. Tem a vantagem da fácil identificação dos filhotes e a manutenção de registro fidedigno, elevada porcentagem deaios férteis pós-partos, de filhotes desmamados (no caso dos roedores), maior controle das enfermidades, boa

seleção dos reprodutores e, no caso de roedores, é amplamente utilizado em colônias de fundação de animais consanguíneos onde se empregam acasalamento entre irmãos. As desvantagens são o aumento de mão-de-obra e a necessidade de grande número de machos reprodutores, de espaços maiores e de mais pessoal.

○ acasalamento poligâmico é um método que compreende um macho para um grupo de duas ou mais fêmeas. Esse método é mais utilizado em colônias de animais de produção de roedores e na grande maioria das espécies primatas com esta característica reprodutiva. A vantagem consiste em ter o maior número de animais produzidos em menos espaço. Tem como desvantagem a dificuldade para registro dos animais e a identificação da fêmea e do macho não fértil.

Características gerais dos roedores e coelhos

• **Camundongo** – Foi introduzido como animal de laboratório pelo fato de ser pequeno, muito prolífero, ter curto período de gestação, fácil domesticação e manutenção. Por todas essas características, tornou-se o mamífero mais utilizado na experimentação biológica. Quando as fêmeas se agrupam em grande quantidade em ausência de macho, se produz o período de anestro,¹⁴ entrando novamente em atividade três a quatro dias depois de introduzir o macho. ○ bioterista se utiliza deste conhecimento para obter várias gestações no mesmo período. Outro fenômeno de interesse na reprodução deste roedor consiste na absorção do embrião, que ocorre com maior frequência nas fêmeas consanguíneas, e está relacionado com a presença de feromônio.¹⁵ ○ camundongo adulto deve ser manipulado individualmente pela base da cauda, com polegar e indicador ou pinça anatômica, mas o peso

¹⁴ Fase de repouso do ciclo estral (cio).

¹⁵ São substâncias químicas captadas por animais de uma mesma espécie (intraespecífica), que permitem o reconhecimento mútuo e sexual dos indivíduos.

do animal deve ser apoiado na mão do profissional ou outra superfície, tão rápido quanto possível. Para contenção de camundongos, coloca-se o animal sobre uma superfície, segurando sua pele da região entre as orelhas na parte dorsal da cabeça, com os dedos polegar e indicador.

O emprego de acasalamento rotacional (método Poiley) em roedores e lagomorfos visa a manter estes animais heterozigotos, evitando-se o acasalamento de parentes próximos e assegurando que a geração seguinte descenda de um maior número de pais, ao contrário do que ocorreria se fossem acasalados ao acaso. Ao empregar esse sistema, a colônia se desenvolve em vários grupos de igual número, de modo que a quantidade de fêmeas e machos em todos os grupos é sempre igual. O número de grupos de uma colônia está diretamente relacionado ao seu tamanho (número de reprodutores). Quanto menor a colônia, maior o número de grupos.

Animais consanguíneos, homozigotos ou *inbred* são obtidos pelo acasalamento entre irmãos e/ou pais e filhos durante vinte ou mais gerações consecutivas. Utilizando esse tipo de acasalamento em colônias de roedores, consegue-se obter um índice de homozigose de 99%, o que torna os animais o mais possível idênticos. O aparecimento desses animais ocorreu no começo do século XX, com os estudos do geneticista americano Clarence C. Little sobre herança na cor da pelagem de camundongos. Após o surgimento da linhagem de camundongo denominada DBA, pesquisas em câncer geraram outras linhagens. Com o surgimento das inúmeras linhagens, alguns pesquisadores reconheceram o potencial dos híbridos F1 (produto do acasalamento entre duas linhagens consanguíneas), já que esses animais são geneticamente homogêneos e heterozigotos para aqueles pares de genes em que as linhagens parentais diferem entre si.

Nas linhagens consanguíneas, para que a homozigose seja mantida nas gerações seguintes, os reprodutores devem ser acasalados indefinidamente, entre irmãos ou pais e filhos, e essa é a razão para que as colônias das

linhagens consanguíneas tenham maior chance de fixação de mutações. Os animais mutantes resultantes desses acasalamentos foram selecionados e reacasalados com representantes da linhagem parental ou de outras linhagens, constituindo, assim, as linhagens congênicas.

Os animais transgênicos são aqueles em que o genoma foi modificado pela introdução de sequências de DNA de outro organismo. Nos animais *knockout*, a modificação genética introduzida é capaz de interromper ou anular um gene, que deixa de ser expresso.

No anexo 1 são demonstradas a contenção de camundongo (Figs 1, 2 e 3) e a técnica de eutanásia por deslocamento cervical (Fig 4).

- **Rato** – Criado atualmente na maioria dos biotérios, é semelhante aos outros animais monogástricos, exceto pelo fato de não possuir vesícula biliar e de seu pâncreas ser difuso. Ratos são dóceis e fáceis de manusear: uma compressão firme e suave ao redor da cavidade torácica restringe os seus movimentos sem trazer sensação de desconforto. A contenção também pode ser feita colocando o polegar e o indicador ao redor da nuca e, com a palma da mão sobre o dorso, use os dedos para ajudar a manter a posição quando o animal se movimentar.

Tão logo a fêmea é coberta, forma-se um tampão na vagina, que é expelido nas 24 horas pós-cobertura. Este fato é observado também em outros membros da família dos roedores. O tampão pode ser notado facilmente entre as fezes, na forma de um cilindro branco seroso e sua observação indica que houve cobertura do macho.

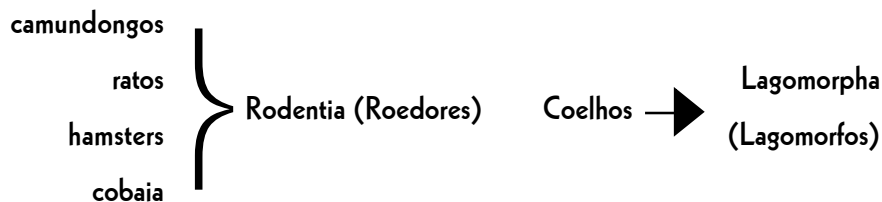
- **Hamster** – Em condições naturais, o *hamster* sírio é uma espécie sazonal que entra em hibernação durante os períodos de dias curtos com baixa luminosidade, baixas temperaturas (inferiores a 5°C) e escassa disponibilidade de recursos alimentares e de material para construção de ninho. No biotério, o controle ambiental com temperatura constante da ordem de 21 a 22°C e 12

horas de claridade por dia evita a manifestação de sazonalidade, inclusive na esfera reprodutiva. Foi amplamente demonstrado o efeito das condições de alojamento sobre o crescimento, o peso e a composição corporal de *hamsters*. O alojamento em grupo acelera o crescimento e a deposição de gordura, induzindo à obesidade, especialmente nas fêmeas, porém sem ocorrência de hiperfagia.¹⁶

• **Cobaia** – São animais sociais, tímidos, dóceis e raramente mordem ou arranham. Assustam-se facilmente, defecam e urinam nos comedouros e derramam sua alimentação pelo piso da gaiola. Gritam de prazer antes de situações gratificantes (alimentação) e ficam muito juntos ou em cima uns dos outros durante o manejo da colônia pelo técnico. Os animais adultos, frequentemente, mordem as orelhas dos jovens e os machos podem brigar violentamente, principalmente durante disputas por uma fêmea em estro, até que se estabeleça a hierarquia do grupo. Outra característica marcante das cobaias é a sua extrema suscetibilidade a estímulos estressantes, principalmente a alterações ambientais. Simples modificações na ração, no comedouro, na água e no bebedouro podem levar os animais a recusar o alimento. Além disso, estímulos como barulho intenso ou movimentos bruscos os assustam, fazendo com que passem a correr de um lado para o outro, provocando ferimentos. Ocasionalmente, durante a contenção para a troca de gaiolas, podemos observar a paralisação do animal por vários minutos e até mesmo a morte. Isso implica dizer que o trabalho com esta espécie deve ser realizado com muito cuidado, principalmente no que se refere às fêmeas grávidas ou com filhotes recém-nascidos, que podem ser pisoteados pelos outros animais do grupo. O método mais seguro para conter uma cobaia é colocar uma mão sob o tórax e, com a outra, apoiar a parte posterior, para suportar o peso do animal, permitindo que ele fique 'sentado' sobre a palma da mão. Deve-se evitar comprimir o tórax pela sua fragilidade.

¹⁶ Alimentação em excesso.

Figura 2 – Ordem de alguns animais de laboratório



• **Coelho** – De uma maneira geral, é dócil, podendo morder ou arranhar em razão da contenção incorreta. Suscetível ao estresse, assusta-se facilmente. Não se deve manter machos adultos em uma mesma gaiola para evitar brigas (disputa de território). As fêmeas também não devem ser mantidas na mesma gaiola porque podem apresentar pseudogestação.¹⁷ Para o acasalamento, a coelha deve ser levada à gaiola do macho para facilitar a cobertura, pois, caso contrário, o macho fora do seu território passará a examinar o novo local, deixando de fazer a mesma. Uma vez introduzida a fêmea na gaiola do macho, deverá ocorrer a cobertura após alguns minutos. É conveniente que o técnico assista e constate a cobertura, observando o comportamento do macho (que se deixa cair de costas emitindo ruídos guturais) e/ou, por meio de um simples exame da vagina, observa-se a presença de líquido seminal. Após a cobertura, a fêmea deve retornar a sua gaiola de origem. Esses animais são mais sensíveis ao calor do que ao frio. A temperatura recomendável varia de 17°C a 21°C e a umidade relativa, de 40% a 60%. A forma mais segura de conter um coelho é pegando-se com uma das mãos a pele do pescoço e com outra as patas traseiras, segurando-o junto ao corpo. Para grandes trajetos, coloca-se o animal sobre o antebraço com a cabeça dirigida para o corpo, segurando firmemente as patas traseiras. Nunca se deve levantar um coelho pelas patas ou pelas orelhas, pois há a propensão a lesões de coluna vertebral e fraturas.

¹⁷ Gestação psicológica.

Tabela 3 – Parâmetros importantes de algumas espécies

	Camundongo	Rato	Hamster	Cobaia	Coelho
Peso macho adulto	25-30 g	300-400 g	95-120 g	400-500 g	4-5 kg
Peso fêmea adulta	25-30 g	250-300 g	95-120 g	300-400 g	4-5 kg
Peso ao nascer	1-1,5 g	5-6 g	5 g	70-100 g	70-80 g
Maturidade sexual do macho	40-50 dias	60-80 dias	60-70 dias	70-80 dias	5-6 meses
Maturidade sexual da fêmea	40-50 dias	60-80 dias	60-70 dias	70-80 dias	5-6 meses
Ciclo estral	4-5 dias	4-5 dias	4-5 dias	16 dias	irregular
Gestação	19-21 dias	21-22 dias	16-19 dias	59-72 dias	30-31 dias
Desmame	19-21 dias	21-22 dias	21 dias	15-21 dias	42 dias
Tamanho da ninhada	1-22	8-10	4-12	1-6	6-8
Cobertura pós-parto	imediate	imediate	4 dias	imediate	14-28 dias
Vida reprodutiva do macho	1 ano	1 ano	1 ano	2-3 anos	2-3 anos
Vida reprodutiva da fêmea	1 ano	1 ano	1 ano	2-3 anos	2-3 anos
Consumo diário de ração	4-5 g	15-20 g	7-9 g	35 g	100-150 g
Consumo de água	<i>Ad libitum</i>	<i>Ad libitum</i>	<i>Ad libitum</i>	<i>Ad libitum</i>	<i>Ad libitum</i>

Primates não-humanos

A distribuição geográfica silvestre de origem deste modelo está atualmente restrita aos continentes centro sul-americano, africano e asiático. O Brasil é o país com a maior diversidade desta ordem zoológica, a mesma que o homem.

Muitas espécies de primatas¹⁸ são utilizadas há muitos anos como modelos para as pesquisas biomédica e farmacêutica e, por esta razão, várias instituições desenvolvem colônias para sua criação. São reagentes biológicos de importância vital para testes e experimentos que requeiram respostas precisas, análogas e confiáveis, quando nenhum outro animal pode substituí-lo por sua precisão em resultados compatíveis às respostas humanas.

¹⁸ Primatas não-humanos (Filo *Chordata* subfilo *Vertebrata*, superclasse *Tetrapoda*, classe *Eutheria*, ordem *Primate*). Macacos, símios: nome comum a todos os mamíferos da ordem dos primatas, com exceção do homem.

A espécie de primata deverá ser escolhida criteriosamente conforme a proposta de sua utilização, como, por exemplo, modelos reconhecidamente compatíveis para enfermidades tropicais, que são macacos originários do neotrópico – do Brasil e de outros países da América do Sul e América Central (neotropicais) – como o macaco-de-cheiro (*Saimiri* sp.), mico comum (*Callithrix* sp.), sagui (*Saguinus* sp.) e macaco-prego (*Cebus* sp.). Os primatas asiáticos (Velho Mundo¹⁹) são utilizados em várias investigações, entretanto, são animais com alto custo para sua manutenção e com maior dificuldade de obtenção, destacando-se, entre eles, os do gênero *Macaca*.²⁰

Os primatas não-humanos pertencem à ordem mais elevada dos mamíferos. A maioria é gregária em seu ambiente natural, vivendo em grupos sociais sob a proteção de um macho alfa. É um animal buliçoso, inquieto, observador e repetidor de atitudes humanas. Por este motivo, os profissionais que trabalham em biotérios deverão ter atitudes conscientes no trato diário, para que não transmitam ensinamentos prejudiciais ao comportamento habitual da espécie.

Ressalta-se como característica e diferenciação entre espécies e sua hierarquia na classificação taxonômica a existência ou não de cauda (mais próximas ao homem). Em algumas delas, é utilizada como um quinto membro (quando prensil), um recurso em seus deslocamentos e para sua proteção contra predadores naturais.

¹⁹ Primatas do Velho Mundo (infraordem *Catarrhini*) são os macacos originários do continente africano e asiático. Possuem a membrana internasal (septo nasal) estreita. Os primatas neotropicais (infraordem *Platyrrhines*), ao contrário, possuem narinas bem separadas. Estes últimos são de porte menor, sendo exclusivamente arborícolas (poucos descem ao solo em busca de água ou alimento), distinguindo-se também das espécies do Velho Mundo pela dentição de 32 ou 36 dentes, por polegar não completamente oponível e pelas ausências de calos ciáticos e de bolsas jugais.

²⁰ Algumas espécies deste gênero são modelos biológicos para várias pesquisas, entre elas os macacos *Rhesus* (*Macaca mulatta*) e *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*).

No planejamento de instalações para a criação ou experimentação, além das medidas de biossegurança e bem-estar, deve-se levar em conta suas características físicas e comportamentais (sociais, reprodutivas, entre outras). Cada espécie tem características próprias (algumas possuem hábitos diurnos e outra espécie é noturna), grandes diferenciações e comportamento peculiares. A complexidade de seus alojamentos visando ao seu bem-estar deve levar em conta sua biologia e a boa utilização do espaço pelo animal. Conforme é demonstrado na Tabela 4, alguns vivem em grandes grupos familiares hierarquicamente constituídos – sistema poligâmico (um macho dominante ou alfa acasala com várias fêmeas). Outros vivem em famílias menores – sistema monogâmico (um casal e seus filhotes). Umhas espécies alimentam-se preferencialmente de vegetais, outras são onívoras²¹ (deve-se observar, também, que as necessidades nutricionais variam conforme a época do ano e a idade reprodutiva).

Grande parte das criações de primatas é realizada em ambientes com grandes espaços para os animais – gaiolas coletivas, pois se pressupõem que maiores áreas são favoráveis a seu bem-estar, e melhor tolerância destes com o trabalhador. Estas gaiolas são propícias para a convivência de famílias com indivíduos hierarquicamente organizados por eles mesmos, em sistema de poligamia, onde o macho adulto dominante²² convive com seu grupo de fêmeas adultas e em idade reprodutiva e seus filhotes (que devem permanecer com seus pais até atingirem a puberdade).²³ Vale ressaltar que estes ambientes devem possuir locais contíguos específicos para permitir o descanso e a privacidade dos indivíduos dos grupos e que se destina também como área de contenção e captura de todos ou de indivíduos isoladamente.

A higienização das gaiolas coletivas é realizada com máquina de lavagem sob pressão de forma a recolher os resíduos líquidos e sólidos do local, o que

²¹ São os que se alimentam tanto de produtos de origem animal como vegetal.

²² Macho dominante ou alfa: único líder e reprodutor do grupo social e de sua gaiola ou recinto.

²³ Sempre que possível, os filhotes devem permanecer com seus pais durante os primeiros anos de vida e que sejam naturalmente desmamados por sua mãe, para favorecer a aprendizagem social e reprodutiva. Este período é muito importante, pois comprovou-se que os animais que passaram por esse aprendizado demonstram maior sucesso na criação futura de seus próprios filhotes.

se constitui em risco à saúde dos trabalhadores pelo carreamento destes aerossóis. Eles deverão, portanto, estar corretamente paramentados com os equipamentos de segurança individual.

As mesmas especificidades dos outros modelos anteriormente descritos, como controle de umidade, ventilação, luminosidade, tratamento de efluentes e barreiras que impeçam a circulação de animais invasores e deletérios, devem ser atendidas. Destaca-se também que a criação deste modelo requer muitas vezes áreas grandes e abertas em ambiente seminatural (locais com vegetação circundante, com o intuito de propiciar bem-estar visual e térmico), onde são construídos seus recintos, de forma a propiciar segurança ao meio externo e à comunidade circundante e também adotar medidas para impedir que animais sinantrópicos²⁴ circulem nestes ambientes.

Como nos outros modelos, o manejo²⁵ de primatas em criação e experimentação e o monitoramento de sua saúde são de importância primordial para evitar a possibilidade de enfermidades previsíveis, bem como sua reprodução seja controlada de forma a não permitir acasalamentos consanguíneos estreitos entre o grupo ou as famílias da colônia.

De acordo com a biologia da espécie de primatas, as gaiolas podem ser coletivas ou individuais,²⁶ com espaço adequado, equipamentos e materiais necessários a sua criação ou manutenção em biotérios. Seja qual for a forma e a necessidade do cativeiro, estabelece-se um programa de interação positiva

²⁴ São aqueles que se adaptaram a viver junto ao homem e, em alguns casos, podem transmitir agravos a sua saúde e de outros animais, como, por exemplo, roedores domésticos, aves, etc.

²⁵ Manejar significa, em sua forma literal, 'conduzir com as mãos'. Na área animal, é um conjunto de técnicas corretas, desenvolvidas com o intuito de reproduzir, criar, manter animais de forma segura e propiciar bem-estar fisiológico, comportamental e produtivo a estes.

²⁶ Nas gaiolas coletivas, algumas vezes o trabalhador, ao capturar um indivíduo específico neste tipo de recintos de criação, necessita utilizar puçás — redes de malha em forma de coador — para primatas de pequeno e médio porte. Recomenda-se que este material seja confeccionado com malhas e bocal adequados para cada espécie, idade e/ou peso, para a segurança do animal e do trabalhador. Em gaiolas individuais, a atividade de captura é realizada com maior facilidade, pois estas possuem uma de suas paredes com mobilidade que, quando acionada, conterà o animal contra a parede fixa. A partir deste momento, com o animal fisicamente contido, realiza-se a administração de imobilizante químico para sua retirada deste local com maior segurança.

fornecendo 'brinquedos', ninhos, poleiros e alimentos diversificados, enriquecendo estes ambientes e proporcionando o bem-estar de seus integrantes.²⁷

Em face da biossegurança, como já foi destacado, todos estes locais deverão atender a requisitos bem definidos, pois são locais de possíveis riscos biológicos diretos ao trabalhador, o que é imperioso para esta espécie animal, devido exatamente a sua semelhança com o homem, transformando-a em um maior risco de transmissão de zoonoses, algumas vezes fatais. A contenção de primatas em cativeiro configura-se como o momento mais delicado do manejo, estressante para os animais e de grande risco para o trabalhador, devendo ser executada pelos membros da equipe com maior experiência.

Tabela 4 – Características sociais e reprodutivas de alguns primatas não-humanos

Espécie animal	Característica reprodutiva	Gestação	Alimentação		Filhotes por gestação	Hábitos
			Vida livre	Em cativeiro		
<i>Rhesus</i> (<i>Macaca mulatta</i>)	Poligâmico	146 a 180 dias	Onívoros	Ração industrializada e suplementação de hortifrutigranjeiro	1	Diurno
<i>Cynomolgus</i> (<i>Macaca fascicularis</i>)	Poligâmico	155 a 165 dias	Onívoros	Ração industrializada e suplementação de hortifrutigranjeiro	1	Diurno
Macaco esquilo (<i>Saimiri</i> sp)	Poligâmico	150 a 172 dias	Onívoros	Ração industrializada e suplementação de hortifrutigranjeiro Fornecimento de larvas <i>Tenebrio molitor</i> *	1	Diurno
Mico comum (<i>Calithrix</i> sp)	Monogâmico	130 a 145 dias	Onívoros	Hortifrutigranjeiro Fornecimento de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	1-3	Diurno
Macaco da noite (<i>Aotus</i> sp)	Monogâmico	120 a 130 dias	Onívoros	Ração industrializada e suplementação de Hortifrutigranjeiro Fornecimento de larvas <i>Tenebrio molitor</i>	1	Noturno

*Em alguns biotérios de primatas, são criadas para suplementação nutricional larvas de *Tenebrio molitor*.

²⁷ Técnicas de enriquecimento ambiental: permitem a interação social e/ou o interesse individual proporcionando quebra na rotina do cativeiro, mantendo-os em permanentes atividades físicas e lúdicas com aqueles ambientes.

Macroambiente²⁸ e microambiente

○ alojamento e a manutenção das condições ambientais apropriadas são essenciais para o bem-estar animal. Um ambiente adequado propicia que os animais cresçam, reproduzam-se, mantenham um bom estado de saúde, tenham conforto e bem-estar, não podendo ser, portanto, um fator que afete o resultado das pesquisas. Essas condições refletem nos resultados e na qualidade final das pesquisas.

Microambiente

○ microambiente para o animal é o ambiente físico com o qual mantém contato direto, por exemplo, a gaiola. Proporciona as condições e o espaço suficiente para as necessidades comportamentais, fisiológicas, manutenção da temperatura corporal, movimentação e postura normal da espécie animal, além de permitir acesso facilitado à água e à alimentação sólida. Construído de forma que não machuque os animais e, em caso de biotérios de criação, deve também ser adequado às necessidades reprodutivas. As gaiolas são construídas com materiais não tóxicos, que atendam as necessidades dos animais, mas que também propiciem uma fácil higienização, desinfecção e/ou esterilização. Devem ser impermeáveis com superfícies sem ângulos fechados, sem cantos vivos ou bordas que possam acumular sujidades e dejetos.

Dimensões de gaiolas e espaço recomendados

A necessidade de espaço para um animal é complexa e não se pode considerar somente o seu peso corporal *versus* a superfície de área. As dimensões da gaiola devem levar em consideração as necessidades individuais, situações particulares e condições fisiológicas dos animais. Desde que a *performance* animal associada à saúde, à reprodução, ao crescimento, ao bem-estar e à

²⁸ É constituído pelas condições do ambiente onde estão as gaiolas dos animais.

atividade normal esteja atendida no espaço disponível, pode-se considerar um alojamento adequado (Tabela 5)

Tabela 5 – Dimensões mínimas e altura das gaiolas segundo a espécie animal e o peso corporal

ANIMAL	PESO (g)	ÁREA DE PISO (cm ²)	ALTURA (cm)
Camundongo	< 10	38,7	12,7
	Até 15	51,6	12,7
	Até 25	77,4	12,7
	> 25*	≥ 96,8	12,7
Rato	< 100	109,7	17,8
	Até 200	148,4	17,8
	Até 300	187,1	17,8
	Até 400	258	17,8
	Até 500	387	17,8
	> 500*	≥ 451,5	17,8
<i>Hamster</i>	< 60	64,5	15,2
	Até 80	83,9	15,2
	Até 100	103,2	15,2
	> 100*	≥ 122,6	15,2
Cobaia	≤ 350	387	17,8
	> 350	≥ 651,5	17,8
Coelho	< 2.000	1,35	35,6
	Até 4.000	2,7	35,6
	Até 5.400	≥ 3,6	35,6
Primatas não-humanos	< 1.000	150	50,8
	1.000-3.000	280	76,2
	3.000-10.000	400	76,2
	10.000-15.000	560	81,28
	15.000-25.000	740	91,44

* Animais maiores requerem mais espaço

Fontes: NRC (2003); Kelly e Hall (1995).

Alimentação

As rações peletizadas são as mais utilizadas para alimentação de animais de laboratório, que devem ser palatáveis, balanceadas nutricionalmente e sem contaminantes químicos e microbiológicos. Algumas delas são autoclaváveis e, por esta razão, têm seus níveis de nutrientes aumentados, pois durante o processo de esterilização pelo calor há perdas de vitaminas, proteínas e outros elementos nutricionais. Outro método de esterilização de rações para uso em biotérios é a irradiação, que não provoca perdas nutricionais como na autoclavação.

Animais gnotobióticos e SPF, por possuírem uma microbiota diferenciada ou ausente, podem ter dificuldades na síntese de vitaminas. As vitaminas do complexo B e a vitamina K são suplementadas à dieta para garantir os níveis mínimos necessários à nutrição do animal. Primatas não-humanos e cobaias não sintetizam a vitamina C, que precisa ser disponibilizada de forma artificial em sua dieta diária. Animais que não tenham acesso à luz solar natural precisam receber também um suplemento de vitamina D3.

Água potável deve estar sempre disponível e sua análise quanto à qualidade microbiológica e aos contaminantes químicos precisa ser efetuada periodicamente. O método de seu tratamento é definido em função do experimento, pois a acidificação ou cloração podem causar alterações fisiológicas ou da microbiota do animal, interferindo em seu bem-estar e nas condições de saúde. A filtração e a esterilização por autoclave são os métodos mais empregados em biotérios e os frascos bebedouros devem ser substituídos, pelo menos, uma vez por semana, para minimizar a proliferação de microrganismos.

Forração das gaiolas

A forração das gaiolas tem por objetivo manter os animais secos e limpos e proporcionar um ambiente confortável. O material mais comumente utilizado para a forração das gaiolas é a maravalha de madeira. A madeira utilizada para a produção de maravalha

deve ser seca, isenta de contaminantes químicos, e sua produção e seu armazenamento devem ser feitos de forma a minimizar o acesso de roedores, insetos e outros animais que possam contaminá-la. As madeiras 'verdes' possuem fortes aromas que podem afetar os animais e até intoxicá-los. A esterilização por autoclave reduz a concentração desses aromas e previne esse problema, principalmente se a madeira já os possui em níveis baixos.

Temperatura

Embora a maioria dos animais de laboratório tolere a mesma faixa de temperatura do homem, a temperatura de salas de manutenção em biotérios deve ser mantida para atender as condições ideais da espécie. Amplas variações de temperatura são mais prejudiciais que uma temperatura constante próxima a um dos extremos da faixa de tolerância. Os animais de laboratório, em sua maioria homeotérmicos,²⁹ tentam manter a temperatura corporal constante. A mudança na temperatura ambiental resultará em alterações compensatórias que afetarão o padrão metabólico, a circulação, a atividade e o comportamento. Deve ser lembrado que a temperatura no interior das gaiolas, normalmente, é superior em alguns graus à do ambiente externo e varia em função das dimensões da gaiola e do número de animais alojados.

Ventilação

Os animais estão constantemente perdendo calor, umidade, dióxido de carbono, entre outros produtos metabólicos, que irão se acumular no ambiente caso a sala não possua ventilação adequada. As trocas de ar têm por propósito suprir o ambiente de oxigênio, remover o calor produzido pelos animais, lâmpadas e equipamentos e diluir gases e partículas em suspensão. O ambiente, para a maioria dos animais, requer de 15 a vinte trocas de ar (volume do

²⁹ Animais homeotérmicos ou de 'sangue quente'. É a característica de alguns animais que lhes permite manter sua temperatura corporal relativamente constante à causa de uma alta taxa metabólica gerada pela intensa queima de energia nas células.

ambiente por hora), visando a eliminar odores e gases e auxiliando a manter a temperatura e umidade. Se a troca de ar é insuficiente, a densidade animal na sala deve ser reduzida e as gaiolas limpas com maior frequência. Porém, essa deve ser uma solução provisória.

Umidade relativa (UR)

A maioria dos animais de laboratório compensa o excesso de calor através do aumento do ritmo respiratório. Contudo, se o ar inspirado possui alto índice de umidade, afetará a capacidade de o animal ajustar sua temperatura corporal. A umidade relativa de 55 +/-5% é recomendada para a grande maioria dos animais e a tolerância está na faixa de 30 a 70% UR. A umidade relativa no interior das gaiolas é em torno de 10% maior que no ambiente. Flutuações e extremos na UR podem propiciar o aparecimento de doenças, principalmente respiratórias, bem como alterações no consumo de ração e água. A umidade relativa é a maior responsável pela rapidez de evaporação de gotículas e sua dispersão, e estas gotículas em suspensão influenciam na sobrevivência de microrganismos.

Luz

A regularidade do fotoperíodo³⁰ é importante para a manutenção da normalidade comportamental dos animais (por exemplo, sincronização do ciclo circadiano,³¹ ciclos reprodutivos, efetividade de drogas). Variações no fotoperíodo (claro/escuro), em função da duração dos dias ou das estações

³⁰ Fotoperíodo representa o comprimento de um dia e consiste na duração do período de luz de um determinado ambiente.

³¹ Ciclo circadiano ou ritmo circadiano. Designa o período de aproximadamente 24 horas sobre o qual se baseia todo o ciclo biológico dos animais e de qualquer outro ser vivo, que são influenciados pela luminosidade (fotoperíodo ou luz solar).

do ano, influenciam o comportamento reprodutivo, o tempo de duração do parto e os hábitos comportamentais. Animais mantidos em ambiente com iluminação artificial requerem controle automático do fotoperíodo. É recomendado 12 horas de luz e 12 horas de escuridão ou 10 horas de luz e 14 horas de escuridão. A luminosidade deve possuir característica mais próxima possível da luz natural, propiciar boa visibilidade e ser uniforme. Ressalta-se que várias espécies de animais de laboratório, como os camundongos, ratos, *hamsters* e o macaco da noite têm hábitos noturnos.

Ruído

As instalações devem ser planejadas visando a evitar a propagação de sons naturais, pois podem causar distúrbios por estresse. Sons de alta intensidade ou súbitos são mais prejudiciais que os habituais e rotineiros. De alta significância são os ruídos ultrassônicos, que os humanos não percebem, porém são escutados por várias espécies animais (camundongos e morcegos).

Controle da qualidade animal

Um laboratório de controle de qualidade animal tem como objetivo definir padrões e garantir a qualidade de animais mantidos e criados em biotérios. A saúde e o bem estar dos animais, assim como a classificação de seus padrões, são obtidos através de um programa de monitoramento de rotina e práticas sanitárias rigorosas. O controle sanitário e genético só será eficaz caso o biotério utilize técnicas de criação e manutenção, mantendo os animais livres de patógenos (vírus, bactérias, fungos e parasitas) e geneticamente estáveis.³² Os métodos utilizados para certificar a qualidade sanitária de uma colônia podem incluir o monitoramento sanitário de rotina e a checagem ocasional ou o levantamento microbiológico.

³² Padrão genético que caracteriza a linhagem.

- **Monitoramento sanitário** – Realização de testes de análises laboratoriais: bacteriológicas, parasitológicas, virológicas, micológicas e anatomopatológicas. Estas análises devem ser realizadas pelo menos trimestralmente, tendo como principal objetivo evidenciar a presença de agentes patogênicos em determinada colônia.
- **Checagem ocasional** – Pode ser realizada apenas quando identificarmos algum achado clínico. São feitos testes específicos para determinado patógeno de acordo com as suspeitas clínicas.
- **Levantamento microbiológico** – Testes para a obtenção de informações referentes à prevalência da infecção entre os animais. Os resultados refletem o estado sanitário da colônia em determinado período, ou seja, apenas no momento em que foram realizados.

O monitoramento sanitário animal deve ser elaborado através de um programa de diagnóstico que tem como principais objetivos:

- Monitorar as condições de saúde dos animais que tenham sido inseridos nas instalações.
- Monitorar possíveis surtos epidêmicos nas colônias.
- Determinar parâmetros fisiológicos e epidemiológicos de espécies animais e linhagens específicas.
- Diferenciar novas mutações.
- Identificar possíveis zoonoses.

Para a implantação deste programa de controle da qualidade, o primeiro passo é selecionar os patógenos (tabela 7 e 8) que serão pesquisados, levando em consideração fatores como limitações das instalações, prevalência das doenças, potencial patogênico e confiabilidade dos métodos de diagnósticos aplicados.

O ideal é a pesquisa de todos os agentes primários, porém, algumas instituições realizam o monitoramento apenas de alguns agentes considerados relevantes de acordo com suas instalações e outras pesquisam, além dos agentes primários, os agentes oportunistas. Consideráveis prejuízos nas pesquisas podem ser causados por microrganismos oportunistas, sendo estes manifestados apenas em determinadas condições, como estresse animal, uso de linhagens suscetíveis, coinfeções, entre outras.

Agentes primários – São parasitas, bactérias, vírus ou fungos que têm um potencial significativo para causar doenças. Estes patógenos podem acarretar grandes interferências em pesquisas. Exemplos de agentes primários: vírus da hepatite de camundongos, vírus Sendai, coronavírus, vírus Kilham, vírus da coriomeningite linfocítica, *Salmonella* sp. e *Citrobacter freundii*.

Agentes oportunistas – São normalmente bactérias e fungos comuns em animais de laboratório ou em seres humanos. Possuem baixa probabilidade de causar doenças clínicas, porém elevado potencial de latência. Exemplos de agentes oportunistas incluem *Klebsiella pneumoniae*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*.

Outra etapa importante para a implantação do controle é o cálculo da amostragem que será submetida à avaliação no laboratório. O tamanho desta amostragem poderá ser calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$n = \log 0,05 / \log N$$

n = número de amostras, N = % de animais não infectados na prole e $\log 0,05$ = 95% nível de confiabilidade dos testes.

Em média, as doenças de animais criados em biotérios possuem uma morbidade mínima em torno de 30 a 35%.

O uso desta fórmula impõe uma série de pressupostos:

- A população estudada deve possuir no mínimo cem animais em suas colônias.
- A escolha dos animais que serão submetidos ao monitoramento deverá ser aleatória, sem predileção por sexo ou outros fatores, para que não influencie o resultado final dentro do grupo.
- A percentagem de animais infectados (morbidade) por determinado microrganismo deve ser conhecida.

A maioria das doenças virais em uma população fechada trará morbidade de pelo menos 30 a 35%. Por exemplo, se determinado vírus tem 80% de prevalência de infecção em colônias de camundongos, precisaremos de apenas três animais para realizar o diagnóstico da ocorrência do vírus na colônia (Tabela 6).

Tabela 6 – Tamanho mínimo da amostra para detecção de uma infecção em determinada colônia com no mínimo cem animais

Incidência da infecção população (%)	Amostra (quantitativo)*
90	2
80	3
70	4
60	5
50	7
40	9
30	13
20	21
10	44

* Limite de confiança de 99% ($\alpha=0,01$).

Para minimizar erros diagnósticos, o ideal seria utilizar uma amostragem em torno de dez a doze animais de cada sala de criação de colônias, tanto de fundação como de criação, com intervalos trimestrais ou semestrais, dependendo da espécie animal ou do agente etiológico. Existe a possibilidade de utilização dos chamados 'animais sentinelas': animais imunocompetentes que devem ser introduzidos na colônia e mantidos para o monitoramento por no mínimo quatro semanas.

Controle virológico

Um programa de boas práticas laboratoriais, integrado a um sistema de garantia de qualidade, deve complementar o uso de metodologias adequadas para o monitoramento virológico de colônias. Estas metodologias podem ser classificadas em:

- **Metodologias diretas** – Quando se realiza a pesquisa a partir do material clínico colhido de produtos antigênicos ou de partículas virais propriamente ditas. Ex.: microscopia eletrônica, imunohistoquímica, imunoensaioenzimático para pesquisa de antígenos virais e imunofluorescência direta.
- **Metodologias indiretas** – São aquelas onde pesquisamos anticorpos contra determinados vírus. Entre os métodos de escolha estão os testes sorológicos. Existem diversas metodologias para realização desta pesquisa, dentre elas: testes imunoensaioenzimáticos (Elisa – *enzima linked immunosorbent assay*), testes de imunofluorescência indireta (IFI – *indirect immunofluorescence*), testes de inibição da hemaglutinação (IH), *immunoblot*³³ (*Western Blot*) e, reação da cadeia da polimerase (PCR – *Polymerase Chain Reaction*).

Um resultado positivo automaticamente requer um curso de ação para confirmar a presença do agente através de testes confirmatórios, com o aumen-

³³ O termo 'imuno' refere-se à natureza da reação de detecção (anticorpo-antígeno) e o termo 'blot', ao sistema utilizado para imobilizar o antígeno (*blot*, do inglês: impressão, borrão).

to da amostragem ou repetição dos testes. É importante salientar que o agente etiológico pode ter sido introduzido na colônia muito antes dos sinais clínicos ou da morte de algum animal. Diante deste fato, podemos concluir que a aplicabilidade da avaliação diagnóstica contínua é de extrema importância.

Tabela 7 – Principais vírus que afetam animais de laboratório

Agente etiológico	Espécie afetada	Sinais clínicos	Transmissão	Período de incubação	Observações
Vírus Sendai Família Paramyxoviridae	<i>Hamster</i> , camundongos e ratos	Acomete o trato respiratório. Disseminação é rápida. Dispneia e estertores, perda de peso, redução no tamanho da prole, gestações prolongadas, alta mortalidade em recém-nascidos e em filhotes até o desmame.	A sua transmissão ocorre por aerossóis ³⁴ e por contato direto.	7 a 14 dias	Parainfluenza I
Vírus da Hepatite de Camundongos (MHV) Família Coronaviridae gênero Coronavírus	Camundongos	Na maioria dos casos é assintomática. Urina com coloração amarronzada, manchas na região perianal, icterícia, ³⁵ espasmos, incoordenação e morte.	Via oral-fecal.		Possui grande capacidade de disseminação. Podem surgir sintomas dependendo da cepa viral e do estado do animal (linhagem, imunossupressão, estresse, idade etc.). Duas formas principais de doença, dependendo do tropismo da cepa viral. Padrão respiratório: geralmente assintomático. Padrão entérico: dissemina-se além do intestino para outros órgãos abdominais (fígado e nódulos linfáticos abdominais). Diarreia e alta mortalidade em animais jovens. Algumas cepas podem disseminar para o cérebro.

³⁴ Aerossóis: constituídos por partículas com tamanho menor ou igual a 5 μm . A proteção respiratória para as doenças de transmissão aérea por aerossol é obtida através da seleção e do uso dos EPI adequados. Estertores (estalos ou crepitações) são pequenos sons de estalidos, borbulhantes ou do tipo chocalho, que se ouvem numa parte do pulmão. Eles ocorrem quando o ar se move através das vias respiratórias repletas de líquido.

³⁵ Icterícia: coloração amarelada nas membranas mucosas e nos olhos, causada por excesso de bilirrubina no sangue.

Agente etiológico	Espécie afetada	Sinais clínicos	Transmissão	Período de incubação	Observações
Vírus da Sialodacrioadenite (SDAV) Família Coronaviridae gênero Coronavírus	Ratos	O vírus afeta as glândulas salivares e lacrimais, linfonodos cervicais, timo e mucosa do trato respiratório. Os sinais clínicos, quando presentes, são: fotofobia, lesões oculares, edemas no globo ocular, lacrimejamento alterado e, em alguns casos, edema na região cervical. Em animais lactentes, ³⁶ pode ocorrer conjuntivite com fotofobia e exsudato ocular. Os sintomas mais graves são: edema cervical, espirros, descarga nasal, descarga ocular e úlcera de córnea.	Contato direto e aerossóis.	-	Alta morbidade e baixa mortalidade.
Vírus da Coriomeningite Linfocítica (LCMV) Família Arenaviridae gênero arenavírus.	Camundongos, hamster, coelhos, cobaias, primatas não-humanos.	Os sinais clínicos variam de acordo com a cepa viral, linhagem e idade dos animais. Quando a infecção é adquirida ainda no útero ou poucos dias após o nascimento, os animais sofrem um retardo no seu crescimento, desnutrição, irritabilidade, ascite e morte. Apesar da forma mais comum ser assintomática, em hamster observamos glomerulonefrite progressiva e redução de seu tamanho. Em humanos, a doença se manifesta com febre, mialgia, náuseas, vômito, fotofobia e tosse, ocasionalmente rash cutâneo, linfadenopatia, otite, delírio e amnésia.			Possui importância significativa por se tratar de uma zoonose.

³⁶ Lactentes: Mamíferos jovens, sem desmame. Refere-se aos animais sob proteção que são alimentados pela mãe biológica, mãe adotiva ou por mamadeira.

Agente etiológico	Espécie afetada	Sinais clínicos	Transmissão	Período de incubação	Observações
Vírus da Desidrogenase Láctica Família Togaviridae	Camundongos	A atividade da enzima desidrogenase láctica (LDH) no plasma aumenta 24 horas após o contato com o vírus, com picos de até dez vezes mais após 72-96 horas, permanecendo elevados por toda a vida do animal.	Embora os camundongos eliminem o vírus pela urina, saliva, fezes e leite, os títulos virais decaem após a primeira semana da infecção, diminuindo consideravelmente o risco de transmissão.	-	O diagnóstico pode ser realizado através da análise bioquímica dos animais, podendo encontrar elevação em todas as enzimas plasmáticas além do aumento considerável da LDH.
Vírus da Encefalomielite Murina (Vírus Theiler) Família Picornaviridae gênero Enterovirus.	Camundongos e ratos	Os sinais clínicos são inaparentes e presumidamente causados por cepas menos virulentas. Os camundongos afetados apresentam paralisia flácida dos membros. A lesão típica da doença é a poliomielite não supurativa com necrose e neuronofagia. As cepas mais virulentas causam movimentos em círculos, vagarosos, hiperexcitabilidade, convulsões, tremores, paralisia flácida nos membros e alta mortalidade. ³⁷	Fecal - oral.	-	A infecção normalmente é adquirida em 3 a 6 semanas de idade. O vírus tem sido demonstrado nas fezes por até 53 dias após infecção, apresentando uma taxa de mortalidade baixa.
Ectromelia vírus Família Poxviridae Gênero Orthopoxvirus.	Camundongos	Aproximadamente dez dias após a infecção, lesões características se desenvolvem na pele, levando a liberação viral para o ambiente. Estes também podem ser eliminados nas excreções da orofaringe, do trato genital e do intestino. As lesões na doença aguda incluem necrose do baço, linfonodos, timo e fígado.	A transmissão ocorre através de fissuras na pele.	-	

³⁷ Supurativa: formação ou acúmulo de secreção purulenta. Neuronofagia: neurônios sendo fagocitados por macrófagos do tecido nervoso. Paralisia flácida: perda do tônus muscular.

Agente etiológico	Espécie afetada	Sinais clínicos	Transmissão	Período de incubação	Observações
<i>Herpesvirus simiae</i>	Primates não humanos.	Na sua grande maioria, os animais são assintomáticos. Em alguns casos, podem causar lesões nas mucosas, semelhantes a úlceras aftosas presentes no dorso da língua, lábios ou face, parecidas com as causadas pelo vírus herpes simplex. No homem, conjuntivite ligeira e descarga nasal. Também podem ser observadas doenças neurológicas nos casos mais graves.	Contato direto. Para o homem, ocorre através de mordidas, arranhões, aerossóis ou manuseio inadequado de tecidos contaminados.	Normalmente, a doença em primatas dura, em média, de sete a 14 dias. O vírus permanece latente e pode reativar de forma espontânea ou quando os animais são submetidos a condições de estresse.	O vírus enzoótico em Macaco Rhesus (<i>Macaca mulatta</i>), Macaco Cynomolgus (<i>Macaca fascicularis</i>), e outros primatas não humanos. O vírus pode ser isolado de saliva, sangue, urina, fezes e rim. Nos seres humanos, esta doença tem sido caracterizada por uma variedade de sintomas que geralmente ocorrem dentro de um mês de exposição. Os sintomas incluem: lesões vesiculares localizadas na pele ou nas proximidades do local da inoculação, sintomas neurológicos, paralisia ascendente e, em última instância, encefalite. A morte normalmente ocorre de três a 21 dias após o aparecimento dos sinais clínicos.

Controle bacteriológico e micoplasma

O conhecimento da microbiota do modelo animal utilizado em pesquisa é importante para definir seu estado sanitário.

Tabela 8 – Principais bactérias e micoplasma que afetam animais de laboratório

Agente etiológico	Espécie afetada	Características	Transmissão
<i>Bacillus piliformis</i> Responsável pela doença de Tyzzer.	Afetam uma variedade de animais, incluindo camundongos, ratos, <i>hamsters</i> , coelhos e primatas não-humanos (Rhesus).	São bacilos gram negativos, intracelulares. Células mononucleares infiltradas e neutrófilos são observados em áreas afetadas, mesmo podendo não ser observado o bacilo nas lesões. Lesões da doença são caracterizadas por necrose hepática, hepatite, colite e miocardite. As lesões entéricas são mais graves em coelhos e <i>hamsters</i> .	A transmissão ocorre após ingestão de esporos pelas fezes (transmissão fecal-oral).
Bacilo associado aos cílios respiratórios (CAR <i>Bacillus</i>) Causam doença respiratória crônica.	Ratos, camundongos, coelhos, <i>hamsters</i> e cobaias.	São bacilos gram negativos. A mortalidade na maioria dos casos está associada à coinfeção com <i>Mycoplasma</i> e Vírus Sendai. As lesões causadas por esta bactéria se localizam no trato respiratório superior. A bactéria pode ser visualizada entre os cílios do epitélio respiratório. Devido à dificuldade em isolar as bactérias em meios comuns, o ideal para o diagnóstico é a pesquisa de anticorpos através de técnicas de sorologia ou a pesquisa do bacilo pela reação em cadeia da polimerase (PCR).	Através de fômites e contato direto.
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	Ratos, camundongos, <i>hamsters</i> e cobaias.	São cocos gram positivos. Em roedores, pode causar o surgimento de abscessos nos tecidos, atingindo tímpano e ouvido médio. Quando sua forma é epizootica, os ratos podem desenvolver embolia pulmonar. Em camundongos, a doença pode evoluir para articulações, fígado e rim. O diagnóstico se dá através da observação direta das bactérias em cultivo dos abscessos com meios apropriados (ex.: ágar sangue, tripticase soy com 5% de sangue de carneiro etc.). A pesquisa de anticorpos através de sorologia é indicada devido ao baixo custo e fácil manuseio. Outra forma é através de técnicas moleculares.	Contato direto com urina e fezes contaminadas.

Agente etiológico	Espécie afetada	Características	Transmissão
<i>Staphylococcus aureus</i>		Como se trata de uma zoonose, a contaminação pode ter sido levada pelo homem aos animais. As formas clínicas são as dermatites ulcerativas, abscessos e pododermatites (dermatite que afeta apenas as patas dos animais). O diagnóstico depende do isolamento e da identificação bacteriana em material das lesões, utilizando meios de cultivo seletivos de forma que outros microrganismos não interfiram nos resultados.	
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	Ratos, camundongos, hamsters, coelhos e cobaias.	Principal agente responsável pelas doenças respiratórias crônicas dos ratos. A infecção assintomática é a mais comum. Os sinais clínicos podem ser: otite média e interna, que leva o animal a movimentar-se em círculos, rinite com espirros e descarga nasal mucosanguinolenta e pneumonia com dispneia e debilidade progressiva. Pode infectar o trato genital das fêmeas, causando baixa fertilidade e redução de peso da prole. O diagnóstico pode ser feito pelo isolamento através de material do trato respiratório, sorologia ou técnicas de reação em cadeia da polimerase. Somente a seleção de animais livres de micoplasma, identificados por monitoramento contínuo, pode permitir a obtenção de estoques negativos.	A transmissão ocorre por aerossóis e por via transplacentária.

Controle parasitológico

Os animais de laboratório criados e mantidos nas colônias em condições convencionais são comumente afetados por uma grande variedade de ectoparasitas e endoparasitas (tabela 9). De um modo geral, estes parasitas atuam comprometendo a saúde e interferindo em trabalhos realizados com os animais. É aconselhável promover medidas preventivas antiparasitárias e mantê-las com as diferentes espécies criadas em biotérios. Há a necessidade de fazer exames periódicos, verificando o aspecto e a sanidade, além de se manter os animais sob condições sanitárias controladas. A presença de parasitas na colônia influencia na fisiologia dos animais e na suscetibilidade a outros agentes infecciosos.

○ parasitismo geralmente é assintomático, mas, dependendo da intensidade, produz uma ampla variedade de sinais clínicos. Os ectoparasitas (tabela 10) podem causar prurido, dermatite, perda ou rarefação da pelagem nas regiões afetadas, pelos arrepiados, descamação epidérmica e ulcerações de pequena ou grande extensão, redução nos índices de reprodução e conseqüentemente perdas econômicas, além da interferência nos resultados de pesquisa. Os sinais clínicos causados pelos endoparasitas incluem diminuição da taxa de crescimento, irritação anal, prolapso retal, intussuscepção intestinal, enterite catarral, granuloma hepático, queda no ganho de peso, acúmulos de gases, distensão abdominal, fezes amolecidas ou aquosas, constipação intestinal, pelos arrepiados, colite, perdas econômicas ligadas à diminuição da taxa de produtividade das colônias e interferir nos resultados.

○ tratamento das ectoparasitoses em animais de laboratório baseia-se na aplicação de substâncias químicas solúveis sob a forma de banhos de imersão, diretamente sobre a pelagem do animal, misturadas à cama pela administração subcutânea e na água dos bebedouros. ○ tratamento de helmintos pode ser realizado com o uso de várias drogas anti-helmínticas, isoladas ou combinadas. Os anti-helmínticos são administrados por via oral, adicionados à ração ou água.

Exames endoparasitológicos

○ exame endoparasitológico constitui um valioso recurso para o diagnóstico das doenças parasitárias. Os parasitas intestinais são habitualmente identificados por sua morfologia ao microscópio. Este exame consiste na pesquisa de cistos, trofozoítos e oocistos de protozoários, ovos, adultos e larvas de helmintos.

Cuidados com as amostras de fezes:

- As amostras fecais devem ser recentes.
- Preferencialmente coletadas diretamente da ampola retal do animal.

- Em situações especiais, fezes frescas podem ser coletadas do fundo da gaiola.
- Amostras devem ser coletadas em frasco limpo e seco.
- Examinar as amostras de fezes macroscopicamente e microscopicamente.
- Processar as amostras o mais rápido possível.
- As amostras que demorarem a serem analisadas devem ser colocadas em conservantes químicos.
- Identificar as amostras com espécie animal, idade, sexo e hora da coleta.

Para animais que não podem ser retirados da colônia, recorre-se a técnicas onde a amostra não requer eutanásia. A técnica da fita celofane para pesquisa de ovos de *Syphacia* spp. é uma delas.

Técnica da fita celofane adesiva:

- Realizar a contenção do animal e, com fita adesiva celofane, fazer uma impressão na região perianal.
- Colocar a fita com face adesiva voltada para a lâmina de microscopia devidamente identificada.
- Observar a lâmina ao microscópio usando a objetiva de menor aumento (10x).

Os animais de pequeno porte enviados ao laboratório são submetidos ao exame direto da mucosa intestinal. Esta técnica possibilita um diagnóstico amplo, pois se obtém amostra de todas as porções do intestino.

Exame direto da mucosa intestinal:

- Após eutanásia, fazer uma incisão pré-retro-umbilical na linha mediana do abdome.

- Retirar intestinos, delgado e grosso, e colocar em placas de Petri identificadas.
- Adicionar solução salina (NaCl a 0,85%).
- Abrir os intestinos longitudinalmente.
- Realizar o exame macroscópico, através de observação da placa de Petri sob um fundo preto, a fim de facilitar a visualização dos helmintos.
- Porção do material que está na placa é colocada entre lâmina e lamínula e observada ao microscópio óptico.

Para a pesquisa de oocistos de *Eimeria stiedae* em coelhos é utilizado o método de exame direto da bile.

Exame direto da bile:

- Após a eutanásia, realizar a incisão pré-retro-umbilical no abdome do coelho.
- Retirar a vesícula biliar, colocar em placa de Petri e abrir para expor o seu conteúdo.
- Adicionar solução salina a 0,85%.
- Preparar lâmina de microscopia com este conteúdo.
- Observar em microscópio óptico.

Amostras de fezes de roedores, coelhos, ovinos e primatas não-humanos podem também ser testadas pelo exame direto, em fezes frescas pela diluição de pequena porção da matéria fecal em solução fisiológica e identificação do material ao microscópio. No método de Willis (flutuação), é misturada pequena quantidade de fezes à solução saturada de cloreto de sódio ou açúcar. Para complementar o diagnóstico parasitológico em primatas não-humanos, é utilizada a técnica de sedimentação espontânea de Dennis-Stone & Swanson –modificada, onde a amostra fecal é diluída em solução de detergente neutro.

Há muitos outros métodos coproparasitológicos que podem ser utilizados, permitindo detectar parasitas nas fezes dos animais de laboratório.

Tabela 9 – Principais endoparasitas de animais de laboratório

<i>Espécies</i>	<i>Hospedeiro</i>	<i>Habitat</i>	<i>Características</i>
<i>Aspicularis tetraptera</i>	Camundongos, ratos e hamsters	Nematódeo encontrado no ceco e cólon	Os vermes adultos apresentam asa cuticular cervical. As fêmeas medem de 3,0 a 4,0 mm de comprimento e os machos entre 2,0 a 4,0 mm de comprimento. Seus ovos são elipsoides com presença de uma massa de blastômeros visíveis. O ciclo é de 23 dias, os ovos são observados nas fezes e necessitam de seis dias para embrionação.
<i>Syphacia obvelata</i>	Camundongos, ratos e hamsters	Ceco e cólon	É o parasita que promove a oxiúriase em camundongos, normalmente não patogênicos. A infecção de animais de laboratório ocorre após a ingestão de ovos embrionados. Os ovos alongados apresentam como característica achatamento em um dos lados, em forma de D, medindo entre 72 a 82 por 25 a 36 micrômetros. A fêmea mede 3,4 a 5,8 mm de comprimento e deposita os ovos no cólon ou na região perianal. O macho é menor e mede 1,1 a 1,5 mm de comprimento e possui três dilatações, chamadas mamelões, na face ventral terço posterior do corpo. Os vermes adultos apresentam dilatação cuticular cefálica. Apresentam um ciclo direto com um período de oito a 15 dias.
<i>Syphacia muris</i>	Ratos	Ceco e cólon	As fêmeas medem entre 2,8 a 4,0 mm e os machos entre 1,2 a 1,3 mm de comprimento. Os ovos são similares aos de <i>Syphacia obvelata</i> .
<i>Passarulus ambiguus</i>	Coelhos	Oxiurídeo do ceco e cólon	Podem ser encontrados em grandes quantidades. Os machos medem de 4,0 a 5,0 mm em seu comprimento e as fêmeas de 9,0 a 11,0 mm. Possuem corpo semitransparente o que facilita a visualização do bulbo esofágico. O ovo apresenta parede fina, com achatamento lateral em um dos seus lados, medindo entre 95 e 103 por 43 micrômetros. Seu ciclo de vida é direto com 55 a 65 dias e a infecção é por ingestão do ovo embrionado.
<i>Paraspidodera uncinata</i>	Cobaias	Parasita do ceco e cólon	As fêmeas adultas medem 18,4 a 20,9 mm de comprimento e os machos, 16,3 a 17,6 mm.
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Primatas	Intestino delgado	As fêmeas adultas medem entre 30 a 40 cm de comprimento e os machos, 15 ou 30 cm. Os ovos férteis medem entre 60 a 45 micrômetros e os ovos inférteis, mais alongados, entre 80 a 90 micrômetros de comprimento.
<i>Trichuris trichiura</i>	Primatas	Ceco	Os vermes adultos medem entre 3 a 5 cm de comprimento. Os ovos variam de tamanho entre 50 e 55 micrômetro de comprimento por 22 ou 23 micrômetro de largura.
<i>Hymenolepis nana</i>	Camundongos, ratos, hamsters e primatas	Intestino	Essa espécie é também muito encontrada no homem. O verme adulto tem comprimento que varia entre 2 e 4 cm e possui escólex pequeno e globoso com presença de vários acúleos dispostos em torno do rostro. Os ovos têm formato oval ou arredondado e medem de 40 a 50 micrômetros de diâmetro. Causa doenças ao homem, podendo ser infectado pela manipulação dos animais.

<i>Espécies</i>	<i>Hospedeiro</i>	<i>Habitat</i>	<i>Características</i>
<i>Hymenolepis diminuta</i>	Camundongos, ratos e <i>hamsters</i>	Intestino delgado	Conhecido como a tênia do rato. O verme adulto mede entre 10 e 20 cm de comprimento e possui um escólex pequeno, com quatro ventosas, desprovido de acúleos. Os ovos são esféricos, com casca dupla, e medem de 70 a 80 micrômetros de diâmetro.
<i>Balantidium caviae</i>	Cobaias	Ceco e cólon	Protozoário ciliado encontrado comumente em animais convencionais. Aparentemente não patogênicos. A forma trofozoíta mede entre 55 a 115 micrômetros de comprimento por 45 a 73 micrômetros de largura e a forma cística, entre 40 a 50 micrômetros de largura.
<i>Eimeria stiedae</i>		Duodeno, fígado e vias biliares	A coccidiose é causada por protozoários patogênicos que costumam ter localização bem específica no organismo do hospedeiro. Causam doenças graves em diversas espécies animais. O gênero <i>Eimeria</i> caracteriza-se por apresentar no interior dos oocistos quatro esporocistos, cada um deles com dois esporozoítas.
<i>Eimeria flavescens, E. irresidua, E. neoleporis, E. intestinalis, E. magda (São as mais patogênicas) Eimeria perforans</i>	Coelhos		
<i>Eimeria media</i>		Intestino grosso e delgado	
<i>Eimeria falciformis</i>	Camundongo	Intestino grosso	
<i>Eimeria caviae</i>	Cobaia		
<i>Eimeria nieschulzi</i> e <i>E. separata</i>	Ratos	Intestino	
<i>Balantidium coli</i>	Primatas	Intestino	Encontrado nas fezes, os trofozoítas medem entre 30 e 150 μm de comprimento por 25 a 120 μm de largura. Os cistos são ovoides ou esféricos e medem entre 40 e 60 μm de diâmetro.
<i>Cyathodium cunhae</i>	Cobaias	Ceco e cólon	Ciliado, não patogênico. Sua forma trofozoíta mede entre 10 a 36 μm por 9 a 24 μm . Caracteriza-se pela forma afunilada. A única forma encontrada é a trofozoíta.
<i>Tritrichomonas muris</i>	Camundongos, ratos, cobaias e <i>hamsters</i>	Cólon e ceco	Protozoário com uma forma intermediária de pseudocisto e trofozoíta. O trofozoíta mede entre 16 a 26 μm de comprimento por 10 a 14 μm de largura. O período de desenvolvimento é de três a dez dias.
<i>Spironucleus muris</i>	Ratos, <i>hamsters</i> , camundongos e vários roedores selvagens ao redor do mundo	Intestino delgado e ceco	Protozoário anteriormente conhecido como <i>Hexamita muris</i> . Apresenta aspecto piriforme, simetria bilateral, mede de 7 a 9 μm de comprimento por 2 a 3 μm de largura.
<i>Giardia muris</i>	Camundongos, ratos e <i>hamsters</i>	Porção anterior do intestino delgado	É um protozoário flagelado causador da giardíase. O trofozoíta mede entre 7 a 13 μm comprimento por 5 a 10 μm de largura. O ciclo leva em torno de 5 a 15 dias. <i>G. muris</i> se reproduz por participação binária ou múltipla.

<i>Espécies</i>	<i>Hospedeiro</i>	<i>Habitat</i>	<i>Características</i>
<i>Giardia caviae</i>	Cobaias		Não é patogênica. A forma trofozoíta mede entre 8 a 15 μm por 6 a 10 μm de largura.
<i>Giardia intestinalis</i>	Primatas não-humanos	Porção anterior do intestino delgado	Apresenta a forma cística e trofozoíta. A forma trofozoíta mede 12 a 15 μm de comprimento por 6 a 8 μm de largura. Os cistos medem 8 a 12 μm e 7 a 10 μm de comprimento e contém quatro núcleos.
<i>Entamoeba muris</i>	Camundongos, ratos e hamsters	Cecum e cólon	Espécie não patogênica. A forma trofozoíta mede de 8 a 30 μm de comprimento e os cistos de 9 a 20 μm de diâmetro. Podem conter oito núcleos.
<i>Entamoeba caviae</i>	Cobaias	Ceco	A forma trofozoíta mede de 10 a 20 μm de comprimento e o cisto de 11 a 17 μm de diâmetro.
<i>Entamoeba cuniculi</i>	Coelhos	Ceco e Cólon	Não patogênica, o trofozoíta mede de 12 a 30 μm de comprimento e os cistos de 7 a 21 μm de diâmetro.

Exames ectoparasitológicos

O exame de ectoparasitas consiste na identificação dos artrópodes ectoparasitas de interesse veterinário, encontrados na pele dos animais de laboratório convencionais. A contaminação dos animais convencionais por ectoparasitas é problema de importância sanitária e de difícil controle. Algumas espécies podem atuar como vetores biológicos de outros agentes infecciosos. Devido as suas características anatômicas e alimentares, os ácaros que mais frequentemente acometem os animais de laboratório ficam confinados ao hospedeiro e aderem firmemente à pelagem. Os métodos a serem empregados consistem em exame de inspeção, com observação macroscópica do animal no intuito de detectar alguma evidência relacionada com ectoparasitas.

Procedimentos:

Para o diagnóstico dos ectoparasitas em animais de laboratório, várias técnicas podem ser utilizadas:

- Os cadáveres dos animais são colocados em decúbito ventrais e expostos à iluminação de uma lâmpada incandescente, mantendo uma distância de aproximadamente 30 cm, para induzir a migração dos ectoparasitas para o dorso do animal. Após vinte minutos, com o auxílio de microscópio estereoscópio, toda pelagem é

vistoriada. Os ectoparasitas encontrados são removidos do corpo hospedeiro e imersos entre lâmina e lamínula com gota de líquido de Hoyer (clarificador) para serem identificados ao microscópio óptico.

- Também se pode colocar o cadáver, logo após sua morte, no refrigerador durante trinta minutos e posteriormente à temperatura ambiente por dez minutos ou mais. Os ácaros abandonam o corpo do hospedeiro assim que a temperatura começa a cair, deixam as camadas mais profundas do pelo e migram para as pontas. Observar o cadáver em microscópio estereoscópio.
- Em um papel preto, colocar a carcaça do animal. Este papel é então margeado com fita celofane com o lado colante voltado para cima, evitando, desta maneira, que os parasitas fujam ao tentar deixar o corpo do hospedeiro. O papel preto facilita a observação dos artrópodes pequenos.
- Outro método utilizado é o da fita adesiva de celofane, colocando a mesma no pelo do animal e retirando-a logo depois. Colocar em lâmina de microscopia devidamente identificada e levar ao microscópio óptico.
- No caso de raspado de pele, este deve ser profundo e a região escolhida próxima de uma lesão. Os pelos são removidos com lâmina de bisturi, untada com glicerina ou óleo lubrificante. O material do raspado é colocado imerso em óleo entre lâmina e lamínula e observado em microscópio óptico.
- Para a pesquisa de ácaro do canal auditivo externo, remove-se com *swab* o cerume e se examina ao microscópio.
- Identificar os espécimes com chaves para classificação e livros de referência.

Tabela 10 – Principais ectoparasitas de animais de laboratório

<i>Espécies</i>	<i>Hospedeiro</i>	<i>Habitat</i>	<i>Características</i>
<i>Chirodiscoides caviae</i>	Cobaia	Pelo	Ácaro que, em infestações maciças, pode ser encontrado por todo o corpo e pode provocar sinais clínicos como alopecia e prurido. Fêmeas e machos apresentam o corpo alongado e medem de 300 a 500 μm de comprimento.
<i>Cheyletiella parasitivorax</i>	Coelho	Pelo e corpo	Forma ovalada e tamanho 350 μm de largura por 500 μm de comprimento. Coelho infectado com <i>Cheyletiella</i> apresentam descamações aderidas ao pelos.
<i>Demodex aurati</i>	Hamster	Folículos e sistema pilossebáceo	Ácaro encontrado em colônias convencionais.
<i>Psorergates simplex</i>	Camundongo	Folículos e glândulas sebáceas	Os ácaros e seus detritos acumulam-se nas invaginações foliculares e aparecem pequenos nódulos brancos sobre a pele das regiões da cabeça e do pescoço. Mede de 90 a 150 μm . De ocorrência rara.
<i>Myobia musculi</i>	Camundongo	Pelagem	É um ácaro cujas fêmeas medem aproximadamente entre 400 a 500 μm e os machos, de 285 a 320 μm de comprimento. O primeiro par de patas é curto e modificado para a aderência aos pelos. Os ovos são ovais, com 200 μm de comprimento, e ficam aderidos aos pelos. <i>M. musculus</i> localiza-se preferencialmente na região da cabeça, do pescoço e da nuca. A transmissão se dá por transferência direta.
<i>Mycoptes musculinus</i>	Camundongo	Pelo	É o ectoparasita mais comum em camundongo de laboratório. A fêmea apresenta o corpo oval-alongado, medindo cerca de 300 μm de comprimento por 130 μm de largura e o macho tem o corpo menor e menos ovalado. O terceiro par de patas do macho e o terceiro e quarto pares de patas da fêmea estão modificados para aderência aos pelos. Todos os estágios ocorrem na pelagem e o ciclo completo de vida é de aproximadamente 14 dias.
<i>Psoroptes cuniculi</i>	Coelho	Conduto auditivo externo	É um ácaro que provoca um acúmulo de secreção serosa e de crostas marrons no pavilhão auricular. A fêmea é arredondada, mede entre 400 a 750 μm e os machos entre 370 a 550 μm . Seu ciclo de vida é de 21 dias.
<i>Notoedres muris</i>	Rato	Orelha, focinho, cauda, genitália externa e membros posteriores	É o ácaro de mais difícil ocorrência, responsável pela sarna auricular em ratos (gênero <i>Rattus</i>). A transmissão é por contato direto.
<i>Radfordia ensifera</i>	Rato	Pelagem	Infesta os ratos do gênero <i>Rattus</i> . Apresenta dois ganchos tarsais, presentes no segundo par de patas.
<i>Haemodipsus ventricosus</i>	Coelho	Corpo	Apresenta coloração castanha, comprimento entre 1,2 a 2,5 mm e abdome ovalado. Ciclo é de trinta dias. É um vetor para a transmissão da <i>Francisella tularensis</i> ao homem.
<i>Gliricola porcelli</i>	Cobaia	Corpo	Sua forma é delgada, com cabeça estreita, e mede aproximadamente 1,0 a 1,5 mm de comprimento. Em infestações maciças, pode causar prurido, feridas e alopecia.
<i>Gyropus ovalis</i>	Cobaia	Corpo	Piolho de ocorrência rara. Apresenta coloração clara, cabeça mais larga e abdome ovalado, medindo entre 1,0 e 1,2 mm.

<i>Espécies</i>	<i>Hospedeiro</i>	<i>Habitat</i>	<i>Características</i>
<i>Polyplax serrata</i>	Camundongo	Pescoço e dorso	Piolho sugador com ciclo de vida de 13 dias. Tamanho varia de 600 a 1.500 μm . Transmite o agente da eperitrozoose murina.
<i>Polyplax spinulosa</i>	Rato	Corpo	Piolho cujos ovos maturam após seis dias. Possui ciclo de vida de 13 dias e pode servir como vetor para hemobartelose murina e <i>Brucella brucei</i> . A transmissão dos piolhos é por contato direto.

Necropsia

A necropsia tem por definição a abertura e inspeção criteriosa de todos os órgãos e tecidos de um animal morto com o objetivo de determinar a causa de sua morte. Por esta técnica é possível descrever alterações macroscópicas em diferentes circunstâncias, como processos patológicos desencadeados por agentes infecciosos, parasitários, químicos, físicos e fisiológicos, assim como processos neoplásicos e anomalias congênitas. Por esse motivo, amostras oriundas de uma necropsia podem fornecer material para diversos exames complementares, como histopatológico, parasitológico, bacteriológico e até mesmo para biologia molecular. A necropsia deve ser realizada em sala própria, devidamente iluminada e ventilada, preferencialmente em uma cabine de segurança biológica. Antes de iniciar o procedimento, é necessário observar o histórico do animal, isto é, dados como espécie, linhagem, peso, idade, procedência, sintomatologia ou estado clínico. Essas informações são de suma importância, já que auxiliam o diagnóstico conclusivo (*causa mortis*).

O animal é colocado em decúbito dorsal e a necropsia iniciada com um exame minucioso da superfície corporal, avaliando-se o estado geral do cadáver e levando-se em conta seu estado nutricional, a presença de sinais externos e as alterações cadavéricas. No exame externo, são inspecionados: pele, pelos, unhas, mama, bolsa escrotal, cavidades naturais e mucosas da boca, pavilhão auricular, narinas, olhos, ânus e genitais. A abertura do cadáver é realizada por uma incisão longitudinal sobre a linha alba, partindo da região junto à mandíbula até a região anal. A pele é então rebatida, expondo dessa

forma as musculaturas torácica e abdominal. A cavidade torácica é aberta e os órgãos são expostos. É primordial que sejam observados posição, tamanho, coloração e presença de estruturas estranhas ou anormais. Esta percepção deve existir durante toda a necropsia. Na cavidade abdominal, os órgãos são deslocados e seccionados. Com o cadáver do animal em decúbito ventral, é inspecionado o sistema nervoso central. Todas as alterações encontradas devem ser registradas.

Os órgãos e tecidos que apresentem alguma alteração, assim como nódulos e massas encontrados, são coletados. Pequenos fragmentos (0,5 cm²) da lesão, juntamente a região aparentemente saudável, são suficientes para a análise histopatológica. A fixação desse material deve ser imediatamente após a coleta e acondicionada em frasco devidamente identificado. Há várias soluções fixadoras, sendo a formalina tamponada à 10% a mais comumente usada, na proporção de dez partes de solução para cada parte de tecido a ser fixado.

Controle genético

Atualmente, milhares de linhagens isogênicas de camundongos, com multiplicidade de finalidade, estão disponíveis em biotérios do mundo todo. O laboratório de controle genético animal tem como principal função aplicar metodologias que permitam verificar e assegurar a integridade genética das colônias. A integridade genética consiste em manter a continuidade da espécie ou das linhagens e, no caso de camundongos e ratos isogênicos, garantir a pureza da linhagem e a homogeneidade destes animais. O monitoramento genético auxilia na manutenção das linhagens isogênicas, as quais possuem características essenciais para a reprodutibilidade de dados experimentais dos pesquisadores. Na maioria dos casos, a contaminação genética é acidental, tendo como fonte principal de falha o erro humano, podendo ocorrer devido a cruzamentos inadvertidos ou à troca de identificação das linhagens.

O monitoramento genético pode ser realizado por várias metodologias, como a identificação dos genes de pigmentação (visualização da coloração da pelagem na prole), polimorfismo bioquímico (identificação das isoenzimas), análise osteométrica (analisa o desenvolvimento da mandíbula), análise de histocompatibilidade (testado pelo transplante de pele), observação de comportamento (modificação do comportamento), avaliação da prole (número de filhotes nascidos), ocorrência de patologias (comuns a linhagem) e identificação de mutações espontâneas ou induzidas e possíveis contaminações genéticas (marcadores moleculares).

Referências bibliográficas

COSTA, M. A. F.; COSTA, M. F. B. *Biossegurança de A a Z*. Rio de Janeiro: Papel e Virtual, 2003.

KELLY, S. T.; HALL, A. S. Housing. In: BENNET, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. (Eds.). *Nonhuman Primates in Biomedical Research: biology and management*. San Diego: Academic Press, 1995.

NRC. National Research Council. Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences. *Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório*. Edição em português pela AAALAC e Cobe. Goiânia: National Academy Press, 2003.

TEIXEIRA, P; VALLE, S. *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1996.

Bibliografia consultada

AMA. American Medical Association. *Statement on the Use of Animals in Biomedical Research: the challenge and response* (revised). Chicago: American Medical Association, 1992.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. *Animais de Laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2002.

BARROS, K. C. *Métodos Alternativos para a Substituição dos Modelos Animais na Experimentação*, 2007. Monografia de Curso Técnico em Biotecnologia, Rio de Janeiro: EPSJV/Fiocruz.

BENAVIDES, F. J.; GUÉNET, J-L. *Manual de Genética de Roedores de Laboratório: Princípios básicos y aplicaciones*. Madrid: Universidad de Alcalá, 2004.

- BINSFELD, P. C. *Biossegurança em Biotecnologia*. Rio de Janeiro: Interciência, 2004.
- CARDOSO, T. A. O.; NAVARRO M. B. M. A. *A Ciência entre Bichos e Grilos: reflexões e ações da biossegurança na pesquisa com animais*. São Paulo, Rio de Janeiro: Hucitec, Faperj, 2007.
- CPNEMB. *Capacitação de pessoal de níveis elementar e médio em biotérios: manual para técnicos em animais de laboratório*. Departamento de Biotérios/Biomanguinhos. Rio de Janeiro: 1994.
- DE LUCA, R. R. *et al. Manual para Técnicos em Bioterismo*. São Paulo: Winner Graph, 1996.
- DINIZ, L. S. M. *Primatas em Cativeiro: manejo e problemas veterinários*. Enfoque para espécies neotropicais. São Paulo: Ícone, 1997.
- FEIJÓ, A. G. S. *Utilização de Animais na Investigação e Docência: uma reflexão ética necessária*. Porto Alegre: Edipicurs, 2005.
- FELASA. Federation of Laboratory Animal Science Associations. FELASA guidelines for education of specialists in laboratory animal science (Category D). *Laboratory Animals*, v. 33, p. 1-15, 1999.
- _____. FELASA recommendations on the education and training of persons working with laboratory animals: Category A and C. *Laboratory Animals*, v. 29, p. 121-131, 1995.
- _____. FELASA recommendations on the education and training of persons carrying out experiments (Category B). *Laboratory Animals*, v. 34, p. 229-235, 2000.
- FLECHTMANN, C. H. W. *et al.* Sobre três ácaros parasitos de animais de laboratório. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 4, n. 1, p. 29-34, 1974.
- FLYNN, R. *Parasites of Laboratory Animals*. Ames: Iowa State University Press, 1973.
- GILIOLI, R. *et al.* Parasite survey in mouse and rat colonies of Brazilian laboratory animals houses kept under different sanitary barrier conditions. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, n. 1, p. 33-37, 2000.
- GORDON, J. E. *Profilaxia das doenças transmissíveis*. Relatório Oficial da Associação Americana de Saúde Pública. Preparado pela Comissão de Profilaxia de Doenças Transmissíveis. 10. ed. 1965.
- GUIMARÃES, M. A.; MÁZARO, R. *Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação*. Disponível em: <<http://www.aaalac.org/resources/links.cfm#alternatives>>. Acesso em: 9 set. 2007.
- HARKNESS, J. E.; WAGNER, J. E. *Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores*. 3. ed. São Paulo: Roca, 1993.

- HOFFMANN, R. P. *Diagnóstico de Parasitismo Veterinário*. Porto Alegre: Sulina, 1987.
- MAJEROWICZ, J. Biossegurança em Biotérios: Alergia um Risco Sempre Presente. *Revista de Biotecnologia, Ciência e Saúde*, n. 30, p. 105-108, 2003.
- _____. *Procedimentos de Biossegurança para as Novas Instalações do Laboratório de Experimentação Animal (Laean) de Bio-Manguinhos*. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, 2005.
- _____. *Boas Práticas em Biotérios e Biossegurança*. Rio de Janeiro: Interciência, 2008.
- MEZADRI, T. J.; TOMÁZ, V. A.; AMARAL, V. L. L. *Animais de Laboratório: cuidados na iniciação experimental*. Florianópolis: UFSC, 2004.
- MOLINARO, E. M.; MAJEROWICZ, J.; VALLE, S. *Biossegurança em Biotérios*. Rio de Janeiro: Interciência, 2008.
- NEVES, D. P. *Parasitologia Humana*. 9. ed. São Paulo, Rio de Janeiro: Atheneu, 1997.
- PAIXÃO, R. L. *Experimentação Animal: razões e emoções para uma ética*. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, 2001.
- PODOLSKY, M. L.; LUKAS, V. S. *The Care and Feeding of an IACUC*. Florida: CRC Press, 1999.
- REY, L. *Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e África*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.