

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES  
MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE PÚBLICA

JORGE RICARDO FERREIRA DA SILVA

AVALIAÇÃO SANITÁRIA DO BIOTÉRIO DE CRIAÇÃO: UMA CONTRIBUIÇÃO  
PARA A MELHORIA DA QUALIDADE DOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO  
PRODUZIDOS NO CPqAM

RECIFE  
2013

**JORGE RICARDO FERREIRA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO SANITÁRIA DO BIOTÉRIO DE CRIAÇÃO: UMA CONTRIBUIÇÃO  
PARA A MELHORIA DA QUALIDADE DOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO  
PRODUZIDOS NO CPqAM**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Pública do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz para a obtenção do grau de mestre em saúde pública.

Área de concentração: Gestão em Instituição de Ciência e Tecnologia em Saúde.

**Orientadores:**

Dr<sup>o</sup> Luiz Carlos Alves

Dr<sup>o</sup> Adolpho Marlon Antoniol de Moura

**RECIFE**

**2013**

**Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães**

---

S586a Silva, Jorge Ricardo Ferreira da.  
Avaliação sanitária do Biotério de Criação: uma contribuição para a melhoria da qualidade dos animais de laboratório produzidos no CPqAM/ Jorge Ricardo Ferreira da Silva. — Recife: O autor, 2013.

65 p.: il.

Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz.

Orientadores: Luiz Carlos Alves, Adolpho Marlon Antoniol de Moura.

1. Controle de Qualidade. 2. Animais de Laboratório. 3. Academias e Institutos. I. Alves, Luiz Carlos. II. Moura, Adolpho Marlon Antoniol de. III. Título.

CDU 614.2

---

**JORGE RICARDO FERREIRA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO SANITÁRIA DO BIOTÉRIO DE CRIAÇÃO: UMA CONTRIBUIÇÃO  
PARA A MELHORIA DA QUALIDADE DOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO  
PRODUZIDOS NO CPqAM**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Pública do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz para a obtenção do grau de mestre em saúde pública.

Área de concentração: Gestão em Instituição de Ciência e Tecnologia em Saúde.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Banca Examinadora**

---

Dr. Luiz Carlos Alves  
CPqAM/FIOCRUZ (Orientador)

---

Dr<sup>a</sup> Janaina Campos de Miranda  
CPqAM/FIOCRUZ (Membro Interno Titular)

---

Dr<sup>a</sup> Maria Helena Madruga Lima Ribeiro  
Lika/UFPE (Membro Externo Titular)

*“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer. Tenha em mente que tudo que você aprende na escola é trabalho de muitas gerações. Receba essa herança, honre-a, acrescente a ela e, um dia, fielmente, deposite-a nas mãos de seus filhos.”*

Albert Einstein

SILVA, Jorge Ricardo Ferreira da. **Avaliação sanitária do Biotério de Criação:** uma contribuição para a melhoria da qualidade dos animais de laboratório produzidos no CPqAM. 2013. Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2014.

## RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar os procedimentos e práticas de rotina visando a melhoria na qualidade dos animais de laboratório produzidos no biotério de criação do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães da FIOCRUZ-PE. Foi realizado, inicialmente, um estudo para obtenção de indicadores do perfil sanitário ambiental e animal que permitiu traçar um diagnóstico, visando propor estratégias de ação para garantia da qualidade dos animais. Para o diagnóstico ambiental foram coletadas amostras utilizando *swabs* estéreis e exposição de placas de Petri para isolamento bacteriano e fúngico. Foi observada prevalência bacteriana das espécies *Staphylococcus xilosus*; *Staphylococcus equorum*; *Staphylococcus lentus*; *Staphylococcus ssp*; *Acinetobacter baumannii* e *Sphingomonas paucimobilis* e prevalência fúngica dos gêneros: *Aspergillus* sp; *Penicillium* sp; *Cladosporium* sp; *Paecilomyces* sp; *Aerobasidium* sp; *Paecilomyces* sp e *Geotrichum* sp. Para o diagnóstico sanitário animal, 64 camundongos das linhagens Swiss, BALB/C e C57BL/6, foram enviados para o laboratório do Serviço de Controle de Qualidade Animal (SECQUAL) do Centro de Criação Animal (CECAL) da FIOCRUZ-RJ, com ocorrência de *Pseudomonas* sp, *Pasteurella* sp, *Syphacia* sp, *Entamoeba* sp, *Giardia muris* e tricomonídeos. Foram elaborados POPs relacionados às atividades, com o objetivo de eliminar ou diminuir os desvios na execução das tarefas fundamentais do biotério. Com base nos resultados, conclui-se que o diagnóstico sanitário evidenciou a realidade do setor, onde a implementação das medidas sanitárias associadas ao ajustamento do manejo animal, baseados nos corretos procedimentos operacionais, possibilitará aprimorar a qualidade sanitária do serviço do biotério.

**Palavras chaves:** Controle de Qualidade; Animais de Laboratório; Academias e Institutos.

SILVA, Jorge Ricardo Ferreira da. **Sanitary evaluation of the vivarium of creation: a contribution to improvement of the health of laboratory animals produced at the CPqAM.** 2013. Dissertation (Professional Master in Public Health) – Aggeu Magalhães Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Recife, 2014.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the procedures and routine practices aimed at improving the quality of laboratory animals produced in a vivarium creation of Aggeu Magalhães Research Center-FIOCRUZ/PE. A study to obtain indicators of environmental or animal health profile that allowed us to outline a diagnosis, aiming to propose action strategies for quality assurance of the animals was initially performed. For environmental diagnostic the samples were collected using sterile swabs and petri dishes exposure to bacterial and fungal isolation. Was observed the prevalence of bacterial species *Staphylococcus xilosus*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus* spp., *Acinetobacter baumannii* and *Sphingomonas paucimobilis*, and the prevalence of fungal genera *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Paecilomyces* spp., *Aerobasidium* spp., *Paecilomyces* spp. and *Geotrichum* spp. For animal health diagnosis , 64 strains of Swiss mice, BALB/c and C57BL/6, were sent to Laboratory Animal Quality Control – Animal rearing Center at FIOCRUZ-RJ, occurring *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Syphacia* spp., *Entamoeba* spp., *Giardia muris* and tricomonideos. POPs related activities were developed whit the aim to eliminate or reduce the deviations in the implementation of the fundamental tasks of the vivarium. Based on the results, it is concluded that the sanitary diagnosis showed the reality of the sector, where the implementation of sanitary measures associated with modification of animal management, based on correct operating procedures, allow improving the quality of health service vivarium.

**Keywords:** Quality Control. Animals, Laboratory. Academies and Institutes.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela sua grandeza e pelo seu amor incondicional, pelos dons que me destes e pelos relacionamentos que possibilitam o meu crescimento pessoal. Sempre mostrando o caminho das soluções dos problemas, nas aflições, nas tristezas e nas dificuldades do dia a dia. Obrigado por me guiar e iluminar com sua presença divina no mais íntimo do meu ser.

Agradeço às minhas mães (Creusa e Cleonice) pela minha formação doméstica e familiar, onde a dedicação e exemplo de vida, alicerçada na humildade, dignidade e no respeito com o próximo foram ensinamentos concretos.

À minha família: Maximira, Carolina e Gabriela pelo apoio durante as etapas mais difíceis do mestrado.

Aos meus orientadores Dr. Luiz Alves e Dr. Adolpho Antoniol pela amizade, disponibilidade e dedicação de transmissão de conhecimentos e sugestões que possibilitaram este trabalho.

À equipe técnica do biotério de criação: Josivaldo, Roberto e Carlos Lopes pela contribuição nas coletas de dados microbiológicos.

Às amigas e colaboradoras Dyana Leal e Ana Paula Sampaio do LBCM/Aggeu, pela grande ajuda durante todo processo microbiológico deste trabalho.

À equipe do LBCM/Aggeu: Fábio Brayner, Yara Nakazawa, Eduarda Manguiera, Nairomberg Portela, Catarina Freitas, Everton Moraes, Adriana Souza, Eveline Souza e Gabriel Gazzoni pela colaboração no processo de isolamento microbiológico das amostras.

À Dr<sup>a</sup> Nilma Cintra pela dedicação e apoio na elaboração do projeto, empenho na aquisição de recursos financeiros, esclarecimentos e sugestões que possibilitaram este trabalho.

À Dr<sup>a</sup> Ana Albertina do Departamento de Bacteriologia do Laboratório Central (LACEN) da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco pela colaboração na identificação das espécies bacterianas.

À Mégine Cabral pela colaboração na editoração deste texto.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram no desenvolvimento e construção deste trabalho.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
AC	- Ação Corretiva
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI	- Brain Heart Infusion
BPL	- Boas Práticas de Laboratório
Ciuca	- Cadastro das Instituições de uso Científico de Animais
CEP	- Comitê de Ética em Pesquisa
CPqAM	- Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
CQ	- Controle da Qualidade
CEUA	- Comissão de Ética em Uso Animal
CIBio	- Comissão Interna de Biossegurança
CTNBio	- Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
CTBio	- Comissão Técnica de Biossegurança
CONCEA	- Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
dB	- Decibéis
EPC	- Equipamento de Proteção Coletiva
EPI	- Equipamento de Proteção Individual
FIOCRUZ	- Fundação Oswaldo Cruz
FDA	- Food and Drug Administration
GLP	- Good Laboratory Practices
HEPA	- High Efficiency Particulate Air
Hz	- Hertz
IBAMA	- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
INMETRO	- Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	- International Organization for Standardization
MS	- Ministério da Saúde
NR	- Norma Regulamentadora
NBR	- Norma Brasileira
OGM	- Organismo Geneticamente Modificado
SPF	- Specific Pathogen Free
UR	- Umidade Relativa

VGD - Ventilação Geral Diluidora  
VMA - Ventilação Microambiental

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	12
<b>1.1 Animais de laboratório</b>	13
1.1.1 Classificação quanto ao <i>status</i> sanitário	14
1.1.2 Classificação quanto ao <i>status</i> genético	16
1.1.2.1 <i>Animal Outbred ou Não-consanguíneo</i>	16
1.1.2.2 <i>Animal Inbred ou Consanguíneo</i>	17
<b>1.2 Instalações e barreiras sanitárias</b>	17
<b>1.3 Macro e microambiente</b>	19
1.3.1 Ventilação	20
1.3.2 Temperatura	22
1.3.3 Umidade	22
1.3.4 Iluminação	23
1.3.5 Ruído	24
<b>1.4 Qualidade em biotérios</b>	24
<b>1.5 Biossegurança em biotério</b>	25
<b>1.6 Boas práticas</b>	29
<b>2 JUSTIFICATIVA</b>	32
<b>3 OBJETIVOS</b>	33
<b>3.1 Objetivo geral</b>	33
<b>3.2 Objetivos específicos</b>	33
<b>4 METODOLOGIA</b>	34
<b>4.1 Tipo de estudo</b>	34
<b>4.2 O ambiente de estudo</b>	34
<b>4.3 Levantamento microbiológico</b>	36
4.3.1 Levantamento microbiológico ambiental	36
4.3.2 Levantamento microbiológico animal	39
<b>4.4 Procedimentos operacionais padrão</b>	41
<b>5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS</b>	43
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	44
<b>6.1 Levantamento microbiológico ambiental</b>	44
6.1.1 Isolados bacterianos	44

6.1.2 Isolados fúngicos	52
<b>6.2 Levantamento microbiológico animal</b>	55
<b>6.3 Procedimentos operacionais padrão</b>	56
<b>6 CONCLUSÃO</b>	61
<b>REFERÊNCIAS</b>	62

## 1 INTRODUÇÃO

A ciência dos animais de laboratório tem caminhado em sinergia com a evolução tecnológica e aos avanços científicos obtidos no decorrer da última década em protocolos que utilizaram animais como biomodelos experimentais. Aliado a isso, conceitos de bioética, engenharia, biossegurança e biosseguridade, e mais recentemente os conceitos de gestão da qualidade, como as boas práticas em laboratórios (BPL), tem contribuído assertivamente para aumentar a acurácia das respostas experimentais.

Esse somatório de conceitos multidisciplinares aplicados a criação, produção e experimentação com animais de laboratório fez com que o conceito genérico de “biotério” venha sendo substituído por terminologia mais acadêmico-científica como Vivarium; biomodelos animais; animais de laboratório entre outros.

O Centro de Criação de Animais de Laboratório (Cecal) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) é considerado historicamente uma referência na produção de biomodelos animais de qualidade, chegando a produzir linhagens dos mais diversos genético e sanitariamente SPF (Specific pathogen free). Da mesma maneira, a unidade pernambucana da Fiocruz, o Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM) dispõe de biotérios de criação e experimentação e que necessitam de políticas institucionais de busca pela qualidade em seus processos, produtos e serviços.

Os critérios na pesquisa científica exigem animais com padrão sanitário conhecido o que tem contribuído para que instituições nacionais invistam na melhoria das instalações de criação e experimentação animal, contribuindo para que a ciência de animais de laboratório exerça um importante papel para a sociedade, tendo em vista que a qualidade e a saúde dos animais utilizados podem interferir marcadamente nos resultados de pesquisas, os quais muitas vezes serão aplicados aos seres humanos (MAJEROWICZ, 2005).

Atualmente, o biotério de criação do CPqAM dispõe de características físicas e operacionais que o colocam em posição intermediária quanto ao tipo de classificação do perfil sanitário, mas que ao mesmo tempo, não preconiza nenhum *guide* ou normas na condução, monitoramento ou controle de qualidade das suas colônias de animais de laboratório. Vislumbrando identificar pontos críticos nos processos e nas práticas de rotina nas instalações, e conseqüentemente gerar

indicadores que aprimorem a gestão de qualidade dos animais de laboratório criados no biotério de criação do CPqAM, objetivou-se com este estudo, propor a padronização de procedimentos e práticas de rotina visando a melhoria da qualidade dos animais de laboratório produzidos no biotério de criação do CPqAM.

### **1.1 Animais de laboratório**

Há mais de um século os animais de laboratório vêm sendo utilizados nas diferentes áreas das pesquisas biomédicas, promovendo o avanço no desenvolvimento científico e tecnológico em saúde. Por décadas os animais de laboratório foram utilizados na investigação de diagnóstico, como simples instrumento de trabalho, sem qualquer preocupação com sua qualidade sanitária. Os institutos de investigação não possuíam estrutura adequada bem como recursos humanos adequadamente habilitados para desenvolver atividades com animais de laboratório (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

Até o ano 1960, a mortalidade dos animais de laboratório em experimentação, muitas vezes em decorrência de patogenias naturais, era aceita como parte do processo experimental (BAKER, 1998).

Em 1959, o zoologista William M. S. Russell e o microbiologista Rex L. Burch publicaram o livro *The Principles of Humane Experimental Technique*, no qual estabeleceram o princípio dos 3 Rs: *Replace, Reduce e Refine*, sugerindo a substituição do uso de animais por modelos alternativos não sensíveis, a redução do número de animais por experimento e o refinamento das técnicas e procedimentos que seriam realizados nos animais, o que trouxe avanços significativos para a Ciência em Animais de Laboratório (RUSSEL; BURCH, 2012).

A partir dos anos de 1980, Com a utilização de testes sorológicos de anticorpos específicos, houve uma redução significativa da incidência de patógenos em animais de laboratório (BAKER, 1998).

O avanço tecnológico da “Ciência em Animais de Laboratório”, mudou paradigmas e comportamentos de pesquisadores e profissionais que utilizam animais em pesquisas. Melhorias foram desenvolvidas e implementadas em instalações, equipamentos, procedimentos de sanitização, nutrição, insumos, controle ambiental, manejo animal e treinamento de recursos humanos, resultando em grande redução na variação e prevalência de patógenos encontrados,

contribuindo para a saúde e o bem estar dos animais de laboratório (BAKER, 1998; FEDERATION OF EUROPEAN LABORATORY ANIMAL SCIENCE ASSOCIATIONS, 1999).

O marco da experimentação animal no Brasil ocorreu em 15 de julho de 2009 pelo Decreto presidencial que regulamentou a Lei nº 11.794/2008, conhecida como Lei Arouca, que dispõe sobre a criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisas científicas em todo o território nacional. Com o advento dessa lei, foram criados o Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA); o Sistema de Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais (Ciuca) e as normas para funcionamento das Comissões de Éticas em Uso Animal (CEUAs), cujo objetivo é garantir o atendimento ético e humanitário do uso de animais para fins científicos (BRASIL, 2012; UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2012).

A utilização de modelos animais “definidos” e que atendam aos parâmetros de qualidade genética e sanitária são condições *sine qua non* para diminuir as variações nos resultados experimentais. Segundo Andrade, Pinto e Oliveira (2002), animais de laboratório definidos são aqueles criados e produzidos sob condições ideais e mantidos em ambiente controlado, com conhecimento e acompanhamento microbiológico e genético seguro, obtidos por monitoração regular.

Os animais de laboratório produzidos como modelos para pesquisas, controle de qualidade de imunobiológicos, ensaios pré-clínicos de fármacos e vacinas, entre outros, devem possuir características sanitárias, enquadradas em um padrão de qualidade adequado, sendo avaliadas rotineiramente, visando à certificação das colônias de criação. É necessário, portanto, permanente supervisão para aplicação correta das técnicas de manejo e adequação das instalações, garantindo condições sanitárias, bem como o monitoramento das condições ambientais recomendadas a cada espécie, propiciando bem-estar e homeostase (MAJEROWICZ, 2005).

#### 1.1.1 Classificação quanto ao *status* sanitário

Andrade, Pinto e Oliveira (2002) definem *status* sanitário como sendo a relação dos animais com seu particular e específico ambiente. Este ambiente inclui os organismos presentes dentro dos limites do ambiente físico e barreiras sanitárias. Visando evitar a ocorrência de enfermidades nos animais, todas as precauções

devem ser tomadas no sentido de prevenir a introdução de agentes indesejáveis, assegurando um *status* sanitário definido para os animais de laboratório.

Os animais de laboratório podem ser classificados conforme a microbiota associada e a complexidade do sistema de barreiras de proteção nos quais são mantidos, podendo ser classificados sanitariamente em:

- a) **animais convencionais** - são animais que possuem microbiota indefinida, mantidos em ambiente desprovido de barreiras sanitárias rigorosas, onde são criados com princípios básicos de higienização, realizando apenas a limpeza e desinfecção do ambiente e do material utilizado (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002; MAJEROWICZ, 2005);
- b) **animais monitorados (convencionais controlados)** - alojados em instalações com sistema de barreira de baixa segurança com monitoramento periódico, revelam-se livres da maioria dos micro-organismos patógenos e outros não patógenos associados são desconhecidos (MAJEROWICZ, 2005);
- c) **animais gnotobióticos** - são animais que possuem microbiota associada definida, sendo criados em ambientes dotados de barreiras sanitárias absolutas, onde sua produção só é possível por meio de manutenção em isoladores, e de acordo com o número de micro-organismos associados à sua biota, podem ser classificados em monobiótico, dibiótico e polibiótico. (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002; MAJEROWICZ, 2005);
- d) **animais livres de microrganismos patogênicos específicos (Specific pathogen free - SPF)** - são aqueles animais livres de micro-organismos e parasitos específicos, porém não necessariamente livre de outros não-específicos e sua criação é realizada em ambientes protegidos por barreiras sanitárias rigorosas e eficientes ou alojados em equipamentos que lhes garantam seu padrão microbiológico (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002; MAJEROWICZ, 2005);
- e) **animais axênicos ou germfree** - são animais totalmente livres de micro-organismos e livres de todas as formas associadas de vida, obtidos através de histerectomia estéril do útero gravídico e subsequentemente mantidos em isolador estéril (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002; MAJEROWICZ, 2005).



### 1.1.2 Classificação quanto ao *status* genético

A disponibilidade de animais de laboratório, por si só não traduz a importância que representam nos resultados dos experimentos em que estão envolvidos. É preciso observar que determinadas características são fundamentais para que os animais desempenhem suas funções satisfatoriamente. Os animais produzidos com a finalidade de serem utilizados em pesquisas devem possuir características genéticas e sanitárias avaliadas rotineiramente, visando à certificação de padrões pré-estabelecidos (MAJEROWICZ, 2005).

De acordo com a caracterização genética, os animais de laboratório podem ser classificados em: animal *outbred* e animal *inbred* ou consanguíneo.

#### 1.1.2.1 Animal *Outbred* ou Não-consanguíneo

É aquele constituído por uma carga genética de elevada heterozigose (99%), onde a manutenção das características genéticas ou perpetuação da mesma, permite utilizar alguns sistemas de acasalamento, tais como: **Sistema de acasalamento ao acaso**, utilizado para colônias com número de unidade reprodutiva superior a 100, onde a chance de acasalamento de machos e fêmeas quaisquer da população, seja igual para todos os animais. Com esse sistema de acasalamento preservam-se os genes e suas frequências ao longo de gerações sem a observância de seleção ou mutações. Outro método de acasalamento é o **rotacional**, que é indicação para colônias com número de unidades reprodutivas de 25 a 100, que tem como objetivo: evitar o acasalamento de parentes próximos e assegurar que a geração seguinte venha de uma origem mais ampla de pais do que ocorreria se fosse ao acaso (MAJEROWICZ, 2005).

Neste tipo de sistema podemos citar os métodos de **Falconer** e o de **Poiley** como os mais utilizados em biotérios de criação. O método de Falconer consiste em utilizar a fixação de um dos sexos e rotacionar o outro, formando um grupo de origem igual ao sexo fixado. O método de Poiley consiste em dividir a colônia de 3 a 12 grupos e quanto menor o número de unidades reprodutivas, maior o número de grupos formados. Tais métodos são empregados onde existe uma contínua substituição das colônias sem distinção entre gerações e os acasalamentos são

arranjados de maneira sistemática, com a escolha ou descarte de animais, observando a eficiência reprodutiva das unidades acasaladas.

#### *1.1.2.2 Animal Inbred ou Consanguíneo*

É o produto de 20 gerações consecutivas do acasalamento entre irmãos, ou pais e filhos, onde obtem-se um índice de homozigose de (99%), permitindo assim, que a propagação de uma linhagem sempre tente diminuir ao máximo a divergência genética, o que faz com que todos os animais de uma mesma espécie e linhagem, mantidos em um biotério de criação estejam ligados a um ancestral comum, por intervalo mínimo de gerações.

### **1.2 Instalações e barreiras sanitárias**

As espécies animais devem ser criadas ou mantidas em instalações apropriadas e sob condições que permitam a padronização, visando garantir ou minimizar a perda do padrão de qualidade, proporcionando o bem-estar com condições ambientais necessárias aos animais (MAJEROWICZ, 2008).

Biotérios constituem-se em instalações capazes de produzir e manter espécies de animais destinadas a servir como modelos biológicos, para atender às necessidades dos protocolos científicos, ensino, produção e controle de qualidade nas áreas biomédicas e biotecnológicas (CARDOSO, 2001).

Para que se obtenha resultados experimentais confiáveis é imprescindível que o perfil genético dos animais se mantenha estável, e que sejam mantidos em condições sanitárias adequadas. Isto sugere que um biotério seja uma área protegida ao acesso de animais externos, bem como de pessoas não vinculadas diretamente às áreas de criação (KRUGER; WEIDLE; BARRETO, 1986).

Basicamente, um biotério apresenta-se dividido em duas áreas internas: produção e apoio. A área de produção é aquela relacionada com as atividades de criação propriamente dita: salas de animais (criação, crescimento, quarentena e experimentação), enquanto a área de apoio está relacionada com as atividades de suporte à área de produção, consistindo de área de limpeza, higienização, esterilização, estoque de alimentos e insumos, onde as interações destas áreas

estabelecem relações caracterizadas por requisitos ambientais, morfológicos e funcionais (LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009).

Como princípio fundamental de zoneamento é necessário que os espaços produtivos, mantenham entre si uma clara distinção funcional de forma a serem facilmente identificados e utilizados para os fins a que se destinam, mantendo barreiras de passagens dos fluxos sujos para o limpo. Idêntico critério deverá ser aplicado em relação aos espaços de apoio, na medida em que a maior parte destes espaços se localiza na área suja (KRUGER; WEIDLE; BARRETO, 1986).

A forma em que os espaços distintos de um biotério se apresentam, permite que se estabeleça uma definição das instalações, em conformidade com o tipo de atividade a ser desenvolvida, bem com o sistema de produção e a quantidade e complexidade das barreiras sanitárias empregadas (LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009).

Segundo Kruger, Weidle e Barreto (1986), barreira sanitária é um sistema que combina aspectos construtivos, equipamentos e métodos operacionais que buscam estabilizar as condições ambientais de áreas restritas, minimizando a probabilidade de patógenos ou outros organismos indesejáveis de contatarem ou infectarem a população de animais de áreas limpas.

Em virtude da definição de barreira sanitária ser bastante ampla, ela pode ser operacionalizada em maior ou menor complexidade, dependendo do padrão sanitário exigido pelo biotério. A definição do padrão sanitário é importante para a edificação, instalação e manutenção do biotério, pois interfere diretamente no custo operacional, pois quanto maior a padronização microbiológica dos animais, maior o custo operacional (LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009).

Com o objetivo de minimizar ou impedir a introdução de agentes indesejáveis um biotério deve apresentar as seguintes condições:

- a) menor número de pontos de acesso as instalações, impedindo assim, a entrada de animais e vetores, eventuais veículos patogênicos;
- b) sistema de ventilação e refrigeração adequado às exigências das espécies animais, assegurando a filtração do ar *in loco* e evitando a contaminação cruzada das áreas;
- c) desinfecção frequente das superfícies e equipamentos;

- d) esterilização ou desinfecção, além da estocagem adequada de materiais e insumos direcionados ao biotério;
- e) utilização de sistema de esgotamento sifonado, com fechamento dos drenos.

### 1.3 Macro e microambiente

A condição sanitária dos animais é determinada não somente pela origem destes, mas também pelo meio em que vivem, afetando diretamente suas respostas biológicas, fisiológicas e etológicas. Sendo assim, os biotérios devem ser projetados para atender as recomendações para a criação e manutenção de animais, minimizando os efeitos do meio ambiente na homeostase do animal; onde um bom programa de gerenciamento das instalações e dos ambientes deve permitir aos animais crescer, desenvolver e reproduzir, mantendo uma boa saúde e bem-estar (CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007).

As técnicas de padronização do meio ambiente detiveram-se, durante muito tempo, em aperfeiçoar as salas de animais sob o ponto de vista microbiológico. Modernamente com a constatação científica do impacto ambiental na criação e experimentação animal, houve a necessidade de padronização do meio ambiente sob o ponto de vista físico, sabendo-se que as reações biológicas dos animais de laboratório estão correlacionadas às condições sanitárias, genéticas e aos fatores relacionados ao meio ambiente, onde temperatura, umidade, taxa de troca do ar, iluminação e os níveis de ruídos podem afetar a saúde, o comportamento e o bem-estar animal, influenciando nos resultados de pesquisa ou ensaios experimentais (LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009).

Segundo Andrade, Pinto e Oliveira (2002), um biotério apresenta dois ambientes diferenciados:

- a) **macroambiente** - compreendido por tudo que se encontra do lado externo das gaiolas, como: instalações, temperatura, umidade relativa, iluminação, sistema de ventilação e filtração de ar e ruído;
- b) **microambiente** - definido como sendo o espaço imediatamente próximo ao animal, compreendido pela gaiola ou caixa de criação, cama, odores, densidade populacional, água e ração, com parâmetros próprios para temperaturas, umidade relativa, composição de gases e partículas do ar.

### 1.3.1 Ventilação

O sistema de ventilação adequadamente instalado e controlado serve para evitar a propagação de odores e agentes patógenos transportados pelo ar. A atmosfera na qual os animais vivem, devem oferecer condições que permitam o animal desenvolver suas atividades sem obstáculos. A função principal do sistema de ventilação é fornecer oxigênio, diluir gases e partículas contaminantes, remover os produtos do metabolismo em geral, como por exemplo: odores desagradáveis e a poeira desprendida da maravalha, podendo prejudicar a saúde dos animais (LAINETTI, 2009).

O modelo de ventilação usado no manejo de animais de laboratório é de fundamental importância na redução de poluentes e manutenção de sua saúde. Animais mantidos sob Ventilação Geral Diluidora (VGD) são expostos a altos níveis de poluentes presentes no ambiente (pó, bactérias, etc.) ou a poluentes produzidos pelo metabolismo animal e excretados dentro das gaiolas (amônia e dióxido de carbono) que podem contribuir para o aparecimento de patologias respiratórias, lesões oculares e diminuição da função imunológica animal. Outro modelo de ventilação preconizado e atualmente mais aceito é o sistema de Ventilação Microambiental (VMA) que possui um controle eficiente dos poluentes gerados no microambiente, usados em *racks* e estantes ventiladas.

Os métodos de controle do ar incluem sua filtração ou ainda o uso de gaiolas microventiladas que ajudam a reduzir a presença de micro-organismo. O uso de filtros no sistema de ventilação constitui-se como prática mais importante no controle de contaminação de ar em biotério, e muitos deles, utilizam filtros absolutos HEPA (high efficiency particulate air), com o propósito de diminuir o risco da entrada de micro-organismos indesejáveis (SMITH, 1999).

Medidas de controle do ar associadas a adequados procedimentos de limpeza e correta densidade populacional das gaiolas e salas de criação, ajudam a reduzir o número de partículas e a contaminação do ar. Padrões mínimos de controle no macro e microambiente estabelecem ambientes com maior estabilidade, mais economia, sem doenças e cientificamente mais aceitos, o que confere mais confiabilidade nos resultados experimentais (MINAGAWA, 2007).

Em paralelo às preocupações sobre o uso de animais de laboratório, desenvolveu-se também a preocupação com o bem estar e a segurança das

peças que manuseiam animais de laboratório em seus ambientes de trabalho, uma vez que estas correm riscos de adquirirem doenças ocupacionais pela presença de contaminações zoonóticas ou por desenvolvimento de alergias. A prevenção requer o uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI) e Equipamento de Proteção Coletiva (EPC), aplicação de modernos avanços tecnológicos no desenho das instalações do biotério e nas rotinas de trabalho, apresentando recursos humanos com formação apropriada e infraestrutura básica de pesquisa que inclua os centros de criação de animais de laboratório (POLITI; PIRTRO; SALGADO, 2008).

Nos últimos anos, vários estudos têm demonstrado que muitos casos de infecções em ambientes fechados em serviços de saúde se encontram relacionados à falta de manutenção de ar condicionados, pois estes equipamentos possibilitam a proliferação de bactérias e fungos capazes de sobreviver em ambientes secos por longos períodos. Os problemas relacionados com o desconforto e a saúde de ocupantes de ambientes fechados, climatizados artificialmente, têm surgido com frequência crescente e vem sendo objeto de atenção de pesquisadores em saúde pública (AFONSO et al., 2004).

Em biotérios é essencial um sistema de insuflação e exaustão do ar, com trocas regulares de ar nas salas de criação e experimentação animal, com controle de temperatura e umidade, possibilitando diminuir a presença de poluentes e odores de amônia. Tal sistema deve ser capaz de retirar possíveis patógenos, geralmente suspensos no ar e apresentar eficaz filtração para reter partículas de poeiras (MEZADRI; TOMAZ; AMARAL, 2004).

Os padrões e normas para manutenção da qualidade do ar em ambientes climatizados de serviço de saúde exigem cuidados importantes como: renovação de ar com mais que 12 trocas de ar externo/hora; uso de filtros de alta eficiência; localização da fonte de captação de ar longe de fontes poluentes, fezes de pombos, vegetação abundante e construções; limpeza mensal dos componentes do sistema de climatização, quinzenal para os componentes hídricos e semestrais para o sistema de dutos de ar (ETCHEBEHERE et al., 2005).

Etchebehere et al. (2005), descrevem que os sistemas de ar condicionado podem albergar bactérias, vírus e fungos que são capazes de sobreviver em ambientes secos por longos períodos e que os principais micro-organismos evidenciados como potencialmente causadores de infecção em humanos são:

*Bacillus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Actinomyces sp.*, *Paracoccidioides sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.* e vírus da influenza.

Em virtude da crescente preocupação com a qualidade do ar em ambientes fechados e climatizados artificialmente, o Ministério da Saúde (MS), aprovou a Portaria nº 3.525, em 28 de agosto de 1998, que tem como objetivo minimizar o risco potencial à saúde dos usuários, bem como controlar e reduzir a população microbiana nos ambientes. Em cumprimento ao dispositivo do Art. 2º, da Portaria 3.525, a Resolução nº 09 de 16 de janeiro de 2003, regulamenta a definição dos parâmetros físicos, químicos e biológicos, suas tolerâncias, métodos de controle e pré-requisitos de projetos de instalação e execução de sistema de climatização artificial (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003; BRASIL, 1998).

### 1.3.2 Temperatura

Fator ambiental de impacto relevante para o conforto dos animais e para a validação experimental, o qual costuma ser mantido pelo resfriamento ou aquecimento do ar que entra nas salas de criação, formando um complexo de condicionamento de ar, devendo ser periodicamente monitorado, tendo como zona de conforto de 21°C a 24°C para pequenos roedores e de 18°C a 20°C para cobaias e coelhos.

Mudanças na temperatura podem provocar estresse térmico nos animais mantidos em biotérios, interferindo no seu metabolismo, causando modificações comportamentais e fisiológicas com alterações nas atividades cardíacas e respiratórias, imunológicas, reprodutora e alimentar, onde tais alterações podem levar a erros de avaliação nas pesquisas que consideram as reações dos indivíduos como índice de monitoramento (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002; LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009).

### 1.3.3 Umidade

Segundo Lapchik, Mattaraia e Ko (2009), umidade relativa do ar (UR) que é a relação entre a pressão do vapor d'água na atmosfera e a pressão do vapor do ar

saturado na atmosfera, exerce juntamente com a temperatura uma função preponderante na dissipação de calor pelos animais. Com a ocorrência de uma produção de vapor d'água contínua, por meio da respiração e pela evaporação da urina, a umidade dentro da gaiola tende ser mais alta do que na sala, o que demanda um controle mais eficaz para prevenir situação de estresse e manter a higiene animal. Observa-se que a (UR) deve ser estabelecida dentro dos padrões normais adequados para cada espécie, entre 45% a 55% de (UR), de forma a evitar o aparecimento de doenças respiratórias.

#### 1.3.4 Iluminação

Os animais de laboratório têm sido criados em ambientes controlados, principalmente quanto à iluminação, sendo a artificial a mais aconselhada para o uso, levando em consideração que a qualidade espectral da luz, o ciclo de luz (fotoperíodo) e a intensidade luminosa, interferem no ciclo reprodutivo e no metabolismo dos animais (LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009).

O ciclo reprodutivo de muitas espécies de animais é controlado pela duração do dia (ritmo circadiano), uma vez que o estímulo da luz produz variações nos níveis hormonais. Variações sazonais são minimizadas com a manutenção constante de luminosidade, geralmente 12h de luz x 12h de escuro, parecem ser os mais adequados à manutenção e reprodução animal. Observa-se também, que o uso da luz fria causa menos irritação do que a luz incandescente e a obtenção de iluminação natural passada através de janelas e vidraças, é desaconselhável, pela falta de controle e por apresentar uma espectrometria desfavorável, a qual os animais de laboratório são insensíveis, além de elevar a carga térmica do ambiente, aumentando o custo com equipamentos de climatização (LAINETTI, 2009).

A maioria das espécies de animais usadas em biotérios é de hábito noturno, portanto a iluminação inadequada pode gerar resultados equivocados no experimento devido às alterações nas respostas biológicas, onde é recomendado que a intensidade de luz dentro da caixa de criação, não ultrapasse 60 LUX (medida de intensidade de luz em unidade), e nas salas de criação recomenda-se entre 350 a 400 LUX, um metro acima do piso e diretamente abaixo da fonte de luz (VALERO et al., 1990).



### 1.3.5 Ruído

Nos biotérios o som é uma importante variável do meio ambiente físico, originados por ruídos dos mais variados tipos e intensidade provocados por operações de alimentação e limpeza, funcionamento de equipamentos, vocalizações de pessoas e dos próprios animais, bater de portas, entre outros (KRUGER; WEIDLE; BARRETO, 1986).

Os ruídos são avaliados pela intensidade, que é medida em decibéis (dB) e pela frequência (agudez do som), que é medida em Hertz (HZ). As frequências inaudíveis ao homem são chamadas de infra-som (som grave) e ultra-som (som agudo). A maioria dos animais, incluindo os animais de laboratório, ouve sons de frequências superiores àquelas audíveis pelo homem, sendo a faixa de frequência de 2 a 95 KHZ audível para camundongos (LAINETTI, 2009).

Em salas de criação de roedores, geralmente é encontrado nível de 50 dB, sendo aceitável o nível de até 85 dB; porém, níveis de ruídos duradouros de 94 dB ou mais, são prejudiciais à audição humana. As condições de manejo devem prever medidas para diminuir a intensidade dos ruídos e o período de exposição a eles, visando fornecer conforto auditivo para as pessoas que trabalham no ambiente, bem como bem-estar dos animais de laboratório (LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009; VALERO et al., 1990).

Na manutenção do bem-estar animal, o controle dos níveis de ruídos nos biotérios é de grande importância, pois as alterações sonoras têm efeitos acumulativos e demoram a serem percebidos, onde os ruídos intermitentes são mais prejudiciais que os contínuos. Os impactos mais observados quando os níveis de ruídos excedem aos recomendados são danos físicos ao aparelho auditivo, alterações nas respostas imunológicas, alterações reprodutivas, canibalismo, redução do peso corpóreo e alterações no sistema neuroendócrino dos animais (LAPCHIK; MATTARAIA; KO, 2009).

## 1.4 Qualidade em biotérios

A preocupação com a qualidade de maneira geral, vem de longa data. A qualidade como objeto de atenção gerencial pôde ser identificada desde os

primórdios da atividade manufatureira, nos séculos XVIII e XIX, ainda no período em que predominava a produção em caráter artesanal (NEHME, 2008).

A definição de qualidade, proposta por Falconi (2004), afirma que o controle é representado pelas técnicas operacionais e as atividades definidas que confirmem a qualidade a um produto ou serviço que satisfaça determinados requisitos, com abrangência desde a concepção do projeto até o produto final e que atenda perfeitamente às exigências, no prazo determinado.

A qualidade dos animais de laboratório é determinada pela interação de múltiplos fatores, os quais precisam ser bem conhecidos de forma a serem padronizados dentro de um sistema de controle que permita avaliá-los rotineiramente, modificando-os quando necessário e visando sempre à manutenção da qualidade do produto final. Os animais de laboratório são considerados elementos fundamentais da experimentação, portanto, é indispensável a sua padronização para uso em pesquisas, pois diminui o número de animais necessários para atingir a exatidão do experimento (MEZADRI; TOMAZ; AMARAL, 2004).

### **1.5 Biossegurança em biotério**

O conceito de Biossegurança e sua respectiva aplicação têm como objetivo principal dotar os profissionais e as instituições de ferramentas que visem desenvolver as atividades com um grau de segurança adequado, seja para o profissional de saúde, seja para o animal, seja para o meio ambiente ou para a comunidade. Neste sentido podemos definir Biossegurança como sendo a condição de segurança alcançada por um conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal, vegetal e o ambiente (BRASIL, 2006).

Em 1995, em virtude da Lei nº 8.975/1995, a Fiocruz instituiu a Comissão Técnica de Biossegurança (CTBio), vinculada à Vice-Presidência de Tecnologia, visando implementar uma política de biossegurança da Instituição. No sentido de atender às demandas dos órgãos reguladores e também de contribuir para o pioneirismo da FIOCRUZ na área de biossegurança, foi criada em 1998 a Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) do CPqAM, que foi constituída, inicialmente, conforme exigências da Lei nº 8.794/1995, revogada pela Lei nº 11.105/2005 que estabelece normas de segurança para Organismo Geneticamente Modificados

(OGM), seguindo a regulamentação da Resolução Normativa nº 1/2006, da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), sendo responsável pelas diretrizes de Biossegurança do CPqAM (DOCENA et al., 2012).

Com constantes avanços tecnológicos houve a necessidade de uma regulamentação no que concerne a manipulação de organismos patogênicos convencionais em laboratório, onde as exigências de biossegurança atualmente são definidas legalmente pelas seguintes regulamentações:

- a) Norma Regulamentadora (NR) nº 32, que trata da Segurança e Saúde do Trabalhador em Serviço de Saúde, publicada no Diário Oficial da União através da Portaria GM nº 485, de 11 de novembro de 2005 (BRASIL, 2005) e da Portaria GM nº 939, de 18 de novembro de 2008 (BRASIL, 2008). Esta NR tem por finalidade estabelecer as diretrizes básicas para a implementação de medidas de proteção à segurança e à saúde dos trabalhadores dos Serviços de Saúde, bem como daqueles que exercem atividades de promoção e assistência à saúde em geral. Classifica ainda os agentes biológicos em classes de riscos distintas, conforme a capacidade dos microrganismos de causarem risco individual e para o trabalhador e para a coletividade;
- b) Portaria nº 3.204, de 20 de outubro de 2010 (BRASIL, 2010a), onde o Ministério da Saúde institui e aprova a Norma Técnica de Biossegurança para Laboratório de Saúde Pública que especifica os requisitos gerais de Biossegurança, para a competência em realizar atividades laboratoriais, de forma a prevenir, controlar, reduzir e/ou eliminar os fatores de risco inerentes aos processos de trabalho que possa comprometer a saúde humana, animal, vegetal, o meio ambiente e a qualidade do trabalho realizado. Além disso, articuladas com o Sistema de Gestão da Qualidade.

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 aqueles que estão próximos. Com a experiência adquirida ao longo do tempo e com o desenvolvimento das ciências e de tecnologias, a diminuição ou mesmo a eliminação dos riscos, se torna possível quando se faz uso de boas práticas laboratoriais e empregam-se as recomendações de biossegurança específicas ao nível do risco em potencial (MAJEROWICZ, 2008).

Segundo Docena et al. (2012), a Fiocruz em 2005, elaborou um documento de procedimentos para manipulação de microrganismos patogênicos e/ou recombinantes, indicando que os agentes biológicos patogênicos para o homem e animais são distribuídos em classes de risco biológico em função de diversos critérios, tais como: gravidade da infecção, disseminação no meio ambiente, estabilidade do agente patogênico, endemicidade, modo de transmissão, existência ou não de medidas profiláticas e tratamentos eficazes, entre outros. Por sua vez, em 2010, o Ministério da Saúde (BRASIL, 2010b), elaborou uma revisão da classificação dos agentes biológicos, que são definidos segundo Quadro 1.

**Quadro 1 - Classificação de risco de agentes biológicos, segundo a CTNBio.**

CLASSES DE RISCO	CARACTERÍSTICAS
<b>Classe de risco 1</b> (baixo risco individual e para comunidade)	Abrange os agentes biológicos não incluídos nas classes de risco 2, 3 e 4 conhecidos por não causarem doenças ao homem ou aos animais adultos e sadios (*).
<b>Classe de risco 2</b> (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade)	Inclui os agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente é limitado, e para os quais existem medidas terapêuticas e profiláticas eficazes.
<b>Classe de risco 3</b> (alto risco individual e moderado risco para a comunidade)	Inclui os agentes biológicos que possuem capacidade de transmissão por via respiratória e que causam patologias humanas ou animais, potencialmente letais, para os quais existem usualmente medidas de tratamento e/ou prevenção. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa para pessoa.
<b>Classe de risco 4</b> (alto risco individual e alto risco para a comunidade)	Inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida. Até o momento não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por estes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no ambiente.

Fonte: Brasil (2010b).

Nota: (\*) Cabe destacar que a ausência de um determinado agente biológico nas classes de risco 2, 3 e 4 não implica a sua inclusão automática na classe de risco 1. Para isso deverá ser conduzida avaliação, baseada nos critérios de avaliação de riscos.

Os animais de laboratório representam um risco para quem os maneja, pois, mesmo que não experimentalmente infectados, podem causar danos por mordeduras e/ou arranhaduras bem como, carreando agentes patogênicos, inclusive zoonóticos. Dessa forma, o risco de se adquirir infecções em biotérios nos quais as

doenças infecciosas estão sendo estudadas, é grande. Assim, para se trabalhar com segurança e evitar acidentes, devem ser observadas e respeitadas as regras e os procedimentos de trabalhos formulados para eliminar práticas perigosas e evitar riscos desnecessários (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

Os biotérios de criação e experimentação animal devem ser projetados de acordo com o grupo de risco dos agentes manipulados e sob a visão das recomendações dos Níveis de Biossegurança Animal (NBA) (Quadro 2). Outros fatores devem ser levados em consideração, em função da particularidade de cada biotério. Em relação aos animais, deve-se considerar sua agressividade e tendência a morder, arranhar; os ecto e endoparasitos que possam estar presentes; as zoonoses que são susceptíveis e a possibilidade de disseminação de alérgenos (MAJEROWICZ, 2008).

**Quadro 2 - Resumo dos Requisitos para Área Física e Instalações de Biotérios, conforme o Nível de Biossegurança Animal (NB1 a NB4).**

(Continua)

REQUISITO	NB1	NB2	NB3	NB4
Sinalização com símbolo de risco biológico.	R	O	O	O
Biotério separado da passagem pública.	O	O	O	O
Biotério isolado.	---	R	R	O
Lavatório para mãos próximo a entrada/saída da sala de animais.	O	O	O*	---
Lavatório para mãos próximo a entrada/saída da sala de procedimentos.	O	O	O	---
Torneiras com acionamento sem o uso das mãos.	---	R	O	---
Ventilação mecânica, sem recirculação do ar para outras áreas.	O	O	O	O
Filtro HEPA nas saídas de ar.	---	---	O	O
Gradiente de pressão de ar nas salas de animais.	R	R	O	O
Portas de entrada e saída das salas de animais com intertravamento.	---	R	O	O
Paredes, portas, tetos e pisos lisos impermeáveis e resistentes à desinfecção.	O	O	O	O
<b>Antecâmara de acesso ao biotério</b>				
- Com lavatório e local para paramentação.	R	O	O	---
- Dotada de portas com intertravamento.	---	---	O	O
- Pressurização com chuveiro e vestiário.	---	---	R	O
- Para equipamentos.	R	O	O	O
Separação física dos corredores de acesso às salas de animais.	---	R	O	O
Tratamento de efluentes	---	---	O	O

**Quadro 2 - Resumo dos Requisitos para Área Física e Instalações de Biotérios, conforme o Nível de Biossegurança Animal (NB1 a NB4).**

REQUISITO	(Conclusão)			
	NB1	NB2	NB3	NB4
Selagem/vedação de frestas nas paredes, tetos, pisos e demais superfícies.	---	R	O	O
Autoclave	R	O	O	O
- Dupla porta.	---	R	O	O
Cabine de segurança biológica nas salas dos animais.	R	O	O	O

Fonte: Adaptado de Pessoa et al. (2008).

Nota: \* Avaliação de risco deve proceder à determinação dos níveis de biossegurança e medidas de contenção a serem adotadas. Considerando, além de espécie animal, o risco potencial do agente, as atividades do biotério e as condições locais. A opção por estantes ventiladas e sistemas de gaiolas microisoladoras, constitui-se em barreira adicional e não pressupõe a substituição das medidas de contenção requeridas pelos níveis de biossegurança animal correspondente.

Legenda: R= Recomendado; O= Obrigatório.

A avaliação de risco incorpora ações que objetivam o reconhecimento ou a identificação dos riscos e a probabilidade do dano proveniente destes, que será orientada por vários critérios que dizem respeito não só ao agente biológico manipulado, mas também a riscos físicos, químicos, ergonômicos, radioativos e a espécie animal utilizada. Deve também contemplar as várias dimensões que envolvem a questão, sejam elas relativa a procedimentos de boas práticas de laboratório (BPL), a infraestrutura das instalações físicas, equipamento de proteção individual e coletiva, bem como a qualificação profissional (BRASIL, 2006).

O manejo com animais de laboratório requer a utilização e contato com substâncias químicas e alérgenos potencialmente perigosos para a saúde da equipe de trabalho, para as instalações e para os próprios animais. Esses perigos podem ser minimizados ou eliminados com o correto cumprimento de procedimentos padronizados destinados a garantir a segurança. O estabelecimento e a validação desses procedimentos são de responsabilidade da gerência do biotério, e devem ser elaborados e aplicados através de cursos e treinamentos de capacitação permanente da equipe técnica (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

## 1.6 Boas práticas

O conceito formal de Boas Práticas de Laboratório (BPL) foi desenvolvido pela primeira vez nos Estados Unidos da América, nos anos 70, por causa da preocupação da validade de dados provenientes de ensaios pré-clínicos submetidos

ao “Food and Drug Administration” (FDA). Irregularidades na análise e inspeção não só de ensaios experimentais como também de instalações resultaram na identificação de inadequado planejamento, incompetente execução de experimentos, documentação insuficiente, além de fraude (MAJEROWICZ, 2005).

Essas deficiências foram divulgadas publicamente no que ficou conhecido como Audiência de Kennedy no Congresso Americano. O resultado dessa política foi a subsequente publicação, em 1976, pelo FDA de uma proposta de regulamentação sobre BPL. Em 1977, esses princípios foram revisados e o regulamento tomou efeito legal em junho de 1978 (McPHERSON 1984, ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAUDE, 2001 apud MAJEROWICZ, 2005).

No Brasil, as BPL aplicam-se, compulsoriamente, aos laboratórios que trabalham nas áreas de toxicologia, ecotoxicologia e ecossistemas no contexto da legislação ambiental do IBAMA. As diretrizes e os princípios das BPL foram publicados pela primeira vez pelo Inmetro em 1995. Atualmente, são aplicados os critérios contidos na Norma Inmetro nº Nit-Dicla-028, baseados em documentos originais da Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD), que reúne critérios para o credenciamento de laboratórios de ensaios segundo os princípios BPL, ou seja, reúne diretrizes para a concretização de um sistema de qualidade que abranja o processo organizacional e as condições em que estudos são planejados, gerenciados, desenvolvidos, monitorados, registrados, arquivados e relatados (INMETRO, 2003).

BPL é hoje reconhecida como um padrão de qualidade, tanto que foi incorporada na declaração da OECD, desde 1997 (DENT, 1998). Os princípios de BPL são muito flexíveis e uma interpretação precisa é requerida na aplicação do processo. Um sistema de BPL, como todo sistema da qualidade, é dinâmico (e não estático) com contínuas implementações, dependendo da evolução do estado da arte, que é essencial. Conseqüentemente, apresentam várias dificuldades, como os diferentes modos de aplicação dos princípios da BPL. O conhecimento, a experiência e a adoção por todos aos princípios das BPL – combinado com o conhecimento do problema – são mandatórios para selecionar correta e adequadamente os métodos a serem aplicados (BRUNETTI, 2002 apud MAJEROWICZ, 2008).

O papel do laboratório no que diz respeito à adoção de sistema que assegure a consistência requerida ao produto, reflete a necessidade de boas práticas como

parte da garantia da qualidade (MILSTIEN, 2002). Toda Unidade Organizacional (UO) deve ter Procedimentos Operacionais Padrão (POP) escritos, revisados, numerados e aprovados, como documento da qualidade, pela Unidade da Garantia da Qualidade (UGQ). Garante-se, assim, que as condições técnicas e de gerenciamento dos fatores que influenciam na qualidade dos ensaios que compõem um estudo sejam aderentes aos critérios da BPL (INMETRO, 2003). Uma coleção de bons POPs é um pré-requisito para o sucesso de conformidade de BPL. A composição de um sistema de POPs é, muitas vezes, a mais importante ação e exige consumo de tempo para a conformidade desse trabalho (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAUDE, 2001 apud MAJEROWICZ, 2008).

Conceitos de Boas Práticas de Laboratório, Procedimentos Operacionais Padrão padronização dos animais de laboratório e as Instruções Normativas da CTNBio devem ser aplicados em todo o processo de criação animal. Os POPs devem ser escritos, revisados, numerados e aprovados como documentos para qualidade e segurança do biotério, devendo ser adotadas medidas, através das normas preconizadas, protocolos e procedimentos, aliados ao treinamento e capacitação da equipe de profissionais do biotério (LAPCHIK; MATTARAIA; KO 2009).



## 2 JUSTIFICATIVA

No biotério de criação do CPqAM, utiliza-se animais com padrão sanitário convencional controlado, possuindo em suas instalações barreiras sanitárias rigorosas, tais como: micro isoladores, cabines de troca de animais, fluxo unidirecional contínuo e manutenção preventiva dos equipamentos; além de rotinas de monitoramento sanitário das colônias e das instalações. Elementos estes que auxiliam na identificação das possíveis não conformidades do biotério de criação, possibilitando assim, propor soluções pontuais e integradas, para melhoria da qualidade dos animais produzidos e mantidos no biotério de criação do CPqAM.

O estabelecimento de rotinas para avaliação e monitoramento dos padrões de qualidade sanitária das colônias do biotério de criação do CPqAM, se faz necessário para identificar os vieses atribuídos aos protocolos de manejo zootécnico, assim como da eficiência das barreiras sanitárias empregadas na produção dos animais de laboratório.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Propor avaliar as condições sanitárias do biotério, visando a melhoria da qualidade dos animais de laboratório produzidos no biotério de criação do CPqAM.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- a) obter indicadores do perfil sanitário ambiental e animal do biotério de criação do CPqAM que permitam traçar um diagnóstico para o estabelecimento de estratégias de ação para melhoria da qualidade dos animais;
- b) propor procedimentos operacionais padrão relacionados às práticas de manejo das colônias;
- c) propor procedimentos de monitoramento microbiológico das instalações e equipamentos;
- d) propor procedimentos de monitoramento sanitário dos animais do biotério de criação.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Tipo de estudo

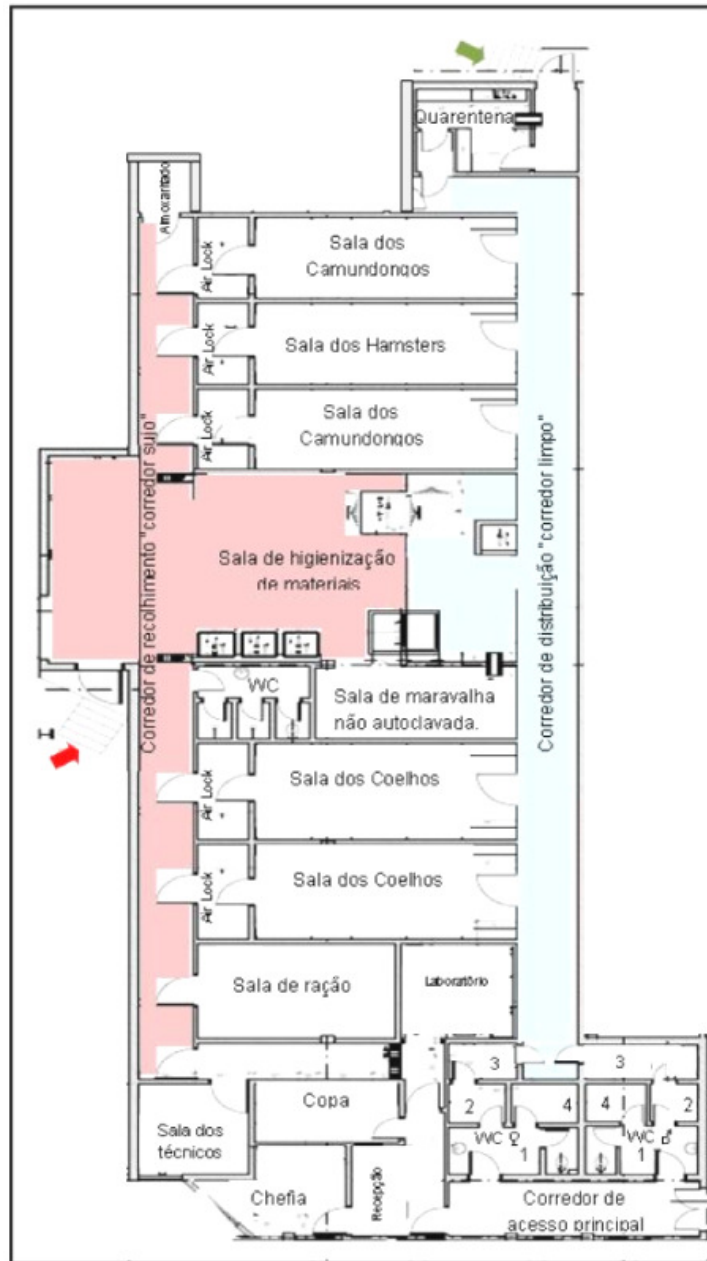
Este estudo teve caráter exploratório e descritivo, com natureza finalística de descrever a situação sanitária do biotério de criação do CPqAM/Fiocruz-PE, por meio de análises microbiológicas dos animais e do ambiente, a fim permitir elaborar uma proposta de padronização de procedimentos e práticas de rotina para a melhoria da qualidade dos animais.

### 4.2 O ambiente de estudo

O presente estudo foi realizado utilizando-se as instalações do Biotério de Criação e do Laboratório de Biologia Celular e Molecular (LBCM) do Departamento de Parasitologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/Fiocruz, localizado no campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no município de Recife-PE.

O Biotério de Criação enquadra-se na classificação quanto ao *status* sanitário, como sendo biotério convencional controlado, onde a produção animal destina-se ao atendimento determinado pela demanda das pesquisas que utilizam animais de laboratório, realizadas na instituição. Possui suas instalações divididas em área administrativa e área técnica: corredor duplo (sujo e limpo), salas de criação com *Air Lock*, área de higienização, área de estocagem de ração e maravalha, almoxarifado, setor de quarentena e área de preparo de material esterilizado (Figura 1), onde é empregado o uso de barreiras, associadas a um conjunto de medidas sanitárias visando melhorar a qualidade dos animais.

Figura 1 - Planta do biotério de criação.

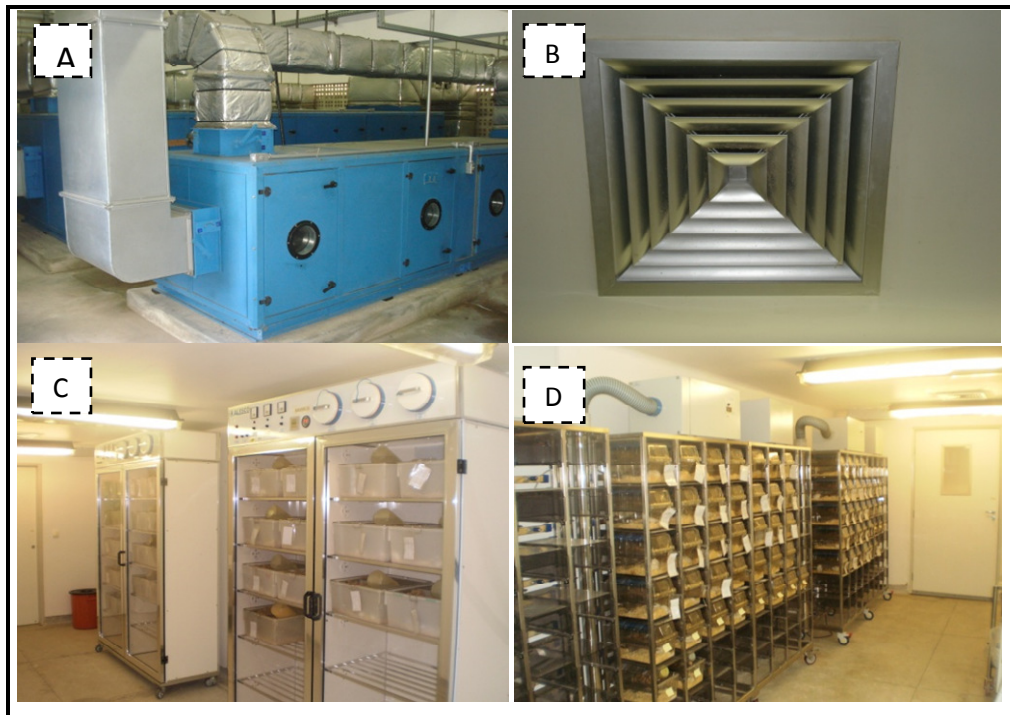


Fonte: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (2010).

O Biotério é dotado de um sistema de condicionador de ar com temperatura entre 22 a 24 °C, umidade relativa entre 45 a 60% e ventilação geral diluidora (VGD), com insuflação pelo teto e taxa de renovação regular de ar com 15 trocas por hora.

As salas de criação de camundongos possuem em quase sua totalidade, o emprego de estantes ventiladas e racks com micro isoladores, com sistema de ventilação micro ambiental (VMA), que utilizam filtros absolutos HEPA (Figura 2).

**Figura 2 – Sistema de ventilação do biotério de criação.**



Fonte: O autor.

Nota: A= sistema de VGD; B= Grade de Insuflação de Ar; C= Estantes Ventiladas; D= Racks com micro isoladores.

### 4.3 Levantamento microbiológico

#### 4.3.1 Levantamento microbiológico ambiental

O levantamento dos microrganismos foi realizado inicialmente com a determinação dos locais de estudo da área técnica, composta pelas salas de criação de camundongos das linhagens Swiss, BALB/C e C57BL/6, setor de quarentena, área do corredor limpo, área de higienização e área de preparo de material esterilizado.

As amostras foram coletadas no segundo semestre de 2012, sete dias após a desinfecção das áreas com solução bactericida e fungicida de cloreto de alquil dimetil benzil amônia (quaternário de amônia), com diluição de 1:4000 I, segundo a especificação do fabricante.

As coletas foram realizadas em duas etapas, em pontos específicos previamente determinados, levando em consideração o fluxo operacional, as atividades desenvolvidas em cada setor, bem como a exposição dos pontos passíveis de contaminação, abrangendo as seguintes superfícies: mesa de apoio

para manejo da colônia; maçanetas internas e externas das portas das salas de criação da área limpa e da quarentena; maçaneta do monta carga; bordo da bandeja de maravalha e grades de Entrada de ar (insuflação) do sistema de ventilação geral diluidora (VGD) do biotério (Tabela 1).

As coletas totalizaram 60 amostras divididas em: 32 amostras coletadas com o uso de swabs estéreis para isolamento de bactérias e 28 amostras coletadas com abertura de placas de Petri para identificação de fungos.

**Tabela 1 - Distribuição das Amostras Microbiológicas coletadas no 2º semestre de 2012 no Biotério do CPqAM.**

Swabs (Bactérias)			Placas de Petri (Fungos)
Locais de coleta	Pontos de coleta		Ágar Sabouraud c/ cloranfenicol
1- Sala de Produção Swiss	- Maçaneta da Porta(limpa) <b>M.P</b> - Mesa de Apoio. <b>M.A</b> - Entrada de Ar. <b>E.A</b>	3	2
2- Sala de Fornecimento Swiss	- Maçaneta da Porta(limpa) <b>M.P</b> - Mesa de Apoio. <b>M.A</b> - Entrada de Ar. <b>E.A</b>	3	2
3- Sala de Criação BALB/c e C57BL/6	- Maçaneta da Porta(limpa) <b>M.P</b> - Mesa de Apoio. <b>M.A</b> - Entrada de Ar. <b>E.A</b>	3	2
4- Área da Quarentena	- Maçaneta da Porta(limpa) <b>M.P</b> - Mesa de Apoio. <b>M.A</b> - Entrada de Ar. <b>E.A</b>	3	2
5- Área do Corredor Limpo	- Entrada de Ar. <b>E.A</b>	1	2
6- Área de Preparo (limpo)	- Maçaneta do Monta Carga. <b>M.M.C</b> - Bordo da Bandeja da Maravalha. <b>B.B.M</b> - Entrada de Ar. <b>E.A</b>	3	2
7- Área de Higienização (suja)	-----	-----	2
	<b>Amostras da 1ª Coleta</b>	16	14
	<b>Amostras da 2ª Coleta</b>	16	14
	<b>Total de coletas</b>	<b>32</b>	<b>28</b>

Fonte: O autor.

Na coleta das amostras para pesquisa de bactérias, foram utilizados *swabs* estéreis, umidificados no momento da coleta com caldo BHI (Brain Heart Infusion), introduzidos de forma asséptica, em tubos de ensaio estéreis e contendo caldo BHI; em seguida transportados imediatamente para o LBCM, onde foram incubados em estufa microbiológica a 37<sup>o</sup> C por 24 h, para análise de culturas crescidas. Através do uso de cabine de fluxo laminar, as amostras positivas, foram semeadas em placas de meio Ágar sangue para isolamento de bactérias gram positivas e placas em meio Ágar EMB (Eosina azul metileno) para isolamento de bactérias gram

negativas, em seguida colocadas em estufa a 37° C por 24 h para crescimento de colônias.

Obedecendo ao tempo determinado em estufa, as amostras com ocorrência de crescimento bacteriano, foram processadas segundo a técnica de coloração de Gram, que tem como base a capacidade das paredes celulares de bactérias gram-positivas de reterem o corante cristal violeta durante tratamento com etanol-acetona, enquanto que as paredes de bactérias gram-negativas não o fazem (TRABULSI, 2005). Após a confirmação das características das colônias, as linhagens foram submetidas às provas bioquímicas de catalase e manitol, objetivando definir a diferenciação de gêneros.

Após o período de caracterização e identificação em nível de gênero, as amostras bacterianas foram enviadas, em placas de Petri com meio Agar sangue, para o Departamento de Bacteriologia do Laboratório Central (LACEN) da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco, onde foram analisadas através do sistema de automatização VITEK (Biomerieux) para identificação das espécies bacterianas.

A coleta das amostras para pesquisa fúngica foi realizada no mesmo período da coleta bacteriana. Para determinar o perfil microbiológico das áreas referenciadas, utilizou-se o método de amostragem passiva de sedimentação espontânea, com abertura de placas de Petri contendo meio de cultura seletivo com antibiótico para impedir o crescimento de bactérias.

O tempo de exposição das placas foi de cinco minutos, considerando que não há um padrão a ser seguido quanto à exposição. De acordo com Nunes (2005),

O tempo de exposição das placas de Petri, que certamente é um fator relevante para o sucesso da técnica, não é padronizado e varia muito entre os estudos realizados, onde alguns pesquisadores expõem por 30 minutos, ou menos, enquanto outros, por duas, quatro horas, ou mais.

Determinou-se a abertura por ambiente, de duas placas de Petri identificadas, contendo meio de Ágar Sabouraud com cloranfenicol, em locais de estudo da área técnica do biotério. Em seguida as placas foram enviadas para o LBCM e mantidas em estufas microbiológicas a 30°C e 37°C por até 15 dias e após este período, foram realizadas as diferentes análises fenotípicas como diâmetro, bordos, textura e coloração do verso e reverso das colônias, produção de pigmentos e tempo de crescimento (BARNETT et al., 2000; De HOOG et al., 2000).

Determinou-se a necessidade de coletar dados referentes ao perfil microbiológico dos bioteristas que participam das atividades com animais, visto que, estes profissionais podem ser carreadores de patógenos para as colônias de animais. Os dados foram obtidos através da consulta aos relatórios de avaliação de saúde dos bioteristas, os quais fazem parte do acervo de documentos do biotério. Esses dados se baseiam na avaliação microbiológica das mãos e das fossas nasais, realizada anualmente.

A avaliação microbiológica consistiu na utilização *swabs* estéreis, umidificados com caldo BHI, foram coletadas amostras das mãos e das fossas nasais dos bioteristas. Logo após a coleta, os *swabs* foram introduzidos de forma asséptica, em tubos de ensaio estéreis e identificados contendo caldo BHI; em seguida transportados imediatamente para o LBCM, onde foram incubados em estufa microbiológica a 37° C por 24 h, para análise de crescimento bacteriano.

#### 4.3.2 Levantamento microbiológico animal

O levantamento microbiológico das colônias de camundongos foi obtido através dos dados do monitoramento sanitário animal realizado semestralmente pelo biotério de criação, onde os dados analisados foram do segundo semestre de 2012.

Através da utilização do Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para a Saúde (PDTIS) e do serviço de redes de plataformas tecnológicas da Fiocruz foram enviados 64 animais para a subunidade de análises clínicas de animais de laboratório (RPT14A) do Serviço de Controle de Qualidade Animal (SECQUAL) do Centro de Criação Animal (CECAL) da Fiocruz, no município do Rio de Janeiro.

Os animais foram enviados para avaliações microbiológicas, devidamente alojados em caixas de transporte animal, via logística institucional (Figura 3).



**Figura 3 - Animais enviados para análise microbiológica.**



Fonte: O autor.

Foram realizadas análises virológicas, bacteriológicas e parasitológicas através de metodologias específicas: ELISA (ensaio imunoenzimático), microscopia óptica, macroscopia e cultura, nos micro-organismos analisados, de acordo com as recomendações da Federation of Laboratory Animal Science Associations (FELASA) (Quadro 3).

**Quadro 3 - Recomendação de monitoramento sanitário para camundongos.**

(Continua)

MICROORGANISMOS	AMOSTRA	METODOLOGIA
<b>VÍRUS</b>	SORO	ELISA
Adenovírus (MAV)	SORO	ELISA
Citomegalovírus (MCMV)	SORO	ELISA
Ectromelia vírus	SORO	ELISA
Parvovírus	SORO	ELISA
Pneumovírus decamundongos (PVM)	SORO	ELISA
Poliomavírus	SORO	ELISA
Reovirus tipo 3 (REO 3)	SORO	ELISA
Rotavírus (EDIM)	SORO	ELISA
Sendai vírus	SORO	ELISA
Vírus da Coriomeningite linfocítica murina (LCMV)	SORO	ELISA
Vírus da Encefalomielite murina (Theiler)	SORO	ELISA
Vírus da Hepatite Murina (MHV)	SORO	ELISA
Vírus Diminuto de Camundongos (MMV)	SORO	ELISA

**Quadro 3 - Recomendação de monitoramento sanitário para camundongos.**

(Conclusão)

MICROORGANISMOS	AMOSTRA	METODOLOGIA
<b>BACTÉRIAS</b>		
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
Bacillus associados aos cílios respiratórios	SORO	ELISA
<i>Citrobacter rodentium</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Corynebacterium bovis</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	SORO	ELISA
<i>Pasteurella</i> ssp.	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Pseudomonas</i> ssp.	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Salmonella</i> ssp.	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Staphylococcus aureus</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Streptococcus beta hemolítico (exceto grupo D)</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	TRAQUÉIA/FEZES	CULTURA
<i>Clostridium piliformis</i> – Tyzzer	SORO	ELISA
<b>Parasitas</b>		
Ectoparasitas: pulgas, ácaros e piolhos	PELOS	ESTEROSCOPIA
<i>Syphacia</i> ssp	INTESTINO	MICROSCOPIA ÓPTICA
<i>Aspiculuris tetráptera</i>	INTESTINO	MICROSCOPIA ÓPTICA
<i>Rodentolepis nana</i>	INTESTINO	MICROSCOPIA ÓPTICA
Tricomonídeos	INTESTINO	MICROSCOPIA ÓPTICA
<i>Spironucleus muris</i>	INTESTINO	MICROSCOPIA ÓPTICA
<i>Giardia muris</i>	INTESTINO	MICROSCOPIA ÓPTICA
<i>Entamoeba</i> ssp	INTESTINO	MICROSCOPIA ÓPTICA

Fonte: Federation of European Laboratory Animal Science Associations (1999).

Nota: ELISA- Ensaioimunoenzimático

#### 4.4 Procedimentos operacionais padrão

A política da qualidade da Fiocruz tem como fundamento a melhoria contínua do Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ), segundo Modelo de Excelência de Gestão Pública (MEGP) e o atendimento aos requisitos de regulamentos e normas nacionais e internacionais da qualidade.

Neste sentido, o biotério de criação vem buscando constantemente o aprimoramento e atualização contínua dos processos rotineiros de trabalho, realizados nas diversas atividades, baseados nos princípios e normas da qualidade utilizadas no CPqAM.

A elaboração dos documentos da qualidade, como POPs gerenciais e de equipamentos entre outros, teve como base os modelos existentes no CPqAM/FIOCRUZ-PE, onde esses documentos passaram por readequação para atender as necessidades do biotério, baseados segundo os princípios da BPL e da norma NIT-DICLA-035, observando e respeitando a política da qualidade, que já vem sendo implantada na instituição, através da Gerência da Qualidade (GQ).

A decisão de elaborar os POPs, partiu da necessidade de uma uniformização das atividades desenvolvidas no biotério, executadas de diferentes formas pela equipe técnica, bem como a padronização dos documentos, registros de dados, resultados e adequações de técnicas que minimizariam a ocorrência de desvios na execução das tarefas fundamentais para a manutenção da qualidade dos animais produzidos.

## 5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Estudo descritivo e avaliativo da qualidade sanitária animal e ambiental do biotério de criação, através de coletas de amostras microbiológicas. Onde o perfil sanitário animal foi avaliado através dos dados obtidos do monitoramento realizado semestralmente pelo biotério.

O estudo também teve caráter descritivo e avaliativo, com intervenção e envolvimento de seres humanos, onde foram analisados dados das coletas amostrais realizadas semestralmente, com o objetivo de isolar possíveis microorganismos das mãos e das fossas nasais dos bioteristas envolvidos nas atividades com os animais em estudo.

Para realização do estudo não houve necessidade de submissão do projeto aos comitês de ética em pesquisa humana e animal (CEP e CEUA), Onde todos os dados analisados foram considerados dados secundários. O acesso e análise dos dados foram autorizados através da emissão da carta de anuência à coordenação do biotério.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Levantamento microbiológico ambiental

#### 6.1.1 Isolados bacterianos

Dentre as 32 amostras com isolamento bacteriano houve a prevalência para o gênero *Staphylococcus*, com a ocorrência das espécies: *Staphylococcus xilosus*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus lentus* e algumas não identificadas (*Staphylococcus ssp*); gram-negativos: *Acinetobacter baumannii* e *Sphingomonas paucimobilis* (Tabela 2)

Tabela 2 - Isolados bacterianos encontrados na área Técnica do Biotério.

BACTÉRIAS	FREQUÊNCIA (n)	TOTAL DE AMOSTRAS	PREVALÊNCIA (%)
<i>Staphylococcus ssp</i>	20	32	62,5%
<i>Staphylococcus xilosus</i>	7	32	21,87%
<i>Staphylococcus equorum</i>	2	32	6,25%
<i>Staphylococcus lentus</i>	1	32	3,12%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	32	3,12%
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	32	3,12%

Fonte: O autor.

Estes resultados corroboram os relatados por Paula (2003) em um levantamento relacionado a aeromicrobiota de ambiente de serviço de saúde, onde encontrou 204 publicações nos bancos de dados Medline e Lilacs. Este estudo demonstrou uma diversidade dos tipos de micro-organismos relatados em termo de gênero e espécie. O grupo mais encontrado foi o das bactérias Gram positivas, especialmente o gênero *Staphylococcus*, que compreende 27 espécies, sendo que muitas estão associadas a infecções em seres humanos e despertam interesse em todos os âmbitos da área médica.

Os estafilococos são bactérias Gram positivas, imóveis, de forma esférica, medindo de 0,5 a 10 µm, agrupadas em massa irregular em forma de “cacho”.

Apresentam metabolismo respiratório e fermentativo, atuando sobre carboidratos com produção de ácidos, sendo aeróbias e anaeróbias facultativas (CUNHA; STAMFORD, 2002).

De acordo com os resultados obtidos na área técnica do biotério, verificamos a ocorrência de estafilococos, sendo a espécie *Staphylococcus xilosus* entre as de maiores prevalências achadas (21,87%). Possui característica de ser encontrado tanto em homens quanto em outros primatas, com implicações em processos infecciosos das vias urinárias e de endocardites em pacientes humanos (KONEMAN, 2001).

Segundo Silva (2009) em seus experimentos em ambientes de serviço de saúde, registrou a ocorrência de 85 amostras de estafilococos, sendo destas, 13 amostras da espécie *Staphylococcus xilosus* sendo carregadas para ambiente hospitalar, por formigas urbanas (Hymenoptera: Formicidae) das espécies *Tapinoma melanocephalum* e *Paratrechina longicornis*, elevando o risco de veiculação de estafilococos de coagulase negativa e de contaminação ambiental.

As espécies *Staphylococcus equorum* e *S.lentus* foram encontradas em menor número nos ambientes estudados, especificamente na maçaneta das portas e nas grades de saída de ar.

Koneman (2001) cita a existência de sete espécies de *Staphylococcus* de origem animal, dentre elas o *Staphylococcus lentus* que forma parte da microbiota normal de ovinos e caprinos e do *Staphylococcus equorum* como sendo uma rara espécie de bactéria coagulase negativa que acomete a espécie equina e de importância patogênica indeterminada.

A ocorrência dessas duas espécies de bactérias fora de seu ambiente normal, visto que no biotério de criação do CPqAM, não se cria as espécies ovina, caprina nem tão pouco equina, pode estar relacionada a ração e a maravalha fornecida aos animais, onde a logística destes insumos é realizada por empresas terceirizadas, que atende a diversos segmentos da pecuária nacional, somado a quebra de barreiras existentes no biotério, principalmente a descontinuidade do processo de autoclavagem destes insumos, bem como a falta de manutenção do sistema de ar, com trocas irregulares dos filtros HEPA.

Observou-se entre os achados a ocorrência das espécies *Acinetobacter baumannii* e *Sphingomonas paucimobilis* que são bacilos Gram negativos responsáveis por infecções em humanos, incluindo as do trato urinário, pneumonias,

meningites, endocardites e peritonites, isolados em uma variedade de amostras biológicas, incluindo sangue, líquido cefalorraquidiano, urina, colo uterino e ambiente hospitalar (KONEMAN, 2001).

Segundo Andrade, Pinto e Oliveira (2002), a ração constitui um potencial veículo de contaminação para os animais de laboratório, pois pode conter bactérias e fungos, devendo ser observada a sua qualidade e validade, bem como a realização de análise microbiológica periódica.

Através dos dados obtidos, observou-se que os pontos de coletas de maior ocorrência de amostras positivas foram a mesa de apoio (37,5%) e a entrada de ar (34,37%) das salas de criação e da quarentena (Quadro 4 e Figura 4). Levando em consideração que as mesas de apoio devem ser higienizadas antes e após o manejo com os animais, a obrigatoriedade do uso de EPIs pelos bioteristas, durante as atividades e uma correta manutenção do sistema de ar condicionado, com trocas regulares dos filtros de ar, poderiam evitar ou diminuir estes achados.

Quadro 4 - Distribuição dos isolados, de acordo com os pontos de coleta da Área Técnica.

ISOLADO DE BACTÉRIAS	Sala 1			Sala 2			Sala3			Quarentena			Área de Preparo (Limpo)			Corredor Limpo
	MP	MA	EA	MP	MA	EA	MP	MA	EA	MP	MA	EA	MMC	BBM	EA	EA
<i>Staphylococcus ssp</i>		O	O	O	O	O		O	O	O	O		O			O
	X	X	X	X	X			X	X		X					X
<i>Acinetobacter baumannii</i>												O				
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>												O				
<i>Staphylococcus equorum</i>							X						O			
<i>Staphylococcus lentus</i>						X										
<i>Staphylococcus Xilosus</i>			O									O		O		
										X	X	X	X			

Fonte: O autor.

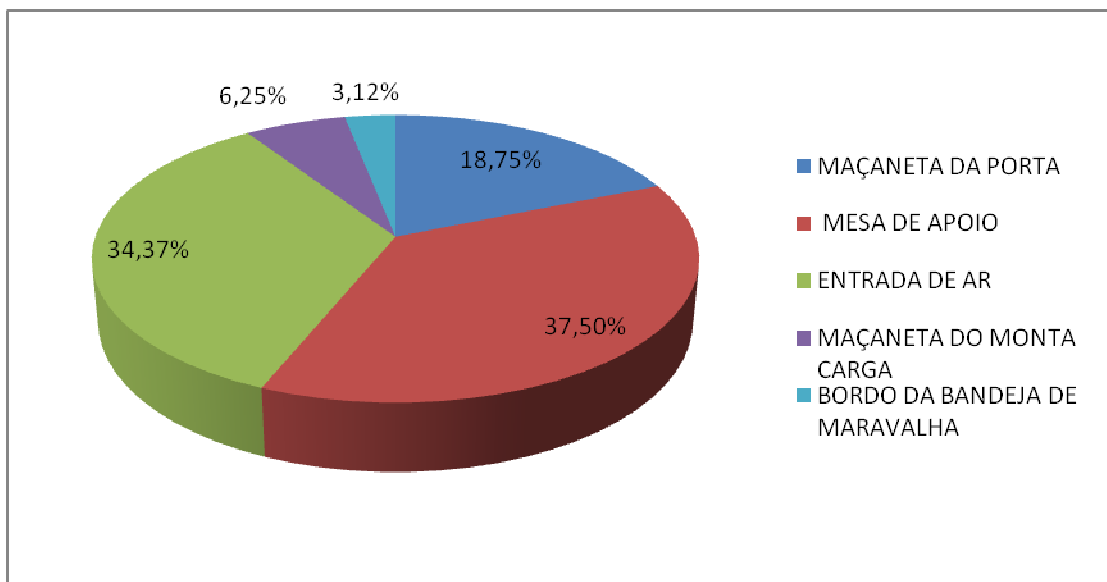
Nota: O - 1ª Coleta; X - 2ª Coleta.

Legenda: MP- Maçaneta da Porta; MA- Mesa de apoio; EA- Entrada de Ar; MMC- Maçaneta do Monta Carga; BBM- Bordo da Bandeja de Maravalha.



Minagawa (2007), em um estudo microbiológico com camundongos das linhagens Swiss, BALB/C e C57BL/6, mantidos em biotério de criação e experimentação de *status* sanitário convencional, revelou a prevalência de *Staphylococcus ssp* (76,66 %) encontrada nas mesas de apoio das diversas salas de animais. Sugerindo que a possível contaminação ser originada do grande fluxo de pessoas nas salas dos animais, bem como o uso de gaiolas sem filtros, permitindo que pelos, pele e maravalha entrassem em contato com o ar e objetos existentes no ambiente.

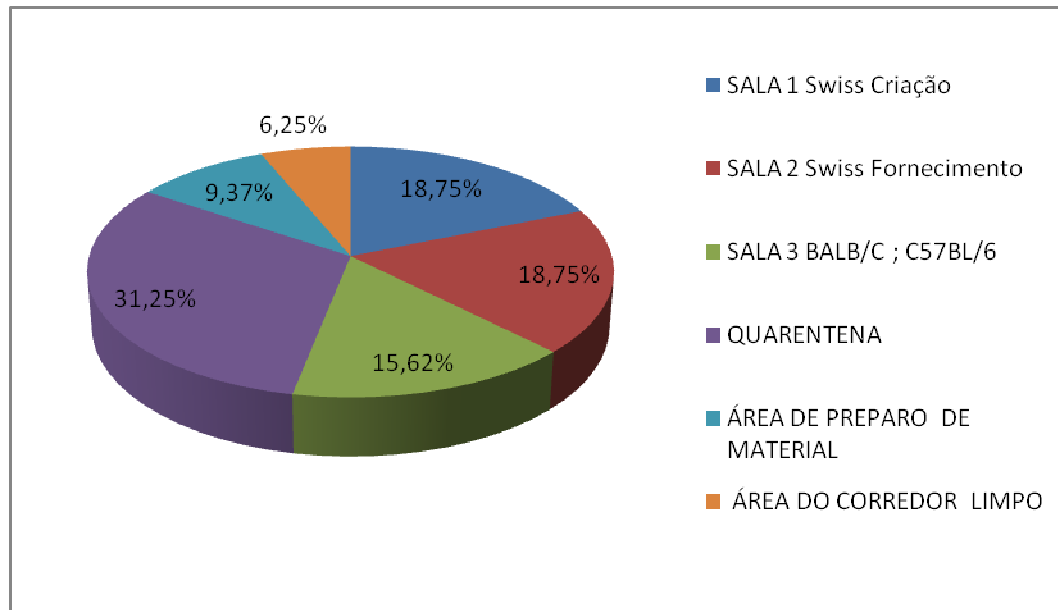
**Figura 4 - Distribuição dos pontos de ocorrência bacteriana.**



Fonte: O autor.

Segundo os dados deste estudo, verificou-se que a quarentena foi a área de maior ocorrência bacteriana (31,25%) (Figura 5). A quarentena se configura como sendo uma área de fundamental importância para o biotério, pois além de receber os animais recém adquiridos que permanecem isolados até que se determine o estado de saúde, há o risco de contaminação de patógenos através das caixas de transportes de animais, potencializada por uma ineficiente descontaminação das mesmas. Majerowicz (2008) afirma que a aplicação de uma quarentena eficaz, reduz a probabilidade de introdução de patógenos, onde as gaiolas de transporte não devem entrar nas instalações antes das devidas desinfecções.

**Figura 5 - Distribuição das áreas de ocorrência bacteriana.**



Fonte: O autor.

É importante salientar que a quarentena se constitui como área de transição, devendo assim possuir instalações adequadas, sem quebras de barreiras. No caso específico da quarentena do biotério verificou-se durante os estudos, a presença de vetores mecânicos e quebra na barreira física da quarentena do biotério (Figura 6), o que possivelmente potencializa o risco de contaminação dos animais e do ambiente.

**Figura 6 - Vetores encontrados na quarentena; porta da quarentena com quebra da barreira sanitária.**



Fonte: O autor.

Na análise bacteriológica realizada nos bioteristas verificou-se que das 16 amostras coletadas houve prevalência para *Staphylococcus epidermidis* (75%), *Staphylococcus saprophyticus* (18,75%) e *Staphylococcus hominis* (6,25%) distribuídas de acordo com o Quadro 5 e Figura 7.

Segundo Pereira e Cunha (2009) em um estudo com amostras de fossas nasais de alunos de enfermagem de Botucatu - SP, encontrou a prevalência para *Staphylococcus epidermidis* (79,7%), sendo esse resultado similar aos de outros autores, que revelam essa espécie como sendo a mais comumente encontrada colonizando pele e superfícies de mucosas.

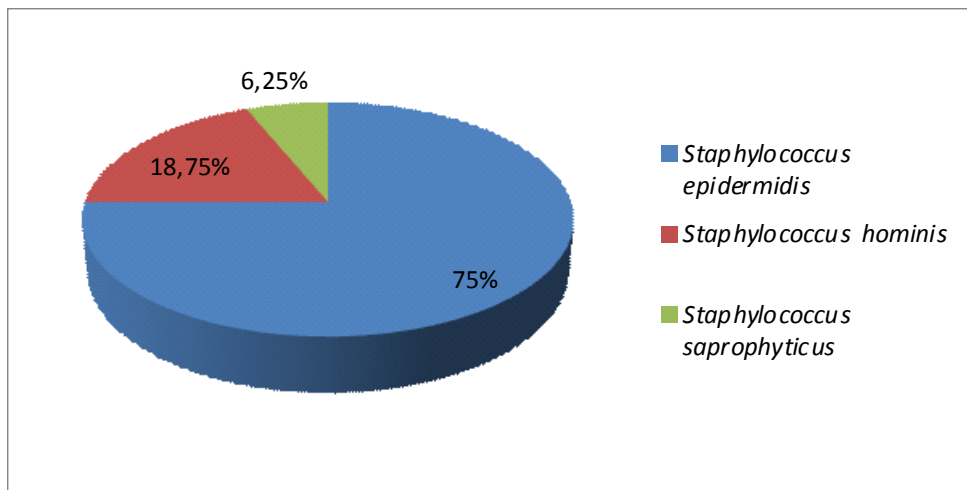
**Quadro 5- Distribuição dos isolados bacterianos encontrados nos Bioteristas.**

BIOTERISTA		MICRO-ORGANISMO	
		1ª COLETA	2º COLETA
A	MÃOS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	FOSSAS NASAIS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
B	MÃOS	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
	FOSSAS NASAIS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
C	MÃOS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	FOSSAS NASAIS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
D	MÃOS	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	FOSSAS NASAIS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

Fonte: O autor.

As mãos de profissionais em saúde podem portar muitos microrganismos residentes ou transitórios, destacando seu papel na disseminação de agentes infecciosos, especialmente quando não são aplicados métodos corretos de higienização, onde logo após a contaminação das mãos, os micro-organismos nelas presentes podem ser transferidos de uma superfície para outra, por contato direto, pele com pele, ou indireto através de objetos (SANTOS, 2000).

**Figura 7 - Prevalência dos isolados bacterianos encontrados nos Bioteristas.**



Fonte: O autor.

### 6.1.2 Isolados fúngicos

De acordo com os resultados obtidos nas pesquisas de fungos, realizadas na área técnica do biotério de criação, das 28 placas abertas nos ambientes, 17 amostras ocorreu crescimento fúngico, com prevalência dos gêneros: *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Cladosporium* sp, *Paecilomyces* sp, *Aureobasidium* sp, *Paecilomyces* sp, *Geotrichum* sp e outro micro-organismo não identificado (Tabela 3).

**Tabela 3 - Prevalência dos Isolados Fúngicos encontrados na Área Técnica do Biotério.**

ISOLADOS	FREQUÊNCIA (n)	TOTAL DE AMOSTRAS	PREVALÊNCIA (%)
<i>Aspergillus</i> sp	3	17	17,64%
<i>Penicillium</i> sp	4	17	23,52%
<i>Cladosporium</i> sp	2	17	11,76%
<i>Paecilomyces</i> sp	1	17	5,88%
<i>Aureobasidium</i> sp	1	17	5,88%
<i>Geotrichum</i> sp	2	17	11,76%
Org. ã identificado	4	17	23,52%

Fonte: O autor.

Estes resultados confirmam os relatos de Silva (1982) que estudou a microbiota fúngica do ar e de pisos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte). Perfazendo um total de 2.940 colheitas entre 9.064 colônias isoladas, foram identificados vários fungos anemófilos, dentre eles: *Cladosporium* sp, *Penicillium* sp, *Aureobasidium* sp e *Paecilomyces* sp.

Os fungos dispersam-se na natureza através do ar atmosférico ou por outras vias como água, insetos, homem e animais. Os fungos que são dispersos através do ar atmosférico são denominados fungos anemófilos. Sendo assim, a microbiota fúngica anemófila pode ser semelhante ou diferente em cada cidade ou região. Os elementos fúngicos que são encontrados no ar atmosférico são os esporos (propágulos), que quando inalados, podem ser responsáveis por manifestações

respiratórias alérgicas, como asma, rinite e sinusite, bem como micoses pulmonares clinicamente definidas (LACAZ, 2002; MEZZARI et al., 2003).

De acordo com a distribuição dos Isolados fúngicos observou-se a ocorrência em todas as áreas estudadas (Quadro 6), podendo haver relação com a dispersão da microbiota fúngica, através do sistema de ar condicionado do biotério, bem como as condições favoráveis de umidade e temperatura para crescimento.

**Quadro 6 - Distribuição dos isolados fúngicos de acordo com a área de coleta.**

ISOLADOS DE FUNGOS	Sala 1	Sala 2	Sala 3	Quarentena	Área de Preparo	Corredor Limpo	Área de Higienização
<i>Aspergillus sp</i>		X	O				O
<i>Penicillium sp</i>	X	X	X	O			
<i>Cladosporium sp</i>				X		O	
<i>Paecilomyces sp</i>					O		
<i>Aureobasidium sp</i>							X
<i>Geotrichum sp</i>						X	O
Org. ñ identificado	X	X	X			O	

Fonte: O autor.

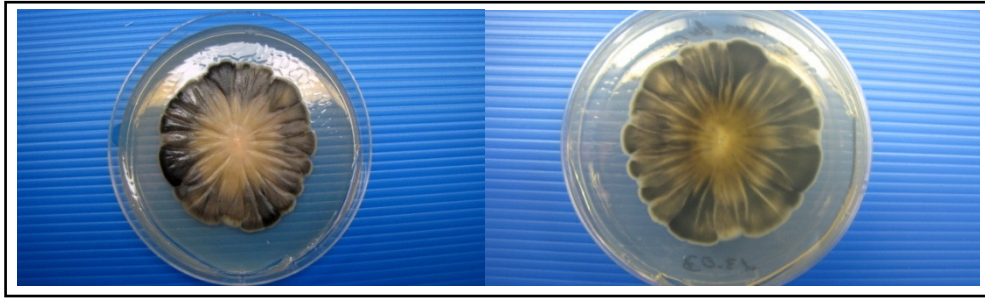
Nota: O= -1º Coleta; X = 2º Coleta.

Segundo Mobin e Salmito (2006), os condicionadores de ar oferecem ambiente favorável ao crescimento dos fungos, pois pelo menos oito gêneros (*Acremonium*; *Aureobasidium*; *Aspergillus*; *Paecilomyces*; *Penicillium*; *Trichoderma*; *Cladosporium*; *Curvularia*) e 33 espécies, registradas em Teresina-PI, estavam presentes em condicionadores de ar instalados nas UTI. Todas as espécies isoladas são patogênicas e podem agravar o estado de doentes hospitalizados

Machado (1979), em 12 áreas da região do Recife - PE, verificou que os fungos mais frequentemente isolados do ar atmosférico enquadravam-se nos gêneros *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Cladosporium sp*, *Fusarium sp*, *Curvularia sp*, entre outros com menor incidência.

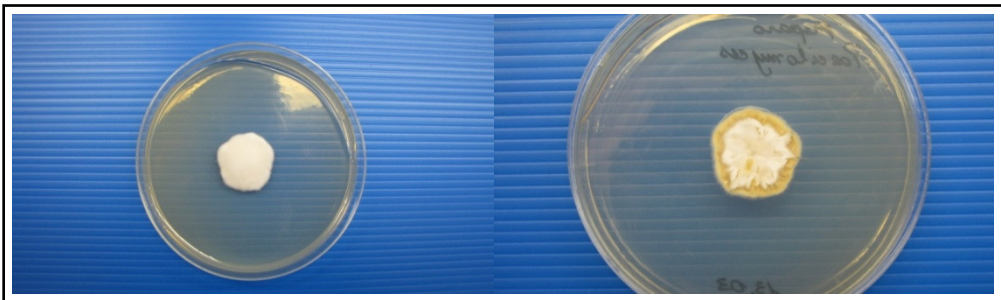
A ocorrência destes fungos filamentosos nos diversos locais da área técnica do biotério preocupa, pois por serem fungos de relevância patogênica, torna o ambiente insalubre, possibilitando a ocorrência de processos alérgicos respiratórios, bem como manifestações micóticas cutâneas nos profissionais do biotério (Figuras 8 a 12). Nenhuma referência foi encontrada da interferência de fungos na saúde dos animais de laboratório.

**Figura 8 - *Aureobasidium* sp - coletado na área de preparo limpo.**



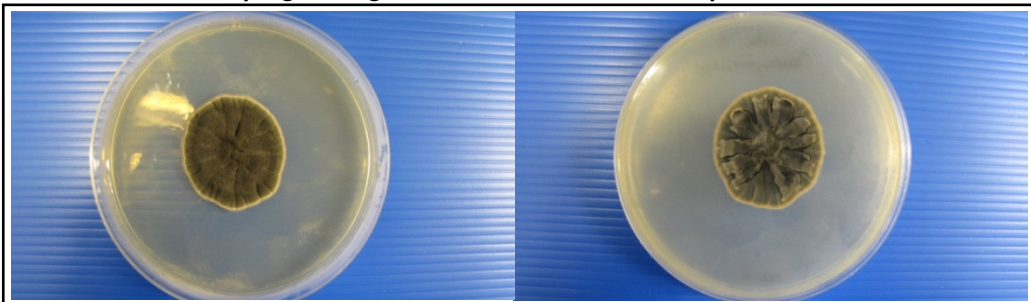
Fonte: O autor.

**Figura 9 - *Paecilomyces* sp – coletado na área de higienização.**



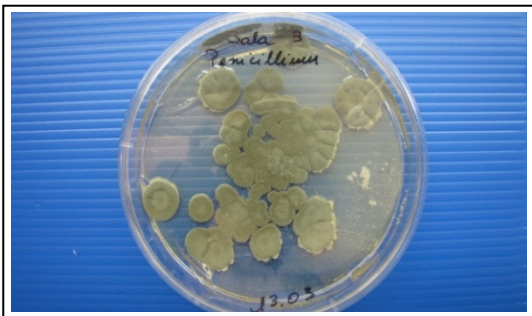
Fonte: O autor.

**Figura 10 - *Cladosporium* sp – apresentando superfície acamurçada, cor verde, com pregas irregulares. Coletado na área da quarentena.**



Fonte: O autor.

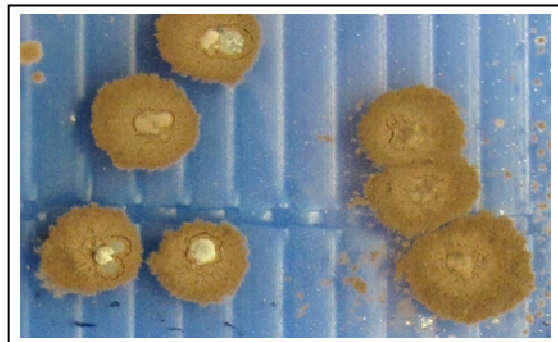
**Figura 11 - *Penicillium* sp – mostrando a característica cor esverdeada, aspecto granuloso e pregas radiais.**



Fonte: O autor.

Nota: Coletado na Sala de Criação de BALB/C e C57BL/6.

**Figura 12 - Fungo não identificado – coletado.**



Fonte: O autor.

## 6.2 Levantamento microbiológico animal

De acordo com análises parasitológicas das amostras obtidas de intestino e fezes dos camundongos das linhagens Swiss, BALB/C e C57BL/6, identificou-se a ocorrência de *Syphacia* sp, *Entamoeba* sp, *Giardia muris* e tricomonídeos. Onde a presença de *Syphacia* sp é observada em todas as linhagens pesquisadas (Quadro 7). Segundo Andrade, Pinto e Oliveira (2002) *Syphacia* sp caracteriza-se como sendo nematoídeo pertencente a Família *Oxyuridae*, presente em quase todas as criações convencionais de camundongos, onde geralmente a infecção é subclínica, porém prolapso retal é descrito em infecções parasitárias severas.

Quadro 7 - Resultado do levantamento microbiológico animal.

	COLETAS	PARASITOS	(p/n)	BACTÉRIAS	(p/n)	VÍRUS	(p/n)
<b>Swiss Criação</b>	1ª Coleta	<i>Syphacia</i> sp	1/8	<i>Pasteurella</i> sp	3/8	Theiller	1/8
	2ª Coleta	<i>Syphacia</i> sp	5/8	N/A		N/A	
<b>Swiss Fornecimento</b>	1ª Coleta	-----		<i>Pseudomonas</i> sp	1/8	-----	
	2ª Coleta	<i>Syphacia</i> sp	6/8	N/A		N/A	
<b>BALB/C</b>	1ª Coleta	<i>Syphacia</i> sp	2/8	<i>Pasteurella</i> sp	4/8	-----	
	2ª Coleta	<i>Syphacia</i> sp <i>Entamoeba</i> sp	7/8 2/8	N/A		N/A	
<b>C57BL/6</b>	1ª Coleta	<i>Syphacia</i> sp <i>Entamoeba</i> sp <i>Giardia muris</i> Tricomonídeos	1/8 2/8 8/8 8/8	<i>Pasteurella</i> sp	1/8	-----	
	2ª Coleta	Tricomonídeos	8/8	N/A		N/A	

Fonte: O autor.

Nota: N/A – Não se aplica

n= Número de amostras

p= Número de amostras positivas

Registros dos protozoários *Giardia muris*, *Entamoeba* sp e tricomonídeos foram observados entre os achados, sendo *Giardia muris* um flagelado patogênico de importância clínica, habitando o intestino delgado de várias espécies de animais convencionais, ocasionando perda de peso, pelos eriçados e distensão abdominal com intensa produção de gases em animais com alta infestação parasitária, principalmente em camundongos jovens. A *Entamoeba* sp e os tricomonídeos são protozoários de existência parasitária não patogênica que habitam ceco e colo intestinal de camundongos (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

A análise bacteriológica nas amostras obtidas de traqueia e fezes dos animais, identificou a presença de *Pseudomonas* sp e *Pasteurella* sp, sendo está



última encontrada em todas linhagens pesquisadas. São responsáveis por acometer os animais, causando infecções urinárias, oculares, auditivas e processos de endometrites.

Podemos afirmar com estes resultados, que não houve relação direta entre os isolados bacterianos animal, ambiental e dos bioteristas, porém medidas de prevenção, correto manejo das colônias e um controle destes patógenos devem ser melhorados, buscando eliminar ou diminuir a presença destes, conferindo aos animais uma melhor qualidade sanitária.

### 6.3 Procedimentos operacionais padrão

A elaboração dos documentos da qualidade, relacionados ao ambiente organizacional partiu da necessidade de adequação dos registros dos dados e da padronização dos procedimentos operacionais das atividades executadas de diferentes formas pela equipe técnica do biotério, possibilitando assim, minimizar a ocorrência de desvios na execução das tarefas fundamentais para a qualidade dos animais produzidos.

Inicialmente foi realizado um levantamento dos documentos utilizados na rotina do biotério, onde se observou a sua aplicabilidade para as funções a que se destinam, onde foram revisados e adequados quanto às não conformidades encontradas. Para as atividades que não possuíam documentação foram elaborados registros, formulários e fichas de acordo com a especificação das atividades (Quadro 8).

**Quadro 8 - Documentos utilizados na rotina do Biotério de Criação.**

*(Continua)*

Nº	DOCUMENTOS DO BIOTÉRIO DE CRIAÇÃO	SITUAÇÃO
01	Formulário de Previsão Semestral de Animais	Em uso*
02	Formulário de Previsão Semestral de Sangue Animal	Em uso*
03	Formulário de Controle Microbiológico da Área Técnica do Biotério	Implantação
04	Formulário de Não Conformidade do Biotério de Criação	Implantação*
05	Formulário de Controle Microbiológico dos Animais	Em uso
06	Ficha de Recebimento de Animais da Quarentena	Em uso*
07	Ficha de Controle Diário das Colônias de Camundongos	Em uso*
08	Ficha de Controle das Caixas de Criação de Camundongos (Reprodução)	Em uso
09	Ficha de Controle das Caixas de Criação de Camundongos (Fornecimento)	Em uso

**Quadro 8 - Documentos utilizados na rotina do Biotério de Criação.**

		<i>(Conclusão)</i>
Nº	DOCUMENTOS DO BIOTÉRIO DE CRIAÇÃO	SITUAÇÃO
10	Ficha de Acasalamento de Animais	Em uso
11	Ficha de solicitação de Animais	Em uso*
12	Ficha de Notificação de Acidente de Trabalho	Implantação
13	Ficha de Verificação de uso do chuveiro de emergência e Lava olhos	Implantação
14	Ficha de Verificação de uso dos Extintores de Incêndios	Implantação
15	Ficha de Registro de Temperatura das Salas de Criação de Animais	Em uso*
16	Ficha de Registro de Uso das Autoclaves	Implantação
17	Ficha de Registro de Manutenção das Autoclaves	Implantação
18	Ficha de Registro de Manutenção dos Racks dos Microisoladores	Implantação
19	Ficha de Registro de Manutenção das Estantes Ventiladas	Implantação
20	Ficha de Registro de Manutenção das Estações de Troca	Implantação
21	Ficha de Registro de Manutenção dos Filtros de Ar das Salas de Criação	Implantação
22	Ficha de Registro de Manutenção dos Desumificadores	Implantação
23	Ficha de Registro de Manutenção do Monta Carga	Implantação

Fonte: O autor.

Para facilitar o gerenciamento da qualidade no biotério, elaborou-se inicialmente os procedimentos para uniformização quanto a elaboração dos POPs (POP de elaboração dos POPs), com aplicação à redação de todos os procedimentos operacionais elaborados no âmbito do Biotério de Criação, com a finalidade de fixar condições, padronizar, definir e estabelecer regras que devem ser aplicadas na elaboração, aprovação, revisão e apresentação destes procedimentos, bem como definir a forma de controle, distribuição e arquivamento de todos os documentos do biotério.

Elaborou-se uma lista mestra contendo todos os POPs a serem utilizados, em seguida formulou-se os procedimentos de manejo técnico, através de acompanhamentos das atividades e de informações repassadas pelos bioteristas *in loco*, possibilitando a elaboração dos POPs de Manejo. Os POPs de Soluções e os POPs de equipamentos foram elaborados segundo manuais técnicos e normas de biossegurança.

Durante o período de elaboração, desenvolvimento e redação do projeto de mestrado foram realizadas paralelamente, reuniões com envolvimento da coordenação do biotério, pesquisadores e da direção do CPqAM com intuito de buscar soluções referentes as não conformidades encontradas no setor, fruto de um diagnóstico situacional das reais condições das instalações físicas e dos

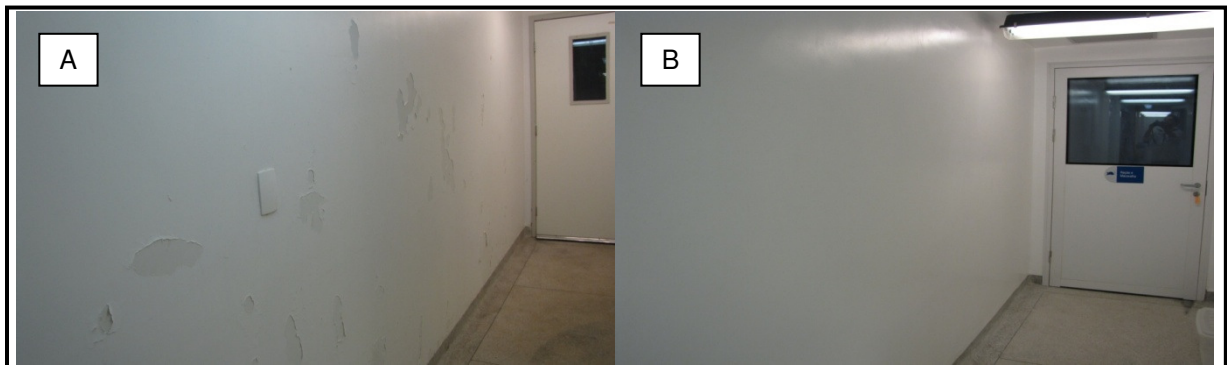


**Figura 14- Reforma do Biotério.**



Fonte: O autor.

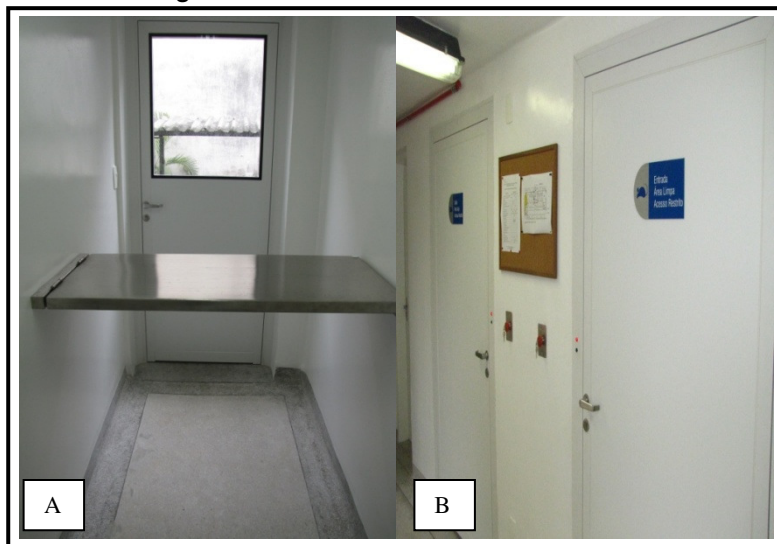
**Figura 15- Parede do corredor da área técnica do Biotério.**



Fonte: O autor.

Nota: A= Antes; B= Depois.

**Figura 16 – Áreas de acesso ao Biotério.**



Fonte: O autor.

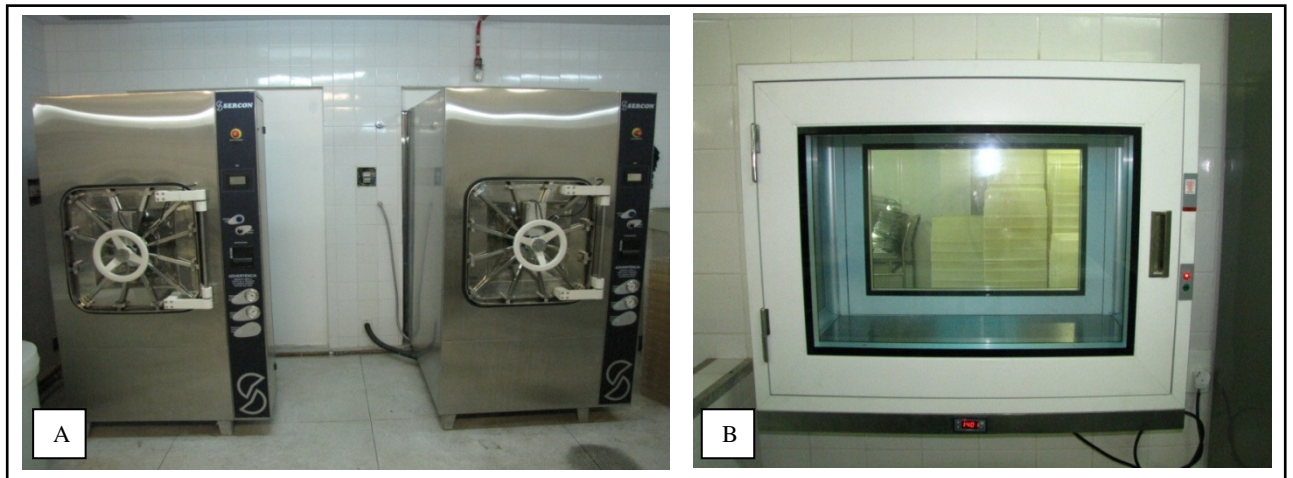
Nota: A= Área de entrada da quarentena com mesa de apoio;  
B = Portas intertravadas de entrada e saída da área técnica.

**Figura 17- Portas da área de higienização do Biotério.**



Fonte: O autor.  
Nota: A= Antiga; B= Nova.

**Figura 18- Equipamentos novos adquiridos para o Biotério.**



Fonte: O autor.  
Nota: A= Autoclaves; B= Pass through.

## **6 CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o diagnóstico sanitário evidenciou a realidade do setor. Espera-se que as modificações estruturais e de fluxos, adquiridas na reforma do biotério, aliadas a implementação das medidas sanitárias e do ajustamento do manejo animal, baseados nos corretos procedimentos operacionais, possibilitem o aprimoramento da qualidade sanitária do biotério de criação do CPqAM.

## REFERÊNCIAS

- AFONSO, M. S. M. et al. A Qualidade do ar em ambientes hospitalares climatizados e sua influência na ocorrência de contaminações. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, Goiânia, v. 6, n. 2, p. 181-188, 2004.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Resolução nº 9, de 16 janeiro de 2003**. Brasília, DF, 20 jan. 2003. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d094d3004e5f8dee981ddcd762e8a5ec/Resolucao\\_RE\\_n\\_09.pd?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d094d3004e5f8dee981ddcd762e8a5ec/Resolucao_RE_n_09.pd?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 20 set. 2012.
- ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002.
- BAKER, D. G. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 11, n. 2, p. 231-266, Apr. 1998.
- BARNETT, J. A.; PAINE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts: Characteristics and identification**. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA**. Disponível em: <<http://www.mct.gov.br/index.php/content/view/310553.html>>. Acesso em: 12 set. 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 3.523 de 28 de agosto de 1998**. Brasília, DF, 1998. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt3523\\_28\\_08\\_1998.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt3523_28_08_1998.html)>. Acesso em: 20 mar. 2013.
- BRASIL. Presidência da República. **Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008**. Brasília, DF, 9 out. 2008. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm)>. Acesso em: 12 set. 2012.
- BRASIL. Secretária da Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. **Classificação de risco dos agentes biológicos**. 2. ed. Brasília, DF: Ed. do Ministério da Saúde, 2010.
- BRASIL. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos**. 2. ed. Brasília, DF: Ed. do Ministério da Saúde, 2006.
- CARDOSO, T. A. O. Considerações sobre biossegurança em arquitetura de biotérios. **Boletim do Centro Pan-americano de Febre Aftosa**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 67, p. 3-67, 2001.
- CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES. **Planta baixa do biotério de criação**. Recife, 2010.
- CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. **Animais de Laboratório: o**

Camundongo. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007.

CUNHA, N. A.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 263-271, dez. 2002.

De HOOG, G. S. et al. **Atlas of Clinical Fungi**. 2<sup>nd</sup> ed. Utrecht: Centralbureau voor Schimmelcultures, 2000.

DENT, N. J. Essentials of quality in “the gold Standard veterinary clinical trial”. **Quality assurance (San Diego, Calif.)**, San Diego, v. 6, n. 3, p. 16-72, 1998.

DOCENA, C. et al. **Manual de biossegurança- CPqAM/FIOCRUZ**. Recife: CPqAM, 2012.

ETCHEBEHERE, A. et al. **A metrologia participa do controle de infecções hospitalares cuidando da qualidade do ar**. Trabalho apresentado no Simpósio de Metrologia na Área da Saúde (Metrosaúde 2005). São Paulo, 2005.

FALCONI, V. C. **Controle da qualidade total**. São Paulo: Ingd Tecnologia e Serviço, 2004.

FEDERATION OF EUROPEAN LABORATORY ANIMAL SCIENCE ASSOCIATIONS. Guidance paper for the accreditation of laboratory animal diagnostic laboratories. **Laboratory animals**, London, v. 33, Suppl. 1, p. 19-38, 1999.

INMETRO. **Norma nº NIT-DICLA-028**. Critérios para o credenciamento de laboratórios de ensaio segundo os princípios das boas práticas de laboratório – BPL. Rio de Janeiro, 2003. Disponível em: <[http://www.castelo.fiocruz.br/vpplr/laboratorio\\_referencia/qualidade/nitdicla028r01.pdf](http://www.castelo.fiocruz.br/vpplr/laboratorio_referencia/qualidade/nitdicla028r01.pdf)>. Acesso em: 15 set. 2012.

KRUGER, M. J. T.; WEIDLE, E. P. S.; BARRETO, F. F. P. **Programa arquitetônico de biotério**. Brasília, DF: Cedate, 1986.

LACAZ, C. S. et al. **Tratado de micologia médica**. 9. ed. São Paulo: Savier, 2002.

LAINETTI, E. B. F. **Análise crítica para adequação física e implantação de novos procedimentos na divisão de animais de laboratório do IPEN**. 2009. Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. M.; KO, G. M. **Cuidados e manejos de animais de laboratório**. São Paulo: Atheneu, 2009.

MACHADO, G. M. R. **Fungos anemófilos de áreas do grande Recife**: estudo qualitativo e quantitativo. 1979. Dissertação (mestrado) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1979.

McPHERSON, C. W. Laws, regulations, and policies affecting the use of laboratory animals. In: **Laboratory Animal Medicine**. Orlando: Academic Press, 1984.



MAJEROWICZ, J. **Boas práticas em biotérios e biossegurança**. Rio de Janeiro: Interciencia, 2008.

MAJEROWICZ, J. **Procedimentos de Biossegurança para as Novas Instalações do Laboratório de Experimentação Animal (LAEAN) de Biomaguinhos**. 2005. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

MEZADRI, T. J.; TOMAZ, V. A.; AMARAL, V. L. L. **Animais de laboratório: cuidados na iniciação experimental**. Florianópolis: Ed. UFSC, 2004.

MEZZARI, A. et al. Fungos Anemófilos e Sensibilização em Indivíduos Atópicos em Porto Alegre. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49, n. 3, p. 270-273, jul. set. 2003.

MILSTIEN, J. Regulatory process and three Rs alternatives. **Developments in Biologicals (Basel)**, Basel, v. 111, p. 15-19, 2002.

MINAGAWA, C. Y. **Estudo microbiológico fecal de linhagem de camundongos de estirpes de *E.coli* e do meio ambiente em biotérios**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MOBIN, M.; SALMITO, M. A. Microbiota fúngica dos condicionadores de ar nas Unidades de Terapia Intensiva de Teresina, PI. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, DF, v. 39, n. 6, p. 556-559, 2006.

NEHME, N. S. **Implantação do sistema de gestão da qualidade em um laboratório de pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (IOC): desafios e soluções do programa PALC (Programa de Acreditação de laboratórios clínicos) da SBPC/ML (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica – Medicina Laboratorial)**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, 2008.

NUNES, Z. G. **Estudo da qualidade microbiológica do ar em ambientes internos climatizados**. 2005. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Instituto de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

PAULA, J. F. L. **Aeromicrobiota do ambiente cirúrgico: princípios e particularidades da climatização artificial**. 2003. Dissertação (Mestrado) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

PEREIRA, E. P. L.; CUNHA, M. L. R. S. Avaliação da colonização nasal por *Staphylococcus* spp. resistente a oxacilina em alunos de enfermagem. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 5, p. 361-369, out. 2009.

PESSOA, M. C. T. R.; LAPA, R. C.; VIEIRA, V. M. Arquitetura e biossegurança. In: MOLINARO, E. T.; MAJEROWICZ, J.; VALLE, S. **Biossegurança em biotérios**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008.

POLITI, F. S.; PIRTRO, R. C. L. R, SALGADO, H. R. N. Caracterização de Biotérios, legislação e padrões de Biossegurança. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 29, n. 1, p. 17-28, 2008.

RUSSEL, W. M.; BURCH, R. L. **The principles of human experimental technique**. Disponível em: <<http://altweb.jhsph.edu/publications/humaneexp/het-toc.htm>>. Acesso em: 12 set. 2012.

SANTOS, A. A. Lavar as mãos: a importância da higienização das mãos. **Revista Meio de Cultura**, São Paulo, v. 3, n. 13, p. 10-14, 2000.

SILVA, E. E. N. F. **Avaliação do potencial de formigas (hymenoptera: formicidae) como vetores mecânicos de bactérias do gênero *Staphylococcus* no Ambiente Hospitalar**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

SILVA, M. G. **Estudo da flora fúngica do ar e do piso do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais**. 1982. Dissertação (mestrado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1982.

SMITH, M. W. Safety Hygiene. In: POOLE, T. **The ufaw handbook on the care and management of laboratory animal**. 7. ed. New York: Blackwell Science, 1999. v. 1, p. 141-171.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. **Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA)**. Disponível em: <<http://www2.iq.usp.br/bioterio>>. Acesso em: 12 set. 2012.

VALERO, V. B. et al. **Manual para técnicos de biotério**. São Paulo: Finep, 1990.